



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"
I.S.S.S.T.E**

No DE REGISTRO 161-2010

**"LINFOCITOS T REGULADORES CD4+CD25+FOX-P3+
EN PACIENTES CON RINITIS ALERGICA"**

**T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE:
ESPECIALISTA EN ALERGIA E
INMUNOLOGIA CLINICA
PRESENTA:
DRA. ERIKA CORIA RAMIREZ**

**ASESORES DE TESIS
DRA. MARIA EUGENIA VARGAS CAMAÑO
DRA. ISABEL CASTREJON VAZQUEZ
Q.F.B GUILLERMO GARCIA CASTILLO**



México, D.F.

Agosto 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dr. Mauricio Di Silvio López
Subdirector de Enseñanza e Investigación

Dra. María Eugenia Vargas Camaño
Asesor de Tesis
Profesor Titular del Curso de Alergia e Inmunología Clínica

Dra. Isabel Castrejón Vázquez
Coasesor de Tesis

Q.F.B Guillermo García Castillo
Coasesor de Tesis

Dra. Erika Coria Ramírez
Autor de Tesis

AGRADECIMIENTOS

Q.F.B Claudia Zepeda García

Laboratorista Joaquín Méndez Medina

Por su apoyo metodológico en la determinación de la proteína FOX-P3

INDICE

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. JUSTIFICACION	12
3. PREGUNTAS DE INVESTIGACION	13
4. HIPOTESIS	14
5. OBJETIVOS	15
6. MATERIALES Y MÉTODOS	16
A. Universo de trabajo	16
B. Selección de la muestra	16
C. Tipo de estudio	16
D. Criterios para ingresar al estudio	16
E. Descripción de variables	17
F. Procedimiento	24
G. Análisis estadístico	25
7. CONSIDERACIONES ÉTICAS	26
RESULTADOS	27
DISCUSION	35
CONCLUSIONES	37
BIBLIOGRAFIA	38
ANEXOS	41

RESUMEN

EXPRESION DE CD25 Y FOX-P3 EN LINFOCITOS DE PACIENTES CON RINITIS ALERGICA

INTRODUCCION: La rinitis alérgica es una de las enfermedades alérgicas más comunes. Afecta hasta el 25% de la población mundial. Muestra un alto impacto en la calidad de vida de los pacientes que la padecen ya que interfiere con las actividades de la vida cotidiana afectando la esfera laboral y escolar. De no ser tratada puede desencadenar otras enfermedades como asma, otitis o sinusitis entre otras. Recientemente se ha descrito que la expresión de la proteína FOX-P3 está involucrada en la fisiopatogenia de la rinitis alérgica ya que sus niveles de expresión se encuentran bajos en los padecimientos alérgicos pero pueden incrementar con la inmunoterapia específica.

OBJETIVO: Comparar los niveles de expresión de CD4+CD25+Fox-P3+ en linfocitos de pacientes con rinitis alérgica sin inmunoterapia con los de pacientes con inmunoterapia específica (ITE).

MATERIAL Y METODOS: Se incluyeron 59 pacientes con rinitis alérgica, 29 con ITE y 30 sin dicho tratamiento. Con edades comprendidas entre los 18 a 60 años. Se determinó mediante citometría de flujo la proteína FOX-P3, así como subpoblaciones linfocitarias. Se determinó mediante nefelometría el perfil de inmunoglobulinas séricas, biometría hemática completa y citología nasal. Se realizaron pruebas intradérmicas para identificar los alérgenos responsables de la rinitis alérgica. Se obtuvo el promedio y la desviación estándar de las variables comentadas. Se calculó la U de Mann-Whitney para evaluar la diferencia entre los grupos. Todos los pacientes dieron su consentimiento por escrito para participar en el estudio.

