

EVENTOS FISIOPATOGENICOS DE LA DERMATITIS ALERGICA POR CONTACTO

Columnista Experta de SIIC
Dra. María Elisa Dionisio de Cabalier



Profesora Adjunta, 1ª Cátedra de Patología, y Profesora Adjunta Interina, 1ª Cátedra de Dermatología de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNC, Córdoba. En colaboración con los doctores Martín Andrea P, Frede Silvia C, Ortiz Susana G, Hliba Ernesto y Serra Horacio M, del Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas de la UNC. Burgos Elisa, de la Cátedra de Dermatología, Facultad de Ciencias Médicas de la UNC, Córdoba, Argentina.

Otro trabajo publicado: «Ultraestructura de la mucosa nasal en pacientes con bloqueo nasal crónico y permanente», *Alergia e Inmunología Clínica* N° 2, Vol 17, 2000, (en colaboración).

Córdoba, Argentina (**especial para SIIC**)

La dermatitis alérgica por contacto (DAC) es un conjunto de entidades dermatológicas que posee gran incidencia en el mundo. Se presenta un estudio de los aspectos clínico-epidemiológicos, histomorfológicos e inmunohistoquímicos en pacientes con DAC que presentaron lesiones papulosas, vesiculares, eritematosas, liquenificadas con intenso prurito.

Resumen La piel posee un poderoso sistema inmunológico (SIP) que interactúa con diferentes alérgenos del medio ambiente. La dermatitis alérgica por contacto (DAC) es un conjunto de entidades dermatológicas de diferentes etiologías que posee gran incidencia en el mundo, y se la considera una enfermedad laboral.

Esta dermatitis representa una respuesta alérgica cutánea a diferentes agentes tales como sustancias químicas, aminoácidos, hidrocarburos, agentes biológicos, etc. Histopatológicamente se observan alteraciones dermoepidérmicas como espongirosis, vesículas, ectasia capilar y una intensa migración leucocitaria, por lo que en esta entidad existen cambios celulares tanto cualitativos como cuantitativos en los cuales participan células de la piel y elementos del SIP que amplifican la respuesta inflamatoria. Esta entidad está reconocida como una reacción de hipersensibilidad retardada tipo IV. En la fase de sensibilización cuando el antígeno (Ag) penetra por piel, es captado por células de Langerhans, las cuales migran de epidermis hacia nódulos linfáticos regionales para presentarlo a linfocitos (Li) vírgenes para sensibilizarlos y producir células de memoria o efectoras. Ante un segundo contacto con el Ag y por la liberación de numerosas moléculas, los Li van a ser atraídos hacia el sitio de contacto para producir la enfermedad clínicamente manifiesta. En nuestros trabajos de investigación hemos estudiado los aspectos clínico-epidemiológicos, histomorfológicos e inmunohistoquímicos en pacientes con DAC que clínicamente presentaron lesiones papulosas, vesiculares, eritematosas, liquenificadas con intenso prurito. A nivel histopatológico, se observó la presencia de espongirosis, vesículas, tumefacción de células endoteliales e infiltrado inflamatorio de estirpe mononuclear. A nivel inmunohistoquímico se estudiaron diferentes marcadores celulares y tisulares. Se encontró en lesiones agudas un predominio de células CD8+ y células T de memoria, pero en lesiones crónicas existió un predominio de células T CD4+. Esto sugiere que diferentes subtipos de Li T, predominan en dermis de acuerdo con el estadio clínico de la enfermedad. **Palabras clave.** Dermatitis alérgica por contacto, clínica, morfología.

Introducción

La piel, al ser el órgano más extenso del cuerpo, posee numerosas funciones, una de las cuales es la de ser una importantísima barrera inmunológica, ya que recibe todos los antígenos (Ag) ambientales o tópicos, siendo por lo tanto considerada una interfase entre el medio interno y externo (1-4).

Debido a ello, está capacitada para generar respuestas para poder actuar en forma rápida y eficaz y contener a los distintos alérgenos que pueden afectarla.

Esta función la realiza mediante un sistema inmunológico (SIP) muy complejo que está conformado por linfocitos T (LT), especialmente LT CD8+ en la epidermis, mientras que en dermis se observan LT CD4+ y CD8+ (1,2).

Los LT intraepidérmicos, expresan un grupo de receptores más restringidos que los LT de la mayor parte de otros tejidos. Experimentalmente se ha demostrado que en ratones muchos de estos elementos son células T que expresan la forma ((del receptor para el Ag (1,2).

El denominado «homing» o migración selectiva de estas células T está controlado por moléculas de adhesión específicas, ya que estos linfocitos expresan un hidrato de carbono denominado antígeno de linfocitos cutáneos (CLA), el cual reconoce la selectina E, molécula de adhesión que se expresa precozmente en el endotelio cuando se genera una respuesta inflamatoria (1,5-8).

Otras células importantes que se encuentra a nivel de la capa basal son las células de Langerhans, eficaces presentadoras de Ag que derivan de médula ósea y poseen la propiedad de migrar a órganos linfáticos, donde son identificadas como células dendríticas interdigitantes. Las células de Langerhans proporcionan la principal vía de presentación de los Ag que penetran por vía cutánea a los LT nativos o vírgenes (1,2,4). Captan el Ag, lo procesan y migran hacia ganglios linfáticos, donde residen en las regiones parafoliculares de la corteza y luego se lo presentan a los LT nativos para producir linfocitos de memoria o efectores específicos de Ag con un patrón preferentemente de linfocitos T Helper 1 (Th1) (1-5).

La mayor parte del determinante CLA se sintetiza cuando la célula T se activa en el nódulo linfático, en respuesta a la presentación antigénica realizada por células dendríticas y a distintas citoquinas (sustancias mediadoras del sistema inmune).

Otra célula presente en forma dispersa en la dermis es el macrófago, el cual es uno de los principales efectores en distintas patologías dermatológicas (1,3).

Además de elaborar citoquinas y otras sustancias, juega un papel preponderante en la fagocitosis y posterior degradación de la noxa.

Asimismo, los queratinocitos, que constituyen el epitelio, actúan como parte del SIP produciendo citoquinas como la interleuquina (IL) 1, IL-2 e IL-6, además de otras sustancias tales como quimioquinas, las cuales estimulan la quimiotaxis y la activación leucocitaria (1,7).

Todos los elementos celulares mencionados actúan en forma conjunta en la generación de una respuesta inmunológica eficaz, que contenga la noxa o la neutralice para que no provoque daño en órganos o sistemas.

Una de las entidades dermatológicas donde el SIP es un pilar fundamental en la generación de respuestas inflamatorias es la dermatitis por contacto (DC) (1,3- 6,9,10).

La DC constituye un conjunto de lesiones dermatológicas producidas por diferentes agentes etiológicos. Presenta gran incidencia y prevalencia en todo el mundo, y constituye una de las patologías ocupacionales más frecuentes; ocasiona innumerables problemas médico-laborales con el consecuente costo socioeconómico, por lo que ha generado un llamado de atención a las autoridades sanitarias de los países más desarrollados (3,6,9-12).

Han sido descriptas diferentes formas de DC, con distintas clasificaciones clínicas, pero en la actualidad se acepta la siguiente catalogación: *dermatitis irritativa*, *fototóxica*, *fotoalérgica* y *alérgica* (3,4).

La *dermatitis irritativa*, producida por el contacto con agentes irritantes, es una de las enfermedades más frecuentes en manos; a nivel clínico, predomina como signosintomatología el prurito, eritema y abundante descamación con ardor y dolor, ocasionando un profundo displacer al paciente.

En la *dermatitis fototóxica*, en cambio, si bien se producen los mismos mecanismos fisiopatogénicos de la entidad anteriormente mencionada, la sustancia se torna irritante cuando su estructura química es transformada por la radiación solar (1,4).

En la *dermatitis fotoalérgica*, una sustancia adquiere propiedades antigénicas cuando presenta modificaciones estructurales producidas por el sol, pero se desencadena la enfermedad

solamente si el individuo está sensibilizado hacia dicho antígeno (4).

La *dermatitis alérgica* por contacto representa una respuesta alérgica cutánea a diferentes agentes hacia los cuales el paciente se encuentra sensibilizado. Estos pueden ser biológicos (hongos, bacterias) o sustancias químicas (haptenos o proteínas) que, actuando desde el exterior, desencadenan una respuesta inflamatoria, la cual está considerada como una típica reacción de hipersensibilidad retardada tipo IV (1,3,4).

Para tratar de comprender a este conjunto de entidades, es necesario conocer los distintos eventos fisiopatogénicos que se suceden cuando se desencadena el proceso y, aunque aún numerosos mecanismos no han sido develados con los estudios actuales, se reconocen cada vez más diferentes sustancias que intervienen en la DAC.

