

# **TESIS DOCTORAL**

**ANTICUERPOS BLOQUEANTES EN LA ALERGIA A DERMATOPHAGOIDES**

T.D.  
5/96

**M<sup>a</sup> de los Angeles Sánchez Armengol**

**Director: José Castillo Gómez**

**Servicio de Neumología  
Hospital Universitario Virgen del Rocío  
Sevilla.**

R. 21195

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
SECRETARÍA GENERAL

Queda registrada esta Tesis Doctoral  
al tomo 221 número 124 del libro  
correspondiente a la III Sesión  
Sevilla, \_\_\_\_\_

El Jefe del Negociado de Tesis,

*Flora Caffillo*

## TESIS DOCTORAL

**ANTICUERPOS BLOQUEANTES EN LA ALERGIA A DERMATOPHAGOIDES**

X

M<sup>a</sup> de los Angeles Sánchez Armengol

Director: José Castillo Gómez

Servicio de Neumología  
Hospital Universitario Virgen del Rocío  
Sevilla.

*[Handwritten signature]*

## INDICE

1.- Introducción . . . . .	Pág. 1
2.- Material y Método . . . . .	Pág. 58
3.- Resultados . . . . .	Pág. 66
4.- Discusión . . . . .	Pág. 72
5.- Conclusiones . . . . .	Pág. 109
6.- Figuras . . . . .	Nº 1- 25
7.- Bibliografía	

## INTRODUCCION

En la evolución de los organismos multicelulares uno de los mayores avances ha sido la adquisición de resistencia específica frente a sustancias extrañas. El conjunto de mecanismos que constituyen esta defensa se conoce como Sistema Inmune ( del latín "immunis", "exento de ciertos gravámenes o cargas" ). Este sistema deriva del desarrollo del tejido linfoide durante la embriogénesis (1). Las células de la respuesta inmune se diferencian a partir de una célula madre pluripotencial, derivada de la médula ósea. Cuando esta célula precursora se encuentra en un ambiente biológico adecuado ( microatmósferas anatómicas hematopoyéticas ) es capaz de generar tres tipos de células diferentes: células T o timo-dependientes, células B o burso-dependientes y las células de la línea monocito-macrofágica.

Desde finales de los años 50 se sucedieron una serie de trabajos y experimentos que dieron como resultado la confirmación de que era el linfocito la célula central del sistema inmunitario, constituyéndose en la unidad anatómico-funcional del sistema inmune, ya que son capaces de responder con especificidad y memoria a un estímulo antigénico (2). En el hombre, la tasa de renovación linfocitaria es muy elevada: cada día se renueva aproximadamente el 2% del volumen total de estas células. Los linfocitos son las únicas células que tienen receptores específicos para el antígeno y sólo ellas pueden desarrollar una respuesta específica frente al mismo, a pesar de lo cual necesitan que el antígeno les sea presentado por otros tipos de

células, llamadas genéricamente células accesorias, que sin tener la propiedad de la especificidad, resultan imprescindibles para el perfecto funcionamiento del sistema inmunitario. Estas células accesorias incluyen, entre otras, a los monocitos, los macrófagos y las células dendríticas. Además de las células, el sistema inmune necesita de ciertos factores solubles ( linfoquinas, citocinas o interleucinas ) que regulan su acción actuando sobre receptores específicos de diferentes células.

Además de lo anterior, se pudo también concluir que los linfocitos no formaban una unidad funcionalmente homogénea, sino que estaban formando dos grandes grupos o subsistemas, estructural y funcionalmente bien diferenciados. Por un lado, los linfocitos T, derivados del timo y responsables de las respuestas inmunitarias mediadas por células, como las que intervienen en el rechazo de órganos o en la hipersensibilidad retardada. Por el otro, los linfocitos B, derivados en los mamíferos de la médula ósea, y responsables de producir anticuerpos como respuesta al estímulo antigénico.

En cada órgano linfoide primario existen sólo células linfoides de la estirpe que se diferencia en él: linfocitos T en el timo y B en la médula ósea. En sangre periférica la relación de linfocitos T/B es de 8/1, y la que existe entre las dos subpoblaciones más importantes de células T, CD4/CD8, es de 2/1. Los linfocitos T son las células soporte del sistema inmune pues su población más importante, los linfocitos CD4, es la primera estirpe celular que se estimula por el estímulo antigénico e interviene en toda la respuesta inmune. Los linfocitos T se diferencian en el timo, modificándose la estructura de los

timocitos ( células T inmaduras ), sobre todo en base a los cambios que se producen en las regiones conocidas como Antígeno de diferenciación. Estas regiones se denominan con las siglas CD ( " cluster of differentiation" ) y pueden ser reconocidas mediante anticuerpos monoclonales.

Los linfocitos T maduros periféricos tienen lo que se llama restricción HLA, o sea, sólo responden frente a antígenos extraños al huésped que sean presentados por Ag HLA propios.

En este fenómeno se basa la existencia de la tolerancia inmunológica que impide que, en condiciones normales, el sistema inmune no dañe estructuras del propio organismo.

Los Ag de diferenciación que los timocitos inmaduros adquieren a su paso por la corteza tímica son: CD1, que es típico de los timocitos en fase más inmadura; CD2, CD3 y CD5, que son característicos de la línea T madura; CD4 y CD8, que existen en los linfocitos maduros y que caracterizan a las dos subpoblaciones principales de células T; TCR o Receptor de Células T, que se encuentra en los linfocitos T maduros y es tan característico de ellas como las Ig lo son de los linfocitos B, ya que ambas estructuras son clonoespecíficas, es decir, diferentes en cada clon celular y específico para un determinado Ag.

La población CD4 es numéricamente mayoritaria, tiene una actividad reguladora-cooperadora e interviene en las respuestas de hipersensibilidad retardada ( fundamentalmente a través de factores solubles ). La población de CD8 es básicamente citotóxica y son capaces de destruir todas las células del organismo que presenten el Ag HLA clase I ( que son todas excepto

los eritrocitos ), así como aquellas células que han sufrido alteraciones en su estructura de membranas, como sucede en las células infectadas o neoplásicas.

Los linfocitos T - tanto CD4 como CD8 - pueden dividirse en dos grupos dependiendo de que expresen en sus membranas distintas isoformas del Ag de diferenciación CD45: las formas CD45-RA y CD45-RO, estas últimas capaces de ser estimuladas con pequeñas concentraciones de antígeno y funcionalmente más potentes, por lo que se consideran que son protagonistas en los mecanismos de memoria CD4 o CD8. A este tipo de linfocitos les resulta fácil ( debido a la existencia de moléculas de adhesión ) atravesar la pared capilar de muchos órganos, como pulmón, piel o aparato digestivo, localizándose allí para reconocer precozmente a los antígenos que se introduzcan por estas vías.

Los linfocitos B se reconocen por la existencia de Ig en sus membranas. A partir de la célula progenitora, los linfocitos B se diferencian en la médula ósea pasando inicialmente por el estadio de blasto ( célula pre-pre B ), que se divide para dar lugar a la célula pre B. Si las células reciben señales para continuar con su diferenciación, se produce el reordenamiento de los genes que codifican la síntesis de cadenas pesadas (3). El linfocito B queda definido cuando expresa moléculas de Ig en sus membranas. Al principio sólo expresa Ig M, después Ig D y más tarde receptores para la fracción Fc de las Ig G y para el complemento. Los linfocitos B maduros se diferenciarán en células plasmáticas una vez que hayan interactuado con el antígeno, necesitándose también que los linfocitos T CD4 estén presentes y liberen linfoquinas. Al transformarse en célula plasmática el

linfocito B pierde sus receptores para el complemento y las Ig de superficie, adquiriendo en su membrana los Ag de diferenciación típicos de las células plasmáticas. Los linfocitos B no están claramente divididos en subpoblaciones como los T, pero desde el punto de vista funcional se puede hablar de células B vírgenes y células B de memoria. Hay una subpoblación especial de linfocitos B que se caracterizan por tener el antígeno CD5, normalmente presente sólo en las células T. En la médula ósea de los adultos no se han encontrado sus células precursoras, por lo que parece que estos linfocitos se renuevan a partir de sí mismos, por un mecanismo no del todo conocido. Producen Ig M y se les ha supuesto una participación importante en algunas enfermedades autoinmunes. Sí está definido el papel que protagonizan en el desarrollo de las leucemias linfoides crónicas.

Junto a estos dos tipos de linfocitos clásicamente definidos, en sangre periférica se encuentra un pequeño porcentaje ( menos del 5% ) de otro tipo de linfocitos diferentes fenotípicamente de los B y los T. Este grupo heterogéneo de células está constituido sobre todo por los llamados Linfocitos Grandes Granulares que, por tener una función básicamente citotóxica, reciben el nombre de células NK ( natural killer ). Esta citotoxicidad natural de que están dotadas les permite lisar ciertas poblaciones celulares sin que medie un reconocimiento antigénico previo, sin especificidad de antígeno y sin que haya memoria inmunológica para ello. Las células que pueden ser destruidas tienen que presentar ciertos determinantes que serán reconocidos por unos receptores de las células NK que todavía no

han sido identificados (4).

En base a esta división en su unidad celular básica, el sistema inmune es capaz de desarrollar dos estructuras defensivas diferentes, pero interrelacionadas entre sí, conocidas como Inmunidad Celular e Inmunidad Humoral, representadas por los tipos T y B de linfocitos respectivamente. La característica fundamental del sistema inmune es la especificidad, que depende de la capacidad de reconocimiento. El sistema es capaz de distinguir una molécula propia de una extraña, lo que lleva a cabo actuando sobre porciones muy pequeñas de la molécula ( 6 a 20 aminoácidos en el caso de una proteína ), denominadas determinantes antigénicos o epítopes. Este reconocimiento se hace mediante los receptores específicos de superficie, moléculas de Ig para los linfocitos B y receptores TCR para los T. Los receptores de los linfocitos B reconocen epítopes de moléculas que se encuentran tanto en solución como en una superficie sólida, pero los de los linfocitos T sólo reconocen a los antígenos que hayan sido previamente procesados por una célula, la cual presenta sobre su superficie un pequeño péptido de este antígeno (5).

En los seres humanos, así como en otras especies de mamíferos, la capacidad de reconocer sustancias extrañas al organismo y responder adecuadamente está codificada por un grupo de genes. Este conjunto genético se localiza en el cromosoma 6, en la porción que se denomina Complejo antígeno de leucocito humano ( HLA ) y que se encuentra dividido en cuatro loci mayores, llamados A, B, C y D.

Las características más importantes del sistema inmune

celular son que el efector específico para el antígeno es un linfocito T sensibilizado - así como para el sistema inmune humoral este efector es una molécula libre de anticuerpo - y que se ha desarrollado filogenéticamente para hacer frente fundamentalmente a microorganismos intracelulares. Se definió el término interleuquina ( IL ) para las proteínas producidas por determinados leucocitos que regulan el crecimiento y la activación de otros leucocitos (6). Se conocen unas 20 interleuquinas caracterizadas todas ellas por su pleiotropismo y redundancia respecto a las funciones que son capaces de ejercer, su corta vida media y su producción en muy escasas cantidades. En condiciones normales, en el suero sólo se detectan cantidades significativas de IL-6, pero en situaciones anormales pueden detectarse IL-1 y TNF-alfa ( factor de necrosis tumoral ). La IL-4 y el IFN-gamma (interferón gamma) participan, como veremos después con más detalle, en la regulación de la síntesis de Ig E con acciones opuestas sobre la misma: la IL-4 favorece su producción mientras que el IFN-gamma y los Ac anti-IL-4 suprimen drásticamente esta producción. El factor más importante en el crecimiento y diferenciación de los eosinófilos es la IL-5, por lo que este mediador controla directamente los niveles de estas células en sangre periférica. La IL-6 está implicada en numerosas enfermedades siendo las más importantes las neoplasias de células plasmáticas y algunas enfermedades autoinmunes. El TNF-alfa interviene en el desarrollo de los cuadros clínicos característicos del shock endotóxico y de la caquexia que acompaña a las infecciones crónicas.

El proceso por el que un antígeno estimula la producción de

anticuerpos específicos es complejo y se regula en diferentes estadios. Desde finales de la década del 60 se sabe que para que el sistema inmune humoral origine sus productos finales, los anticuerpos, como respuesta a la existencia de un antígeno, era imprescindible la existencia y participación de los linfocitos T (7). Para que un linfocito B no comprometido inmunológicamente se diferencie en una célula plasmática, biosintéticamente activa, se requiere la colaboración de un subgrupo concreto de linfocitos T, llamados por esto linfocitos T cooperadores. Como excepción a esto, hay una serie de antígenos, de estructura simple polimérica, que son capaces de desencadenar la formación de anticuerpos aunque no existan linfocitos T, por lo que se conocen como antígenos T-independientes (8).

Pero además de la cooperación entre células B y T, el sistema inmune humoral necesita de la interacción de estas células con los macrófagos, que desempeñan un papel fundamental en las respuesta inmune. El macrófago capta al antígeno, lo procesa y lo combina con un producto genético - ligado al complejo mayor de histocompatibilidad - que es una mucoproteína llamada Ia ( asociada a la inmunorespuesta ). La combinación del antígeno procesado y esta mucoproteína es presentada a las células T para su reconocimiento inmunológico y para que se estimule su actividad cooperadora.

Los linfocitos B tienen monómeros de Ig D e Ig M identificables en sus membranas, que actúan como receptores capaces de reconocer el determinante antigénico para el cual esta célula B desarrolla su función de síntesis de anticuerpos. Una vez que el linfocito B se ha diferenciado en célula plasmática,

estos receptores se desprenden y son reemplazados por inmunoglobulinas de membrana, de la misma clase que la que sintetiza la célula plasmática. Después de que han interactuado los macrófagos, las células T cooperadoras y las células B, estas últimas entran en un proceso de blastogénesis, transformándose en células plasmáticas maduras. Estas van a sintetizar inmunoglobulinas con especificidad antigénica, correspondiendo a la que inició la diferenciación celular. Por lo general, cuando se produce una respuesta primaria de anticuerpos, ésta se desarrolla a expensas de Ig M básicamente, que son producidas por linfocitos B con cierta independencia de acción respecto a los linfocitos T. Según progresa la respuesta inmune, sobre todo cuando la exposición antigénica se repite en el tiempo, en el espacio vascular comienzan a predominar las Ig G. Estos linfocitos productores de Ig G están regulados por una serie de señales biológicas generadas por un tipo de células T diferentes a las cooperadoras que se conocen como linfocitos T supresores (9). Al comienzo de la respuesta inmunitaria, las células T supresoras se multiplican al mismo tiempo que los linfocitos B y ejercen su acción sobre los linfocitos B productores de Ig G. Al mismo tiempo, parece que otra subpoblación linfocitaria, sobre cuya existencia hay cada vez menos dudas, genera una señal amplificadora sobre estos linfocitos B, por lo que la intensidad de la acción de los anticuerpos está regulada por este doble juego de influencias, supresoras y amplificadoras. A este ajuste de la respuesta linfocitaria contribuyen también los macrófagos, capaces de sintetizar una monoquina que activa la formación de anticuerpos (10).

Las proteínas del suero migran desde el cátodo hasta el ánodo cuando se hace pasar una corriente eléctrica sobre un gel que las contenga ( electroforesis ). La proteína que más se acerca al ánodo es la albúmina, mientras que el grupo de las globulinas se separa en tres zonas, denominadas alfa, beta y gamma según que se desplacen más ó menos. La zona gamma está formada por las proteínas que menos se desplazan y entre ellas se encuentran las inmunoglobulinas ( Ig ), grupo con el que se identifican los anticuerpos. Descubiertas en 1890, estas moléculas constituyen una parte esencial del sistema inmune que protege al organismo. Son glucoproteínas en cuya composición los carbohidratos suponen menos del 20% siendo el resto polipeptídico. Estos polipéptidos se organizan en dos tipos de cadenas: una llamada pesada ( cadena H ) y otra ligera ( cadena L ). La estructura básica de una inmunoglobulina consiste en una cadena H y una cadena L unidas entre sí por puentes disulfuros, y estableciendo a su vez una unión, también mediante puentes disulfuros, con otro par de cadenas pesada y ligera. Las cadenas L reciben los nombres de kappa y lambda, mientras que las cadenas H se denominan mu, gamma. alfa, delta y épsilon.

Las cadenas H y L constan de dos regiones bien separadas, la fracción constante ( formada por el extremo carboxi-terminal de la molécula ) y la fracción variable ( por el extremo amino terminal ). Si se procede a la digestión de una molécula de inmunoglobulina con papaína, se obtienen dos porciones llamadas Fab, capaces de unirse al antígeno, y una tercera porción cristalizable y perteneciente a la fracción constante de la molécula, llamada Fc. La porción Fab de los anticuerpos está

constituída por cuatro subunidades globulares que reciben los nombres de dominios VH, VL, CH1 y CL. Cada uno de ellos está formado por aproximadamente 110 aminoácidos, los cuales están formando una estructura plegada por la unión entre ellos mediante puentes disulfuros. En los dos primeros dominios que se encuentran en la fracción variable es donde la molécula se combina con los antígenos. Los marcadores antigénicos que caracterizan a un anticuerpo se llaman idiotopos y la suma de los idiotopos de un anticuerpo o de un grupo de anticuerpos se llama idiotipo.

El proceso de producción de las inmunoglobulinas consta de tres fases: síntesis, ensamblaje y secreción. La síntesis es muy compleja, ya que existen diez genes que codifican cada clase y subclase de cadena pesada. Además, cada uno de estos genes está formado por la unión de varios fragmentos, los cuales se pueden combinar de diferentes maneras entre sí (11). Cada célula es capaz de producir sólo un tipo de cadena ligera y uno de cadena pesada, propiedad llamada exclusión alélica y responsable de que un célula produzca anticuerpos de una sólo especificidad. Las Ig sintetizadas por los linfocitos B se incorporan a sus membranas y actúan como receptores de antígeno. Las que son sintetizadas por las células plasmáticas son segregadas al medio extracelular. Una célula plasmática es muy especializada y sintetiza una sola clase de Ig. Las cadenas pesadas y ligeras ya sintetizadas se transportan a las cisternas ergatoplásmicas, formando parte de un pool de cadenas en el que hay un exceso de las ligeras. En estas cisternas se engarzan las estructuras polipeptídicas para formar los monómeros de las Ig. Posteriormente se produce la

polimerización de los monómeros en el caso de las IgA y M. El mecanismo por el que las Ig sintetizadas se segregan no es del todo conocido, aunque parece que estarían contenidas en gránulos citoplasmáticos que se desplazan hasta la membrana de las células plasmáticas, se incorporan después a la misma y finalmente, mediante un mecanismo de pinocitosis inversa, son liberadas hacia el exterior de la célula.

Se conocen 5 clases de inmunoglobulinas: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. En condiciones normales circulan por el suero, donde pueden encontrarse concentraciones importantes de IgG, IgA e IgM, mientras que las IgD e IgE circulan en muy escasa cantidad. La IgM se caracteriza por ser el anticuerpo que se produce primero en las respuestas primarias del sistema inmune y, si bien se une con menos afinidad que la IgG al antígeno, activa eficazmente el sistema del complemento para producir un intenso efecto inmunocitolítico. Además, como es muy útil en la aglutinación, se supone que desempeña un papel importante en la eliminación de antígenos particulados. Estructuralmente, es un pentámero formado por cinco subunidades con un alto peso molecular y un gran porcentaje de carbohidratos. Se han descrito dos formas de IgM llamadas M1 y M2. Los monómeros tienen una morfología similar a la IgG. La IgG es el más importante de los anticuerpos protectores. Es la Ig predominante en el suero y en el espacio extravascular. Difunde bien a través de las membranas y es la que predomina también en las secreciones internas, como líquido sinovial, amniótico, peritoneal, pleural o cefalorraquídeo. Además, es la única Ig que atraviesa la placenta. La molécula está formada por cuatro cadenas polipeptídicas de dos tipos

diferentes: las cadenas ligeras tienen un peso molecular de 25.000 daltons y las pesadas 55.000 daltons. Las IgG se dividen en cuatro subclases según diferencias antigénicas del extremo carboxi-terminal de las cadenas pesadas gamma: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. La proporción de las mismas, respecto al total de Ig es de 70, 20, 8 y 2% respectivamente. Estas diferencias no son sólo de estructura ( cambios en el número y la disposición de los puentes disulfuros básicamente ), sino también de función y propiedades biológicas.

La máxima capacidad para activar el complemento por la vía clásica corresponde a la IgG3, mientras que la IgG4 es absolutamente ineficaz para ello. Todas las subclases son capaces de unirse al sistema monocito-macrofágico excepto la IgG2, capaz en cambio de estimular a los neutrófilos al igual que el resto de las subclases. Respecto a la afinidad por la unión a los basófilos y mastocitos, la única que la presenta es la IgG4, siendo las demás subclases incapaces de ligarse a los mismos. Es conocida la propiedad de la IgG1 de unirse a los eosinófilos, sin que hasta ahora esté claro si las demás subclases pueden también unirse a ellos o no. Sí está demostrada la capacidad de todas las IgG de unirse a las plaquetas circulantes (12).

La IgA es el anticuerpo más importante en las secreciones internas y externas, encontrándose en grandes cantidades en la saliva, secreciones nasales, bronquiales e intestinales, en el calostro y en las lágrimas. La IgA secretora se diferencia de la sérica en que la primera tiene un polipéptido, llamado componente secretor, que se añade al dímero cuando éste atraviesa las células epiteliales. La función de este componente es proteger

a la IgA de la acción proteolítica de las enzimas gastrointestinales (13). Existen dos subclases de IgA, IgA1 e IgA2. La IgA2 constituye aproximadamente el 10% de la Ig A sérica, mientras que supone el 50% de la secretora. La forma alotípica de la IgA2 conocida como IgA 2m tiene una estructura diferente ( puentes disulfuros entre las cadenas ligeras ) cuya traducción funcional no es del todo conocida.

La IgD circula en el suero en concentraciones muy bajas, si bien en las infecciones crónicas pueden estar algo elevados sus niveles. Durante mucho tiempo no se conocía con seguridad su papel en el sistema inmune, pero ahora se sabe que actúa como sitio de reconocimiento antigénico en las células B timo dependientes no diferenciadas, al igual que podría hacerlo la Ig M, lo que resulta decisivo para el desarrollo de la memoria inmunológica.

El anticuerpo más importante que interviene en las reacciones de hipersensibilidad del tipo I de la clasificación de Gell y Coombs es la IgE. Esta Ig es la que circula en menores cantidades en el plasma, sobre todo en personas no alérgicas. Su vida media en el plasma es muy corta, pero son capaces de mantenerse durante semanas unidas a los receptores de estas células. A diferencia de los demás anticuerpos se destruye con temperaturas mayores de 56°. Este anticuerpo citotrópico se liga a receptores de alta afinidad situados en la superficie de los basófilos y los mastocitos tisulares por la fracción Fc de su molécula, combinándose posteriormente con los antígenos y desencadenando la degranulación de las células a las que está unida. Esto hace que se liberen mediadores de la inflamación,

como la histamina, serotonina, sustancia de reacción lenta de la anafilaxia ( SRS-A ), prostaglandinas, etc, lo cual representa el eje central de las reacciones de hipersensibilidad inmediata.

El concepto de hipersensibilidad ha sido históricamente identificado con el de alergia y asociado a numerosas entidades patológicas como eczemas, enfermedades del tejido conectivo, tumores o asma bronquial. En la base fisiopatológica de los mecanismos de hipersensibilidad está la interacción inmunológica de un antígeno, exógeno o endógeno, con linfocitos o anticuerpos específicos, reacción ésta que puede dar lugar a manifestaciones clínicas muy variadas.

En 1965 Gell y Coombs (14) propusieron una clasificación para los diferentes mecanismos por los que la hipersensibilidad puede tener traducción clínica, que, si bien sigue siendo aceptada como válida en líneas generales, está sometida a algunas críticas y consideraciones. Según esta clasificación, los mecanismos de hipersensibilidad pueden considerarse como de cuatro tipos: reacciones de tipo I o anafilácticas, de tipo II o citotóxicas, de tipo III o mediadas por complejos tóxicos y de tipo IV o hipersensibilidad celular. Hay que tener en cuenta que el sistema inmune habitualmente responde como una unidad indivisible, y esta separación entre tipos de mecanismos no siempre es tan rigurosa.

Las reacciones del tipo I han sido llamadas, además de anafilácticas, de tipo inmediato, atópicas, alérgicas y reagínicas. Están mediadas fundamentalmente por la IgE. Más adelante desarrollaremos en profundidad este tipo de reacción de hipersensibilidad y su relación con esta Ig.

Las reacciones del segundo grupo, las llamadas citotóxicas, ejercen una acción citolítica dependiente del complemento. El evento más importante en este tipo de reacciones consiste en la interacción del anticuerpo con un determinante antigénico presente en células de los tejidos. El antígeno puede ser un elemento, o parte de un elemento, que forme parte de la estructura de esta célula tisular o bien un antígeno exógeno o un hapteno que se encuentre adsorbido o combinado con dichas células tisulares. Cuando en un sistema biológico interactúan el anticuerpo, el antígeno y el complemento, se producen una serie de fenómenos objetivables "in vitro", como la inmunoadherencia, la producción de anafilotoxinas, o la fagocitosis, e "in vivo" como inmunohemólisis o fagocitosis. El sistema del complemento está formado por un conjunto de, al menos, 15 proteínas séricas capaces de producir la lisis de varios tipos de células, como eritrocitos, bacterias y células diversas de mamíferos. Este sistema se puede dividir en tres subsistemas: el de la vía clásica de activación, el de la llamada vía alternativa y la vía lítica o complejo de ataque a la membrana. El primer subsistema depende para su activación de la existencia de IgG1, G2, G3 o IgM, mientras que el segundo no depende de la existencia de ningún anticuerpo en concreto, y puede además ser activada por otro tipo de sustancias como lipopolisacáridos de las bacterias, por lo que parece estar implicada en fases más tempranas de la respuesta del huésped ante la infección ( 15,16). El grupo de enfermedades cuya fisiopatología está basada en este tipo II de hipersensibilidad pueden agruparse en dos subgrupos: el primero lo constituyen aquellas enfermedades en las que el anticuerpo

fijador del complemento está dirigido contra determinantes antigénicos endógenos de las membranas celulares. Se incluyen en este grupo las reacciones transfusionales, la anemia hemolítica autoinmune, la enfermedad hemolítica del recién nacido o la tiroiditis de Hashimoto. El segundo grupo lo forman enfermedades en las que el determinante antigénico es exógeno y actúa como un hapteno al unirse a la membrana celular después de haberse introducido en el organismo. Ejemplos de este grupo son alergias a ciertas drogas como la metildopa.

El tercer grupo de la clasificación de Gell y Coombs, las reacciones de complejo tóxico o hipersensibilidad por inmunocomplejos, está basada en la existencia de complejos inmunes antígeno-anticuerpo. En condiciones normales existe una cantidad pequeña de complejos inmunes circulantes en el suero, que resulta del equilibrio entre su formación y la capacidad del organismo para aclararlos. Generalmente, un aumento en sus niveles es consecuencia de un aumento en su producción, la que a su vez depende de las cantidades que haya de antígenos y de anticuerpos. En este grupo se requiere que el antígeno se encuentre en cantidades importantes. Una vez que este antígeno se ha introducido de forma local o sistémica, interactúa y forma con el anticuerpo complejos solubles capaces de fijar y activar el complemento por la vía clásica o por la alternativa, lo que da como resultado una inflamación que a menudo se traduce en una vasculitis. Los complejos grandes, aquellos formados con exceso de anticuerpos, son eliminados rápidamente de la circulación por el sistema mononuclear fagocítico, gracias a que estos inmunocomplejos son reconocidos por la existencia de receptores

para el Fc de la Ig G y C3b que hay en estas células (17). En cambio, los inmunocomplejos con exceso de antígeno, de menor tamaño, permanecen más tiempo en el plasma y son los que asentarán sobre estructuras tisulares como la membrana basal glomerular, el endotelio vascular, las superficies articulares o la piel. Al encontrarse unidos a estas estructuras y ser capaces de activar el complemento, el daño que producen es debido a los mismos mecanismos descritos para las reacciones del tipo II, aunque en estos casos es fundamental la acción quimiotáctica, fagocítica y proteolítica de los neutrófilos. Por este mecanismo se producen, entre otras, la reacción de Arthus, la enfermedad de Goodpasture, la enfermedad del suero, ciertas glomerulonefritis y, según parece, algunos tipos de neumonías por hipersensibilidad (18).

Las reacciones producidas por la hipersensibilidad retardada o celular, el grupo IV de la clasificación, fueron descritas inicialmente por Jenner en 1798. Estas reacciones están caracterizadas por dos atributos típicos. El primero es que tras la exposición al antígeno específico sigue un periodo de tiempo de entre 24 a 72 horas antes de que se produzca ninguna manifestación clínica. La clásica reacción de este tipo es la producida por el derivado purificado de la tuberculina, pero hay una gran variedad de antígenos que pueden producirla, como otras proteínas, mucopolisacáridos o compuestos orgánicos simples. En el lugar de la inoculación del antígeno la secuencia de los sucesos inflamatorios comienza con la infiltración local por polimorfonucleares, que llegan al lugar pasadas 24 horas. Estas células son reemplazadas después por células mononucleares, sobre

todo macrófagos y monocitos, que crean un infiltrado difuso que puede persistir hasta diez días. En el centro del infiltrado, si la reacción es muy severa, puede encontrarse focos de necrosis y licuefacción tisular, además de que pueden producirse reacciones sistémicas como fiebre y linfadenopatía.

La segunda característica de este tipo de hipersensibilidad está dada por el hecho de que no está mediada por anticuerpos circulantes, sino por linfocitos específicamente sensibilizados para el antígeno con el que reaccionan, lo que hace que sea una forma inapropiada de respuesta inmune mediada por células. La mayor parte de los linfocitos que infiltran el área son no sensibilizados y sólo el 3% de los mismos son linfocitos T específicos de antígeno (18). Según demuestran estudios recientes, las células T involucradas pertenecen mayoritariamente a una subpoblación de linfocitos que tiene un patrón de secreción característico y que se denominan TH1. Este patrón de secreción comprende una serie de sustancias efectoras, como las linfocinas, sustancias solubles que amplifican la señal de activación linfocitaria y máximas responsables de la inflamación que se produce; además, otras sustancias, como el factor de inhibición de los macrófagos, el factor estimulador de colonias de granulocitos, el factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos o el factor de crecimiento transformante son, entre otros, parte de este arsenal biológico por el que los linfocitos producen daño celular. Entre las entidades clínicas que están basadas en este tipo de reacciones se encuentra la dermatitis de contacto, provocada por una amplia gama de sustancias antigénicas, entre las que destacan las de bajo peso molecular

y la enfermedad de injerto contra huésped. Está por demostrar el posible papel de la hipersensibilidad retardada en el desarrollo de otras enfermedades con las que se ha asociado, como la colitis ulcerosa, la anemia perniciosa o la cirrosis biliar primaria.

Es importante destacar que los diferentes tipos de reacciones rara vez se producen en forma pura, sino que es más frecuente encontrar que dos o más de estos tipos se desarrollan al mismo tiempo en una sola entidad patológica. Si bien la clasificación de Gell y Coombs contempla la mayoría de las reacciones mediadas por mecanismos de hipersensibilidad, investigaciones recientes sugieren que podrían existir otros procesos inmunopatológicos que no estarían comprendidos en esta clasificación (19). Así, se han sugerido otras dos modalidades de reacciones de hipersensibilidad: la neutralización y las reacciones granulomatosas. El primero de estos mecanismos, en clara relación con el grupo II descrito clásicamente, son reacciones mediadas por anticuerpos que neutralizan o inactivan moléculas biológicamente activas, ya sea de forma directa o indirecta. La neutralización directa se basa en que moléculas del tipo de las enzimas, al ejercer su acción a través de un receptor, pueden ver impedida su actividad cuando otra molécula, como un anticuerpo, produce disfunción de dicho receptor mediante el bloqueo estérico o competición llevados a cabo por la unión del anticuerpo a la zona cercana al receptor. A diferencia de las reacciones del tipo II, en este caso no se produce activación del sistema del complemento.

El mecanismo de la neutralización indirecta consiste en que el anticuerpo se une a una molécula sin inhibir su actividad

directamente pero acelerando la velocidad de catabolismo de dicha molécula, con lo que disminuye la concentración efectiva de la molécula. El ejemplo clínico más representativo de este proceso de la neutralización es la resistencia que desarrollan algunos pacientes diabéticos a la insulina cuando se les ha estado administrando la misma durante un cierto tiempo (19). El segundo de los procesos señalados, las reacciones granulomatosas, podrían estar incluídas dentro del grupo IV de la clasificación, pero hay algunas consideraciones por las que se pueden considerar como entidades diferentes. La morfología y la cinética de formación son distintos en ambos casos, habiéndose sugerido que la respuesta granulomatosa representa una reacción peculiar ante antígenos pocos solubles ( cuerpos extraños, material de suturas, sales insolubles ).

En el primer grupo en la clasificación de Gell y Coombs están incluídas una serie de entidades fisiopatológicas que merecen una atención especial dada su enorme importancia clínica. Este grupo comprende las reacciones de hipersensibilidad de tipo inmediato o hipersensibilidad reagínica, conocidas también con el nombre genérico de atopia ( del griego "a topos", "sin lógica" ) o alergia. La descripción de este tipo de reacciones se remonta bastante atrás en el tiempo, y ya en 1902 Richet y Portier notificaron la producción de anafilaxia en perros a los que se administraba toxina de anémonas de mar, y en 1906 Pirquet mantenía que las reacciones de hipersensibilidad debían depender de la interacción entre el sistema inmunológico y una sustancia ajena al mismo; asimismo, acuñó el término de alergia ( del griego

"allos ergon", "reacción alterada" ) para referirse a la respuesta anormal del organismo frente a sustancias extrañas cuando ya han estado previamente expuestos a ella (20). Unos años después, en 1922, Küstner demostró que, en sujetos normales, inyectando intradérmicamente suero obtenido de un sujeto sensibilizado anafilácticamente a las proteínas del pescado, se producía una reacción inflamatoria local cuando en el sitio de la inyección se añadía antígeno de pescado. Este test se denominó Test de Prausnitz-Küstner y durante casi 50 años se utilizó como una forma de medir anticuerpos sensibilizantes de la piel. En 1925 Grove utilizó por primera vez el término de reagina atópica para designar al anticuerpo sensibilizante de la piel (21). Desde 1920 hasta 1960 se hicieron numerosos estudios destinados a identificar y definir las propiedades fisicoquímicas de este anticuerpo, que había sido entonces asociado al grupo A de las gammaglobulinas. Fue en 1966 cuando Ishizaka e Ishizaka descubrieron que el anticuerpo sensibilizante de la piel o reagina pertenecía a una clase diferente de Ig, que llamaron Ig E (22). Su estructura fue definitivamente descrita en 1974 como una glucoproteína con alto contenido de carbohidratos, un peso molecular de 190.000 daltons y un coeficiente de sedimentación de 8S. Migra en la región rápida de las gammaglobulinas y su estructura está formada por dos cadenas pesadas ( llamadas épsilon ) y dos cadenas ligeras ( kappa o lambda ). Las cadenas pesadas tienen un peso molecular de 72.500 daltons y poseen aproximadamente 550 aminoácidos cada una, que se distribuyen en cinco dominios - cada uno con especificidad antigénica propia - conocidos con el nombre de determinantes épsilon. Son estos

dominios los que determinan la especificidad de clase de dicha proteína. El fragmento Fc, en virtud de su estructura terciaria, es el responsable de la capacidad de la IgE para fijarse a los receptores de los mastocitos y los basófilos. Los fragmentos Fab contienen los sitios de combinación con el antígeno.