RESULTADOS: En el grupo de pacientes con rinitis alérgica con ITE el 27.5% eran hombres y el 72.5% mujeres, con edad promedio de 36.4 años. En el grupo sin ITE el 36.6% eran hombres y el 63.4% mujeres, con una edad promedio de 40.4 años. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de IgA, IgM, IgG total e IgE. Se observaron niveles mayores de IgG4 en el grupo de pacientes con ITE pero estos valores no mostraron significancia estadística (82.1 Vs 72.4 $p=0.67$). En cuanto al nivel de expresión de FOX-P3, se encontró con niveles mayores en los pacientes sin ITE en comparación con el grupo de pacientes con ITE pero los valores no mostraron significancia estadística (8.2. Vs 7.9 $p=0.57$).

CONCLUSIONES: Los pacientes con rinitis alérgica que no han recibido inmunoterapia específica no muestran diferencia en los niveles de expresión de FOX-P3 en comparación a los pacientes que han recibido este tratamiento por más de un año. La IgG4 es mayor en los pacientes con rinitis alérgica que han recibido inmunoterapia específica. Los pacientes con rinitis alérgica tienen riesgo de presentar comorbilidades propias de alteraciones en la regulación de la respuesta inmune como son autoinmunidad y cáncer.

1. INTRODUCCION

RINITIS ALERGICA

Epidemiología

La rinitis alérgica clínicamente se define como un trastorno sintomático de la nariz que es debido a una inflamación mediada por inmunoglobulina E (IgE) después de la exposición de las membranas que recubren la nariz a un alérgeno. Los síntomas de rinitis incluyen rinorrea, obstrucción nasal, prurito nasal y estornudos que son reversibles espontáneamente o bajo tratamiento apropiado ¹.

La rinitis alérgica representa un problema global de salud. Es una enfermedad extremadamente común, afectando del 10-25% de la población a nivel mundial¹. Sin embargo, en ocasiones se subestiman los síntomas, lo cual hace que una proporción importante sea subdiagnosticada. La rinitis alérgica no es una enfermedad severa pero altera de manera significativa la vida social de los pacientes, la actividad escolar así como la productividad laboral ^{2,3}.

Los costos causados por esta enfermedad son altos. Además, se asocia con otras comorbilidades como asma, sinusitis, otitis media, poliposis nasal, infección del tracto respiratorio inferior y alteraciones de la oclusión dental ⁴.

Clasificación

Previamente, la rinitis alérgica se dividió, basada en el tiempo de exposición, en estacional, perenne y ocupacional. La rinitis alérgica perenne es causada más frecuentemente por alérgenos intradomiciliarios como son polvo, insectos, moho y caspas de animales. La rinitis alérgica estacional se relaciona con una amplia variedad de alérgenos extradomiciliarios como los pólenes o mohos ^{5,6,7}. Sin embargo, esta clasificación no es satisfactoria debido a:

- Hay algunos lugares donde los pólenes y mohos son alérgenos perenes (pasto).
- Los síntomas de alergia perenne no siempre están presentes a lo largo de todo el año.
- La mayoría de los pacientes están sensibilizados a muchos alérgenos diferentes y por lo tanto presentan síntomas a lo largo del año. En muchos pacientes, los síntomas perennes están presentes y presentan exacerbaciones estacionales cuando se exponen a pólenes o mohos.
- Muchos pacientes con alergia al polen también son alérgicos a los hongos por lo que es difícil definir la época estacional.

La Organización Mundial de la Salud emitió una clasificación que hace mención especial en la coexistencia que presenta la rinitis alérgica con asma, pudiendo esta última presentar exacerbaciones cuando se presenta actividad de la rinitis alérgica, por lo que se debe investigar la presencia de ambas entidades en los pacientes con enfermedad alérgica de la vía respiratoria. Además, propone que la severidad de la rinitis alérgica sea en base a la frecuencia de presentación de los síntomas así como su interferencia con las actividades de la vida cotidiana, lo cual, muestra el impacto que puede tener esta condición y no únicamente si se trata de un proceso estacional o perenne. Así la divide en leve (no interfiere con actividades de la vida cotidiana) o moderada/severa (interfiere con el sueño, ejercicio, actividades laborales y escolares), intermitente (menos de 4 días a la semana o menos de 4 semanas) o persistente (más de 4 días a la semana o más de 4 semanas), pudiendo combinarse estas categorías ¹.