Fase de inducción o sensibilización. En esta fase inicial, no se objetiva un efecto clínico y sucede cuando un individuo tiene su primer contacto con el o los Ag, los cuales en su mayoría son haptenos. Estos, pequeñas moléculas químicamente muy reactivas, son reconocidos únicamente por el SIP cuando se unen a una proteína o a estructuras peptídicas más complejas (14-18). Cuando el Ag entra en contacto con la piel, es captado y procesado por las células de Langerhans, las cuales presentan el Ag a LT vírgenes que se ubican en áreas perifoliculares de la corteza de ganglios linfáticos (1,6-8,14).

A nivel experimental, Grabbe y col. (16) demostraron que la hipersensibilidad de contacto está fuertemente asociada con la activación de un grupo complejo de LT específicos, y si bien este estudio no es concluyente, las células efectoras en la hipersensibilidad de contacto serían CD8+, mientras que los LT CD4+ tendrían efectos reguladores en forma negativa.

En seres humanos se ha encontrado que la respuesta celular frente a un Ag tal como el urushiol (16) está dada predominantemente por LT CD8+. No ocurre lo mismo con los haptenos como cobalto y níquel; los resultados son contradictorios, ya que primero se reportó que los haptenos generaban una respuesta de LT CD4+, pero recientemente fue demostrada la existencia de LT CD8+ específicos para níquel con un patrón Th2 tanto en pacientes con una historia reciente de DAC como en aquellos que padecen la enfermedad activa (1,17-26).

Fase efectora. Ante un segundo contacto de la piel con el Ag y por la liberación de numerosas sustancias, los linfocitos sensibilizados son atraídos hacia el sitio donde se produjo el contacto.

Uno de los mecanismos por el cual las células T CD3+/CD45RO+ y las células de Langerhans llegan al tejido es porque expresan el CLA mencionado anteriormente que se une a selectinas E y P (esta última liberada por plaquetas) presentes en el endotelio vascular. Dichas células van a producir la activación de mediadores que amplifican la respuesta inflamatoria y la acumulación de los elementos responsables de la lesión cutánea. (1,28-37).

Todo esto conforma una reacción que persiste durante algunos días, disminuyendo en forma progresiva a través de distintas etapas a causa de las células intervinientes.

Objetivo general

Analizar y reconocer, por medio de diferentes disciplinas, algunos de los eventos fisiopatogénicos que se producen en la DAC.

Objetivos específicos

1. Realizar un estudio clínico-epidemiológico en pacientes portadores de dermatitis alérgica por contacto, con exclusión de aquellos que presentan otro tipo de dermatitis (atópica, irritativa, etc.).
2. Analizar por medio de la histopatología convencional los cambios morfológicos que se producen en esta entidad.
3. Estudiar por medio de *high resolution light microscopy* (HRLM) o microscopía óptica de alta resolución (MOAR) todos los especímenes, ya que esta técnica, por las características de la fijación, inclusión en resinas epóxicas y espesor de las secciones, permite una mayor definición de las estructuras a estudiar.

4. Realizar inmunomarcaciones con diferentes anticuerpos para tratar de dilucidar qué células están involucradas en este proceso.
5. Correlacionar los resultados clínicos, morfológicos e inmunohistoquímicos de esta entidad.

Materiales y métodos

Se analizó un universo compuesto de 26 pacientes, diagnosticados clínica y epidemiológicamente como portadores de DAC tomando como variables edad, sexo, localización de las lesiones, factores predisponentes y desencadenantes, estos últimos relacionados con la actividad laboral. Se realizó un protocolo de estudio de los mismos, el cual consistió en la aceptación por escrito de su participación en el Proyecto de Estudio de Dermatitis. En el mismo, se les comunicaba que se les iba a aplicar parches cutáneos en la región escapular y posteriormente debían regresar para la lectura de los mismos a las 48 y 96 hs y 7 días. Se les explicó que se realizarían tomas biópsicas de la lesión primaria y una toma de la reacción provocada por los parches. En todos los casos, una vez retirados los parches se esperó 30 minutos para realizar la lectura y posterior interpretación.

Se excluyeron aquellos pacientes que presentaban dermatosis previas en espalda o con abundante vello. Asimismo, fueron excluidos del protocolo aquellos pacientes que estaban realizando un tratamiento inmunosupresor y los que presentaban enfermedades dermatológicas tales como lesiones lentiginosas, angiomasas y múltiples nevus.

Metodología para la utilización de los parches cutáneos. Siguiendo el protocolo sugerido por el Grupo Internacional de Investigaciones en DAC (ICDGR) para el análisis de la reacción de Hipersensibilidad retardada, se utilizó una batería de parches cutáneos Patchkit Standard (FDA Allergenic), cuyos antígenos fueron conservados a 4 °C. Se aplicaron Finn Chamber Epitest, en un área de 50 mm² montados en *scallopore* en espalda.

Los pacientes que habían superado el período agudo fueron testeados y se tabularon mediante cruces realizando la medición de la siguiente manera: + eritema, ++ pápulas, +++ vesículas y ++++ pápulo-vesículas y prurito.

Se extrajeron de cada paciente y por la técnica de punch, una biopsia de 3 mm de la reacción más positiva (parche positivo) y una de una reacción negativa (parche negativo). Dichas biopsias fueron fijadas en formol al 10% e incluidas en parafina para el estudio óptico convencional y para realizar técnicas de inmunomarcación.

Además, biopsias de 1 mm tomadas de la misma reacción positiva fueron fijadas en glutaraldehído-paraformaldehído-buffer collidina (Solución de Karnovsky), para el estudio de Microscopía Óptica de Alta Resolución (MOAR). Posteriormente, fueron refijadas en tetróxido de osmio e incluidas en araldita. Las secciones, de aproximadamente una micra de espesor, obtenidas con un ultramicrotomo Porter Blum MT1, se colorearon con azul de toluidina y fucsina básica (37,38).

Para el estudio inmunocitoquímico se utilizaron anticuerpos primarios monoclonales de ratón que reconocen los siguientes marcadores celulares humanos: CD1a, CD45RA, CD45RO, CD11a, CD11b, CD4 y CD8. Previamente al revelado con diaminobencidina (DAB) con metal mejorador se aplicó en las secciones el sistema ABC-peroxidasa, realizándose el contraste con verde de malaquita.

Del total de 26 pacientes, a solo 15 pacientes se les realizó el estudio histopatológico e inmunohistoquímico.

Resultados clínicos

La anamnesis meticulosa fue de una importancia vital en los pacientes analizados, ya que en la mayoría de los casos, estos no reconocían el antígeno involucrado que les producía la enfermedad.

Es por ello que se indagó en forma exhaustiva estilo de vida, trabajo, hobbies, para localizar los antígenos involucrados. Es así que las actividades laborales vinculadas a tareas domésticas fueron relevantes debido a que en las mismas estaban involucrados jabones, limpiadores, guantes de látex, sustancias de pastelería, etc. El cuidado de la piel utilizando cremas o cosméticos, el arreglo personal con accesorios que contienen cromo o níquel, también fueron

importantes y por ello que surge una predominancia del sexo femenino en esta entidad.

Las localizaciones de las lesiones por orden de frecuencia fueron: manos, rostro, brazos, piernas, pie, cuello y cuero cabelludo y excepcionalmente mamas y región vulvo-vaginal (1 sólo caso).

El análisis clínico de todos los pacientes estudiados fue variable, encontrándose eritema, edema, vesículas o pápulo-vesículas, escamas y costras; pero el síntoma fundamental en todos los casos fue el intenso prurito que erupcionaba.

Los antígenos más frecuentes que dieron resultados fuertemente positivos fueron: sulfato de níquel, cloruro de cobalto, bálsamo de Perú. El sulfato de níquel es uno de los contactantes más comunes en mujeres debido al uso de joyería, cierres, botones y monedas. El cloruro de cobalto se observó en pacientes que tuvieron relación con tatuajes, adhesivos, tintura de cabello, esmaltes y tintas de impresión. Y en tercer lugar se encuentra el bálsamo de Perú, el cual es un compuesto aromático utilizado en perfumes y cosméticos y que además posee actividad antifúngica, antibacteriana y escabida.

La mayoría de los pacientes, por lo mencionado anteriormente, pertenecieron al sexo femenino, por lo cual la actividad laboral predominante fue la de amas de casa, aunque no faltaron docentes, comerciantes y personal policial.

