

R. 19486

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
SECRETARIA GENERAL

T.D.
H/23

Que se repare esta Tesis Doctoral
al folio 107 número 32 del libro
correspondiente.
Sevilla, _____

El Jefe del Negociado de Tesis,

Alma Laffite

INMUNOTERAPIA EN EL ASMA BRONQUIAL



AUTOR: Fernando Hernández Utrera

Fernando

DIRECTOR: José Castillo Gómez

J. Castillo

A MARTA...

AGRADECIMIENTOS:

A mi director de tesis el
Dr. José Castillo Gómez,
por el apoyo que de él
siempre he recibido.

Al personal técnico del
laboratorio de
fisiopatología, por su
eficaz trabajo.

INDICE DE MATERIAS

I. <u>INTRODUCCION:</u>	2
I.1. HIPERSENSIBILIDAD INMEDIATA O TIPO I:	3
I.1.1. CONCEPTO.-	3
I.1.2. ESTADO ATOPICO.-	5
I.1.2.1. La inmunoglobulina E. Sus características:	5
I.1.2.2. Producción de IgE. Factores reguladores:	8
I.1.2.3. La inmunoglobulina E. Factores determinantes de sus niveles:	12
I.1.2.3.1. Determinantes genéticos:	13
I.1.2.3.2. Determinantes ambientales:	15
I.1.3. ALERGENOS.-	17
I.2. ASMA BRONQUIAL:	21
I.2.1. REACCION ASMATICA PRECOZ (RAP).-	22
I.2.2. REACCION ASMATICA TARDIA (RAT).-	26
I.2.3. BASES ANATOMOPATOLOGICAS.-	31
I.3. INMUNOTERAPIA:	39
I.3.1. DEFINICION.-	39
I.3.2. BREVE RECUERDO HISTORICO.-	40

I.3.3.MECANISMOS DE ACCION.-	41
I.3.3.1.Anticuerpos bloqueantes:	42
I.3.3.2.Regulación de la producción de IgE:	44
I.3.3.3.Disminución de la sensibilidad:	45
I.3.4.INDICACIONES DE LA INMUNOTERAPIA.-	45
I.3.5.EXTRACTOS:ESTANDARIZACION	
FORMAS DE PRESENTACION.-	51
I.3.5.1.Estandarización:	51
I.3.5.1.1.Unidades y métodos:	52
I.3.5.2.Formas de presentación:	57
I.3.6.PAUTAS DE ADMINISTRACION.-	59
I.3.7.SEGUIMIENTO.-	62
I.3.8.REACCIONES ADVERSAS.-	63
I.4.JUSTIFICACION DEL TRABAJO:	65
II. <u>OBJETIVOS</u> :	69
III. <u>MATERIAL Y METODO</u> :	72
III.1.Los síntomas y la necesidad de medicación:	73
III.2.Los tests cutáneos:	74
III.3.La IgE total y la IgE específica:	76
III.4.El test de provocación con metacolina:	76
III.5.El estudio estadístico:	80
IV. <u>RESULTADOS</u> :	82
IV.1.DATOS DE LA POBLACION AL INICIO DEL ESTUDIO:	82
IV.1.1.La población sensible a pólenes:	83

IV.1.2.La población sensible a ácaros:	85
IV.2.MODIFICACIONES OBTENIDAS AL FINAL DEL ESTUDIO:	86
IV.2.1."Score" clínico/tratamiento:	86
IV.2.1.1.Sensibles a pólenes:	86
IV.2.1.2.Sensibles a ácaros:	87
IV.2.2.Los tests cutáneos:	87
IV.2.2.1.Sensibles a pólenes:	87
IV.2.2.2.Sensibles a ácaros:	88
IV.2.3.IgE total:	88
IV.2.3.1.Sensibles a pólenes:	88
IV.2.3.2.Sensibles a ácaros:	89
IV.2.4.RAST:	89
IV.2.4.1.Sensibles a pólenes:	89
IV.2.4.2.Sensibles a ácaros:	89
IV.2.5.Test de provocación bronquial con metacolina:	90
IV.2.5.1.Sensibles a pólenes:	90
IV.2.5.2.Sensibles a ácaros:	90
IV.3.CORRELACIONES:	91
IV.4.DATOS DE ESTIMACION DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA:	92
IV.5.REPRODUCTIBILIDAD DE LOS TESTS:	92
IV.5.1.Tests cutáneos:	92
IV.5.2.Test de metacolina:	93
<u>V.TABLAS Y FIGURAS:</u>	94
TABLA Nº1	95
" Nº2	96
" Nº3	97

"	Nº4	98
TABLA	Nº5	99
"	Nº6	100
"	Nº7	101
"	Nº8	102
"	Nº9	103
"	Nº10	104
"	Nº11	105
FIGURA	Nº1	106
"	Nº2	107
"	Nº3	108
"	Nº4	109
"	Nº5	110
"	Nº6	111
"	Nº7	112
"	Nº8	113
"	Nº9	114
"	Nº10	115
"	Nº11	116
"	Nº12	117
"	Nº13	118
"	Nº14	119
"	Nº15	120
"	Nº16	121

VI. <u>DISCUSION:</u>	123
------------------------------	------------

VI.1. DISCUSION DEL METODO.-	123
-------------------------------------	------------

VI.2.1. Reproductibilidad de los tests cutáneos:	130
--	-----

IV.2.2.Reproductibilidad del test de metacolina: . . 131

VI.2.DISCUSION DE LOS RESULTADOS.- 132

VI.3.1.Enfermos sensibles a pólenes: 132

VI.3.2.Enfermos sensibles a ácaros: 141

VI.3.3.ANALISIS: 145

VII.CONCLUSIONES: 151

VIII.RESUMEN: 154

IX.BIBLIOGRAFIA: 159

INTRODUCCION

I. INTRODUCCION:

El tema sobre el que se desarrolla esta tesis doctoral abarca tres conceptos fundamentales y distintos, pero que a su vez se encuentran relacionados entre sí como son:

LA HIPERSENSIBILIDAD INMEDIATA,

EL ASMA BRONQUIAL, Y

LA INMUNOTERAPIA.

I.1.HIPERSENSIBILIDAD INMEDIATA O TIPO I:**I.1.1.CONCEPTO. -1,2,3**

Inicialmente Richet y Portier en 1902, bautizaron este fenómeno con el nombre de anafilaxia (del griego ana = falta, filaxia = protección). Encontraron en sus experimentos que al realizar una segunda inmunización obtenían una reacción aguda, que provocaba, en algunos casos, la muerte del animal en lugar de la protección (profilaxis) esperada.

Von Piquert en 1906, acuñó el término *alergia* (del griego allos ergon = reacción anormal), para agrupar todas las enfermedades causadas por una respuesta inmunitaria anómala. Posteriormente, al intuirse que la causa de todas estas afecciones radicaba en un exceso de sensibilización por parte del individuo alérgico, se llamaron a estos fenómenos *reacciones de hipersensibilidad* y por la rapidez en su aparición *inmediata*.

Prausnitz y Kustner en 1921, demostraron que esta hipersensibilidad inmediata podía ser transmitida de un individuo a otro, por un factor de transferencia vehiculado a través del suero, que bautizaron con el nombre de reagina.⁴ Algo más tarde en 1969, Ishizakas identificó ese factor de transferencia con una nueva inmunoglobulina que denominó E.⁵

Gell y Coombs han clasificado las reacciones de hipersensibilidad en 4 grupos o tipos: I o inmediata, II o citotóxica dependiente de anticuerpos, III o mediada por complejos inmunes y IV o retardada. A nosotros nos interesa únicamente la tipo I. Esta consiste en la producción de anticuerpos IgE dirigidos contra antígenos generalmente inocuos. Dichos anticuerpos se fijan a través de su fragmento Fc a la superficie de mastocitos y basófilos. Recientemente se han descubierto receptores para la IgE en otras extirpes celulares como linfocitos, monocitos, eosinófilos, macrófagos y plaquetas.¹⁴ Las células así sensibilizadas resultan activadas cuando se produce la interacción del antígeno con el anticuerpo, liberando sustancias que serán las responsables de la respuesta sintomatológica del órgano de choque.

I.1.2. ESTADO ATOPICO. -1.2.3.4

En 1923, Coca y Cooke describen el término atopia (del griego a-topos = fuera de lugar). Este tendría una base hereditaria y su portador mostraría una tendencia familiar a la hiperproducción de IgE y a la manifestación de alguna forma de enfermedad alérgica específica.

Dentro del término atopia, están incluidas las formas clínicas de hipersensibilidad inmediata como asma, fiebre del heno, eccema y urticaria.

Se calcula que del 5 al 10% aproximadamente de la población occidental del hemisferio norte, presenta algún tipo de enfermedad alérgica.

I.1.2.1. La inmunoglobulina E. Sus características:⁷ (figura nº1)

Esta inmunoglobulina está constituida básicamente por cuatro cadenas polipeptídicas, dos pesadas (H) épsilon y dos ligeras (L) kappa o lambda, unidas entre sí por puentes disulfuro intercatenarios.

Las cadenas tanto ligeras como pesadas, presentan una secuencia de aminoácidos fija de una a otra en su mitad carboxiterminal, llamándose a esta región constante, y una gran variabilidad en la

secuencia de aminoácidos en su mitad aminoterminal, conociéndose por tanto a esta región con el nombre de variable. Se designan como V_L y C_L , a las regiones variables y constantes respectivamente de la cadena ligera y como V_H y C_H , a las mismas regiones de la cadena pesada.

Las cadenas pesadas y ligeras pueden ser subdivididas a su vez en regiones, que contienen aproximadamente una secuencia de 110 aminoácidos cada una con un enlace disulfuro en su interior. A estas subdivisiones intracatenarias se les denomina dominios. Las cadenas ligeras contienen dos dominios que se corresponden con las regiones V_L y C_L . Las cadenas pesadas, en el caso de la inmunoglobulina E, contienen cuatro dominios constantes que se denominan C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} y C_{H4} y un dominio variable V_H .

Adopta una configuración de "Y", porque entre los dominios C_{H1} y C_{H2} , existe una zona de unos 15 aminoácidos denominada bisagra que permite la flexibilidad de los brazos superiores. Esta zona es especialmente sensible a las enzimas proteolíticas (papaina y pepsina) y además contiene cisteína que permite la formación de puentes disulfuro entre las dos cadenas pesadas.

Con la papaina se obtienen 3 fragmentos, dos que se corresponden con los brazos superiores de la

"Y", denominados Fab, que contienen la cadena ligera completa y los dominios V_H y el C_H1 de la cadena pesada, y un tercer fragmento, denominado Fc, con los restantes tres dominios constantes; es decir, con la mitad carboxiterminal de la cadena pesada. Con la pepsina también se logra romper la molécula pero por detrás del puente disulfuro, con lo que se generan dos fragmentos, uno que contiene los dos Fab que se llama F(ab')₂ y un Fc más pequeño denominado pFc'.

Su forma de presentación es monomérica. Tiene una constante de sedimentación de 8S, un peso molecular de 188.000 daltons y el contenido en hidratos de carbono es del 11,6%.

Su vida media es de 1 a 5 días; pero a través de su fragmento Fc (C_H3 y C_H4) se une a los receptores de alta afinidad existentes en mastocitos y basófilos, propiedad denominada citotropa, confiriéndole esta unión una vida media de 12 semanas. La propiedad citotropa desaparece con el calentamiento durante 30 minutos a 56°C (termolabilidad), otra de las características de la inmunoglobulina; pero conservando la capacidad de unión al antígeno a través de su fragmento Fab.

Es la inmunoglobulina responsable de las enfermedades por hipersensibilidad tipo I así como de la defensa contra parásitos.

I.1.2.2. Producción de IgE. Factores reguladores: 8, 9, 31, 36, 64

La serie linfocitaria B es la encargada de fabricar cualquier isotipo de inmunoglobulina en nuestro organismo y por lo tanto de IgE.

Al contacto con el antígeno el sistema inmune humoral inicia una respuesta IgM. Tras ésta, la clase de inmunoglobulina que va a seguir siendo segregada en la respuesta secundaria está regulada por los linfocitos T fundamentalmente, en unión de otras sustancias y factores que interaccionan con el complejo B.

Dentro de las poblaciones y subpoblaciones linfocitarias nos interesa saber que existen linfocitos CD4+ o T4 y CD8+ o T8, que se reconocen por los antígenos de superficie que portan.

La población de linfocitos T8, reconoce antígenos HLA de la clase I y su función es primordialmente citotóxica. Si bien hasta hace poco se le reconocía una actividad supresora, hoy día se duda que esta acción específica sea monopolizada por alguna extirpe celular T en particular.

Los linfocitos T4, que muestran una presencia mayoritaria en sangre periférica (proporción T4/T8=2), reconocen antígenos HLA de la clase II, actúan

fundamentalmente como reguladores del sistema inmune a través de mediadores solubles (linfocinas), desencadenan la respuesta de hipersensibilidad retardada y algunos de ellos son citotóxicos.

Se pueden identificar dos subpoblaciones dentro de los linfocitos T4 que se denominan como H1 y H2 (esta subdivisión está bastante clara en el ratón, no así en humanos). Sus funciones reguladoras son antagónica entre sí. Los T4-H1 producen interleucina 2 (IL-2), interferón gamma (IFN- γ), IL-3, factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) y factor de necrosis tumoral (TNF- α y β), favoreciendo la respuesta inmune celular. Los T4-H2 producen IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 y en menor cantidad GM-CSF, IL-3 y TNF- α , y provocan la respuesta humoral del sistema inmunológico. Sendas vías se contraponen hasta el punto que, tanto la producción de linfocinas como sus acciones respectivas, se excluyen y anulan mutuamente.

Existiría un tercer grupo T4-H0, precursor al parecer de los dos anteriores, que podría segregar las dos series de linfocinas.

Profundizando algo más en la cooperación T/B, sería la IL-4 el principal estímulo para la fabricación específica de IgE por parte del linfocito B. Si bien la IL-4 es el principal factor, no es el único,

ya que se requiere una segunda señal para que la producción de IgE se ponga en marcha. La segunda señal viene determinada a través de:

a) La interacción T/B por medio del complejo TCR/CD3 (receptor del linfocito T) y el antígeno de histocompatibilidad HLA de la clase II del linfocito B.

b) El virus de Epstein-Barr.^{10,11} La infección por este microorganismo favorecería la aparición de HLA de la clase II sobre la superficie celular B.

c) El CD40.¹² Se desconoce aún cual sería el factor activador de este receptor.

d) Una segunda cooperación T/B distinta a la comentada en el apartado a), de la que se desconoce su mecanismo.

e) La Hidrocortisona.¹³ Esta observación no se conoce en toda su profundidad, pero es interesante porque el frecuente uso de los esteroides en las enfermedades alérgicas, podría favorecer la producción de IgE.

No está claro si lo que provoca la IL-4 es una expansión de las clonas ya seleccionadas para la segregación de IgE, o bien se induce un cambio en la clase de cadena pesada fabricada.

Tanto la acción como la producción de IL-4

estarían antagonizadas por el IFN- γ .

Otras linfoquinas actuarían de forma sinérgica con la IL-4. Por ejemplo, La IL-5, que a parte de ser el factor más importante en el crecimiento y diferenciación de los eosinófilos, potencia la IL-4 principalmente cuando sus niveles son subóptimos; su acción es contrarrestada por el IFN-x, y la IL-6, que aumenta la producción de IgE en los individuos atópicos, actuando cuando los niveles de IL-4 son elevados.

Otro factor regulador, que no estaría directamente relacionado con los T4-H1 y 2, es el CD23, receptor de baja afinidad para la IgE (FcERII) situado en la superficie de ciertas extirpes celulares (linfocitos, monocitos, eosinófilos, macrófagos y plaquetas).¹⁴ La IL-4 estimula la aparición de CD23 sobre la superficie celular, el IFN-y antagoniza esta acción. El receptor puede ser liberado de la célula comportándose en este caso como una linfoquina (CD23 soluble = CD23s) facilitadora de la producción de IgE, ahora bien, una vez ligado a la IgE queda imposibilitado para ser liberado como factor soluble y este complejo (CD23-IgE) es capaz de disminuir la producción de la inmunoglobulina E; por tanto, cabe esperar, como ya se ha comprobado en la atopia severa y otras enfermedades parasitarias, que se muestre en

mayor número sobre las superficies celulares de individuos atópicos.

Estos acontecimientos nos hacen sospechar que en la atopia existe un desbalance IL-4/IFN- γ . En individuos atópicos sensibles a *Dermatophagoides pteronyssinus*, los linfocitos T4 específicos de antígeno, producen mayor cantidad de IL-4 que las otras poblaciones celulares del mismo individuo o de individuos sanos.¹⁵ Quizás la clave se encuentre en los factores determinantes del paso de T4-H0 a T4-H1 o T4-H2, siendo la atopia un desequilibrio hacia los T4-H2.

1.1.2.3. La inmunoglobulina E. Algunos factores determinantes de sus niveles:^{1,16}

Ya se ha mencionado que una de las características del estado atópico es la sobreproducción de IgE ante antígenos (alergenos), que para el resto de la población normal serían completamente inocuos.

El primer factor determinante de los niveles de IgE es el mismo grado de sensibilización, ya que hay correlación entre ambos. Así, a mayor número de alergenos a los que el individuo reacciona, corresponden manifestaciones más graves y extensas de

la enfermedad alérgica y cifras más elevadas de IgE; las más bajas son las de la rinitis alérgica. A pesar de esta asociación, no existen puntos claros de corte en las determinaciones de la inmunoglobulina que nos permitan cómodamente clasificar a la población en normales, atópicos leves y atópicos graves. Esto sucede por el gran solapamiento de cifras que aparecen entre los grupos.

Existen otros dos determinantes fundamentales en los niveles de IgE, a parte del mencionado, como son los factores genéticos y ambientales.

1.1.2.3.1. Determinantes genéticos:

Aun cuando no se ha podido hallar ninguna forma de herencia constante de atopia, la influencia genética es un hecho. Las concentraciones de IgE en gemelos monocigóticos muestran mayor grado de correlación que en gemelos dicigóticos. Si los dos progenitores son alérgicos, entre el 50% y el 58 % de sus descendientes lo serán. Si uno sólo lo es, únicamente entre el 20 y el 30% mostrarán alergia. Y si ninguno es alérgico, las cifras se reducen al 6%. Hay que decir que del 15 al 30% de los individuos alérgicos no tienen antecedentes familiares.

Parecen estar controlados genéticamente

los siguientes parámetros:²

1.-La IgE basal. Es posible que exista un gen dominante determinante de los niveles bajos de IgE.

2.-Sería razonable aceptar la presencia de genes de respuesta inmune. Esto es, ciertos haplotipos MHC (complejo principal de histocompatibilidad) de la clase II, presentarían el antígeno al linfocito T de forma apropiada para que se produjera una respuesta IgE. Algunos investigadores han detectado asociaciones entre antígenos de histocompatibilidad (HLA) y determinadas sensibilizaciones alérgicas. Más del 90% de los individuos sensibles a Ra 5 (antígeno de ambrosía) son HLA Dw2 positivos, frente al 20% de Ra5 negativos. Esta vía no sería exclusiva de la IgE, sino que afectaría a la producción de los otros isotipos de inmunoglobulinas.

3.-En tercer lugar, la hiperreactividad mostrada por el individuo también estaría asociada al HLA. Así, las personas alérgicas muestran el HLA B8 y el Dw3 más frecuentemente y no el HLA A1. Esta característica tampoco sería específica de un anticuerpo determinado.

4.-Finalmente parecen existir genes inmunosupresores igualmente ligados a HLA.

I.1.2.3.2. Determinantes ambientales:

Entre ellos se encuentran:

1.-Las infecciones. La IgE también es un anticuerpo defensivo. Actúa contra ciertas infecciones, fundamentalmente víricas, junto a la IgM como parte de la respuesta primaria, y en la defensa contra las parasitosis. Por lo tanto, sus niveles se van a ver modificados por estas circunstancias.

2.-El hábito de fumar se ha asociado también a niveles elevados de IgE y se sospecha que favorece la sensibilización de la personas predispuestas.¹⁷

3.-La carga antigénica. Hay indicios para sospechar que la dosis antigénica recibida por el individuo atópico, selecciona de alguna forma el isotipo de inmunoglobulina efectora. A bajas dosis de antígeno se favorecería la producción de IgE, y a altas dosis, se seleccionaría la de IgG.

En otro orden de cosas, la carga antigénica se ha modificado en el sentido de aumento en la variedad gracias a la industria moderna, lo que produce un incremento en las sensibilizaciones posibles.

Al parecer, en las sociedades primitivas y subdesarrolladas, al ser las infecciones y parasitosis la mayor oferta antigénica ante la que el individuo se

enfrenta, por un lado, los niveles de IgE total estarán más en relación con este tipo de afecciones que con atopia y por otro lado, los seres mejor dotados serían aquellos capaces de reaccionar ante pequeñas dosis de antígenos de forma rápida y eficaz, lo que supondría una ventaja a la hora de la supervivencia. De esta forma, sus mastocitos y células cebadas se encontrarían saturados por este tipo de IgE "defensiva". En las sociedades modernas e industrializadas, donde las infecciones e infestaciones están controladas y es muy superior la oferta antigénica, los niveles elevados de IgE están más en relación con la atopia, y la capacidad de reacción rápida a bajas dosis de antígeno, se convierte en una desventaja para el individuo, que le conduce a una sensibilización "alérgica" de su sistema inmune ante múltiples sustancias.

4.-La vía de penetración y célula de presentación del antígeno. También se ha especulado sobre este particular como factores determinantes de la población efectora T4-H seleccionada, pero hasta el momento no hay datos concluyentes.

5.-La propia naturaleza del antígeno. Se desconoce por qué algunos antígenos son capaces de inducir la producción de IgE y otros no.

I.1.3. ALERGENOS. - 1, 3, 7, 18,

19, 20, 21, 22

Se denomina **inmunogenicidad** a la propiedad de una sustancia para desencadenar la respuesta inmune. **Antigenicidad** es el término empleado cuando nos referimos a la capacidad de interacción con un anticuerpo, de la sustancia extraña, a través de una zona restringida de su molécula completa denominada **determinante antigénico** o **epítipo**. Se trataría de una secuencia, como mínimo de 4 a 6 aminoácidos, bien continua o discontinua (secuencial o conformacional), de la cadena lineal del péptido.

En la antigenicidad de una molécula influyen dos factores: su tamaño y su configuración espacial. Esto se explica, porque al tener mayores dimensiones, el número de epítopos posibles aumenta y por otro lado, la accesibilidad a la zona de los determinantes antigénicos está en función de la forma de molecular.

Aquellos antígenos que como resultado de su interacción con el sistema inmune desencadenan una reacción de tipo I o alérgica, se denominan **alergenos**. Los alergenos son proteínas o glucoproteínas con capacidad para unirse a la IgE.

Encontramos dos grandes tipos de alergenos o antígenos: los proteicos completos y las sustancias de

bajo peso molecular. Entre los primeros incluimos pólenes, ácaros, hongos, descamación de animales, venenos de insectos y alimentos. Ponen en marcha el sistema inmune por sí solos. Las sustancias de bajo peso como fármacos, reactivos químicos y productos industriales, a diferencia de los anteriores, requieren de una proteína sérica o hística, denominada carrier, para comportarse como antígenos completos. A éstos se les llama haptenos.

La verdadera fracción antigénica de las fuentes origen citadas en el párrafo anterior, suelen ser alrededor de 20 a 50 proteínas globulares (y más concretamente sus determinantes antigénicos). Gracias a los estudios de separación proteica y pruebas de radioalergoabsorción (RAST), se han podido clasificar algunos alergenos en mayores (en número de 1 a 3 por fuente antigénica) y menores, dependiendo de la actividad mostrada en la mayoría de los sujetos sensibles. Se define el alergeno mayor como aquél, contra el que al menos el 50% de la población sensible a los alergenos de la especie, muestra IgE antígeno específica.²³ Los alergenos mayores suelen tener un peso molecular de 20.000 a 40.000 daltons, y los menores de 3.000 a 200.000 daltons.

Vamos a dividir a los alergenos en tres

grupos:

AEROALERGENOS, FARMACOS y ALIMENTOS.

Sólo nos vamos a referir a los primeros, ya que los fármacos y alimentos son bastante raros como causantes de alergias respiratorias.

AEROALERGENOS: El aire transporta diversas sustancias antigénicas: pólenes, ácaros, hongos, descamaciones de animales, productos industriales..., responsables de las alergias respiratorias. Su tamaño oscila entre las 2 y las 60 micras. La mayoría de estas partículas, concretamente las que presenta un tamaño mayor de 15 micras, quedan atrapadas en los ojos, fosas nasales y faringe, hecho que nos explicaría la clínica rinoconjuntival pero no la bronquial. Existen algunas teorías para explicar la vía de llegada del antígeno al árbol bronquial:

a) Por vía hematógena, una vez absorbido en el tubo digestivo o en la vía aérea superior.

b) La crisis asmática se desencadenaría a través de reflejos naso-bronquiales.

c) Por reinhalación de la fracción antigénica de la partícula, una vez extraída aquélla en las vías aéreas superiores.

d) En realidad serían los fragmentos (< de 15 micras) de partículas mayores los que alcanzarían directamente los bronquios. Esta última es la más

creible.

Entre los aeroalergenos cabe considerar como los de más relevancia los siguientes:

POLENES: de gramíneas, tanto silvestres como cultivadas, responsables en nuestro ambiente del mayor número de sensibilizaciones estacionales. De árboles, donde el máximo exponente entre nosotros es el olivo. De malezas, como la artemisa y la parietaria.

ACAROS: principal fuente de alérgenos del polvo de casa, el *Dermatophagoides pteronyssinus* y *farinae*, están a la cabeza de los cuadros alérgicos perennes.

EPITELIOS DE ANIMALES: fundamentalmente el gato, el perro y el caballo.

HONGOS: como el *Cladosporium herbarum* y la *Alternaria*.

PRODUCTOS INDUSTRIALES: entre los que se encuentran el ácido tánico y las sales de platino.

I.2. ASMA BRONQUIAL:

El asma bronquial es una combinación de tres características fundamentales: obstrucción reversible espontánea o farmacológicamente, hiperreactividad e inflamación de la vía aérea.²⁴

El origen de estos sucesos clínicos, fisiopatológicos e histológicos, en el caso del asma atópico, se encuentra en una reacción de hipersensibilidad inmediata o tipo I desencadenada en el seno de la vía aérea.²⁵ Tras un primer contacto con el antígeno, el individuo atópico reacciona, como ya hemos comentado, produciendo inmunoglobulina E. A través de su fragmento Fc, ésta se une a los receptores de alta afinidad (FcεRI) localizados en las membranas celulares de mastocitos y basófilos, y a los de baja afinidad (FcεRII) situados en las membranas de macrófagos, monocitos, eosinófilos, plaquetas y linfocitos-B.^{26,27,28,29,30} El sujeto queda de esta forma sensibilizado para un segundo encuentro,

en el que las células serán activadas con el resultado de la reacción asmática típica.

Antes de introducirnos en la reacción asmática, comentaremos brevemente ciertas características diferenciadoras interesantes entre el FcεRI (alta afinidad) y el FcεRII (baja afinidad). La primera, a la que ya hemos hecho referencia, es su localización, haciendo resaltar que el FcεRI sólo se encuentra en mastocitos y basófilos. La segunda, es su capacidad de asociación a la IgE. En el caso del FcεRI, la captación de IgE es rápida con disociación lenta, mostrando el FcεRII un comportamiento inverso. El FcεRI capta monómeros de IgE y requiere escasa cantidad de inmunoglobulina para activar al mastocito, mientras que el FcεRII tiene afinidad fundamentalmente por los dímeros de IgE preformados, requiriéndose mayor número de moléculas de inmunoglobulina para activar la célula que los porta.³¹

La respuesta asmática se caracteriza por presentar dos fases en el tiempo: la fase precoz y la tardía.³²

I.2.1. REACCION ASMATICA PRECOZ (RAP).-

Esta respuesta comienza a los 10-20 minutos de la provocación con el antígeno y se recupera de

forma espontánea a los 60-90 minutos, o tras la inhalación de β_2 . Es igual que la reacción de habón y eritema descrita en la piel para los tests cutáneos.³³ Consiste en la producción de broncoespasmo, aumento de la permeabilidad vascular, vasodilatación y edema de la pared bronquial.^{24,32}

Según los estudios realizados a través de biopsias bronquiales y lavados broncoalveolares (BAL) en asmáticos, se implica de forma muy directa al mastocito y sus productos como los principales responsables de esta fase. El basófilo parece quedar excluido, ya que, el albuterol y el cromoglicato sódico, conocidos inhibidores tanto de la función mastocitaria como de la reacción asmática precoz, no actúan sobre los basófilos.^{34,35}

La célula mastocitaria^{24,36} se activa y comienza la degranulación de forma inmediata tras el contacto con el antígeno, liberando al medio las sustancias efectoras de la reacción. Clásicamente se han dividido estos mediadores en primarios, o preformados y almacenados en los gránulos mastocitarios, y en secundarios, o fabricados de nuevo una vez activada la célula a través de la acción enzimática sobre los fosfolípidos de membrana; los más importantes son los derivados del ácido araquidónico y los análogos del acetil-glicerol-éter-fosfatidil-

colina (AGEPC).