Patogénesis

La IgE es un anticuerpo producido por las células plasmáticas que se encuentran en las superficies mucosas de los ojos, las vías respiratorias superiores e inferiores y el intestino similar a la distribución de la IgA. La IgE se une a receptores específicos de alta afinidad en los basófilos y células cebadas designados FcεRI. La unión de un alérgeno a dos moléculas específicas de IgE en la superficie celular es suficiente para causar activación de estas células, lo cual ocasiona liberación de mediadores vasoactivos como histamina, triptasa, leucotrienos, prostaglandinas y varias citocinas y quimiocinas ⁸. Los síntomas de la reacción alérgica inmediata (fase temprana) estornudos, prurito, rinorrea y congestión nasal son debidos a dichos mediadores. Los factores quimiotácticos ocasionan la migración de células inflamatorias como basófilos, eosinófilos y leucocitos polimorfonucleares. El reclutamiento de estas células se acompaña de liberación de sustancias vasoactivas, lo que culmina en la reacción retardada (fase tardía) con una recrudescencia de los síntomas. Con una exposición única a un alérgeno, las fases temprana y tardía son fáciles de reconocer, esta última ocurre 4 a 6 horas de la reacción inicial ⁹. Con la exposición persistente, como con los alérgenos intradomiciliarios como el polvo o las caspas de animales, el proceso inflamatorio de fase tardía es continuo lo que da lugar a síntomas crónicos. Está bien descrito que con los alérgenos extradomiciliarios como el polen, posterior a la exposición previa, la persistencia de la inflamación resulta en mayor sensibilidad a las exposiciones subsecuentes, con menores cantidades de polen necesarias para desencadenar los síntomas, los cuáles suelen ser más intensos.

La producción de un anticuerpo del tipo IgE es secundaria a un cambio en la producción de citocinas de las células Th hacia un perfil Th2. Son tres las citocinas centrales en la participación de este fenotipo alérgico, IL-4, IL-13 e IL-5, las primeras

dos causan un cambio de isotipo de las células B hacia la producción de IgE. La IL-5 es crucial para la activación y supervivencia de los eosinófilos. Una vez que este cambio hacia un perfil Th2 ocurre tiende a perpetuarse. Las personas atópicas probablemente se encuentren genéticamente predispuestas al fenotipo Th2⁸.

La sensibilización que ocurre en la rinitis alérgica es casi siempre debida a factores transportados en el aire que son inhalados. Estos aeroalergenos pueden emanar de fuentes intra o extradomiciliarias y pueden ser perennes, relativamente constantes o tener picos estacionales. Las fuentes extradomiciliarias son casi invariablemente de origen vegetal o fúngico, usualmente, granos de polen o esporas de hongos; frecuentemente ocasionan picos estacionales, lo cual ayuda a identificar al aeroalergeno desencadenante¹⁰. Los alérgenos intradomiciliarios con mayor frecuencia provienen de origen animal: ácaro del polvo, cucarachas o caspas de animales. Con menor frecuencia, pero posible, los síntomas son debidos a esporas de hongos, especialmente cuando existe humedad. A pesar de que las exposiciones a este tipo de alérgenos son de naturaleza perenne, también se presentan picos estacionales: al ácaro del polvo en el final del verano o a principios del otoño, a caspas de gatos y perros al final del invierno y a la cucaracha en verano¹¹.

Linfocitos CD4+CD25+FOXP3+

Recientemente se ha identificado una variedad de células T supresoras o reguladoras (Treg) que se desarrollan como parte normal del sistema inmune (T reguladoras naturales) o en respuesta a exposición de antígenos (T reguladoras de Adaptación)¹².

Las células T reguladoras mejor caracterizadas, son células T CD4 que expresan constitutivamente altos niveles de moléculas de superficie CD25 (el receptor de la IL-2 de una cadena: las células T CD25hi)¹³. A diferencia de las células Th CD4, estas

células CD25hi **NO** proliferan o producen citocinas cuando se estimulan con un antígeno en el laboratorio, pero suprimen activamente la proliferación y la producción de citocinas de células T (denominadas efectoras). Deben su fenotipo de supresión en gran parte a la expresión de altos niveles de factor de transcripción Foxp3.