El 53% del total del universo estudiado no presentó antecedentes, el 35% refirió atopía y el 12% alergia medicamentosa. (cuadro 1)

RANGO EDAD	→ 18 a 67 años
SEXO	→ FEMENINO: 19 → MASCULINO: 7
FACTORES PREDISPONENTES	→ ATOPIA: 9 → ALERGIA A DROGAS: 3 → FACTORES AMBIENTALES: 14
LOCALIZACION DE LAS LESIONES	→ MANOS- BRAZOS-PIERNAS → CUERO CABELLUDO → ESPALDA - MAMAS

Resultados histopatológicos

Se analizaron todas las biopsias realizadas, tanto aquellas pertenecientes a parches positivos como negativos, tratando de observar los cambios morfológicos producidos a nivel de epidermis, dermis y del plexo vascular superficial.

A nivel epidérmico, todos los materiales catalogados como parches positivos presentaron un grado variable de espongirosis y formación de vesículas. Asimismo se observó migración leucocitaria transeptelial que varió según la localización de la vesícula. En cambio, en los parches negativos no se observaron ninguno de estos cambios.

A nivel del plexo vascular capilar superficial se evidenció, tanto en biopsias positivas como negativas, y en diferentes magnitudes, infiltrado perivascular de monocitos, linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos. Dicho infiltrado, dependiendo de su intensidad fue clasificado como leve (el score utilizado fue de 10-15 células/vaso), moderado (score de 50-110 células/vaso) e intenso (más de 110 elementos/vaso). Así, en las biopsias negativas, el infiltrado fue leve, predominando los monocitos en relación con los linfocitos. Pero en las biopsias positivas en cambio, los linfocitos fueron fundamentalmente las células presentes y el infiltrado varió de moderado a intenso.

La presencia de tumefacción de las células endoteliales de los capilares y de elementos inflamatorios en la luz del capilar, fue un hecho constante en todos los especímenes estudiados con excepción de un solo caso, donde la tumefacción endotelial estaba presente pero sin

elementos formes en la luz capilar.

Resultados de microscopia de alta resolución

La microscopia de alta resolución en virtud a las cualidades de la fijación y debido al espesor de las secciones que permite la inclusión en resinas epóxicas, otorgó una visualización más detallada de las diferentes estructuras que se analizaron.

Así encontramos que en el 100% de los casos estudiados el epitelio de la epidermis mostró hiperactividad, sobre todo a nivel de la capa basal y en ocasiones en el estrato intermedio. Esta hiperactividad, se reflejaba por la presencia de uno o dos nucléolos prominentes, generalmente ubicados en la parte central de la célula (figura 1).

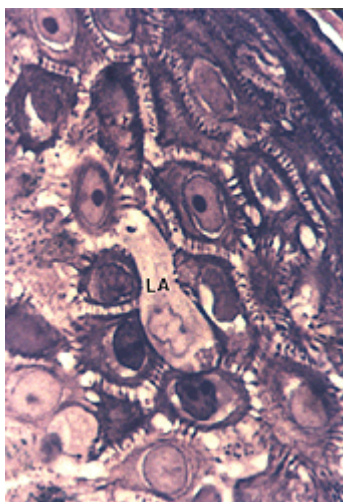


Figura 1. Epidermis con una típica célula de Langerhans. Los queratinocitos presentan elongación de los desmosomas y sus núcleos contienen nucléolos prominentes . MOAR. Fucsina básica-azul de toluidina. 1000X.

Asimismo, se observó en todos los casos estudiados alteraciones en los desmosomas, en donde las estructuras de unión se disponían en forma laxa, elongada, o se presentaban seccionadas, por lo que se producía un aumento del espacio intercelular, que en ocasiones se encontraba ocupado por restos de queratinocitos o material de tipo amorfo.

En algunos materiales, se pudo observar la génesis de la vesícula y realizar un seguimiento a través de los diferentes estratos de la epidermis. Esta, comenzaba a nivel del estrato basal, con la aparición de pequeñas vacuolas intracitoplasmáticas, las cuales se iban haciendo confluentes a medida que se ascendía por el epitelio. Ya en el estrato intermedio y superficial la vesícula estaba completamente conformada y sus límites correspondían a queratinocitos y en ocasiones a cuerpos apoptóticos.

En alrededor de un 15% de los materiales estudiados se observó la presencia de linfocitos intraepiteliales pequeños y sólo en un caso la presencia de polimorfonucleares neutrófilos. En la mayoría de los casos se pudieron observar células de Langerhans en epidermis con su típica morfología (figura 1) en otros especímenes por debajo de la capa basal.

En casi todos los casos la interfase dermoepidérmica o membrana basal, presentaba cambios morfológicos tales como vacuolización intramembranosa o efracciones de diferente tamaño, las cuales alteraban la continuidad de la misma, conectando epidermis con la región dérmica.

La dermis mostró un infiltrado mononuclear a predominio de linfocitos y macrófagos que se disponían en general a nivel perivascular o dentro de pequeños vasos. Estos últimos presentaron una gran tumefacción de las células endoteliales en las que, en la mayoría de los casos hacían protrusión en la luz, junto a elementos de estirpe linfoide o mononuclear.

También se observaron células plasmáticas en forma aislada, alrededor de los vasos, o entremezcladas con el infiltrado mononuclear (figura 2).

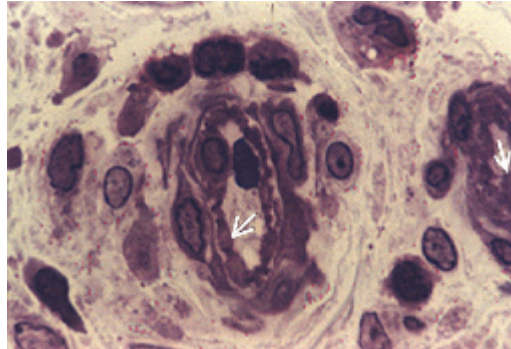


Figura 2. Pequeños vasos en la dermis que exhiben tumefacción endotelial .

En la luz un linfocito e infiltrado mononuclear perivascular MOAR. Fucsina básica-azul de toluidina. 1000X.

La matriz extracelular en el 100% de los casos presentó alteraciones tanto en fibras colágenas como elásticas. Estas se disponían en forma anárquica, con ausencia de polaridad, reflejándose este hecho morfológico como estructuras seccionadas, en ocasiones disponiéndose en haces gruesos arremolinados.

El análisis de microscopia de alta resolución reveló que las pieles presentaron gran congestión a nivel capilar e infiltrado inflamatorio de estirpe mononuclear que se disponía a nivel perivascular.

Resultados de la inmunomarcación

La inmunomarcación con diferentes anticuerpos monoclonales, permitió identificar en forma fehaciente, las distintas células pertenecientes al SIP y reconocer en forma cuali y cuantitativa los elementos que se expresaban sobre todo en dermis a nivel perivascular y a nivel vascular.

CD1a: Esta molécula es uno de los marcadores más útiles para el reconocimiento de células de Langerhans en epidermis humana. Está asociada a la microglobulina (2 y su principal expresión celular es en timocitos y células dendríticas. La función de esta molécula podría estar relacionada con la unión de algún ligando de algunos subgrupos de linfocitos T. En los materiales inmunomarcados, se identificaron células de Langerhans en la capa basal del epitelio.

CD45RO: Esta molécula identifica linfocitos de memoria y su función principal sería la de intervenir en la transducción de la señal de la enzima tirosina fosfatasa.

CD 45RA: Esta molécula está presente en linfocitos nativos, y tiene un peso molecular de 220 kD; también intervendría en procesos de transducción de señales.

Correlacionando la inmunomarcación de ambos marcadores, se determinó que predominaron los linfocitos de memoria, los cuales se encontraron en dermis e infiltrando epidermis. El porcentaje de estos elementos fue del 83%, mientras que solo el 17% fue de linfocitos nativos. Esto se observó en biopsias positivas de las lesiones provocadas por la aplicación de los parches cutáneos. (figura 3).

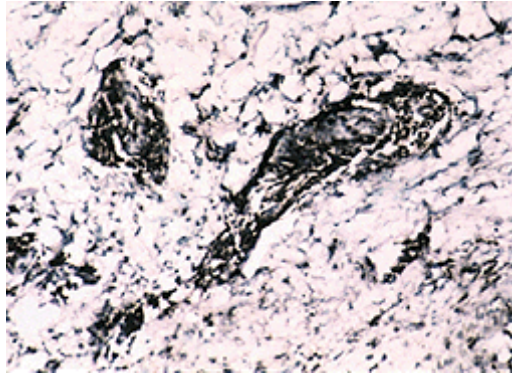


Figura 3. Acúmulos linfocitarios en dermis que inmunomarcan con CD45RO, revelado con DAB y contrastado con verde de malaquita. 200X.

CD4: Este marcador es utilizado para reconocer fundamentalmente un subtipo de linfocito T. Dichas células son aquellas que reconocen al Ag cuando es presentado en el contexto de las moléculas de clase II del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) y sus funciones serían la del reconocimiento de las moléculas de Clase II del CMH y la transducción de señal.