De los mediadores primarios la histamina es el más conocido. Causa broncoconstricción y aumento de los espacios intercelulares endoteliales con el consiguiente aumento de permeabilidad vascular, a través de su acción sobre el receptor H_1 , localizado en las células musculares lisas y endoteliales respectivamente. También estimula la secreción de moco de forma directa, vía receptor H_2 , o de forma indirecta, vía vagal y α -adrenérgica.

Existen trabajos implicando a la histamina como mediador de la fase asmática precoz. Así, se han encontrado aumentos de su concentración tanto en plasma³⁷ como en BAL relacionados con esta fase; incluso esos niveles se han correlacionado bien con los de triptasa, otro mediador preformado.³⁸

Los mastocitos del organismo poseen una gran dotación enzimática. Calicreína, arilsulfatasa y proteasas, entre las que se hallan la triptasa, quimasa y carboxipeptidasa, son algunas de ellas. La mayoría de los mastocitos pulmonares contienen fundamentalmente triptasa,³⁹ con capacidad para activar la bradiquinina, las fracciones C_{3a} y C_{5a} del complemento, conocidas como anafilatoxina, aumentar la reactividad bronquial y degradar el VIP (péptido intestinal vasoactivo) que tiene una acción

broncodilatadora.

La célula mastocitaria pulmonar pertenece a una subpoblación (insensible a formol y poco densa) cuyo principal mediador secundario es la PGD_2 . Esta sustancia posee una potencia broncoconstrictora 30 veces superior a la histamina, produce vasodilatación sistémica, vasoconstricción del lecho pulmonar y aumento de la permeabilidad capilar.⁴⁰ Los estudios con BAL en asmáticos demuestran el aumento de la PGD_2 en relación con la fase asmática precoz.⁴¹

Existen otros dos mediadores de gran importancia causal en esta fase precoz, cuyo origen no es mayoritariamente mastocitario. Son los leucotrienos (LT) y el factor activador de plaquetas (PAF).

El LTC_4 y sus derivados D_4 y E_4 , son conocidos en conjunto como sustancia de reacción lenta de la anafilaxia (SRS-A), porque producen una contracción lenta de la musculatura lisa bronquial, frente a la acción rápida de la histamina. Tienen su fuente en varias poblaciones celulares entre las que se encuentran los macrófagos y monocitos, eosinófilos, basófilos e incluso los mastocitos, si bien éstos la producen en escasa cantidad. Su capacidad broncoconstrictora es de 100 a 1000 veces superior que la de histamina o metacolina, aumenta la permeabilidad vascular y la viscosidad del moco. Se han detectado

aumentos en BAL de asmáticos tanto de forma general,⁴² como tras la provocación con alérgenos durante la fase asmática precoz.⁴³

El PAF, otro producto formado a través de la acción enzimática sobre los fosfolípidos de membrana, puede ser aportado por una gran variedad de células como mastocitos/basófilos, eosinófilos, neutrófilos, macrófagos/monocitos, plaquetas y células endoteliales.⁴⁰ Más adelante nos referiremos a él con mayor detalle.

En resumen, la fase asmática precoz tiene como efectores principales al mastocito y sus productos (histamina, PGD₂), activado de forma específica a través de su receptor FcεRI. No hay que olvidar que en esta fase también pueden estar implicados macrófagos y eosinófilos, igualmente activados de forma específica a través de su FcεRII, como fundamentales aportadores de LTC₄ y PAF.

1.2.2. REACCION ASMATICA TARDIA (RAT).-

La RAT comienza a las 3 ó 4 horas de la exposición al antígeno, alcanza su máxima expresión a la 4 u 8 horas, persistiendo durante al menos 12 horas.^{32,33} Clínicamente se manifiesta por la aparición de un nuevo broncoespasmo más persistente y que sólo

cede parcialmente con β_2 . Esta fase puede ser abolida con esteroides y cromoglicato sódico, si son inhalados previamente al contacto con el antígeno.⁴⁴

Histológicamente, se comprueba un infiltrado celular inflamatorio fundamentalmente eosinófilo, aun cuando participan también otras células como neutrófilos, linfocitos y células plasmáticas.²⁴

Y fisiopatológicamente, aparece una hiperreactividad bronquial que persistirá a lo largo del tiempo, días o incluso semanas, tras una única exposición al antígeno.⁴⁵

Hasta ahora, siempre se había creído que el mastocito era la célula llave de todo el sistema inflamatorio en las reacciones asmáticas. Hoy, este hecho se pone en duda al comprobarse, que el albuterol, potente inhibidor de la función mastocitaria, casi no presenta efectos supresivos sobre la RAT⁴⁶ y sin embargo los corticoides, que no muestran acción sobre el mastocito,⁴⁷ son potentes inhibidores.

Actualmente, cada vez se le da más importancia al macrófago pulmonar como verdadero desencadenante de la RAT. Esta célula puede ser activada de forma antígeno específica a través de los ya conocidos receptores Fc ϵ RII, e inhibidas por los esteroides.⁴⁸ Para que la activación sea llevada a

cabo, se necesita una mayores cantidades de antígeno en comparación con las requeridas para activar mastocitos y basófilos, siendo más efectiva si el antígeno se presenta como partículas de alto peso molecular o formando previamente complejos antígeno-anticuerpo con la IgE.⁴⁹

En tercer lugar, aparecen también los linfocitos T4-H2, a los que hoy día se les imputa el papel de perpetuadores de la inflamación.⁵⁰

Estas células producen, entre otros, los siguientes mediadores respectivamente:

- El macrófago: LB₄ y PAF.

- El mastocito: PAF, factores quimiotácticos para eosinófilos y neutrófilos (ECF-A y NCF-A), IL₃, IL₅ y factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF).

- El linfocito T4-H2: IL₃, IL₅ y GM-CSF.

En general, las acciones de estas sustancias van encaminadas a la estimulación del crecimiento, maduración, atracción y activación del eosinófilo*. Se ha podido comprobar, que tras la estimulación con alergenos se produce una eosinopenia transitoria a las 6 horas de la exposición,⁵¹ seguida de una eosino-

* El neutrófilo también se ve implicado y de hecho en ciertos modelos animales es la principal célula del infiltrado inflamatorio, pero en el hombre su papel está muy desdibujado.

filia.³² La eosinopenia se ha interpretado como un atrapamiento de los eosinófilos por el órgano de choque.

El PAF, es un producto formado por la acción de la fosfolipasa A₂ sobre el glicerol-fofocolina, un fosfolípido de la membrana celular.³³ Es activo a concentraciones tan bajas como 3×10^{-11} M.³⁴

Una vez inhalado, produce tanto respuestas precoces como tardías, con broncocronstricción e hiperreactividad bronquial.³⁴ La broncoconstricción es inducida tanto por vía directa a través de un receptor, como por vía indirecta, favoreciendo la producción de otros mediadores espasmógenos (TxA₂, LT y C3_a y C5_a).⁴⁰ Su máximo efecto se observa a los tres días, persistiendo la hiperreactividad bronquial hasta 4 semanas,³⁵ a pesar de tener una vida media de 30 segundos.³⁶

Estos hechos parecen ser consecuencia del potente efecto quimiotáctico y activador que posee el PAF sobre los eosinófilos.³⁷ Así, tras su inhalación desencadena una importante eosinopenia,³⁸ y estimula el acúmulo de eosinófilos en el órgano diana.^{39,40} Acontecimientos que nos recuerdan a los sucedidos con la exposición antigénica.

Entre otras acciones reconocidas al PAF, se encuentran el aumento de la permeabilidad

vascular,⁶¹ de la secreción de moco,⁶² y la depresión del aclaramiento mucociliar.⁶³

La IL₅ es el factor más importante en el crecimiento y diferenciación de los eosinófilos. La IL₃ favorecería la eosinofilia y ambas además actuarían como activadoras de eosinófilos.⁶⁴

El LB₄ es un poderoso activador leucocitario,⁶⁵ facilitando la liberación de enzimas, la agregación celular y la expresión de receptores para el c3b.

Finalmente, cooperando con los anteriores mediadores, se encuentran los factores quimiotácticos ECF-A y NCF-A y el GM-CSF.

Una vez que el eosinófilo ha alcanzado la vía aérea, es activado y comienza a liberar dos clases de sustancias. Por un lado, el eosinófilo es una de las fuentes más importante de PAF⁶⁶ y de LC₄,⁶⁶ con lo que se pone en marcha un mecanismo de retroalimentación positiva. Y en segundo lugar, los eosinófilos contienen en sus gránulos sustancias tóxicas como la proteína mayor básica (PMB), la proteína catiónica del eosinófilo (PCE), la peroxidasa del eosinófilo (POE) y la neurotoxina derivada del eosinófilo (NDE),^{67,68,69} con capacidad para producir daño en el epitelio bronquial y descamarlo,^{70,71} deprimir la función

ciliar⁷²enlenteciendo el aclaramiento mucociliar y acción neuro-tóxica.^{73.74.75}

En definitiva, todo este proceso inflamatorio está condicionando las bases anatomo-funcionales, que serán las responsables finales, tanto de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, obstrucción reversible espontánea o farmacológicamente de la vía aérea, como de la hiperreactividad bronquial.

I.2.3. BASES ANATOMOPATOLOGICAS.-

Antes de continuar con las bases anatomopatológicas del asma, repasaremos de forma concisa el concepto de hiperreactividad bronquial. Se trata de una respuesta exagerada de la vía aérea ante múltiples estímulos inespecíficos. Está considerada una característica fundamental del asma,⁷⁶relacionándose tanto con la actividad, los grados de severidad de la enfermedad,⁷⁷ como con la RAT⁴⁵y, hay hechos que parecen confirmarla con la inflamación. Así, aparece hiperreactividad bronquial en procesos que cursan con inflamación de la vía aérea,^{78.79.80.81} mejora con fármacos antiinflamatorios (esteroides),^{82.83} en experimentos animales se ha podido encontrar relación entre la hiperreactividad bronquial y el grado de inflamación de la vía aérea,⁸⁴ y finalmente

también, con la cantidad de eosinófilos en el BAL.⁶⁵

Entre los hallazgos anatomopatológicos y fisiopatológicos que han podido ser registrados en los enfermos de asma destacan:

1) La descamación del epitelio bronquial.-⁶⁶

Desde hace tiempo se conocían los llamados "Cuerpos de Creola", acumulaciones de células epiteliales bronquiales descamadas que aumentan durante las exacerbaciones de la enfermedad.⁶⁷ Esta descamación provoca aumento en la reactividad de la vía aérea.^{68,69,70,71} Algunos investigadores han podido obtener correlación entre el conteo de células epiteliales recogidas en el BAL y la hiperreactividad.⁷²

La causa de esta descamación parece encontrarse en la acción de la PMB procedente de los eosinófilos, en los radicales de oxígeno de las células inflamatorias y en el edema submucoso. El mecanismo exacto es desconocido; pero se apunta hacia una pérdida de adherencia de las células epiteliales a la membrana basal.⁷³

Las vías a través de las cuales la pérdida del epitelio produce aumento de la hiperreactividad bronquial son:

a) Liberación de factores proinflamatorios.

En ciertas condiciones (por ejemplo, la hiperosmo-

laridad creada por la hiperventilación) es posible obtener productos de la oxidación del ácido araquidónico, primordialmente PGE₂ de las células epiteliales.⁹⁴

b) Disminución en la producción de endopeptidasa neutra (EPN) ó 3,4,24,11 encefalinasa, que actuaría limitando la acción de los neuropéptidos, principalmente a la sustancia P (SP).^{95,96}

c) Facilidad en la penetración y acción de mediadores, alérgenos, sustancias de peso molecular elevado y otros factores irritantes.

d) Pérdida del factor relajante derivado del epitelio.⁹⁷

e) Exposición de las terminaciones nerviosas.

2) Presencia de tapones bronquiales.-

En los enfermos de asma es típico encontrar un aumento en la secreción de moco espeso a partir de glándulas hipertróficas e hiperplásicas,⁹⁸ que contiene abundantes eosinófilos, residuos celulares y proteínas plasmáticas.^{99,100,101} El origen de esta hipersecreción no está del todo aclarado, ya que se desconocen con exactitud cuáles son los mecanismos reguladores de la producción del moco. Sin embargo, parece estar interviniendo la inflamación de la vía aérea en todo el proceso.

La presencia de los tapones de moco favorece



la obstrucción de la vía aérea de pequeño calibre, puesta en evidencia tras la realización de FEM con mezcla de helio-oxígeno,¹⁰² bien por simple taponamiento o por alteración de la capa de surfactante.

3) El músculo liso bronquial.-^{24,103}

En los enfermos de asma el músculo liso bronquial es hipertrófico y edematoso, como se demuestra en los estudios anatomopatológicos realizados en fallecidos a causa de una crisis de asma. Además se encuentra expuesto a mayores concentraciones de mediadores y estímulos neurogénicos y está reducida la carga contra la que se contrae; ya que el tejido que le rodea es edematoso y amortigua la fuerza de retracción alveolar. Todo lo cual favorece la contracción, el broncoespasmo y la hiperreactividad bronquial.

4) "Engrosamiento" de la membrana basal bronquial.-¹⁰⁴

No se trata de un verdadero engrosamiento como inicialmente se pensó, sino más bien de una acumulación de colágeno III y V con fibronectina pero sin laminina, bajo la auténtica membrana basal epitelial del bronquio.

El origen de esta aposición anómala de colágeno, se piensa que está en una extirpe especial

de fibroblastos (miofibroblastos) activados en el proceso inflamatorio.¹⁰⁵

Es importante resaltar que este espesamiento se ha visto incluso en los enfermos que padecen un cuadro asmático muy ligero.⁹³

La fibrosis de la membrana basal, contribuye a la "fijación" de la obstrucción bronquial, haciéndola poco reversible a broncodilatadores.^{106 107}

5) Filtrado microvascular: edema y exudado.-

Las secreciones bronquiales de los enfermos de asma contiene grandes cantidades de albúmina.¹⁰⁸ Procede de la extravasación proteica que acontece tras la contracción de las vénulas postcapilares.¹⁰⁹ El proceso es secundario a la actividad de mediadores inflamatorios como histamina, bradiquinina, leucotrienos y PAF.¹¹⁰

Como consecuencia del filtrado aparece: 1).- Edema de la mucosa, que favorece tanto la descamación del epitelio como la hiperreactividad, al disminuir el calibre de la vía aérea. 2).- Exudado, que contribuye al aumento de la viscosidad del moco, formando tapones bronquiales y obstrucción, a la inhibición del aclaramiento mucociliar y como fuente de mediadores inflamatorios.

6) Disminución del aclaramiento mucociliar.-²⁴

Junto al exudado microvascular es la causa de

la retención mucosa en el asma. Tras una única exposición a los antígenos, se ha comprobado que la disminución del aclaramiento mucociliar dura varios días.

La patogenia del deterioro del aclaramiento está en relación a los mediadores LTD₄, PMB del eosinófilo y elastasas de los neutrófilos y al daño tanto estructural como funcional del aparato ciliar. De todas formas estos puntos permanecen aún oscuros, ya que no hay ningún mecanismo reconocido como fundamental.

7) Alteraciones neurológicas.-

En el asma bronquial se han descrito diversas alteraciones en los sistemas autonómicos colinérgico, adrenérgico y no colinérgico no adrenérgico (NCNA).

Su contribución a la patogenia e hiperreactividad bronquial del asma, bien como mecanismos causales o secundarios a otros procesos, está en duda.¹¹¹ Se ha podido establecer en la vía aérea el concepto de inflamación neurogénica, en la que existe una interacción entre mediadores inflamatorios que promueven la liberación de neurotransmisores que a su vez favorecen la inflamación.¹¹²

a) El sistema colinérgico. La actividad colinérgica está aumentada en los enfermos de asma. Así, muchos de los estímulos que provocan

broncoespasmo actúan a través de receptores vagales, a parte de que los agonistas muscarínicos causan broncoconstricción y los antagonistas dilatación.^{113,114}

La causa se piensa que radica en la disfunción de un receptor muscarínico inhibitor de las fibras colinérgicas (M_2).¹¹⁵

b) El sistema adrenérgico. La contribución de este sistema parece claro, al haberse comprobado que los enfermos de asma mejoran considerablemente tras el tratamiento con fármacos adrenérgicos.

Los mecanismos sugeridos son: a).- Incapacidad para movilizar la adrenalina en los enfermos de asma.^{116,117} b).- Disfuncionalidad del receptor- β secundaria a la inflamación.

c) Sistema No adrenérgico-No colinérgico (NANC). Con funciones inhibitoras y activadoras a la vez. 1).- El sistema inhibitor NANC, actuaría como bloqueador de la actividad colinérgica a través del mediador denominado péptido intestinal vasoactivo (VIP). Este es degradado por la acción de los péptidos liberados desde las células inflamatorias,¹¹⁸ conduciendo a la broncoconstricción. 2).- Por otro lado, la parte estimuladora del sistema NANC, segrega neuropéptidos como la sustancia P (SP), neuroquininas A y B (NKA y NKB) y el péptido relacionado con el gen

de la calcitonina (PRGC)... fundamentalmente, desde las terminaciones nerviosas sensitivas aferentes de las fibras C.¹¹⁹ Las fibras se activan por la acción de los mediadores existentes, junto a otros estímulos que son capaces de actuar al encontrarse las terminaciones nerviosas desprotegidas del epitelio bronquial denudado.^{120, 121} Finalmente, los neuropéptidos causan aumento de la permeabilidad vascular,^{122, 123} adhesión de neutrófilos,¹²⁴ secreción de moco,¹²⁵ contracción del músculo liso,^{126, 127} neurotransmisión colinérgica¹²⁸ y tos,^{129, 130} fenómenos que conforman la llamada inflamación neurogénica.

I.3. INMUNOTERAPIA:

I.3.1. DEFINICION. -

La inmunoterapia o hiposensibilización es una modalidad terapéutica, empleada en algunas enfermedades derivadas de las reacciones de hipersensibilidad tipo I o mediadas por IgE.

Consiste en la administración de cantidades progresivamente crecientes, en general por vía subcutánea, del antígeno al que el paciente es sensible, con el fin de mejorar los síntomas asociados a su exposición. Pretende mediante una modificación de la respuesta inmune, inducir tolerancia ante la presencia antigénica.¹³¹

Este procedimiento hay que diferenciarlo de la desensibilización, cuyo fin es la rápida neutralización de los anticuerpos IgE, a través de la administración de grandes cantidades de antígeno, generalmente por vía intravenosa y en un corto periodo

de tiempo. Este sistema terapéutico se emplea en las alergias a medicamentos (penicilina), hormonas (insulina), etc...¹³²

I.3.2. BREVE RECUERDO HISTORICO.-

Haciendo un poco de historia, en 1828 Bostock,¹³³ utiliza por primera vez el término "fiebre del heno", afección que sería relacionada con la presencia de polen por Wyman 1872.¹³⁴ Muy poco después en 1873, Charles Blackley¹³⁵ realiza el primer test cutáneo.

Pero la inmunoterapia no aparecería en el campo de la medicina hasta 1911, fecha en la que Noon y Freeman, dos médicos londinenses del Hospital de Santa María, emplearan esta técnica por primera vez. Trabajando con 20 enfermos afectos de fiebre del heno, a los que administraron inyecciones subcutáneas de extracto hervido de polen de gramíneas, consiguieron un marcado alivio de los síntomas que se correlacionó con la reducción en la intensidad del test de provocación conjuntival. Pensaron que el polen estimulaba la producción de una toxina causante de la enfermedad y que las inyecciones de extracto lograrían inducir la fabricación de una antitoxina por parte del organismo.^{136, 137}

Seguidamente Prausnitz y Kustner en 1921,⁴ descubrieron el factor de transferencia (reagina) que en 1969 Ishizacas,⁵ lo identificó con la inmunoglobulina E.

A la inicial explicación que Noon y Freeman intuyeron sobre el mecanismo de acción de la inmunoterapia a través de una antitoxina, en 1935 Cooke et al,¹³⁸ y en 1943 Loveless,¹³⁹ descubren en el suero de los enfermos tratados con inmunoterapia unos anticuerpos, que llamaron bloqueantes por su capacidad de abolir la reacción de transferencia de Prausnitz y Kustner. Más tarde esos anticuerpos serían identificados como inmunoglobulinas IgG.¹⁴⁰

I.3.3. MECANISMOS DE ACCION.-

Tras aproximadamente 81 años de desarrollo y empleo de la inmunoterapia, hoy día, aun cuando se conocen muchos fenómenos asociados a ella, el o los mecanismos exactos de acción son desconocidos.

Se han barajado varias vías:

Anticuerpos bloqueantes.

Regulación de la producción de IgE.

Disminución de la sensibilidad celular.

I.3.3.1. Anticuerpos bloqueantes:

Inicialmente y como hemos expuesto, parecía buena la idea de que anticuerpos IgG específicos en el suero^{141, 142} y anticuerpos IgA e IgG específicos en las secreciones¹⁴³ de los enfermos, fabricados por el sistema inmune a lo largo del tratamiento hiposensibilizante, actuaran como agentes bloqueantes al unirse con el antígeno, e impedirle de esta forma alcanzar la IgE localizada en la superficie del mastocito. Surgieron trabajos donde se comprobaba que a una significativa mejoría clínica se asociaba una significativa elevación de IgG específica.¹⁴⁴ Asimismo, se realizaron correlaciones entre reducción de la sintomatología y el cociente anticuerpo bloqueante/anticuerpo IgE.¹⁴⁵

Seguidamente se observó que la inmunoterapia no sólo inducía la producción de IgG específica, sino también un cambio en la subclase de inmunoglobulina G. Así, la producción de IgG se desviaba de la subclase 1 a la 4.¹⁴⁶ Estos hallazgos rápidamente se intentaron tanto correlacionar con la eficacia clínica, como utilizar para obtener índices predictivos y precoces de cuál iba a ser la respuesta a la inmunoterapia, a través de las variaciones en los valores de las subclases de inmunoglobulina G al poco

de iniciarse el tratamiento.¹⁴⁷

Hoy tenemos algo más claros estos fenómenos inmunológicos:

a) Donde parece tener algún sentido el aumento de IgG específica como mecanismo de acción relevante, es en las enfermedades en las que el antígeno se distribuye por vía sanguínea; por ejemplo, la alergia a venenos de himenópteros.¹⁴⁸ Su participación como mecanismo de acción en la inmunoterapia con aeroalergenos es cuando menos dudosa. A pesar de haberse encontrado en el suero de los enfermos tratados una actividad bloqueante mediada por IgG,¹⁴⁹ existen trabajos en los que no aparece ninguna relación clínico/nivel de IgG.^{150,151}

b) La IgG4 tampoco ha podido ser implicada directamente como mecanismo de acción. Los trabajos que han estudiado las correlaciones de sus niveles con la sintomatología, ofrecen unos resultados completamente contradictorios.^{152,153,154}

c) Igualmente los niveles de anticuerpos IgG e IgA específicos en las secreciones, no han manifestado relación alguna con la clínica.

d) El aumento de anticuerpos específicos IgG, lo que puede estar indicando verdaderamente es, que el alérgeno administrado por esa vía en concreto y en esas dosis es inmunogénico,¹⁵⁵ y los cambios de

IgG1 a IgG4 parecen depender fundamentalmente del tipo de extracto y régimen empleado en la inmunoterapia.¹⁵⁶

1.3.3.2. Regulación de producción de IgE:

Con el tratamiento inmunoterápico es de esperar que los niveles de IgE específica aumenten ligeramente al inicio, para posteriormente ir descendiendo de forma lenta y paulatina a lo largo de la hiposensibilización.¹⁵⁷ La regulación ejercida sobre los anticuerpos específicos IgE podría estar mediada a través de diversos mecanismos:

a) Debido a la inmunoterapia se restauraría a la normalidad el nivel de producción de anticuerpos anti-idiotipo, reducido en los enfermos atópicos.¹⁵⁸

b) Aumento de la actividad T-supresora.¹⁵⁹ O más concretamente, regulación de la balanza T4-H1 y H2, por aumento de la actividad de los T4-H1, encargados de la producción de IL-2 e IFN- γ . Estas sustancias son antagonistas de las acciones de la IL-4, estimuladora de la producción de IgE.¹⁶⁰

c) A través del receptor CD23, que una vez unido a la IgE inhibiría la producción de la inmunoglobulina E.³⁶

I.3.3.3. Disminución de sensibilidad:

Existe una disminución de la reactividad y sensibilidad de los basófilos al alérgeno¹⁶¹ y una respuesta reducida de los linfocitos.¹⁶²

I.3.4. INDICACIONES DE LA INMUNOTERAPIA.-

Entrar en el marco de las indicaciones de la inmunoterapia, es entrar en el tema de la efectividad. Parece razonable que las indicaciones de la inmunoterapia vengan definidas por el tipo de afecciones que es capaz de curar o aliviar. Este punto de la terapéutica con alérgenos, que en la actualidad suscita actitudes viscerales en uno y otro sentido, es motivo de estudio y revisión por parte de los investigadores.^{163,164,165,166,167}

En general,^{168,169} el uso de la inmunoterapia debe restringirse a las enfermedades alérgicas mediadas por anticuerpos IgE. Pero más concretamente, donde se han obtenido algunos resultados positivos es en las reacciones anafilácticas mediadas por IgE, rinoconjuntivitis y asma; y los alérgenos empleados han sido venenos de insectos, pólenes (gramíneas, ambrosía, parietaria,

abedul, cedro de montaña) ácaros, epitelio de animales (gato y perro) y hongos (cladosporum y alternaria). No debe emplearse inmunoterapia en aquellas afecciones no mediadas por anticuerpos IgE, afecciones dermatológicas, gastrointestinales, reumatológicas y neurológicas. Ni utilizar extractos de probada ineficacia como los de *Candida albicans*¹⁷⁰ y vacunas bacterianas.¹⁴¹

Centrándonos en las afecciones que hemos citado como factibles de ser tratadas con hiposensibilización, vamos a hacer algunas matizaciones sobre ellas:

1º Respecto a las alergias a venenos de himenópteros, la mayoría está de acuerdo en admitir que la inmunoterapia con el veneno del insecto (no con el cuerpo completo) protege al individuo.^{171, 172}

2º La rinitis alérgica, especialmente la debida a pólenes, también se acepta como clara indicación de tratamiento con inmunoterapia.^{141, 148, 149} Hay que resaltar sin embargo, que en un reciente estudio llevado a cabo con 60 enfermos afectados de rinitis alérgica sensible a pólenes de ambrosía, se compararon los efectos beneficiosos del tratamiento inmunoterápico con los del tratamiento esteroideo tópico, siendo finalmente éstos últimos

marcadamente superiores y habiéndose logrado incluso con menor riesgo para los enfermos.¹⁷³

3º En el asma bronquial es donde menos acuerdo existe, ya que no se han obtenido a lo largo de múltiples estudios resultados inequívocos. En opinión de algunos esta terapéutica se encuentra en fase de experimentación ^{174,175} y otros incluso le niegan cualquier tipo de eficacia.^{176,177}

Los resultados obtenidos con los diferentes tipos de alergenos no son equiparables:

a) Los POLENES parecen ser los aeroalergenos que mejores resultados ofrecen. Con tratamiento hiposensibilizante se han logrado reducciones significativas de las manifestaciones clínicas en varios trabajos; ^{178,179,180,181,182,183} pero también, un importante número de estudios no consiguen resultados positivos en enfermos de asma bronquial ^{181,184,185,186} y en otros, los resultados son parciales, es decir, aparecen mejorías clínicas que no se acompañan de la reducción de sensibilización medida a través del test de provocación específico ^{187,188} viceversa.¹⁸⁹

b) Existen en la literatura más trabajos evaluando la efectividad del tratamiento inmunoterápico con ACAROS que con pólenes en el asma. Sus

efectos parecen más ligeros y variables; ya que se obtienen conclusiones en todos los sentidos. Así, se consiguen tanto mejorías importantes,¹⁹⁰ como resultados moderados o intermedios,¹⁹¹ los más frecuentes y que consisten por ejemplo, en reducciones parciales de la sintomatología sin disminuciones de los tests específicos, como resultados negativos.¹⁹² Finalmente sólo se demuestra disminución de la hiperreactividad bronquial inespecífica en uno¹⁹³ de cuatro^{194, 195, 196} trabajos que investigan este punto.

c) La inmunoterapia con EPITELIOS de gato y perro consigue reducir en algún trabajo la sensibilidad al alergen; pero no modifica sustancialmente la clínica.¹⁶⁷

d) En cuarto lugar con HONGOS (cladosporium y alternaria) se han logrado algunos resultados;¹⁹⁷ pero al aparecer elevado número de reacciones sistémicas, fundamentalmente con el cladosporium, así como la sospecha de reacciones de hipersensibilidad tipo III,^{198, 199} su utilización en la clínica rutinaria está desaconsejada.¹⁶⁷

Una vez conocidas las afecciones donde el tratamiento hiposensibilizante puede tener cabida, la indicación de inmunoterapia exige el cumplimiento de una serie de requisitos estrictos:^{168, 169, 200}

19.- Hay que comprobar que la enfermedad que padece el sujeto, está mediada por anticuerpos IgE y que un alérgeno es responsable de la patología. Para la objetivación de este punto no existe ningún procedimiento diagnóstico lo suficientemente fiel como para emplearse solo. Actualmente se admite que la correlación de una historia clínica correctamente hecha, con los tests cutáneos y/o con la determinación de anticuerpos IgE específicos, es un medio lícito de diagnóstico; opcionalmente puede emplearse un test de provocación específico sobre el órgano de choque.