Desde la década de 1970, se propuso que las células T supresoras son capaces de inhibir otras células T, y de ese modo mediar la tolerancia inmunológica y la discriminación de lo propio y no propio ^{14,15, 16}. A mitad de los 90s una nueva subpoblación de células supresoras fue propuesta, las cuales expresaban CD4 y fueron nombradas células T reguladoras ¹⁷. La función principal de las células T reguladoras fue originalmente definida como la prevención de enfermedades autoinmunes manteniendo la autotolerancia ¹⁸. Con los años, varias funciones adicionales se han sugerido y será de gran importancia aclarar el papel que realmente poseen las células Treg en el sistema inmune. Una de las funciones que recientemente se ha observado es la regulación de la alergia ^{19, 20, 21}, inducción de la tolerancia contra antígenos de la dieta ^{22, 23, 24, 25}, inducción de tolerancia materna al feto ²⁶, protección de bacterias comensales para eliminación por el sistema inmune ²⁷.

La producción de IL-10 de las células T tiene la capacidad de suprimir la producción de citocinas derivadas de células Th2 estimuladas por alérgeno, como la producción de IL-4 de células T efectoras, a través de mecanismos que incluyen producción de IL-10, el TGF- β , CTLA-4 y PD-1. Se ha observado que en pacientes atópicos la producción de IL-10 por células T reguladoras está reducida y la producción de IL-4 aumenta. Esto sugiere que las células T CD4+CD25+ que producen la IL-10 tienen la posibilidad de suprimir la respuesta patógena Th2 y que esta supresión puede ser defectuosa o se reemplaza en pacientes con enfermedad alérgica ²⁸.

Se han reportado pocos estudios acerca los niveles de linfocitos T CD4+CD25+FoxP3+ y su asociación con procesos alérgicos. Se han observado resultados contradictorios en los niveles de células Treg en pacientes con rinitis alérgica ya que al compararlos con sujetos sanos se han identificado niveles disminuidos, normales o aumentados ^{29,30,31}, esto ha sido debido a que únicamente

se ha determinado la presencia de células Treg en base a CD25, el cual, por sí solo, es un marcador inespecífico de activación de linfocitos T, por lo que es necesario determinar los niveles de expresión de Fox-P3 para evaluar de manera más precisa los niveles de células Treg.

Diagnóstico

El diagnóstico se realiza en base al cuadro clínico: la presencia de prurito nasal y estornudos, la severidad y progresión de los síntomas, el predominio estacional, los factores desencadenantes, la exposición ambiental, el uso de medicamentos y factores que disminuyen la sintomatología. La historia familiar de enfermedad atópica sugiere rinitis alérgica. A la exploración física se puede encontrar una coloración azulada por debajo de los ojos, “ojeras alérgicas” y el signo de Dennie-Morgan, los cuales son secundarios a edema. La línea transversa en el dorso de la nariz se ve en niños que empujan sus palmas bajo de la nariz de manera crónica en respuesta al prurito o a la rinorrea. Los cornetes se observan edematosas, congestivas y eritematosas. Se puede observar hiperplasia linfoide en la faringe posterior. Se puede presentar respiración oral secundaria a la obstrucción nasal que puede causar la llamada “facies alérgica”³².

Se puede realizar determinación de anticuerpos IgE específicos tanto en secreción nasal como en suero. Pero el diagnóstico con mayor sensibilidad y costo efectividad lo tienen las pruebas cutáneas, ya sea por prick o mediante pruebas intradérmicas³³.

Otra herramienta diagnóstica son la citología en moco nasal y la determinación de óxido nítrico, este último aún no se encuentra disponible en la mayoría de los centros¹.