La Ig E suponen sólo el 0.001% de todas las Ig circulantes y se encuentra en el suero en concentraciones muy pequeñas ( 0.1-0.4 mcg/ml ) y bastan pequeñísimas cantidades para producir reacciones de hipersensibilidad. Investigando con estas proteínas marcadas con radionúclidos se pudieron conocer datos importantes de su metabolismo, como que de la cantidad total de IgE que existe en el organismo, aproximadamente el 50% se encuentra en el compartimento vascular, lo que supone un total de 0.0035 mg/Kg en una persona normal. Mucho menor es el porcentaje de las moléculas que se encuentran ligadas a basófilos y mastocitos, apenas un 1% del total. Estas proteínas tienen una vida media en plasma corta, 2 a 3 días y la tasa de síntesis más baja de todas las las Ig ( 0.0023 mg/Kg/día ) (23), reemplazándose cada 24 horas el 33% de su cantidad total. Las IgE de la piel inducen en los mastocitos a los cuales se fijan una sensibilización que puede durar hasta doce semanas. Si bien las IgE no son capaces de activar el sistema del complemento por la vía clásica, sí pueden hacerlo a través de la vía alternativa a través del tercio terminal de su porción Fc.

Está demostrado que la edad influye en la capacidad de sintetizar IgE; el feto es capaz de producirla desde las once semanas de gestación y se han encontrado concentraciones diferentes de IgE en la sangre del cordón umbilical y en la de

la madre, lo que apoya el hecho de que son incapaces de atravesar la barrera placentaria. En los niños la producción va aumentando hasta alcanzar un pico máximo alrededor de los 15 años, mientras que en los adultos se va perdiendo la capacidad de síntesis progresivamente, sobre todo por encima de los 60 años (24). Los varones tienen normalmente niveles más altos que las hembras. Se han identificado células plasmáticas productoras de IgE en el tejido linfoide de las amígdalas, de las adenoides, en áreas de la mucosa bronquial e intestinal y en peritoneo. La IgE carece del componente secretorio que protege a la Ig A de la acción proteolítica de las enzimas locales. En los puntos de las mucosas donde mayor es la producción de Ig E también se encuentran en mayor concentración los mastocitos tisulares.

La producción de IgE está modulada por una serie de factores entre los que destacan la interacción que se establece entre estos anticuerpos y otros componentes del sistema inmune. Tada estudió la producción de Ig E en ratas, encontrando que los linfocitos B pueden ver deprimida su producción de Ig E por la interacción con Ig G que tengan la misma especificidad antigénica que dichas Ig E (25). La producción continuada de IgE puede ser suprimida por células T supresoras específicas de antígeno, así como por linfocitos supresores específicos para los linfocitos B productores de Ig E (26). Estudios más recientes han permitido conocer mejor esta relación funcional entre células T y B (27). Sabemos que tras la exposición a un determinado antígeno la célula madre se transforma en linfocitos B maduros con Ig M e Ig D en su superficie. Posteriormente se produce la inmunopoyesis, que tiene lugar en los órganos linfoides secundarios y consiste

en la diferenciación de estas células B en células plasmáticas y células B de memoria. Las células plasmáticas producen y liberan luego inmunoglobulinas, siendo la Ig M la primera en ser sintetizada. Posteriormente, la síntesis de otros tipos de Ig está regulada por las linfoquinas producidas por los linfocitos T, fundamentalmente interleucina IL-4, e interferón IFN-gamma. La IL-4 es una glucoproteína capaz de favorecer el cambio de isotipo de IgM a IgE. La IL-4 induce en los linfocitos B la formación de la línea germinal transcriptora C-épsilon que es responsable del primer paso hacia la síntesis del ARN encargado de la producción de IgE. El segundo paso está dado por la intervención de una señal no bien conocida ( que en ratones es un lipopolisacárido ) y que en humanos podría corresponder a algún factor soluble o a la interacción entre linfocitos B y macrófagos. En trabajos publicados por Romgnani (28) se mantiene que el defecto principal de los estados atópicos consiste en una hiperproducción de IL-4, lo que se traduce en niveles elevados de Ig E. El IFN-gamma es una proteína sintetizada por los linfocitos T estimulados con mitógenos o con antígenos. El gen que codifica su producción se ha localizado en el brazo largo del cromosoma 12. El IFN-gamma inhibe la síntesis de IgE, tanto la espontánea como la inducida por la IL-4. Parece que la regulación de la síntesis de IgE por la IL-4 es de máxima importancia durante los cuatro primeros días que siguen a la estimulación antigénica. Después de este tiempo, parte de la IgE puede sintetizarse en forma IL-4 independiente, lo que se ha comprobado porque añadiendo entonces Ac anti-IL-4 no se inhibe totalmente la formación de IgE. Además hay algunos trabajos que sugieren que

una pequeña cantidad de IgE podría ser sintetizada sin necesidad de IL-4, lo que se debería a que algunos linfocitos B de memoria, ya sensibilizados, serían capaces de seguir produciendo IgE en base a mecanismos biológicos poco claros (29). A su vez, la IL-4 es capaz de disminuir la producción de interferón, modulando de esta manera el nivel de IgE resultante. La IL-4 tiene además otras funciones inmunológicas importantes, como inducir la síntesis de IgA y de IgG ( sobre todo IgG1 ) (30).

El papel que desempeña el IFN-gamma en la regulación de los niveles de IgE es, al menos, tan decisivo como el de la IL-4. Trabajos con ratones (31) han demostrado que el interferón inhibe la síntesis de IgE cuando se administra a unas dosis cien veces superiores que las necesarias para estimular la síntesis de IgG2. Estas acciones se consiguen con IFN-gamma pero también con IFN-alfa, que además tiene menores efectos de toxicidad cuando se lo administra de forma exógena.

Además de las anteriores, otras interleucinas intervienen también en este equilibrio: la IL-2 estimula la diferenciación de linfocitos B a células plasmáticas, la IL-5 potencia a la IL-4 y la IL-6 está involucrada en la mayor producción de IgE que se produce espontáneamente en sujetos alérgicos.

En la producción de IgE intervienen, además de estas sustancias solubles, receptores celulares específicos como los CD23, que son receptores para las IgE de baja afinidad. Estas moléculas son glucoproteínas constituídas por 321 aminoácidos, de estructura similar a la de las lecitinas y cuya principal característica es la baja afinidad que presentan para unirse a la IgE. Se encuentran presentes en la superficie de linfocitos

B, polimorfonucleares, eosinófilos y células de la línea monocito-macrofágica. Parte de estos receptores pueden pasar de la superficie de los linfocitos B al medio extracelular y actuar como una linfoquina, con capacidad para aumentar la producción de IgE. Estos receptores CD23 funcionan como antígenos de diferenciación de los linfocitos B. La importancia que pueden tener estas moléculas se basa en el hecho de que son receptores de linfocitos B que expresan en su superficie IgM o IgD y que no han sido activados ni diferenciados. No se han descrito en células T. La cantidad de estos receptores se ve aumentada por la estimulación de su síntesis y de su expresión, llevadas a cabo por la IL-4 y la propia molécula de IgE respectivamente. Al contrario, el IFN-alfa y el IFN-gamma, así como algunas prostaglandinas, inhiben la síntesis de CD23 y favorecen su paso a la forma fraccionada soluble. En pacientes atópicos sometidos a inmunoterapia que han evolucionado con mejoría clínica de sus síntomas se ha descrito una disminución significativa de los niveles plasmáticos de estos receptores CD23 (32).

Se conocen otros receptores para la IgE que se diferencian de los anteriores básicamente porque se unen a la misma con una alta afinidad. Estos receptores se llaman Fc épsilon de tipo I ( FcεRI ) y se han encontrado exclusivamente en basófilos y mastocitos inmaduros. Cuando la IgE se une a estos receptores lo hace de una manera pasiva, a través de los dominios C2 y C3 de su cadena pesada, muy cerca del sitio de unión con los CD23. Se necesita que se agreguen varias moléculas de receptores mediante la formación de puentes que dependen, al parecer, del calcio. Una vez que se han formado estos agregados de receptores y han fijado

la IgE, se produce la activación celular y la liberación de sustancias de la inflamación por los mastocitos (33). En un reciente trabajo de Sandford (34) se ha podido localizar este receptor en el cromosoma 11, donde se supone podría encontrarse también un gen que codificara el carácter de la atopia.

Volviendo sobre el concepto que considera posible que en los sujetos atópicos exista una mayor producción de IL-4 y esté disminuía la de IFN-gamma, este hecho, a su vez, ser secundario a una anómala distribución de subpoblaciones linfocitarias. Los linfocitos T CD4 pueden ser divididos en tres subtipos: TH0, TH1 y TH2. Parece ser que los TH0 son precursores de los otros dos tipos. Los TH0 producen IL-2, IL-4 e IFN-gamma, los TH1 producen IFN-gamma, IL-2 y linfoxina y los TH2 producen IL-4, IL-5 e IL-6. Recientemente Wierenga (35) comprobó que los clones de linfocitos T que regulan la síntesis de Ac frente a *Dermatophagoides pteronyssinus*, en pacientes alérgicos a los mismos, producen IL-4 pero no IFN, hallazgo éste que deberá ser evaluado cuidadosamente dado el bajo número de casos estudiados.

Se han descrito una serie de situaciones, como la llamada conjuntivitis vernal, en las que el mecanismo fisiopatogénico simula una enfermedad atópica, sin que se haya podido demostrar un alérgeno específico responsable, siendo probable que sean debidas a una hiperproducción primaria de IL-4.

No se conoce exactamente porqué un linfocito T helper se diferencia en uno de los tres subtipos señalados antes ( TH0, TH1 y TH2 ) aunque parece que influye de una manera importante la naturaleza del antígeno específico. En este sentido, se ha comprobado que los alérgenos más frecuentes, como los ácaros o

los pólenes, estimulan sobre todo a los clones de células T helper TH2 formadoras de IL-4, a diferencia de los antígenos de bacterias o virus que no provocan una estimulación tan selectiva. Pero además de los antígenos, también las células presentadores de los mismos parecen ser importantes para la diferenciación de las células T. Una amplia variedad de células, que incluye monocitos, macrófagos, células de Langerhans, células de Kupffer, células dendríticas, astrocitos y linfocitos B, podrían presentar los antígenos a los linfocitos TH1 o a los TH2 de una manera preferencial, resultando esto en una menor o mayor síntesis de IgE.

En base a la existencia de estos mecanismos de diferenciación celular, se ha postulado que en la atopia podría darse que los TH0 estuvieran condicionados para diferenciarse preferentemente hacia TH2, con lo cual los niveles de IL-4 aumentados se traducirían en altos niveles de Ig E (36).

Trabajos de investigación llevados a cabo por Katz (37) han demostrado la existencia de otros factores solubles, distintos a los descritos anteriormente, que participan también en la regulación de los niveles de IgE. Se trata de glucopéptidos que se conocen con los nombres de EFA y SFA, teniendo el primero de ellos la propiedad de inducir la producción de un factor que se une a la IgE y facilita la expresión de los receptores de baja afinidad linfocitarios. Por su parte, el SFA actúa suprimiendo la expresión de dichos receptores sobre la membrana de las células B. En relación con este mismo tipo de factores solubles, Ishizaka (38) ha descrito otras moléculas, sintetizadas por los linfocitos T que reciben el nombre de GEF y GIF. El GEF activa

enzimas que provocan un flujo de calcio hacia el interior del citoplasma. Además inducen la activación de las fosfolipasas celulares y estos dos hechos se traducen en una facilitación de la síntesis de IgE. En sentido contrario, el GIF produce una supresión de la síntesis de IgE al inactivar las fosfolipasas del interior de las células. Recientemente, trabajando en un modelo de linfocitos humanos se han identificado dos factores solubles capaces también de modular la producción de Ig E (39). En la atopía se detectan niveles excesivos del factor facilitador lo que lleva a niveles aumentados de IgE circulante. En pacientes alérgicos a pólenes o ácaros sometidos a inmunoterapia durante un plazo superior a dos años, se ha constatado un aumento de la producción del factor facilitador, que es dosis-dependiente y se mantiene durante los dos primeros años de tratamiento, tendiendo luego a disminuir. El factor supresor, en cambio, es producido en escasas cantidades en estos pacientes y no se modifica con la inmunoterapia (40).

Como habíamos dicho anteriormente, la IgE es el anticuerpo que protagoniza las reacciones de hipersensibilidad del tipo I, las llamadas reagínicas, de tipo inmediato o alérgicas. Este tipo de reacciones se derivan del comportamiento de diferentes tipos celulares, así como de varias sustancias químicas producidas por estas células y que se conocen con el nombre de mediadores de la respuesta inflamatoria. La sensibilización en las hipersensibilidad inmediata se inicia con la activación de las células productoras de IgE antígenoespecífica. El antígeno desencadena eficazmente esta respuesta cuando es presentado por los macrófagos, los cuales activan además a las células T

cooperadoras - estimuladas ya por los determinantes antigénicos en cuestión - mediante los componentes HLA de sus membranas. Estas células T activan a las células B que comparten su antigenoespecificidad. Además, el contacto con el antígeno induce la estimulación de células T supresoras específicas, que participan en la regulación de la síntesis de IgE al restringir la actividad cooperadora de los linfocitos CD4, por lo que niveles bajos de estas células se han relacionado con estados inmunes dependientes de IgE anormalmente aumentados (41).

El término atopia puede utilizarse para describir una respuesta de IgE ante antígenos ambientales comunes en individuos que desarrollarán los síntomas de la alergia. La sensibilización atópica en humanos parece ser un estado determinado genéticamente, pero con una transmisión que no se debe a un rasgo mendeliano único. Los antecedentes familiares son muy frecuentes y, por ejemplo, se estima que el riesgo que tiene un niño de ser alérgico es del 20% o del 50% si uno o ambos padres lo son. También se ha observado que la alergia es dos veces más frecuente en varones que en mujeres, incluida la edad infantil, por lo que parece que la herencia es más importante que la influencia hormonal en este sentido. Los recién nacidos de madres alérgicas tienen más probabilidad de serlo que si el afectado es el padre, efecto éste que se conoce como efecto de Carter y que sugiere que la herencia es de tipo poligénico, por lo que se necesita la coexistencia de varios genes para que aparezca la enfermedad (42). Este patrón de transmisión poligénica parece que actúa sobre las manifestaciones clínicas de la alergia, mientras que los niveles de IgE total podrían depender de un patrón de

herencia monogénica, que podría ser incluso dominante según los recientes trabajos de Cookson, quien localiza el gen en el cromosoma 11 (43).

Si bien la IgE es el anticuerpo (Ac) más estrechamente ligado a las reacciones de hipersensibilidad inmediata, otros tipos de Ig juegan también un papel de importancia en estos procesos. Ya en 1935 Cooke (44) describió unos Ac termoestables inducidos tras someter a pacientes alérgicos a tratamiento hiposensibilizante con capacidad para bloquear la actividad reagínica de la IgE, disminuyendo la reacción cutánea inmediata producida por ésta.

En 1968 Lichtenstein (45) demostró que estos Ac pertenecían al grupo de las IgG y en 1970 Zavazal (46), trabajando con sueros de pacientes sometidos a inmunoterapia comprobó que las IgG que predominaban en estos sueros eran las de alta movilidad electroforética. Las Ig que en humanos tienen esta característica son las IgG2 y G4. Posteriormente, Devey (47) pudo comprobar que en estos pacientes la Ig que predominaba pertenecía a la subclase IgG4.

En condiciones normales la proporción de las diferentes subclases de IgG permanece estable, con un 70% de IgG1 y un 4% de IgG4. Pero en pacientes alérgicos esta proporción cambia, pudiendo suponer la IgG4 hasta un 70% del total de las IgG.

Un grupo de población sana que tiene un gran interés desde el punto inmunológico es el de las personas que trabajan con abejas y sufren repetida exposición al veneno de las mismas. En 1982 Aalberse (48) estudió un grupo de apicultores sanos y de pacientes alérgicos al veneno de las abejas, encontrando que la

exposición repetida produce un aumento de los niveles de IgG específica frente a los fosfolípidos del veneno, responsable, a su vez, del incremento de los niveles de IgE específica que se produce. Encontró además que, en este grupo de población, los síntomas derivados de las picaduras de las abejas iban disminuyendo al aumentar el tiempo de exposición, a pesar de que las cifras de IgE específica eran mayores. Posteriores estudios (49) han confirmado que en apicultores que no tienen historia clínica de alergia se han encontrado, además de una elevación de IgE específica para los fosfolípidos del veneno, hay una subclase de IgG que predomina según el tiempo de exposición: en apicultores con poco tiempo de trabajo predomina la IgG1, mientras que con el paso del tiempo la IgG4 puede incrementarse hasta el 70% - 80% del total. Investigaciones llevadas a cabo sobre las funciones de los basófilos en esta población (50) demostraron que la degranulación de los mismos, mediada por IgE, podía ser inhibida mediante una sensibilización pasiva con Ac del tipo IgG4 específicos del antígeno.

Por todos estos hallazgos comenzó a pensarse que la predominancia de la IgG4 era una consecuencia de un estado de inmunización prolongado y podría ser un reflejo de un cierto grado de maduración del sistema inmune. Además, se planteó la posibilidad de que las IgG4 pudieran estar jugando un papel inmunológico importante en los procesos alérgicos, al actuar como Anticuerpos Bloqueantes ( Ac B ).

El papel que, hasta el momento, se conoce que desempeñan las IgG como Ac B es muy complejo, y algunos de sus aspectos no están del todo definidos. De las cuatro subclases de IgG sólo se han

relacionado con actividad de Ac B a la IgG1 y la IgG4.

La IgG1 posee una serie de características inmunológicas especiales, ya que es capaz de activar el sistema del complemento por las dos vías, es buena opsonizadora, produce eficazmente degranulación de basófilos y células cebadas y tiene afinidad para unirse a una gran variedad de células como linfocitos, plaquetas, eosinófilos y macrófagos entre otros. De recientes trabajos de Nakagawa (51) se extraen algunos conceptos importantes, como que en todos los individuos, sean o no alérgicos, al tomar contacto con antígenos inhalados o de los alimentos, se produce un aumento de los niveles de IgG1 específica para esos antígenos. De igual manera, en los primeros momentos del tratamiento hiposensibilizante suele producirse un aumento rápido de los niveles de IgG1, que se sigue de una fase en la que la tendencia es a mantener estables estos niveles. En cuanto a la exposición espontánea, después de un tiempo variablemente prolongado, los niveles de IgG1 comienzan a disminuir progresivamente, llegando a alcanzar los valores basales previos.

Por otro lado, está establecida la relación entre IgG1 y las Reacciones asmáticas tardías (52), que se producen mediante una reacción de hipersensibilidad de tipo III en la mucosa bronquial, y donde intervienen neutrófilos, macrófagos y eosinófilos activados por los inmunocomplejos formados por la unión del antígeno y la IgG1. Se ha podido comprobar que la frecuencia con que se producen las Reacciones tardías decrece con el tiempo transcurrido en los pacientes sometidos a tratamiento hiposensibilizante, lo que se supone es debido a una inversión

del cociente IgG1/IgG4 por aumento de las cifras de IgG4, cuya acción bloquea en parte la de la IgG1 (51).

Otra acción inmunológica propuesta para la IgG1 es la supresión de la síntesis de IgE, efecto que es más notorio en las fases iniciales de la inmunoterapia (53).

El papel inmunológico de la subclase IgG4 es más conocido y parece ser más importante y más complejo. La IgG4 supone en condiciones normales sólo el 4% del total de las IgG. Se han descrito dos subtipos de IgG4 (54): IgG4-a e IgG4-b, que quedan definidos por los determinantes antigénicos de la fracción Fc de la cadena pesada. Estos dos subtipos pueden tener propiedades y acciones diferentes; por un lado, existen algunas IgG4 con acción anafiláctica, ya que son capaces de sensibilizar el tejido cutáneo a corto plazo - 2 a 4 horas - incluso a títulos muy bajos. Estas IgG4 se unen con facilidad a las estructuras tisulares, donde desempeñan un papel similar al de las IgE, principalmente mediante la degranulación de los basófilos y las células cebadas unidas al antígeno. Se desconoce por el momento si para esta actividad como reagina utiliza receptores propios o los de las IgE.

Por otro lado, hay una IgG4 cuyo papel inmunológico es el de actuar como Ac B. Se han propuesto varios mecanismos por los cuales desempeñarían este efecto, siendo los 5 principalmente considerados: (A) Neutralizar la antígeno antes de que éste se una a la IgE, la cual ya está unida a las células de la inflamación por su extremo Fc. (B) Impedir la unión entre el antígeno y la IgE sustituyendo a esta última en los receptores de la superficie de los mastocitos y de los basófilos (55).

(C) Proteger al huésped del daño producido por los inmunocomplejos formados por la unión del antígeno y las IgG1 e IgG3 específicas. Este mecanismo se basa en el hecho de que IgG4 activa el complemento por la vía alternativa pero no por la clásica, y además es incapaz de producir la degranulación de las células de la inflamación ( se une a ellas por su fracción Fc, pero no puede producir los cambios celulares que resultan en la degranulación ). A diferencia de la IgG1, la IgG4 sólo se liga con facilidad a los basófilos y a los neutrófilos, pero no a los macrófagos, eosinófilos, linfocitos o plaquetas (56). (D) Prevenir la activación de los mastocitos y basófilos inhibiendo la interacción entre estas células y los alérgenos capaces de activarlas. (E) Inducir un feed-back negativo sobre la producción de IgE, pudiendo en algunos casos reducir sus niveles de forma importante.

Según los trabajos de Djurup y Malling (57), las moléculas de IgG4 se comportarían como Ac sensibilizantes o como Ac B según varios factores, tales como qué subtipo sean, según el número y la afinidad de los receptores para IgG4 que haya en las células inflamatorias, y según las cantidades de IgG4 que haya en el medio. Así, si existen muchos receptores con alta afinidad para unirse a estas Ig en los basófilos, y en el medio hay niveles altos de IgG4, el efecto predominante será el de la sensibilización. Pero si hay pocos receptores específicos y además son de baja afinidad, habrá más moléculas de IgG4 libres en el medio y estarán disponibles para ejercer su función como Ac B.

La producción de IgG4 como respuesta a la exposición

antigénica está influida por el tipo y la dosis de antígeno, por la vía de entrada del mismo y por la cronicidad y periodicidad de la exposición (58). Respecto al tipo de alérgeno, se sabe que los antígenos proteicos en general producen un mayor aumento de IgG1, pero pólenes, ácaros, venenos de himenópteros, parásitos y alimentos producen un aumento tanto de IgG1 como de IgG4. La vía de entrada que mayor aumento de Ig produce es la endovenosa. Es necesario que se produzca una exposición acumulada para que se den elevaciones significativas de IgG4, lo que puede suceder hasta dos años después de que se hayan elevado las cifras de IgG total. Hay algunas teorías, incluso, que sostienen que el aumento de las IgG4 específicas es sólo una consecuencia del aumento global de IgG total frente al antígeno (59).

Como acabamos de ver, el concepto de Ac B está íntimamente ligado a los mecanismos fisiopatológicos de los procesos alérgicos, por lo que gran parte del interés que han despertado se centra en su relación con este tipo de procesos, fundamentalmente los derivados de la alergia al veneno de las abejas, los pólenes y los ácaros.

Los ácaros son artrópodos entre los que se encuentran géneros conocidos como Sarcoptes y los ácaros del polvo de casa. De estos últimos, la familia Pyroglyphidae, descrita por Voorhoorst en 1964, es la más importante fuente de alérgenos presentes en el polvo de casa. Esta familia comprende 47 géneros diferentes, siendo *Dermatophagoides* spp. la más importante clínicamente (60). A su vez, este género incluye 3 especies: *pteronyssinus*, *farinae* y *microceras*, de los cuales los dos primeros son responsables de los dos grupos de alérgenos

mayoritarios de este género.

*D. pteronyssinus* fue descrito ya en 1.800 y se conoce su relación con los procesos alérgicos y el asma desde 1924 (61). Este ácaro está formado por un cuerpo no segmentado, de 300 micras de largo por 100 micras de ancho, y 8 patas de distribución simétrica. Está dotado de una estructura formada por la glándula y el pelo supracoxal, capaz de absorber y asimilar a su organismo el agua que forma parte de la humedad ambiente, siempre que ésta se encuentre por encima de un porcentaje determinado. Dado que *Dermatophagoides*, y en general todos los ácaros, son poiquilotermos, necesitan de unas condiciones ambientales bien definidas y ajustadas dentro de límites poco flexibles. El porcentaje de humedad relativa ambiente óptimo es del 75%, la temperatura ideal para su desarrollo es de 25° C ( no sobreviven a más de 50° C ) y sólo crecen a altitudes menores de 1.600 m (62).

Estos ácaros crecen sobre las escamas desprendidas de la epidermis de diferentes organismos, sobre todo humanos y animales domésticos. Tienen un ciclo biológico que consta de 5 fases de desarrollo: huevo, larva, protoninfa, ninfa y adulto. En condiciones óptimas, un ácaro tarda aproximadamente 25 días en evolucionar desde huevo hasta adulto, y en este estadio puede sobrevivir hasta 3 meses (63).

Desde el punto de vista de su interés clínico, más importante que la descripción de *Dermatophagoides* como una unidad biológica completa, interesa conocer cuáles de sus componentes antigénicos son capaces de traducirse en procesos alérgicos en los humanos. Un concepto fundamental es que no existe reactividad

cruzada entre este género y otros géneros de ácaros no Pyroglyphidae del polvo de casa, como los pertenecientes a las familias Glycyphadidae y Cheyletidae (64). Básicamente, los antígenos de Dermatophagoides son proteínas del grupo de las proteasas y pueden encontrarse en el cuerpo del ácaro o en las heces ( partículas fecales de 10 - 20 micras de diámetro ). El conjunto de estos alérgenos puede dividirse en dos grandes grupos: alérgenos mayoritarios y alérgenos no mayoritarios. Un alérgeno se define como mayoritario cuando, al menos, el 50% de los pacientes alérgicos al conjunto de los alérgenos de la especie tienen IgE específica a él (65). Para la especie *D. pteronyssinus* se han descrito dos alérgenos mayoritarios: Der pI y Der pII.

El primero de ellos, frente al cual el 80% de los pacientes alérgicos tienen IgE específica, es una glucoproteína con función de proteasa, sintetizada por el ácaro ( parece ser que en la mucosa gástrica ). Se encuentra en grandes cantidades en las partículas fecales y también en el cuerpo del ácaro. Esta proteína tiene un Pm de 25.000 daltons y fue descrita por primera vez en 1980 por Chapman (66). Estructuralmente está formada por 216 aminoácidos, que establecen entre sí 4 puentes disulfuro. El aminoácido del extremo N-terminal es la treonina. Este alérgeno es termolábil, desnaturalizándose a temperaturas superiores a 75° C. Es estructuralmente homólogo al Der fI ( alérgeno mayoritario de *D. farinae* ), pero no comparte casi ninguna característica bioquímica con el alérgeno del *D. microceras*, Der mI. Tampoco comparte ningún determinante antigénico ni tiene ninguna semejanza estructural con Der pII (67).

Respecto al segundo alérgeno mayoritario, Der pII, se conoce que es una proteína con función de lisozima, de menor tamaño que Der pII ( 15.000 daltons ) y que, a diferencia de éste, es termoestable. Se encuentra tanto en el cuerpo como en las heces del ácaro, donde está a concentraciones menores que el Der pII. El 75% de los pacientes alérgicos a *Dermatophagoides* tienen IgE específica frente a Der pII.

Dentro del grupo de alérgenos no mayoritarios están incluidos un conjunto de partículas proteicas que inmunológicamente son menos trascendentes, ya que menos del 20% de los pacientes alérgicos tienen IgE específica frente a ellas (68). De todas maneras, cumplen su función como alérgenos sensibilizantes y son responsables de que, en cierta forma, los fenómenos que se desarrollan "in vivo" no siempre sean exactamente igual a los obtenidos "in vitro".

Para que estos alérgenos tengan importancia clínica se necesita, no sólo que existan, sino que existan en ciertas cantidades. La relación que clásicamente se había establecido entre concentración de ácaros y riesgo de sensibilización era que 100 ácaros/gr de polvo eran capaces de producir asma en los humanos (69). Más recientemente, en 1991, se ha revisado esta relación, quedando establecido que la existencia de 0-0.2  $\mu$ gr de Der pI/ gr de polvo equivale a una exposición débil; la existencia de > 2  $\mu$ gr de Der pI/gr de polvo ( equivalentes a 100 gr de ácaros/gr de polvo) suponen un riesgo de sensibilización y de desarrollo de asma; y niveles superiores a 10  $\mu$ gr de Der pI/gr de polvo suponen un factor mayor de riesgo para episodios agudos de asma (70).

En los últimos 20 años se han descrito más extensamente los cuadros clínicos derivados de la alergia a *Dermatophagoides*, sobre todo la dermatitis atópica, la rinitis y el asma bronquial. La relación entre ácaros y dermatitis atópica fue establecida por primera vez por Tuft (71), quien ya describió en gran parte sus características: existencia de lesiones eritematoescamosas pruriginosas, localizadas principalmente en hueco poplíteo, fosas antecubitales, frente, cuello, regiones axilares e inguinales y zonas periorificiales. A nivel de la dermis las células endoteliales están tumefactas y se acompañan de edema perivascular capilar, y de un infiltrado celular donde predominan los neutrófilos, eosinófilos y mastocitos (72). Aunque su significado clínico no está claro, se han demostrado cifras elevadas, no sólo de IgE e IgG específicas, sino de células T específicas para ácaros circulando por el suero. Al parecer, estas células intervendrían en la inflamación mediada por basófilos y eosinófilos (73). Los síntomas empeoran cuando se acentúa el contacto con el alérgeno que la induce, así como está descrito también que empeoran con el tratamiento hiposensibilizante.

La rinitis por sensibilidad ácaros se caracteriza por ser perenne, por presentarse con salvas de estornudos de predominio matutino y porque los síntomas se exacerban al hacer la limpieza de las camas y disminuyen fuera del ambiente doméstico. La coexistencia de conjuntivitis es, en este caso, menor que en las rinitis producidas por pólenes y hongos. Se ha supuesto que esta diferencia es debida a que las partículas de pólenes impactan en gran medida en la conjuntiva, mientras que partículas de menor

tamaño permanecen suspendidas en el flujo aéreo más tiempo y entran directamente a las fosas nasales (74). La histología y el examen físico de la mucosa nasal no permite diferenciar este tipo de rinitis de otras rinitis alérgicas.

Los alergenos de *Dermatophagoides* se encuentran entre los alergenos perennes que más frecuentemente producen asma, sobre todo en la infancia (75), (76), (77), (78), (79). Las características climáticas afectan al crecimiento de los ácaros y a la distribución de las distintas especies. *D. farinae* tiende a predominar en áreas donde se dan periodos largos de tiempo seco ( más de 3 meses con una humedad absoluta  $< 6$  gr/kg ) (80). *D. pteronyssinus* predomina, en cambio, en zonas donde la humedad es más constante, llegando a suponer entonces casi el 90% del total de los ácaros (81).

Uno de los primeros trabajos que relacionó asma con ácaros fue el de Smith (82), quien ya en 1969 encontró que el 86% de un grupo de niños asmáticos tenían tests cutáneos positivos frente a *Dermatophagoides*, mientras que sólo eran positivos en el 10% del grupo control. Si bien la prevalencia de alergia a ácaros entre asmáticos es muy alta (83), llama la atención que sólo una pequeña proporción de casos de asma severa se relacionan con la exposición al alergeno (84). Esto podría deberse a que, como hemos visto antes, se necesitan concentraciones superiores a 10 microgramos de Der pI o Der pII junto a niveles elevados de IgE. Durante la exposición natural a los alergenos de *Dermatophagoides*, se asume que el foco local de inflamación que se produce en los bronquios se traduce en clínicamente significativo siempre que se produzca de forma repetida en el

tiempo (85). A diferencia de lo que sucede en la alergia a pólenes, el daño inflamatorio producido en la alergia a ácaros y algunos hongos, se mantiene en el tiempo. Esto lleva a que después de un tiempo prolongado de exposición, se produzca un depósito de fibras de colágeno bajo la membrana basal de la pared bronquial. Debido a este depósito, irreversible por otra parte, se pierde la elasticidad normal de las vías aéreas lo que, sumado a la ligera disminución en el calibre de la luz bronquial, determina un cierto grado de obstrucción al flujo. Además, al tener una histología alterada, con estructuras que normalmente no forman parte del bronquio, se produce un grado variable de hiperreactividad bronquial inespecífica. De esta manera, los pacientes alérgicos a ácaros pueden, con el tiempo, presentar síntomas debidos a estímulos específicos ( exposición al alergen causal ) pero también inespecíficos ( frío, ejercicio, etc.).

El manejo terapéutico de estos pacientes se ve dificultado, como se desprende de lo expuesto anteriormente, por dos razones fundamentales: en primer lugar, porque dadas sus características epidemiológicas, es prácticamente imposible anular del todo la exposición antigénica. En este sentido, se han intentado diferentes medidas destinadas a reducir la concentración de ácaros en el ambiente, que han tenido resultados variables. Así, por ejemplo, se han utilizado sustancias químicas con poder acaricida, como bencilbenzoato o butóxido de esbiol, que se aplican periódicamente sobre las superficies donde mayores concentraciones de ácaros se alcanzan ( alfombras y colchones sobre todo ), que logran reducir, pero no anular, la presencia de estos ácaros. Además, los nuevos dispositivos deshumidificadores,

añadidos a las técnicas de limpieza aconsejadas para una mejor eliminación del polvo doméstico, también resultan en una disminución de la cantidad de alérgeno, en este caso al transformar las condiciones físicas del ambiente en hostiles para el desarrollo de los ácaros (86).

En segundo lugar, porque las alteraciones anatómicas y funcionales que se producen en los bronquios tienden a perpetuarse y, como hemos visto antes, en las fases evolucionadas se llega a un estado de obstrucción con hiperreactividad casi permanente, que resulta en una peor respuesta al tratamiento broncodilatador habitual (87). El hecho de que todavía hoy, cuando el arsenal terapéutico disponible para el manejo de la sintomatología asmática es muy amplio, la alergia a estos agentes sea la causa más frecuente de asma en la infancia avala esta idea (88), (89), (90).