En la práctica diaria este punto es muy comprometido. El asma es una enfermedad multicausal,¹⁴⁴ y siguiendo a Lichtenstein, de 900 enfermos con historia de asma polínico, encuentra que sólo 40 muestran tests cutáneos positivos y en éstos no existe relación entre clínica y contaje de pólenes; además, la positividad de los tests cutáneos no coincide con el test de provocación específico en 60 enfermos a los que chequea en este sentido, debiendo tener presente que los test bronquiales específicos pueden ser positivos por mecanismos inespecíficos.

20.- Respecto a la inmunoterapia con venenos de himenópteros, los enfermos deben haber padecido una reacción grave y tener la posibilidad de nuevos y repetidos contactos con los insectos.

30.- Imposibilidad de evitación del alérgeno.

40.- Fracaso o elevado número de efectos secundarios derivados del tratamiento convencional.

50.- Ausencia de polisensibilizaciones.
Conecta con el primer punto.

60.- El enfermo debe estar dispuesto a cumplir el tratamiento.

70.- Ausencia de contraindicaciones tales como: enfermedad renal, hematológica, hepática crónica, infecciosa (hepatitis, TBC activa...), autoinmune y dermatitis atópica severa. Embarazo. Tratamientos con beta-bloqueantes o imposibilidad del uso de adrenalina.

80.- La edad. Se recomienda entre los 5 y los 50 años.

90.- Hay que disponer de extractos estandarizados del alérgeno en cuestión.

La idea general del uso restringido de la inmunoterapia a los casos en los que el tratamiento convencional ha fracasado, está hoy día en discusión. Las nuevas tendencias proponen el uso temprano de la hiposensibilización como único medio terapéutico, capaz de evitar la progresión de la enfermedad alérgica hacia grados más avanzados.²⁰¹

I.3.5. EXTRACTOS: ESTANDARIZACION. FORMAS DE PRESENTACION. -

I.3.5.1. Estandarización:

Este es otro problema importante con el que nos enfrentamos al abordar la terapéutica con aeroalergenos. El hecho de conocer con precisión la composición (cualitativa y cuantitativa) de los extractos que se utilizan tanto en el diagnóstico (tests cutáneos, de provocación específicos, ...) como en el tratamiento de las enfermedades alérgicas, es de vital importancia para un correcto manejo de la inmunoterapia a todos los niveles, tanto asistenciales como de investigación.

Los extractos están formados por complejas mezclas de proteínas con diferente actividad alérgica, lo que ofrece una elevada variabilidad tanto en su actividad alérgica total como en su composición.

Se han desarrollado diferentes técnicas y múltiples unidades que han pretendido estandarizar los extractos alérgicos. Esta heterogenicidad ha contribuido a dificultar la interpretación y comparación de los trabajos de investigación y a complicar la valoración en sí misma de la

inmunoterapia.

I.3.5.1.1. Unidades y métodos:

Desde los inicios del tratamiento hiposensibilizante se han desarrollado varios sistemas de medición, algunos ya obsoletos y con un interés meramente histórico. Entre los más conocidos están:

a) Las unidades NOON. Relación PESO/VOLUMEN.²⁰²

El autor que les da nombre, las definió como la cantidad de "toxina" polínica que podía ser extraída de 1µg de polen *Phelum*. Eran expresadas en unidades por centímetro cúbico de extracto.

Este sistema ha sido empleado hasta hace poco tiempo, bien como unidades Noon o como relación peso/volumen.

El primordial problema de las unidades Noon radica, en que la actividad alérgica puede variar hasta 100 veces entre extractos de supuesta igual potencia, cuando tratamos con especies diferentes; pero, igualmente puede variar cuando hablamos de la misma especie, ya que el contenido alérgico de lote a lote de materia prima no es el mismo.

b) Las unidades de nitrógeno proteico (PNU).

Este método se basa en la cantidad de proteína que puede ser precipitada por el ácido

fototúngstico. Se define 1 PNU como la cantidad de nitrógeno proteico corresponde a 62ng de proteína precipitada.

Este método mide la cantidad total de proteína sin tener en cuenta su actividad alérgica. Por lo tanto es de esperar encontrar poca correlación de estas unidades y la potencia biológica real del extracto. Una de las razones que explican la falta de correlación es que no toda la proteína de un extracto tiene actividad alérgica. Otra, que la proteína verdaderamente activa, que representa aproximadamente de un 5 a un 10% el pool proteico, puede ser inactivada o perdida por el método de elaboración, manipulación o almacenamiento, sin que se resientan las unidades proteicas.

c) Determinación de la actividad biológica del extracto.

Precisamente, para obviar los problemas planteados con las anteriores unidades de estandarización, se han desarrollado métodos que cuantifican la verdadera actividad biológica del extracto. De esta forma se asegura que los diferentes preparados contienen siempre la misma actividad biológica.

Estos sistemas se basan en pruebas in vivo, como son los tests cutáneos, o en determinaciones in

vitro como, el RAST de inhibición y el ensayo de liberación de histamina.

Existen tres métodos distintos que emplean los tests cutáneos. Dos de ellos, cuantifican la actividad en las llamadas unidades biológicas (BU) y el tercero en unidades alérgicas (AU). Por orden cronológico:

19.- Ideado por el Dr. AAS en 1978.²⁰³ Determina la concentración de extracto que produce un habón, mediante prick test, equiparable al que produce una solución de 1mg/cc de histamina (1HEP). A esta concentración se le asignan 1000 BU/cc.

20.- Creado por el Dr. Brihgtton en 1979.²⁰⁴ Este sistema asigna directamente 100 BU/cc a la concentración de extracto que produce un habón medio de 75 mm². No compara con la histamina y también utiliza el prick test.

30.- Llevado a cabo por el Dr. Turkeltaub en 1982.²⁰⁵ Este es el método aceptado por la FDA. Utiliza intradermoreacciones y mide la suma del diámetro mayor más el diámetro menor perpendicular (D+d) del eritema. A la concentración de extracto que produce un eritema de 50 mm (D+d=50mm) se le asigna una potencia determinada. Cuanto más haya que diluir un extracto más potente es. Así, al extracto que requiera 3⁻¹⁴ diluciones para lograr un D+d=50 mm, se

le adjudican 100.000 AU/cc, cuando se requieran 3^{-13} , 10.000 AU/cc y así sucesivamente.

A pesar de todo no son perfectas. Los tres sistemas determinan básicamente lo mismo: la actividad biológica del preparado; pero no son comparables entre sí y se requiere una selección muy rigurosa de pacientes para realizar los test cutáneos. Se puede llegar a un círculo vicioso donde los extractos seleccionan los enfermos que determinarán la potencia de los extractos.

La estandarización por métodos in vitro emplean el RAST de inhibición²⁰⁶ y el ensayo de liberación de histamina.²⁰⁷ Una vez que se dispone de extractos de referencia estandarizados en unidades biológicas, se aplican estos sistemas para comparar los extractos problemas con los de referencia, ajustando aquéllos en BU. Presentan el inconveniente de necesitar enfermos (el suero) para llevar a cabo las determinaciones, lo que añade variabilidad al método.

No basta con presentar un preparado estandarizado en unidades de actividad biológica, sino que además hay que tener la certeza de que el extracto contiene todos los alergenicos de la especie. Para asegurarnos de ello se emplean técnicas sofisticadas como la radio inmunolectroforesis cruzada y el

inmunoblotting.

En tercer lugar, hoy día ya es posible conocer la cantidad de alergenos que existe en un extracto y medirla en unidades como $\mu\text{g}/\text{cc}$. Primero, a través de las técnicas referidas de radio inmunolectroforesis cruzada e inmunoblotting, se estudian los alergenos clínicamente relevantes de un preparado. Segundo, éstos se purifican. Y a través de anticuerpos monoclonales es posible finalmente medir la concentración en $\mu\text{g}/\text{cc}$ de un determinado alergeno. Este sistema no mide potencia biológica, aunque puede determinarse. Si un extracto únicamente tiene un alergeno mayoritario (alergeno mayoritario es aquel contra el que más del 50% de los enfermos sensibles, crean anticuerpos IgE específicos), al recaer sobre él más del 80% de la actividad, se logra una buena correlación entre $\mu\text{g}/\text{cc}$ y BU. Cuando hay más alergenos mayoritarios hay que realizar múltiples correlaciones.

d) Sistema de estandarización internacional.

Para terminar, se intentó desarrollar a partir de 1980, un sistema de estandarización que se utilizaría como patrón oro. Todo investigador podría recurrir a él cuando precisase comparar sus extractos con los de otro investigador. Se trata de ampollas (standard internacional=IS) de cristal con una cantidad de extracto conocida a través de métodos in

vitro. Cada ampolla tiene una potencia asignada arbitraria de 100.000 Unidades Internacionales (IU).²⁰⁸ Este sistema no ha alcanzado el auge y la importancia que en principio se le dio, cayendo en el abandono.

1.3.5.2. Formas de presentación:

Otro origen de heterogenicidad y variabilidad en la inmunoterapia, se encuentra en la múltiples formas de manipulación y presentación de los extractos alérgicos para su administración al enfermo.

Las modificaciones pretenden reducir algunos inconvenientes de la inmunoterapia como son las reacciones indeseables, aumentar la potencia sin incrementar los riesgos, alargar el intervalo entre las dosis e incluso suprimir selectivamente la producción de IgE.²⁰⁹

Debido a esto, hoy la industria farmacéutica nos ofrece una variada gama de extractos alérgicos:²¹⁰

A- ACUOSOS:

- Conservados en fenol. Para terapéutica.
- Glicerizados al 50% con o sin fenol. Para tests cutáneos.

- Liofilizados.

- En solución de albúmina sérica humana normal al 0,03 %. En los extractos de venenos.

B- DEPOT: con ellos se intenta reducir la velocidad de liberación del antígeno desde el lugar de punción, prolongando el estímulo y la frecuencia de las dosis. Los hay:

- Precipitados en aluminio: presentan el inconveniente de un elevado número de reacciones locales y formación de nódulos en el lugar de la inyección. Existe la posibilidad de reacciones sistémicas tardías. La extracción piridínica, utilizada en ocasiones, reduce mucho la potencia inmunogénica del preparado.

- Conjugados con alcinato.

- Absorbidos en tirosina.

C- MODIFICADOS: estos preparados tienen una elevada potencia inmunogénica con baja alergenicidad. Inducen la producción de mayor cantidad de anticuerpos bloqueantes. Son mejor tolerados y pueden manejarse dosis elevadas. Entre ellos se encuentran:

- ALERGOIDES: tratados con formol.

- POLIMEROS: con glutaraldehído.

- FOTOINACTIVADOS: con luz ultravioleta.

I.3.6. PAUTAS DE ADMINISTRACION.-

Según el calendario de administración, se emplean habitualmente dos pautas:²⁰⁰

La preestacional: indicada en las alergias a pólenes. Las dosis de extracto se administran únicamente durante un determinado periodo tiempo previo a la estación de polinización, para suspenderse durante ésta y el resto del año.

La continúa: la administración del extracto se realiza durante todo el año. Cuando existe alguna época donde los síntomas se reagudizan, se suspenden o se reducen las dosis.

Existen tres formas de alcanzar la dosis de mantenimiento:¹⁰⁰

En primer lugar el esquema clásico: consiste en dosis paulatinamente crecientes a intervalos primeros semanales, hasta alcanzar la dosis de mantenimiento que suele ser mensual.

la inmunoterapia rápida (rush): trata de alcanzar la pauta de mantenimiento de forma muy precoz, en tan sólo 2 ó 3 días, con sesiones diarias de dosis crecientes a intervalos de 30 a 60 minutos.

Y en tercer lugar la semirrápida (cluster): parecida a la anterior, pero con sesiones de dosis crecientes distanciadas una semana. Se alcanza el

mantenimiento en 1 ó 2 meses.

Las pautas rápidas ofrecen la ventaja de conseguir la estabilización del tratamiento de forma casi inmediata, disminuyendo el número de inyecciones y obteniendo los efectos beneficiosos precozmente. Muestran los inconvenientes de un importante aumento en reacciones indeseables, requerir el ingreso de los enfermos para su aplicación, los sujetos deben estar estables y con FEV1 mayor del 80% y hay que administrar pretratamiento con antihistamínicos y/o esteroides.

Estas pautas se utilizan principalmente en las alergias a venenos de himenópteros. En el asma secundario a aeroalergenos, el cociente riesgo/beneficio elevado, no parece justificar su empleo rutinario. Algunos investigadores la defienden aludiendo que la reducción en el número de inyecciones y del periodo de dosificación ascendente, disminuye los riesgos de reacciones secundarias, ya que es en este periodo y como consecuencia de errores y falta de atención médica, cuando se producen el mayor número de reacciones graves.²¹¹

Los beneficios clínicos son parecidos en dos forma de tratamiento.²¹²

Desde el punto de vista inmunológico, las pautas lentas aumentan más las cifras de IgG y reducen

de forma más significativa la positividad de los tests cutáneos,²¹³ y las pautas rápidas incrementa más la IgE específica inicialmente, ofreciendo un cociente IgE/IgG más elevado que las lentas.

Los estudios sugieren que los efectos de la inmunoterapia son dosis-dependiente.²¹⁴ Este hecho ha inducido a algunos investigadores a emplear la llamada dosis máxima de mantenimiento, dosis que el enfermo puede tolerar sin manifestar reacciones secundarias, con objeto de encontrar la pauta ideal e individualizada. La búsqueda y obtención de esta dosis máxima implica la aparición de alguna reacción secundaria en el enfermo durante el periodo de incremento de las dosis,¹⁹⁷ por lo que su práctica habitual es peligrosa.

La duración del tratamiento inmunoterápico es desconocida, existen pautas orientativas:^{148,200}

- En general la duración será de 3 a 5 años.
- Se debe mantener hasta que el enfermo esté libre de síntomas durante un mínimo de dos años.
- Se debe suspender si tras uno o dos años de tratamiento correcto no ha habido ninguna mejoría.

La reaparición de la sintomatología suele acontecer en el primer año de la discontinuación del tratamiento hiposensibilizante.¹⁴⁸ En un trabajo se comprueba que tras 6 años de la interrupción del

tratamiento inmunoterápico, se mantienen algunos de los efectos de ésta sobre la clínica y los test cutáneos.²¹⁵

I.3.7. SEGUIMIENTO. -167

Se dispone de varios métodos para el control y el seguimiento de la terapéutica hiposensibilizante:

1.- Métodos SUBJETIVOS:

- "Score" de síntomas.
- Consumo de fármacos.
- Valoración subjetiva del enfermo.
- Valoración subjetiva del médico.
- Métodos indirectos a través del número de hospitalizaciones, bajas laborales etc...

2.- Métodos OBJETIVOS:

a) In vivo:

- Tests cutáneos.
- Tests de provocación específicos: nasales, conjuntivales y bronquiales.
- Tests bronquiales inespecíficos.
- Flujo pico.

b) In vitro:

- Determinación de niveles de anticuerpos: IgE totales y específicos, IgG específica (subclases), IgA, IgM, IgD, Anticuerpos anti-idiotipo.

- Cambio en las poblaciones linfocitarias.
- Liberación específica de histamina leucocitaria.
- Prueba de degranulación de los basófilos.
- Activación de plaquetas.

I.3.8. REACCIONES ADVERSAS.-

La terapéutica hiposensibilizante es potencialmente peligrosa, ya que pueden aparecer durante su administración reacciones alérgicas graves que pueden llegar a poner en peligro la vida del enfermo.

Las reacciones puede ser localizadas en el punto de punción o generalizadas.

Las localizadas, se presentan como enrojecimiento, prurito e hinchazón, sobre el lugar de la inyección. Pueden aparecer en menos de 30 minutos, en cuyo caso se denominan precoces, o bien, al cabo de 1 hora o más, denominándose en este caso tardías.²⁰⁰

Estas reacciones a veces son útiles para el seguimiento de la correcta dosificación de los extractos alérgicos.

Las generalizadas se presenta con síntomas como rinitis, enrojecimiento y prurito generalizados, urticaria, angioedema, broncoespasmo, mareos, náuseas y vómitos, zumbidos en los oídos, dolor abdominal y

relajación de esfínteres.

Su frecuencia varía según los trabajos desde el 0,1% ²¹⁶ al 7% ²¹⁷ de los pacientes tratados. Suelen aparecer durante los 30 minutos siguientes a la administración de la dosis; pero en el 38% de las ocasiones se han registrado más allá de los 30 minutos, llegando en algún caso a las 6 horas. ²¹⁷ Estas reacciones sistémicas aparecen más frecuentemente con las pautas rápidas (36,2%) que con las pautas escalonadas (5,4%), ²¹⁸ y cuando el FEV1 del enfermo es inferior al 80% del previsto (73,3%). ²¹⁹

La consecuencia de algunas de estas reacciones sistémicas ha sido la muerte del enfermo. En el trabajo de Lockey, ²²⁰ se contabilizan hasta 46 fallecimientos acaecidos durante la práctica de inmunoterapia o tests cutáneos entre los años 1945 y 1986. En el estudio del Comité de Seguridad Médico del Reino Unido, ²²¹ se registran 26 éxitos secundarios a inmunoterapia en el Reino Unido, en un periodo de 29 años, desde 1957 a 1986. En ambos estudios se detecta la aparición de la sintomatología por encima de los 30 minutos en muchos casos, e incluso, en algunos por encima de los 90 minutos. Esto obliga a extremar las precauciones a la hora de la administración del tratamiento hiposensibilizante, prestando atención a

la sintomatología del enfermo y teniendo disponible un equipo completo de resucitación cardiopulmonar.²²²

Otro tipo de reacciones de adversas consisten en la aparición de nódulos subcutáneos persistentes en el lugar de punción, secundarios a dermatitis de contacto al aluminio,²²³ y fibrosis localizadas.²²⁴

Se ha comentado la existencia de síntomas parecidos a los de la enfermedad del suero en los enfermos tratados con vacunas hiposensibilizantes;²²⁵ no obstante, no existe buena documentación sobre el tema y Negrini et al,²²⁶ no encuentran aumentadas las cifras de complejos inmunes circulantes en los pacientes bajo tratamiento inmunoterápico.

1.4. JUSTIFICACION DEL TRABAJO:

Hay dos hechos que vienen a justificar los trabajos de investigación llevados a cabo sobre el tratamiento del asma bronquial.

En primer lugar, el asma bronquial extrínseco es una enfermedad relativamente frecuente entre la población. Se calcula que aproximadamente la prevalencia acumulativa de asma infantil se encuentra entre el 0,7 y el 7,4%, población sobre la que además

causa frecuente absentismo escolar, y en los adultos entre el 1,1 y el 9,9%; siendo la incidencia anual del orden del 1%.^{227,228}

Se da la paradoja de un incremento en la mortalidad por asma bronquial, a pesar de los mejores conocimientos que poseemos sobre la enfermedad y la extensa y efectiva farmacopea disponible.

Los datos concretos son los siguientes:

- En Gales e Inglaterra, de una tasa de mortalidad en 1977 del orden del 5,3/100.000 habitantes, se pasó a 9,4/100.000 habitantes en 1985.

- En Dinamarca de 1,2/100.000 en 1975, a 3,2/100.000 en 1982.

- En Alemania de una tasa de 7,7/100.000 en 1977 a 9,4/100.000 en 1985.

- En EEUU de 0,9/100.000 en 1978, a 1,6/100.000 en 1984.

Como vemos, las cifras de mortalidad llegan a duplicarse, en algunos casos, en corto periodo de tiempo. Las causas de esta situación se piensa que están tanto en un aumento de la prevalencia, como del número de enfermos graves entre la población de asmáticos.

En segundo lugar, ya hemos comentado, que desde 1911 en que la inmunoterapia viera por primera vez la luz, se han realizado miles de estudios y

trabajos de investigación en diferentes sentidos, intentando comprobar, con más o menos éxito, su efectividad clínica y esclarecer su o sus mecanismos de acción. El Dr. Dreborg,¹⁶⁴ contabiliza en tan sólo 13 años (1975-1988), más de 1.500 artículos publicados.

Es frustrante comprobar como todavía en los últimos trabajos de revisión,¹⁶³⁻¹⁶⁷ continúa la discusión sobre la efectividad de la inmunoterapia, y es evidente el desconocimiento a cerca de sus mecanismos de acción.

Si la inmunoterapia tiene algo que decir en el asma bronquial, y en qué medida, es algo que debemos esclarecer; ya que la enfermedad sigue avanzando a pesar de todo.

OBJETIVOS

II. OBJETIVOS:

El objetivo principal de nuestro estudio es valorar si la inmunoterapia en los enfermos de asma extrínseco, añade algún tipo de beneficio al tratamiento convencional o medicamentoso.

El efecto de la inmunoterapia se va a estudiar sobre dos modelos de asma extrínseco:

1 POLINICO-ESTACIONAL.

2 ACAROS-PERENNE.

Ambos tienen el mismo mecanismo etiopatogénico, pero el patrón de exposición al alérgeno de cada uno, imprime diferencias clínicas, evolutivas y pronósticas tan importantes, que las hace entidades independientes.

La valoración de la efectividad se realizará mediante:

a) "SCORE" DE SINTOMAS/MEDICACION:
mejorar la clínica de los enfermos y reducir el consumo de medicación antiasmática, debe ser un

objetivo prioritario en cualquier terapéutica.

b) TESTS CUTANEOS: a través de ellos comprobaremos el grado de sensibilización de los enfermos al alérgeno y sus modificaciones con el tratamiento hiposensibilizante.

c) Determinación de ANTICUERPOS IgE totales y específicos: como parámetros inmunológicos.

d) TEST DE PROVOCACION BRONQUIAL INESPECIFICO: para valorar el grado de hiperreactividad bronquial de la vía aérea. Ya se ha comentado que la inflamación causada por el proceso alérgico, se correlaciona de alguna forma con la reactividad aumentada. Es interesante comprobar si la inmunoterapia logra reducir dicha hiperreactividad y por tanto la inflamación de la vía aérea.

MATERIAL Y METODO

III. MATERIAL Y METODO:

Para alcanzar nuestros objetivos, se diseñó un estudio prospectivo que consistió en realizar a una población de enfermos asmáticos atópicos, en régimen ambulatorio dos controles, uno antes y otro después de un periodo de seguimiento mínimo de 12 meses. Durante éste, un grupo iba a recibir tratamiento hiposensibilizante junto al tratamiento convencional y otro, únicamente tratamiento convencional. Los grupos se eligieron de forma aleatoria a medida que se reclutaban pacientes para el estudio.

A los enfermos se les exigió como criterios de inclusión, tener una edad superior o igual a 7 años, no haber recibido tratamiento inmunoterápico previo y padecer asma atópico sensible a pólenes o a ácaros, con manifestaciones clínicas al menos durante los dos últimos años. El diagnóstico se realizó por la concordancia entre una historia clínica típica de tos, sibilancias y disnea en crisis, bien de forma

estacional o perenne, con o sin rinoconjuntivitis acompañante, tests cutáneos positivos a pólenes o ácaros, y una IgE total y específica elevadas.

Los controles que se practicaron antes y después del periodo de tratamiento, consistieron en:

- 1) Cuantificación de síntomas y necesidad de tratamiento.
- 2) Medición de tests cutáneos.
- 3) Determinación de IgE total y específica.
- 4) Test de provocación bronquial con metacolina.

La época del año en que se llevaron a cabo estos controles fue la misma aproximadamente para cada enfermo y siempre fuera de la primavera en el caso de los pacientes sensibles a pólenes.

III.1. Los síntomas y la necesidad de medicación se cuantificaron de forma subjetiva, según lo manifestado por el enfermo durante la visita y de acuerdo a la siguiente escala:

0 = asintomático.

1 = presenta clínica 1 ó 2 veces al año de intensidad leve, que cede con el tratamiento fácilmente y durante las intercrisis no tiene síntomas ni requiere medicación.

2 = presenta clínica unas 3 ó 4 veces al año de moderada intensidad, que cede con tratamiento y en intercrisis no tiene clínica ni requiere medicación.

3 = tiene clínica con una frecuencia casi mensual de intensidad moderada, ha necesitado acudir a urgencias en alguna ocasión, durante las intercrisis tiene clínica y en ocasiones requiere también medicación.

4 = presenta clínica de intensidad severa con una frecuencia mensual y en intercrisis tiene clínica y requiere medicación.²²⁹

Los síntomas cuantificados fueron: nasales (estornudos, rinorrea, prurito y taponamiento), oculares (epífora, prurito y enrojecimiento) y bronquiales (tos, sibilancias y disnea).

III.2. Los tests cutáneos se realizaron por técnica de prick siguiendo las recomendaciones del Dr. Dreborg.²³⁰

El personal dedicado a esta labor es único y muy entrenado.

Antes de proceder con el test, nos asegurábamos de que el enfermo no recibía en ese momento alguna medicación que pudiese alterar los resultados, prestando especial atención al tratamiento con antihistamínicos, exigiéndose su retirada, hasta de dos meses en el caso de los preparados de larga duración.

Los tests se hicieron sobre el antebrazo del

enfermo con control positivo de hidrocioruro de histamina, a una concentración de 10 mg/cc (el control positivo con soluciones de 1 mg/cc de histamina, produce habones más pequeños y menos reproductibles), y control negativo de suero salino. La técnica aplicada fue la directa, es decir, primero se realiza la punción y luego se deposita el extracto para evitar la contaminación con la lanceta, retirándose seguidamente el exceso de extracto. Se procedía finalmente a la lectura del test transcurridos 20 minutos desde su aplicación.

Los extractos utilizados son del tipo glicerizados al 50 % y conservados en fenol, estandarizados en unidades biológicas (BU) Brighton,²⁰⁴ con una potencia de 100 BU/cc (que produce en los individuos sensibles una área papular media, por prick, de 75 mm²).

En el estudio se han empleado las áreas de los habones que resultan del producto de los diámetros perpendiculares. Para la monitorización de la sensibilidad del enfermo, se compararon los tamaños de los habones antes y después del tratamiento (o seguimiento en el caso de los controles), ante la misma actividad biológica de 100 BU/cc.

Para comprobar la reproductibilidad del método, a 20 pacientes (5 mujeres y 15 hombres)

sensibles conocidos y sin tratamiento previo alguno, se les realizó el test cutáneo con la técnica expuesta en tres ocasiones durante tres semanas consecutivas.

III.3. La IgE total y la IgE específica se determinaron por técnica de radioinmunoensayo (IgE RIACT y RAST-RIA CAPsystem). Los resultados de IgE total se obtuvieron en KU/l hasta un máximo de 600. La IgE específica se cuantificó en clases de 0 a 4.

III.4. El test de provocación bronquial con metacolina se realizó a enfermos mayores de 15 años, tras practicar una espirometría basal y comprobar que su FEV₁ era mayor o igual al 80% del teórico y su FEV₁/FVC mayor o igual al 70%. Igualmente se exigió la ausencia de los factores que alteran la dinámica bronquial enumerados por la "normativa SEPAR".²³¹

En las mediciones espirométricas se utilizó un espirómetro de campana de 9 litros (Espirograph). La metacolina se administró con un nebulizador De Vilbiss 35B, que emite partículas de 2 a 3 micras de diámetro.

Como criterio de positividad se usó la caída del 20% del FEV₁ con respecto al obtenido tras la inhalación de diluyente, que se tomó como el 100%.