CD8: Esta molécula está conformada por dos cadenas y se expresa fundamentalmente en otro subtipo de linfocitos T que reconocen al Ag restringido a las moléculas de clase I del CMH.

Correlacionando ambos marcadores en lesiones agudas y provocadas por parches predominaron las células CD8+ (CD4+/CD8+=0,95) en el 50% de los casos, mientras que en las lesiones crónicas la relación fue de 1,87 (figura 4) .

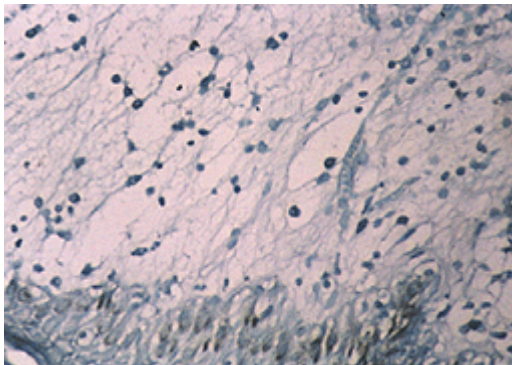


Figura 4. Linfocitos en dermis marcados con anti-CD8, revelado con DAB y contrastado con verde de malaquita. 200X .

CD11a: Esta molécula, también denominada Cadena (del LFA-1 (Antígeno de Función Leucocitaria) se asocia al CD18 o cadena (integrina para conformar la integrina LFA-1, la cual se expresa en todos los leucocitos. La función principal es la de adhesión, ya que se une al endotelio por medio de ICAM-1 (Molécula de adhesión intercelular). En las inmunomarcaciones realizadas, esta molécula fue observada a nivel de la pequeña vasculatura, en forma muy puntual con intensidad leve.

CD 11 b: Esta sustancia, cuya principal expresión celular se encuentra en granulocitos, monocitos y células natural killer (NK), posee un peso molecular de 165kD y se asocia también con el CD18 para formar la integrina Mac- 1. Su principal función es la adhesión leucocitaria, ya que esta molécula se une en forma específica a ICAM-1, interviniendo además en la fagocitosis. La inmunomarcación realizada determinó la presencia de esta sustancia sobre todo en elementos que se ubicaban generalmente a nivel perivascular. Correlacionando las inmunomarcaciones con CD11a y CD11b se determinó que en los materiales analizados existió un mayor número de células CD11a.

Comentarios y discusión La dermatitis alérgica por contacto, es una enfermedad reconocida y diagnosticada por los dermatólogos, pero ha despertado en las últimas décadas un gran interés en otras especialidades como la inmunología, patología y epidemiología, las cuales pueden aportar una visión amplificada del problema.

El gran desarrollo de la biología molecular, así como un profundo cambio de actitud en los investigadores, que abandonaron los estrechos márgenes vinculados exclusivamente a su especialidad tanto desde el punto de vista especulativo- científico como metodológico produjeron la unión de los mismos en «equipos interdisciplinarios». Esto fue más intenso sobre todo en aquellos que estaban vinculados con estudios en seres humanos que en los que realizaban trabajos en animales de laboratorios, actitud que afortunadamente fue cambiando en los últimos años. Esto trajo como consecuencia la interrelación entre disciplinas disímiles, las cuales, aunadas en equipos que confluyen en un fin común producen resultados enriquecedores que aumentan el caudal de conocimientos.

Esto fue generado por varios factores: en primer término la necesidad de profundizar los conocimientos de diferentes patologías, teniendo como premisa fundamental que toda alteración en sus comienzos es molecular y a posteriori las mismas se traducen en alteraciones morfológicas y funcionales.

Específicamente, la dermatitis por contacto, es una entidad que posee un gran impacto social que repercute a nivel económico, por lo que las autoridades sanitarias de los países desarrollados, han puesto especial atención a la misma.

La inmunopatología se encontró fuertemente involucrada en esta entidad, ya que al comprobarse que la piel, el órgano más extenso del cuerpo, presenta un sistema inmune muy particular, que genera numerosas sustancias, lo cual originó innumerables líneas de investigación para tratar de develar los eventos fisiopatogénicos que se suceden en DAC.

Si bien aún no han sido develados todos los puntos oscuros de esta entidad, el avance de todas las disciplinas mencionadas, ha permitido plantear diferentes hipótesis y generar nuevos proyectos de investigación que día a día nos van acercando al punto central de la DAC.

Uno de los interrogantes actuales de la Inmunología y la Dermatología es por qué sólo migra una pequeña proporción de células de Langerhans hacia nódulos linfáticos para presentar el Ag.

Han sido descriptos varios factores que podrían influir en que sólo unos pocos de estos elementos cumplan el rol de presentadores de antígeno, entre ellos podría ser muy importante el estado de maduración que poseen dichas células (1,32,33,35).

Una vez que el Ag es captado, las células de Langerhans pierden la actividad ATPasa de membrana, por lo que debido a la energía provocada en la reacción, la célula comienza a producir y liberar IL-1 y otras sustancias (1,15,29). Otro factor importante es el nivel de expresión de los receptores para Interleucina y Factor de Necrosis Tumoral (FNT) los cuales son los encargados de transducir las señales para el inicio de la migración (33,36).

Las células de Langerhans, durante su migración para la presentación antigénica en el ganglio linfático, sufren modificaciones estructurales fenotípicas y funcionales. Estos cambios son producidos por la acción de diferentes citocinas como IL-1, FNT, y Factor de crecimiento granulocítico y monocítico (GM-CSF) y otras citoquinas epidérmicas.

Cuando residen en la epidermis, se encuentran en estado de reposo, con una gran capacidad para captar y procesar Ag, pero al ingresar a dermis dichas células se transforman en células indeterminadas, sufriendo nuevamente cambios estructurales. En los vasos linfáticos aferentes son denominadas "células veladas" debido al aspecto que presentan cuando se las observa por medio de la microscopía convencional: escaso citoplasma de aspecto esmerilado. En la zona paracortical de ganglio el citoplasma emite prolongaciones dendríticas, denominándose las células dendríticas interdigitantes.

A nivel fenotípico, estas células pierden marcadores de superficie, pero aumentan la expresión de algunos o expresan otros. La molécula CD1 y la E- caderina desaparecen de la superficie de estos elementos durante la migración.

En cambio, las moléculas clase II del CMH son incrementadas y adquieren en su recorrido moléculas de adhesión como ICAM-1, CD86 (B7-2) y distintas quimiocinas tales como IL 8, RANTES (epónimo que denomina a una sustancia que actúa sobre LT de memoria), o la proteína activadora del monocito (MCP-1) (1- 2) Aún no se conocen los mecanismos por los cuales comienza la migración celular, ya que dependiendo del agente que contactó con la piel, existen diferentes estímulos que causan la misma. Muchos estudios han demostrado que esta actividad, frente a distintos agentes quimiotácticos, como ocurre en la DAC, es iniciada por

citocinas proinflamatorias liberadas por queratinocitos, o por la acción directa del Ag sobre la célula de Langerhans. Esta se activa y comienza a liberar grandes cantidades de IL-1 (que cumple una acción en forma autocrina, estimulando la migración de las células de Langerhans a través del receptor tipo 1 para IL-1 (primera señal) y en forma paracrina, sobre los queratinocitos para que produzcan y liberen FNT-(, el cual va a actuar sobre los receptores tipo 2 para FNT-(expresado sobre las células de Langerhans adyacentes, proveyéndolas de la segunda señal para el inicio de su migración(39-40-41-42-43) La clínica y la epidemiología revelaron que la DAC predomina en personas laboralmente activas, con predominio del sexo femenino.

A través de MOAR y la inmunomarcación con el anticuerpo específico para la célula de Langerhans, se pudo observar este elemento en la mayoría de los especímenes estudiados con su típica morfología dendrítica, por lo que es indudable que la célula de Langerhans juega un rol preponderante en la inducción de la sensibilización hacia diferentes antígenos en esta entidad. A pesar de ello, algunas de sus acciones y comportamientos permanecen aún desconocidos.

Otro hallazgo importante fue que en todos los casos, la membrana basal presentaba alteraciones por lo que no existía una entropía entre sistemas diferentes. La matriz extracelular también se observó con alteraciones, y se conoce ya que no sólo sirve como "cemento o base" para los tejidos, sino que envía y recibe mensajes de los tejidos, interviniendo en la migración y en la puesta en marcha de diferentes señales de transducción hacia la célula.

La correlación realizada por medio de la inmunomarcación entre LT de memoria y vírgenes, permitió inferir que predominan los LT de memoria fundamentalmente en lesiones agudas y provocadas.