Entre las medidas terapéuticas ensayadas en estos pacientes destaca claramente el papel de la Inmunoterapia (IT). Desde que en 1911 Leonard Noon (91) introdujo por primera vez la IT en el tratamiento de pacientes con enfermedad del heno, ha sido aplicada de forma casi ininterrumpida en el tratamiento de las enfermedades inducidas por reacciones de hipersensibilidad del tipo I. La IT consiste en la administración de cantidades progresivamente crecientes de un extracto alérgico a un sujeto clínicamente sensible, para mejorar los síntomas asociados a la exposición al alérgeno causal (92). Del extenso grupo de enfermedades cuya fisiopatología responde a este mecanismo de hipersensibilidad inmediata, la IT ha sido utilizada, sobre todo, en la alergia al veneno de abejas y en la rinoconjuntivitis y el

asma producidos por la alergia a pólenes, ácaros, hongos y epitelios de animales. En cambio, no se ha utilizado como tratamiento en los casos de alergia a ciertos alimentos o a fármacos. El alérgeno que se utiliza en el tratamiento hiposensibilizante se administra por vía subcutánea, aunque formas alternativas ( como la inhalada ) están en investigación (93). Las reacciones adversas, las indicaciones absolutas y relativas, y las contraindicaciones, están actualmente bien establecidas. El efecto secundario más frecuente es una reacción local eritematopapulosa que suele ser muy pequeña, suele no producir molestias y desaparece en general, a las 24-48 horas. Mucho menos frecuentes son las reacciones sistémicas anafilácticas, cuya incidencia real todavía es discutida (94). Dado que estas reacciones pueden producir un shock anafiláctico de evolución fatal, obligan a controlar al paciente un mínimo de 2 horas tras la administración del alérgeno.

La única indicación absoluta de IT es la anafilaxia producida por el veneno de himenópteros, ya que el resto de las enfermedades mediadas por IgE se consideran indicaciones relativas. Varias situaciones suponen contraindicación formal para este tratamiento: enfermedad autoinmune, edad menor de dos años, enfermedad sistémica severa o existencia de obstrucción fija al flujo aéreo. En general la IT se asocia al tratamiento farmacológico habitualmente utilizado en estos casos, ya que suele mejorar los síntomas pero, por sí sola, no los hace desaparecer (95).

Un aspecto que está mucho menos definido es si la IT es o no un modalidad terapéutica eficaz. Desde hace unos años está

siendo sometida a una revisión continua para ubicarla en su justo lugar, lejos de las posturas radicales que, a favor o en contra, se habían mantenido durante mucho tiempo. Desde 1949 se han publicado multitud de estudios respecto a la eficacia de la IT y, frente a aquellos que la preconizan como tratamiento de primera línea (96), (97), (98), (99), (100), (101), (102), aparecen otros que cuestionan su eficacia o, por lo menos, restringen su uso a pacientes que reúnen una serie de condicionantes (103), (104), (105). Actualmente, y aunque se utiliza cada vez con un criterio más ajustado, la IT sigue siendo una de las modalidades terapéuticas más extensamente utilizadas en todo el mundo, con las implicaciones epidemiológicas, clínicas y económicas que esto supone.

Un segundo aspecto que tampoco está del todo definido y que continúa en investigación es cuáles son sus mecanismos de acción. Entre los que se han propuesto para explicar su acción se incluyen varios efectos inmunológicos: (A) Regulación de los niveles de IgE. La IT produce una disminución del aumento esperado de IgE tras la exposición ambiental; con los años, las cifras de IgE plasmática pueden incluso hacerse menores que los niveles basales previos. Parece que la IT estimula a unas células T supresoras, específicas de antígeno, que se han demostrado en pacientes alérgicos sometidos a IT, pero no en la población normal (106). (B) Células efectoras de supresión: la IT puede producir una supresión de mastocitos (específicos de alérgeno) y una disminución de la activación "in vitro" de los linfocitos (traducida en una menor producción de linfocinas). También se ha descrito que la IT induce a los basófilos para liberar menos

histamina, así como que reduce el número de eosinófilos en sangre periférica. Pero no se ha podido demostrar que exista una relación causa-efecto entre estos cambios y la situación clínica del paciente (107). (C) Inducción de auto-Ac antiidiotipo con actividad anti-IgE y anti-IgG (108). (D) Aumento de los niveles del Factor soluble facilitador, encargado junto con otros principios activos de aumentar los niveles de IgE. Este efecto se produciría durante los primeros dos años de IT, pero luego se produciría una marcada disminución de sus niveles, que se traduciría en una disminución mantenida de las cifras de IgE (109). (E) Disminución del aumento estacional de la liberación de ECP ( proteína catiónica eosinofílica ) (110). (F) Inducción de la formación de IgG que actúan como Ac B. Sobre este punto son numerosos los estudios que han demostrado que la IT produce cambios en los niveles de IgG (111), (112), (113), (114), (115), (116). La mayoría de los autores que se han interesado por los Ac B en los últimos años lo han hecho siempre con el fin de conocer mejor cómo se comportan durante la IT, en un intento de que este conocimiento tenga una aplicación práctica más que un carácter descriptivo.

Hay básicamente dos conceptos que interesa desarrollar: de qué manera se modifican los Ac B durante la IT y qué significado e implicaciones prácticas pueden tener estas modificaciones.

Respecto a la primera cuestión, dependiendo del tipo de alérgeno considerado, se han descrito aumentos predominantes de diferentes subclases de IgG. Así, la IT con extractos de ácaros produce aumento tanto de IgG1 como de IgG4, mientras que la IT con extractos de pólenes, epitelios de animales, hongos y venenos

de abejas induce sobre todo un incremento de las cifras de IgG4 (117). En los pacientes alérgicos a Dermatophagoides que reciben tratamiento hiposensibilizante se producen una serie de cambios inmunológicos que afectan, sobre todo, a los niveles de IgE, IgG1 e IgG4 y que describen una curva en el tiempo sobre la que actualmente caben muy pocas dudas. La IgE específica de alergen tiene un comportamiento en este caso menos típico que el que presenta con la IT para pólenes ( donde se produce un aplanamiento de la curva postestacional, efecto que desaparece dos años después del cese de la IT ). En la IT con Dermatophagoides no se ha descrito un comportamiento definido para esta Ig, si bien la mayoría de los autores encuentran una tendencia a que sus niveles disminuyan durante el tiempo que se administra la IT (51), (118), (119). Ahora bien, conviene hacer algunas consideraciones sobre la IgE específica. Aunque unas cifras aumentadas de la misma significan sensibilización frente a ese alergen, a veces la interpretación de las mediciones en el laboratorio pueden dificultarse por el hecho de que, si la IgE total está muy aumentada (  $> 5.000$  UI/ml ), pueden darse falsos positivos para la IgE específica. También pueden existir falsos negativos, sobre todo cuando en el medio existen IgG que impiden la fijación de la IgE al soporte de la reacción. Se han descrito cifras altas de IgE específica para Dermatophagoides en el 70% de la población de pacientes alérgicos a los mismos, mientras que en menos del 5% de la población no alérgica se pueden detectar niveles significativos de esta Ig (119). La correlación positiva entre IgE específica y los tests cutáneos para Dermatophagoides oscila, según los trabajos, entre

el 60% (54) y el 90% (119).

Desde hace unos años está aceptándose el hecho de que la cuantificación de IgE específica no es útil para controlar el tratamiento hiposensibilizante, por varias razones: en primer lugar, hay autores que no encuentran ningún cambio en sus niveles durante la IT (120), (121), (122). En segundo lugar, no se ha podido demostrar que exista correlación entre los niveles de IgE en sangre periférica y el grado de sensibilidad a ese alérgeno en el órgano diana (123). Por último, en un estudio reciente (124) se estudiaron, mediante biopsia bronquial, el grado de inflamación del epitelio bronquial y el número de eosinófilos y células cebadas en pacientes alérgicos ( con y sin IT ) y en sujetos no alérgicos. Se encontró que, a los 5 años, en los pacientes alérgicos el grado de inflamación era mayor que en los no alérgicos, sin que hubiera diferencias en los alérgicos con y sin IT.

Respecto a los cambios que la IT induce en los niveles de las subclases de IgG, se considera que uno de los factores que más influye en este punto es el tiempo. Desde que se comienzan a administrar concentraciones crecientes del alérgeno, las cifras de IgG1 específica comienzan a aumentar, y lo siguen haciendo ininterrumpidamente durante los primeros 6 meses. Una representación gráfica del crecimiento de la IgG1 resultaría, en los tres primeros meses, en una línea que define un ángulo prácticamente de 45°. Una vez alcanzados los niveles máximos, sigue una fase donde sus niveles permanecen estables, casi sin aumentar ya; esta fase de meseta dura el tiempo que lo hace el tratamiento hiposensibilizante. Durante la misma, la IgG1 puede

alcanzar valores hasta 4 veces superiores a los basales (125). Cuando se suspende el mismo, las cifras de IgG1 empiezan a decrecer en forma progresiva, necesitándose entre 18 y 24 meses para que vuelvan a alcanzar los niveles previos al tratamiento. En la población no alérgica los niveles normales de IgG4 están entre 4 y 10  $\mu\text{gr/ml}$  y sólo en el 2% de esta población se encuentran valores superiores a estas cifras (126). Generalmente, los pacientes alérgicos no tratados con IT tienen niveles difícilmente detectables de IgG4 específica, y sólo se alcanzan cifras que se puedan medir con técnicas habituales al someterlos a este tratamiento.

La forma de la curva que describen los niveles de IgG4 específica durante la IT difiere de la de la IgG1. Para que el aumento de sus cifras empiece a ser evidente, debe transcurrir un tiempo desde el comienzo del tratamiento. Se acepta que durante los dos ó tres primeros meses, apenas se aprecia la diferencia respecto a los niveles basales. Pero una vez que comienza a producirse el incremento de las cifras, éste es mucho más rápido y cuantitativamente más importante y se mantiene casi ininterrumpidamente, de tal manera que a los 12 meses de tratamiento el cociente IgG4/IgG1 es aproximadamente de 0.04, mientras que a los 24 meses se hace de 0.25 (126).

Cuando se suspende la IT, los niveles de ambas subclases decrecen progresivamente, pero también lo hacen de forma diferente. La IgG4 cae más rápidamente y pasados 12 meses del final del tratamiento prácticamente ha alcanzado los niveles basales previos. En cambio, el descenso de las cifras de IgG1 es más lento y, como hemos visto antes, tienen que pasar a veces

hasta 24 meses para que sus cifras vuelvan a ser las basales. Esta diferencia está dada, en parte, por la diferente vida media de cada subclase: 29 meses para la IgG1 y 9 meses para la IgG4. Sobre el comportamiento de la IgE al suspender el tratamiento es importante resaltar que se ha descrito un "efecto rebote", consistente en que la síntesis de IgE específica aumenta a niveles superiores de los que presentaba antes del tratamiento (127).

Intentar responder a la segunda cuestión planteada anteriormente, sobre cuál podría ser el significado y cuáles las implicaciones prácticas de estos cambios, es más complicado, ya que, junto a hechos probados sobradamente, hay hipótesis muy atractivas pero que todavía están por demostrar. Está unánimemente aceptado que las IgG4 cuya producción está estimulada por la IT tienen los mismos efectos que las producidas en el organismo de manera espontánea cuando el sistema inmune interactúa con los alérgenos a los que es sensible (128). En 1985 Nakagawa (49) llevó a cabo un estudio con pacientes asmáticos con alergia a *Dermatophagoides* y sometidos a IT, encontrando que, al final del tratamiento, los niveles de IgG4 específica eran significativamente superiores a los que presentaban pacientes asmáticos que no habían recibido este tratamiento. Además, encontró una correlación positiva entre el grado de aumento de los niveles de IgG4 y el grado de mejoría clínica de los pacientes.

Este importante concepto, el que los niveles de IgG4 puedan relacionarse con la eficacia clínica de la IT, ha sido motivo de otros muchos trabajos, sin que se haya llegado a un acuerdo

aceptado por todos. Así, hay autores que sostienen que el incremento de los niveles de IgG4 específica, actuando como Ac B, se traduce en una mejoría clínica de los pacientes con rinitis y/o asma bronquial debidos a *Dermatophagoides* (51,55,94,118, 122,130, 131). En estos trabajos se concluye que, si bien los cambios en los niveles de IgE e IgG específicas no son predictores exactos del éxito de un tratamiento hiposensibilizante, sí hay una correlación positiva entre el aumento tanto de IgG4 como del cociente IgG4/IgE y el grado de eficacia clínica obtenida con la IT. No se ha establecido, en cambio, ninguna correlación entre los niveles de IgE e IgG1 específicas obtenidas durante la IT y la situación clínica de los pacientes (118,132).

Otro grupo de autores mantienen que, si bien la IT produce claros cambios inmunológicos, incluyendo un aumento evidente de las cifras de IgG1 y, sobre todo, de IgG4, estos cambios no se correlacionan con el resultado clínico de la IT (52,53,54,57, 58,120,133,134,135).

Algunos problemas que pueden plantearse a la hora de valorar la relación entre la eficacia clínica de la IT y los cambios en las Ig inducidos por la misma, y que pueden influir en que este siga siendo un concepto en discusión, han sido apuntados por Moss (136). En primer lugar, los métodos utilizados para cuantificar las IgG4 no son suficientemente sensibles como para definir bien las especificidades antigénicas de estos Ac; en segundo lugar, algunos de los AcB podrían estar dirigidos contra epítopes no detectados por las IgE y que, por tanto, no tienen entidad para manifestarse clínicamente; en tercer lugar, la exposición

espontánea a los alérgenos es inmunológicamente más compleja que la exposición a los alérgenos del tratamiento hiposensibilizante; por último, no existe evidencia definitiva de que la mejoría clínica, cuya cuantía se ha relacionado con los cambios serológicos de las IgG4, sea debida precisamente a estos cambios. Es decir, sabemos que existe una relación entre ambos hechos, pero no está establecido que se trate de una relación causa-efecto, pudiendo pensarse que el aumento de los niveles de IgG4 sea nada más que un epifenómeno del tratamiento hiposensibilizante. Dentro de esta línea, Mosbech (132) encuentra que la mejoría clínica de los pacientes no se correlaciona con el aumento de IgG4, pero sí con un mayor grado previo de hiperreactividad bronquial, con una mayor liberación "in vitro" de histamina por los basófilos y con una concentración de ácaros en los colchones > 1.000 ácaros/gr de polvo. Otsuka (137) también estudia correlacionar la mejoría clínica obtenida por pacientes riniticos sometidos a IT con otros parámetros distintos de los niveles de Ac B, y encuentra que una disminución en el número de células metacromáticas de la mucosa nasal - inducida por la IT - sí se correlaciona positivamente con una mejor situación clínica de los pacientes.

Desde un punto de vista práctico, sería deseable tener un método objetivo que nos permitiera valorar si un paciente sometido a tratamiento hiposensibilizante está reaccionando al mismo favorablemente o no. Tener la posibilidad de continuar o suspender un tratamiento - caracterizado, además, por lo largo y costoso que resulta - en base a datos de fácil obtención y fiabilidad diagnóstica parece una idea muy interesante. La

cuantificación de los niveles IgG4 específica podría aproximarse a esta idea, pero, como hemos visto, quedan algunos puntos sin resolver como para poder adoptarla como método predictivo de la eficacia de la IT. Hasta ahora, los estudios llevados a cabo sobre este tema han compartido una característica importante: las determinaciones de Ac B se han realizado identificando a los mismos con las IgG1 e IgG4 producidas en el organismo como resultado de la interacción entre el sistema inmune y los determinantes antigénicos de los extractos completos de alergen. Así, la mayoría de los trabajos publicados en este sentido (55,113,122,138) analizan el comportamiento de las IgG1 y las IgG4 dirigidas contra los extractos completos de ácaros del polvo de casa, en concreto contra extractos completos de *Dermatophagoides*.

Es bien sabido que alergeno y extracto alergénico son dos términos que, si bien están íntimamente relacionados, se diferencian en una serie de puntos que deben ser tenidos en cuenta. La actividad alergénica de cada especie está determinada por la existencia de uno, dos o tres alergenos específicos, aunque para varias especies se han descrito algunos más. Como hemos visto, los dos alergenos mayoritarios Der pI y Der pII son glucoproteínas capaces de unirse a la IgE específica producida por el contacto previo entre el sistema inmune y dichos alergen. Por otra parte, un extracto alergénico está constituido por un conjunto de proteínas de diferentes características bioquímicas, de las cuales sólo aproximadamente 5 ó 6 son alergenos identificables por técnicas de laboratorio. Los extractos alergénicos destinados a uso clínico, bien sea

diagnóstico o terapéutico, deben reunir una serie de requisitos entre los que destaca la necesidad de que en ellos la concentración relativa de los diferentes alergen mayoritarios sea igual a la concentración en que estos alergen se encuentran en estado natural. Es obligado, además, que esta concentración permanezca constante y estable en los distintos preparados del extracto. Como resultado de un estudio multicéntrico llevado a cabo en Japón, España, Estados Unidos e Italia (65), en el que se incluyeron zonas con diferentes concentraciones de ácaros ambientales, quedó definido que esta relación constante entre Der pI y Der pII era de 2/1. Por lo tanto, actualmente, todos los extractos alergénicos de *Dermatophagoides pteronyssinus* constan de estos dos alergen en una proporción 2/1 y un conjunto de otros alergen que no son mayoritarios, ya que menos del 20% de los pacientes alérgicos tienen IgE específica a ellos. Este grupo alergénico supone algo menos del 30% de la actividad alérgica del extracto completo.

Como hemos visto, los trabajos realizados hasta ahora han estudiado el comportamiento de los Ac B dirigidos contra el conjunto antigénico del extracto completo de *Dermatophagoides*. ¿Tendría utilidad plantear qué sucede cuando se analizan estos Ac individualizándolos según estén dirigidos contra el extracto completo o contra los alergen mayoritarios Der pI y Der pII? La respuesta puede buscarse en parte en los nuevos avances que se están realizando en lo que se refiere a nuevas modalidades de tratamiento hiposensibilizante. Recientemente (139) se está ensayando una nueva forma de IT, que consiste en sustituir la administración periódica de alergen por la de complejos

antígeno-Ac ( alergenos de Dermatophagoides y Ac específicos autólogos, formando complejos inmunes en una proporción 1:5, con exceso de Ac ). Este nuevo concepto de IT se está perfilando como una línea con un alto potencial de desarrollo, ya que está demostrando un excelente nivel de resultados en el tratamiento, no sólo del asma y la rinitis, sino también de la dermatitis alérgica, terreno en el que la IT convencional ha fracasado (111).

El sistema inmune tiene la capacidad de responder tan específicamente ante los estímulos externos que pequeñas variaciones estructurales en los antígenos se traducen en la síntesis de diferentes Ac, dirigidos selectivamente contra cada variable antigénica. Así, si a un paciente se lo somete a IT con extractos completos, su organismo no sólo sintetizará Ac dirigidos contra el extracto considerado como unidad antigénica, sino que producirá Ig específicas frente a cada uno de los componentes del extracto.

Tener un conocimiento más completo del comportamiento de cada uno de estos Ac B ( IgG total, IgG1 e IgG4 ) dirigidos frente a los antígenos del extracto completo y frente a Der pI y Der pII, por separado, nos podría ayudar a definir con más exactitud qué papel desempeña cada uno en el resultado del tratamiento hiposensibilizante. Esto, a su vez, podría redundar en un mejor desarrollo de las nuevas formas de IT: si se conociera que alguno de los componentes alergénicos del extracto tuviera un papel más destacado en la producción de Ac B - lo que podría traducirse en un mayor papel en el resultado final del tratamiento - los complejos antígeno-Ac estarían formados a

expensas, fundamentalmente, de dicho alergen.

En relación directa con esta hipótesis planteamos el presente estudio: en un grupo de nuestros pacientes sometidos a IT intentamos conocer cómo se comportan las diferentes subclases de IgG, individualizando las mismas según se hayan producido frente al conjunto antigénico del extracto completo, frente al alergen Der pI o frente al alergen Der pII. Hemos estudiado qué relación puede existir entre las modificaciones de estos Ac B y otros parámetros clínicos, biológicos y funcionales utilizados habitualmente en la valoración de estos pacientes. Con ello intentamos responder a dos interrogantes, que son los **OBJETIVOS DE ESTE ESTUDIO:**

- (1) Estudiar el comportamiento de las subclases de IgG (IgG total, IgG1 e IgG4) en pacientes tratados con IT no sólo frente al conjunto antigénico completo del extracto, sino también frente a los alergen mayoritarios Der pI y Der pII.
- (2) Valorar si los distintos comportamientos de estas subclases de IgG se traducen en diferentes resultados clínicos del tratamiento.

## MATERIAL Y METODO

Hemos llevado a cabo un estudio prospectivo, desde Marzo de 1991 hasta Junio de 1993, con 57 pacientes alérgicos a Dermatophagoides. La edad media del grupo era de 18.15 años (SD:8.23). Del total de pacientes, 32 (56.2%) eran varones y 25 (43.8%) eran mujeres.

De los **57 pacientes**, 8 (14%) presentaban sintomatología pura de rinitis y 49 (86%) de asma bronquial. De estos últimos, 42 (73.6%) presentaban, además, síntomas de rinitis.

El total de pacientes fue dividido en dos grupos de manera aleatoria: el **primer grupo** estaba formado por 36 pacientes ( 21 varones y 15 mujeres ) de los cuales, 4 (11%) eran riníticos y 32 (88.8%) eran asmáticos; de estos últimos, 28 (77.7%) tenían, además, sintomatología de rinitis. Este primer grupo recibió tratamiento hiposensibilizante específico además del tratamiento convencional.

El **segundo grupo** estaba formado por los restantes 21 pacientes ( 11 varones y 10 mujeres ) de los cuales 4 (19%) eran riníticos y 17 (80.9%) eran asmáticos; de estos últimos, 14 (66.6%) presentaban también síntomas de rinitis. Este segundo grupo realizó sólo tratamiento convencional.

Exigimos como **Criterios de inclusión** :

- Historia clínica positiva de alergia a ácaros
- Tests cutáneos específicos positivos exclusivamente a ácaros

- IgE específica elevada
- Ausencia de positividad a cualquier otro alérgeno.

El **periodo de seguimiento** en todos los casos fue de 12 meses, durante los cuales se realizaron 4 determinaciones: una basal antes del comienzo del tratamiento, y posteriormente a las 13 semanas, a los 6 y a los 12 meses de haber comenzado el mismo.

En cada uno de los controles se llevaron a cabo:

- 1.- Valoración de la situación clínica del paciente
- 2.- Cuantificación de eosinófilos en sangre periférica
- 3.- Tests cutáneos específicos.
- 4.- Test de provocación bronquial inespecífica
- 5.- Determinación en sangre periférica de IgE, IgG total, IgG1 e IgG4 específicas.

1.- **Valoración clínica**: se realizó mediante entrevista personal y tabla de seguimiento clínico. Esta tabla era cumplimentada a diario por el paciente en su domicilio, cuantificando los síntomas nasales ( taponamiento, rinorrea ), oculares ( picor, enrojecimiento ) y/o bronquiales ( disnea, tos, sibilancias ) que hubiera presentado ese día. Según la intensidad de los síntomas éstos se puntuaron en una escala de 0 a 3 ( 0=ausencia de síntomas, 1=leves, 2=moderados y 3=severos ).

2.- **Recuento de eosinófilos**: se llevó a cabo utilizando un autoanalizador SYSMEX de cinco canales ( NE - 8.000 ). Tras lisis toda la serie eritrocitaria se somete a la población leucocitaria

a un medio hiperosmótico y posteriormente se hace incidir un rayo láser sobre los núcleos de estas células. Cada tipo especial de leucocito produce, en virtud de su diferente morfología nuclear, una refracción característica del láser, por la que se lo puede reconocer y cuantificar.

**3.- Tests cutáneos específicos:** se realizaron con la técnica de prick, descrita por Osterballe en 1979 (140). Se exigió que el paciente no estuviera recibiendo fármacos capaces de alterar el resultado de la prueba, especialmente antihistamínicos. Elegimos siempre la cara anterior del antebrazo del paciente. El personal encargado de hacer los tests fue siempre el mismo. Para la punción utilizamos una lanceta Hollister-Sher (Miles) de 1 mm, la cual se presiona en un ángulo de 90 grados sobre la superficie de la piel, sobre la que previamente se había depositado una gota del extracto alergénico, que fue siempre glicerinado al 50%, conservado en fenol y estandarizado en Unidades Biológicas (UB)/ml.

Se utilizaron tres concentraciones diferentes de extracto: 100, 10 y 1 UB/ml, para cada una de las cuales se hicieron dos punciones simultáneas. Una concentración de 100 UB /ml equivale a 40  $\mu$ gr/ml de Der pI y 20  $\mu$ gr/ml de Der pII. Como control positivo utilizamos dihidrocloruro de histamina (10 mg/ml, que equivalen a 6.14 mg/ml de histamina base) y como control negativo una solución de suero salino.

Transcurridos 20 min. desde la punción procedimos a la lectura de la prueba, registrando primero el contorno de los siete habones y transfiriendo los dibujos - con un papel adhesivo

trasparente - a una hoja. Se calculó el área de cada habón como el producto del diámetro longitudinal mayor y el ortogonal en su punto medio; se consideraron significativas las pápulas cuyos diámetros, siendo mayores o iguales a 3 mm, eran mayores que las producidas por la histamina.

**4.- Test de provocación bronquial inespecífica:** (4.1) Test de metacolina: llevado a cabo en pacientes mayores de 14 años, siguiendo las directrices de la Normativa SEPAR (141). Una vez confirmada la ausencia de contraindicaciones y el cumplimiento de los períodos previos libres de medicación, se hizo una determinación de la función pulmonar basal. Exigimos para continuar la prueba que los valores basales de FEV1 y FEV1/FCV fueran mayores o iguales al 80% y 70% del valor teórico respectivamente.

Para el procedimiento utilizamos un espirómetro de campana de 9 litros (Espirograph) y un nebulizador De Vilbiss 35 B que emite partículas de 2 a 3  $\mu$  de diámetro. El diluyente estaba compuesto por cloruro sódico, bicarbonato y fenol.

Seguimos la técnica descrita por R. Rosenthal (142) según la cual la pauta de dosificación estándar de metacolina consiste en cinco inhalaciones ( desde FRC hasta TLC ) de concentraciones crecientes de metacolina ( 0.025, 0.25, 2.5, 10 y 25 mg/ml ). Si definimos una Unidad Inhalatoria (UI) como la inhalación de 1 mg/ml de metacolina, para las concentraciones anteriores se obtienen unas cantidades de 0.125, 1.375, 13.88, 63.88 y 188.88 UI acumulativas de metacolina, respectivamente. La espirometría se realiza en el intervalo de 5 min tras cada dosis, tomando como

criterio de positividad una caída mayor o igual del 20% del FEV1 con respecto al obtenido tras la inhalación del diluyente, que se toma como el 100% de control.

Los datos obtenidos se utilizaron para determinar la relación dosis - respuesta en una escala semilogarítmica ( en abscisas el logaritmo de la dosis administrada y en ordenadas los cambios producidos en el valor del FEV1 ). Sobre la curva dosis - respuesta se calcula el valor de la PD20 FEV1 ( dosis de metacolina que provoca una caída en el FEV1 del 20% ). Este punto se calculó por extrapolación desde la recta obtenida con los dos puntos más próximos de la curva. Si la prueba resultaba positiva se procedía a la administración de broncodilatadores.

(4.2) Test de esfuerzo: realizado en pacientes menores de 14 años. Sobre un tapiz rodante se llevó a cabo un esfuerzo de 8 minutos de duración, con una pendiente del 8% y a una velocidad de 8 Km/h. Se realizaron pruebas de función respiratoria (PFR) en el pletismógrafo antes del ejercicio e inmediatamente después del mismo, y posteriormente, a los 10 y 20 minutos. El test se consideró positivo si se producía un aumento, mayor o igual del 30%, de la Resistencia de las vías aéreas (Raw).

**5.1.- Determinación de IgE específica:** La IgE específica se determinó mediante técnica de enzimoimmunoensayo ( ELISA ), utilizando Ac anti-IgE monoclonal conjugado con peroxidasa. Esta última comienza una reacción enzimática que produce una coloración amarilla directamente proporcional a la cantidad de IgE específica que exista en el suero. La solución se incubó con

sustrato OPD ( fenilendiamina ), interrumpiéndose la reacción con cloruro. La absorbancia de la solución se midió en un espectrofotómetro a 492 nm. Los resultados se expresaron en Unidades RAST Hamlet/ml (HRU/ml).

**5.2.- Determinación de IgG total e IgG1 específicas:** La IgG total fue cuantificada mediante técnica de ELISA: se adsorbieron los diferentes antígenos a pocillos de poliestireno y, tras incubación y lavado con PBS-Tween, se incubaron con las muestras de los sueros problemas. Posteriormente se añadió una dilución de Ac monoclonales anti-IgG conjugados con biotina, volviendo a lavar e incubar la muestra. Los sustratos de la reacción enzimática en este caso fueron estreptoperoxidasa y OPD. Se determinó la absorbancia de la reacción a 492 nm, midiendo los resultados en Unidades Arbitrarias/ml (UA/ml). Se establece la relación entre 1 UA/ml y 1  $\mu$ gr/ml en las técnicas de radioinmunoensayo (143).

La IgG1 específica se determinó siguiendo la misma técnica, añadiendo específicamente anticuerpos monoclonales anti-IgG1 a los pocillos.

**5.3.- Determinación de IgG4 específica:** se realizó también mediante técnica de ELISA. Las fases de adsorción de antígeno fueron idénticas que las realizadas para las IgG total y G1. Tras lavar con PBS-Tween, se incubó durante 30 min con una dilución de los sueros a valorar. Se añadió a los pocillos anti-IgG4 monoclonal conjugada con peroxidasa y se volvió a incubar y lavar. El sustrato en este caso fue OPD. Determinamos también la absorbancia de la reacción a 492 nm, calculando la concentración

de IgG4 de cada muestra por interpolación en una curva de referencia de sueros estándar llevados en paralelo, expresando los resultados en ng/ml.

La IgE y las distintas subclases de IgG específicas se determinaron tanto frente al extracto completo (EC) como frente a los dos alergenicos, Der pI y Der pII. La materia prima de la cual se obtuvo el EC fue extraída de un lote estandarizado de ácaros; el material se macera durante una hora y posteriormente se lo somete a diálisis a través de una membrana especial (MWCO). El extracto resultante se reparte en alícuotas y se liofiliza. Los alergenicos se purificaron a partir del EC, mediante técnica de cromatografía, utilizando Ac monoclonales específicos para Der pI y Der pII.

**6.- Tratamiento administrado:** La IT se llevó a cabo con un extracto alergénico retardado, adsorbido en gel de hidróxido de aluminio, no piridínico y con fenol al 0.4%. El alergenico utilizado fue Dermatophagoides pteronyssinus al 100%

La vía y la pauta de administración del extracto fue la habitual. Los extractos estaban estandarizados en UB/ml y Unidades de Masa (UM), existiendo entre estas dos unidades la relación de que 10 UB corresponden a 4  $\mu$ gr de Der pI y 2  $\mu$ gr de Der pII.

Al llegar a las 13 primeras semanas, la dosis acumulada que habían recibido los pacientes era de 6.26  $\mu$ gr de Der pI y 3.13  $\mu$ gr de Der pII. La dosis acumulada a los dos años de IT es de 73.4  $\mu$ gr de Der pI y 36.7  $\mu$ gr de Der pII.

Respecto a la **medicación convencional** empleada, los

antihistamínicos se utilizaron en el 67% del grupo con IT y en el 70% del grupo sin IT; la budesonida nasal la recibieron el 61% del grupo con IT y el 76% del grupo sin IT, mientras que la budesonida pulmonar la recibieron el 64% y el 62%, respectivamente; Nedocromil sódico, utilizado en el 63% de los pacientes con IT y en el 52% del grupo sin IT;  $\beta$ -miméticos, que se emplearon en el 67% y el 76%, respectivamente; las teofilinas se utilizaron en el 13% del grupo con IT y en el 10% del grupo sin IT, mientras que se utilizó bromuro de ipratropio en el 11% y el 6%, y cromoglicato disódico en el 13% y el 6%, respectivamente.

**7.- Análisis estadístico:** Para comparar los resultados obtenidos dentro de un mismo grupo se utilizó el test no paramétrico de Wilcoxon. Para comparar resultados entre los dos grupos se utilizó el test no paramétrico de U de Mann-Whitney.

El estudio de las correlaciones entre distintos parámetros se llevó a cabo mediante un test de regresión lineal de Pearson.

## RESULTADOS

Los dos grupos en que fueron divididos el total de los 57 pacientes presentaron las siguientes características: el **grupo sometido a IT** estaba formado por 36 pacientes ( 21 varones y 15 mujeres ) con una edad media de 18.02 años (SD:8.9). El tiempo medio de evolución de la sintomatología fue de 6.6 años (SD:6.5); la duración media de las crisis fue de 8.6 días (SD:7.4), con una media de 5.6 crisis/año (SD:4.2).

El **grupo sin IT** estaba formado por 21 pacientes ( 11 varones y 10 mujeres ) con una edad media de 18.38 años (SD:6.9). El tiempo medio de evolución de los síntomas fue de 5.6 años (SD:5.2); la duración media de las crisis fue de 6.9 días (SD:8.7), con una media de 5.9 crisis/año (SD:6.3).

Los resultados que obtuvimos fueron los siguientes:

1.- **Eosinófilos en sangre periférica:** como se observa en la Fig 1, existe una clara tendencia a la disminución del número de eosinófilos en el grupo de pacientes que recibieron IT, que se hace más marcada a partir del 6° mes. Sin embargo, las diferencias entre este grupo y el de los pacientes sin IT no alcanzan a tener significación.

2.- **Tests cutáneos:** en el grupo de pacientes con IT no encontramos diferencias significativas en el tamaño de las

pápulas obtenidas con 100, 10 y 1 UB/ml (Fig 2). En el grupo de pacientes sin IT, si bien se observa una tendencia creciente en las determinaciones de los 6 y 12 meses (Fig 3), tampoco se alcanza a tener diferencia significativa en el tamaño de las pápulas a las 3 concentraciones del extracto.

**3.- Tests de provocación bronquial inespecífica:** en la Fig 4 se observa que en los tests de metacolina, la PD20 muestra una ligera tendencia a aumentar en el grupo de pacientes con IT, sin que llegue a tener significación estadística. Tampoco existen diferencias significativas, para la dosis que define la PD20, entre este grupo y el de los pacientes que no recibieron IT.

Respecto al test de esfuerzo, la Fig 5 muestra que en los pacientes con IT la Raw aumenta, porcentualmente, más que en los pacientes sin IT, pero no se alcanza significación estadística en esta diferencia. Dentro de cada grupo, los resultados obtenidos con este test se mantienen a lo largo de los 12 meses de seguimiento.

**4.- IgE específica:** como se observa en la Fig 6, los niveles de IgE específica frente al EC no se modificaron durante los 12 meses en los dos grupos, no existiendo diferencias significativas entre ambos grupos.

Encontramos esta misma falta de diferencias cuando se cuantificó la IgE específica frente a los alergenos Der pI y Der pII por separado (Figs 7 y 8).

**5.- IgG total:** respecto a la IgG total específica frente al EC,

en la Fig 9 se aprecia que en ambos grupos de pacientes hay una tendencia creciente en sus cifras durante las primeras 13 semanas. A partir de este momento, en los pacientes con IT continúa el aumento de estos niveles, mientras que en el grupo sin IT las cifras tienden a normalizarse, resultando una diferencia significativa entre ambos grupos.

En las figuras 10 y 11 se observa un comportamiento similar para la IgG total frente a Der pI, así como que la diferencia entre los grupos se hace más marcada al cuantificar IgG total específica contra Der pII.

**6.- Ig G1:** La IgG1 específica frente al EC, frente a Der pI y frente a Der pII describe una curva ascendente durante los doce meses de seguimiento en el grupo de pacientes con IT, mientras que en el grupo sin IT sus niveles no se modifican. También en este caso, las diferencias que se establecen entre los dos grupos alcanzan significación estadística (Figs 12, 13 y 14).