El diluyente estaba compuesto de 0,5% de

cloruro sódico, tamponado (pH aprox. a 7.0) con 0,275% de bicarbonato y fenol al 0,4% para su conservación.²³¹

Se emplearon dos procedimientos distintos:

1º.-Según la técnica estandarizada por Júniper y Cols.²³² En resumen, se hace inhalar al enfermo durante dos minutos a volumen corriente, concentraciones crecientes (dobles) de metacolina, desde 0,125 hasta 32 mg/ml. Cada dosis sucesiva se administra a intervalos de 5 minutos, obteniéndose el FEV1 transcurridos 30 a 90 segundos de cada dosis. Los resultados se expresan como la concentración por debajo de la cual se prodce el descenso del 20% o más del FEV1, con respecto al control. Se consideró positiva la prueba cuando el descenso del FEV1 apareció por debajo de 32 mg/ml.

2ª.-Según la técnica de RR Rosenthal, sin dosímetro.²³³ Se dan 5 inhalaciones desde FRC hasta TLC de concentraciones crecientes (0,025, 0,25, 2,5, 10, 25 mg/cc) de metacolina, con las que se obtienen unidades inhalatorias (UI) acumuladas de metacolina (0,125, 1,375, 13,88, 63,88, 188,88 UI acumulativas)(ver tabla nº1). La espirometría se realiza en el intervalo de 5 minutos tras cada dosis. Los resultados se expresaron en UI por debajo de las cuales se produjo la caída del FEV1. Se consideró

positiva la prueba cuando el descenso del FEV1 se produjo por debajo de 188,88 UI.

Para comparar los dos métodos, se procedió a clasificar por niveles de hiperreactividad ambas escalas en muy grave, grave, moderado, leve y ligero. Esta graduación se realizó tras comprobar que algunos autores ya habían clasificado a los enfermos de asma en este sentido, utilizando distintos métodos de provocación con histamina y metacolina.^{234, 235, 236} Seguidamente y para la realización del estudio estadístico se cuantificaron los distintos grados, tal y como se expone en la tabla, dándoseles el valor del logaritmo de las UI acumuladas correspondiente a cada nivel, consiguiéndose de esta forma una escala proporcional y unificada (ver tabla nº2). Por tanto, a partir de este punto cada vez que se hable de niveles de hiperreactividad nos estaremos refiriendo a esta escala propia.

Tal y como se procedió con los tests cutáneos comprobando su reproductibilidad, igualmente se comprobó la reproductibilidad del test de provocación bronquial con metacolina. Para ello, se practicó el test a 20 pacientes hiperreactivos conocidos y sin tratamiento previo alguno, en tres ocasiones durante tres semanas consecutivas.

Los enfermos tratados con inmunoterapia recibirían tratamiento hiposensibilizante y convencional a la vez y los controles únicamente tratamiento convencional. La terapéutica que se llamó convencional consistió en broncodilatadores y corticoides inhalados durante las crisis, con o sin teofilinas orales y tratamiento preventivo con cromoglicato inhalado y medidas higiénicas encaminadas a disminuir la exposición al antígeno. También se incluyó tratamiento sintomático para las manifestaciones rinoconjuntivales, con antihistamínicos de larga duración y corticoides nasales.

La terapéutica hiposensibilizante se indicó siguiendo la correlación entre clínica, tests cutáneos e IgE específica. Los extractos empleados, son del tipo depot absorbidos en gel de hidróxido de aluminio no piridín extraídos, estandarizados en BU Brighton²⁰⁴. La pauta de administración está representada en la tabla n°3, alcanzándose la dosis de mantenimiento aproximadamente en 3 meses, sin buscar la máxima dosis tolerada por el paciente. Los enfermos que por cualquier motivo no la cumplieron se descartaron. Las dosis no necesariamente se administraron en nuestro centro.



III.5. El estudio estadístico se realizó con un paquete para ordenadores compatibles, denominado "STATMODE".

Las variables como tests cutáneos y dosis de metacolina, previamente a la aplicación del aparato matemático estadístico, se transformaron sus cifras a logaritmos.

Se empleó la T pareada o el test de Wilcoxon (en el caso de un número de datos inferior a 30 y/o variables ordinales) cuando se trataba de ver el comportamiento del mismo parámetro antes y después, y la T no pareada o el test de Mann-Whitney (mismas condiciones que con el W-test) para las variables independientes. En las variables cualitativas se ha aplicado el test de Chi-cuadrado. Para el estudio de las correlaciones entre las distintas variables, se han aplicado los test de Spearman y Kendall.

Para el estudio de la reproductibilidad de los tests cutáneos y del test de provocación con metacolina, se han seguido las recomendaciones de la Dra. S. Chinn.²³⁷

Se estimó el tamaño de la muestra necesario para un α de 0,05, β de 0,2 unilateral, ϵ de 2,12.

RESULTADOS

IV. RESULTADOS:

IV.1. DATOS DE LA POBLACION AL INICIO DEL ESTUDIO.-

La población (ver tabla nº4 y figura nº2) quedó definitivamente compuesta por 128 sujetos, 58 varones y 70 hembras, afectados de asma bronquial atópico que cumplían las condiciones de inclusión impuestas en nuestro material y método. En 63 de ellos se asoció su clínica asmática con la exposición a pólenes y en 65 con la presencia de ácaros.

La edad media de la población completa a estudiar era de 21 SD10 años, con un rango entre 7 y 49 años.

El tiempo medio durante el que se mantuvieron los enfermos bajo seguimiento fue de 19 SD7 meses, con un rango entre 10 y 48 meses. Únicamente un caso fue seguido durante 10 meses y otro caso durante 11 meses, el resto de ellos cumplen al menos 12 meses de seguimiento.

IV.1.1. La población sensible a pólenes (ver tabla nº5 y figura nº3) la componían 63 enfermos, 20 varones y 43 hembras, con una edad media de 23 SD11 años, y un rango de 8 a 49 años.

Fueron seguidos durante 20 SD7 meses de media, con un rango de 12 a 36 meses.

Durante este tiempo los enfermos permanecieron adscritos a un grupo determinado de tratamiento, bien con inmunoterapia y tratamiento convencional juntos, o bien, únicamente con tratamiento convencional, como casos control. Ambas poblaciones mostraron a su vez las características demográficas que seguidamente exponemos.

Los enfermos tratados con inmunoterapia eran 42, 17 varones y 25 hembras, con una edad media de 21 SD10 años, y un rango entre 8 y 49 años.

El tiempo medio durante el que fueron seguidos fue de 21 SD7 meses, con un rango de 12 a 36 meses.

El grupo control estaba compuesto por 21 individuos, 3 varones y 18 hembras, con una edad media de 28 SD11 años y un rango entre 11 y 46 años.

Fueron seguidos durante 19 SD6,5 meses, con un rango de 12 a 36 meses.

En la tabla nº7 aparecen las cifras de las

diferentes variables determinadas en ambos grupos de tratamiento, donde se encuentra el "score" clínico/tratamiento nasal, ocular, de tos, sibilancias y disnea, los tests cutáneos, la IgE total y específica, y el test de provocación bronquial con metacolina, al inicio del seguimiento.

Aun cuando la población total de enfermos estudiados fue de 128 (63 y 65) tal y como se ha expuesto anteriormente, no se han podido llevar a cabo todas las determinaciones sobre dicha población total, y algunas están realizadas sobre una fracción de ella. Más adelante, en este mismo capítulo, en el epígrafe denominado "resultados obtenidos al final del estudio", se aclarará para cada parámetro, el número exacto de enfermos sobre los que se ha determinado. Los datos también se ofrecen en las tablas.

Ambas poblaciones mostraron algunas diferencias estadísticamente significativas en algunas variables como la edad, (ver tabla nº5) en la que el grupo control mostró tener mayor edad media (28 SD11) que el grupo tratado con inmunoterapia (21 SD10). Eliminados los enfermos menores de 15 años del grupo inmunizado, la edad media ascendió a 26 SD9 años con rango de 16 a 49 años y la diferencia estadística desapareció (tabla nº11). Asimismo, en el tamaño de habón cutáneo y las cifras IgE específica (ver tabla

nº7) hubo diferencias, en este caso, el grupo de enfermos tratados con inmunoterapia ofrecía cifras medias más elevadas que el grupo control. En el resto de parámetros determinados como la distribución por sexos, el tiempo de seguimiento, el "score" clínico, la IgE total y la metacolina, ambos grupos se comportaron de forma comparable.

El trabajo está realizado a lo largo de las primaveras de 1988, 1989, 1990 y 1991, según la distribución que se muestra en el figura nº4. Esta distribución fue proporcional para los dos grupos de tratamiento.

IV.1.2. La población sensible a ácaros (tabla nº6 y figura nº3) estaba formada por 65 integrantes, 38 varones y 27 hembras, con una edad media de 19 SD10 años, y un rango entre 7 y 49 años.

Fueron seguidos durante un tiempo medio de 18 SD7 meses, con un rango entre 10 y 48 meses.

Al igual que se hizo con la población de enfermos sensibles a pólenes, los enfermos sensibles a ácaros, durante el tiempo en que fueron estudiados, se dividieron en dos grupos de tratamiento.

La población que recibió inmunoterapia y tratamiento convencional, de forma conjunta, estaba formada por 43 enfermos, 23 varones y 20 hembras, con una

edad media de 18 SD10 años, y rango entre 7 y 49 años.

Fueron seguidos durante 20 SD8 meses de media, con un rango entre 11 y 48 meses.

El grupo control lo componían 22 sujetos, 15 varones y 7 hembras, con una edad media de 20 SD9 años y rango entre 10 y 39 años.

Fueron seguidos durante un tiempo medio de 14 SD3 meses, con un rango entre 10 y 24 meses.

Ambos grupos (tabla nº8) se mostraron comparables en todos los parámetros determinados excepto en la metacolina, donde el grupo tratado con inmunoterapia mostró unos niveles medios más elevados de hiperreactividad bronquial que el grupo control.

IV.2. MODIFICACIONES OBTENIDAS AL FINAL DEL ESTUDIO.-

IV.2.1. Score clínico/tratamiento:

IV.2.1.1. Sensibles a pólenes (tabla nº9):
el grupo de 42 enfermos tratado con inmunoterapia mostró, una reducción muy significativa ($p \leq 0,01$) de la sintomatología y de la necesidad de tratamiento convencional, en todas las manifestaciones clínicas de la enfermedad alérgica: nasal, ocular (figura nº5) y bronquial, en la que se valoran la tos, las sibilancias y la disnea de forma independiente (figura nº6).

Por el contrario el grupo de 21 enfermos control, que únicamente recibió tratamiento convencional, se mantuvo en cifras, en algunos casos algo más reducidas, pero sin llegar a obtener significación estadística en ninguno de los contajes realizados. Eliminados del grupo tratado los menores de 15 años, se mantienen las reducciones significativas de la sintomatología (ver tabla nº11).

IV.2.1.2. Sensibles a ácaros (tabla nº10):
se obtuvieron reducciones importantes y significativas ($p \leq 0,01$) del "score" nasal (figura nº7), de la tos, las sibilancias y la disnea (figura nº8), en los dos grupos de tratamiento, es decir, en los 43 enfermos tratados con inmunoterapia y tratamiento convencional y en los 22 tratados únicamente de forma convencional o grupo control. El "score" de clínica/tratamiento ocular no mejoró en ninguno de ellos. En definitiva, ambos esquemas de tratamiento no presentaron diferencias de comportamiento.

IV.2.2. Los tests cutáneos:

IV.2.2.1. Sensibles a pólenes (tabla nº9):
el área media (geométrica) de habón cutáneo al final del estudio, se redujo de forma muy importante en los 41 enfermos seguidos y que habían recibido tratamiento hiposensibilizante. De 44 mm^2 SD $x/\div 2$ se descendió a

27 mm² SD x/\div 2, con una $p \leq 0,01$. El grupo de 19 enfermos control, en los que se verificaron los tests cutáneos, presentó un ligero y no significativo aumento en su área media (geométrica) de habón cutáneo, y así, de 23 mm² SD x/\div 1,8 al inicio de estudio, se pasó a 30 mm² SD x/\div 2,3 de área al final del mismo (figura nº9). Las reducciones significativas se mantienen eliminando los individuos menores de 15 años del grupo tratado con inmunoterapia (tabla nº11).

IV.2.2.2. Sensibles a ácaros (tabla nº10): tras el tratamiento con inmunoterapia, el grupo de 43 enfermos hiposensibilizados, redujeron su área media (geométrica) de habón cutáneo de 41 mm² SD x/\div 1,8, que mostraban al inicio del estudio, hasta 25 mm² SD x/\div 2,3, con una $p \leq 0,01$. El grupo de 21 enfermos control, presentó un ligero y no significativo incremento de sus áreas papulares. De 41 mm² SD x/\div 2,3 se pasó a 50 mm² SD x/\div 2,6 (figura nº10).

IV.2.3. IgE total:

IV.2.3.1. Sensibles a pólenes (tabla nº9): en los 22 enfermos tratados con inmunoterapia, en los que llevó a cabo la medición de la IgE total al inicio y al final del estudio, no se consiguieron modificaciones significativas en las cifras de IgE, a lo sumo ligeras reducciones. De 400 SD189 KU/1,

antes del inicio del tratamiento, a 359 SD192 KU/1 tras finalizar éste. Los 16 enfermos que conformaban el grupo control, presentaron un ascenso muy modesto en sus determinaciones medias, que en ningún momento llegó a ser significativo. Las 295 SD233 KU/1 antes del tratamiento ascendieron hasta 302 SD231 KU/1 al final (figura nº11).

IV.2.3.2. Sensibles a ácaros (tabla nº10): las modificaciones en los niveles de IgE total, son muy ligeras y casi imperceptibles. Los 33 enfermos tratados con inmunoterapia en los que se llevó a cabo la determinación de IgE total antes y después del tratamiento, mostraron los valores de 441 SD196 KU/1 antes, frente a 410 SD197 KU/1 después. En el caso de los 14 enfermos que sirvieron como controles, las cifras obtenidas fueron 331 SD232 KU/1 antes, frente a 327 SD229 KU/1 después (figura nº12).

IV.2.4. RAST:

IV.2.4.1. Sensibles a pólenes (tabla nº9): no se han encontrado diferencias significativas en los niveles de IgE específica, ni en los enfermos tratados ni en los enfermos controles (figura nº13).

IV.2.4.2. Sensibles a ácaros (tabla nº10): tampoco se han encontrado diferencias significativas

en ningún grupo de tratamiento (figura nº14).

IV.2.5. Test de provocación bronquial con metacolina:

IV.2.5.1. Sensibles a pólenes (tabla nº9): tanto en los enfermos tratados con inmunoterapia, como en los enfermos control, se consiguieron aumentos en las dosis medias de metacolina necesaria para la provocación de la positividad del test. Así, los 19 enfermos que formaban el grupo hiposensibilizado, de 0,45 SD1,23 pasaron a 1,15 SD1,16. Y los 11 enfermos control, en los que se verificó el test antes y después del seguimiento, de 0,54 SD1,26 a 1,25 SD1,17. La significación estadística ($p \leq 0,05$) únicamente se alcanzó en el grupo de los 19 enfermos tratados con inmunoterapia y no en el grupo de los 11 enfermos control (figura nº15). Las cifras que se están manejando corresponden a la escala particular elaborada y expuesta en la tabla nº2.

IV.2.5.2. Sensibles a ácaros (tabla nº10): los valores obtenidos muestran como los 10 enfermos incluidos en el grupo hiposensibilizado y los 9 enfermos control, reducen su hiperreactividad bronquial inespecífica de forma significativa. Las cifras respectivamente son, -0,8 SD0,32 antes y -0,08

SD0,9 después ($p \leq 0,05$), y -0,09 SD0,68 antes y 1 SD1,13 después ($p \leq 0,01$) (figura nº16).

IV.3. CORRELACIONES. -

Se han estudiado las correlaciones de las variables que mostraron cambios a lo largo del estudio en dos sentidos. Uno, asociando los valores antes y después del tratamiento, y otro, asociando los respectivos descensos a lo largo del seguimiento.

En primer lugar, no hubo asociación entre el "score" clínico/tratamiento, tamaño de habón y nivel de hiperreactividad bronquial inespecífica, antes o después del tratamiento, en ningún grupo, ni sensible a pólenes ni sensible a ácaros.

En segundo lugar, cuando se estudiaron las variaciones relativas de las variables entre sí, únicamente se pudo correlacionar estadísticamente la reducción del "score" bronquial, con el aumento de la dosis de metacolina necesaria para desencadenar la positividad del test, (índice de correlación de Kendall igual a -0,3. $p \leq 0,05$) en el grupo de enfermos tratados con inmunoterapia sensibles a pólenes. El resto de parámetros como los tests cutáneos no se asociaron ni a la reducción clínica ni a la mejoría en la hiperreactividad bronquial. En el grupo control

sensible a pólenes, así como en el grupo completo de enfermos sensibles a ácaros, tanto tratados con inmunoterapia como controles, no se encontraron correlaciones significativas entre las variaciones de los parámetros.

IV.4. DATOS SOBRE LA ESTIMACION DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA.-

Para el "score" clínico: entre 5 y 10 enfermos, según el síntoma.

Para los tests cutáneos: 12 enfermos.

Para la IgE total: 12 enfermos.

Para la IgE específica: 10 enfermos.

Para la hiperreactividad bronquial inespecífica: 8 enfermos.

IV.5. DATOS SOBRE LA VARIABILIDAD Y REPRODUCTIBILIDAD DE LOS TESTS.-

IV.5.1. Test cutáneo:

- Coeficiente de correlación intraclase (CCI) = 0,89.
- Coeficiente de variación = 36%.
- Límites:

Desviación típica (SD): $\text{mm}^2 \times /: 1,48 \text{ mm}^2$

95% de seguridad: $\text{mm}^2 \times / : 2,18 \text{ mm}^2$

IV.5.2. Test de metacolina:

• CCI = 0,88.

• Coeficiente de variación = 40%.

• Límites:

Desviación típica (SD): Log.Dosis $\pm 0,6 \text{ log.}$

95% de seguridad: Log.Dosis $\pm 1,3 \text{ log.}$

TABLAS Y FIGURAS

TABLA N^o 1

METACOLINA mg/cc	INHALACIONES	UI *	UI ACUM.
0,025	5	0,125	0,125
0,25	5	1,25	1,375
2,5	5	12,5	13,88
10	5	50	63,88
25	5	125	188,88

* La unidad inhalatoria se define como una inhalación de una solución de metacolina o histamina que contenga 1 mg/ml.

TABLA NO 2

UI *	mg/cc	NIVEL	CUANTIFICACION
0,125	0,125	MUY GRAVE	-0,9 Log.*
1,375	1	GRAVE	0,14 Log.
13,88	2	MODERADO	1,14 Log.
63,88	8	LEVE	1,8 Log.
188,88	32	LIGERO	2,27 Log.

Se muestra la comparación entre los dos sistemas utilizados para medir la hiperreactividad, los distintos niveles de gravedad y su cuantificación.

* Unidades inhalatorias acumuladas de metacolina.

* Logaritmo de las UI correspondiente a cada nivel.

TABLA N^o 3

PAUTA DE DOSIFICACION

1 ^o 10 STU/cc.*	2 ^o 100 STU /cc.	3 ^o 1000 STU/cc.	4 ^o 1000 STU/cc.
Dosis semanales.	Dosis semanales.	Dosis semanales.	Dosis de mantenimiento.
0,1 cc	0,1 cc	0,1 cc*	0,8 cc *
0,2 cc	0,2 cc	0,2 cc	4 dosis quincenales
0,4 cc	0,4 cc	0,4 cc	luego dosis
0,8 cc	0,8 cc	0,6 cc	MENSUALES

* Para pólenes 1000 STU/cc = 25 BU/cc.
Para ácaros 1000 STU/cc = 10 BU/cc.

* En los enfermos sensibles a pólenes la inmunoterapia se suspende durante la época estacional, reiniciándose con las dosis semanales de 1000 STU/cc.

* La primera se pone a la semana de la anterior, continuando como se expresa en la tabla.

TABLA Nº 4

DATOS DE LA POBLACION TOTAL

NUMERO TOTAL	128
SENSIBLES A POLENES	63
SENSIBLES A ACAROS	65
HOMBRES	58
MUJERES	70
EDAD MEDIA \pm SD (RANGO)	21 \pm 10 (7-49)
TIEMPO MEDIO \pm SD (RANGO)*	19 \pm 7 (10-48)

* Medido en MESES.

TABLA Nº 5

DATOS DE LA POBLACION
SENSIBLE A POLENES

	TOTAL	INMUNOTERAPIA	CONTROL
NUMERO	63	42	21
HOMBRES	20	17	3
MUJERES	43	25	18
EDAD MEDIA±SD	23±11	21±10	28±11
(RANGO)*	(8-49)	(8-49)	(11-46)
TIEMPO MEDIO±SD	20±7	21±7	19±6,5
(RANGO)*	(12-36)	(12-36)	(12-36)

* $p \leq 0,05$. (t-test)

* Medido en MESES.

TABLA N^o 6

DATOS DE LA POBLACION
SENSIBLE A ACAROS

	TOTAL	INHUNOTERAPIA	CONTROL
NUMERO	65	43	22
HOMBRES	38	23	15
MUJERES	27	20	7
EDAD MEDIA \pm SD	19 \pm 10	18 \pm 10	20 \pm 9
(RANGO)	(7-49)	(7-49)	(10-39)
TIEMPO MEDIO \pm SD	18 \pm 7	20 \pm 8	14 \pm 3
(RANGO) *	(10-48)	(11-48)	(10-24)

* Medido en MESES.

TABLA N^o 7

PARAMETROS DETERMINADOS EN LA POBLACION
SENSIBLE A POLENES ANTES DEL SEGUIMIENTO

	N ^o *	INMUNOTERAPIA	N ^o	CONTROLES
SCORE CLINICO	42	Media ± SD	21	Media ± SD
Nasal		8 ± 5		6,6 ± 4,8
Ocular		3,7 ± 3,7		1,6 ± 2,1
Tos		2 ± 1,6		2,2 ± 1,6
Sibilancias		2,7 ± 0,9		3 ± 0,9
Disnea		2,3 ± 1,1		2,8 ± 1
TEST CUTANEO*	41	44 x/± 2*	19	23 x/± 1,8*
IGE Total	22	400 ± 189	16	295 ± 233
IGE Especifica	12	3,5 ± 0,6 ⁺	11	2,6 ± 1 ⁺
METACOLINA**	19	0,45 ± 1,23	11	0,54 ± 1,26

* Número de enfermos estudiados.

* Medias geométricas en mm².

* p ≤ 0,01. (t-test)

+ p ≤ 0,05. (U-test)

** Según la escala de la tabla n^o2.

TABLA Nº 8

PARAMETROS DETERMINADOS EN LA POBLACION
SENSIBLE A ACAROS ANTES DEL SEGUIMIENTO

	Nº*	INMUNOTERAPIA	Nº	CONTROLES
SCORE CLINICO	43	Media ± SD	22	Media ± SD
Nasal		5,3 ± 5,4		6 ± 5,2
Ocular		1,4 ± 2,5		1,2 ± 2,2
Tos		2,2 ± 1,6		1,9 ± 1,4
Sibilancias		2,8 ± 1,1		2,4 ± 1,1
Disnea		2,4 ± 1,3		2,4 ± 1
TEST CUTANEO*	43	41 x/÷ 1,8	21	41 x/÷ 2,3
IGE Total	33	441 ± 196	14	331 ± 232
IGE Especifica	21	2,5 ± 1,1	8	3,1 ± 1,3
HETACOLINA*	10	-0,8 ± 0,32*	9	-0,09 ± 0,68*

* Número de enfermos estudiados.

* Medias geométricas en mm².

* Según la escala de la tabla nº2.

* p≤0,05. (U-test)

TABLA Nº 9

RESULTADOS OBTENIDOS EN LA POBLACION
SENSIBLE A POLENES DESPUES DEL
SEGUIMIENTO

	Nº*	INMUNOTERAPIA		Nº	CONTROLES	
		Antes	Después		Antes	Después
		$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$		$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
SCORE CLINICO	42			21		
Nasal		8 ± 5*	4,3 ± 5,11*		6,6 ± 4,8	4,7 ± 5,3
Ocular		3,7 ± 3,7*	2 ± 3,4*		1,6 ± 2,1	1,4 ± 2
Tos		2 ± 1,6*	0,5 ± 1*,*		2,2 ± 1,6	1,8 ± 1,4*
Sibilancia		2,7 ± 0,9*	0,6 ± 0,8*,*		3 ± 0,9	2,3 ± 1,4*
Disnea		2,3 ± 1,1*	0,4 ± 0,8*,*		2,8 ± 1	2,1 ± 1,3*
TEST CUTANEO	41	44 $\bar{x} \pm 2^*$	27 $\bar{x} \pm 2^*$	19	23 $\bar{x} \pm 1,8$	30 $\bar{x} \pm 2,3$
IGE TOTAL	22	400 ± 189	359 ± 192	16	295 ± 233	302 ± 231
IGE ESPECIFICA	12	3,5 ± 0,6	3,8 ± 0,3	11	2,6 ± 1	2,7 ± 1,5
HETACOLINA**	19	0,45 ± 1,23**	1,15 ± 1,16**	11	0,54 ± 1,26	1,25 ± 1,17

* Número de enfermos estudiados.

* $p \leq 0,01$. (W-test)

* $p \leq 0,01$ (U-test) entre los grupos al final.

* $p \leq 0,01$. (t-pareada)

** Según la escala de la tabla nº2.

** $p \leq 0,05$. (W-test)

TABLA Nº 10

RESULTADOS OBTENIDOS EN LA POBLACION
SENSIBLE A ACAROS DESPUES DEL
SEGUIMIENTO

	Nº	INMUNOTERAPIA		Nº	CONTROLES	
		Antes	Después		Antes	Después
		$X \pm SD$	$X \pm SD$		$X \pm SD$	$X \pm SD$
SCORE CLINICO	43			22		
Nasal		5,3 ± 5,4*	2,5 ± 4*		6 ± 5,2*	3,7 ± 4,3*
Ocular		1,4 ± 2,5	0,7 ± 2,2		1,2 ± 2,2	0,4 ± 1,1
Tos		2,2 ± 1,6*	0,6 ± 1*		1,9 ± 1,4*	0,7 ± 1,3*
Sibilancia		2,8 ± 1,1*	0,8 ± 1*		2,4 ± 1,1*	0,8 ± 1*
Disnea		2,4 ± 1,3*	0,8 ± 1*		2,4 ± 1*	0,8 ± 1*
TEST CUTANEO	43	41 x/\div 1,8*	25 x/\div 2,3*.*	21	41 x/\div 2,3	50 x/\div 2,6*
IGE TOTAL	33	441 ± 196	410 ± 197	14	331 ± 232	327 ± 229
IGE ESPECIFICA	21	2,6 ± 1,1	3 ± 1,1	8	3,1 ± 1,3	3,5 ± 1,4
HETACOLINA**	10	-0,8 ± 0,32**	-0,08 ± 0,9**	9	-0,09 ± 0,68*	1 ± 1,13*

* Número de enfermos estudiados.

* $p \leq 0,01$. (N-test)

* $p \leq 0,01$. (t-pareada)

* $p \leq 0,01$ (t-test).

** Según la escala de la tabla n02.

** $p \leq 0,05$. (N-test)

TABLA NO 11

RESULTADOS OBTENIDOS EN LA POBLACION
SENSIBLE A POLENES MAYOR DE 15 AÑOS
DESPUES DEL SEGUIMIENTO

Edad media \pm SD	NO*	Antes	Después
26 \pm 9 años.*		X \pm SD	X \pm SD
SCORE CLINICO			
	27		
Nasal		8 \pm 5 ²	4,4 \pm 3,8 ²
Ocular		4 \pm 3,6 ²	2,2 \pm 3,4 ²
Tos		2 \pm 1,5 ²	0,6 \pm 1 ²
Sibilancia		2,7 \pm 0,9 ²	0,7 \pm 0,9 ²
Disnea		2,2 \pm 1,2 ²	0,6 \pm 0,9 ²
TEST CUTANEO	26	47 x/ \div 2 ²	30 x/ \div 2 ²

* Sin diferencias significativas con respecto al grupo control (*U*-test).

* Número de enfermos estudiados.