Tratamiento

Una vez que se ha realizado el diagnóstico de rinitis alérgica y va a iniciarse el tratamiento debe tomarse en cuenta que los objetivos son disminuir la frecuencia y severidad de los síntomas que afectan el sueño y las actividades de la vida cotidiana con los mínimos efectos adversos.

Los medicamentos generalmente son administrados vía oral o intranasal, la eficacia de los medicamentos varía entre los pacientes. Una vez que los fármacos ya no son administrados su eficacia se detiene y generalmente hay recaída de los síntomas, por lo que deben mantenerse por largos períodos en la rinitis alérgica persistente¹.

Los antihistamínicos de primera y segunda generación disminuyen los síntomas, se prefieren los de segunda generación por sus menores efectos adversos. Los glucocorticoides intranasales son los medicamentos más eficaces disponibles para el tratamiento de la rinitis alérgica, mejoran todos los síntomas y dado que su absorción sistémica es mínima son bajos los efectos adversos. La máxima eficacia se alcanza a las 2 semanas de iniciar el fármaco³⁴.

Otros medicamentos que se encuentran disponibles son los antagonistas del receptor de leucotrienos, los cuales han demostrado superiores al placebo para el control de la rinitis alérgica¹.

Inmunoterapia Específica

La terapia de desensibilización consiste en inyecciones, y más recientemente, la ingestión de extractos de alérgenos, funciona como un modificador inmunitario específico de antígeno, aunado a la farmacoterapia sintomática es eficaz. Está indicado cuando a pesar de los medicamentos no existe mejoría de los síntomas alérgicos y cuando no es posible evitar la exposición del alérgeno. Estudios clínicos

controlados han demostrado la eficacia de la inmunoterapia específica en la rinitis alérgica, así como otras enfermedades como asma y anafilaxia por veneno de himenópteros. Se inyectan por vía subcutánea o se ingieren por vía oral cantidades mayores de proteínas alérgicas una o dos veces por semana, hasta una dosis máxima tolerada (por lo general 100 000 veces la dosis inicial, equivalente a 2 a 100 µg del alérgeno principal. Los beneficios clínicos prolongados parecen continuar después de interrumpir la inmunoterapia luego de 3-4 años de tratamiento³⁵.

La inmunoterapia con alérgenos se individualiza en base a la historia clínica y pruebas específicas para alérgenos. Como la mayoría de pacientes atópicos son alérgicos a múltiples alérgenos, el tratamiento por lo general consiste en mezclas de éstos³⁵.

La inmunoterapia con alérgenos a diferencia del tratamiento farmacológico y el tratamiento de prevención pueden mejorar el curso natural de la enfermedad alérgica. En individuos alérgicos la interrupción de la farmacoterapia produce recurrencia de los síntomas al repetir la exposición al alérgeno. Como la inmunoterapia altera la respuesta inmunitaria específica subyacente, su efecto persiste mucho después de que se ha interrumpido y puede provocar la cura para algunos individuos³⁶.

El objetivo de la inmunoterapia específica es incrementar la conversión de una respuesta inmunitaria específica para un alérgeno de tipo patológico en una protectora. Se ha descrito que se induce la producción de anticuerpos IgG específicos contra el alérgeno, especialmente anticuerpos del tipo IgG4, los cuales poseen una función "bloqueadora" porque inhibe la unión de la IgE al alérgeno. También pueden detectarse anticuerpos bloqueadores de isotipos IgA. Durante el tratamiento de mantenimiento estos anticuerpos persisten pero disminuyen

gradualmente hasta que se interrumpe el tratamiento. También se ha observado incremento en citocinas como IL-10 y TGF- β , las cuales suprimen la función de las células Th2, Th1, células cebadas, eosinófilos y regulan la producción de isotipos de inmunoglobulinas por las células B, disminuyendo los niveles de IgE³⁷.

Aún se desconocen muchos de los mecanismos inmunológicos involucrados en la inmunoterapia específica, por lo que el conocimiento de estos mecanismos de acción permitirá el desarrollo de nuevas inmunoterapias y más eficaces.