Otro resultado importante fue la inmunomarcación de CD4 y CD8, la cual permitió deducir que tanto en lesiones agudas como provocadas existió una desviación de la respuesta hacia los LT CD8+.

Queda aún mucho esfuerzo para develar las incógnitas de la DAC, por lo que en nuestros futuros estudios se proyecta trabajar sobre el rol de la CS-1- Fibronectina (componente de la matriz extracelular) y su posible intervención como un ligando leucocitario en esta patología, ya que es fundamental integrar las lesiones observadas en epidermis y dermis junto a la MEC, para tratar de develar el rol de la misma en esta entidad.

Este trabajo fue subsidiado parcialmente con fondos de SECyT (Secretaría de Ciencia y Técnica, Universidad Nacional de Córdoba).

Bibliografía

1. Abbas A., Lichtman A., Pober J. Inmunología Celular y Molecular. Edit Interamericana. II Edición. 1995 15-35,248-264).
2. Bos JD. The Skin as an organ of immunity. Clin Exp Immunol 1997: 107. 3-5.
3. Cotran R., Kumar V., Collins T: Robbins Patología Estructural y funcional. Editorial Interamericana. VI Edición. 2000 Cap.Nº27.
4. De Souza Sittar JA, Pires MC Dermatología para o clinico. II Edic. Edit. Lemos. Brasil 1998 Caps. 3 y 4.
5. Enk AH, Katz S.: Contact sensitivity as a model for T-cell-activation in skin. J Invest Dermatol 1995(Suppl):80-83.
6. Frede S., Martin AP, Dionisio d e Cabalier ME. Ortiz S., Serra MT. Hliba E., Serra HM. Estudio Clínico Patológico en Dermatitis por Contacto. Arch. Arg. De Dermatol. 1999:49. 113-119.
7. Enk AH, Epidermal cytokines govern immune responses of the skin. J Dermatol 1997 .24, 739-740.
8. Xu H, Dilulio NA, Fairchil RL, . T cell populations primed by hapten sensitization in contact sensitivity are distinguished by polarized patterns of cytokine production: interferon g-

producing (Tcl) effector CD8+ T cell and inteleukin (IL) 4/10 producing (TH2) negative regulatory CD4+ cells H Exp Med 1996,183:1001-12.

9. Sertoli A., Francalanci S., Acciai MC, Gola M. Epidemiological survey of contact dermatitis in Italy(1984-1993) By GIRDCA(GRUPPO Italiano Ricerca Dermatiti da Contatto e Ambientali) Am J Contact Dermat 1999, 10: 18-30.

10. Kanerva L, Lahtinen A., Toikkanen J. Forss H., Estlander T. Susitaival P., Jolanki R. Increase in occupational skin diseases of dental personnel. Contact Dermatitis. 1999;40 104-108.

11. Enk AH: Allergic contact dermatitis: understanding the immune response and potential for targeted therapy usig citokines. Mol Med Today 1997:423-428.

12. Jonuleit H, Knop J, Enk AH, Cytokines and their effects on maturation, differentiation and migration of dendritic cells. Arch dermatol Res 1996, 229. 1-8.

13. Krasteva M, Kehren J, Choquet G, Kaiserlian D, Nicolas JF. The role of dendritic cells in contact hypersensitivity. Immunol Today 1998,19. 289-291.

14. Kimber I, Dearman RJ, Cumbebatch M, Huby RJ: langerhans cells and chemical allergy. Curr Opin Immunol1998,10.614-619.

15. Baker JN, Mitra RS, Griffiths CE, Dixit VM, Nickoloff BJ. Keratinocytes as initiators of inflammation. Lancet 1991, 337. 211-214.

16. Grabbe S, Schwarz T. Immunoregulatory mechanisms involved in elicitation of allergic contact hypersensitivity. Immunol Today 1998 19. 37-44.

17. Aiba S, Terunuma A, Manome H, Tagani I, Dendritic cells differently respond to haptens and irritants by their production of cytokines and expression of co- stimulatory molecules. Eur J Immunol1997,27. 3031-3038.

18. Cumberbatch M, Dearman R, Kimber I, Langerhans cells quire signals from both tumour necrosis factor-alpha and interleukin 1 beta for migration. Immunology 1997,92 388-389.

19. Belsito DV. The rise and fall of allergic contact dermatitis. Am J Contact Dermat 1997. 8. 193-201.

20. Enk AH: Katz S., Early events in the induction phase of contact sensitivity. Proc Natl Acad Sci USA 1992;89. 1398-1402.

21. Fulbrigge RC, Kieffer JD, Armerding D., Kupper TS. Cutaneous lymphocyte antigen is a specialized form of PSGL-1 expressed on skin. homing T cell. Nature 11997,389. 978-981.

22. Cavani A., Mei D., Guerra E, Corinti S. Giani M, Pirrotta L: Patients with allergic contact dermatitis to nickel and nonallergic individuals display different nickel-specific T cell response .Evidence for the presence of effector CD8+ and regulatory CD4+ T cell. J Invest Dermatol 1998 111. 621-628.

23. Martin AP , Frede S., Ortiz S., Hliba E., Dionisio de Cabalier ME, Serra H. Pathophysiology Mechanisms of contact Dermatitis. Arch. Arg. De Alergia e Inmunología Clínica. 32 N°2 2000 48-51.

24. Kurimoto I, Grammer SF, Shimizu T, Nakamura T, Streilein JW, Role of F4/80+ cell during induction of hapten-specific contact hypersensitivity. Immunology 1995, 85. 621-625.

25. Moulon C., Wil D., Dormoy A., Weltzien HU, MHC-dependent and-independent activation fo humanl nickel. specific CD8+ cytotoxic T cells from allergic donors. J Invest Dermatol 1998, 111. 360-366.

26. Kalish RS, Johnson KL Enrichment and function of urushiol(poison ivy) specific T- lymphocytes in lesions of allergic contact dermatitis to urushiol. J Immunol 1990,145.3706-3713.

27. Nakano Y. Antigen-presenting cell function of epidermal cells activated by hapten application. *Br J Dermatol* 1998,138. 786-794.
28. Piguet PF, Grau GE, Hauser C, Vassalli P. Tumor necrosis factor is a critical mediator in hapten induced irritant and contact hypersensitivity reactions. *J Exp Med* 1991, 173. 673-679.
29. Santamaria Babi LF, Picker L, Pere Sol MT, Drzimalla K, Blaser K, Hauser C. Circulating allergen-reactive T cells from patients with atopic dermatitis and allergic contact dermatitis express the skin selective homing receptor, the cutaneous lymphocyte-associated antigen. *J Exp Med* 1995 181. 1935-1940.
30. Sinigaglia F, Scheidegger D, Garotta G., Schepper R., Pletscher M, Lanzavecchia A. Isolation and characterization of Ni-specific T cell clones from patients with Ni-contact dermatitis. *J Immunol* 1985, 135. 3929-3932.
31. Rattis FM, Peguet-Navarro J, Staquet MJ, Dezutter-Dambuyant C., Courtellemont P, Redziniak G, Schmitt D. Expression and function of B7-1(CD80) and B7-2(CD86) on human epidermal Langerhans cells. *Eur J Immunol* 1996. 449-453.
32. Schmitt D. Immune functions of the human skin. Models of in vitro studies using Langerhans cell. *Cell Biol Toxicol* 1999, 15. 41-45.
33. Springer TA: Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 1994,76:301-314.
34. Steinman R, Hoffman L, Pope M. Maturation and migration of cutaneous dendritic cell. *J Invest. Dermatol* 1995,105 (1-suppl) 2S 7S.
35. Girolomi G, Santantonio ML, Pastore S., Bergstresser PR, Giannetti A., Cruz PD. Epidermal Langerhans cells are resistant to the permeabilizing effects of extracellular ATP: in vitro evidence supporting a protective role of membrane ATPase. *J Invest Dermatol* 1993.100. 282-287.
36. Sallusto F, Lanzavecchia A, Mobilizing dendritic cells for tolerance, priming, and chronic inflammation. *J Exp Med* 1999,189,611-614.
37. Hoffman E, Flores T High resolution light microscopy in renal pathology. *Am J Clin Pathol* 1981, 76 636-639.
38. Hoffman E, Flores T, Rodríguez F, Coover J. High resolution light microscopy: Histotechnology of the future? *J Histotechnol* 1992, 15 57-65.
39. Tang I, Cyster JG, Chemokine UP-regulation and activated T cell attraction by maturing dendritic cells. *Science* 1999,92. 388-389.
40. Thomas R, Lipsky PE Human peripheral blood dendritic cell subsets. Isolation and characterization of precursor and mature antigen-presenting cell *J Immunol* 1994.153 . 1406-1428.
41. Toews GB, Bergstresser PR, Streilein JW. Langerhans cells: sentinels of skin associated lymphoid tissue. *J Invest Dermatol* 1980.75 78-82.
42. Waldorf HA, Walsh LJ, Scheter NM, Murphy GF, Early cellular events in evolving cutaneous delayed hypersensitivity in humans. *Am J Pathol* 1991,138. 477-486.
43. Yokozeki H, Katayama I, Ohki O, Arimura M, Takayama K, Matsunaga T, Satoh T, Umeda T, Azuma M, Okumura K, Nishioka K. Interferon gamma differentially regulates CD80(B7-1) and CD86(B7-2/B70) on human epidermal Langerhans cells. *Br J Dermatol* 1997,136.831-837.