**7.- Ig G4:** La IgG4 específica frente al EC, así como frente a Der pI y Der II, describe una línea que define un ángulo prácticamente de  $45^\circ$  en el grupo de pacientes con IT. Desde el comienzo del tratamiento los niveles de esta Ig crecen en forma lineal durante todo el periodo de seguimiento, manteniéndose esta tendencia hasta el final del mismo.

En el grupo de pacientes sin IT, las cifras de IgG4 específica no se modifican, describiendo una línea totalmente plana (Figs 15, 16 y 17).

**8.- Score de sintomatología:** En la Fig 18 se muestra que, respecto a la situación clínica de los pacientes con rinitis, en ambos grupos hay una tendencia a disminuir la puntuación del score de síntomas, si bien esta tendencia es significativamente mayor en los pacientes que recibieron IT.

En cambio, no se obtuvieron diferencias significativas en el score de síntomas oculares y pulmonares entre ambos grupos (Figs 19 y 20).

En las Figs 21 y 22 se muestran las correlaciones que se establecen entre los síntomas y diferentes Ig específicas, destacando la correlación significativa - y de signo negativo - entre los síntomas pulmonares y los niveles de IgG total e IgG4 frente al EC; de igual forma, la sintomatología nasal establece una correlación significativa y de signo negativo con la IgG4 y la IgG total frente al EC.

Analizando los resultados en cada uno de los grupos, de los 32 pacientes riníticos sometidos a IT, 29 experimentaron mejoría clínica ( con disminución de la puntuación obtenida con el score ) y tres no vieron modificada su situación. De los 29 que sí mejoraron, en un caso la IgG4 frente al EC no aumentó sus niveles, en otro caso aumentó pero no significativamente, y en los restantes 27 hubo un aumento importante de esta Ig. En los 29 pacientes hubo un incremento significativo de IgG total frente al EC.

De los tres pacientes que no mejoraron, en todos hubo un aumento significativo de IgG4 y de IgG total frente al EC. En estos tres casos, los niveles basales de IgG total y de IgG4

no eran significativamente diferentes a los de los 29 pacientes que sí mejoraron.

De los 32 pacientes asmáticos que recibieron IT, 25 mejoraron clínicamente y 7 no lo hicieron. De los primeros, en todos los casos hubo un aumento significativo tanto de IgG4 como de IgG total frente al EC. De los 7 pacientes que no obtuvieron mejoría, la IgG4 no aumentó en un caso, aumentó de una manera no significativa en otro caso y en los restantes 5 casos aumentó notablemente. Por su parte, la IgG total frente al EC aumentó significativamente en los 7 pacientes. Tampoco en este caso hubo diferencia entre los niveles basales de IgG total y de IgG4 de los pacientes que mejoraron y los que no lo hicieron.

9.- En la Fig 23 se observa que entre la cifra de **eosinófilos** en sangre periférica y el valor de la PD20 existe una **correlación** significativa y de signo negativo.

Estas células establecen una correlación también significativa, pero de signo positivo, con las cifras de IgG1 específica frente al EC, así como con la IgG1 específicamente dirigida contra Der pI y Der pII. No hay correlación significativa con las restantes subclases de IgG.

10.- En la Fig 24 se muestra la **correlación** que se establece entre las pápulas de los **tests cutáneos** y los niveles de IgG total frente al EC e IgG4 frente al EC y frente a Der pI.

11.- En la Fig 25 se muestran las **correlaciones** que se establecen

entre las distintas **Ig específicas**, destacando la correlación positiva que existe entre la IgG total frente al EC y la IgG total frente a Der pI. Así mismo, destaca la correlación significativa de IgG4 frente al EC y las IgG4 frente a Der pI y Der pII.

## DISCUSION

El papel que juegan los ácaros de la Familia Pyroglyphidae como la más importante fuente de alergenos capaces de producir asma, se conoce bien desde hace más de 25 años (60). A través de un mayor conocimiento de su biología y su estructura, se han podido desarrollar diversas medidas destinadas a reducir la presión antigénica que supone su existencia en el polvo de las casas. Pero, a pesar de este conocimiento más acabado sobre los ácaros, así como de los continuos avances en el tratamiento farmacológico de las enfermedades derivadas de la alergia a estos agentes, es bien sabido que tanto la prevalencia como la severidad del asma están aumentando en todo el mundo (147). La población infantil es, sin duda, la más afectada por este problema. Se acepta que el asma es la enfermedad crónica más frecuente en la infancia y la primera causa de absentismo escolar, si bien no influye, en general, en el rendimiento escolar de estos niños. El asma es más frecuente en los niños que en las niñas ( 3:1 ), aunque en los adultos este predominio del sexo masculino tiende a reducirse. Un factor que podría influir en este hecho es que en adultos varones fumadores el asma puede ser infradiagnosticada, ya que se tiende a explicar los síntomas como una consecuencia del hábito tabáquico, tan frecuente en la población de varones adultos (144).

La prevalencia mundial del asma en la población infantil es muy diferente en distintos países, con tasas que varían desde el 35% de las Islas Carolinas, en el Pacífico sur, hasta el 0.1% de

la población esquimal. En nuestro país el asma afecta al menos al 5% de la población menor de 15 años, lo que supone aproximadamente unos 500.000 niños (148).

En más de la mitad de los casos comienzan a presentarse los primeros síntomas antes de los 3 años, y en el 85% antes de los cinco años. En la juventud puede disminuir la intensidad de los mismos y, en los casos más leves, puede incluso desaparecer (145).

De los 57 pacientes de nuestra serie, 49 presentaban asma como manifestación de su alergia a *Dermatophagoides*, bien fuera como única enfermedad (7/49), o bien acompañada de rinitis (42/49). Las características epidemiológicas apuntadas antes para el asma en general se mantienen en el caso concreto del asma extrínseco debida a ácaros. En este sentido, y dado que la edad media de nuestra serie es de 18.15 años, nuestros pacientes no pueden incluirse dentro de la población infantil donde, como señalábamos antes, la prevalencia es más alta. Esto puede explicarse si tenemos en cuenta que nuestro Servicio de Neumología está dedicado exclusivamente a adultos, por lo que los niños quedan excluidos de nuestro ámbito de trabajo.

El tiempo medio de evolución de la sintomatología en nuestro grupo general fue de 6 años, mientras que la edad media en el momento del estudio fue de 18 años. De esto se deriva que la edad media de comienzo de la sintomatología fue de 12 años, algo mayor que la descrita previamente por otros autores (145). Esta mayor edad de comienzo no podría explicarse, en principio, por el hecho de que fueran pacientes con síntomas tan leves que hubieran pasado desapercibidos en los primeros años, o atribuidos a

procesos banales o pasajeros, ya que las crisis han tenido una duración media de 8 días y se han presentado una media de 5.5 veces/año. Podría suponerse, entonces, que realmente estos pacientes han comenzado con la sintomatología más tarde de lo descrito clásicamente para estos casos; o bien que los síntomas hubieran estado presentes desde los primeros años, pero de una forma más leve ( por lo que no fueron tenidos en cuenta ), y que la intensidad de los mismos hubiera ido aumentando con los años.

Si bien la división de nuestros pacientes se llevó a cabo de una manera aleatoria, los dos grupos formados resultaron homogéneos. No hubo diferencias en la edad media de ambos ni en la distribución por sexos, así como tampoco en la intensidad de la sintomatología ( dada por el tiempo de evolución, la frecuencia de presentación y la duración de las crisis ). Por tanto, la única diferencia planteada a priori entre estos dos grupos fue la existencia o no de tratamiento inmunoterápico.

Los mecanismos de la hipersensibilidad inmediata, principal responsable de la clínica de estos pacientes, no pueden entenderse sin la presencia de diferentes tipos de células. En la fisiopatogenia del asma juega un papel dominante la inflamación, que se desarrolla en una fase inicial ( debida fundamentalmente a la acción de los mastocitos ) y otra fase tardía, cuyo protagonista es el eosinófilo. Esta fase tiene lugar entre las 6 - 9 horas que siguen al contacto con el agente desencadenante; se caracteriza por un gran componente de edema de la mucosa, engrosamiento de la membrana basal, aumento de las secreciones, aumento de la permeabilidad vascular y, como

consecuencia de lo anterior, una marcada reducción del calibre bronquial. Para que la acción inflamatoria de los eosinófilos se produzca, es importante que exista un reclutamiento de los mismos hacia el territorio pulmonar pero, sobre todo, es imprescindible que se activen y liberen una serie de sustancias - como la proteína catiónica del eosinófilo (ECP), proteína X o neurotoxina (EPX), peroxidasa, proteína básica mayor y arilsulfatasa B - presentes en el suero y en las secreciones bronquiales. Este conjunto de sustancias bioactivas son capaces de interferir con el sistema inmune celular, así como de producir degranulación de los basófilos, activación de las ribonucleasas celulares, estimulación de los fibroblastos y alteración en los sistemas de la coagulación (149). Otras sustancias liberadas por los eosinófilos son leucotrienos ( LTC<sub>4</sub> ), algunas prostaglandinas ( PGE<sub>2</sub> y PGE<sub>4</sub> ) y radicales oxidantes con acción citotóxica. Gracias a los estudios de Venge (150) se conoce que, más que la cifra de eosinófilos circulantes, es su grado de actividad lo que se correlaciona con el desarrollo de la respuesta asmática tardía. Esta actividad se traduce en la liberación de sustancias inflamatorias, por lo que los niveles séricos de ECP y EPX se correlacionan más estrechamente con el grado de la inflamación. Los corticoides pueden reducir los niveles séricos de ECP y EPX a pesar de que manteneerse las cifras de eosinófilos en sangre periférica (151).

Cuando la concentración de eosinófilos es tan alta que supera ciertos límites ( > 500\*10<sup>6</sup> cel/L ), la cuantificación de las proteínas activas añade poca información, comparada con la cifra total de eosinófilos, sobre la capacidad inflamatoria

dependiente de estas células.

Los pacientes de la presente serie tenían unos niveles basales promedio de eosinófilos de  $425 \cdot 10^6$  cel/L, cifra que se acerca al límite establecido en  $500 \cdot 10^6$  cel/L, por lo que, en este caso, el hecho de no haber podido cuantificar ECP y EPX en el suero no supone una diferencia significativa, respecto a la información obtenida, con el recuento de células en sangre periférica.

Una de las relaciones clínicamente más importantes es la que se establece entre estas células y la función pulmonar, habiéndose demostrado una correlación inversa entre el número de eosinófilos y la PD20 del test de metacolina en pacientes asmáticos. Se ha encontrado esta misma correlación inversa entre la concentración de ECP y la PD20, sobre todo cuando la eosinofilia en sangre periférica es moderada (152).

De los resultados obtenidos en la presente serie se pueden destacar dos datos: la clara tendencia a la disminución de las cifras de eosinófilos en el grupo de los pacientes con IT, y las correlaciones que se establecen entre estas células, la PD20 del test de metacolina y las cifras de IgG1. Respecto al primer punto, como se muestra en la Fig 1, las cifras de eosinófilos descienden - de una manera clara aunque no estadísticamente significativa - sobre todo a partir del tercer mes del tratamiento con IT; esta tendencia decreciente no sólo se mantiene al llegar a los 12 meses, sino que es en este momento cuando la pendiente de la curva se acentúa más y parece continuarse más allá de ese plazo de tiempo. Se puede plantear, entonces, la posibilidad de que si el periodo de seguimiento

hubiera sido superior a un año, esta diferencia en las cifras de eosinófilos entre ambos grupos hubiera llegado a ser significativa.

Respecto al segundo punto, la Fig 23 muestra que la cifra total de eosinófilos se correlaciona significativamente con la dosis de metacolina que produce una disminución del FEV1 del 20%. Además de significativa, esta correlación es de signo negativo ( $r = - 0.25$ ) lo que se traduce en que, a mayores cifras de eosinófilos, menor es la cantidad de metacolina capaz de producir un efecto de broncoconstricción. Es decir, que la cifra de eosinófilos y el estado de "irritabilidad" bronquial siguen un curso paralelo. Esta relación, ya descrita previamente (152), es un reflejo de los conceptos expuestos anteriormente sobre el activo papel que desempeñan los eosinófilos como células inflamatorias en el asma.

Además de con la PD20, los eosinófilos se correlacionan significativamente con la IgG1 específicamente dirigida contra el EC y contra los alérgenos Der pI y Der pII. Se trata, en este caso, de unas correlaciones de signo positivo, siendo la que presenta un mayor grado de ajuste la que se establece con el alérgeno Der pI ( $r = 0.52$ ). Esta relación puede entenderse si recordamos que la subclase de IgG que primero aumenta como consecuencia de la exposición al antígeno es la IgG1; el contacto inicial entre el sistema inmune y el antígeno se traduce, por un lado, en un aumento de IgG1 como primera respuesta (51), y por otro lado, supone el punto de partida para una respuesta inflamatoria en la que participa activamente el eosinófilo. Por tanto, es de esperar que cifras mayores de estas células se

correspondan con cifras aumentadas de IgG1, ya que ambos son reflejo de los mecanismos que se ponen en marcha en los primeros momentos de la interacción entre el sistema inmune y el antígeno. Por otro lado, no es sorprendente que el antígeno que más participa en esta respuesta inflamatoria desencadene sea el alérgeno Der pI, responsable también de la mayores respuestas inmunitarias con producción de IgG.

Otro nexo patogénico entre IgG1 y eosinófilos está dado por el hecho de que la IgG1, como ya se describió previamente, es capaz de producir Reacciones asmáticas tardías mediante la formación de inmunocomplejos ( reacción de hipersensibilidad tipo III ) en cuyo desarrollo participan, entre otras células, eosinófilos activados (52).

Los tests cutáneos han sido utilizados desde 1924 para diagnosticar el perfil alérgico de un paciente asmático, así como para controlar el estado y la evolución de esta enfermedad. En relación con el primer punto, los tests cutáneos se utilizan en la actualidad tal como describió Osterballe el Prick-test (140). Si en la piel del paciente existen mastocitos ligados a la IgE específica para el antígeno que estamos estudiando, se liberarán mediadores y se producirá una reacción inflamatoria inmediata. La medición de la pápula se puede hacer por diferentes métodos, como el propuesto por Bernstein ( producto del diámetro longitudinal mayor por el ortogonal en su punto medio ) que ha sido el empleado en este estudio y que ha mostrado una buena correlación con la medición mediante planimetría (153). Se consideraron negativas las pápulas cuyos diámetros fueran

inferiores a 3 mm y positivas las que, teniendo un diámetro superior a 3 mm, fueran mayores que la pápula obtenida con la histamina, siguiendo los criterios de Bousquet (154). La estandarización de los extractos empleados se hizo en Unidades Biológicas (UB), que se emplean para cuantificar la actividad alérgica total de un extracto. Estas unidades fueron introducidas por Brighton en 1979 (155) y, por definición, a la concentración de extracto que produce una pápula de 75 mm<sup>2</sup> se le ha asignado una actividad de 100 UB/mL. Una actividad alérgica de 100 UB se corresponde con la existencia de 40 µgr de Der pI y 20 µgr de Der pII.

Los tests cutáneos son el método más sensible y sencillo para establecer una sensibilización atópica en un paciente con asma y su positividad implica la existencia de IgE específica frente al alérgeno en cuestión.

De los resultados obtenidos en nuestro estudio en relación con los tests cutáneos, merecen señalarse algunos aspectos. Como se observa en la Fig 2, en los pacientes que recibieron IT el tamaño de las pápulas no fue significativamente diferente a lo largo de los 12 meses de seguimiento. Tampoco hubo diferencias en el tamaño de las pápulas obtenidas en el grupo sin IT, si bien se observa una tendencia creciente, sobre todo en los últimos meses y con la mayor concentración del extracto.

Estos resultados contrastan por los obtenidos en otros estudios que encuentran que, en pacientes sometidos a IT, el área de la pápula se hace significativamente menor después de 24 meses de tratamiento (132), (134). Probablemente el factor tiempo influya en esta diferencia de resultados, ya que la tendencia al

aumento que observamos en nuestros pacientes sin IT, quizás podría llegar a suponer una diferencia significativa si el tiempo de seguimiento se prolongara por 12 meses más.

En un reciente trabajo, Machiels (139) evalúa los cambios de los tests cutáneos cuando se somete a un grupo de pacientes alérgicos a *Dermatophagoides* a IT no convencional (utilizando complejos antígeno-Ac en lugar de sólo antígeno). Encuentra que, a los tres años de tratamiento, se necesitan cantidades significativamente mayores de extracto que al comienzo del estudio, para producir una pápula positiva. La diferencia entre estos resultados y los de nuestra serie puede estar influida, no sólo por el diferente tipo de tratamiento, sino también por la diferencia en el tiempo de seguimiento.

El interés de la utilización de tres concentraciones del extracto ha sido ya apuntado por autores como Leynadier, quien realiza los tests cutáneos incubando previamente el alérgeno con IgG específica (156). Las pápulas obtenidas con las menores concentraciones del extracto se reducen hasta en un 70%, respecto a las obtenidas con el extracto no incubado con IgG, mientras que para las concentraciones mayores del extracto no hay diferencia significativa. Este diferente comportamiento no ha sido suficientemente aclarado, pero podría pensarse que la cantidad de IgG (con función de Ac B) con que se hizo la incubación, no fuera suficiente para anular la mayor cantidad de antígeno contenido en el extracto de mayor concentración.

En nuestro estudio no hemos encontrado un comportamiento distinto de las pápulas que dependiera de las diferentes concentraciones del extracto; a diferencia del anterior, en nuestro caso los Ac

B que intervienen no son aportados de forma exógena ni actúan "in vitro", sino que están circulando por el suero del paciente y son los que él mismo ha producido como respuesta al estímulo antigénico dado por la IT. Se puede plantear que estos Ac B existen en cantidades suficientes como para actuar de igual manera frente a diferentes cantidades de antígeno, incluyendo las contenidas en extractos de alta concentración. En este sentido, la Fig 24 muestra que entre los tests cutáneos y la IgG total frente al EC se establece una correlación significativa y de signo negativo, indicando que si existen mayores cantidades de IgG total ( expresión del conjunto de los Ac B ) las pápulas obtenidas serán menores, ya que los mecanismos que las producen están bloqueados por estas Ig. En la misma Fig se puede apreciar que la correlación es algo más estrecha con la IgG4 que con la IgG1 (  $r = - 0.21$  y  $r = - 0.18$ , respectivamente ), lo cual es coherente con el hecho de que la Ig que desempeña el papel principal en el conjunto de los Ac B es, precisamente, la IgG4 (55), (57).

El significado clínico de estos cambios, producidos durante el curso de un tratamiento hiposensibilizante, podría ser cuestionable, ya que, si bien se supone que van a reflejar una disminución de las reacciones de hipersensibilidad inmediata, se ha encontrado que no hay correlación entre estos cambios y los producidos en el grado de hiperreactividad bronquial (134). Es decir, los tests cutáneos son un método de primera línea en el diagnóstico del perfil alérgico de un paciente, pero no son tan eficaces como método de control de la respuesta de un paciente a la IT, ya que no puede asegurarse que vayan a disminuir como

resultados del tratamiento, y en caso de que lo hagan, su disminución puede no tener correlación con cambios producidos en la sintomatología.

En la fisiopatogenia del asma hay una secuencia bien definida, que comienza con el contacto entre el organismo susceptible y el agente desencadenante de la crisis; esto provoca una inflamación ( en dos fases, inicial y tardía ) que se traduce en una hiperrespuesta o hiperreactividad bronquial (HRB), la cual participa en la obstrucción al flujo aéreo que es, en definitiva, la responsable de la sintomatología. La HRB consiste en una respuesta desproporcionada de las vías aéreas frente a estímulos específicos e inespecíficos. Esta situación no es exclusiva del asma, ya que se presenta en otras enfermedades, como en la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica, en las bronquiectasias, tras una infección viral, en la insuficiencia del ventrículo izquierdo o en las rinitis. Es interesante la relación entre rinitis, HRB y asma, ya que se ha encontrado que un porcentaje de entre el 7% y el 30% de los pacientes con rinitis alérgica pura desarrollarán, con el tiempo, sintomatología de asma bronquial extrínseco (157), (158). Ricketti (159) describe que los pacientes con rinitis pura que demuestran tener HRB mediante el test de metacolina, terminaban desarrollando asma con una frecuencia significativamente mayor que aquellos pacientes riníticos sin HRB. Además, según trabajos como los de Verdiani (160) la rinitis perenne es mucho más importante que la rinitis estacional como factor de riesgo para desarrollar hipersensibilidad bronquial inespecífica. Es decir, que la

detección de un estado de HRB en un paciente con síntomas de rinitis pura, puede tener valor predictivo sobre la evolución hacia una enfermedad asmática asociada a esa rinitis.

Esta asociación entre rinitis y asma bronquial es coherente con la distribución de nuestra población: de los 57 pacientes, 8 eran riníticos puros, 7 sólo tenían síntomas bronquiales y 42 (73.6%) presentaban sintomatología nasal y bronquial asociada. Para poner de manifiesto un estado de HRB se utiliza, entre otros, el test de metacolina, un análogo  $\beta$ -metil de la acetilcolina que, actuando sobre receptores muscarínicos, produce broncoespasmo en estos pacientes. Se acepta que la prueba de broncoprovocación se debe realizar cuando la espirometría y el test de broncodilatación son negativos en un paciente en el que se sospeche enfermedad asmática. La sensibilidad de esta técnica para el diagnóstico de HRB es aproximadamente del 90%

Su utilización en la valoración de la severidad del asma y/o en la monitorización del tratamiento está más cuestionada, ya que en algunos casos de asma bien controlada, o en casos de asma ocupacional de años de evolución con periodos de ausencia de contacto con el agente causal, puede ser difícil demostrar la HRB por este método. Además, el grado de respuesta a la metacolina no siempre se correlaciona con la gravedad clínica del asma (161).

En la evolución de nuestro grupo de pacientes, como se observa en la Fig 4, la dosis de metacolina que define la PD20 no cambió de manera significativa en las cuatro determinaciones, tanto en el grupo de pacientes con IT como en el grupo sin este tratamiento. A partir del tercer mes se aprecia una ligera

tendencia creciente en el primer grupo de pacientes, que parece mantenerse al llegar a los 12 meses. Como en el caso del recuento de eosinófilos en sangre periférica, no puede descartarse que prolongando más el periodo de seguimiento, se llegara a obtener una diferencia significativa entre ambos grupos.

Esta falta de modificación sustancial en el estado de HRB en el curso de un tratamiento hiposensibilizante, es un hallazgo compartido por algunos autores pero contrario a lo defendido por otros. Así, Bousquet (120) encontró que después de 1 a 4 años de IT específica, se producía un aumento significativo en los valores de PD20 para el carbacol, otro agente capaz de desencadenar una hiperrespuesta bronquial si existe HRB. De la misma forma, Mosbech (132) observó que en los pacientes tratados con IT específica para *Dermatophagoides* se producía una disminución de la HRB después de un año de tratamiento, aunque durante el segundo año esta mejoría se iba perdiendo, para volver finalmente a la situación inicial al concluir los dos años de IT. En sentido contrario, del estudio de Murray (105) se concluye que la IT no sólo no resulta en una disminución del estado de HRB, sino que produce un ligero aumento del mismo; debido al reducido número de pacientes con que se realizó este estudio así como el corto periodo de seguimiento observado, resulta difícil la extrapolación de estos resultados a una población mayor. Más recientemente se han comunicado otros resultados en relación con este tema (162), habiéndose descrito que la IT específica aumenta la tolerancia a *Dermatophagoides* en los tests de provocación específica, pero no modifica la hiperreactividad en los tests de provocación inespecífica.

También se ha demostrado que la reducción en la exposición al alérgeno es capaz, por sí sola, de disminuir la HRB de manera significativa en los pacientes alérgicos a ácaros (163).

Se acepta que el porcentaje de los pacientes asmáticos que responden positivamente al test de metacolina es algo más del 90%, mientras que sólo en el 75% de los mismos el test de esfuerzo es positivo. A pesar de esta menor sensibilidad, el test de esfuerzo se utiliza para poner de manifiesto un estado de HRB en pacientes de menor edad ( menos de 14 años ), en los cuales pueden resultar peligrosas las pruebas de provocación bronquial con metacolina. Del total de los 57 pacientes de nuestra serie, se hizo test de metacolina a 47 y test de esfuerzo a 10, con un resultado global positivo de 39/47 (83%) y 5/10 (50%), respectivamente. Si se consideran por separado los pacientes riníticos puros (n=8) y los asmáticos (n=49), el test de metacolina fue positivo en 4/8 riníticos (50%) y en 35/39 asmáticos (90%). El test de esfuerzo no se hizo en ningún caso de rinitis pura, y fue positivo en 5 de los 10 pacientes asmáticos en los que se hizo (50%).

La forma óptima de interpretar estos tests sería mediante la medición de los cambios en la conductancia específica, parámetro más sensible a la hora de valorar obstrucciones más ligeras, sobre todo cuando los volúmenes pulmonares son más bajos. Pero, en la práctica, se analiza el recíproco de este parámetro, y se considera el resultado del test según los cambios producidos en la Resistencia de las vías aéreas (Raw). Los criterios seguidos en este trabajo para la estandarización del esfuerzo han demostrado tener una buena equivalencia con el 80%

del esfuerzo máximo.

Como se observa en la Fig 5, el grupo de pacientes con IT parte de unos valores basales más altos que el grupo sin IT, permaneciendo estabilizada esta diferencia durante los primeros 6 meses de tratamiento. A partir de este momento, los pacientes con IT presentan aumentos en la Raw cada vez menos marcados, si bien no se llega a lograr una diferencia significativa, dentro de este grupo, entre los niveles de la última determinación y los basales. No hay una causa clara que explique la diferencia entre los dos grupos, aunque quizás el pequeño número de pacientes en cada grupo se traduzca en una mayor dispersión de los valores; de todas maneras, en este caso el aspecto que más interesa no es la comparación intergrupos, sino la evolución de cada uno de los pacientes, comparándose consigo mismo, para analizar si se ha producido o no una disminución en el estado de HRB en cada caso.

La valoración del perfil alérgico, tanto de la rinitis como del asma bronquial, se basa en los datos aportados por la historia clínica, los tests cutáneos y la IgE específica en suero. La IgE total tiene un escaso interés en este tipo de diagnóstico, ya que se encuentra elevada en una serie de procesos no relacionados entre sí, como el hábito tabáquico, las parasitosis, infecciones de curso subagudo, neoplasias... Unida a su baja especificidad, la IgE total tiene, además, una baja sensibilidad, ya que sólo está aumentada en el 50-60% de los pacientes asmáticos extrínsecos.

La IgE total no cambia con el tratamiento farmacológico, y los cambios que se producen como consecuencia de la IT son

variables; en general, se acepta que el único cambio significativo se produce en los pacientes alérgicos a pólenes, en los cuales desaparece el típico aumento de IgE total postestacional (164).

La IgE específica de alérgeno sí tiene, como hemos visto, interés para diagnosticar de alérgica un proceso, fundamentalmente el asma, interés que está matizado por algunos aspectos problemáticos. Así, esta Ig traduce la sensibilización de un paciente a un determinado antígeno, pero no implica necesariamente que exista enfermedad. Además, su sensibilidad tampoco es del 100%, ya que sólo es positiva en el 65-75% de los pacientes alérgicos; tampoco es específica en el 100% de los casos, ya que hasta el 5% de la población no alérgica puede presentar cifras altas de IgE específica (119).

Para mejorar su sensibilidad se utilizan - como se ha hecho en el presente estudio - las técnicas de enzimoinmunoensayo (ELISA) mejor que las de radioalergoabsorción (RAST), ya que las primeras son más eficaces para reconocer Ac de baja afinidad.

La monitorización de los niveles de IgE específica como método para controlar la eficacia de un tratamiento hiposensibilizante plantea no pocos problemas. En primer lugar, no está del todo demostrado que exista una correlación entre los niveles de esta Ig en suero y el grado de sensibilidad - y susceptibilidad - a ese alérgeno en el órgano diana del proceso inflamatorio (123). En segundo lugar, como defiende Fennerty (165), podría pensarse que las moléculas de IgE que se produjeran durante la IT tuvieran una afinidad menor por los receptores de las células inflamatorias que las moléculas de IgE sintetizadas

por la exposición antigénica espontánea. Otro punto conflictivo a la hora de utilizar la IgE específica como control de la IT se perfila en los trabajos de Foresi (124), quien estudia, mediante biopsia, el grado de inflamación de la mucosa bronquial y el patrón celular del epitelio de pacientes alérgicos a ácaros ( con/sin IT ) y de sujetos no alérgicos. Después de 5 años de IT el grado de inflamación - dado por el número de eosinófilos y mastocitos - de los pacientes alérgicos era superior a los no alérgicos, pero no había diferencia entre los alérgicos con y los alérgicos sin IT, independientemente de las cifras de IgE que existieran en cada caso. Este resultado está en la misma línea de lo planteado antes, es decir, que el número de moléculas de IgE no es un buen marcador del grado de inflamación que pueda existir en el órgano diana.

Por último, se han encontrado diferentes patrones de cambio en los niveles de la IgE específica durante el curso de la IT; en sus estudios con pacientes riníticos y asmáticos con sensibilidad a ácaros y sometidos a IT, Nakagawa (51) encuentra una clara disminución de las cifras de IgE específica. Este resultado es explicado porque la IT induce el desarrollo de auto-Ac antiidiotipo dirigidos frente a la IgE, que actúan disminuyendo las cifras de esta Ig. A este efecto contribuirían también las células T supresoras, específicas de antígeno y sintetizadoras de gamma-Interferón, que son activadas durante el curso del tratamiento hiposensibilizante y que resultan en una menor síntesis de IgE específica. Este mismo comportamiento de la IgE se encuentra en los trabajos de otros autores, siendo un hallazgo común en todos estos estudios que el descenso de IgE se

hace más marcado a partir de los 3-6 meses de tratamiento (102), (113). En estos casos, se ha encontrado que la disminución de IgE no tiene correlación significativa con la evolución de la sintomatología de los pacientes, es decir, que es uno de los resultados inmunológicos derivados de la IT, pero no establece una relación causa-efecto con la eficacia final de este tratamiento.

También se ha descrito que la IT no modifica los niveles de IgE, y en este sentido son clásicos los estudios de Bousquet (120) y Norman (94). Posteriormente, otros muchos autores han confirmado estos resultados, encontrando que la IT no modifica los niveles de IgE específica en los pacientes alérgicos a ácaros, por lo cual no sería un buen parámetro para evaluar la eficacia y el resultado final de este tratamiento (119), (121), (122).

En relación con este aspecto, en la Fig 6 se observa que, en los doce meses de seguimiento de nuestro estudio, no ha habido diferencias significativas en los niveles de IgE específica para el EC, ni dentro del grupo de pacientes con IT, ni dentro del grupo sin IT, ni comparando ambos grupos entre sí.

Esta misma falta de modificaciones significativas se obtienen cuando se cuantifica la IgE específicamente dirigida a los alérgenos mayoritarios Der pI y Der pII. Este hecho parece lógico si se parte de la base que el EC es un conjunto antigénico más amplio y complejo, aunque menos selectivo, que cada uno de los alérgenos mayoritarios por separado.

Menos variables son, en general, los resultados obtenidos

con las IgG y sus subclases en los pacientes alérgicos a ácaros y sometidos a tratamiento hiposensibilizante específico. Desde que en 1935 Cooke (44) describiera por primera vez unos Ac - inducidos por la IT en pacientes alérgicos - con capacidad de bloquear la acción reagínica de la IgE, han sido muy numerosos los estudios llevados a cabo al respecto.

Aunque la mayor parte de los aspectos de mayor interés, en relación con estos Ac B, ya han sido descritos en otra sección de este trabajo, merecen recordarse algunos conceptos. Entre los mecanismos de acción propuestos para la IT destaca la inducción de la síntesis de IgG con función de Ac B. En este sentido, se acepta que el tratamiento hiposensibilizante con extractos de ácaros produce aumento tanto de la IgG total, como de la IgG1 y la IgG4, mientras que con otros tipos de extractos ( como pólenes, hongos, epitelios de animales y veneno de abejas ) se produce un incremento prácticamente único de IgG4 (117).

En los pacientes alérgicos a Dermatophagoides sometidos a IT los cambios producidos en las IgG describen una curva en el tiempo bien conocida. Desde el comienzo de la administración del antígeno, las cifras de IgG1 comienzan a aumentar, y lo hacen de forma ininterrumpida hasta que se completan los tres meses de tratamiento. Una vez alcanzado este momento, las cifras de esta Ig se estabilizan, adoptando una forma de gráfico "en meseta". Durante esta fase de estabilización se pueden encontrar cifras de IgG1 específicas de antígeno hasta cuatro veces superiores a los valores basales, previos al tratamiento (125). En la Fig 12 se muestran los resultados obtenidos en este estudios en relación con este punto. En ambos grupos de pacientes se partía de niveles

basales de IgG1 específica frente a EC prácticamente iguales. A las 13 semanas de tratamiento, ya se observa que el grupo de pacientes con IT ha alcanzado unos niveles claramente mayores que el otro grupo. A partir de este punto, los pacientes sin IT mantienen sus cifras sin variaciones, mientras que los pacientes con IT la recta dibujada tiene su mayor pendiente (relacionada con el grado de aumento) entre los 6 y los 12 meses de IT. Desde el 6° mes hasta el final del seguimiento, si bien las cifras tomadas como valor absoluto siguen todavía incrementándose, la pendiente de la recta de crecimiento se tiende a aplanarse, siendo el aumento de la IgG1 en los últimos meses menor que en los precedentes. Esta morfología de la curva, con una fase inicial de crecimiento rápido seguida de una fase de estabilización, es concordante por completo con lo descrito previamente (51), (92), (94), (107), (118).

En las Figs 13 y 14 se observa que los niveles basales de la IgG1 dirigida específicamente contra el alérgeno mayoritario Der pI son prácticamente iguales que los niveles de la IgG1 frente al EC, mientras que los niveles basales de IgG1 frente al alérgeno Der pII son mucho menores que ambos. Esta diferencia es coherente con el hecho de que Der pI es capaz de producir una respuesta inmunitaria en un mayor porcentaje de pacientes alérgicos que el Der pII (66). Es decir, que en situación basal, cuando el único estímulo antigénico recibido es el que deriva de la exposición espontánea a *Dermatophagoides*, la subclase de IgG1 que predomina es la que se produce como respuesta al alérgeno más importante, el Der pI. En la misma figura se puede observar que, inicialmente, los niveles de IgG1 frente a Der pI no son

diferentes en el grupo de pacientes con y en el grupo de pacientes sin IT. De esto se puede deducir que en nuestra serie se cumplen los conceptos aportados por Nakagawa (51) sobre que en todos los individuos, sean o no alérgicos, al tomar contacto con antígenos, inhalados o de los alimentos, se produce una síntesis de IgG1 específica para los mismos. Después de un tiempo variable de exposición espontánea, los niveles de la IgG1 específica dejan de aumentar y se estabilizan para, posteriormente, comenzar a decrecer hasta alcanzar, a veces en el plazo de varios meses, los niveles previos.

Como parece desprenderse de lo anteriormente expuesto, es lógico que la curva de la IgG1 frente a Der pI sea superponible a la de IgG1 frente al EC. La morfología de la curva de IgG1 frente a Der pII es paralela a ambas, aunque el valor de sus cifras sea menor.