² $p \leq 0,05$. (*W*-test)

FIGURA Nº 2

TOTAL 128 ENFERMOS
Edad 21 años SD10 (R 7-49)
Seguimiento 19 meses SD7 (R 10-48)

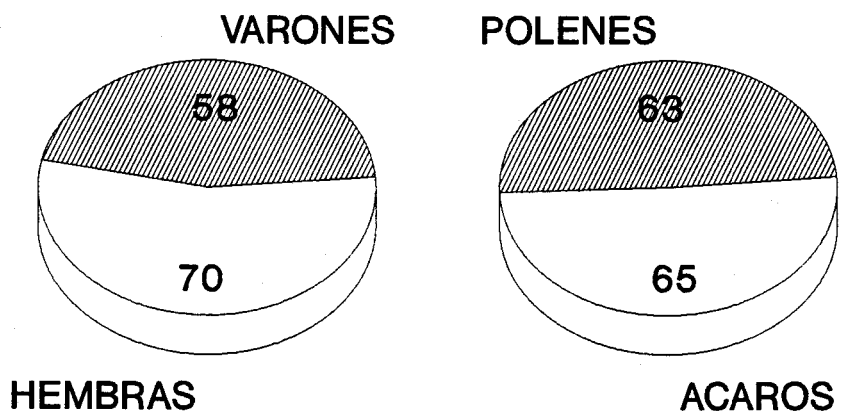


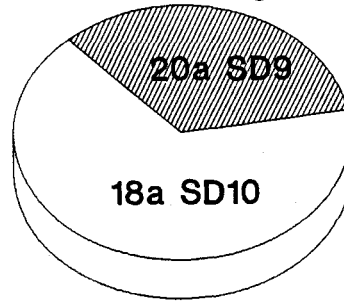
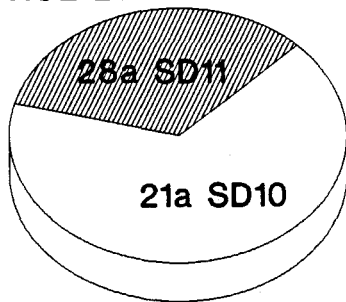
FIGURA N^o 3

POLINICOS 63

ACAROS 65

CTROL 21

CTROL 22

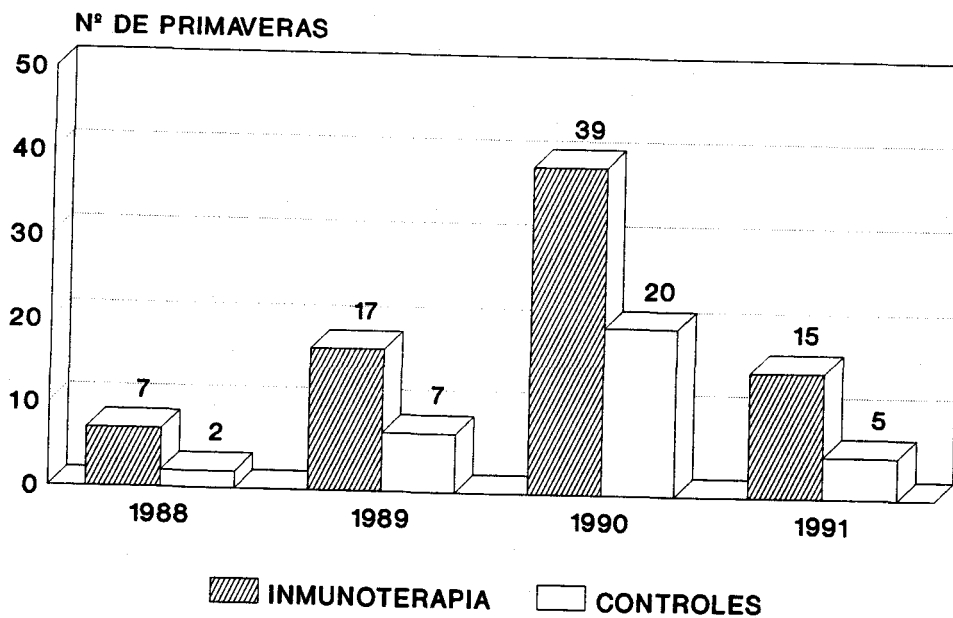


IT 42

IT 43

FIGURA NO 4

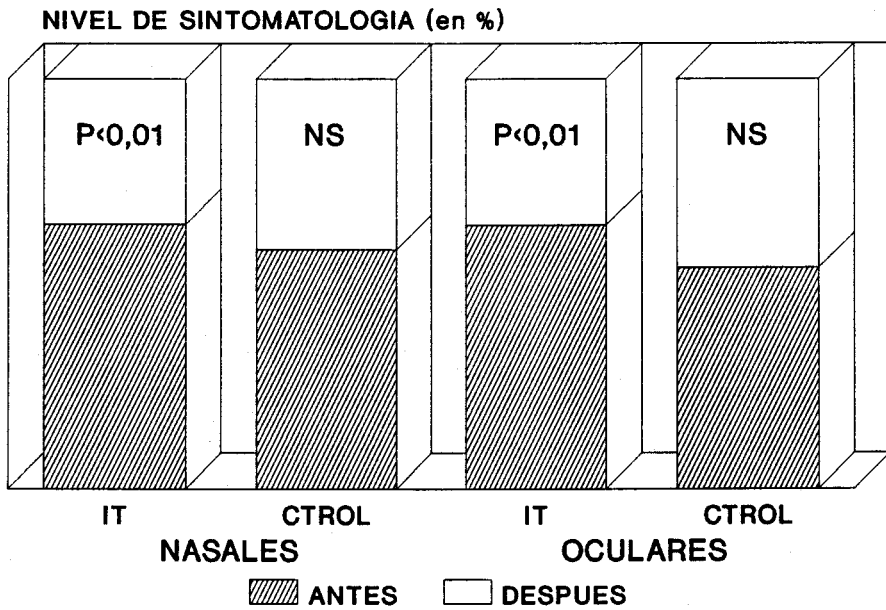
DISTRIBUCION DE PRIMAVERAS ESTUDIADAS EN LAS POBLACIONES SENSIBLES A POLENES



NS (X²)

FIGURA Nº 5

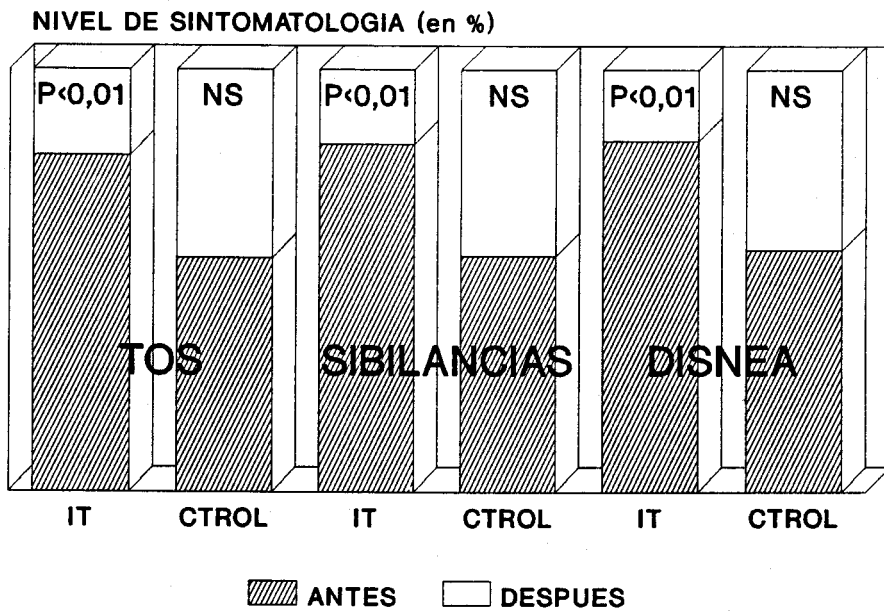
MODIFICACION DE SINTOMAS EN POLINICOS INMUNOTERAPIA 42 / CONTROLES 21



Inmunoterapia (IT). Control (Ctrol)

FIGURA Nº 6

MODIFICACION DE SINTOMAS EN POLINICOS
 INMUNOTERAPIA 42 / CONTROLES 21

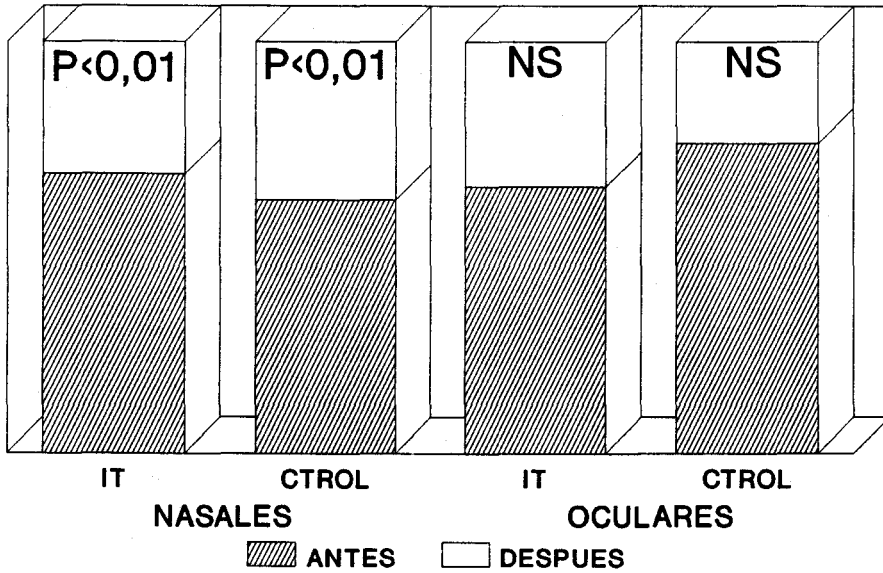


Inmunoterapia (IT) / Control (Ctrol)

FIGURA Nº 7

MODIFICACION DE SINTOMAS EN ACAROS INMUNOTERAPIA 43 / CONTROLES 22

NIVEL DE SINTOMATOLOGIA (en %)

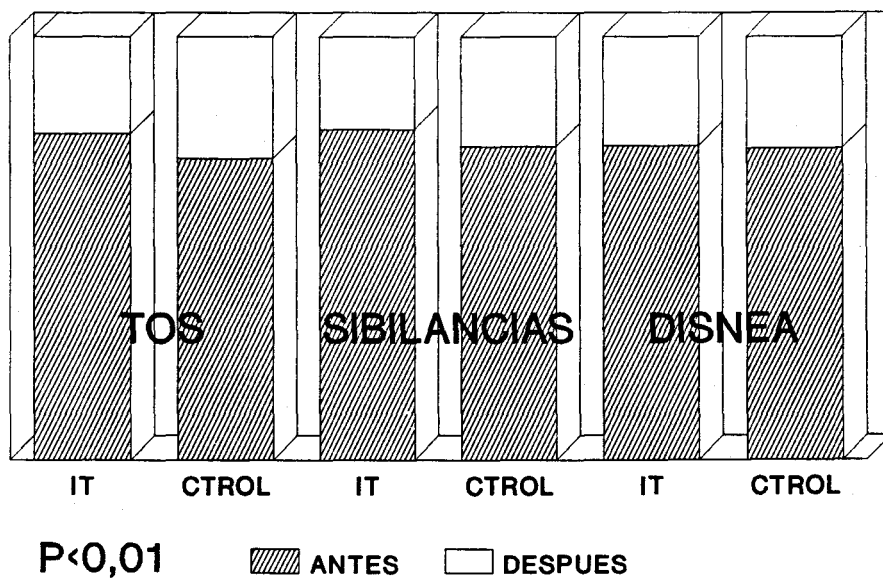


Inmunoterapia (IT). Control (Ctrol)

FIGURA Nº 8

MODIFICACION DE SINTOMAS EN ACAROS INMUNOTERAPIA 43 / CONTROLES 22

NIVEL DE SINTOMATOLOGIA (en %)



Inmunoterapia (IT). Control (Ctrol)

FIGURA Nº 9

CAMBIOS DEL TEST CUTANEO EN POLINICOS
INMUNOTERAPIA n=41 / CONTROLES n=19

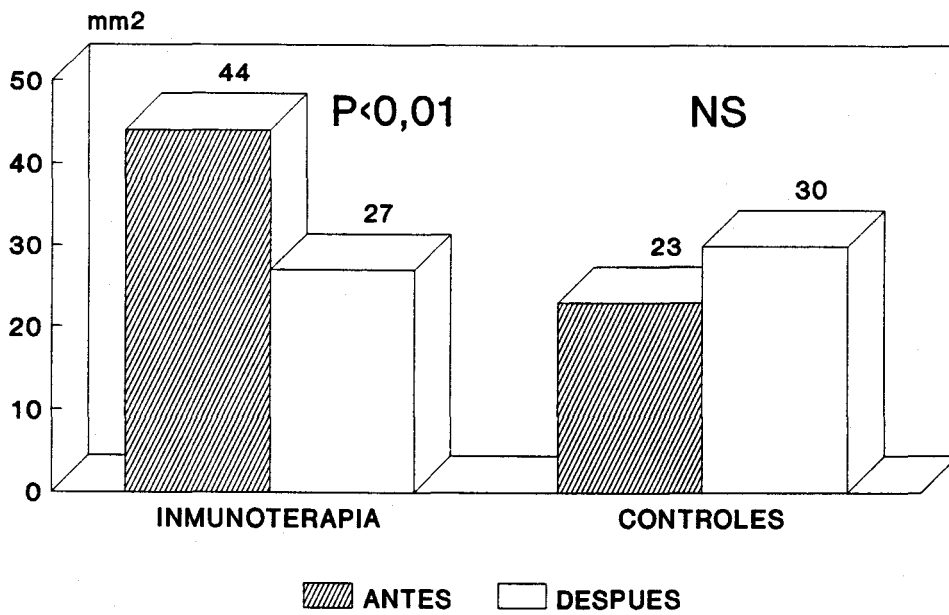


FIGURA Nº 10

CAMBIOS DEL TEST CUTANEO EN ACAROS
 INMUNOTERAPIA n=43 / CONTROLES n=21

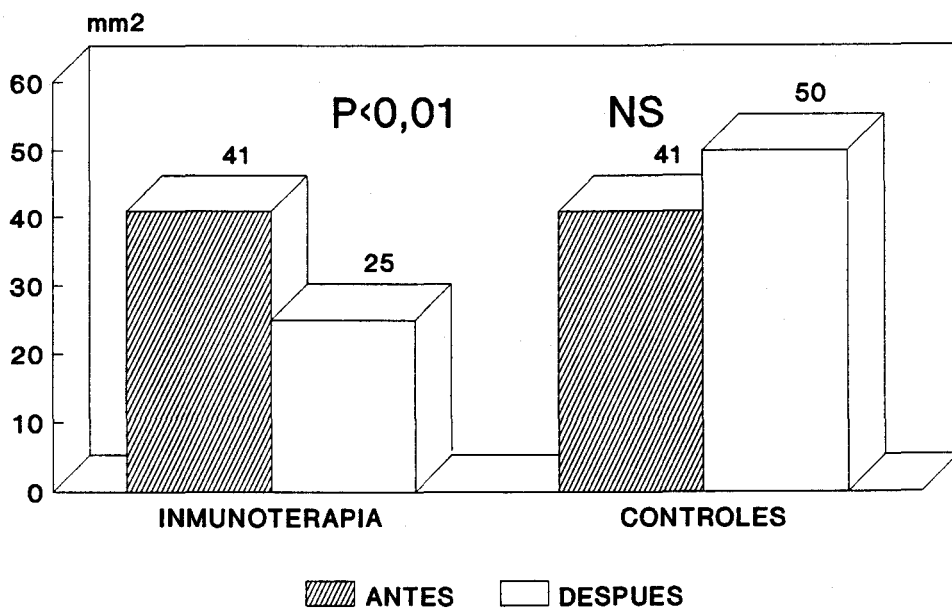


FIGURA Nº 11

MODIFICACION DE IGE TOTAL EN POLINICOS INMUNOTERAPIA n=22 / CONTROLES n=16

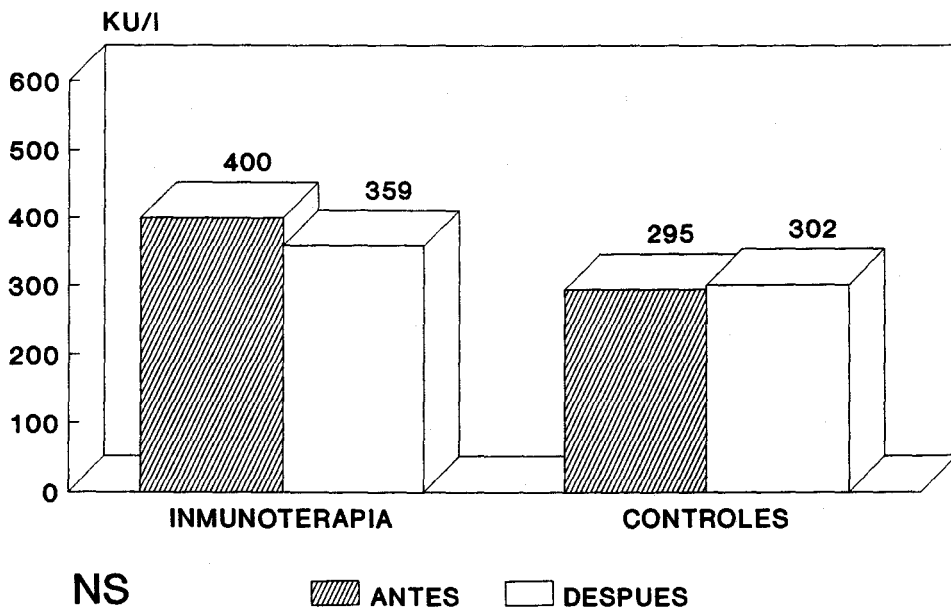


FIGURA NO 12

**MODIFICACION DE IGE TOTAL EN ACAROS
 INMUNOTERAPIA n=33 / CONTROLES n=14**

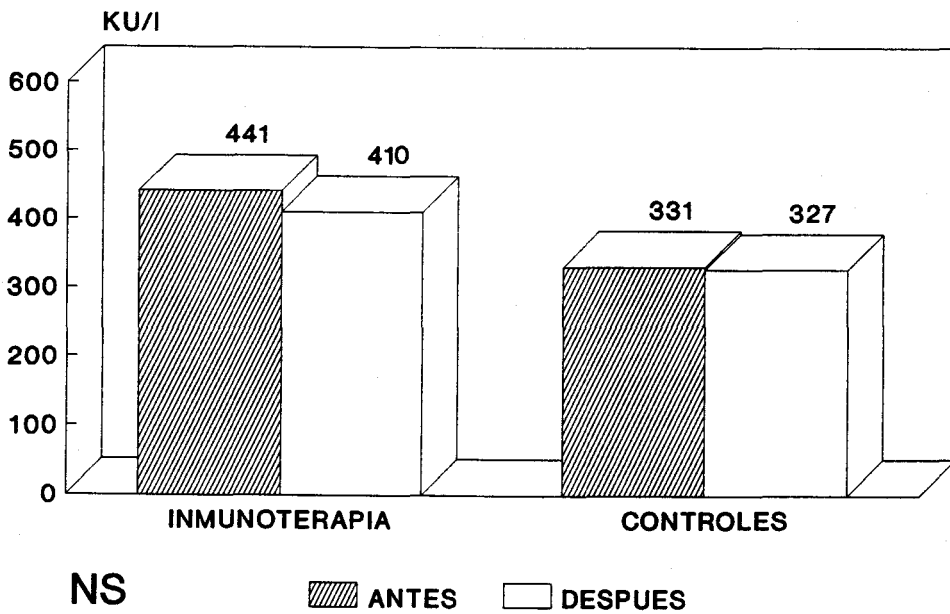


FIGURA Nº 13

CAMBIOS DE IGE ESPECIFICA EN POLINICOS
INMUNOTERAPIA n=12 / CONTROLES n=11

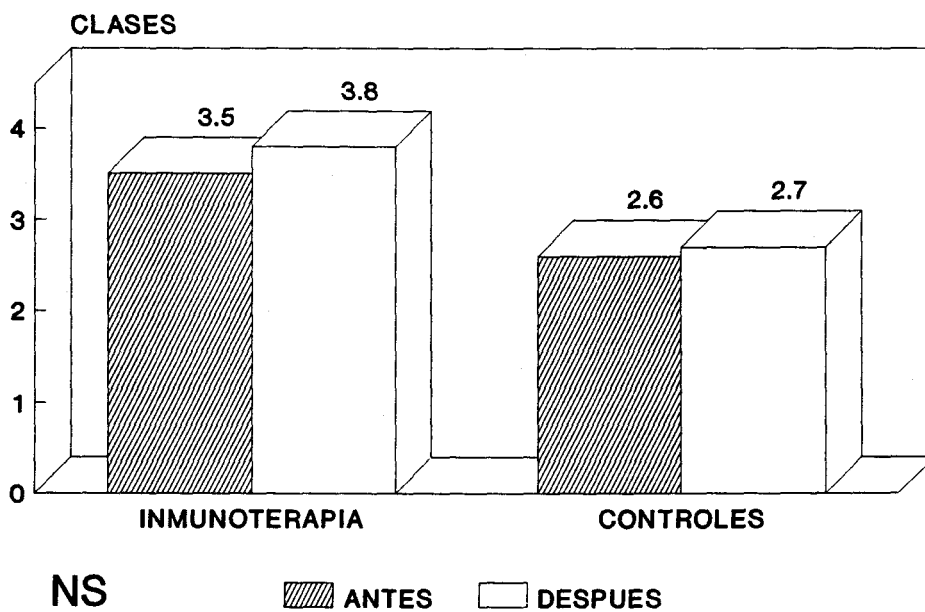


FIGURA Nº 14

CAMBIOS DE IGE ESPECIFICA EN ACAROS
 INMUNOTERAPIA n=21 / CONTROLES n=8

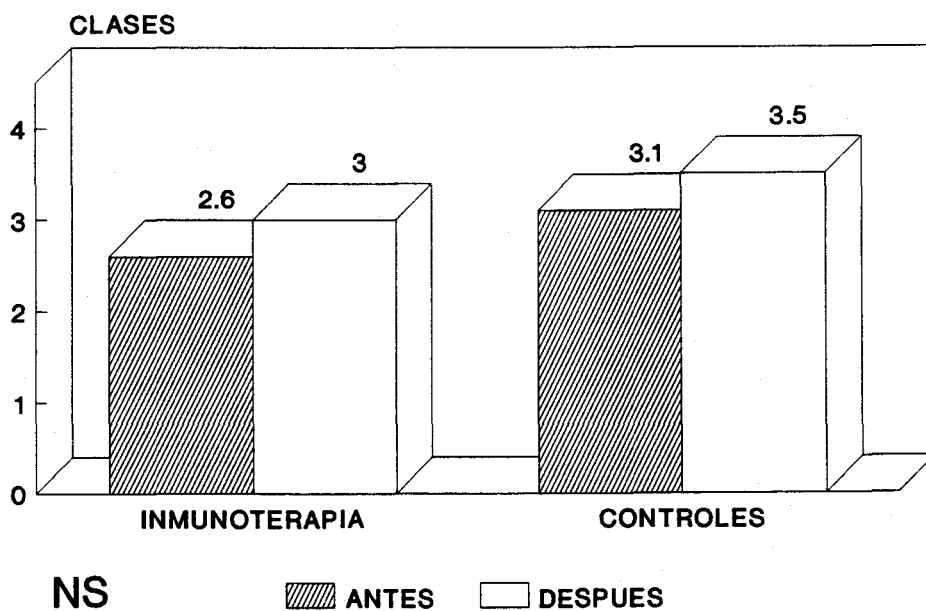


FIGURA Nº 15

HIPERREACTIVIDAD BRONQUIAL EN POLINICOS
INMUNOTERAPIA n=19 / CONTROLES n=11

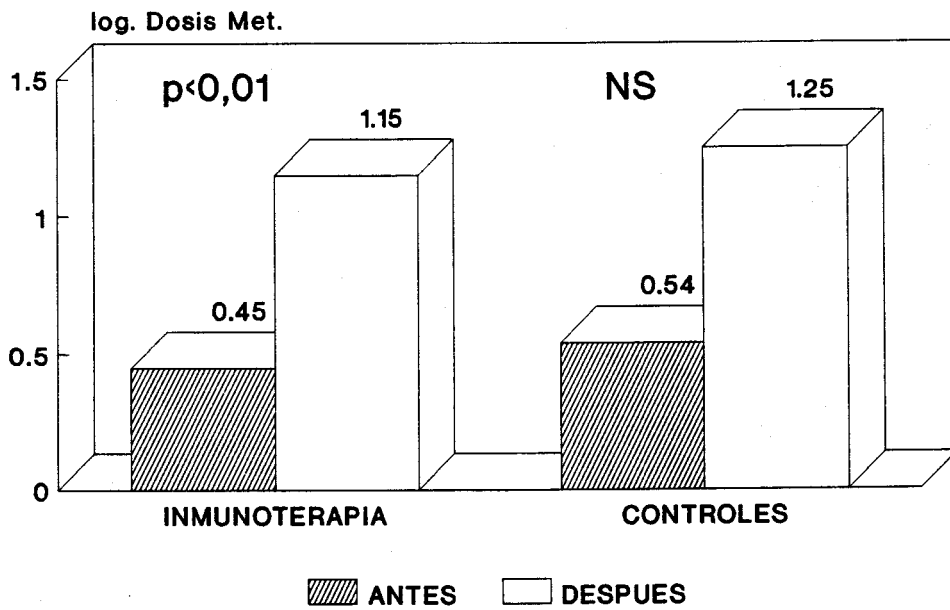
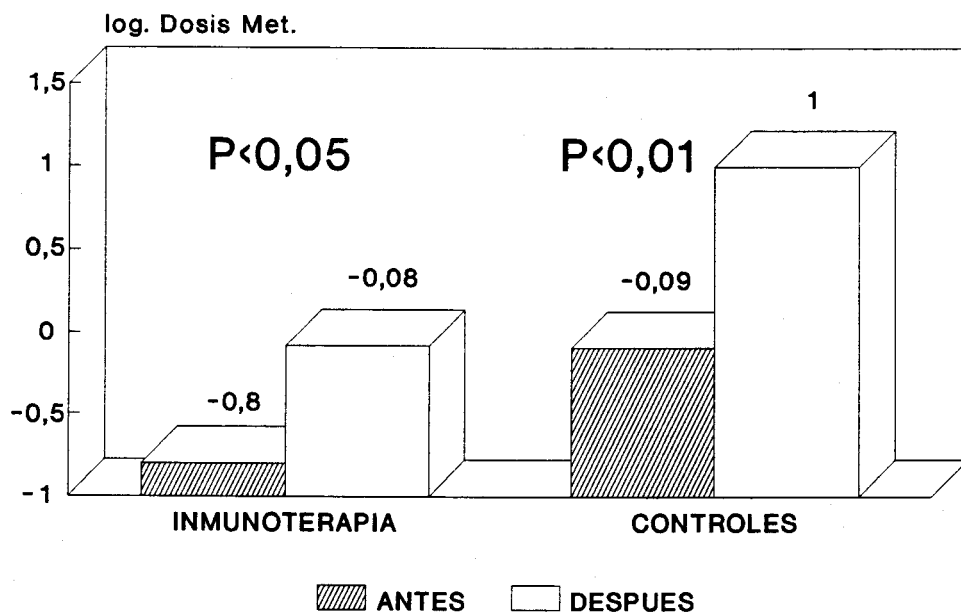


FIGURA Nº 16

HIPERREACTIVIDAD BRONQUIAL ACAROS
 INMUNOTERAPIA n=10 / CONTROLES n=9



DISCUSSION

VI. DISCUSION:**VI.1. DISCUSION DEL METODO. -**

Nuestro ensayo tiene un diseño prospectivo, en el que los enfermos se definieron como casos y controles de forma aleatoria.

Este tipo de diseños presenta en la práctica varios problemas metodológicos, que se agravan cuando además el estudio abarca gran cantidad de información, un número elevado de enfermos, y un prolongado periodo de tiempo.

El principal escollo se encuentra en la pérdida de unidades que inevitablemente se presenta a lo largo del seguimiento. Los motivos son variados como el extravío de datos, abandonos, rechazos, incumplimientos, exclusiones...etc. La situación lleva aparejada la dificultad en obtener grupos de estudio amplios y homogéneos, de casos y controles, que sean útiles para la extracción de resultados y conclusiones

válidas.

El Dr. Pauli,²³⁸ en su trabajo sobre inmunoterapia en enfermos sensibles a ácaros, refiere que el número de pacientes finalmente reclutados era pequeño a pesar del esfuerzo realizado en ese sentido; concretamente el grupo estaba formado por 18 enfermos, 9 casos y 9 controles.

Nuestro ensayo médico presenta un tamaño de muestra aceptable y suficiente para que sus resultados y conclusiones sean válidas.

En primer lugar, se hizo una estimación del tamaño de la muestra necesaria; pero es cierto que esto es sólo una aproximación y las tendencias iniciales pueden o no confirmarse a lo largo del estudio científico.

En segundo lugar, otro parámetro es la comparación con la bibliografía publicada. Concretamente para ácaros, aparecen trabajos que presentan muestras que van desde 14 a 91 enfermos.^{176.177} Para pólenes, los grupos varían desde 15 enfermos a 60.^{180.182} Nosotros presentamos 65 y 63 pacientes respectivamente.