LA ATOPIA SE ASOCIA CON LAS ENFERMEDADES ALÉRGICAS EN NIÑOS



Dr. Syed Hasan Arshad

Médico Consultor y Profesor Honorario. David Hide Asthma and Allergy Research Centre. St. Mary's Hospital.
Ultimo trabajo publicado: *Sensitization to common allergens and its association with allergic disorders at age 4 years: a whole population birth cohort study*, Pediatrics 108(2):e33, 2001.

Isle of Wight, Reino Unido (**especial para SIIC**)

En una entrevista concedida al **doctor Bill Hesselmar**, el **doctor Syed Hasan Arshad** se refirió a los hallazgos de su grupo de investigadores sobre la asociación entre la sensibilidad a los alérgenos y las enfermedades alérgicas en niños. El **doctor Hesselmar** es investigador del Departamento de Pediatría de la Universidad de Gotemburgo, en Suecia, y Columnista Experto de **SIIC**. Su última colaboración publicada es "Asma en niños: prevalencia, tratamiento y sensibilización" (<http://www.siicsalud.com/dato/dat024/01629000.htm>).

El **doctor Arshad** condujo una investigación en la cual se evaluó la prevalencia de sensibilización a alérgenos comunes en un grupo de niños, y su asociación con las enfermedades alérgicas.

El grupo estudiado estaba formado por una cohorte nacida entre 1989 y 1990, que había sido examinada al año y a los dos años de edad. A los cuatro años, más de 900 de estos niños fueron evaluados nuevamente, la presencia de enfermedades alérgicas se determinó mediante un cuestionario respondido por los padres, y la sensibilidad a alérgenos se identificó utilizando pruebas de estimulación cutánea.

Los expertos observaron que el 28% de los niños presentaba trastornos alérgicos (asma, rinitis o eccema), y el 19% mostraba reacciones atópicas frente a los alérgenos comunes. A partir de los datos obtenidos, concluyeron que la atopía se relaciona estrechamente con las enfermedades alérgicas. Sin embargo, la proporción de los casos de alergia atribuibles directamente a la atopía es menor al 50%.

El **doctor Arshad** ahondó en estos conceptos en su diálogo con **SIIC**.

Anteriormente, el experto ha publicado trabajos científicos en las revistas Allergy, Pediatrics y Clinical and Experimental Allergy, entre otras.

SIIC: Doctor Arshad, ¿cuál es la importancia clínica y científica de estudiar la relación entre la sensibilización a los alérgenos comunes y los trastornos alérgicos?

Dr. Hasan Arshad: El estudio de la relación con la sensibilidad a los alérgenos comunes ayuda a aclarar el papel que tiene la atopía, que se evidencia en esta sensibilización, en la patogénesis y el desarrollo de estas enfermedades.

Por otra parte, puede tener un valor pronóstico. La historia natural de estas patologías puede ser diferente cuando son mediadas por IgE, y una evaluación de esta relación mejoraría las probabilidades del médico de dar un pronóstico más exacto al individuo. Por ejemplo, se ha demostrado que un importante predictor de la persistencia de las sibilancias tempranas en los niños es la atopía.

SIIC: ¿Cómo se evaluó en el grupo estudiado la sensibilización y la incidencia de asma, rinitis y eccema?

H.A.: La sensibilización fue evaluada mediante pruebas de estimulación cutánea, con un grupo de seis alérgenos inhalados y seis alimentarios, utilizando los extractos y la metodología estandarizados. Un diámetro promedio de lesión al menos 3 milímetros mayor al del control negativo se consideró positivo.

Los investigadores realizaron un diagnóstico clínico basado en criterios bien definidos. El asma se diagnosticó con tres o más episodios diferentes de sibilancias y tos, cada uno de ellos de al menos tres días de duración. El eccema se determinó a partir de erupciones recurrentes, escamosas, con prurito y eritema, en una distribución típica, y que se prolongara durante seis o más semanas. El diagnóstico de rinitis requería de la presencia de síntomas frecuentes o estacionales de descargas nasales, con o sin bloqueo de las vías respiratorias y estornudos recurrentes.

SIIC: El concepto previo ("la marcha alérgica") sugería que la exposición llevaba a la

sensibilización, que a su vez conducía a la enfermedad alérgica. Sin embargo, diferentes alérgenos parecen tener distinta importancia en cada país. Si la exposición a un alérgeno fuese un factor de riesgo importante para el desarrollo de la enfermedad, uno podría esperar que el alérgeno tuviese similar importancia en distintos países o regiones. ¿Deberíamos verlo de la forma inversa? ¿Es tal vez el asma un factor de riesgo independiente para la sensibilización?

H.A.: El concepto de “marcha alérgica” se describe tradicionalmente para indicar la ocurrencia de alergia a los alimentos y eccema asociados con sensibilización a un alérgeno alimentario en la infancia, que da paso al asma y la rinitis con sensibilización a los alérgenos inhalados posteriormente en la niñez.

La hipótesis de la secuencia de exposición – sensibilización – enfermedad (como el asma) ha sido desafiada recientemente con la demostración de que la exposición llevaba a la sensibilización, y ésta a su vez se asociaba con el asma, pero que la exposición no se relacionaba directamente con el desarrollo del asma. Se propuso entonces que un mecanismo genético común subyacente podría predisponer tanto al asma como a la sensibilización.

Sin embargo, la secuencia de la exposición al alérgeno llevando a la sensibilización, la cual conduce al desarrollo de asma, continúa siendo el mecanismo patogénico más lógico, aunque podría no ser el único factor. Como hemos demostrado en nuestro estudio, la proporción de enfermedades alérgicas (asma, eccema y rinitis) atribuible a la atopía es de menos del 50%.

Es verdad que en diferentes países y regiones, distintos alérgenos podrían ser importantes. Por ejemplo, en las regiones costeras de Australia, los ácaros del polvo doméstico son los más importantes, mientras que en climas desérticos la alternaria adquiere importancia, y en las montañas de Los Almos el gato fue el alérgeno más importante como causa de asma.

SIIC: ¿Qué evidencias existen de la existencia de un mecanismo genético compartido para el asma y la sensibilización?

H.A.: Se ha identificado un grupo de “loci” genéticos en los cromosomas 5 y 11. Muchos de estos genes codifican proteínas que controlan la respuesta inmunológica, incluyendo la producción de IgE así como la de las citoquinas, como la IL5, importantes en la inflamación alérgica y el asma.

Una revisión sobre este tema se ha publicado en la revista *Nature*, en 1999.

SIIC: Si el concepto de “marcha alérgica” no es correcto, si el asma es un factor de riesgo para la sensibilización y no de la forma inversa, entonces tal vez deberíamos concentrarnos en los factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad y no para la sensibilización. ¿Cómo se podrían mejorar las definiciones diagnósticas en los estudios epidemiológicos?

H.A.: Si el asma es un factor de riesgo para la sensibilización, o si un mecanismo genético común es responsable por ambas, entonces deberíamos, sin dudas, concentrarnos en los factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades como el asma. La definición de la enfermedad en los estudios epidemiológicos solamente puede mejorarse con el desarrollo de medidas objetivas. Por ejemplo, el asma puede definirse como la presencia de sibilancias más hiperreactividad bronquial o rinitis como síntomas, y un resultado positivo en la prueba de estimulación nasal con histamina. Sin embargo, las pruebas de estimulación nasal o bronquial son difíciles de realizar en niños pequeños, y no están disponibles en todos los casos.

El desarrollo de biomarcadores séricos específicos podría ayudar a lograr una definición más exacta de estas enfermedades, que pueda utilizarse en estudios epidemiológicos.

SIIC: ¿Qué marcadores específicos podrían utilizarse con este fin?

H.A.: Existen varios biomarcadores que podrían ser candidatos, como las proteínas de los eosinófilos (ECP, EPO, EPX, etcétera), el óxido nítrico, y las moléculas de adhesión tales como la ICAM1. Ninguno de ellos ha demostrado tener una elevada sensibilidad o especificidad como para ser útiles en el entorno clínico o en estudios epidemiológicos, pero la búsqueda continúa.