La subclase de IgG que desempeña el principal papel como AC B es la IgG4. Como se señaló anteriormente, los dos subtipos de IgG4 pueden actuar como Ac reagínicos o como Ac B, desarrollando estas funciones mediante complejos mecanismos inmunológicos (100), (101), (102).

Cuando se produce una estimulación antigénica limitada en el tiempo, del tipo de la que sucede en una vacunación o por la picadura ocasional de una abeja, se puede esperar que haya un aumento transitorio de la IgG1 específica para ese antígeno, que desaparece en poco tiempo si no se repite la exposición antigénica. Pero la estimulación antigénica prolongada, como la derivada de la exposición repetida al veneno de las abejas, a los

pólenes o los ácaros, o en otras situaciones como la infestación parasitaria crónica o la tiroiditis de Hashimoto, resulta en un aumento de los niveles de IgG4 específica para cada antígeno en particular (118).

Si se analiza el comportamiento de la IgG4 inducida, no por la exposición espontánea, sino por la administración de un alérgeno en el curso de un tratamiento hiposensibilizante, se obtiene una figura que ya ha sido descrita: en los primeros dos ó tres meses de IT el aumento de la IgG4 específica resulta insuficiente para que pueda ser detectado por las técnicas de laboratorios empleadas usualmente. A partir del 2° o 3° mes, se produce un aumento mucho más importante cuantitativamente, y mucho más rápido, que el de la IgG1. Ya se ha mencionado que a los 12 meses de IT el cociente IgG4/IgG1 es, aproximadamente, de 0.04, mientras que a los 24 meses es de 0.25 (126). Ha sido demostrado que una vez que las cifras de IgG4 han aumentado hasta suponer más del 30% del total de las IgG ( siendo lo normal que sólo sean el 4% de las mismas ), suelen mantenerse estabilizadas en estos valores máximos durante todo el tiempo que se mantenga el tratamiento (138).

En las Figs 15, 16 y 17 se muestran los resultados obtenidos en este estudio en relación con los niveles de IgG4 específica. Los niveles basales de los tres tipos de IgG4 ( frente al EC, frente a Der pI y frente a Der pII ) son prácticamente iguales en los dos grupos de pacientes. Si comparamos los niveles basales de IgG4 específica para el EC con los niveles también basales de IgG1, vemos que los primeros son muy inferiores respecto a estos últimos. Si partimos de que se acepta que una Unidad Arbitraria

equivale a 1  $\mu$ gr en las técnicas de radioinmunoensayo (143), los pacientes de esta serie han partido de niveles basales de IgG1 de aproximadamente 2.000  $\mu$ gr/ml, mientras que los de IgG4 han sido de 50 ngr/ml. Esta situación es coherente con lo que se describe en otros trabajos (54), en los cuales se mantiene que en la población sana, no alérgica, los niveles de IgG4 son prácticamente indetectables; en la población alérgica no sometida a IT, si bien los niveles son algo mayores que en el grupo anterior, siguen existiendo cifras muy inferiores a las técnicamente necesarias para que los métodos de laboratorio empleados ( ELISA o RIA ) sean fiables. Una de las razones aducidas para explicar que los pacientes alérgicos tengan cifras de IgG4 significativamente más elevadas que la población normal, es que la mucosa crónicamente inflamada de los primeros es más permeable al paso de diferentes sustancias, incluidos los alérgenos responsables de la producción sostenida de IgG4 específica (54). Sólo la población de pacientes alérgicos que reciben tratamiento hiposensibilizante alcanzan a tener niveles de IgG4 suficientemente elevados como para que sean detectados con seguridad. En las mismas figuras se observa que en el grupo de los pacientes sin IT las cifras de IgG4 específicas para EC, Der pI y Der pII, han permanecido estables durante los 12 meses de seguimiento; en cambio, en el grupo de pacientes que sí recibió IT la IgG4 dibuja una línea recta con una clara pendiente desde el primer momento de la IT, llegando a ser esta pendiente de 45° a partir del tercer mes.

De los tres tipos de IgG4, la que alcanza niveles más altos es la específicamente dirigida contra el alérgeno Der pI, que

pasa de 50 ng/ml a 1.300 ng/ml en los 12 meses ( lo que supone haber incrementado en 26 veces su valor ). Las otras dos IgG4, las dirigidas contra el EC y Der pII, pasan del mismo valor basal a unos niveles finales de 550 y 600 ngr/ml ( aumentando, por lo tanto, su valor 11 y 12 veces, respectivamente ). Dado que antes del comienzo de la IT no había diferencia en las cifras de los tres tipos de IgG4, es claro que el hecho responsable de que esta diferencia exista es que el alergen Der pI es inmunológicamente más importante que el Der pII, no sólo por su mayor prevalencia en la población alérgica, sino por, según se desprende de estos resultados, su mayor capacidad para inducir la producción de Ac B como respuesta. El EC es un complejo alergénico del que no sólo forman parte los dos alergen mayoritarios, sino que también intervienen otros alergen que tienen una significación menor, pero que contribuyen a que las respuestas "in vivo" de cada paciente en particular no siempre sean iguales a las obtenidas "in vitro". Por lo tanto, es lógico que la respuesta de producción de IgG4 específica derivada de la administración del EC sea menor que la derivada del extracto puro de Der pI, ya que el efecto de este último se encuentra "diluído" entre los efectos menos potentes de los otros componentes alergénicos.

Como se deduce por la forma de la curva, el progresivo incremento de la IgG4 no termina cuando lo hace el periodo de seguimiento. Dado que la vida media de la IgG4 es de 9 meses, las moléculas sintetizadas en los momentos finales del periodo de seguimiento harán que los niveles de esta Ig en suero se sigan manteniendo elevados durante al menos ese periodo de tiempo, incluso si se interrumpiera el tratamiento.

Aunque para valorar los cambios que se puedan producir en los niveles de IgG total hay que cuantificar el conjunto de todas las subclases de esta Ig, en realidad las dos subclases que más influyen en el resultado final son, lógicamente, IgG1 e IgG4. Tan es así que se acepta que el valor de la IgG total representa la suma de los valores de IgG1 y de IgG4 (107). En situaciones donde la exposición antigénica es crónica y acumulada en el tiempo, como el caso de niños con alergia a las proteínas del huevo, la elevación de la IgG total se produce prácticamente al mismo tiempo que la de la IgG4 específica (58). Esto mismo se da en los casos de pacientes expuestos crónicamente a los alérgenos de los ácaros. Varios autores han estudiado cómo se modifica la IgG total en el transcurso de un tratamiento hiposensibilizante, habiéndose llegado a diferentes resultados. Así, Scordamaglia (102) estudia 27 pacientes con asma y/o rinitis con sensibilidad a *Dermatophagoides* y sometidos a IT específica. Encuentra que la IgG total específica para *Dermatophagoides* no aumenta significativamente durante los 12 meses de seguimiento, lo que contrasta con el hecho de que las IgG1 e IgG4 sí lo hacen.

En este mismo sentido, Aalberse (48) mantiene que la IT sólo induce una síntesis significativa de IgG1 e IgG4, sin que la IG total tenga importancia como efecto inmunológico aislado. Estos resultados son diferentes a los obtenidos por Mosbech (132) o Pastorello (133), quienes encuentran que la IT específica para *Dermatophagoides* sí se traduce en un aumento significativo de IgG total, además de aumentar cada subclase por separado.

En la Fig 9 se muestran los resultados obtenidos en este estudio respecto a este punto. Se observa que la IgG total frente

al EC describe una primera fase ascendente, que ocurre durante las primeras 13 semanas, tanto en los pacientes que recibieron IT como en los que no lo hicieron. Este aumento inicial - que no llega a tener significación estadística en ninguno de los dos grupos - podría ser explicado por el hecho de que ambos grupos estaban formados por pacientes alérgicos y que, por tanto, si se encontraran sometidos al estímulo antigénico derivado de una exposición ambiental más intensa, podrían tener algo aumentados los valores de esta Ig como respuesta a esta situación. La diferencia entre la existencia o no de IT se refleja a partir de los 13 meses, encontrándose que los pacientes con IT siguen elevando sus cifras de IgG total específica, mientras que los esta elevación deja de producirse en los pacientes sin IT. Al final del seguimiento, las diferencias entre ambos grupos sí han alcanzado una significación estadística, como se refleja en la figura.

La mayor importancia inmunológica del alérgeno Der pI, a la que se ha hecho referencia previamente, se afirma también en este caso. Como se aprecia en la Fig 10, la IgG total específicamente dirigida contra Der pI alcanza, al final de los 12 meses, unas cifras que son 14 veces mayores que las de la IgG total específica para Der pII ( 10.000 vs 700 UA/ml).

Pero, además, los niveles basales de ambos tipos de IgG ya eran diferentes: frente a Der pI, tanto los pacientes con IT como sin IT, tenían unos valores basales de 4.000 UA/ml. Frente a Der pII, todos los pacientes tenían valores basales de 400 UA/ml. Es decir, que en esta población de pacientes, la exposición alérgica espontánea al alérgeno Der pI induce una respuesta 10

veces mayor que la que produce el alergeno Der pII.

En el grupo de pacientes que no recibieron IT, las cifras de IgG total frente a Der pII no sufren ninguna modificación, dibujándose una línea completamente plana, mientras que la IgG total frente a Der pI y frente al EC describen una curva paralela, deduciéndose que el responsable de esta fase inicial de ascenso en los niveles de IgG frente al EC, a la que se hacía referencia anteriormente, es el alergeno Der pI.

En la Fig 25 se muestran las distintas correlaciones que se establecen entre las IgG. La IgG total específica frente al EC establece su correlación más estrecha con la IgG total frente a Der pI, hecho que confirma lo anteriormente expuesto sobre el principal papel protagonista de este alergeno en el conjunto del extracto completo. Este concepto queda aún más reafirmado por el hecho de que la IgG total frente al EC se correlaciona más con la IgG4 frente a Der pI que con la IgG total frente a Der pII.

Si bien está aceptada la mayor importancia de la IgG4 frente a la IgG1 en la respuesta a la IT, en nuestro estudio este concepto está matizado por el hecho de que la IgG total frente al EC establece una correlación prácticamente igual con IgG4 que con IgG1, como se muestra en la figura ( $r= 0.52$  y  $r= 0.50$ ). Es posible que la explicación se relacione con el hecho de que 12 meses de seguimiento no sean suficientes para poner de manifiesto la mayor respuesta de la IgG4, pues en este tiempo esta subclase no ha llegado aún a su fase de estabilización, y la IgG1 - que sí lo ha hecho - sigue manteniendo altos sus niveles, en parte debido a su mayor vida media ( 29 meses ).

La IgG4 específica para el EC establece una correlación significativa y de signo positivo, tanto con la IgG total frente al EC como con la IgG1 frente al EC, lo cual resulta lógico si teniendo en cuenta el comportamiento de las tres subclases de Ig. Menos lógico, en apariencia, resulta que la IgG4 frente al EC se correlacione más estrechamente con el alérgeno Der pII que con Der pI (  $r=0.81$  vs  $r=0.73$  ). Se pueden plantear varias causas como posibles: en primer lugar, que también en este caso el factor tiempo influya, y quizás después de 12 meses las cifras de IgG4 frente a Der pI pudieran superar a las de IgG4 frente a Der pII. Esta explicación parece poco probable, ya que las cifras de IgG4 frente a Der pI se habían incrementado en este tiempo, como se vio anteriormente, en 26 veces respecto al valor basal. En segundo lugar, la correlación es más estrecha entre la IgG4 dirigida contra el EC y la dirigida contra Der pII porque la dirigida contra Der pI es, con diferencia, la que más aumenta de todas las IgG en el curso de la IT, y las correlaciones son más significativas - estadísticamente - cuanto más parecidos sean los valores comparados. En este sentido, ya se demostró que las curvas de IgG4 frente a EC y frente a Der pII eran paralelas en formas y valores, mientras que la curva de la IgG4 frente a Der pI se separaba de ambas, debido a sus valores constantemente mayores.

Conocer el comportamiento de las distintas subclases de IgG en el curso de la inmunoterapia interesa fundamentalmente por un doble motivo: en primer lugar, porque entender mejor el complejo papel inmunológico que desempeñan los Ac B supone entender mejor

cúales son los mecanismos de acción de la IT; en segundo lugar, y este es el aspecto más importante, porque se puede analizar qué relación existe entre los Ac B y la situación clínica de los pacientes, que se pueda traducir en una utilización más racional de las medidas terapéuticas destinadas a los mismos.

Esta prioridad del aspecto clínico está sobradamente confirmada, como lo demuestra que la Inmunoterapia se concibe como " la administración de cantidades crecientes de un extracto alergénico a un sujeto clínicamente sensible, para mejorar los síntomas asociados a la exposición al alérgeno causal " (92).

Para valorar objetivamente la situación clínica de los pacientes se han utilizado, fundamentalmente, los datos de la historia clínica, actualizada por medio de revisiones periódicas, y los sistemas de puntuación de síntomas, llamados scores de sintomatología. Mediante un cuestionario se recogen los síntomas que el paciente haya presentado ese día, cuantificándolos en una escala sencilla ( normalmente de 0 a 3 puntos ) (166). Otros autores proponen otros sistema de valoración, como el llamado CI ( Clinical Index ), utilizado fundamentalmente en el seguimiento de pacientes con rinitis alérgica, que tiene la ventaja de ser más completo, ya que incluye score diario de síntomas, score diario de síntomas por analogía visual, score de medicación, tests de provocación nasal y tests cutáneos (122). El claro inconveniente que presenta es que no es un sistema fácilmente aplicable, ya que requiere una infraestructura y una dotación de personal de los que no siempre se dispone.

En el presente trabajo, la valoración de la situación clínica se ha llevado a cabo mediante entrevista personal periódica con el

paciente y mediante score diario de síntomas. No se ha realizado score de medicación porque el porcentaje de cumplimiento por parte de los pacientes resultaba escaso, por lo que añadir esa información podría haberse convertido en una fuente de error más que de información.

En las Figs 18, 19 y 20 se muestran los resultados de este estudio respecto a la sintomatología de los pacientes. Como puede observarse, si bien el resultado del score de síntomas oculares muestra una tendencia decreciente en el grupo de pacientes que recibieron IT, no hubo diferencias significativas en la intensidad de estos síntomas entre los dos grupos. De igual manera, los síntomas derivados del asma bronquial muestran una tendencia a disminuir durante los 12 meses en los pacientes con IT, pero esta tendencia no tiene entidad como para establecer una diferencia significativa con los pacientes que no recibieron este tratamiento.

La situación es diferente en el caso de los síntomas nasales, ya que los pacientes que recibieron IT sí obtuvieron una mejoría significativa en su situación clínica, mientras que los pacientes que no la recibieron no obtuvieron mejoría. El hecho de que los pacientes con IT muestren una clara tendencia a disminuir la intensidad de síntomas, no sólo nasales, sino también bronquiales y oculares, plantea la posibilidad de que modificando las condiciones del estudio - sobre todo respecto al tiempo de seguimiento - se podría haber obtenido diferencias significativas también en estos síntomas.

Teniendo en cuenta que 50 de los 57 pacientes de este estudio presentaban síntomas de rinitis ( 8 pacientes sólo

rinitis y 42 pacientes rinitis y asma asociados ) se ha obtenido una mejoría significativa, total o parcial, en la situación clínica del 87.71% de esta población. A esto hay que añadir que, como se observa en el gráfico, los pacientes del grupo con IT con síntomas de rinitis partían de un valor medio del score de 1.35, mientras que para los síntomas pulmonares este valor inicial era de 0.85. Esto resulta en una relación de la intensidad de los síntomas de rinitis/asma de 1.6/1, es decir, que la mejoría significativa se ha conseguido, precisamente, para los síntomas que afectaban a los pacientes de una manera más intensa.

En las Figs 21 y 22 se muestran las correlaciones que se establecen entre los síntomas y las distintas Ig. La sintomatología pulmonar establece una correlación prácticamente igual de estrecha con la IgG total, IgG1 e IgG4 específicas para el EC (  $r = - 0.24$ ,  $r = - 0.21$  y  $r = - 0.22$ , respectivamente ). El signo negativo de la correlación significativa indica que si una variable crece, la otra variable relacionada decrece de una manera significativa y proporcional. Es decir, que si los niveles de la IgG total o de sus subclases crecen, como respuesta al estímulo antigénico del extracto alérgico completo, la intensidad de los síntomas pulmonares decrece.

De igual manera, entre estos síntomas y la IgG4 específica para Der pI existe una correlación significativa y de signo negativo, por lo que un aumento en las cifras de esta Ig va asociado con un descenso en el score de síntomas pulmonares.

Del hecho de que los síntomas se relacionen con el EC y con el alérgeno Der pI, pero no significativamente con el alérgeno Der pII por separado, se pueden deducir dos cosas: por un lado,

la confirmación del alérgeno Der pI, no sólo como el más activo inmunológicamente para inducir la síntesis de Ac B, sino - dentro de los alérgenos considerados en forma pura - como el de mayor traducción clínica; por otro lado, que los procesos que se producen "in vivo", y de los que depende el resultado final del tratamiento hiposensibilizante, están influenciados no sólo por estos alérgenos mayoritarios obtenidos "in vitro", sino por el conjunto de todos los otros alérgenos que forman parte del extracto completo y que, sin ser mayoritarios, tienen su importancia en la respuesta inmune individual.

Los síntomas nasales también se correlacionan significativamente - y con signo negativo - con las tres clases de IgG específicas para el EC, siendo esta correlación prácticamente igual de estrecha con la IgG total, la IgG1 y la IgG4 ( $r = - 0.25$ ,  $r = - 0.17$  y  $r = - 0.27$ , respectivamente). De estas correlaciones se pueden sacar las mismas conclusiones que las planteadas en el caso de la sintomatología pulmonar.

En este caso los dos alérgenos mayoritarios parecen relacionarse de igual manera con la intensidad de los síntomas, ya que los coeficientes de correlación entre IgG4 específica frente al Der pI y frente al Der pII y estos síntomas son de  $r = - 0.19$  y  $r = - 0.21$ , respectivamente. Pero este resultado queda matizado por el hecho de que, a su vez, estos coeficientes son menores que los que se establecen entre la sintomatología nasal y la IgG4 frente al EC, lo cual apoya la idea, apuntada antes, de que el resultado clínico depende, fundamentalmente, de la respuesta del sistema inmune de cada paciente al conjunto de todos los antígenos, mayoritarios o no, que se asemejan más al

tipo de estímulo antigénico al que se somete el paciente por la exposición espontánea a los ácaros en condiciones naturales.

Existen varios aspectos que deben aclararse sobre algunos de los conceptos expresados hasta ahora; en primer lugar, el hecho de que las modificaciones encontradas en los niveles de las IgG se correlacionen significativamente con los cambios producidos en la sintomatología, no significa que sean la causa de las mismas. Es decir, pueden existir dos hechos que sucedan simultáneamente en el curso de un tratamiento, pero que no establezcan una relación causa - efecto, sino que se produzcan como epifenómenos de los cambios inducidos por ese tratamiento. En este sentido, Aalberse (48) también plantea que no existe evidencia de que el aumento de las subclases de IgG que actúan como Ac B sean las responsables de la mejoría clínica obtenida por los pacientes que se someten a IT. Otros muchos autores han encontrado en sus trabajos que la IT específica para *Dermatophagoides* produce un aumento significativo de IgG4 - si bien en ninguno de ellos se cuantifican por separado las IgG4 específicas frente al EC, frente a Der pI y frente a Der pII - pero este aumento no se correlaciona con una mejoría significativa de los síntomas (52), (58), (102), (120), (132), (133), (134).

En un trabajo de Chapman sí se evaluó la respuesta al alérgeno Der pI aislado, pero cuantificando sólo IgG total, no sus subclases (135). Se obtuvieron iguales resultados, es decir, aumento significativo de IgG que no se correlacionaba con el resultado clínico del tratamiento.

En los trabajos de otros autores se encuentra que la IgG

no sólo no se relaciona con una mejor evolución clínica, sino que en los casos en los que se produce un aumento importante de IgG1 y/o IgG4, el resultado de la IT es peor que si éstas no se modificaran (53), (57), (167). Aunque estos trabajos no están realizados sobre pacientes alérgicos a *Dermatophagoides*, sino a pólenes, los análisis que en ellos se hacen sobre la relación entre los Ac B y la eficacia clínica de la IT pueden ser extrapolados a todos los tipos de alergias. De hecho, Etievant (168) estudia un grupo de pacientes con asma por sensibilidad a ácaros sometidos a IT, y considera que el aumento de IgG4 específica producida se traduce en un peor resultado clínico de la IT, en parte debido al potencial papel que estos Ac pueden desempeñar como Ac reagínicos - posibilidad apuntada ya por Stanworth (169) - induciendo manifestaciones como las derivadas de las reacciones de hipersensibilidad inmediata mediadas por IgE.

Además de analizar la IgG y sus subclases, también se ha estudiado qué relación podría existir entre los cambios de la IgE específica y la eficacia clínica de la IT, llegándose a demostrar que tal relación no existe (130), (132).

Otros autores han obtenidos en sus trabajos unos resultados que van en sentido contrario al de los autores a los que se ha hecho mención hasta ahora. Así, Nakawaga (49) estudia un grupo de pacientes alérgicos a ácaros y tratados con IT, comparándolos con otro grupo de pacientes alérgicos sin este tratamiento. Encuentra que la IT resulta en un aumento significativamente mayor de IgG4 y que esto se traduce en un mejor resultado clínico de este tratamiento. En estudios posteriores, el mismo autor

(51), (131) confirma la elevación de los niveles de IgG4 e IgG1 específicas inducida por la IT y establece una relación positiva entre las cifras de IgG4 ( pero no de IgG1 ) y la mejoría obtenida por los pacientes.

Estos resultados, así como los obtenidos por otros autores (55), (94), (122), (130) han originado el concepto de que la monitorización de los niveles de IgG4 específica pudiera utilizarse como método de controlar la respuesta de un paciente al tratamiento hiposensibilizante.

Este concepto está en íntima relación con los objetivos de este estudio, ya que en el mismo se analiza, en primer lugar, cómo se comportan las diferentes subclases de IgG en pacientes sometidos a tratamiento, y en segundo lugar, qué relación puede existir entre estas modificaciones inmunológicas y otros parámetros clínicos, biológicos y funcionales utilizados en la valoración de este tipo de pacientes.

En este sentido, ya se ha señalado que existen diferencias en el comportamiento de las IgG, no sólo considerando las distintas subclases de la misma, sino considerando frente a qué componente alergénico en concreto se han producido. La IgG que más claramente ha respondido al estímulo antigénico de la IT ha sido la IgG4, mientras que en los regímenes de tratamiento que no incluyen IT esta Ig no cambia en el tiempo. Esto es coherente con el hecho de que es la subclase a la que se ha asignado el principal papel como Ac B. La IgG1 y la IgG total, que también se han comportado según lo descrito en otros estudios, han demostrado responder fundamentalmente en las fases iniciales del tratamiento hiposensibilizante.

El alérgeno mayoritario Der pI se ha mostrado como la estructura antigénica con más importancia inmunológica, no sólo en la exposición espontánea, sino en la síntesis de IgG en el curso de la IT. Esto se apoya, en primer lugar, en que la IgG4 específica frente al mismo incrementa sus valores 26 veces en los 12 meses de IT, mientras que la específica para Der pII aumenta 12 veces sus niveles; en segundo lugar, para la IgG1 específica frente a Der pI se encuentran niveles basales ( que reflejan la situación derivada de la exposición espontánea ) mayores que los de IgG1 frente a Der pII; en tercer lugar, las cifras basales de IgG total contra Der pI son 10 veces mayores que las de la misma IgG dirigida contra Der pII; por último, a los 12 meses de IT, la IgG total específicamente dirigida contra Der pI alcanza unos niveles que son 14 veces mayores que los dirigidos contra Der pII.

En relación sobre qué significado clínico pueden tener estos cambios inmunológicos, de los resultados obtenidos se desprende que, para los síntomas que más trascendencia clínica pueden tener, los derivados del asma bronquial, no ha habido una respuesta significativamente mejor en aquellos pacientes que recibieron IT y en los cuales dichos cambios inmunológicos se produjeron. Las modificaciones en los niveles de IgG tampoco se han traducido en una mejoría significativa de los síntomas oculares de los pacientes que recibieron IT, a pesar de la tendencia hacia la mejoría encontrada en ambos casos. Sin embargo, estos resultados negativos podrían estar matizados por el hecho de que los 12 meses de seguimiento resultan insuficientes para valorar la respuesta clínica completa a la IT,

como lo sugiere las claras tendencias decrecientes obtenidas en todos los scores de síntomas. Estudios muy recientes (139) analizan la eficacia clínica de un programa de IT a los tres años de haber administrado este tratamiento, considerando poco valorables plazos menores de tiempo. Además, se han establecido, como hemos visto, correlaciones significativas entre la intensidad de los síntomas y los niveles de algunas IgG, por lo que - dado que el aumento de las mismas parece continuar después de los 12 meses de seguimiento - sería interesante continuar la observación de estos pacientes durante un plazo mayor de tiempo. De esta manera se podrían analizar no sólo los cambios en la sintomatología de los pacientes, sino en los tests que nos permiten objetivar las reacciones de hipersensibilidad inmediata, y en otros estudios "in vitro" que son una parte esencial en la valoración de estos pacientes. En este sentido, como se ha visto anteriormente, las IgG han demostrado relacionarse significativamente con las cifras de eosinófilos en sangre periférica o los resultados obtenidos en los tests cutáneos, por lo que es plantable que si dichas IgG continúan cambiando como resultado de la IT, estos cambios tengan su equivalente en los producidos en estos tests, siendo todo ello reflejo de una respuesta favorable del sistema inmune del paciente al tratamiento hiposensibilizante.

## CONCLUSIONES

(1) LOS NIVELES DE EOSINOFILOS SE CORRELACIONAN SIGNIFICATIVAMENTE CON LAS CIFRAS DE IgG1 ESPECIFICA PARA EL ALERGENO DER PI. TAMBIEN LO HACEN CON LAS IgG1 ESPECIFICAMENTE DIRIGIDAS CONTRA EL EC Y CONTRA DER PII.

(2) LOS NIVELES DE EOSINOFILOS SE CORRELACIONAN SIGNIFICATIVAMENTE CON LA PD20 DEL TEST DE METACOLINA.

(3) LOS TESTS CUTANEOS ESTABLECEN UNA CORRELACION SIGNIFICATIVA CON LAS CIFRAS DE IgG TOTAL E IgG1 ESPECIFICAS FRENTE AL EC. TAMBIEN SE CORRELACIONAN CON LA IgG4 ESPECIFICA FRENTE AL EC Y FRENTE A DER PI.

(4) LAS CIFRAS DE IgE ESPECIFICAMENTE DIRIGIDA CONTRA EL EC, ASI COMO CONTRA DER PI Y DER PII, NO SE MODIFICAN SIGNIFICATIVAMENTE DURANTE EL PERIODO DE SEGUIMIENTO, NI EN EL GRUPO DE PACIENTES CON IT, NI EN EL GRUPO SIN IT, NI COMPARANDO AMBOS GRUPOS ENTRE SI.

(5) LOS PACIENTES TRATADOS CON IT MUESTRAN UNOS NIVELES DE IgG1 ( DIRIGIDA CONTRA EL EC Y LOS ALERGENOS DER PI Y DER PII ) SIGNIFICATIVAMENTE SUPERIORES QUE LOS PACIENTES QUE NO HAN RECIBIDO ESTE TRATAMIENTO.

(6) EN EL GRUPO DE PACIENTES SIN IT LAS CIFRAS DE IgG4 ESPECIFICAS PARA EL, PARA DER PI Y PARA DER PII PERMANECEN ESTABLES DURANTE EL SEGUIMIENTO.

EN EL GRUPO DE LOS PACIENTES TRATADOS CON IT LOS TRES SUBTIPOS DE IgG4 AUMENTAN SIGNIFICATIVA E ININTERRUMPIDAMENTE DURANTE TODO EL PERIODO DE SEGUIMIENTO.

(7) A PARTIR DEL TERCER MES, LOS PACIENTES CON IT PRESENTAN NIVELES DE LOS TRES SUBTIPOS DE IgG TOTAL SIGNIFICATIVAMENTE MAYORES QUE LOS PACIENTES SIN IT.

(8) LA IgG TOTAL FRENTE AL EC ESTABLECE LA CORRELACION MAS ESTRECHA CON LA IgG TOTAL FRENTE A DER PI.

LAS CORRELACIONES MAS SIGNIFICATIVAS DE LA IgG4 ESPECIFICA PARA EL EC SON LAS QUE ESTABLECE CON LA IgG TOTAL FRENTE AL EC, CON LA IgG1 ESPECIFICA PARA EL EC Y CON LA IgG4 ESPECIFICA PARA DER PII.

(9) DEL CONJUNTO DE ALERGENOS ADMINISTRADOS EN UN TRATAMIENTO HIPOSENSIBILIZANTE, EL MAS EFICAZ PARA INDUCIR LA SINTESIS DE AC B ES EL MAYORITARIO DER PI.

(10) LA INTENSIDAD DE LOS SINTOMAS PULMONARES Y NASALES SE CORRELACIONA SIGNIFICATIVAMENTE CON LOS NIVELES DE IgG TOTAL, DE IgG1 Y DE IgG4 ESPECIFICAS FRENTE AL EC Y AL DER PI.

(11) En los pacientes alérgicos tratados con IT la cifra de eosinófilos en sangre periférica tiende a disminuir, sin que llegue a haber diferencias significativas entre este grupo y el de los pacientes tratados sin IT.

(12) El tamaño de las pápulas cutáneas, obtenidas con las tres concentraciones del extracto, no es significativamente diferente a lo largo del seguimiento en ninguno de los dos grupos.

(13) La dosis de metacolina que define la PD20 no cambia de manera significativa en ninguno de los dos grupos, si bien los pacientes tratados con IT muestran una tendencia creciente a partir del tercer mes.

(14) No hay diferencias significativas en los resultados obtenidos con el test de esfuerzo entre los pacientes con y los pacientes sin IT.

(15) La IgG4 es la subclase de IgG que más aumenta a lo largo de los 12 meses de seguimiento.

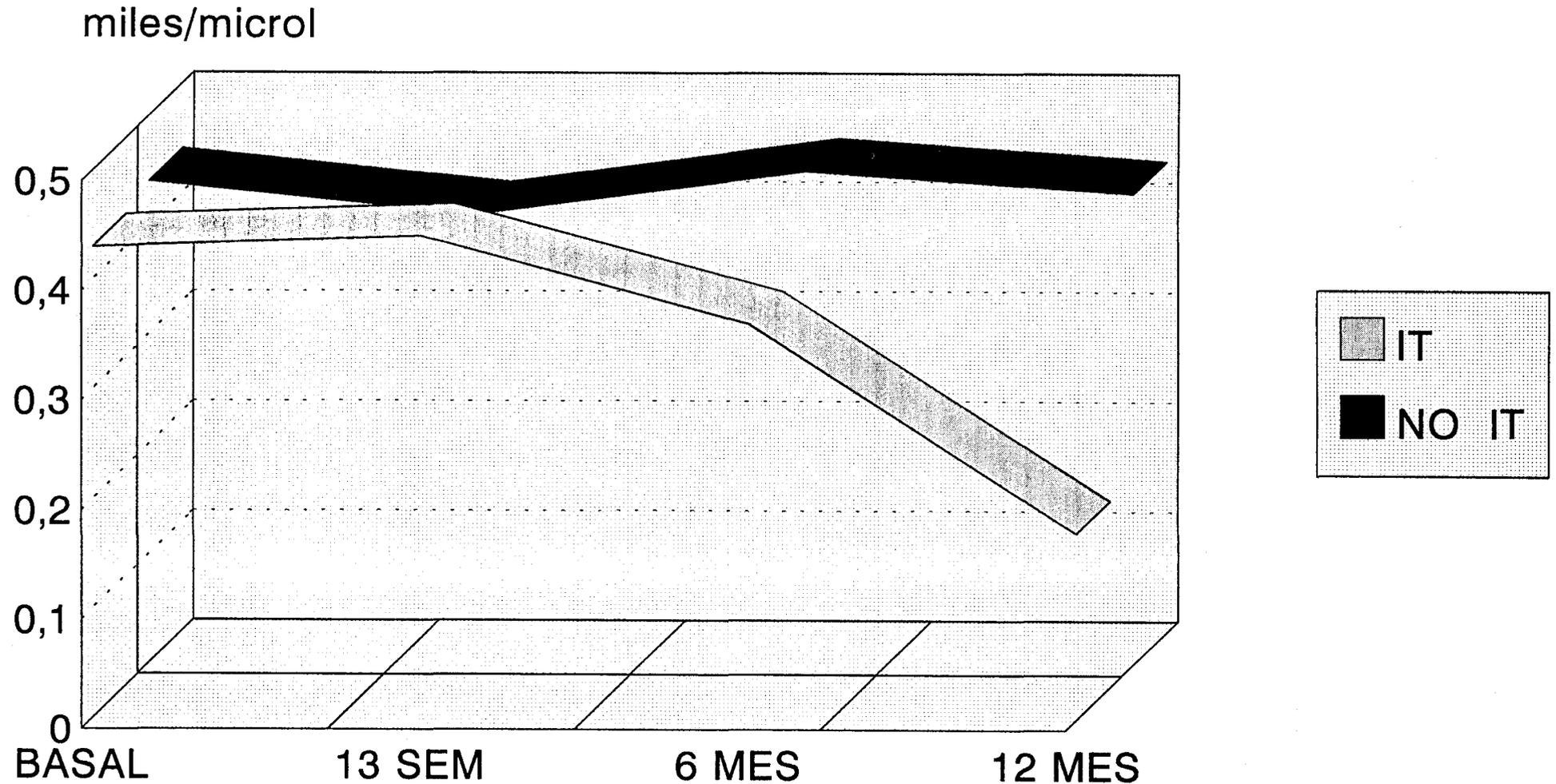
(16) Los pacientes que recibieron IT no presentan una evolución significativamente mejor de sus síntomas oculares y pulmonares que los pacientes sin IT. Sí hay una mejoría significativa de los síntomas nasales en el grupo de pacientes con IT.

(17) Para la valoración de la eficacia de un tratamiento hiposensibilizante parece insuficiente un periodo de seguimiento de 12 meses.