2. JUSTIFICACION.

Conocer los procesos inmunológicos que participan en la generación o en mantener los procesos alérgicos ayudaría a describir los mecanismos fisiopatológicos de la rinitis alérgica y podría ser de utilidad en el seguimiento de la respuesta al tratamiento así como para proponer blancos terapéuticos.

Recientemente, se ha propuesto que la participación de los linfocitos CD4+CD25+ FOXP3+ podría jugar un papel preponderante en la patogenia de las enfermedades alérgicas, por lo que identificar si existe diferencia en los niveles de expresión de estas células en pacientes con rinitis alérgica entre quienes han recibido inmunoterapia comparado con los que no sería de utilidad en el diagnóstico, seguimiento y pronóstico de estos pacientes.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACION.

¿Es diferente la expresión de los linfocitos CD4+CD25+FOX-P3+ en pacientes con rinitis alérgica sin inmunoterapia específica comparada con pacientes que han recibido inmunoterapia específica?

4. HIPOTESIS.

Los pacientes con rinitis alérgica que no han recibido inmunoterapia tendrán niveles de expresión de CD4+CD25+Fox-P3+ significativamente menores en comparación con los pacientes que han recibido inmunoterapia.

5. OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL

Comparar los niveles de expresión de CD4+CD25+Fox-P3+ en linfocitos de pacientes con rinitis alérgica sin inmunoterapia con los de pacientes con inmunoterapia específica.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Cuantificar el número de linfocitos CD4+CD25+Fox-P3+ de pacientes con rinitis alérgica con y sin inmunoterapia.

Cuantificar los niveles de inmunoglobulinas, eosinófilos en secreción nasal, leucocitos y su diferencial y subpoblaciones linfocitarias de pacientes con rinitis alérgica y compararlos entre ambos grupos.

6. MATERIALES Y MÉTODOS.

A. Universo de trabajo.

- Pacientes con el diagnóstico de rinitis alérgica tratados en la consulta del servicio de Inmunología Clínica y Alergia del CMN 20 de Noviembre ISSSTE.

B. Selección de la muestra.

Se incluyeron a todos los pacientes que reunían los criterios de inclusión de manera consecutiva. 30 pacientes con el diagnóstico de rinitis alérgica sin inmunoterapia y 30 pacientes con inmunoterapia específica. Se realizó muestreo no probabilístico de casos consecutivos.

C. Tipo de estudio.

Estudio transversal, observacional, analítico.

D. Criterios para ingresar al estudio.

D.1. Criterios de inclusión.

- Mayores de 18 años y menores de 60.
- Ambos sexos.
- Con diagnóstico de rinitis alérgica: historia clínica compatible confirmada por exploración clínica, pruebas cutáneas intradérmicas positivas a alérgenos ambientales comunes o estudios de laboratorio (eosinófilos en moco nasal y niveles de IgE).
- Pacientes con y sin inmunoterapia específica.
- Quienes aceptaron y firmaron carta de consentimiento informado para participar en el estudio.

D.2. Criterios de exclusión.

- Pacientes de quienes no se contaba con los estudios inmunológicos completos.
- Que no aceptaron participar en el estudio

E. Descripción de variables.

Severidad de la rinitis alérgica:

DEFINICION CONCEPTUAL: Frecuencia de presentación de los síntomas de rinitis alérgica y su interferencia con las actividades de la vida cotidiana.

DEFINICION OPERACIONAL: Grado de severidad en base a la declaración propuesta por la Organización Mundial de la Salud en base a ARIA (allergic rhinitis and its impact on asthma).

ESCALA DE MEDICION: Ordinal.

UNIDADES DE MEDICION: Leve (no interfiere con actividades de la vida cotidiana) o moderada/severa (interfiere con el sueño, ejercicio, actividades laborales y escolares), intermitente (menos de 4 días a la semana o menos de 4 semanas) o persistente (más de 4 días a la semana o más de 4 semanas).

Alérgeno:

DEFINICION CONCEPTUAL: Sustancia que puede inducir una reacción de hipersensibilidad (alérgica) en personas susceptibles, que han estado en contacto previamente con el alérgeno.