SIIC: Si se hubiera utilizado otra definición de asma en este estudio, incluyendo solamente a los individuos que presentaron síntomas entre los cuadros infecciosos y a aquellos que respondieron a los corticoesteroides inhalados, ¿se hubiesen obtenido resultados diferentes?

H.A.: Es muy difícil asegurar cuáles hubiesen sido los resultados si se hubiese utilizado una definición diferente de la que usamos en el estudio.

La definición que utilizamos se ha empleado en numerosos estudios epidemiológicos. Las definiciones propuestas (individuos que solamente presentasen síntomas entre infecciones, y aquellos que respondiesen al tratamiento con corticoesteroides inhalados) hubiese subestimado seriamente la prevalencia de asma en nuestra población. Es poco probable que los resultados hubiesen sido diferentes, ya que ahora hemos analizado datos de seguimiento de la misma cohorte a la edad de diez años, y el uso de una definición diferente, por ejemplo las sibilancias tratadas con esteroides y las sibilancias con hiperreactividad bronquial, nos llevó a los mismos resultados. Estas observaciones aún no han sido publicadas.

SIIC: ¿Podría comentar los resultados de este seguimiento?

H.A.: A los 10 años, los niños fueron estudiados de manera intensiva, con cuestionarios, incluyendo a los del estudio ISAAC, pruebas de estimulación cutánea, determinación de IgE total y específica, pruebas de las funciones pulmonares y evaluación de la respuesta bronquial.

Los datos están aún siendo analizados, y los resultados obtenidos hasta ahora han sido presentados en varios encuentros internacionales. Algunos de ellos se presentaron en un trabajo recientemente publicado en la revista *Respiratory Medicine*.

A los diez años, la prevalencia de sibilancias actuales era del 18.9%; la de asma (definida como hiperreactividad bronquial sintomática), del 14.4%, y la de asma diagnosticado (sibilancias actuales y asma en algún momento), del 13%. Tanto el asma como las sibilancias a los 10 años se asociaron con la aparición de síntomas, en promedio, a los tres años de edad, indicando que estas patologías tienen un origen en etapas tempranas de la vida. Las sibilancias, y las sibilancias actuales con asma en algún momento, mostraron un predominio significativo en el sexo masculino.

Se observó una considerable morbilidad asociada con estas enfermedades, que tendió a ser mayor entre los niños definidos como asmáticos, que en los que solamente padecían sibilancias.

Las sibilancias y el asma se asociaron significativamente tanto con la atopía como con la comorbilidad alérgica. Los niños con estos cuadros, particularmente con asma, también presentaron alteraciones en la función pulmonar (FEV1 y FEV1/FVC), y un aumento de la hiperreactividad bronquial.

Según destaca el doctor Arshad, la relación entre la atopía y las alergias aún debe ser tema de investigación. Sus resultados, por el momento, confirman que solamente el 50% de los casos de alergia pueden ser atribuidos a la sensibilización frente a los alérgenos.

ENSAYO CLINICO DIAGNOSTICO EN ADULTOS CON EXTRACTO ALERGENICO DE *DERMATOPHAGOIDES SIBONEY*



Columnista Experto de SIIC
Dr. Olimpio Rodríguez Santos

Especialista de II Grado en Alergología. Investigador Agregado. Hospital Pediátrico Provincial Eduardo Agramonte Piña, Camagüey, Cuba

Otro trabajo publicado: «Ensayo clínico diagnóstico en niños asmáticos con extracto alérgico de *Blomia tropicalis*», *Archivos de Alergia e Inmunología Clínica* 32(4):117-120, 2001.

Camagüey, Cuba (**especial para SIIC**)

Los resultados de un ensayo clínico indican que el ácaro *D. siboney* es una causa importante de alergia en la zona norte de Camagüey, Cuba.

RESUMEN

Antecedentes. No existen antecedentes en Cuba de ensayos clínicos para estudiar la especificidad diagnóstica de una prueba con extracto alérgico de *Dermatophagoides siboney*. **Material y método.** Se realizó un ensayo clínico abierto no aleatorizado en 100 adultos con alergia al polvo casero y en 100 individuos sanos pertenecientes al municipio Esmeralda. A todos se les realizó punción cutánea con dos diluciones diferentes (20 000 UB/ml y 2 000 UB/ml), un control negativo y un control positivo. La prueba se llevó a cabo en la cara ventral o anterior del antebrazo, 5 cm por encima de la muñeca y 3 cm por debajo de la fosa antecubital. Se realizó una réplica en cada brazo y se valoraron los 4 puntos que definirían el diagnóstico de eficacia. La prueba se consideró positiva cuando el diámetro medio del habón fue igual o mayor de 3 mm y negativa cuando fue menor de 3 mm. Se estimó la validez del test realizando los cálculos de sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos.

Resultados. El test cutáneo fue positivo en el 79% de los enfermos y el 13% de los sanos, con una sensibilidad de 73.8% (intervalo de confianza 95% [IC 95%] de 64.3-81.6) y una especificidad de 87% (IC 95%, 78.4-92.6). El valor predictivo positivo fue de 85.9% (IC 95%, 76.7- 92.0) y el negativo de 75.7% (IC 95%, 66.6-83.0). El diámetro medio del habón, en los positivos, fue superior en los enfermos en ambas concentraciones del extracto. **Conclusiones.** El ácaro *D. siboney* es una causa importante de alergia en la zona norte de Camagüey.

Palabras clave: *Dermatophagoides siboney*, alergia, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo.

INTRODUCCIÓN

La historia clínica es la base para sospechar hipersensibilidad del tipo I, en tanto que las pruebas diagnósticas son utilizadas para confirmar o excluir la presencia de IgE específica.^{1,2} Diversos métodos son utilizados en los ensayos in vivo para el diagnóstico con alérgenos. Entre ellos, la prueba por punción cutánea es una de las más ampliamente utilizadas debido a que es menos dolorosa, menos riesgosa y fácil de realizar.³ El valor diagnóstico de esta prueba está dado por su especificidad, lo que depende de la calidad de los alérgenos empleados, así como de la sensibilidad de los pacientes a los que se realiza el estudio.⁴ No todos los individuos con prueba cutánea positiva tienen síntomas clínicos,⁵ por lo que la historia clínica positiva al alérgeno a estudiar es un factor importante a tener en cuenta al realizar la prueba para determinar su validez predictiva.

El diagnóstico mediante la prueba de punción cutánea se caracteriza por una alta sensibilidad.

Tanto la sensibilidad como la especificidad del diagnóstico dependen de la calidad de los extractos alérgicos empleados, específicamente de su potencia y composición alérgica. La estandarización de los extractos alérgicos en unidades uniformes de potencia alérgica, así como el control de su composición, permiten determinar las concentraciones óptimas en cuanto a sensibilidad y especificidad del diagnóstico.

El estudio de los factores ambientales que participan en la etiología de los problemas alérgicos ha avanzado ostensiblemente en los últimos años, identificando a los ácaros del polvo de habitación o ácaros domésticos como los principales agentes causales.^{6,7} El interés en los ácaros como posible causa

de desórdenes alérgicos ha estado confinado a los tres decenios pasados.⁸ En 1964 Voorhost y cols⁹ demostraron que los ácaros pertenecientes al género *Dermatophagoides* (D.) son la mayor fuente de alérgenos en el polvo casero. En Cuba los ácaros más frecuentes encontrados estudiando el polvo doméstico de pacientes asmáticos fueron por orden de frecuencia: *D. pteronyssinus*, *D. siboney* y *Blomia tropicalis*.¹⁰ La caracterización de los componentes alérgenos del ácaro *D. siboney* ha sido demostrada en fecha reciente, así como su reactividad cruzada con *D. farinae*, *D. microceras* y *D. pteronyssinus*.^{11,12} El extracto alérgico del ácaro *D. siboney* desarrollado en el Centro Nacional de Biopreparados de Cuba (BioCen) es un producto estandarizado en unidades biológicas. Al mismo se le aplican técnicas que posibilitan la identificación y control de los principales componentes alérgenos y de su potencia total. La presentación liofilizada garantiza una estabilidad satisfactoria del producto, avalada mediante estudios de estabilidad a temperaturas de 4 °C y 37 °C. La potencia del producto reconstituido es de 20 000 UB/ml, la cual debe garantizar en el paciente medio un tamaño del habón similar o ligeramente superior al de la solución de fosfato de histamina 54.3 mmol/l, empleada como control positivo. Las dosis seleccionadas se encuentran en el rango estudiado por diferentes autores en varios países, aunque es de destacar que internacionalmente aún no existe un consenso sobre la dosis óptima para este tipo de prueba.