# EOSINOFILOS

Sangre

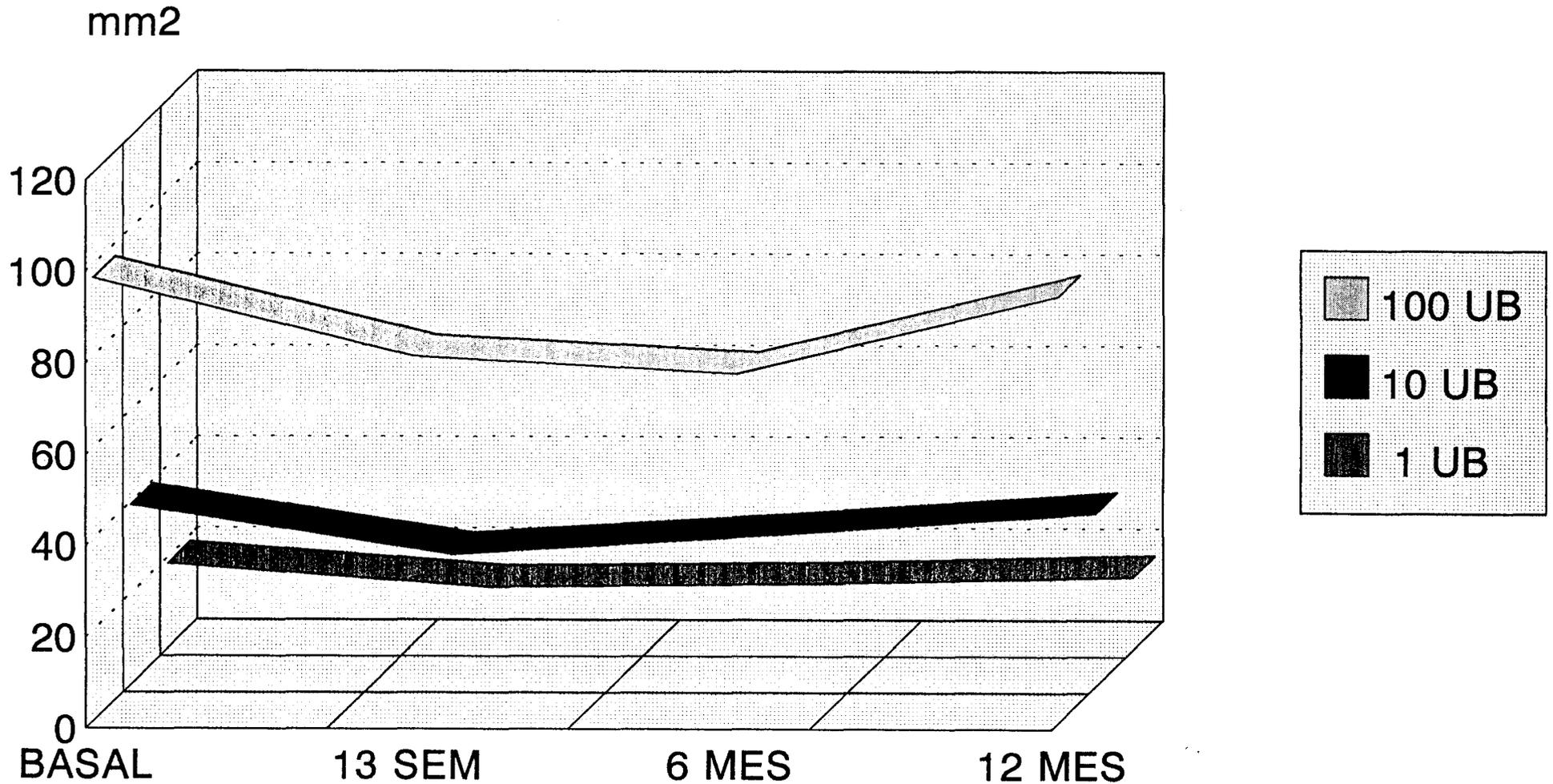
Fig. 1



# PRICK TEST

IT

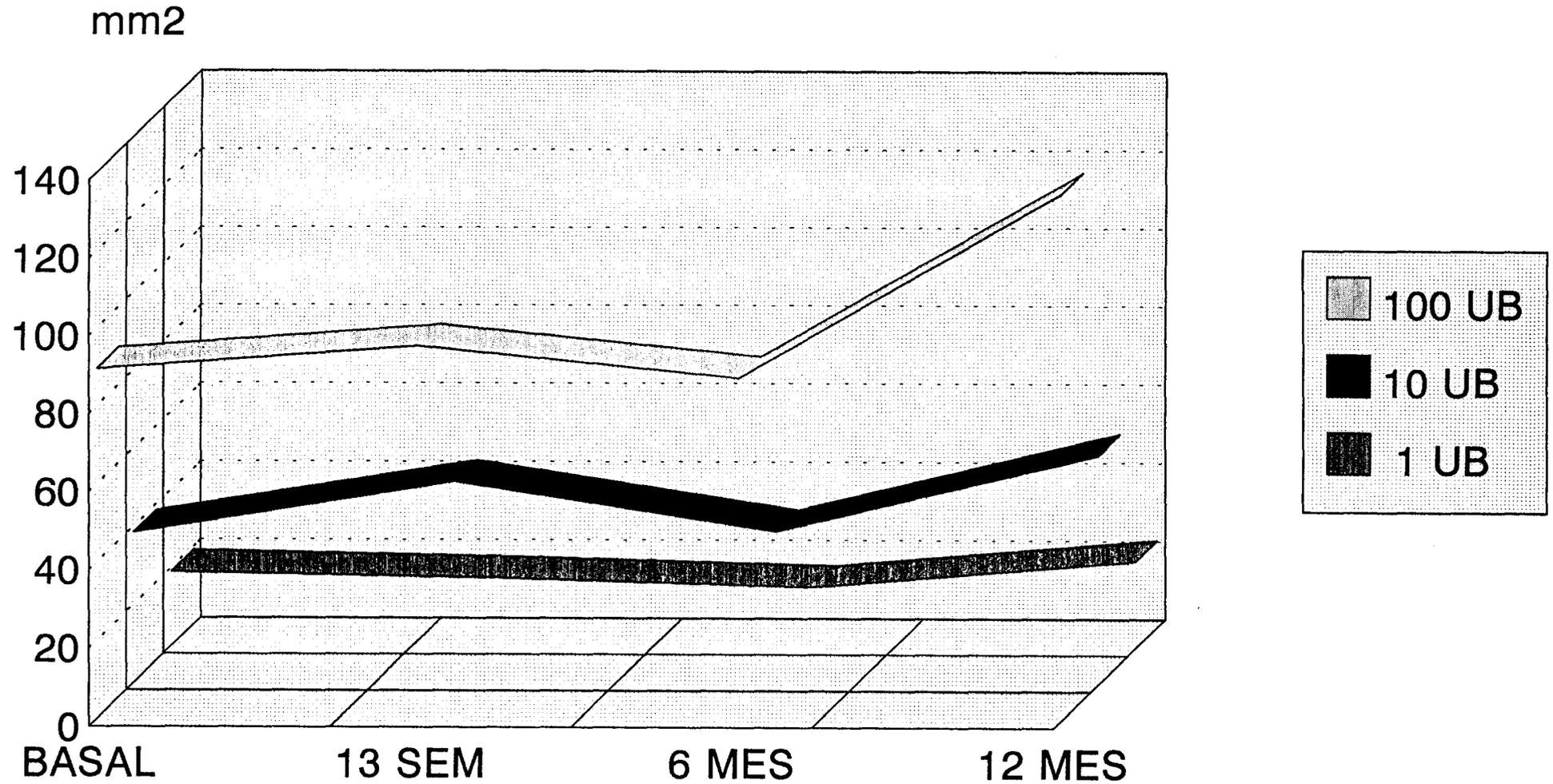
Fig. 2



# PRICK TEST

NO IT

Fig. 3

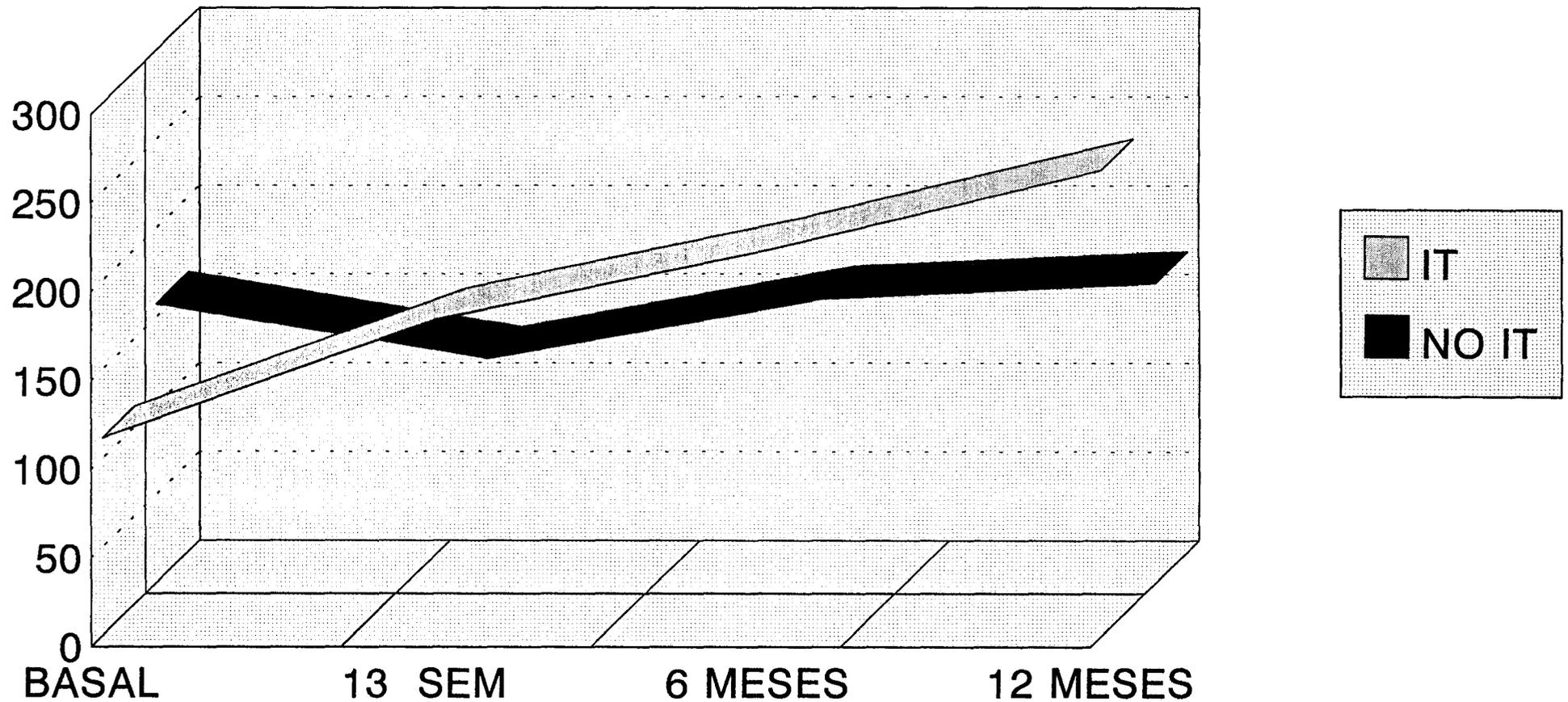


# TEST METACOLINA

PD20 FEV1

Fig. 4

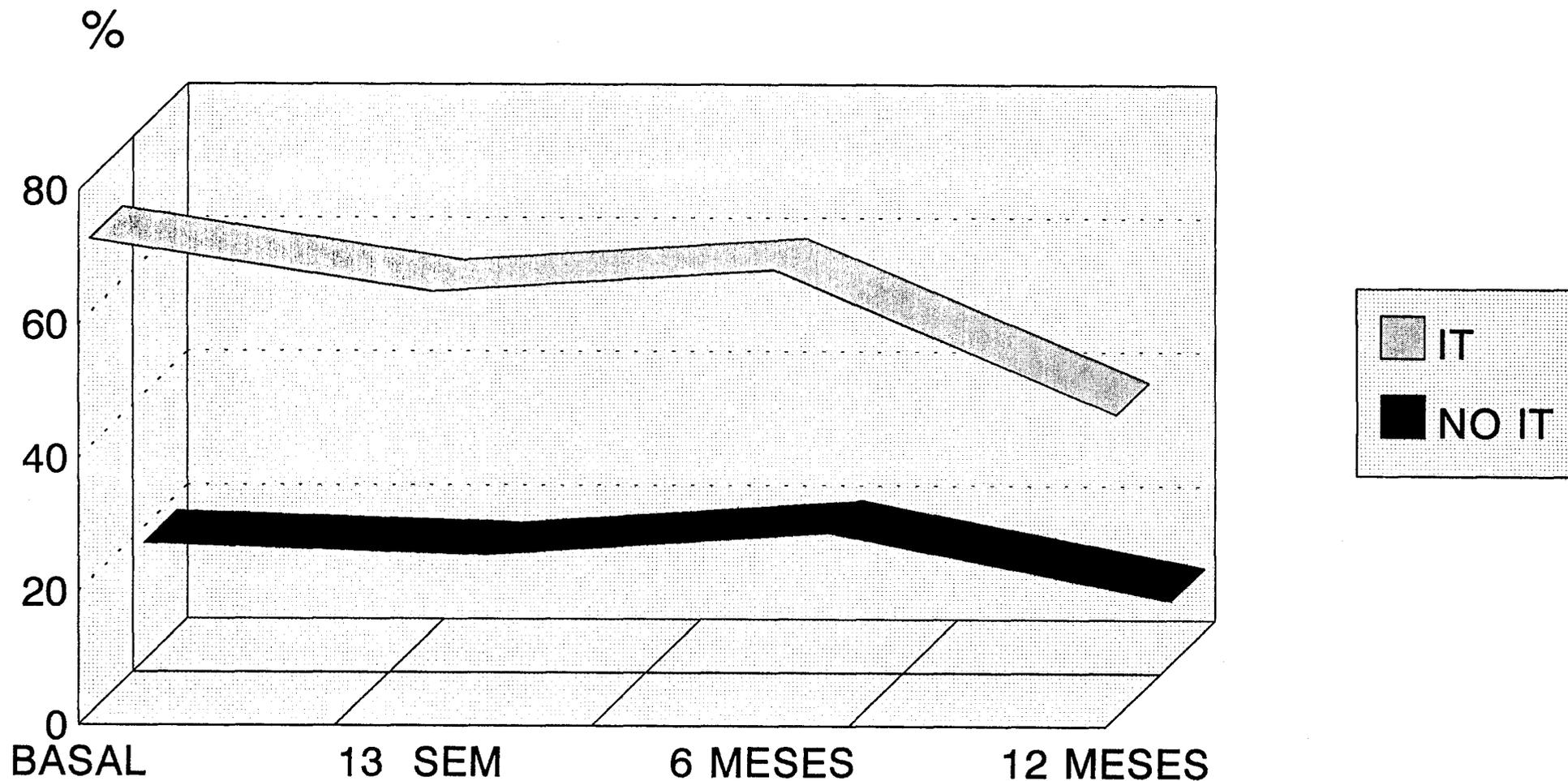
UI acum.