Es verdad, que en algunas variables no hemos podido ofrecer los datos referidos a la población completa y el tamaño de la muestra se ha visto reducida en esos casos. A pesar de ello, superan el

número de enfermos estimado, se ha obtenido significación estadística en algunas, y como muestra, valga decir que existen trabajos ofreciendo modificaciones significativas de la hiperreactividad bronquial inespecífica con tan sólo 8 enfermos y de la IgE específica con 13 enfermos.^{239,182}

Como hemos visto, entre las poblaciones de casos y controles aparecieron algunas diferencias estadísticamente significativas, a pesar de la selección aleatoria realizada al comienzo del estudio.

En el caso de los enfermos sensibles a pólenes, en primer lugar, la menor edad media del grupo tratado con inmunoterapia, a consecuencia del mayor número de enfermos entre 7 y 15 años incluidos en dicho grupo, y en segundo lugar, las cifras más elevadas de IgE específica y mayor tamaño de habón cutáneo medio del grupo de casos, cuyos motivos no nos explicamos. En el caso de los enfermos sensibles a ácaros, la única diferencia estuvo en la hiperreactividad bronquial.

De todos estos parámetros, el que per se puede influir en los resultados es la edad. Ha sido descrito que la inmunoterapia es más efectiva en los grupos de edad más jóvenes.²⁴⁰ Sin embargo, y estas situaciones son frecuente en los trabajos sobre inmunoterapia, en otro estudio más reciente, el Dr.

Mosbech,²⁴¹ encuentra que parámetros como IgE, IgG y subclases, sensibilidad cutánea, nasal y ocular, duración de sintomatología y edad, no son predictores de eficacia.

Además, si la edad influye en algún sentido es en el de facilitar los efectos de la hiposensibilización y por tanto el estudio. Lo que verdaderamente actuaría como elemento distorsionador de los resultados sería la elección de un grupo de tratamiento con elevada edad media, en el que, si no se obtienen conclusiones positivas, se puede criticar que la inmunoterapia no está indicada en estos enfermos. Una edad media adecuada, como el diagnóstico de la sensibilización del enfermo, etc, no son más que criterios para una inmunoterapia correcta.

De todas formas, las diferencias aparecidas entre las otras variables comentadas, nos obliga al estudio de éstas de forma pareada; ya que no partimos de los mismos valores basales. Algunos investigadores ante esta misma situación han optado por idéntico sistema estadístico. Por ejemplo el Dr. Armentia-Medina,²⁴² emplea el estudio pareado en sus variables y una importante diferencia aparecía entre sus grupos de tratamiento en la hiperreactividad bronquial inespecífica.

En nuestro método no se incluye el doble

ciego, que evitaría el sesgo del enfermo y del investigador. Este tipo de planteamientos son necesarios fundamentalmente cuando los resultados y conclusiones sólo dependen de parámetros subjetivos; como por ejemplo los síntomas. Cuando otras variables objetivas, como es el caso del test de metacolina, se incluyen, a pesar que el doble ciego siempre es aconsejable, resulta menos necesario en opinión del Dr. Dreborg.¹⁴⁴ En la bibliografía reciente y aceptada, aparecen también bastantes trabajos que no contemplan el doble ciego en el marco de sus esquemas.^{195, 240, 241, 243, 244, 245, 246}

Un estudio a doble ciego complica mucho el diseño del trabajo; ya que obliga a la administración de un placebo al grupo control. Con esto no queremos criticar el doble ciego, pero era poco factible de llevar a la práctica dentro de la filosofía del presente estudio.

Las recomendaciones sobre la indicación y uso del tratamiento hiposensibilizante, lo hacen aconsejable sólo cuando los otros sistemas terapéuticos han fracasado. Pero esta premisa no se cumple en la práctica médica actual. La inmunoterapia se emplea como primer escalón terapéutico de forma bastante habitual,^{247, 248} y se comienza a hablar de la inmunoterapia precoz como el único remedio eficaz

capaz de evitar el avance de la enfermedad alérgica.²⁰¹

La filosofía del ensayo quería acercar la inmunoterapia a la realidad más actual, de tratamiento ambulatorio no restringido. Un diseño a doble ciego no nos lo permitiría.

Hay que introducir en estos trabajos un grado de incertidumbre más. Por razones de ética y de necesidad clínica, los enfermos de asma no se pueden mantener sólo con inmunoterapia o sin inmunoterapia, esta situación sería la ideal, sino que hay que administrar tratamiento convencional de forma inevitable. Así, estamos introduciendo nuevas variables, tanto por su efecto terapéutico como placebo reconocidos.

Para intentar superar este problema, los investigadores han ideado algunos sistemas con mayor o menor éxito. Por ejemplo, mantener fijas las dosis de medicación y valorar los cambios clínicos, o mantener fija la clínica a base de cambios en la medicación y valorar éstos últimos, o bien valorar por separado ambas, medicación y clínica. Todos en general obligan a un constante y exhaustivo control de los enfermos con visitas periódicas para vigilar estrechamente el cumplimiento de las órdenes, del tratamiento o de las anotaciones. Métodos que son poco

llevables a la práctica máxime cuando el seguimiento es a largo plazo.¹⁶⁴ Los enfermos terminan por claudicar y abandonar.

Hemos adoptado un sistema de valoración clínica fácil de realizar, en el que van incluidas en su cuantificación tanto la necesidad de medicación como la clínica, más cerca de la realidad diaria del enfermo de asma.

Los extractos alérgicos empleados en el estudio, tanto para el tratamiento como para el diagnóstico, están estandarizados en UB, lo que nos asegura que los pacientes están recibiendo siempre la misma cantidad de alérgeno y que además están presentes todos los alérgenos mayoritarios de la especie en cuestión. La utilización de este tipo de extractos en los trabajos de investigación comenzó alrededor de 1980, dejando algo devaluados los trabajos previos o que no aplican este tipo de estandarizaciones.

El tiempo medio durante el que se recomienda mantener la hiposensibilización, antes de decidir sobre su efectividad, es de dos años. Nuestros 19 meses se acercan a esta cifra, suficiente para la valoración de la efectividad terapéutica, máxime cuando se han encontrado resultados desde pocas semanas.²⁴⁹

Algunos trabajos publicados contemplan el asma bronquial extrínseco desde un punto de vista global, incluyendo en sus protocolos enfermos sensibles a pólenes y ácaros conjuntamente y practicando politerapia.¹⁶⁶

Hemos preferido, como la mayoría de investigadores, contemplar como entidades independientes la sensibilidad a pólenes y a ácaros. Ya hemos comentado que el patrón de exposición, en unos estacional y en otros perenne, marca diferencias importantes entre ambas.

VI.1.1. Reproductibilidad de los tests cutáneos:²³⁰

Existen multitud de causas que pueden afectar la reproductibilidad de la respuesta cutánea, algunas son:

- La hora del día en que se practica el test. El tamaño del habón es máximo durante la noche.
- La estación del año. Esto es más evidente en los enfermos sensibles a pólenes.
- La medicación administrada previamente.
- La zona corporal donde se aplica. Así, la espalda es más reactiva que la cara anterior del antebrazo, en la que la zona antecubital es más reactiva que la de la muñeca.

- El método. Las pruebas intradérmicas son más reproductibles que los Prick.

- La técnica aplicada. Es importante que sea el mismo operario. Influye la forma de leer o de punzar con la lanceta.

- Los extractos.

- El mismo enfermo.

Por estos motivos existen unos márgenes permitidos de variabilidad que frecuentemente se expresan como coeficiente de variación (CV). Cuando la se utiliza el diámetro del habón se admite un CV de hasta el 20%, cuando es el área, hasta el 40%.

En nuestro laboratorio se ha conseguido un CV del 36% y ofreciendo los datos a través del índice de correlación intraclase 0,89.

VI.1.2. Reproducibilidad del test de metacolina:

Como sucedía con los tests cutáneos, la provocación con metacolina se ve influida por múltiples factores, que van desde la hora del día, la estación del año, los medicamentos administrados y la técnica empleada, hasta la colaboración del propio enfermo. Los datos de reproducibilidad que en la literatura se manejan, se encuentran dentro del orden de unos CCI de 0,81 a 0,97, y un margen de seguridad del 95%

alrededor de $\pm 0,5 \log.$ ²⁵⁰

Nosotros hemos obtenido un buen CCI de 0,88, pero con unos márgenes algo más amplios de variabilidad que los ofrecido por otros laboratorios. Los motivos están en el número de enfermos estudiados (nuestro grupo es más reducido, 20 frente a 104), el número de tests practicados que en nuestro caso es mayor (3 frente a dos), en la falta de empleo de dosímetro y finalmente, hemos de tener presente que algunos laboratorios emiten sus resultados después de comprobar su reproductibilidad con individuos entrenados,²⁵⁰ con los cuales no nos podemos comparar. Pensamos que hemos obtenido una buena reproductibilidad del método, ya que ésta se verificó tal y como luego es aplicada en la clínica diaria.

VI.2.DISCUSION DE RESULTADOS.-

VI.2.1.Enfermos sensibles a pólenes:

De nuestros resultados se deduce que los enfermos que habían recibido hiposensibilización con alergenos, se encontraron más libre de síntomas nasales, oculares y bronquiales, durante las estaciones chequeadas, con menos necesidad de medicación, recordemos que nuestro "score" lleva aparejadas mejoría clínica y terapéutica, que el grupo

control.

Este hecho creemos es de gran relevancia y otros investigadores previamente han llegado a las mismas conclusiones.^{150,182,183,188,242,243.}

Sin embargo, en algunos trabajos no se han podido constatar mejorías en los enfermos tratados con inmunoterapia sensibles a pólenes.^{181,184-186.} Varias razones se argumentan para ello.

En primer lugar la utilización de extractos piridín-extraídos. El proceso de la extracción piridínica se añadió como paso previo en un intento de mejorar, al reducir las reacciones sistémicas, los extractos precipitados en aluminio.²⁰⁹ A pesar de que en algunos ensayos se pudieron comprobar sus efectos,^{244,251} hay estudios claros al respecto y un extracto sin piridina puede tener del orden de 120 veces más actividad alérgica que otro en el que se ha incluido la piridina en su método de extracción. Este efecto puede ser muy importante cuando además los extractos no se presentan estandarizados en BU y se utilizan unidades PNU, ya que la extracción piridínica puede variar la potencia en 100 veces sin mostrar cambios en la cantidad de proteína extraída.²⁵²

Otra causa de fracasos se encuentra en el uso de la inmunoterapia oral. Los ensayos con inmunoterapia oral van encaminados a disminuir o

evitar el riesgo de anafilaxia y mejorar los resultados clínicos, evitando además las molestas inyecciones. Hay trabajos donde se encuentran resultados positivos. Pero el gran inconveniente de esta vía de administración, son las extraordinariamente elevadas dosis de alérgenos necesarias, a causa de la digestión que éstos sufren a su paso por el intestino y hacen prácticamente imposible su cumplimiento.²⁵³

La sintomatología del enfermo polínico suele tener buena correlación con la concentración de pólenes en el ambiente, y sigue más o menos estrechamente, a veces con cierto retraso, las variaciones estacionales del polen.^{188, 243}

Algunos investigadores como Hill,¹⁸⁴ y Rak,²⁴³ achacan la ausencia de resultados, o la parcialidad de estos, respectivamente, a la intensa polinización del año en que se llevaron a cabo sus experimentos. Verdaderamente este hecho es posible y está poniendo de manifiesto una importante limitación de la terapéutica con alérgenos.

De lo antes dicho, podría pensarse que los resultados de nuestro ensayo fueron secundarios a las variaciones estacionales en la concentración de pólenes. De alguna forma, los enfermos controles pudieron haber sido seguidos durante condiciones ambientales más adversas que el grupo de casos. Pero

esto no sucedió así, ya que ambos grupos de enfermos fueron estudiados de forma simultánea. Como vemos en la figura nº4, la distribución de las primaveras fue proporcional para ambos. Además, por otro lado, el haber chequeado varias estaciones primaverales, de alguna forma evita la excesiva influencia de las variaciones atmosféricas imprevisibles.

También se han barajado como causa de fracasos terapéuticos las bajas dosis de antígeno en los tratamientos.¹⁸⁶ Lo cierto es que las dosis correctas de alergenos son desconocidas. Cada individuo posiblemente tenga la suya y en general se suelen seguir las instrucciones del fabricante que suministra el extracto. Las pautas que buscan las máximas dosis toleradas por el enfermo pueden resultar peligrosas y obligan a mantener un estrecho control sobre los enfermos, requiriendo en algunos casos el ingreso para su aplicación.

La utilización de extractos no estandarizados en BU también puede ser causa de errores. Este es un hecho frecuente en los estudios realizados antes del año 1980.

Finalmente, la demostración cierta de que la sintomatología del enfermo se debe a uno y no a otro alergeno puede ser difícil. Bruce et al.¹⁸⁶ en su trabajo, a pesar de incluir enfermos de asma sensible

a ambrosía diagnosticados mediante tests cutáneos, tests de liberación de histamina y tests específico de provocación bronquial positivos, no consigue correlación entre la clínica y el contaje ambiental de pólenes, con patrones de correlaciones muy diversas y dispares.

Ya comentamos que nuestro grupo tratado con inmunoterapia era algo más joven que el grupo control. Esta diferencia no distorsiona los resultados. A nuestro juicio sólo mejora las condiciones del experimento. Pero por si quedaran dudas, una vez eliminados del grupo tratado los enfermos menores de 15 años, se mantienen sin apenas modificación las cifras de media y desviación típica; y la reducción del nivel de significación estadística es más achacable a la disminución del número de enfermos que a al aumento de la edad media.

Cabría preguntarse ante estos resultados, si la terapéutica convencional no es útil en el tratamiento del asma bronquial, ya que el grupo control no redujo su "score" de forma significativa. Pensamos que el diseño del trabajo no es adecuado para contestar esta pregunta, al estar incluidos en el "score" tanto la valoración clínica como la necesidad de medicación, lo que produce una distorsión, y los valores no muestran reducciones importantes.

Un hallazgo de interés es la correlación habida entre la reducción de la sintomatología y de la hiperreactividad bronquial inespecífica. El posible efecto placebo como origen de nuestro resultados queda anulado.

La hiperreactividad bronquial es un fenómeno fisiopatológico, que se manifiesta por un estrechamiento exagerado de las vías aéreas ante determinados estímulos. Sus bases inflamatorias se han descrito a lo largo de la introducción. Y puede ser objetivada a través de los tests de provocación bronquial inespecíficos con diferentes estímulos.

Se ha comprobado que la hiperreactividad bronquial tiene relación con la exposición al alérgeno sensibilizante, aumentando tras los tests específicos de provocación y durante las épocas de polinización.³² En el trabajo de Rak et al.²⁴³ se monitoriza la evolución de la hiperreactividad durante un periodo estacional. El máximo grado de hiperreactividad no se alcanza durante el pico de polinización, sino algo más tarde, cuando las concentraciones de alérgenos en el ambiente han descendido. La explicación puede estar en el círculo vicioso que Cockcroft postuló, el alérgeno produce hiperreactividad bronquial y ésta sensibiliza y facilita la reacción al alérgeno, y en el hecho, de que tras una única exposición de la vía respiratoria

al sensibilizante, la reactividad aumenta durante incluso semanas. Tras finalizar la estación, la reactividad bronquial se recupera alcanzando el mismo nivel previo.

En nuestro ensayo se logran reducciones de la hiperreactividad tras la inmunoterapia, frente a una también reducción no significativa del grupo control. En dos trabajos en los que también se estudia la hiperreactividad inespecífica tras hiposensibilización, Armentia-Medina, et la.,²⁴² como nosotros, encuentra una disminución en la reactividad y Rak et al.,²⁴³ con un diseño algo distinto, no logra significación entre los grupos de tratamiento, a pesar de valores bastantes diferentes. El autor lo justifica por la intensa polinización del año estudiado.

Parece que la inmunoterapia es capaz de controlar el aumento esperado de la hiperreactividad ante la exposición del enfermo al alérgeno, consiguiendo en consecuencia reducir los niveles basales de hiperreactividad. Como ocurría con la clínica, la mayor o menor concentración de alérgenos puede condicionar este efecto.

El mecanismo es desconocido. Se ha podido detectar un aumento importante y significativo de la proteína catiónica del eosinófilo en los enfermos no tratados, frente a los inmunizados. Esto podría estar

indicando un efecto antiinflamatorio de la inmunoterapia. Nosotros pensamos que hay que hablar más bien de efecto modulador y preventivo, como más adelante comentaremos.

Mediante los prick tests, nosotros verificamos la sensibilidad de los enfermos al alérgeno. La positividad de un test cutáneo implica la existencia de mastocitos portando en su superficie anticuerpos IgE específicos. La inmunoterapia redujo la sensibilidad cutánea de nuestros enfermos de forma antígeno específica. Este efecto ha sido comprobado, y desde pocas semanas de tratamiento,¹⁵¹ en otros estudios.¹⁶⁷

El hecho de no encontrar esta reducción supone generalmente una falta de potencia de los extractos, bajas dosis de mantenimiento o mala técnica en la práctica del test.

El no constatar una correlación con otros parámetros como la reducción del "score" y la hiperreactividad bronquial no nos extraña, porque a fin de cuentas lo chequeado con el prick test es una reacción de tipo inmediato y las otras variables tienen más relación con la reacción alérgica tardía. Nosotros no hemos estudiado las reacciones cutáneas tardías, pero en un trabajo en el que siguen su evolución tras inmunoterapia, encuentran una reducción

de la reacción cutánea tardía, pero tampoco sus investigadores pudieron correlacionarla con la clínica, que no manifestó modificaciones muy ostensibles.²⁵⁴ En la bibliografía se demuestra en algún ensayo sí aparece en algún ensayo correlación entre clínica y tests cutáneos.^{150,183}

Finalmente, los parámetros inmunológicos determinados como IgE total y específica, no mostraron variaciones significativas de sus niveles en ningún grupo de tratamiento.

La IgE total presentó ligeras oscilaciones. Como nosotros, los cambios registrados en este parámetro, al año y dos años de tratamiento por otros investigadores, han consistido en ligeras reducciones de sus niveles sin llegar a adquirir significación estadística. En un estudio se comprueba la persistencia del descenso a los 6 años de haber interrumpido la inmunoterapia.^{212,215}

La IgE específica generalmente presenta el siguiente perfil a lo largo del tratamiento con inmunoterapia:²⁵⁵

1º Suele aumentar sus niveles desde los primeros meses de tratamiento hasta el año.

2º Se bloquea la subida estacional esperada.

3º Lento declinar de sus valores a lo largo del tratamiento con alérgenos, pero sin llegar a rebasar

los niveles basales.

Nosotros seguimos a los enfermos durante 20 meses, con lo que nuestros resultados están dentro de los esperados para ese tiempo de tratamiento.

VI.2.2. Enfermos sensibles a ácaros:

En contraste con los resultados tan alentadores obtenidos en el grupo de enfermos sensibles a pólenes, el grupo de ácaros mostró una respuesta a la inmunoterapia casi nula. Casos y controles evolucionaron de forma muy paralela a lo largo de la investigación. Únicamente se demostró el efecto de la inmunoterapia en la reducción del habón cutáneo.

En la bibliografía, la inmunoterapia con ácaros muestra una eficacia más dudosa, resultados parciales y no concluyentes.¹⁶⁷

Se quiere responsabilizar a la falta de potencia de los extractos y las bajas dosis acumulativas, de algunos de los fracasos terapéuticos en el asma sensible a ácaros. Ambos factores son descartables de nuestro ensayo. En primer lugar, el haber utilizado extractos estandarizados en BU, nos asegura una actividad biológica conocida y constante. Y segundo, los enfermos hiposensibilizados no permanecieron absolutamente impasibles ante la

administración del antígeno, de hecho, en el grupo tratado la sensibilidad cutánea a los ácaros disminuyó ostensiblemente, lo que nos asegura que hubo actividad del tratamiento en el organismo y por lo tanto la correcta dosificación del alérgeno.²³⁶

Las reducciones de los tests cutáneos es un fenómeno ya corroborado en bastantes estudios.¹⁴⁷ En el caso de los ácaros se han registrado reducciones desde la 7ª semana de tratamiento.²⁴⁹ Los motivos para no verificar su disminución ya se han comentado.

Un tema bastante resbaladizo, al que ya hemos hecho mención al hablar de los pólenes, es el de la relación causa y efecto entre el alérgeno y la clínica de los enfermos de asma. Tener la absoluta certeza de que tal o cual antígeno es el responsable de la sintomatología del enfermo, es difícil. Los sujetos no suelen ser puros, muestran generalmente sensibilidades cutáneas múltiples y los tests específicos de provocación no mantienen una completa correlación con los tests cutáneos o inespecíficos de hiperreactividad. Tanto para los enfermos sensibles a pólenes como para el grupo de los ácaros, seguimos las recomendaciones del Comité de Inmunología Clínica de la Unión Internacional de Sociedades de Inmunología y los Servicios de Apoyo de Microbiología e Inmunología de la OMS, que recomiendan para el diagnóstico e

indicación del tratamiento hiposensibilizante, la correlación clínica con los tests cutáneos y/o la IgE específica.¹⁴⁸

No creemos que los resultados de los enfermos tratados con inmunoterapia y los controles tengan orígenes diferentes, es decir, que la inmunoterapia sea la responsable del beneficio clínico registrado en unos, y la medicación convencional la de los otros. Basta observar el estrecho paralelismo en el comportamiento clínico de ambos grupos, mejoraron en todos los "scores" menos en el ocular. Es más razonable causar a la medicación administrada de los resultados.

En los estudios llevados a cabo con ácaros, los mejores resultados clínicos parecen obtenerse en grupos de niños.^{257,258} Los trabajos en los que se incluyen adultos, a pesar de que algunos dan buenos resultados,^{259,260} en muchos otros sus conclusiones son parciales o negativas.^{191,238} Un estudio muy similar al nuestro llevado a cabo por Mosbech et al.^{245,195} corrobora nuestros hallazgos.

La mayoría de los trabajos que ofrecen entre sus resultados un beneficio terapéutico, tienen una duración de 1 año o menos.¹⁴⁷ Aun cuando se aconseja el uso de la terapéutica a largo plazo, algunos ensayos que realizan un seguimiento superior a los 12 meses,

entre los que nos encontramos, no demuestran resultados favorables en los enfermos tratados con inmunoterapia.

Nosotros esperábamos encontrar variaciones en los niveles de IgE total y específica, que no se presentaron. En realidad, su evolución a lo largo del tiempo y del tratamiento explican los resultados. Como en los enfermos sensibles a pólenes, la razón se encuentra en el momento de hacer las determinaciones. La IgE muestra un rápido ascenso entre los tres y doce meses de tratamiento,²⁴⁰ para luego presentar un lento declinar que se ha podido registrar hasta los 3 años.²⁴¹

Con respecto a la hiperreactividad bronquial inespecífica, aparecen pocos trabajos, concretamente 4 que la estudian antes y después de la hiposensibilización con alergenos:

- Bousquet et al,¹⁹³ informa de una disminución significativa de la hiperreactividad al carbachol tras 2 años de tratamiento inmunológico.

- Formgreen et al,²⁴² a pesar de encontrar mejorías tanto de la clínica como de la sensibilidad bronquial al alergeno, la hiperreactividad no varía tras un año de tratamiento.

- Mosbech et al,²⁴³ no encuentran, como ya hemos comentado, ningún resultado positivo en sus

enfermos después de los dos años de inmunizaciones.

- Murray et al,²³⁹ trabajando con niños asmáticos y tras el año de tratamiento, de forma curiosa, descubre un aumento de la hiperreactividad bronquial en los inmunizados frente al grupo placebo y el control. El investigador propone que la inmunoterapia con alergen podría estar induciendo una reacción alérgica subclínica.

- Nosotros obtuvimos una reducción en la hiperreactividad bronquial de ambos grupos de tratamiento. Sólo indicar que el nivel de significación fue mejor en los controles. Y debemos imputar estas reducciones al tratamiento con la terapia convencional.

VI.2.3. Análisis:

Hemos podido observar actividad terapéutica de la inmunoterapia en los enfermos sensibles a pólenes, pero no en los sensibles a ácaros. Y decimos actividad terapéutica porque en éstos sí hubo alguna actividad, ya que se redujo el tamaño de sus habones cutáneos.

La causa de esta diferencia debe buscarse, en nuestra opinión, en el factor que determina las características de ambas sensibilizaciones. En

principio, tanto el asma secundario a pólenes como el secundario a ácaros, se deben a una reacción de hipersensibilidad tipo I y no creemos que existan mecanismos inmunológicos distintos. Sería por tanto la forma de exponerse al alergeno, estacional y episódica o perenne y constante, la que marcaría nuestros resultados.

Siguiendo a Cockcroft,³² cuando el alergeno entra en contacto con la vía aérea se desencadena la cascada de mediadores inflamatorios, produciendo hiperreactividad bronquial que a su vez facilitaría la sensibilización al alergeno, creándose un círculo vicioso. En los enfermos estacionales este proceso se interrumpe de forma natural, recuperándose la reactividad bronquial basal, incluso desapareciendo en algunos casos. En los perennes este mecanismo se está procesando continuamente, con el resultado de una inflamación crónica de la vía aérea. Esta originaría por un lado, como hemos visto, una hialinización de la membrana basal bronquial que fija la obstrucción de la vía e impide obtener recuperaciones importantes, y por otro lado, facilita, que desencadenantes inespecíficos originen sintomatología en estos enfermos.

El Dr. G. Cocco,²⁶³ opina que debe haber una buena correlación entre alergeno, hiperreactividad bronquial y clínica, para obtener resultados positivos

con inmunoterapia. Esta relación está más distorsionada en los enfermos con asma perenne.

Es interesante comprobar como tras la inmunoterapia, tanto estacionales como perennes, reaccionaron con una disminución de su sensibilidad cutánea al alergen. Pero sólo los estacionales también mejoraron su clínica y reactividad bronquial. El enfermo atópico asmático, es normal que tenga sus mastocitos cutáneos sensibilizados con IgE específica, que se encuentra aumentada en el suero, y así, el test cutáneo se muestra positivo. Pero la piel no es el órgano de choque en los enfermos de asma, sino la vía aérea, y es ésta, la que de forma más o menos continua sufre la agresión inflamatoria alérgica. Podemos suponer que cuanto más actividad alérgica haya en la vía aérea, más se deteriorará y menos se asemejará su comportamiento a la piel, o ejemplo de zona sensibilizada, pero no crónicamente agredida. Quizás sea la continua oferta de alergenos la que cree una situación favorable para la puesta en marcha de los receptores de baja afinidad de macrófagos y eosinófilos desencadenates de la inflamación.

Debemos recordar también, que el mejor tratamiento del asma bronquial atópico consiste en evitar el contacto con el alergen sensibilizante. Esto es posible de llevar a la práctica sólo en

determinadas ocasiones (animales de compañía, algunas sustancias química..., o de forma natural cuando finaliza la estación polínica). Con el aislamiento está demostrado que se logran remisiones de la clínica, y reducciones de la reactividad inespecífica y de la hialinización de la vía aérea.²⁶⁴

Las mejores condiciones en las que la inmunoterapia parece actuar, son aquellas en las que se puede administrar previamente al contacto con el alérgeno y partiendo de una situación de "reposo" inflamatorio, como es el caso de los enfermos sensibles a pólenes. Sería interesante comprobar, si tras aislar a los enfermos de asma sensibles a ácaros y una vez conseguido su estado basal, la inmunoterapia mostrara más actividad en estos enfermos, reduciendo su sintomatología bronquial una vez devueltos a su ambiente habitual.

El mecanismo sigue siendo oscuro. Es una paradoja, que el mismo alérgeno agresor cuando se administra por otra vía, induzca protección.

Lo cierto, es que hemos obtenido resultados positivos. Podría suceder que con dosis crecientes de antígeno, se provocara un "bloqueo" de receptores o una reacción alérgica con degranulación subclínica, que impediría la aparición de la sintomatología florida, una vez que el sujeto vuelve a ponerse en

contacto con el alérgeno. Pero cuando esta administración de antígenos se realiza en un enfermo con actividad, caso de los perennes, es posible que lo único que estemos provocando sea un empeoramiento del proceso, ya que simplemente estamos añadiendo más alérgenos a los que el paciente recibe por vía natural. En este sentido, Murray et al.²³⁹ nos ponen en aviso al encontrar un aumento de la hiperreactividad bronquial de los enfermos de asma sensibles a ácaros que fueron tratados con inmunoterapia. Si este fenómeno es secundario al empleo de la hiposensibilización en enfermos que no se encuentran en estado basal, o bien a la simple administración de alérgenos que provocaría una reacción alérgica subclínica, debe ser investigado, ya que en el segundo supuesto no sería razonable la aplicación de la inmunoterapia en ningún caso.