Aun depende de los propósitos del estudio (estudios epidemiológicos, evaluación de cambios de la reactividad cutánea durante la inmunoterapia, etc.).¹³ Es nuestro propósito conocer la reactividad cutánea al ácaro *D. siboney* en pacientes alérgicos y en voluntarios sanos para determinar los valores de sensibilidad y especificidad.

MATERIAL Y METODOS

Se realizó un ensayo clínico abierto no aleatorizado en 100 adultos con alergia al polvo casero remitidos a la consulta de alergia del Policlínico Benito Viñales de Esmeralda y en 100 adultos sanos del área perteneciente al propio municipio. Todos tenían las edades comprendidas entre 16 y 50 años. Se hizo apareamiento por sexo. El estudio se realizó para determinar la especificidad de la prueba cutánea con relación al diagnóstico clínico de alergia a *D. siboney*. Previo consentimiento informado, se realizó en cada grupo la prueba por punción cutánea en duplicado y para ello, se utilizó el extracto en estudio en dos diluciones diferentes (20 000 UB/ml y 2 000 UB/ml), un control negativo y un control positivo.

La prueba se realizó en la cara ventral o anterior del antebrazo, 5 cm por encima de la muñeca y 3 cm por debajo de la fosa antecubital. Dicha zona se limpió con alcohol etílico al 70%. Los puntos donde se depositaron las distintas sustancias a valorar se marcaron con un bolígrafo, con una separación de 2 cm entre ellos. Se realizó una réplica en cada brazo y se valoraron los 4 puntos que definirían el diagnóstico de eficacia.

- Punto 1. Control negativo (solución tampón fosfato pH 7.4, con fenol al 0.4% y albúmina humana al 0.03%).
- Punto 2. Extracto alérgico *D. siboney* (20 000 UB/ml).
- Punto 3. Extracto alérgico *D. siboney* (2 000 UB/ml).
- Punto 4. Control positivo (fosfato de histamina 54.3 mmol/l).

Se aplicó una gota de cada sustancia en los puntos marcados y se insertó la lanceta de 1 mm a través de la gota en un ángulo de 90° con respecto a la piel, manteniendo la presión estable sobre la lanceta durante un segundo; una vez retirada, se procedió a secar la gota con algodón.

Pasados 15 minutos de la punción, se contorneó con un bolígrafo el habón producido en el sitio de cada prueba y se transfirió a una cinta adhesiva transparente mediante presión sobre el dibujo de la reacción. El registro obtenido en la cinta se transfirió al protocolo de trabajo. Se midió el diámetro medio del habón y el diámetro ortogonal y se calculó la media. Se calculó la media del tamaño del habón de los duplicados, lo que constituyó el tamaño de la reacción. La prueba se consideró positiva cuando el diámetro medio del habón fue igual o mayor de 3 mm y negativa cuando fue menor 3 mm.

Se estimó la validez del test, realizando los cálculos de sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos.

RESULTADOS

Se estudiaron 100 adultos con alergia al polvo casero y 100 sanos de 16 a 50 años de edad del área correspondiente al municipio Esmeralda, provincia de Camagüey. Con respecto al sexo, la cifra fue de 51 masculinos y 49 femeninos en cada grupo (tabla 1). En la tabla 2 se observa que predominaron los

enfermos que padecían asma combinada con rinitis, con 48 casos.

TABLA 1. Distribución por sexo en adultos alérgicos y en controles sanos.

Sexo	Enfermos	Sanos
Masculino	51	51
Femenino	49	49
Totales	100	100

TABLA 2. Distribución según presencia de enfermedad.

Enfermos	Número
Rinitis	24
Asma bronquial	28
Rinitis / asma bronquial	48
Total	100

La distribución según resultados del test cutáneo fue positivo en el 79% de los enfermos y 13% en los sanos, para una sensibilidad de 73.8% (IC 95%, 64.3-81.6) y una especificidad de 87% (IC 95%, 78.4-92.6). El valor predictivo positivo fue de 85.86% (IC 95%, 76.7-92.0) y el negativo de 75.7% (IC 95%, 66.6-83.0). El diámetro medio del habón en los positivos, fue superior en los enfermos en ambas concentraciones del extracto (tablas 3 y 4).

TABLA 3. Distribución de la muestra según resultados del test cutáneo con *D. siboney*.

	Enfermos	Sanos
Positivos	79	13
Negativos	28	87
Totales	100	100

TABLA 4. Diámetro medio del habón en los positivos.

Concentración en UB	Enfermos	Sanos
20 000	7.19	4.9
2 000	5.39	3.94

DISCUSION

En este estudio definimos que los adultos con alergia al polvo casero presentaron alergia al extracto alérgico *D. siboney*; mostrándose el valor diagnóstico de prueba por la sensibilidad y especificidad cuyos valores están próximos o muy por encima del 80% en ambos casos lo que nos permite con un nivel

aceptable de confiabilidad identificar a los enfermos y a los sanos. Estudios anteriores en esta misma zona habían mostrado resultados similares.¹⁴ La proporción de individuos con la prueba positiva que padecen asma bronquial, rinitis o ambas cosas y la proporción de individuos con prueba negativa que no tienen la enfermedad nos llevan a inferir que *D. siboney* es una importante causa de alergia en nuestra población adulta con una probabilidad anterior a la prueba o prevalencia de 73%, cifra similar a la encontrada en un estudio realizado en 219 adultos del municipio Bejucal, Provincia Habana.¹⁵

BIBLIOGRAFIA

1. Dreborg S. Skin testing. The safety of skin tests and the information obtained from using different methods and concentrations of allergen. *Allergy* 1993; 48: 473-475.
2. Niemeijer NR, Fluks AF, De Monchy JGR. Optimization of skin testing II. Evaluation of concentration and cut-off values, as compared with RAST and clinical history, in a multicenter study. *Allergy* 1993; 48: 498-503.
3. Haahtela T. Skin test used for epidemiological studies. Position paper: Allergen standardization and skin testing. The European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 1993; 48: 76-80.
4. Dreborg S. Standardization of allergenic preparations by in vitro and in vivo methods. Position paper: Allergen standardization and skin testing. The European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 1993; 48: 63-70.
5. Sub Committee on Skin Test of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology: Skin test used in type I allergy testing. Ed. S Dreborg, Munksgaard Copenhagen, 1989 (10,44): 31-37.
6. Moreno L, Caraballo L, Puerta L. Importancia Médica de los alérgenos de ácaros domésticos. *Biomédica* 1995; 15: 93-103.
7. Spieksma F. Domestic mites: their role in respiratory allergy. *Clin Exp Allergy* 1991;21: 655- 60.
8. Van Hage - Hamsten M. Dermatophagoides siboney and Blomia tropicalis dust mites of subtropical and tropical areas. *Clin Exp Allergy* 1995; 25: 905-7.
9. Voorhost R, Spieksma-Boezman MIA Spieksma FTM. Is a mite (Dermatophagoides sp) the produce house-dust allergen? *Allergic Asthma* 1964;10: 329-34.
10. Cuervo N, Dusbabek F, De la Cruz J, Abreu R. Los ácaros (Acarina: Pyroglyphidae, Cheyletidae, Sargolyphidae y Glycyphagidae) de los polvos domésticos en Cuba. *Rev Cub Med Trop* 1983;35: 83-103.
11. Ferrándiz R, Casas R, Dreborg S, Einarrsson R, Bonachea I. Characterization of allergenic components from house dust mite Dermatophagoides siboney. Purification of Der s1 and Der s 2 allergens. *Clinical and Experimental Allergy*;25:922-28.
12. Ferrándiz R, Dreborg S. Analysis of Individual Cross-Reacting Allergens between Dermatophagoides siboney and other mites by immunoblot inhibition. *Int Arch Allergy Immunol* 1997;113: 238-39.
13. Niemeijer NR, Goedewaagen B, Kauffman HF, De Monchy JGR. Optimization of skin testing I. Choosing allergen concentration and cut-off values by factorial design. *Allergy* 1993; 48: 491-97.
14. Pastorello EA. Skin tests for diagnosis of IgE - mediated allergy. Position paper: Allergen standardization and skin testing. The European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 1993; supl14, 48: 57-62.
15. Rodríguez Santos O, Labrada A, yedra AM. Rinitis y pólipos nasales. Su relación con ácaros domésticos. *Revista Alergia México* 2000; 47(2): 78-81.
16. Martínez N, Aranda R, Casas R, Garriga S, Labrada A. Epidemiological study of the sensitization to common inhalant allergens in Cuba. *Allergy and Clinical Immunology International* 1997; Sup 4: 48.