# TEST ESFUERZO

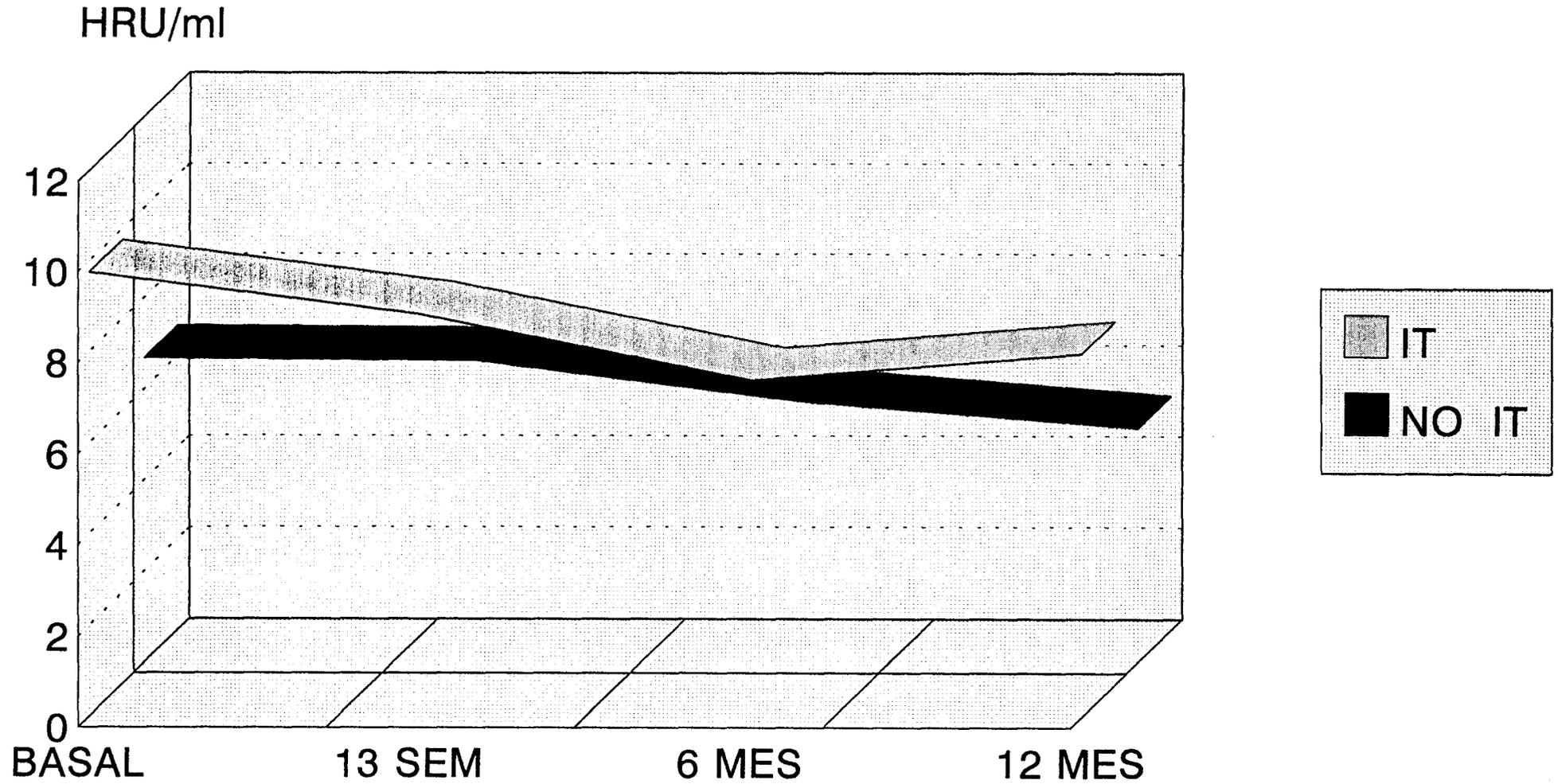
↑ Raw

Fig. 5



# IgE EC

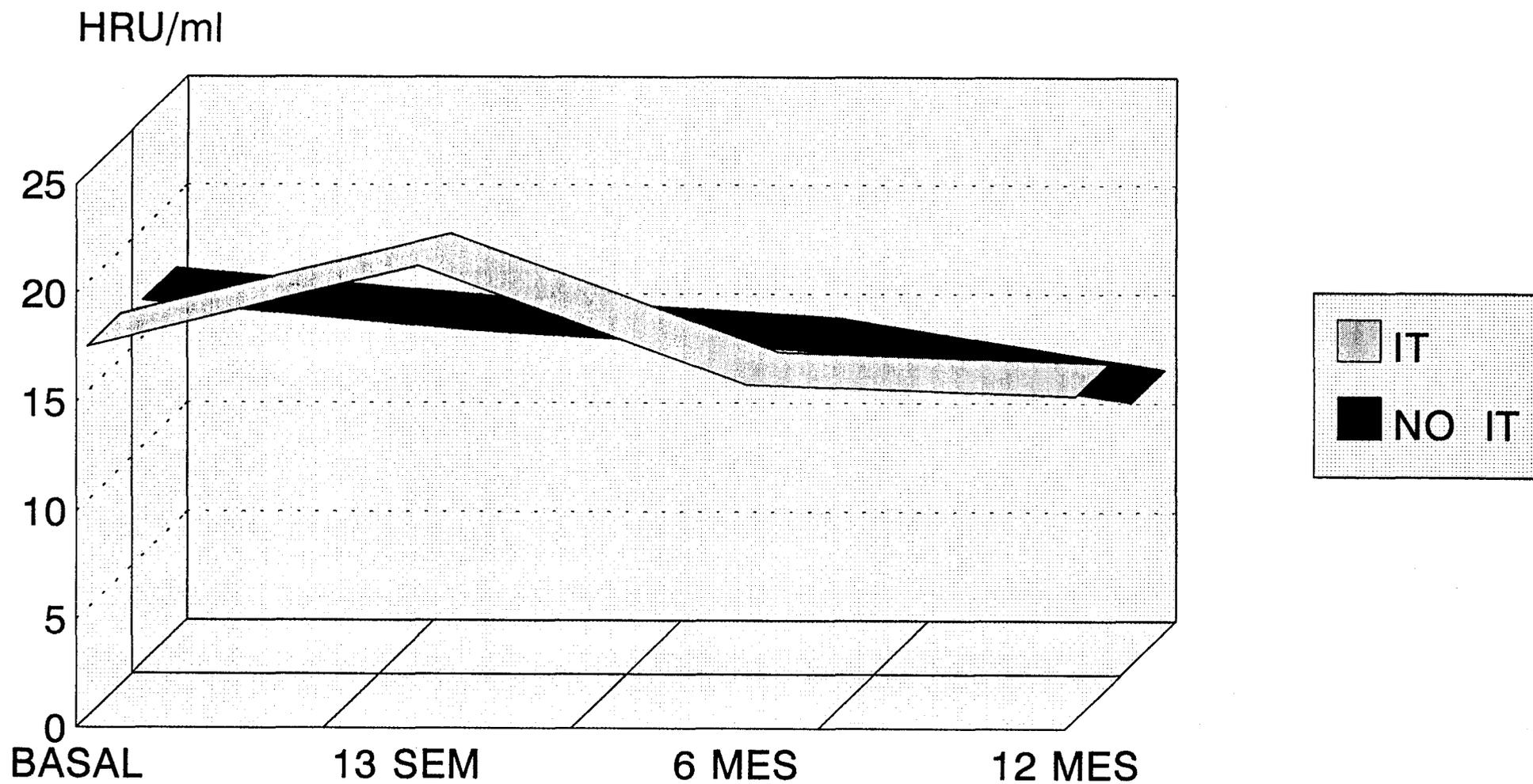
**Fig. 6**



# IgE

Der pl

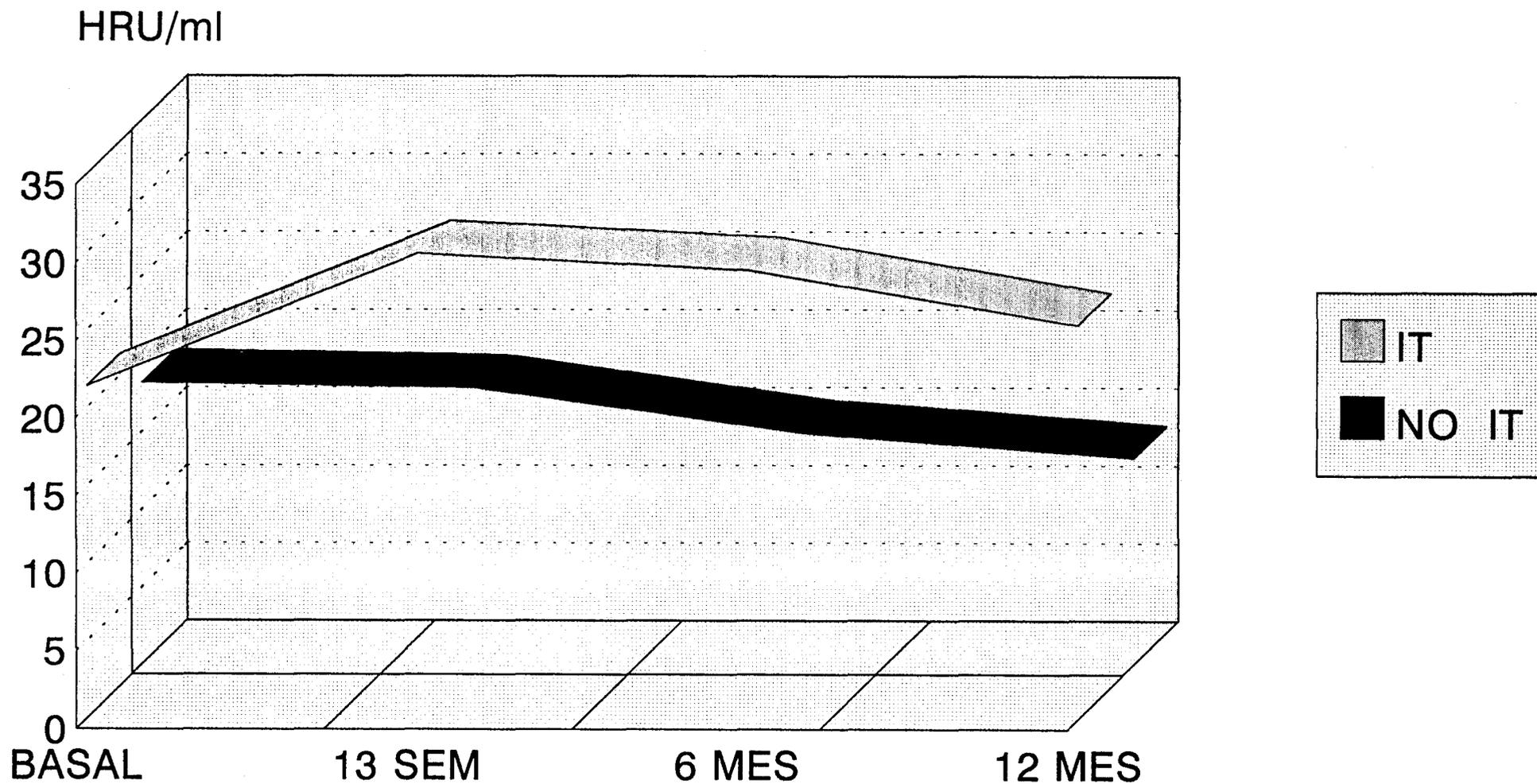
Fig. 7



# IgE

Der pll

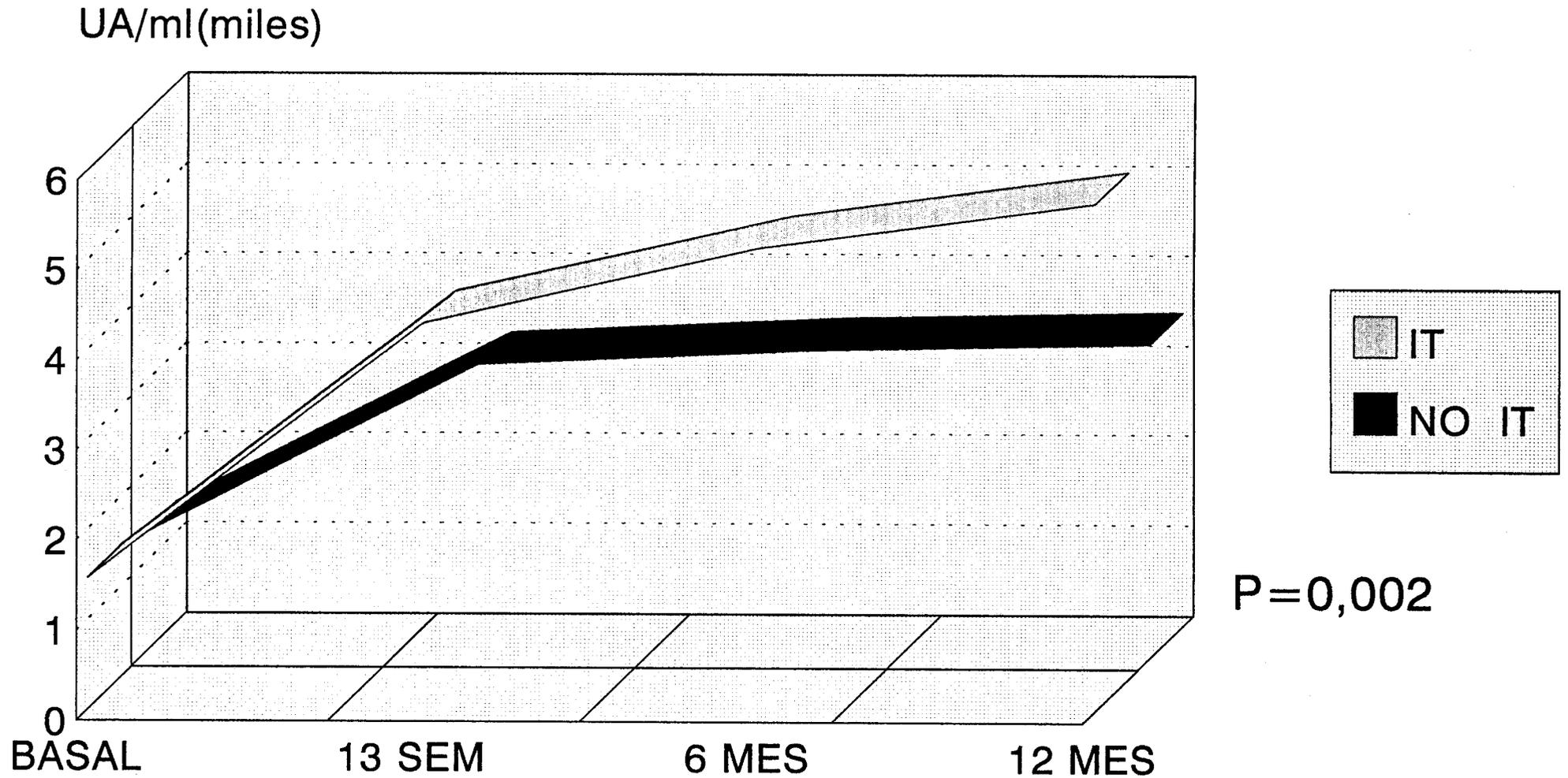
Fig. 8



# Ig GT

EC

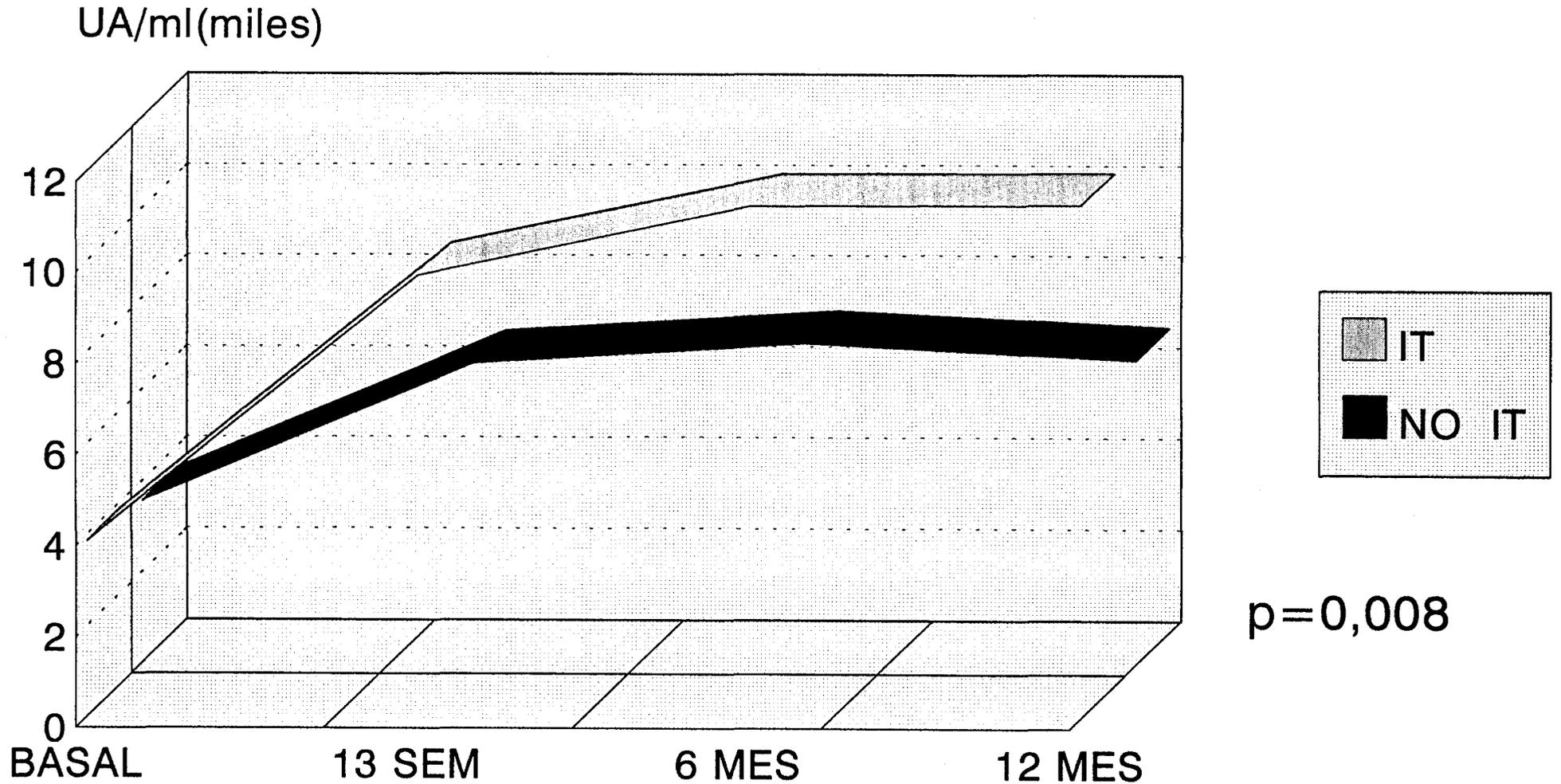
**Fig. 9**



# Ig GT

Der pl

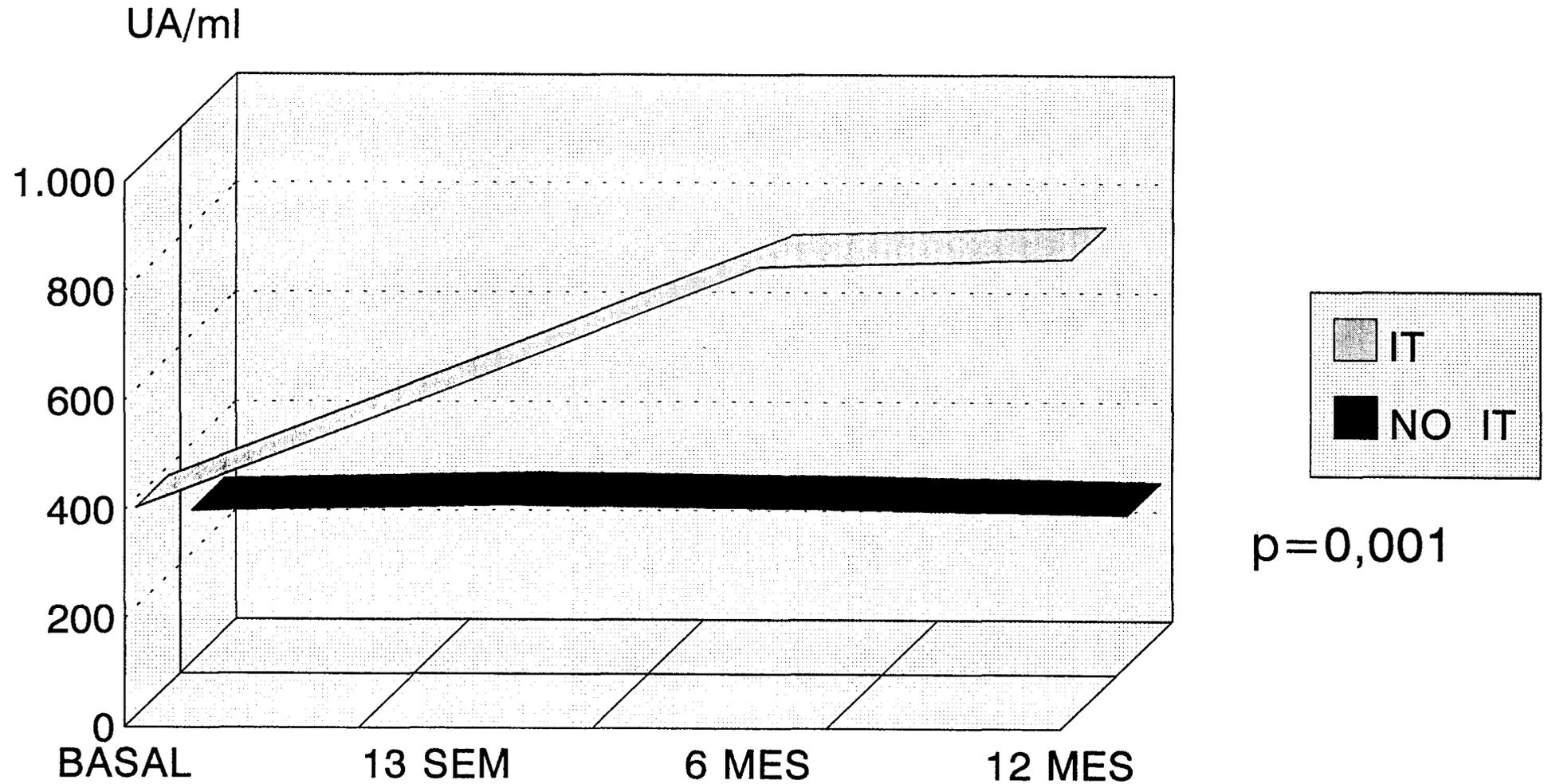
Fig. 10



# Ig GT

Der pll

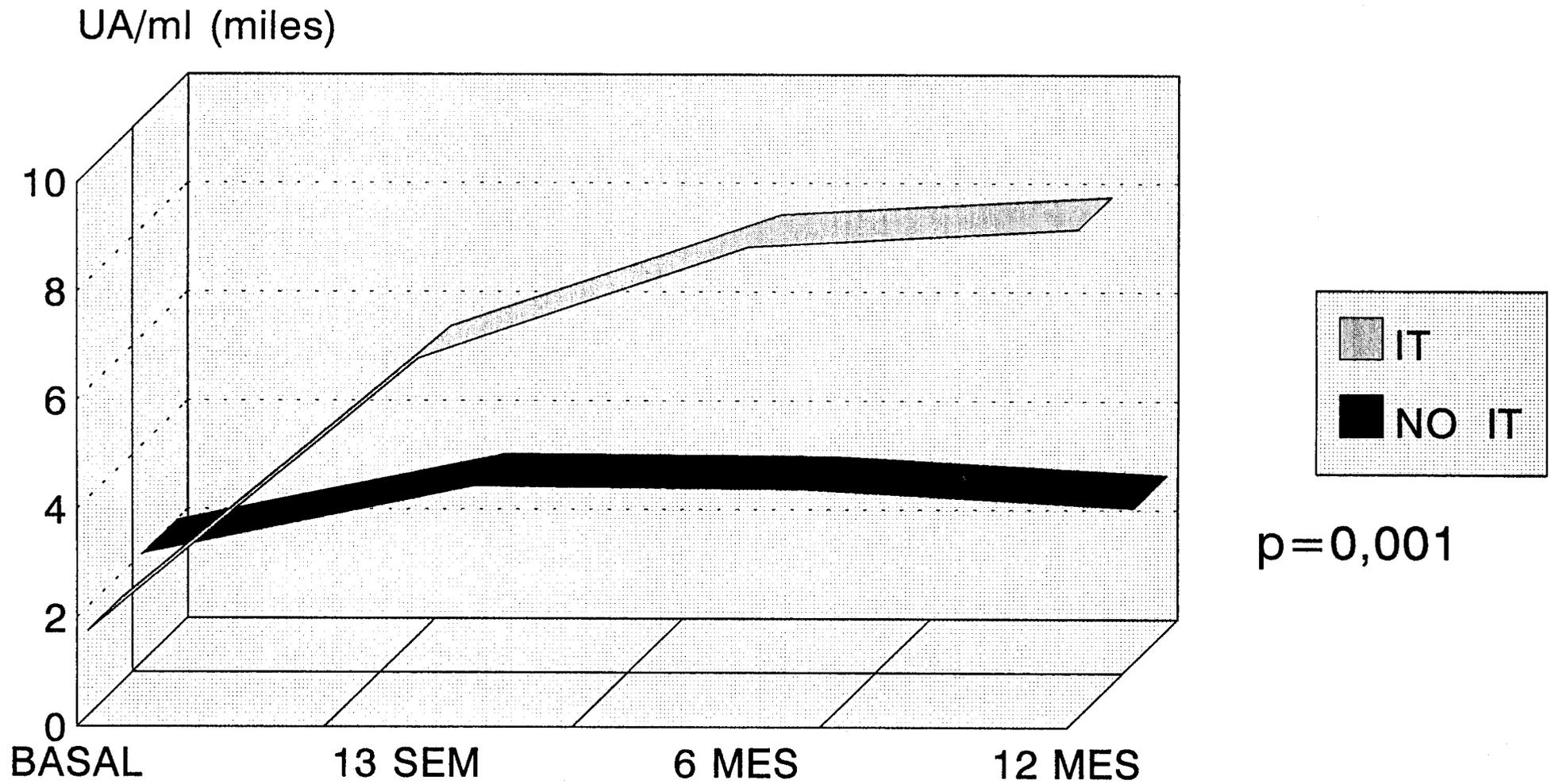
Fig. 11



# Ig G1

EC

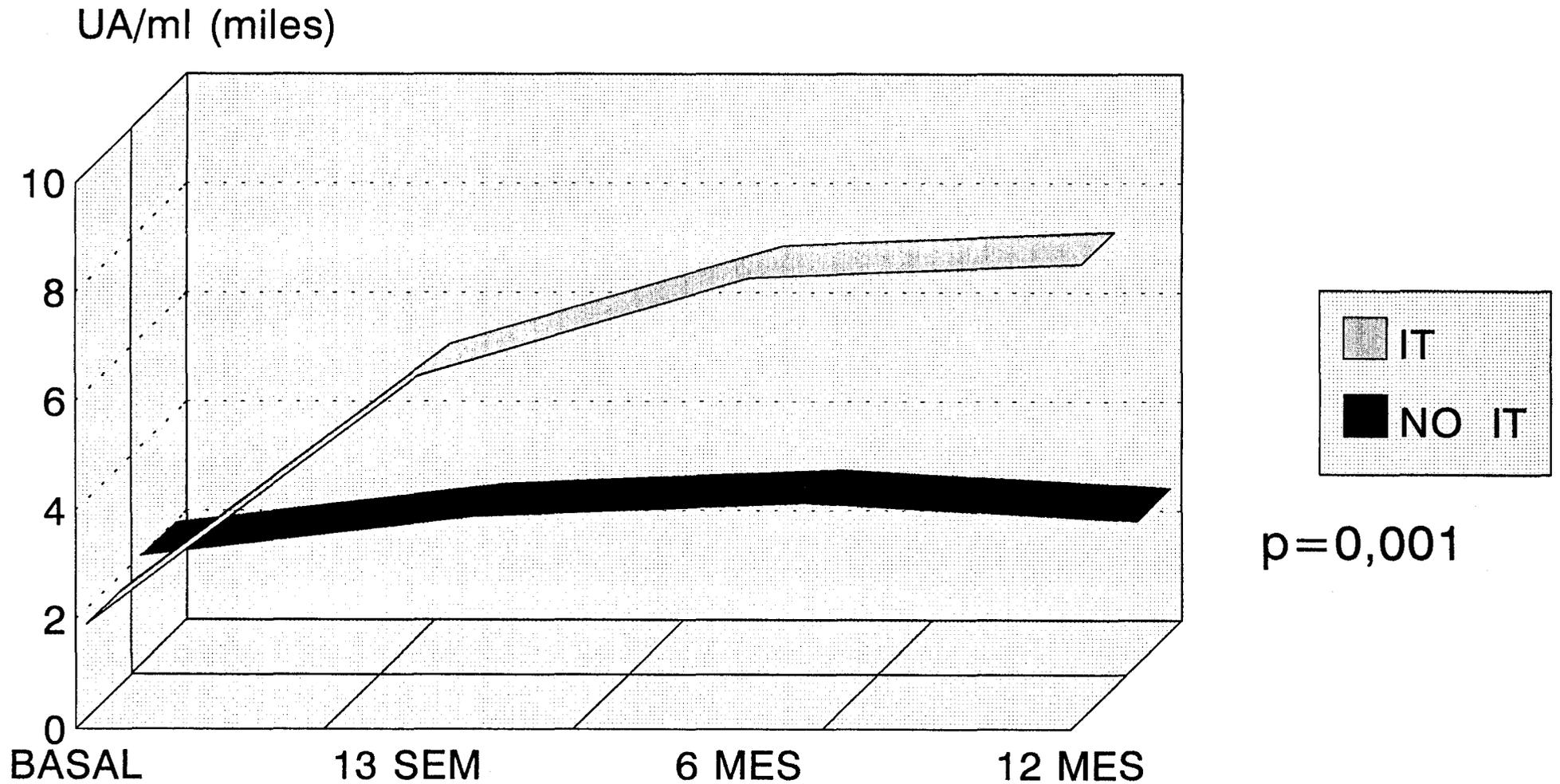
Fig. 12



# Ig G1

Der pl

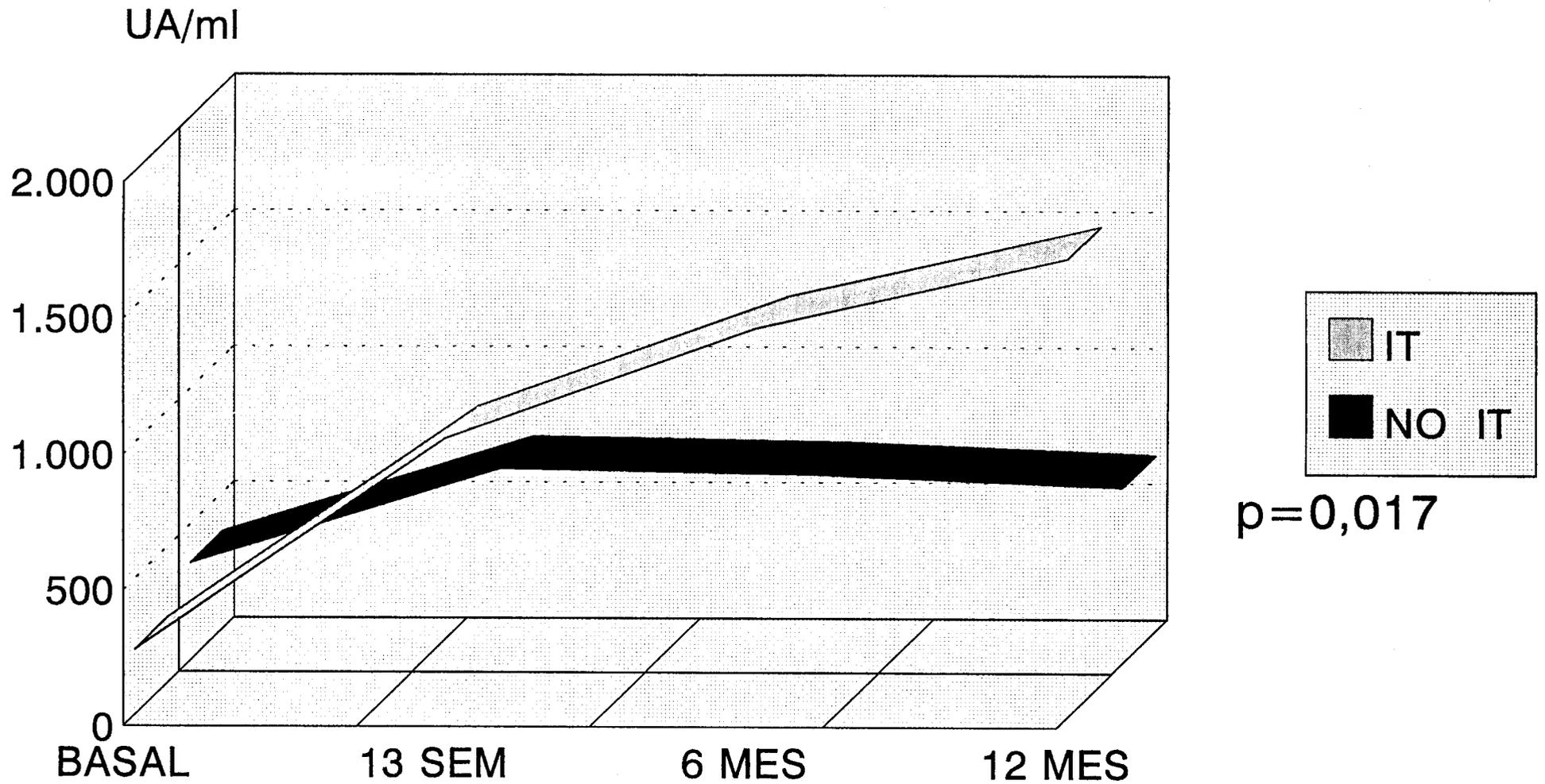
Fig. 13



# Ig G1

Der pll

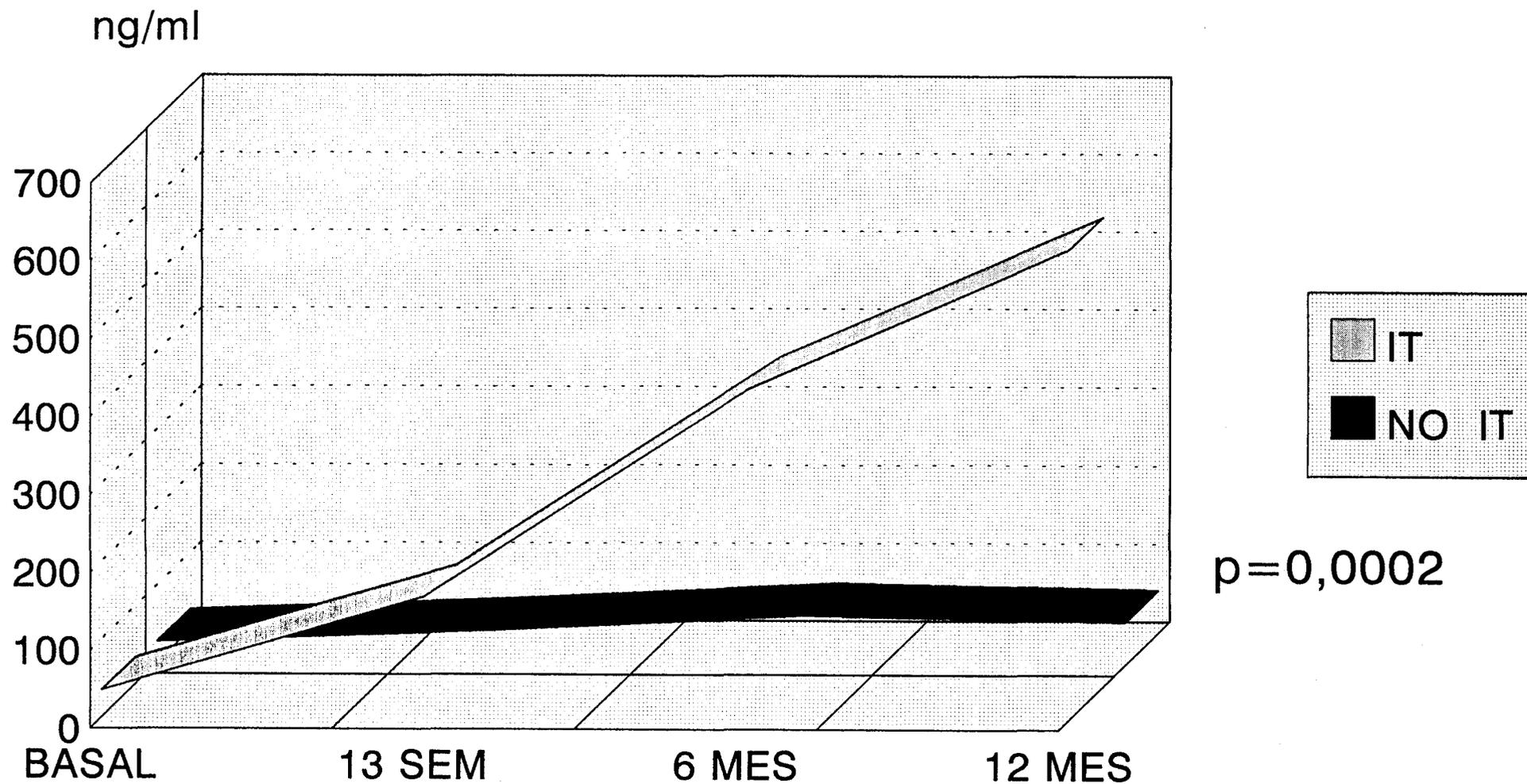
Fig. 14



# Ig G4

EC

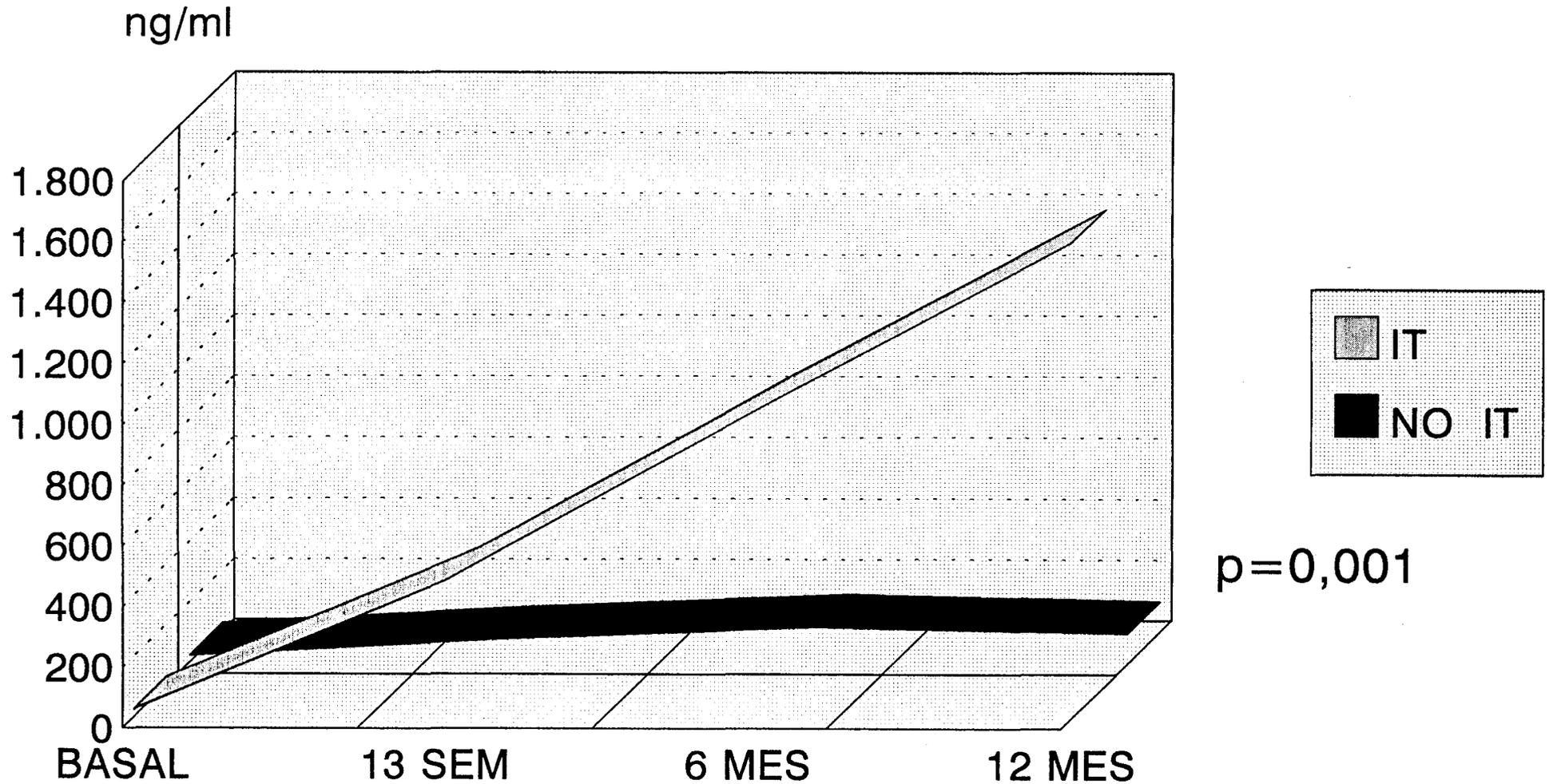
Fig. 15



# Ig G4

Der pl

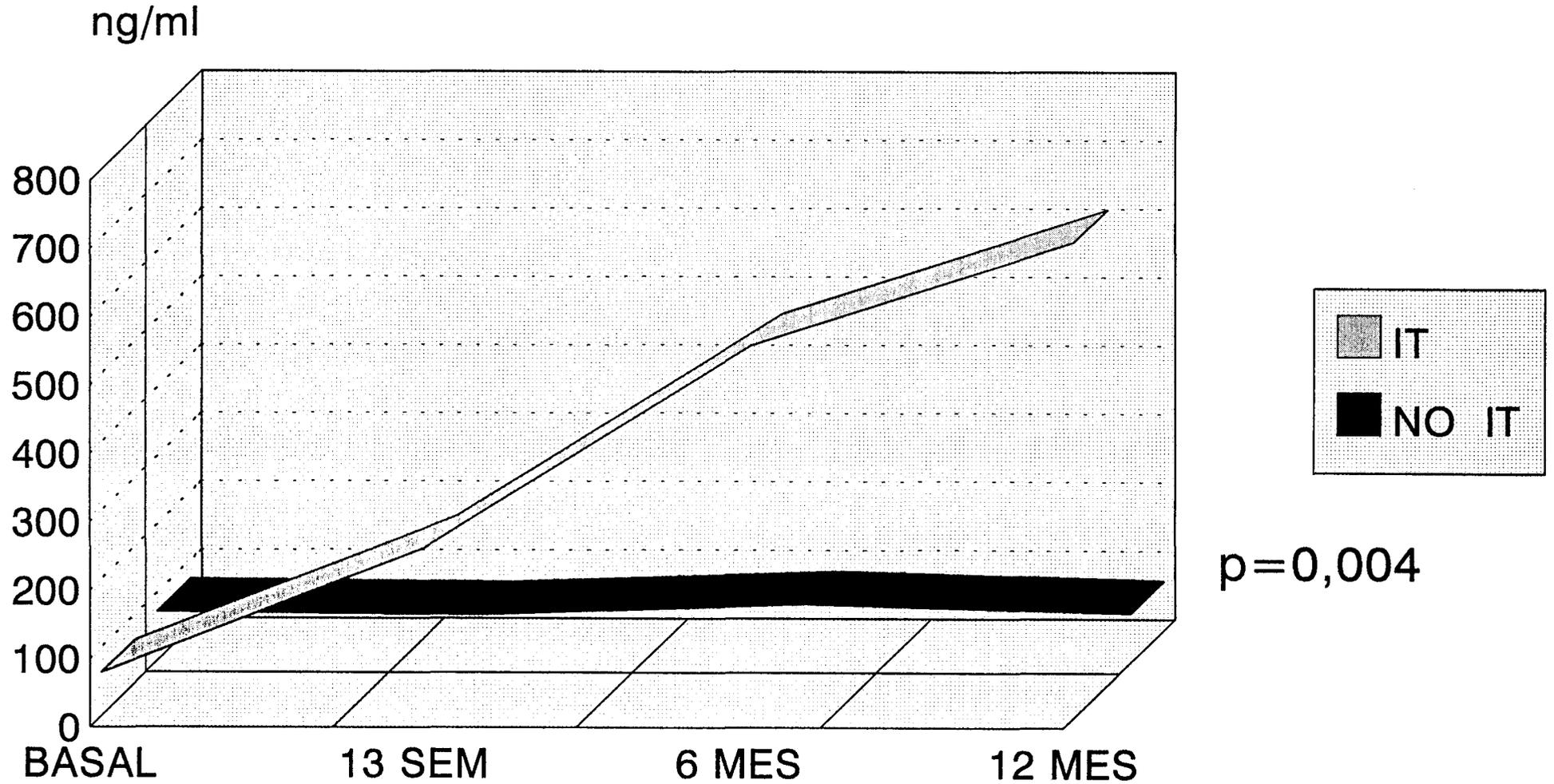
Fig. 16



# Ig G4

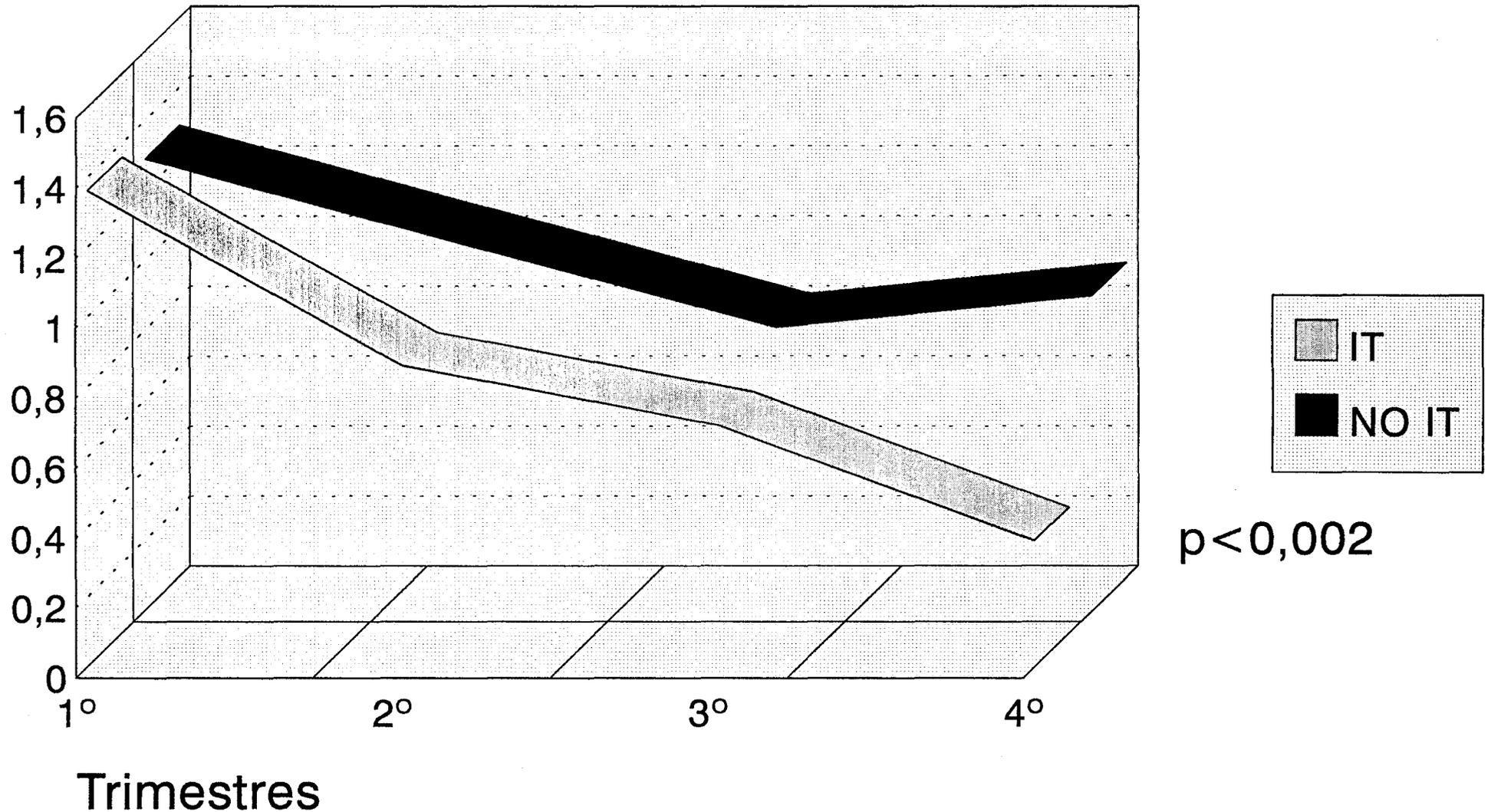
Der pII

Fig. 17



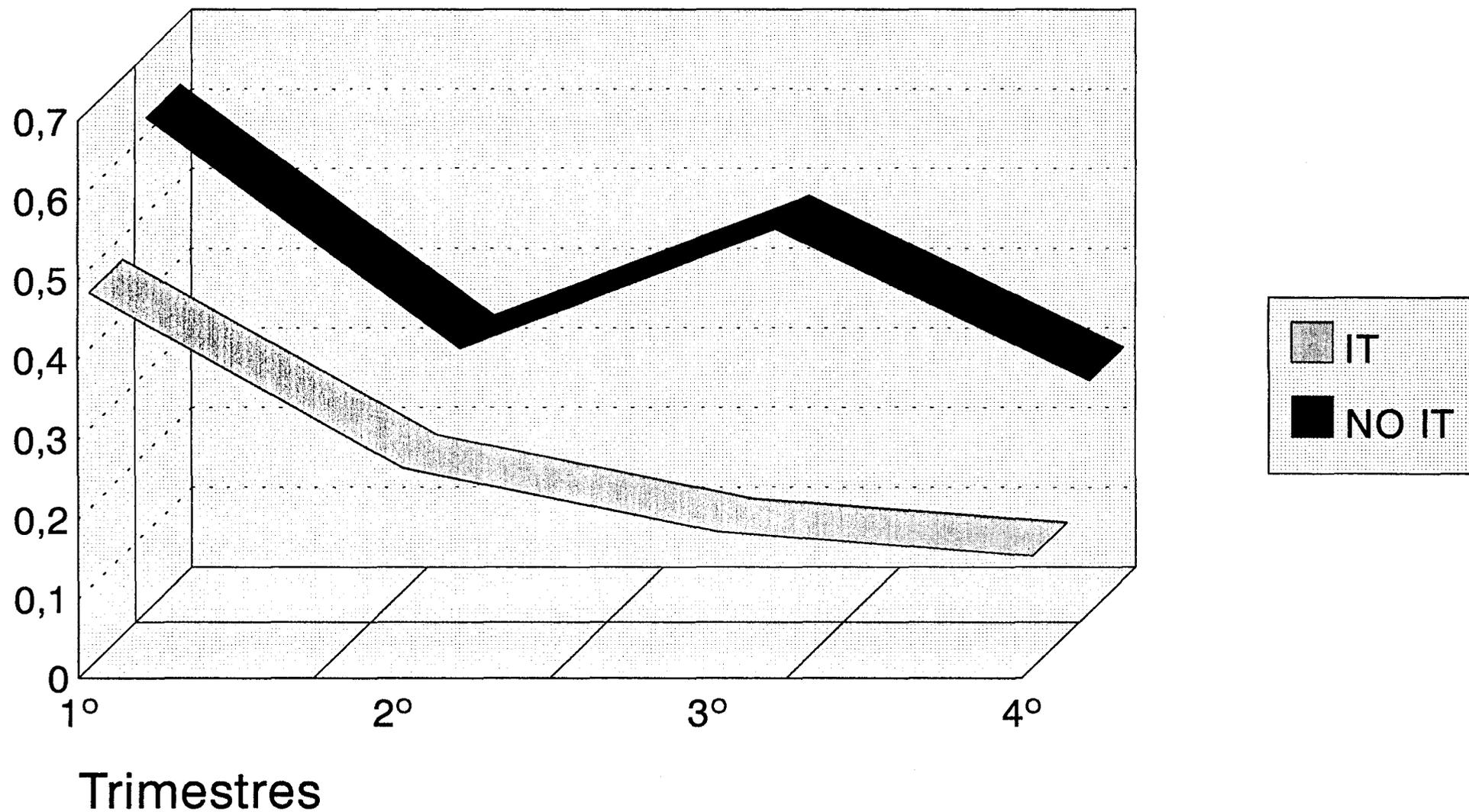
# Síntomas Nasales

Fig. 18



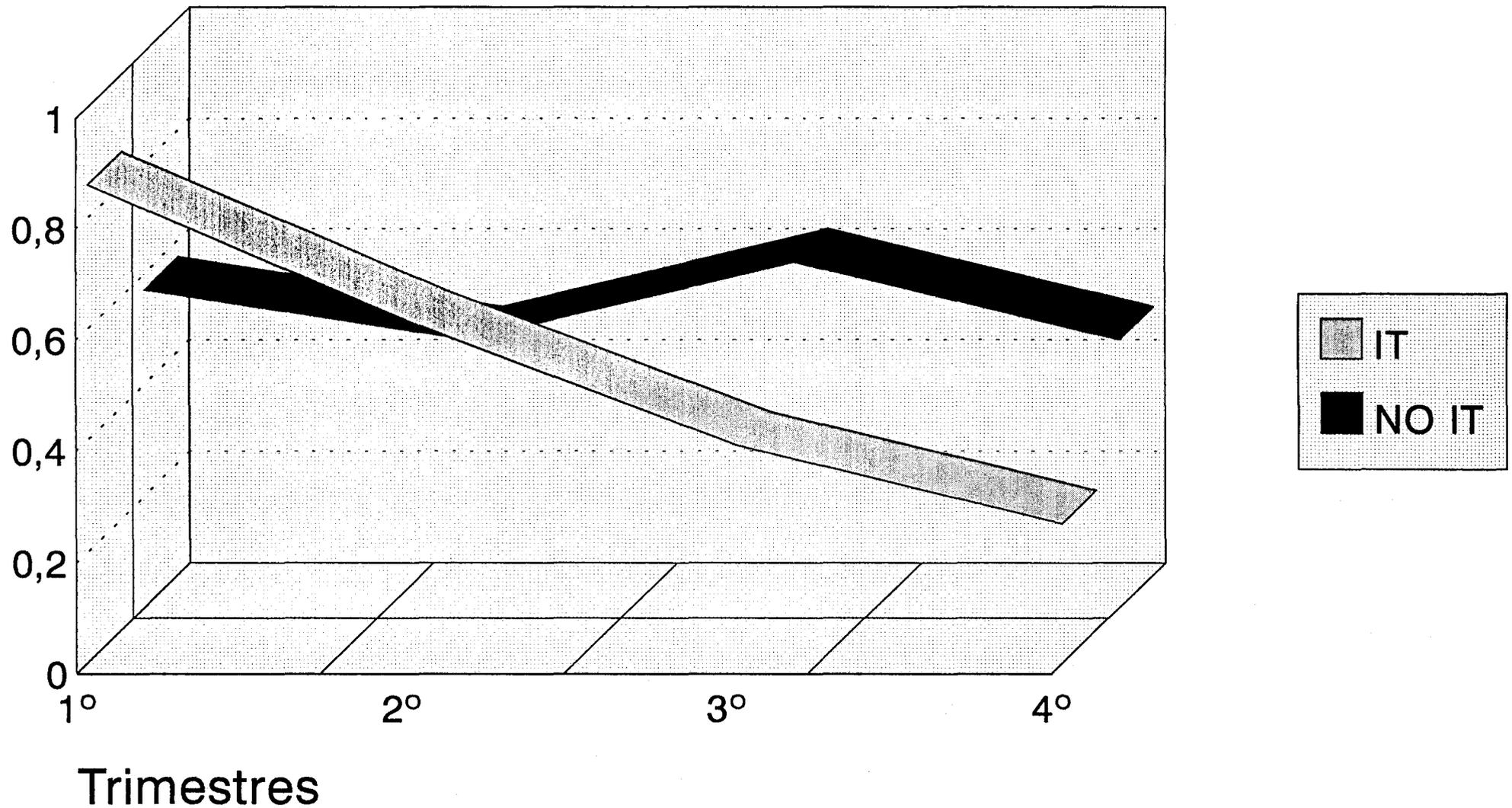
# Síntomas Oculares

Fig. 19



# Síntomas pulmonares

Fig. 20



# CORRELACIONES

Fig. 21

SINTOMAS NASALES	r	p
IgG 4 EC	-0,27	<0,001
IgG T EC	-0,25	<0,002
IgG 4 Dp II	-0,21	<0,01
IgG 4 Dp I	-0,19	<0,02
IgG 1 EC	-0,17	<0,03

# CORRELACIONES

Fig. 22

SINTOMAS PULMONARES	r	p
IgG T EC	-0,24	<0,003
IgG 4 EC	-0,22	<0,007
IgG 4 Dp I	-0,22	<0,007
IgG 1 EC	-0,21	<0,009

# CORRELACIONES

Fig. 23

EOSINOFILOS	r	p
PD 20	-0,25	<0,002
IgG 1 EC	0,21	<0,01
IgG 1 Dp I	0,52	<0,002
IgG 1 Dp II	0,32	<0,04

# CORRELACIONES

Fig. 24

PRICK 100 UB	r	p
IgG T EC	-0,22	<0,008
IgG 4 Dp I	-0,21	<0,01
IgG 4 EC	-0,19	<0,03
IgG 1 EC	-0,18	<0,02

# CORRELACIONES

Fig. 25

IgG T EC	r	p	IgG 1 EC	r	p	IgG 4 EC	r	p
IgG T Dp I	0,78	<0,001	IgG T EC	0,50	<0,001	IgG 4 Dp II	0,81	<0,001
IgG 4 Dp I	0,55	<0,001	IgG 4 EC	0,47	<0,001	IgG 4 Dp I	0,73	<0,001
IgG 4 EC	0,52	<0,001	IgG 4 Dp I	0,44	<0,001	IgG T EC	0,52	<0,001
IgG T Dp II	0,51	<0,001	IgG T Dp I	0,42	<0,001	IgG 1 EC	0,47	<0,001

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Farreras Rozman. Ed Doyma. Medicina Interna, 1988. Vol II (2431-2446).
- 2.- Farreras Rozman. Ed Doyma. Medicina Interna, 1988. Vol II (2411-2430).
- 3.- Reth M. Regulation of B-cell development by pre-B-cell receptors. *Current Biology* 1991; 1:198-199.
- 4.- Lanier LL, Philips JG. Evidence for three types of human cytotoxic lymphocytes. *Immunol Today* 1986; 7:132-134.
- 5.- Klein J. *Immunology*. Massachusetts:Blackwell Scientific Publications Inc 1990.
- 6.- Harding CV. Pathways of antigen processing. *Curr Opin Immunol* 1991; 3:3-9.
- 7.- Katz P, Fauci AS. Activation of human B lymphocytes:VII. The regulatory effect of cyclic adenosine monophosphate on human B cell activation. *J Allergy Clin Immunol* 1978; 61:334.
- 8.- Möller G (ed): T and B lymphocytes in humans. *Transplant Rev*, Vol 16. Copenhagen, 1973.