CONCLUSIONES

VII. CONCLUSIONES:

- 1a No podemos responsabilizar a la IgE y sus variaciones de cualquier efecto terapéutico. Más bien parecen fenómenos asociados a la administración de antígenos.

- 2a La reducción de la sensibilización cutánea se asocia a la inmunoterapia, pero independientemente de los resultados clínicos, al menos en enfermos de asma.

- 3a La inmunoterapia resulta eficaz en los enfermos sensible a pólenes, reduciendo las manifestaciones clínicas de la enfermedad y la reactividad bronquial inespecífica.

4a No podemos justificar el uso de la inmunoterapia en los enfermos sensibles a ácaros, salvo con fines investigadores, ya que en ellos no añadió ningún beneficio terapéutico al tratamiento convencional.

5a No se requieren dosis máximas toleradas, que aumentan el riesgo de reacciones graves, para obtener resultados positivos.

RESUMEN

VIII. RESUMEN:

El término atopia define un estado con base hereditaria, en el que su portador muestra una tendencia a la hiperproducción de IgE ante sustancias o antígenos inocuos para el resto de la población, y a manifestar alguna de las formas clínicas de hipersensibilidad tipo I: asma, rinitis, eccema y urticaria.

Hoy día se tiende a inculpar al desequilibrio entre las poblaciones de linfocitos reguladores T4-H1 y T4-H2, en favor de los H2, de la sobreproducción de inmunoglobulina E.

El asma bronquial es una afección relativamente frecuente entre la población y su mecanismo intrínseco no es más que una reacción de hipersensibilidad tipo I en el seno de la vía aérea. Tras el contacto con el antígeno, se desencadena la cascada de mediadores y células, produciéndose el cuadro clínico, fisiopatológico y anatomopatológico

característico de la enfermedad que son respectivamente: obstrucción reversible espontánea o farmacológicamente, hiperreactividad bronquial e inflamación eosinófila crónica de la vía aérea.

La inmunoterapia surgió en 1911 con vocación para el tratamiento de las afecciones secundarias al estado atópico, en una época en la que se carecía de medicación antialérgica eficaz. Ha seguido siendo empleada a lo largo del tiempo de forma empírica, y hoy quiere mantener un puesto entre las posibilidades terapéuticas.

En realidad sobre ella lo desconocemos casi todo, incluyendo su o sus mecanismos de acción y sus indicaciones precisas. Hay día permanece abierta la polémica, que en algunos casos llega a ser visceral, sobre la efectividad.

Lo cierto es que de un lado, la mortalidad por asma bronquial ha aumentado en los últimos años, llegándose a duplicar en algunos países y todo a pesar del mejor conocimiento de la enfermedad y la terapéutica, y de otro lado, la inmunoterapia se ha mostrado eficaz en algunos trabajos. Por tanto, si esta modalidad terapéutica tiene algo que decir en el asma bronquial y en qué medida, hay que comprobarlo.

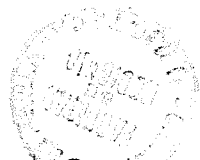
Con este planteamiento se ha llevado a cabo un ensayo prospectivo de casos y controles en el que

se incluyeron enfermos de asma sensibles a pólenes y ácaros de forma independiente, para estudiar la efectividad o no de la inmunoterapia con alergenios. Los enfermos fueron controlados a través de un "score" clínico/terapéutico, medición de tests cutáneos, determinación de niveles de IgE total y específica y test de provocación bronquial con metacolina, al inicio y al final del seguimiento.

Hemos podido comprobar como los enfermos sensibles a pólenes fueron capaces de mejorar su clínica e hiperreactividad bronquial, así como su sensibilidad cutánea. Sin embargo, en los enfermos sensibles a ácaros la hiposensibilización no aportó beneficio alguno a la terapéutica convencional, y sólo mostraron una reducción de la sensibilidad cutánea al alergenio.

Esta diferencia parece encontrarse en la forma de exposición a la sustancia alergenizante, que en unos es estacional y en otros perenne, en los que provoca una inflamación crónica de la vía aérea y facilita la aparición de sintomatología secundaria a estimulantes inespecíficos.

La inmunoterapia parece mostrar más efectividad cuando se administra de forma preventiva, o sea, antes de la exposición antigénica y mostrando el enfermo, o mejor el órgano de choque, un estado de



reposo inflamatorio.

La IgE nos ha aportado muy poca información.

Hay que señalar que este tipo de estudios lleva aparejados múltiples problemas derivados de variables, en muchas ocasiones incontrolables, que pueden influir en los resultados.

BIBLIOGRAFIA

IX. BIBLIOGRAFIA:

1. Gallart T, Vives J. Inmunopatología. En: Farreras P y Rozman C, eds. Medicina Interna. 11ª edición. Barcelona: ediciones Doyma SA. 1988: 2411-1540.
2. Roitt IM, Brostoff J, Male DK. eds. 19 Hipersensibilidad Tipo I. En: Inmunología. Barcelona: MEDSI. 1988:19.1-19.18.
3. Kesarwala HH, Fischer TJ. Introducción al sistema inmunitario. En: Lawlor GJ, Fischer TJ, eds.: Manual de alergia e inmunología. Diagnóstico y tratamiento. 2ª edición. Barcelona: Salvat. 1990:1-16.
4. Prausnitz C, Küstner H. Studies on supersensitivity. Zentralbl Bakteriol 1921;86:160-169.
5. Ishizaka K, Ishizaka T. Human reaginic antibodies and immunoglobulin E. J Allergy 1968;42:330-363.
6. Bellant JA, Kadlec JV. ¿Qué es el estado atópico?. En: Weiss EB, Segal MS, Stein M. eds.: Asma bronquial. Mecanismos y terapéutica. 2ª edición. Madrid: IMESA. 1986:37-40.
7. Figueredo Delgado MA, Medina Peñafiel MT, Boimoro Pérez R, Gómez de la Concha E. Antígenos y anticuerpos. En: Gómez de la Concha E. ed.: Inmunología I. Madrid: Idepsa 1991:3832-42. (García de la Fuente A. ed.: Medicina Tratado de medicina interna. 5ª edición. Vol 97).
8. Gómez de la Concha E, Bustos Rubio A, Caturla López A. Organos y células del sistema inmune. En: Gómez de la Concha E, ed.: Inmunología I.

Madrid: Idepsa 1991:3814-22.(García de la Fuente A, ed.: *Medicine Tratado de medicina interna*. 5ª edición. Vol. 97).

9. Vercilli D, Geha RS. Regulation of IgE synthesis in humans: A tale of two signals. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:285-295.
10. Thyphronitis G, Tsokos GC, June CH, Levine AD, Finkelman FD. IgE secretion by Epstein-Barr virus-infected purified human B-lymphocytes is stimulated by interleukin-4 and suppressed by interferon- γ . *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:5580.
11. Jabara HH, Schneider LC, Shapira SK, et al. Induction of germ-line and mature C μ transcripts in human B cells stimulated with rIL-4 and EBV. *J Immunol* 1990;145:3468.
12. Jabara HH, Fu SM, Geha RS, Vercelli D. CD40 and IgE: synergism between anti-CD40 mAb and IL-4 in the induction of IgE synthesis by highly purified human B cells. *J Exp Med* 1990;172:1861.
13. Sarfati M, Luo H, Delespesse G. IgE synthesis by chronic lymphocytic leukemia cells. *J Exp Med* 1989;170:1775.
14. Rocklin RE, Findlay SR. Mecanismos inmunológicos y avances recientes en asma. En: Weiss EB, Segal MS, Stein M, eds.: *Asma bronquial. Mecanismos y terapéutica*. 2ª edición. Madrid: IMESA 1986: 41-49.
15. Wierenga EA, Snoek M, Bos JD, Jansen HM, Kapsenberg ML. Comparison of diversity and function of house dust mite-specific T-lymphocyte clones from atopic and nonatopic donors. *Eur J Immunol* 1990;20:1519.
16. Gerrard JW. Factores genéticos en el desarrollo del asma. En: Weiss EB, Segal MS, Stein M, eds.: *Asma bronquial. Mecanismos y terapéutica*. 2ª edición. Madrid: IMESA 1986:24-29.
17. Baum CG, Szabo P, Siskind GW et al. Cellular control of IgE induction by a polyphenol-rich compound. Preferential activation of Th2 cells. *J Immunol* 1990;145:779-784.

18. Te Piao King. Propiedades inmunoquímicas de los agentes que causan enfermedades atópicas en el hombre. En: Weiss EB, Segal MS, Stein M, eds.: Asma bronquial. Mecanismos y terapéutica. 2ª edición. Madrid: IMESA 1986:52-56.
19. Ausdenmoore RW, Fischer TJ. Aerobiología y antígenos inhalantes. En: Weiss EB, Segal MS, Stein M, eds.: Asma bronquial. Mecanismos y terapéutica. 2ª edición. Madrid: IMESA 1986:408-417.
20. Subiza Martín E, Subiza garrido-Lestache FJ, Jerez Luna M. Palinología. PAR 1988;70:11-64.
21. Saxon A. Hipersensibilidad inmediata: enfoque diagnóstico. En: Lawlor GL, Fischer TJ, eds.: Manual de alergia e inmunología. Diagnóstico y tratamiento. 2ª edición. Barcelona: Salvat 1990:17-29.
22. Ausdenmoore RW. Aeroalergenos y factores ambientales. En: Lawlor GL, Fischer TJ, eds.: Manual de alergia e inmunología. Diagnóstico y tratamiento. 2ª edición. Barcelona: Salvat 1990:43-52.
23. Carreira J. Cuantificación de extractos alergénicos en unidades de masa. En Carreira J, ed. Cuantificación de alergenos en unidades de masa. Madrid: Alergia e Inmunología Abelló SA, 1992:47-71.
24. Djukanovie R, Roche WR, Wilson JW, Beasley CRW, Twentyman OP, Howarth PH, et al. Mucosal inflammation in asthma. Am Rev Respir Dis 1990;142:434-457.
25. Saxon A. Hipersensibilidad inmediata: enfoque diagnóstico. En: GJ Lawlor, TJ Fischer, eds., Manual de alergia e inmunología. Diagnóstico y tratamiento. Barcelona: Salvat 1990:17-41.
26. Joseph M, Tonnel AB, Torpier G, Capron A, Arnoux B, Benveniste J. Involvement of immunoglobulin E in the secretory process of alveolar macrophages from asthmatic patients. J Clin Invest 1983;71:221-30.
27. Melewicz FM, Spiegelberg HL. Fc receptors for IgE on a sub-population of human peripheral blood monocytes. J Immunol 1980;125:1026-31.

28. Capron M, Capron A, Dessaint JP, Torpier G, Johansson SG, Prin L. Fc receptors of human and rat eosinophils. *J Immunol* 1981;126:2087-92.
29. Capron A, Ameisen JC, Joseph M, Auriault C, Tonnel AB, Caen J. New functions for platelets and their pathological implications. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1985;77:107-14.
30. Ludin C, Hofstetter H, Sarfati M, et al. Cloning and expression of the DNA coding for a human lymphocyte IgE receptor. *EMBO J* 1987;6:109-14.
31. Blanco Quirós A, Garrote Adrados JA. Regulación de la síntesis de IgE. Aspectos Actuales. En: Sanchez Villares E. ed. *Pediatría II*. Madrid: Idepsa 1991:3087-3092. (García de la Fuente A. ed. *Medicine Tratado de medicina interna*. 5ª edición. vol 80).
32. Cockcroft DW. Mechanism of perennial allergic asthma. *The Lancet* 1983;30:253-255.
33. Dreborg S. 1. Fisiopatología de las pruebas cutáneas. *Allergy* 1989;44(Supl 10):13-21.
34. Howarth PH, Durham SR, Lee TH, Kay AB, Church MK, Holgate ST. Influence of albuterol, cromolyn sodium and ipratropium bromide on the airway and circulating mediator responses to allergen bronchial provocation asthma. *Am Rev Respir Dis* 1985;132:986-92.
35. Church MK. The role of basophils in asthma. 1. Sodium cromoglycate on histamine release and content. *Clin Allergy* 1982;12:223-8.
36. Subiza garrido-Lestache JL, Caturla López A, Bustos Rubio A. Bases inmunológicas de la atopía. En: Gómez de la Concha E. ed. *Inmunología II*. Madrid: Idepsa 1991:3853-60. (García de la Fuente A. ed. *Medicine tratado de medicina interna*. 5ª edición Vol.99).
37. Howard PH, Durham SR, Kay AB, Holgate ST. The relationship between mast cell-mediator release and bronchial reactivity in allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1987;80:703-11.
38. Wenzel SE, Fowler AA, Schwartz LB. Activation of pulmonary mast cell by bronchoalveolar allergen challenge: in vivo release of histamine and

- tryptase in atopic subjects with and without asthma. *Am Rev Respir Dis* 1988;137:1002-8.
39. Schwartz LB. Preformed mediators of human mast cells and basophils. En: Holgate ST. ed. *Mast cells, mediators and disease*. London: Kluwer Academic Publishers 1988;129-47.
 40. William R, Henderson JR. Eicosanoids and Platelet-activating Factor in Allergic Respiratory Disease. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:s86-s90.
 41. Murray JJ, Tonnel AB, Brash AR, et al. Release of prostaglandin D₂ into human airways during acute antigen challenge. *N Engl J Med* 1986;315:800-4.
 42. Wardlaw AJ, Hay H, Cromwell O, Collins JV, Kay AB. Leukotrienes, LTC₄ and LTB₄, in bronchoalveolar lavage in bronchial asthma and other respiratory disease. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:19-26.
 43. Diaz P, Gonzalez MC, Galleguillos FR, et al. Leukocytes and mediators in bronchoalveolar lavage during allergen-induced late-phase asthmatic reactions. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:1383-9.
 44. Cockcroft DW, Murdock KY. Comparative effects of inhaled salbutamol, sodium cromoglycate, and beclomethasone dipropionate on allergen-induced early asthmatic response, and increased bronchial responsiveness to histamine. *J Allergy Clin Immunol* 1987;79:734-40.
 45. Cartier A, Thomson NC, Frith PA, Roberts R, Hargreave FE. Allergen induced increase in bronchial responsiveness to histamine: Relationship to the late asthmatic response and change in airway caliber. *J Allergy Clin Immunol* 1982;70:170-77.
 46. Cockcroft DW, Murdock KY. Protective effect of inhaled albuterol, cromolyn, beclomethasone and placebo on allergen-induced early asthmatic response (EAR), late asthmatic response (LAR) and allergen-induced increases in bronchial responsiveness to inhaled histamine (abstract). *J Allergy Clin Immunol* 1986;77:122A.

47. Schleimer RP, Schulman ES, MacGlashan DW, Peters SP, Adams GK, Lichtenstein LM, Adkinson NP. Effects of desamethasone on mediator release from human lung fragments and purified human lung mast cells. *J Clin Invest* 1983;71:1830-5.
48. Fuller RW, Kelsey CR, Cole PJ, Dollery CT, MacDermot J. Dexamethasone inhibits the production of thromboxano B₂ and leukotriene B₄, by human alveolar and peritoneal macrophages in culture. *Clin Sci* 1984;67:653-6.
49. Rouzer CA, Scott WA, Hamill AL. IgE immune complexes stimulate arachidonic acid release by mouse peritoneal macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982;79:5656-60.
50. Barnes PJ. New concepts in the pathogenesis of bronchial hyperresponsiveness and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1989;83:1013-26.
51. Durham SR, Cookson WO, Faux J, Craddock CF, Benson MK. Basic mechanisms in allergen-induced asthmatic responses (abstract). *Clin Exp Allergy* 1989;19:117A.
52. Durham SR, Kay AB. Eosinophils, bronchial hyperreactivity and late-phase asthmatic reactions. *Clin Allergy* 1985;15:411-8.
53. Smith LJ. The role of Platelet-activating Factor in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:S100-S102.
54. Grant AJ. ¿Por qué jadean?. *New Engl Reg Allergy* 1991;5:15-17.
55. Barnes PJ. Platelet-activating factor in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1988;81:152-60.
56. Sanchez IM, Ussetti P. Inflamación y asma. *Inflamación* 1991;93(Supl):44-51.
57. Wardlaw AJ, Moqbel R, Cromwell O, Kay AB. Platelet-activating factor: a potent chemotactic and chemokinetic factor for human eosinophils. *J Clin Invest* 1986;78:1701-6.
58. Chung KP, Barnes PJ. Effects of platelet-activating factor on airway caliber, airway responsiveness, and circulating cells in asthmatic subjects. *Thorax* 1989;44:108.15.

59. Lellouch-Tubiana A, Lefort J, Pirotzky E, Vargaftig BB, Pfister A. Ultrastructure evidence for extravascular platelets recruitment in the lung upon intravenous injection of platelet-activating factor (Paf-acether) to guinea pigs. *BR J Exp Pathol* 1985;66:345-55.
60. Henocq E, Vargaftig BB. Accumulation of eosinophils in response to intracutaneous PAF-acether and allergens in man. *Lancet* 1986;1:1378-9.
61. Evans TW, Chung K, Rogers DF, Barnes PJ. Effect of Platelet-activating factor on airway vascular permeability: possible mechanism. *J Appl Physiol* 1987;63:479-84.
62. Wirtz H, Lang M, Sannwald U, Hahn H. Mechanism of platelet-activating factor induced secretion of mucus from tracheal submucosa glands in ferrets. *Fed Proc* 1986;45:418.
63. Aursudkij B, Rogers DF, Evans TF, et al. Reduced tracheal mucus velocity in guinea-pigs in vivo by platelet-activating factor (abstract). *Am Rev Respir Dis* 1987;135:A160.
64. Gómez de la Concha E, Fernandez Pereira L, Marco de la Calle F. Interacciones celulares en la respuesta inmune y su importancia en la clínica. En: Gómez de la Concha E. ed. *Inmunología I*. Madrid: Idepsa 1991:3823-31. (García de la Fuente A. ed. *Medicine tratado de medicina interna*. 5ª edición. Vol.97).
65. Lee TC, Lenihan DJ, Malone B, Roddy LL, Wasserman SI. Increased biosynthesis of platelet-activating factor in activated human eosinophils. *J Biol Chem* 1984;259:5526-30.
66. Shaw RJ, Walsh GM, Cromwell O, Moqbel R, Spry CJF, Kay AB. Activated eosinophils generate SRS-A leukotrienes following IgG-dependent stimulation. *Nature* 1985;316:150-2.
67. Lewis DM, Lewis JC, Loegering DA, Gleich GJ. Localization of the guinea pig eosinophil major basic protein to the core of the granule. *J Cell Biol* 1978;77:702-13.
68. Venge P, Dahl R, Hallgren R, Olsson I. Cationic proteins of human eosinophils and their role in the inflammatory reaction. En: Mahmaoud AAF,

- Austen KF, eds. The eosinophil in health and disease. New York: Grune and Stratton Inc, 1985;131.
69. Enomoto T, Kitani T. Electron microscopic studies on peroxidase and acid phosphatase reaction in human leukocytes (in normal and leukemic cells and on phagocytosis). Acta Haematol JPN 1966;29:554-70.
 70. Friegas E, Loegering DA, Solley GO, Farrow GM, Gleich GJ. Elevated levels of eosinophils granule major basic protein in the esputum of patients with bronchial asthma. Mayo Clin Proc 1981;56:345-53.
 71. Friegas E, Loegering DA, Gelich DJ. Cytotoxic effects of the guinea pig eosinophils major basic protein on tracheal epithelium. Lab Invest 1980;42:35-43.
 72. Hastie AT, Loegering DA, Gleich GJ, Kueppers F. The effect of purified Human eosinophil major basic protein on mammalian ciliary activity. Am Rev Respir Dis 1987;135:848-53.
 73. Friendens K, Dahl R, Venge P. The Gordon phenomenon induced by eosinophil cationic protein and eosinophil protein X. J Allergy Clin Immunol 1982;70:361-6.
 74. Gleich GJ, Adolphson CR, Slifman NR, McKean DJ. Purification, neurotoxic and enzymatic activities of human eosinophil-derived neurotoxin and eosinophil cationic protein. In Kay AB, ed. Allergy and inflammation. London: Academic Press, 1987:165-80.
 75. Durak DT, Ackerman SJ, Loegering DA, Gleich GJ. Purification of human eosinophil-derived neurotoxin. Proc Natl Acad Sci USA 1981;78:5165-9.
 76. Scadding JG. Definition and clinical categories of asthma. En: Clark TJH, Godfrey S, eds. Asthma. Londres: Chapman & Hall, 1983:1-11.
 77. Cockcroft DW, Killian DN, Mellon JJ, Hargreave FE. Bronchial reactivity to inhaled histamine: a method and clinical survey. Clin Allergy 1977;7:235-43.

78. Klein RC, Salvaggio JE. Nonspecificity of the bronchoconstrictory effect of histamine and acetyl-beta-methylcholine in patients with obstructive airway disease. *J Allergy* 1966;37:158-68.
79. Mellis CM, Levison H. Bronchial reactivity in cystic fibrosis. *Pediatrics* 1978;61:446-50.
80. Freedman PM, Ault B. Bronchial hyperreactivity to methacholine in farmer's lung disease. *J Allergy Clin Immunol* 1981;67:59-63.
81. Empey DW, Laitinen LA, Jacob L, Glod WM, Nadel JA. Mechanisms of bronchial hyperreactivity in normal subjects after upper respiratory tract infection. *Am Rev Respir Dis* 1976;113:131-9.
82. Bel EH, Timmers MC, Hermans J. et al. The long-term effects of nedocromil sodium and beclomethasone dipropionate on bronchial responsiveness to methacholine in non-atopic asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1990;141:21-28.
83. Easton JG. Effects of an inhaled corticosteroid on methacholine airway reactivity. *J Allergy Clin Immunol* 1981;67:388-390.
84. Chung KF. Role of inflammation in hyperreactivity of airways in asthma. *Thorax* 1986;41:657-62.
85. Wardlaw AJ, Chung KF, Moqbel R, Macdonald AJ, McCusker M, Barnes PJ, Collins, Kay AB. Cellular changes in blood and bronchoalveolar lavage (BAL) and bronchial responsiveness after inhaled PAF in man. *Am Rev Respir Dis* 1988;137(suppl):283.
86. Dunnill MS. The pathology of asthma with especial reference to changes in the bronchial mucosa. *J Clin Pathol* 1960;13:27-33.
87. Naylor B. The shedding of the mucosa of the bronchial tree in asthma. *Thorax* 1962;17:69-72.
88. Barnes PJ, Cuss FMC, Palmer JBD. The effect of airway epithelium on smooth muscle contractility in bovine trachea. *Br J Pharmacol* 1985;86:685-691.

89. Flavahan NA, Aarthus LL, Rimele TJ, Vanhoutte PM. Respiratory epithelium inhibits bronchial smooth muscle tone. *J Appl Physiol* 1985;58:834-8.
90. Cuss FM, Barnes PJ. Epithelial mediators. *Am Rev Respir Dis* 1987;136:S32-5.
91. Goldie RG, Papadimitriou FM, Paterson JW, Rigby PJ, Self HM, Spina D. Influence of epithelium of responsiveness of guinea pig isolated trachea to contractile and relaxant agonists. *Br J Pharmacol* 1986;87:5-14.
92. Wardlaw AJ, Dunnette S, Gleich GJ, Colins JV, Kay AB. Eosinophils and mast cells in bronchoalveolar lavage in subject with mild asthma. Relationship to bronchial hyperreactivity. *Am Rev Respir Dis* 1988;137:62-9.
93. Beasley R, Roche WR, Roberts JA, Holgate ST. Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:806-17.
94. Leikauf GD, Ueki IF, Widdicombe JH, Nadel JA. Alteration of chloride secretion across canine tracheal epithelium by lipoxigen products of arachidonic acid. *Am J Physiol* 1986;250:47-53.
95. Nadel JA. Mecanismos de la inflamación y papel potencial en la patogenia del asma. *New Engl Reg Allergy* 1991;5:36-39.
96. Frossard N, Rhoden KJ, Barnes PJ. Influence of epithelium removal on guinea pig airway responses to tachykinins: role of endopeptidase and cyclooxygenase. *J Pharmacol Exp Ther* 1989;248:292-7.
97. Vanhoutte PM. Epithelium-derived relaxing factor(s) and bronchial reactivity. *J Allergy clin Immunol* 1989;83:855-61.
98. Dunnill MS, Massarella GR, Anderson JA. A comparison of de quantitative anatomy of the bronchi in normal subjects, in status asthmaticus, in chronic bronchitis and in emphysema. *Thorax* 1969;24:176-9.
99. Craige B. Fatal bronchial asthma. *Arch Intern Med* 1941;67:399-410.

-
100. Sakula A. Charcot-Leyden crystals and Curschmann spirals in asthmatic sputum. *Thorax* 1986;41:503-7.
101. Guirgis HA, Townley RG. Biochemical study on sputum in asthma and emphysema (abstract). *J Allergy Clin Immunol* 1973;51:86A.
102. Despas PJ, Leroux M, Macklem PT. Site of airway obstruction in asthma as determined by measuring maximal expiratory flow breathing air and a helium oxygen mixture. *J Clin Invest* 1972;51:3235-43.
103. Woolcock AJ, Jenkins CR. Assessment of bronchial responsiveness as guide to prognosis and therapy in asthma. *Medical Clinics of North America* 1990;74:753-65.
104. Roche WR, Beasley R, Williams JH, Holgate ST. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. *Lancet* 1989;1:520-4.
105. Brewster CE, Howarth PH, Djukanovic R, Roche WR. Myofibroblasts in bronchial asthma are responsible for "basement membrane" thickening in bronchial asthma (abstract). *J Pathol* 1990;160:153A.
106. Woolcock AJ, Peat JK, Cullen K. The effect of asthma on rate of decline of lung function (abstract). *Am Rev Respir Dis* 1986;133:156A.
107. O'Connor GT, Sparrow D, Weiss ST. The role of allergy and nonspecific airway hyperresponsiveness in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1989;140:225-52.
108. Lam S, Leriche JC, Kijek K, Philips RT. Effect of bronchial lavage volume on cellular and protein recovery. *Chest* 1985;88:856-9.
109. Majno G, Shea SM, Leventhal M. Endothelial contraction induced by histamine-type mediators. *J Cell Biol* 1969;42:647-72.
110. Persson CGA. Leakage of macromolecules from the tracheobronchial circulation. *Am Rev Respir Dis* 1987;135:71-5.

-
111. Barnes PJ. Neural control of human airways in health and disease. *Am Rev Respir Dis* 1986;134:1289-1314.
112. Barnes PJ. Airway inflammation and autonomic control. *Eur J Respir Dis* 1986;69 (suppl 147):80-7.
113. Nadel JA. Airways: autonomic regulation and airway responsiveness. En: Weiss EB, Segal MS, eds. *Bronchial asma. Mechanisms and therapeutics*. Boston, Little Brown and Co 1976;155-162.
114. Widdicombe JG. Role of the parasympathetic cholinergic system in normal and obstructed airways. *Respiration* 1986;50 (suppl 2):1-8.
115. Minette P, Lammers J-W, Barnes PJ. Is there a defect in inhibitory muscarinic receptors in asthma?. *Am Rev Respir Dis* 1988;137(suppl):239.
116. Ind PW, Causon RC, Brown MJ, Barnes PJ. Circulating catecholamines in acute asma. *Br Med J* 1985;290:267-79.
117. Barnes PJ, Brown MJ, Silverman M, Dollery CT. Circulating catecholamines in exercise- and hyperventilation-induced asthma. *Thorax* 1981;36:435-40.
118. Barnes PJ. Neuropeptides in the lung: localization, function, and pathophysiologic implications [Aspen allergy conference]. *J Allergy Clin Immunol* 1987;79:285-95.
119. Lundberg JM, Saria A, Lundblad L, Angaard A, Martling C-R, Theodorsson-Norheim E, Stjarne P, Hokfelt T. Bioactive peptides in capsaicin-sensitive C-fiber afferents of the airways: functional and pathophysiological implications. En: Kaliner MA, Barnes PJ, eds. *neural control in health and disease*. New York: Marcel Dekker 1988:417-45.
120. Fuller RW, Dixon CMS, Cuss FMC, Barnes PJ. Bradikinin induced bronchoconstriction in man: mode of action. *Am Rev Respir Dis* 1987;135:176-80.

121. Barnes PJ. Asthma as an axon reflex. *Lancet* 1986;1:242-5.
122. Saria A, Lundberg JM, Skofitsch G, Lembeck F. Vascular protein leakage in various tissues induced by substance P, capsaicin, bradykinin, serotonin, histamine, and by antigen challenge. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1983;324:212-8.
123. McDonald. Respiratory tract infections increase susceptibility to neurogenic inflammation in the rat trachea. *Am Rev Respir Dis* 1988;137:1432-4.
124. Umeno E, Nadel JA, Huang H-T, McDonald MD. Inhibition of neutral endopeptidase potentiates neurogenic inflammation in the rat trachea. *J Appl Physiol* 1989;66:2647-52.
125. Borson DB, Corrales R, Varsano S y cols. Enkephalinase inhibitors potentiate substance P-induced secretion of SO₄-macromolecules from ferret trachea. *Exp Lung Res* 1987;12:21-36.
126. Lundberg JM, Martling C-R, Saria A. Substance P and capsaicin-induced contraction of human bronchi. *Acta Physiol Scand* 1983;19:49-53.
127. Sekizawa K, Tamaoki J, Nadel JA, Borson DB. Enkephalinase inhibitor potentiates substance P- and electrically induced contraction in ferret trachea. *J Appl Physiol* 1987;63:1401-5.
128. Tanaka DT, Grunstein MM. Mechanisms of substance P-induced contraction of rabbit airway smooth muscle. *J Appl Physiol* 1984;57:1551-1557.
129. Kohrogi H, Graf PD, Sekizawa K, Borson DB, Nadel JA. Neutral endopeptidase inhibitors potentiate substance P- and capsaicin-induced cough in awake guinea pigs. *J Appl Physiol* 1988;64:2063-8.
130. Kohrogi H, Nadel JA, Malfroy B y cols. Recombinant human enkephalinase (neutral endopeptidase) prevents cough induced by tachykinins in awake guinea pigs. *J Clin Invest* 1989;84:781-6.

-
131. Dawies RJ. Immunotherapy in respiratory allergy. *Thorax* 1983;38:401-7.
132. DeSwarte RD: Drug allergy. En Patterson R, ed.: Allergic disease, diagnosis and management, ed 3. Philadelphia, 1985, JB Lippincott Co.
133. Bostock J. Of the catarrhus aestivus or summer catarrh. *Med Chir Trans* 1828;14:437.
134. Wyman M. Autumnal Catarrh. Cambridge, Hurd and Houghton. 1872.
135. Blackley CH. Experimental researches on the cause and nature of catarrhus aestivus (Hay fever or Hay asthma). Ed. I. London 1873, Balliere, Tindall and Cox.
136. Noon L. Prophylactic inoculation against hay-fever. *Lancet* 1911;1:1572.
137. Freeman J, Noon L. Further observations on the treatment of hayfever by hipodermic inoculations of pollen vaccine. *Lancet* 1911;2:814-817.
138. Cooke RA, Bernard JH, Hebard S, et al.: Serologic evidence of immunity with coexisting sensitization in a type of human allergy (hay fever). *J Exp Med* 1935;62:733-750.
139. Loveless MH: Immunological studies of pollinosis: IV. The relationship between thermostable antibody in the circulation and clinical immunity. *J Immunol* 1943;47:165-180.
140. Lichtenstein LM, Holtzman NA, Burnet LS. A quantitative in vitro study of the chromatographic distribution and immunoglobulin characteristics of human blocking antibody. *J Immunol* 1968;101:317-324.
141. Van Mertre TE Jr, Adkinson NF Jr. Immunotherapy for aeroallergen disease. En: Middleton E Jr, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NF, Yunginger JW eds. Allergy: principles and practice. 3rd ed. St Louis: CV Mosby, 1988:1327-45.

142. Norman PS. Immunotherapy. Prog Allergy 1981;32:318-55.
143. Platts-Mills TAE, Van Maurer RK, Ishizakas K, Norman PS, Lichtenstein LM. IgA and IgG anti-ragweed antibodies in nasal secretions: quantitative measurements of antibodies and correlation with inhibition of histamine release. J Clin Invest 1976;57:1041.
144. Hendrix SG, Patterson R, Zeiss CR, Irons JS, Pruzansky JJ, Suszko I, et al. A multi-institutional trial of polymerized whole ragweed for immunotherapy of ragweed allergy. J Allergy Clin Immunol 1980;66:486.
145. Zeiss CR, Metzger WJ, Levitz D: Quantitative relationships between IgE antibody and blocking antibodies specific for antigen E in patients given immunotherapy with ragweed antigen E. Clin Exp Immunol 1977;28:250.
146. Aalbersee RC, Van del Gaag R, Van Leuwen J. Serologic aspects of IgG4 antibodies. I. Prolonged immunization results in an IgG4-restricted response. J Immunol 1983;130:722-726.
147. Djurup R, Osterballe O, IgG subclass antibody response u;in grass-pollen allergic in patients undergoing specific immunotherapy. Allergy 1984;39:433-441.
148. Graft DF, Schubert KC, Kagey-Sobotka A, et al. Assessment of prolonged venom immunotherapy in children. J Allergy Clin Immunol 1987;80:162-166.
149. Pecquet C, Murrieta M, Michelen V, et al. Blocking activiy of mite-specific IgG antibodies studied by skin tests. Allergy 1989;44:427-31.
150. Bousquet J, Maasch HJ, Martinot B, et al. Double-blind, placebo-controlled immunotherapy with mixed grass-pollen allergoid. II. Comparison between parameters assessing the efficacy of immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 1988;82:439-46.

-
151. Hedlin G, Silber G, Naclerio RM, et al. Attenuation of allergen sensitivity early in the course of ragweed immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:390-9.
152. Van del Zee JS, Aalberse RC. The role of IgG. En: Lessof MH, Lee TH, Kemeny DM, eds. *Allergy: an international textbook*. Bath, UK.: John Wiley & Sons, 1987:49-68.
153. Nakagawa T, Takaishi T, Sakamoto Y, et al. IgG4 antibodies in patients with house dust mite sensitive bronchial asthma: relationship with antigen-specific immunotherapy. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1983;71:122-5.
154. Djurup R, Malling HJ. High IgG4 antibodies level is associated with failure in immunotherapy with inhalant allergens. *Clin Allergy* 1987;17:459-468.
155. Basomba A, Almodovar A, Campos A, Garcia A, Pelaez A.. One Year double-blind immunotherapy study in adult mite asthmatics. Comparison between a mPG-modified and the correponding unmodified mite allergen preparations. Clinical results. Reunión anual de la EAACI. Palma de Mallorca, abril 1987.
156. Djurup R. The subclass nature and clinical significance of the IgG antibody response in patients undergoing allergen specific immunotherapy. *Allergy* 1985;40:469-486.
157. Grammer LC. Principles of immunologic management of allergic diseases due to extrinsic antigens. En: Patterson R eds. *Allergic disease: Diagnosis and management*. Philadelphia: J B Lippincot Co 1985; 458-473.
158. Hebert J, Bernier D, Mourad W. Detection of anti-idiotypic antibodies to Lol p I (rye I) IgE antibodies in human sera by the use of murine idiotypes: levels in atopic and non-atopic subjects and effects of immunotherapy. *Clin Exp Immunol* 1990;80:413-419.
159. Tamir R, Castracane JM, Rocklin RE. Generation of suppressor cells in atopic patients during immunotherapy that modulate IgE synthesis. *J Allergy Clin Immunol* 1987;79:591.

160. de Vries JE. Novel approaches to specific immunotherapy for allergy and asthma. En: F. Bonifazi, L. Antonicelli, eds. Allergen Immunotherapy Up to date '90. Proceedings of the Symposium "Immunotherapy". Ancona, 9 June, 1990. Ancona: Bayropharm Italiana Società Editrice, 1991:9-16.
161. Lichtenstein LM, MacGlashan DW. The concept of basophil releasability. *J Allergy Clin Immunol* 1986;77:291-294.
162. Hsieh KH. Altered Interleukin-2(IL-2) production and responsiveness after hyposensitization to house dust. *J Allergy Clin Immunol* 1987;76:188-194
163. Creticos PS, Norman PS. Immunotherapy with allergens. *Jama* 1987;258:2874-80.
164. Dreborg S, Mosbech H, Weeke B. Immunotherapy (hyposensitization) and bronchial asthma. *Baillière's Clinical Immunology and Allergy* 1988;2:245-58.
165. Ohman JL. Allergen immunotherapy in asthma: Evidence for efficacy. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:133-140.
166. Diaz Sanchez C, Alvarez Alvarez C, Mosquera Pestaña JA. Inmunoterapia en el asma bronquial. *Información Terapéutica de la Seguridad Social* 1990;14:29-33.
167. Bousquet J, Hejjaoui A, Michel FB. Specific immunotherapy in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1990;86:292-305.
168. Thompson RA, Bousquet J, Cohen S, Frei PC, Jäger L, Lambert PH, et al. Estado actual de la inmunoterapia con alergenos (hiposensibilización). *Allergy* 1989;44:369-379.
169. Malling HJ, Basomba A, Bousquet J, et al. Position paper of European Academy of Allergy and Clinical Immunology: Specific Immunotherapy. *Allergy* 1988;43(supl 6):1-35.
170. Patterson R, Lieberman P, Irons JS Pruzansky JJ, Metzger WJ, Zeiss CR. Immunotherapy. En: Middleton E, Reed CE, Ellis EF eds. :

- Allergy. Principles and Practice, vol 2, The C.V. Mosby Company, St. Louis, Toronto, 1983, pp.1119.
171. Hunt KJ, Valentine MD, Sobotka AK, et al. A controlled trial of immunotherapy in insect sensitivity. *N Engl J Med* 1978;299:157-63.
172. Bousquet J, Müller UR, Dreborg S, et al. Immunotherapy with Hymenoptera venoms. Position Paper of the European Academy Of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy* 1987;42:707-20.
173. Juniper EF, Kline PA, Ramsdale EH, Hargreave FE. Comparison of the efficacy and side effects of aqueous steroid nasal spray (budesonide) and allergen-injection therapy (Pollines-R) in the treatment of seasonal allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:606-611.
174. Rees J. Treatment of chronic asthma. *Br Med J* 1984;1:1819-1821.
175. Canny GJ, Levison H. Management of asthma. *Chest* 1986;90(supl):465-525.
176. Grant IWB. Does immunotherapy have a role in the treatment of asthma?. *Clin Allergy* 1986;16:7-16.
177. Warner JO. Immunotherapy: yesterday's treatment. En: Reed CE, edt. *Proceedings of the XII International Congress of Allergology and Clinical Immunology*. St Louis: CV Mosby, 1986:323-6.
178. Frankland AW, Augustin R. Prophylaxis of summer hay fever, and asthma. *Lancet* 1954;1:1055-7.
179. Reid MJ, Moss RB, Hsu Y-P, et al. Seasonal asthma in northern California: allergic causes and efficacy of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1986;78:590-600.
180. Osterballe O, Immunotherapy in hay fever with two major allergens 19,25 and partially purified extract of timothy-grass pollen: a controlled double-blind study. In vivo variables, season I. *Allergy* 1980;35:473-89.

181. Bousquet J, Guérin B, Dotte A, et al. Comparison of rush immunotherapy with a standardized grass-pollen extract and classical immunotherapy with a pyridene extracted alum adjuved extract. *Clin Allergy* 1985;15:179-94.
182. Bousquet J, Maasch H, Hejjaoui A, et al. Double-blind, placebo-controlled immunotherapy with mixed grass-pollen allergoids III. Efficacy and safety of unfractionated and high-molecular-weight preparations in rhinoconjunctivitis and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:546-56.
183. Bousquet J, Hejjaoui A, Soussana M, Michel FB. Double-blind placebo controlled immunotherapy with mixed grass pollen allergoids IV. Comparison of the safety and efficacy of two dosages of a high-molecular-weight allergoid. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:490-7.
184. Hill DJ, Hosking CS, Shelton MJ, Turner KW. Failure of hyposensitization in treatment of children with grass-pollen asthma. *Br Med J* 1982;284:306-9.
185. Cooper PJ, Darbyshire J, Nunn AJ, Warner JO. A controlled trial of oral hyposensitization in pollen asthma and rhinitis in children. *Clin Allergy* 1984;14:541-50.
186. Bruce CA, Norman PS, Rosenthal RR, Lichtenstein LL. The role of ragweed pollen in autumnal asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1977;59:449-59.
187. McAllen MC. Bronchial sensitivity testing in asthma. An assessment of effect of hyposensitization in house-dust and pollen-sensitive asthmatic subject. *Thorax* 1961;16:30-35.
188. Ortolani C, Pastorello E, Moss RB, et al. Grass-pollen immunotherapy: a single year, double-blind, placebo-controlled study in patients with grass pollen-induced asthma and rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:283-90.

-
189. Tuchinda M, Hyman C. Effect of immunotherapy in chronic asthmatic children. *J Allergy Clin Immunol* 1973;51:131-8.
190. Bessot JC, Moreau G, Lenz D, et al. Etude comparative d'un essai de désensibilisation "en double-insu" aux extraits de poussière et aux extraits d'acariens. *Rev F Allergol* 1975;15:73-83.
191. D'Souza ME, Pepys J, Wells ID, Tai E, Palmer F, Overell BG, et al. Hyposensitization with *Dermatophagoides pteronyssinus* in house dust allergy: a controlled study of clinical and immunological effects. *Clin Allergy* 1973;3:177-93.
192. British Tuberculosis Association. Treatment of house dust allergy. *Br Med J* 1968;3:774-7.
193. Bousquet J, Clauzel AM, Hejjaoui A, Dhivert H, Godard P, Chanal I, et al. Non specific bronchial hyperreactivity in asthmatic subjects after immunotherapy with a standardized mite extract. *Am Rev Respir Dis* 1987;135:A 135.
194. Formgren H, Lanner A, Linholm N, Löwhagen O, Dreborg S. Effects of immunotherapy on specific and nonspecific sensitivity of the airways (Abstract). *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:140.
195. Mosbech A, Dreborg S, Frolund L, Ljungstedt-Pählman I, Svendsen UG, Soborg M. Hyposensitization in asthmatics with mPEG modified and unmodified house dust mite extract. II Effect evaluated by challenges with allergen and histamine. *Allergy* 1989;44:499-509.
196. Newton DAG, Maberly DJ, Wilson R. House dust mite hyposensitization. *Br J Dis Chest* 1978;72:21-8.
197. Malling HJ, Dreborg S, Weeke B. Diagnosis and Immunotherapy of Mould Allergy. V. Clinical Efficacy and Side Effects of Immunotherapy with *Cladosporium herbarum*. *Allergy* 1986;41:507-519.

198. Kaad PH, Ostergaard PAA. The hazard of mould immunotherapy in children with asthma. *Clin Allergy* 1982;12:317.
199. Salvaggio J, Aukrust L. Mold-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:327.
200. Alvarez Cuesta E, Boquete Paris M, Cadahia García A, Carrillo Díaz T, Fernández-Távora L, Hernández García J, Muñoz Lejarazu D. Manejo práctico de la inmunoterapia. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1988;3:133-140.
201. Weeke B. Allergen specific immunopharmacology. En: F. Bonifazi, L. Antonicelli, eds. *Allergen Immunotherapy Up to date '90. Proceedings of the Symposium "Immunotherapy"*. Ancona 9 June 1990. Ancona: Bayropharm Italiana Società Editrice 1991:39-48.
202. Carreira J. Control de extractos alérgicos mediante métodos inespecíficos. En Carreira J, ed. *Cuantificación de alérgenos en unidades de masa*. Madrid: Inmunología y Alergia Abelló SA, 1992:15-18.
203. Aas K, Backman A, Belin L, Weeke B. Standardization of allergen extracts with appropriate methods. *Allergy* 1978;33:130.
204. Brighton WD, Topping MD, Henocq E. Activity units for allergen extracts. *Clin Allergy* 1979;9:591.
205. Turkeltaub PC, In vivo methods of standardization. *Clin Rev Allergy* 1986;4:371.
206. Ceska M, Eriksson R, Varga J, Radioimmunosorbent assay of allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1972;49:1.
207. Siraganian RP. An automated flow system for the extraction and fluorimetric analysis of histamine. *Anal Biochem* 1974;57:383.
208. Platts-Mills TAE, Chapman MD. Allergen standardization. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:621-5.

209. Grammer LC, Shaughnessy MA, Patterson R. Modified forms of allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1985;76:397-401.
210. Fischer TJ, Entis GN, Winant JG, Berstein IL. Principios básicos del tratamiento de las enfermedades alérgicas. En Lawlor GJ, Fischer TJ, eds. *Manuel de alergia e inmunología 20 edición*. Barcelona: Salvat eds. 1990:55-108.
211. Bonifazi F, Antonicelli L. Risk-benefit analysis of Rush immunotherapy protocols. En: F. Bonifazi, L. Antonicelli, eds. *Allergen Immunotherapy Up to date '90. Proceedings of the Symposium "Immunotherapy"*. Ancona 9 June 1990. Ancona: Bayropharm Italiana Società Editrice 1991:119-129.
212. Stevens WJ, Verhelst JA, Van den Bogaert W, Bridts CH. Clinical and Biological evaluation of Semi-rush and ordinary immunotherapy schemes in type I allergic respiratory disease. *Allergy* 1985;40:447-452.
213. Juniper AF, O'Connor J, Roberts RS, Tech M, Evans S, Hargreave FE, et al. Polyethylene glycol-modified ragweed extract: Comparison of two treatment regimens. *J Allergy Clin Immunol* 1986;78:851-56.
214. Franklin W, Lowell FC. Comparison of two dosages of ragweed extract in the treatment of polinosis. *Jama* 1967;201:95-7.
215. Mosbech H, Osterballe O. Does the effect of immunotherapy last after termination of treatment?. Follow-up study in patients with grass pollen rhinitis. *Allergy* 1988;43:523-529.
216. Vervloet D, Kharirallah E, Arnaud A & Charpin J. A prospective national study of the safety of immunotherapy. *Clinical Allergy* 1980;10:59-64.
217. Greenberg MA, Kaufman CR, Gonzalez GE, Rosenblatt CD, Smith LL, Summers RJ. Late and immediate systemic-allergic reactions to inhalants allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1986;77:865-70.

218. Hejjaoui A, Dhivert H, Michel FB, Bousquet J. Immunotherapy with standardized Dermatophagoides pteronyssinus extract. IV. Systemic reactions according to the immunotherapy schedule. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:473-9.
219. Bousquet J, Hejjaoui A, Dhivert H, Clauzel AM, Michel FB. Immunotherapy with a standardized Dermatophagoides pteronyssinus extract. III. Systemic reactions during the rush protocol in patients suffering from asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1989;83:797-802.
220. Lockey RF, Benedict LM, Turkeltaub PC, Bukantz SC. Fatalities from immunotherapy (IT) and skin testing (ST). *J Allergy Clin Immunol* 1987;79:660-77.
221. Committee on Safety of Mediciens. CSM Update: Desensitizing vaccines. *Br Med J* 1986;293:948.
222. Anderson JA, Chai H, Claman HN, Ellis EF, Fink JN, Kaplan Ap, et al. Position statement: Personnel and equipment to treat systemic reactions caused by immunotherapy with allergenic extracts. *J Allergy Clin Immunol* 1986;77:271-273.
223. Frost L, Johansen P, Pedersen S, Veien N, Aabel Ostergaard P, Nielsen MH. Persistent Subcutaneous Nodules in Children Hyposensitized with Aluminium-Containing Allergen Extract. *Allergy* 1985;40:368-372.
224. Weiss SJ. Localized fibrosis associated with immunotherapy?. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:423-424.
225. Taylor RJ. Hypersensitivity vasculitis occurring in a patient receiving immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:889-890.
226. Negrini AC, Troise C, Voltolini S, et al. Long term hyposensitization and adverse immunologiccal responses. A laboratory evaluation. *Annals of Allergy* 1985;54:534-537.

227. Bonner JR. The epidemiology and natural history of asthma. Clin Chest Med 1984;5(4):557-565.
228. Weiss ST, Speixer FE. Epidemiología del asma: factores de riesgo e historia natural. En: Weiss EB, Segal MS, Stein M, eds. Asma bronquial. Mecanismos y terapéuticas. Madrid: IMESA, 1986:14-23.
229. Williams HE, McNicol RN. The spectrum of asthma in Children. Pediat Clin North Am 1975;22:43.
230. Dreborg S. 2 Métodos para pruebas cutáneas. Allergy 1989;44(supl 10):22-31.
231. Valencia Rodriguez A, Casan Clará P, Diaz Fernández M, Perpiñá Tordera M, Sebastián Gil MD. Normativa para los tests de provocación bronquial inespecífica. Archivos de Bronconeumología 1991;27:353-361.
232. Juniper EF, Frith PA, Dunnett C, Cockcroft DW, Hargreave FE. Reproducibility and comparison of response to inhaled histamine and methacholine. Thorax 1978;33:705-10.
233. Rosenthal RR. Metodología aprobada en las pruebas de provocación con metacolina. New Engl Reg Allergy 1990;4:12-32.
234. Hargreave FE, Ryan G, Thomson NC, et al. Bronchial responsiveness to histamine or methacholine in asthma: measurement and clinical significance. J Allergy Clin Immunol 1981;68:347-355.
235. Juniper EF, Frith PA, Hargreave EF. Airway responsiveness to histamine and methacholine: relationship to minimum treatment to control symptoms of asthma. Thorax 1981;36:575-579.
236. Yan K, Salome C, Woolcock Aj. A rapid method for measurement of bronchial hyperresponsiveness. Thorax 1983;38:760-765.
237. Susan Chinn. Statistics in respiratory medicine-2. Repeatability and method comparison. Thorax 1991;46:454-456.

238. Pauli G, Bessot JC, Bigot H, Delaume G, Hordle DA, Hirth C, Thierry R. Clinical and immunologic evaluation of tyrosine-adsorbed *Dermatophagoides pteronyssinus* extract: A double-blind-placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 1984;74:524-35.
239. Murray AB, Ferguson AC, Morrison BJ. Non-allergic hyperreactivity in asthmatic children decreases with age and increases with mite immunotherapy. *Ann of allergy* 1985;54:541-44.
240. Bousquet J, Hejjaoui A, Clauzel A-M, Guerin B, Dhivert H, Skassa-Brociek W, et al. Specific immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. II. Prediction of efficacy of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:971-7.
241. Mosbech H. Who will benefit from hyposensitization?. Predictive parameters in house dust mite allergic asthmatics. *Allergy* 1990;45:209-212.
242. Armentia-Medina A, Blanco-Quirós A, Martín-Santos JM, Alvarez-Cuesta E, Moneo-Goiri I, Carreira P, Losada-Cosmes E. Rush immunotherapy with a standardized Bermuda grass pollen extract. *Ann of Allergy* 1989;63:127-135.
243. Rak S, Löwhagen O, Venge P. The effect of immunotherapy on bronchial hyperresponsiveness and eosinophil cationic protein in pollen-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:470-80.
244. Van Bever HP, Stevens WJ. Suppression of the late asthmatic reaction by hyposensitization in asthmatic children allergic to house dust mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*). *Clinical and Experimental Allergy* 1989;19:399-404.
245. Mosbech H, Dreborg S, Frolund L, Ljungstedt-Pahlman I, Svendsen UG, Soborg M, et al. Hyposensitization in asthmatics with mPEG modified and unmodified house dust mite extract. II. Effect evaluated by challenges with allergen and histamine. *Allergy* 1989;44:499-509.

246. Pécoud A, Nicod L, Badan M, Agrell B, Dreborg S, Kolly M. Effect of one-year hyposensitization in allergic rhinitis. Comparison of two house dust mite extracts. *Allergy* 1990;45:386-392.
247. Vermeire PA, Wittesaele WM, Janssens E, Backer A. European audit of asthma therapy. *Chest* 1986;90(supl):58-61.
248. Hodgkin JE. United States audit of asthma therapy. *Ches* 1986;9=(Supl):62-66.
249. Bousquet J, Calvayrac P, Guérin B, Hejjaoui A, Dhivert B, Hewitt B, et al. Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract of treatment. I. In vivo and in vitro parameters after a short course of treatment. *J Allergy Clin Immunol* 1985;76:734-44.
250. Chinn S, Britton JR, Burney PGJ, Tattersfield AE, Papacosta AO. Estimation and repeatability of the response to inhaled histamine in a community survey. *Thorax* 1987;42:45-52.
251. Fuchs AM, Strauss MB. The clinical evaluation and the preparation and standardization of suspensions of a new water-insoluble whole ragweed pollen complex. *J Allergy Clin Immunol* 1959;30:66.
252. Lombardero, M, Carreira J. A comparison between pyridinic and non-pyridinic extraction of allergenic material. *Ann Allergy* 1986;56:72.
253. Platts-Mills TAE. Editorial. Oral immunotherapy: A way forward?. *J Allergy Clin Immunol* 1987;80:129-132.
254. Fling JA, Ruff ME, Parker WA, Whisman BA, Martin ME, Moss RB, et al. Suppression of the late cutaneous response by immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1989;83:101-9.
255. Peng Z, Nacleiro R, Norman PS, Adkinson NF. Quantitative IgE- and IgG-subclass responses during and after long-term ragweed immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:519-29.

256. Bousquet J, Guèrin B, Michel FB. Clinical trail with standardized extracts. En: Proceeding of the Thisd Paul-Ehrlich-Seminar on Regulatory Control and Standardization of Allergenic Extracs. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1985:291-309.
257. Warner JO, Price JF, Soothill JF, et al. Controlled trial of hyposensitization to Dermatophagoides pteronyssinus in children with asthma. Lancet 1978;2:912-5.
258. Price JF, Warner JO, Hey EN, Turner MW Soothill JF. A controlled trial of hyposensitization with adsorbed tyrosine Dermatophgoides pteronyssinus antigen in childhood asthma: in vivo aspects. Clin Allergy 1984;14:209-219.
259. Marques RA, Avila R, Results of a clinical trial with a Drmatophagoides pteronyssinus tyrosine adsorbed vaccine. Allergol et Immunopathol 1978;6:231-35.
260. McHugh SM, Lavelle B, Kemeny DM, Patel S, Ewan PW. A placebo-controlled trial of immunotherapy with two extracts of Dermatophagoides pteronyssinus in allergic rhinitis, comparing clinical outcome with changes in antigen-specific IgE, IgG, and IgG subclasses. J Allergy Clin Immunol 1990;86:521-32.
261. Lai-Chen Tsai, Mei-When Hung, Ren-Bin Tang. Changes of Serum-Specific IgE Antibody Titer during Hyposensitization in Mite-Sensitive Asthmatic Children. Journa of Asthma 1990;27:95-100.
262. Formgreen H, Lanner A, Linholm N, Löwhagen O, Dreborg S. Effects of immunotherapy on specific and nonspecific sesitivity of the airways (Abstract). J Allergy Clin Immunol 1984;73:140.
263. Cocco G, Balzano G, Cavaliere C, D'Agostino F, Padovano A, Piotti M, et al. Immunotherapy and natural history of respiratory allergic diseases. En: F. Bonifazi, L. Antonicelli, eds. Allergen Immunotherapy Up to date '90. Proceedings of the Symposium "Immunotherapy". Ancona, 9 de Junio de 1990. Ancona:

Bayropharm Italiana Società Editrice 1991:26-31.

264. Saetta M, Maestrelli P, Di Stefano A, De Marzo N, Milani GF, Pivirotto F, et al. Effect of Cessation of Exposure to Toluene Diisocyanate (TDI) on Bronchial Mucosa of Subjects with TDI-induced Asthma. Am Rev Respir Dis 1992;145:169-174.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de D. FERNANDA HERNANDEZ UTRERA.

titulada INFUNDOTERAPIA EN EL ALMA BECONGUAL

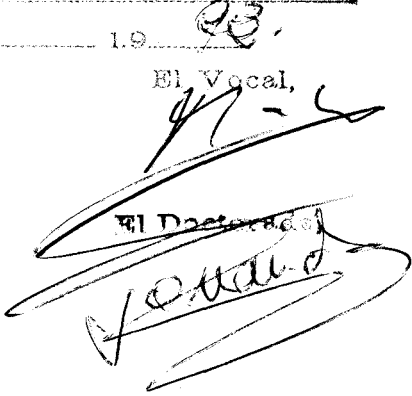
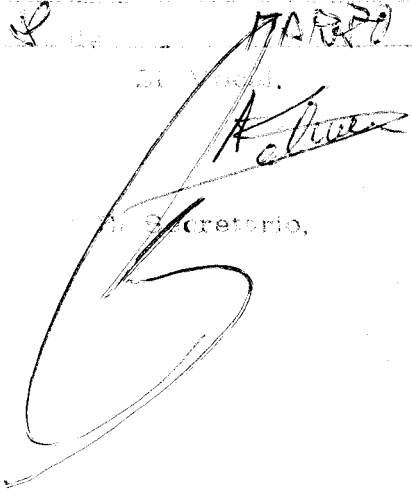
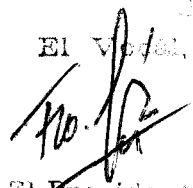
acordó otorgarle la calificación de APTO CON LAUAE

Sevilla, 4 de MARZO de 1993.

El Vocal,

El Vocal,

El Vocal,



El Presidente

El Secretario,

El Doctorado