## Bibliografia

---

- 9.- McConnell I, Munro A, Waldman H. The Immune System, 2nd ed. Boston, Massachusetts, Blackwell Scientific, 1981.
- 10.- Dimitri A, Fauci AS. Activation of human lymphocytes:IX. Modulation of antibody production by products of activated macrophages. J Immunol, 1978; 120:1818.
- 11.- Roitt I. Essential immunology. (7<sup>a</sup> ed) Oxford: Blackwell. 1991;35-103.
- 12.- Farreras Rozman. Ed Doyma. Medicina Interna, 1988. Vol II (2446-2461).
- 13.- Waldmann TA, Durm M, Broder S et al. Role of suppressor T cells in pathogenesis of common variable hypogammaglobulinaemia. Lancet, 1974; 2:609.
- 14.- Gell PGH, Coombs RRA, Lachmann PJ. Clinical Aspects Immunology, 3rd ed. Oxford, Blackwell,1975.
- 15.- Loos M. The classical complement pathway: Mechanism of activation of the first component by antigen-antibody complexes. Prog Allergy, 1982;30:135.
- 16.- Muller-Eberhard HJ. Chemistry and function of the complement system. Hosp Pract 12, 1977; N°8:33.
- 17.- Frank MM, fries LF. The role of complement in inflammation

## Bibliografia

---

and phagocytosis. Immunology Today 1991; 5:79-95.

18.- Roberts RC, Moore VL. Immunopathogenesis of hypersensitivity pneumonitis. Am Rev Respir Dis, 1977; 116:1075.

19.- Deckert T. Autoimmunologic aspects of diabetes mellitus. Acta Med Scand (Suppl.476), 1967; 182:29.

20.- Von Pirquet C. Allergie. Munch Med Wochenschr, 1906; 53:1457.

21.- Coca AF, Grove EF. Studies in hypersensitiveness:XII. A study of atopic reagins. J Immunol, 1925; 10:445.

22.- Ishizaka A, Ishizaka T. Immunology of IgE mediated hypersensitivity. In Middleton E, Reed CE, Ellis EJ (eds): Allergy Principles and Practice, 2nd ed. p 52. St Louis, CV Mosby, 1983.

23.- Waldman TA, Iio A, Ogawa M et al. The metabolism of IgE. Studies in normal individuals and in a patient with IgE myeloma. J Immunol, 1976; 117.

24.- Sato K, Nakazawa T. Changes related with age in production of antibodies IgE specific. Ann Allergy, 1992; 68/6:520-524.

25.- Tada T. Regulation of reaginic antibody formation in

## Bibliografía

---

animals. Prog Allergy, 1975; 19:122.

26.- Ishizaka K. Regulation of IgE antibody formation in vitro. In Ishizaka K, Dayton DH (eds): The Biological Role of the Immunoglobulin E System, p. 103. Washington, DC, US Government Printing Office, 1972.

27.- Delespesse G, Sarfati M, Heusser C. IgE synthesis. Current Opinion in Immunology, 1990; 2:506-512.

28.- Romagnani S, del prete G, Maggi E et al. Role of interleukins in induction and regulation of human IgE synthesis. Clin Immunol Immunopathol, 1989; 50:S13-S23.

29.- Finkelman FD, Holmes J, Katona IM et al. Lymphokine control of in vivo immunoglobulin isotype selection. Annu Rev Immunol 1990; 8:303-333.

30.- Snapper CM, Paul WE. B cell stimulatory factor-1 (interleukin-4) prepares resting murine B cells to secrete IgG1 upon subsequent stimulation with bacterial lipopolysaccharide. J Immunol, 1987; 139:10-17.

31.- Finkelman FD, Katona IM, Mosmann TR, Coffman RL. Interferon gamma regulates the isotypes of immunoglobulin secreted during in vivo humoral response. J Immunol, 1988; 140:1022-1027.

32.- Suemura M, Kikutani H, Sugiyama K et al. Significado del

receptor soluble Fcell (RcFceII/CD23) en suero y posible aplicación del RcFcell en la prevención de las reacciones alérgicas. *Allergy Proceedins*, 1991; 5(6):12-20 (ed. esp.)

33.- Burd PR, Rogers HW, Gordon JR et al. Interleukin 3 dependent and independent mas cells stimulated with IgE and antigen express multiple cytokines. *J Exp Med*, 1989; 170:245-257.

34.- Sandford AJ, Shirakawa T, Moffatt MF et al. Localisation of atopy and beta subunit of high-affinity IgE receptor (FceRI) on chromosome 11q. *Lancet*, 1993; 341/8841:332-334.

35.- Wierenga EA, Snoek M, de Groot et al. Evidence for compartmentalization of functional subsets of CD4+ T lymphocytes in atopic patients. *J Immunol*, 1990; 144:4651-4656.

36.- Johnston SL, Holgate ST. Cellular and chemical mediators. Their roles in allergic diseases. *Current Opinion in Immunology*, 1990; 2:513-524.

37.- Katz DH. Recent studies on the regulation of IgE antibody synthesis in experimental animals and man. *Immunology* 1980; 41:1.

38.- Ishizata K. Regulation of IgE synthesis. *Ann Rev Immunol*, 1984; 2:159.

39.- De las Marinas MD, Sanz M<sup>a</sup>L, Diéguez I, Oehling A. Enhancing factor of IgE synthesis. Modifications in its production in the

## Bibliografía

---

course of long-term immunotherapy. J Invest Allergol Clin Immunol, 1993; 3:1.

40.- De las Marinas MD, Sanz M<sup>a</sup>L, Diéguez I, Oehling A. Suppressor factor of IgE synthesis. Modifications in its production in the course of long-term immunotherapy. J Invest Allergol Clin Immunol, 1993; 3:2.

41.- Chirazzi N, Fox DA, Katz DH. Hapten specific IgE antibody responses in mice. VII: Conversion of IgE "non responder" strains to IgE "responders" by elimination of suppressor T cell activity. J Immunol, 1977; 118:48.

42.- Magnuson CGM. Cord serum IgE in relation to family history and as predictor of atopic disease in early infancy. Allergy, 1988; 43:241-251.

43.- Cookson WO, Hopkin JM. Dominant inheritance of atopic immunoglobulin E responsiveness. Lancet, 1988; 1:86-88.

44.- Cooke RA, Barnard JH, Hebard S, Stull A. serological evidence of immunity with coexisting sensitization in a type of human allergy ( hay fever ). J Exp Med, 1935; 62:733.

45.- Lichtenstein LM, Holtzman NA, Burnett LS. A quantitative in vitro study of the chromatographic distribution and immunoglobulin characteristics of human blocking antibody. J Immunol, 1968; 101:312.

## Bibliografia

---

- 46.- Zavalza V, Stajner A. Immunologic changes during specific treatment of the atopic state. Allergen binding capacity of atopic sera in the course of hyposensitization treatment. *Acta Allergol*, 1970; 25:1-10.
- 47.- Devey ME, Wilson DV, Wheler AW. The IgG subclasses of antibodies to grasspollen allergens produced in hayfever patients during hyposensitization. *Clin Allergy*, 1976; 6:227-236.
- 48.- Aalberse RC, van der Gaag, van Leeuwen J. Serologic aspects of IgG4 antibodies. I. Prolonged immunization results in an IgG4-restricted response. *J Immunol*, 1983; 130:722.
- 49.- Nakagawa T, Miyamoto T. The Role of IgG4 as Blocking Antibodies in Asthmatics and Bee Keepers. *Int Archs Allergy appl. Immunol*, 1985;77:204-205.
- 50.- Aalberse RC, Aalbers M. The relation of IgG antibodies to atopic allergy. European Academy of Allergology and Clinical Immunology, Funchal, Portugal, May 13-15, 1982.
- 51.- Nakagawa T. The role of IgG subclass antibodies in the clinical response to immunotherapy in the allergic disease. *Clinical and Experimental Allergy*, 1991; 21:289-296.
- 52.- Birkner T, Rumpold H, Jarolim E et al. Evaluation of immunotherapy-induced changes in specific IgE, IgG and IgG subclasses in birch pollen allergic patients by means of

immunoblotting. *Allergy*, 1990; 45:418-426.

53.- Djurup R, Osterballe O. IgG subclass antibody response in grass pollen-allergic patients undergoing specific immunotherapy. *Allergy*, 1985; 40:433-441.

54.- García BE, Sanz M<sup>a</sup>L, Wong E, Oehling A. Effect of immunotherapy on antigen-specific IgG4 in asthmatics sensitive to *D. pteronyssinus*. *Allergol. Immunopathol*, 1988;16:379-383.

55.- Tsai LC, Tang RB, Hung MW, Chang ZN. Changes in the levels of house dust mite specific IgG4 during immunotherapy in asthmatic children. *Clinical and Experimental Allergy*, 1990; 21:367-372.

56.- van der Zee JS, van Swieten P, Aalberse RC. Inhibition of complement activation by IgG4 antibodies. *Clin Exp Immunol*, 1986; 64:415-422.

57.- Djurup R, Malling HJ. High IgG4 antibody level is associated with failure of immunotherapy with inhalant allergens. *Clin Allergy*, 1987; 17:459-468.

58.- Rowntree S, Platts-Mills TAE, Cogswell JJ, Mitchell EB. A subclass IgG4-specific antigen-binding radioimmunoassay (RIA): Comparasion between IgG and IgG4 antibodies to food and inhaled antigens in adult atopic dermatitis after desensitization treatment and during development of antibody responses in

children. *J Allergy Clin Immunol*, 1987; 80:622-630.

59.- Rowntree S, Cogswell JJ, Platts-Mills TAE, Mitchell EB. The development of IgE and IgG antibodies to food and inhalant allergens in children at risk of allergic disease. *Arch Dis Child*, 1985; 60:727.

60.- Voorhorst R, Spieksma F, Varekamp H, Leupen MJ. The house dust mite and the allergens it produces: identity with the house dust allergen. *J Allergy*, 1967; 39:325.

61.- Dekker H. Asthma und milben. *Munch med Wschr* 1928; 75:515-516.

62.- Vervolet D, Penaud A, Razzouk H et al. Altitude and house dust mites. *J Allergy Clin Immunol*, 1982; 69:290.

63.- Moyer DB, Nelson HS, Arlian LG. House dust mites in Colorado. *Ann Allergy*, 1985; 55:680-682.

64.- Kivity S, Asher S, Soferman R et al. Mite asthma in childhood: A study of the relationship between exposure to house dust mites and disease activity. *J Allergy Clin Immunol*, 1993; 91:844-849.

65.- Carreira J. Cuantificación de alergenos en Unidades de Masa. Ed. *Alergia e Inmunología Abelló*, 1992.

## Bibliografía

---

66.- Chapman MD, Platts-Mills TAE. Purification and characterization of the major allergen from *Dermatophagoides pteronyssinus* - antigen P1. *J Immunol*, 1980; 125:587-592.

67.- Le Mao J, Dandea JP, Rabillon J, et al. Comparasion of antigenic and allergenic composition of two partially purified extracts from *D. farinae* and *D. pteronyssinus* mite cultures. *J Allergy Clin Immunol*, 1983; 71:588-596.

68.- González R, Zapatero L, Caravaca F et al. Identification of soybean proteins responsible for respiratory allergies. *Int Archs Allergy appl Immunol*, 1991; 95:53.

69.- Platts-Mills TAE, Hayden ML, Chapman MD, Wilkins SR. Seasonal variation in dust mite and grass-pollen allergens in dust from the houses of patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 1987; 79:78-91.

70.- The Control of the dust mites and other domestic allergens. A position paper. Workshop meetings of the BSACI Working Group on Control of Domestic Allergens, Southampon June 21st and July 29th, 1991.

71.- Tuft LA. Importance of inhalant allergens in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol*, 1949; 12:211.

72.- Dermatología. Tomo I, capt 7. pg 141-150. M. Armijo, F. Camacho. Ed Aula Médica. Vol 1 Edi 2ª, 1991. Ediciones CEA.

## Bibliografia

---

- 73.- Rawle FR, Mitchell EB, Platts-Mills TAE. T cells responses to the major allergen from the house dust mite *D. pteronyssinus*, antigen P1: comparasion of patients with asthma, atopic dermatitis and perennial rhinitis. *J Immunol*, 1984; 133:195-201.
- 74.- Platts-Mills TAE, Heymann PW, Longbottom JL, Wilkins SR. Airborne allergens associated with asthma: particle sizes carrying dust mite and rat allergens measured with a cascade impactor. *J Allergy Clin Immunol*, 1986; 77:850-857.
- 75.- International workshop. Dust mite allergens and asthma-a worldwide problem. *J Allergy Clin Immunol*, 1989;83:416-422.
- 76.- Feldman-Mushsam B, MumCuoglu Y, Osterovich T. A survey of house dust mite ( pyroglyphidae and cheyletidae in Israel ). *J Med Entomol*, 1988;22:663-669.
- 77.- Smith TF, Kelly LB, Heyman PW et al. Natural exposure and serum antibodies to house dust mite of mite-allergic children with asthma in Atlanta. *J Allergy Clin Immunol*, 1985; 76:782-788.
- 78.- Koresgaard J. Mite asthma and resideny: a case control study on the impact of exposure to house dust mite in dwellings. *Am Rev Respir Dis*, 1983; 128:231-235.
- 79.- Platts-Mills TAE, Pollart SM, Luczynska CM, Chapman MD. The role of indoor allergens in asthma. In: Picler WJ et al, eds. *Progress in allergy and clinical immunology*. Toronto, Hogrefe-

Hube, 1989; 279-286.

80.- Wharton GW. House dust mites. J Med Entomol, 1976; 12:557.

81.- Tovey ER, Chapman MD, Wells CW, Platts-Mills TAE. The distribution of dust mites allergen in the houses of patients with asthma. Am Rev Respir Dis, 1981; 124:630-635.

82.- Smith JM, Disney ME, Williams JP, Goels ZA. Clinical significance of skin reactions to mite extracts in children with asthma. Br Med J, 1969; 2:723-726.

83.- Charpin D, Kleisbauer JP, Lanteaume A et al. Asthma and allergy to house dust mites in population living in high altitudes. Chest, 1988; 93:758-762.

84.- Daniele RP. Asthma. In: Wyngaarden JB, Smith LH, eds. Cecil's textbook of Medicine. 17th ed Philadelphia: WB Saunder Co, 1985:390.

85.- Platts-Mills TAE, Chapman MD. Dust mites: immunology, allergic disease and environmental control. J Allergy Clin Immunol, 1987; 80:755-777.

86.- Wassenaar DPJ. Reducing house dust mites by vacuuming. Exp Appl Acarol, 1988; 4:167-171.

87.- De Monchy J, Kauffman HF, Venge P et al. Bronchoalveolar

## Bibliografia

---

eosinophilia during allergen-induced late asthmatic reactions. Am Rev Respir Dis, 1985; 131:373-376.

88.- Sheffer AL, Buist AS, eds Proceedings of the asthma mortality Task force. J Allergy Clin Immunol, 1987; 80:361-402.

89.- Wen T. Mites and mite allergy in the Shangai region of China. In: de Weck AL, Todt A. Mite allergy. Brussels:UCB Institute, 1988.

90.- International Workshop Report. Dust mite allergens and asthma: a worldwide problem. WHO Bulletin, 1988; 66 (6):769-780.

91.- Noon L. Prophylactic inoculation for hay fever. Lancet, 1911; 1:1572-1574.

92.- World Health Organisation/ International Union of Immunological Societies. Working Group Report. Lancet, 1989; 4:259.

93.- Luigi A. Local nasal immunotherapy for Dermatophagoides-induced rhinitis: efficacy of a powder extract. J Allergy Clin Immunol, 1993; 91:987-996.

94.- Norman PS. Immunotherapy of IgE-mediated Disease. Hospital Practice, 1990;15:81-92.

95.- Creticos PS, Norman PS. Immunotherapy with allergens. JAMA,

## Bibliografía

---

1987; 258:2874.

96.- Warner JD, Price JF, Soothill JF. Controlled trial of hyposensitization to *D. pteronyssinus* in children with asthma. *Lancet*, 1978;2:912-915.

97.- Blainly AD, Phillips MJ, Ollier S et al. Hyposensitization with a tyrosine-adsorbed extract of *D. pteronyssinus* in adults with perennial rhinitis. *Allergy*, 1984; 39:521.

98.- Norman PS. Immunotherapy for nasal allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 1988; 81:992-996.

99.- Zeiger RS, Schatz M. Immunotherapy of atopic disorders-present state of the art and future perspectives. *Med Clin N Am*, 1981; 65:987-1012.

100.- Ohman JL Jr. Allergen immunotherapy in asthma: evidence for efficacy. *J Allergy Clin Immunol*, 1989; 84:133-140.

101.- Vila M, Duce F, Larrad L et al. A study of IgG blocking antibodies in patients affected with respiratory allergy. *Allergol et Immunopathol*, 1987; 15,1:43-48.

102.- Scordamaglia A, Pizzorno G, Caria M et al. Immunologic and clinical evaluation of a 12-month course of specific immunotherapy. *Annals of Allergy*, 1989; 63:31-36.

## Bibliografia

---

- 103.- Newton DAG, Maberley DJ, Wilson R. House dust mite hyposensitisation. *Br J Dis Chest*, 1978; 72:21-28.
- 104.- Dreborg S, Mosbech H, Weeke B. Immunotherapy and bronchial asthma. In: Kay AB, ed *Clinical immunology and allergy*, Vol 2. London: Bailleres Tindall, 1988; 245-258.
- 105.- Murray AB, Ferguson AC, Morrison B. Nonallergic bronchial hyperreactivity in asthmatic children decreases with age and increases with the mite immunotherapy. *Ann Allergy*, 1985; 54:541-544.
- 106.- Basomba A. The importance of allergen dosage and treatment schedules in immunotherapy. In: Reed CE, ed *Proceedings of the International Congress of the Allergology and immunology*. St Louis, 1986:335-341.
- 107.- Zhinkang P, Nacleiro R, Norman PS, Adkinson NF. Quantitative IgE and IgG subclass responses during and after long-term ragweed immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*, 1992; 89:519-529.
- 108.- Van Bever HP, Stevens WZ. Suppression of the late asthmatic reaction by hyposensitization in asthmatic children allergic to house dust mite. *Clin Exp Allergy*, 1989; 19:399-404.
- 109.- Tokushima M, Sanz M<sup>a</sup> L, de las Marinas MD, Oehling A. Lymphocyte response to IgE regulatory factors in allergic patients during the course of immunotherapy. *Allergol et*

Immunopathol, 1990; 18,2:69-74.

110.- Holgate ST, Djukanovic R, Wilson J et al. Inflammatory processed and bronchial hiperresponsiveness. Clin Exp Allergy, 1991; suppl 1:30-36.

111.- Machiels JJ, Somville MA, Lebrun PM et al. Allergic bronchial asthma due to D. pteronyssinus hypersensitivity can be efficiently treated by inoculation of allergen-antibody complexes. J Clin Invest, 1990; 85:1024-1035.

112.- García BE, Sanz M<sup>a</sup>L, Diéguez I, de las Marinas MD. Specific IgG subclasses in pollinosis. J Invest Allergol Clin Immunol, 1992; 2:300-306.

113.- Lin KL, Wang SY, Hsieh KH. Analysis of house dust mite-specific IgE, IgG4 and IgG antibodies during immunotherapy in asthmatic children. Ann Allergy, 1990; 67:63-69.

114.- Ali M, Ramanarayanan MP, Nalebuff DJ et al. Serum concentrations of allergen specific IgG antibodies in inhalant allergy: effect of specific immunotherapy. Am J Clin Pathol, 1983; 80:290.

115.- Moller C, Dreborg S, Einarsson R. Immunotherapy to deciduous tree pollens: specific IgE and IgG antibody patterns. Clin Allergy 1987; 17:551-562.

## Bibliografia

---

116.- Rocklin RE. Clinical and immunological aspects os allergen-specific immunotherapy in patients with seasonal allergic rhinitis and/or allergic asthma. J Allergy Clin Immunol, 1983; 72:325-334.

117.- Muller U, Helblin H, Bischof M. Predictive value of venom specif IgE, IgG and IgG subclasses antibodies in patients on immunotherapy with honey bee venom. Allergy, 1989; 44:412-418.

118.- Nakagawa T. IgG subclass changes in response to desensitisation. Allergy, 1986; 19:253-261.

119.- Chien YK, Yang WP, Xue ZL et al. House dust mite asthma in China: a review. Annals of Allergy, 1987; 59:147-148.

120.- Bousquet J, Hejjaoui AH, Michel FB. Specific immunotherapy in asthma. J Allergy Clin Immunol, 1990; 86:292-305.

121.- Lin K. Analysis of house dust mite-specific IgG antibodies during immunotherapy in asthmatic chikdren. Annals of Allergy, 1992; 57:163-169.

122.- McHugh SM, Lavelle B, Kemeny DM et al. A placebo-controlled trial of immunotherapy with two extracts of D. pteronyssinus in allergic rhinitis, comparing clinical outcome with changes in antigen-specific IgE, IgG and IgG subclasses. J Allergy Clin Immunol, 1991; 86:521-531.

123.- Somville MA, Machiels J, Gilles JG, Saint-Remy JM. Seasonal variation in specific IgE antibodies of grass-pollen hypersensitive patients depends on the steady state IgE concentration and is not related to clinical symptoms. *J Allergy Clin Immunol*, 1989; 83:486-494.

124.- Foresi A, Pesci A, Pelucchi A et al. Bronchial inflammation in mite-sensitive asthmatic subjects after 5 years of specific immunotherapy. *Annals of Allergy*, 1992; 69:303-308.

125.- Adkinson NF. Immunoassays for IgG subclasses: quantitative and methodologic considerations. *N Engl J Allergy Proc*, 1988; 9:23-29.

126.- Sanz M<sup>a</sup> L, Oehling A. Diagnóstico alergológico "in vitro". *Tratado de Medicina Interna, Medicine*, 1993; 38:1681-1688.

127.- Levy DA, Lichtenstein LM, Goldstein EO et al. Immunological and cellular changes accompanying the therapy of pollen allergy. *J Clin Invest*, 1971; 50:360-369.

128.- Djurup R. The subclass nature and clinical significance of the IgG antibody response in patients undergoing allergen-specific immunotherapy. *Allergy*, 1985; 40:469-486.

129.- Bousquet J, Michel FB. Allergen avoidance and immunotherapy. In Barnes PJ, Rodger IW, eds *Asthma: Basic Mechanisms and Clinical Management*. London: Academic Press,

1988:551-562.

130.- Lichtenstein LM, Norman PS, Winkenwerder WL. A single year of immunotherapy for ragweed fever. *Ann Intern Med* 1971, 75:663.

131.- Nakagawa T, Kozeki H, Katagiri J et al. Changes of house dust mite-specific IgE, IgG and IgG subclass antibodies during immunotherapy in patients with perennial rhinitis, *Int Archs appl Immunol*, 1987; 82:95-99.

132.- Mosbech H. Who will benefit from Hyposensitization ? Predictive parameters in house dust mite allergic asthmatics. *Allergy*, 1990; 45(3):209-212.

133.- Pastorello Ea, Ortolani C, Incorvaia C et al. A double-blind study of Hyposensitization with an alginate-conjugated extract of *D. pteronyssinus* in patients with perennial rhinitis. *Allergy*, 1990; 45(7):505-514.

134.- Wahn U, Schweter C, Lind P, Lowenstein H. Prospective study on immunologic changes induced by two different *D. pteronyssinus* extracts prepared from whole mite culture and mite bodies. *J Allergy Clin Immunol*, 1988; 82:360-370.

135.- Chapman MD, Platts-Mills TAE, Gabriel M et al. Antibody response following prolonged hyposensitization with *D. pteronyssinus* extract. *Int Arch Allergy appl Immunol*, 1980; 61:431.

- 136.- Moss R, Hsu YP, Kwasnicki JM et al. Isotypic and antigenic restriction of the blocking antibody response to ryegrass pollen: Correlation of rye group I antigen-specific IgG1 with clinical response. *J Allergy Clin Immunol*, 1987; 79:387-398.
- 137.- Otsuka H, Mezawa A, Ohnishi M et al. Changes in nasal metachromatic cells during allergen immunotherapy. *Clin Exp Allergy*, 1991; 21(1):115-119.
- 138.- Nakagawa T, Takaishi T, Sakamoto Y, Miyamoto T. IgG4 antibodies in patients with house dust mite sensitive bronchial asthma: relationship with antigen-specific immunotherapy. *Int Arch Allergy appl Immunol*, 1983; 71:122-125.
- 139.- Machiels J, Lebrun P, Jacquemin M, Saint-Remy R. Significant reduction of nonspecific bronchial reactivity in patients with *D. pteronyssinus* sensitive allergic asthma under therapy with allergen-antibody complexes. *Am Rev Respir Dis*, 1993; 147:1407-1412.
- 140.- Subcomité de pruebas cutáneas de la Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica. Ed S. Dreborg. Pruebas cutáneas utilizadas en la alergia tipo I. Artículo de opinión. *Allergy*, 1989; 44. Ed en castellano *Alergia e Inmunología* Abelló.
- 141.- Valencia A, Casán P, Díaz M, Perpiñá M, DSebastián M<sup>a</sup>D. Normativa para los tests de provocación bronquial inespecífica. *SEPAR. Arch Bronconeumol*, 1991; 8:353-361.

## Bibliografía

---

- 142.- Rosenthal RR. Pruebas de provocación con metacolina: de la investigación a la práctica. *Allergy proceedings*, 1990; IV (2):8.
- 143.- Adkinson NF, Sobotka AK, Lichtenstein LM. Evaluation of the quantity and affinity of human IgG "blocking" antibodies. *J Immunol*, 1979; 122:965.
- 144.- Bonner JR. The epidemiology and natural history of asthma. *Clinic in Chest Medicine*, 1984; 5:557-565.
- 145.- Sobradillo V. Cómo diagnosticar en Neumología. Asma bronquial. Grupo Jarypo Editores, 1989.
- 146.- Cochrane GM, Rees PJ. Atlas a color de asma. Wolfe Medical Productions; Edición española, Edifarma, 1992.
- 147.- Fleming DM, Crombie DL. Prevalence of asthma and hay fever in England and Wales. *Br Med J*, 1987; 294:279-283.
- 148.- Muñoz López F. Encuesta sobre la etiología del asma infantil en España. *An Esp Pediatr*;17:5.
- 149.- Dahl R, Venge P, Fredens K. Eosinophils. En: *Asthma*. Ed PJ Barnes, IW Rodger and Thomson NC. Academic Press. London, 1992; cap 8:111-124.
- 150.- Venge P, Dahl R. Are blood eosinophil number and activity important for the development of the late asthmatic reaction

## Bibliografia

---

- after allergen challenge ? Eur Respir J, 1998; 2 Suppl 6:430-434.
- 151.- Venge P, Dahl R, Peterson CGB. Eosinophil granule proteins in serum after challenge of asthmatics patients and the effects of the anti-asthmatic medication. Int Arch Allergy appl Immunol, 1988; 87:306-312.
- 152.- Taylor KJ, Luksza AR. Peripheral blood eosinophil counts and bronchial responsiveness. Thorax, 1987; 42:452-456.
- 153.- Bernstein IL. Proceedings of the task force on guidelines for standarizing old and new technologies used for the diagnosis and treatment of allergic diseases. J Allergy Clin Immunol, 1988; 82:487-526.
- 154.- Bousquet J, Michel FB. Precision of prick and puncture tests. J Allergy Clin Immunol, 1992; 90:870-872.
- 155.- Brighton WD, Topping MD, Henocq E. Activity units for allergen extracts. Clin Allergy, 1979; 9:591.
- 156.- Leynadier F, Murrieta M, Michelen J et al. Role des anticorps bloquants sur les tests cutanes aux acariens. La Presse Medicale, 1987;16:1436.
- 157.- Broder J, Barlow PP, Horton RJN. The epidemiology of asthma and hayfever in a total comunity, Michigan. The relationship between asthma and hayfever. J Allergy Clin Immunol, 1962;

33:524.

158.- Broder J, Higgins MN, Mathew KP. Epidemiology of asthma and allergic rhinitis in a total community, Michigan. Natural history. J Allergy Clin Immunol, 1974; 54:100.

159.- Ricketti A. Rinitis alérgica. Ed Patterson. Enfermedades alérgicas: diagnóstico y tratamiento; 3ª edición, pag:207-231.

160.- Verdiani P, Di Carlo, S, Baronti A. Prevalencia y grado de hiperreactividad bronquial inespecífica diferente entre la rinitis estacional y la perenne. J Allergy clin Immunol, 1990; 86:576-582.

161.- Burrows B, Sears MR, Flannery EM et al. Relationship of bronchial responsiveness assessed by methacholine to serum IgE, lung function symptoms and diagnoses in 11 years old New Zeland children. J Allergy Clin Immunol, 1992; 90:376-385.

162.- García Ortega P, Merelo A, Marrugar J, Richart C. Descenso de la sensibilización cutánea y bronquial después de inmunoterapia pautaada corta e intensiva en el asma alérgica a los ácaros. Chest, 1993; 103/1:183-187.

163.- Ehnert B, Lau-Schadendorf S, Weber A et al. Reducing domestic exposure to house dust mites allergen reduces bronchial hyperreactivity in sensitive children with asthma. J Allergy Clin immunol, 1992; 90:135-138.

## Bibliografía

---

- 164.- García Ortega P. Utilidad de los estudios inmunológicos en el asma bronquial. Arch Bronconeumol, 1991; 27:139-146.
- 165.- Fennerty AG, Jones KP, Davies BH et al. Immunological changes associates with a successful outcome of pollen immunotherapy. Allergy, 1988; 43:415-419.
- 166.- Linder A. Symptom scores as measures of the severity of rhinitis. Clin Allergy, 1988; 18:29-37.
- 167.- Mosbech H. house dust mite allergy. allergy, 1985; 40:81.
- 168.- Etievant M, Leluc B, Bouclier R, Henocq E. Immuno-enzymatic study of IgG subclasses specific for allergen in house dust immediate hypersensitivity. Ann Allergy, 1979; 43:169-173.
- 169.- Stanworth DR. Immunochemical aspects of human IgG4. Clin Rev Allergy, 1983; 1:183-195.

# UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal Insurgido por los señores **Señantes**  
en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de  
**II. DE LOS ANGELES SANCHEZ ARREVAL**

titulada

**ANTICUERPOSI BLOQUEANTES EN LA ALERZIA A  
SERPAINCFAO'NIA.**

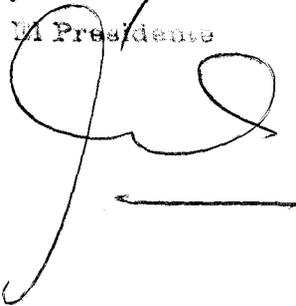
acordó otorgarle la calificación de **DDP. CUM LAUDE DDP.**  
**UNANIMIDAD.**

Sevilla, **17** de **NOVIEMBRE** 19 **96.**

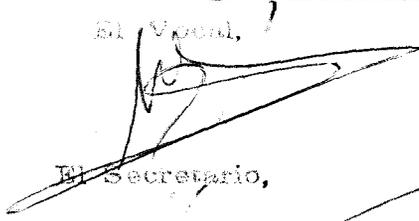
El Vocal,



El Presidente

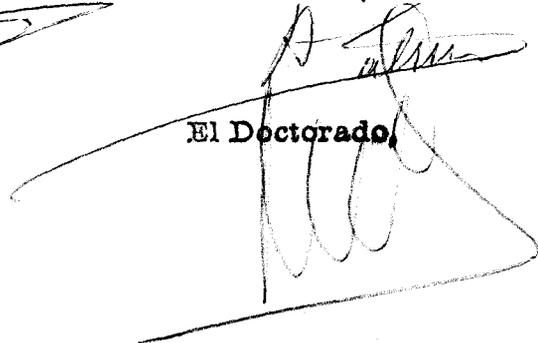


El Vocal,



El Secretario,

El Vocal,



El Doctorado,