DEFINICION OPERACIONAL: Sustancias volátiles que pueden desencadenar una reacción de hipersensibilidad tipo I en individuos susceptibles.

ESCALA DE MEDICION: Categórica.

UNIDAD DE MEDICION: Pólenes, caspas de animales y hongos.

MARCADORES SEROLÓGICOS

- Subpoblaciones de linfocitos

CD3:

DEFINICION CONCEPTUAL: Grupo de diferenciación 3. Es un antígeno que pertenece al grupo de proteínas de diferenciación de las células del sistema inmune, forma parte del receptor de células T (TCR) en linfocitos T maduros.

DEFINICION OPERACIONAL: Determinación de este antígeno por citometría de flujo.

ESCALA DE MEDICION: Cuantitativa continua

UNIDAD DE MEDICION: Número de células/mL

CD4:

DEFINICION CONCEPTUAL: Grupo de diferenciación 4. Es una glicoproteína expresada en la superficie de los linfocitos T, células T reguladoras, los monocitos, macrófagos y células dendríticas. Es miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas, co-receptor que permite al receptor de células T (TCR) activar sus células T después de la interacción con células presentadoras de antígenos. Interactúa directamente con las moléculas MHC de clase II en la superficie de las células presentadoras de antígenos mediante su dominio extracelular.

DEFINICION OPERACIONAL: Determinación de este antígeno por citometría de flujo.

ESCALA DE MEDICION: Cuantitativa continua.

UNIDAD DE MEDICION: Número de células/mL.

CD8:

DEFINICION CONCEPTUAL: Grupo de diferenciación 8. Es una glucoproteína transmembrana que sirve como co-receptor para el receptor de células T (TCR). Al igual que el TCR, CD8 se une al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de la molécula pero es específico para la proteína de MHC de clase I.

DEFINICION OPERACIONAL: Determinación de este antígeno por citometría de flujo.

ESCALA DE MEDICION: Cuantitativa continua.

UNIDAD DE MEDICION: Número de células/mL.

RELACION CD4/CD8:

DEFINICION CONCEPTUAL: Es el cociente de los niveles de los linfocitos CD4 entre los niveles de linfocitos CD8.

DEFINICION OPERACIONAL: Cociente de los niveles de CD4 entre los niveles de CD8.

ESCALA DE MEDICION: Cuantitativa continua.

UNIDAD DE MEDICION: No tiene.

Proteína FOX-P3

DEFINICION CONCEPTUAL: FOXP3 (Forkhead box P3) es un gen implicado en las respuestas del sistema inmunológico. Es un miembro de la familia de proteínas FOX, funciona como regulador maestro en el desarrollo y función de las células T reguladoras. El mecanismo preciso de control aún no se ha establecido, las proteínas FOX pertenecen a la familia de reguladores transcripcionales forkhead/winged-helix y se asume que ejercen control a través de interacciones con un ADN similar durante la transcripción.

DEFINICION OPERACIONAL: Determinación de esta proteína por citometría de flujo.

ESCALA DE MEDICION: Cuantitativa continua.

UNIDAD DE MEDICION: Porcentaje de células T CD4+ que lo expresan.

Eosinófilos en secreción nasal:

DEFINICION CONCEPTUAL: Es la presencia de eosinófilos en el moco nasal como consecuencia de la IL-5 que favorece su migración y supervivencia en este sitio, se produce en estados de rinitis alérgica y procesos inflamatorios.

DEFINICION OPERACIONAL: Determinación de eosinófilos en moco nasal extraído mediante hisopo con tinción de Wright.

ESCALA DE MEDICION: Cuantitativa continua.

UNIDAD DE MEDICION: Porcentaje

Cuenta diferencial de leucocitos en biometría hemática:

DEFINICION CONCEPTUAL: Los leucocitos son un conjunto heterogéneo de [células](#) sanguíneas que son los efectores celulares de la respuesta inmune, así intervienen en la defensa del organismo contra sustancias extrañas o agentes infecciosos ([antígenos](#)).

Neutrófilos: Los neutrófilos, denominados también polimorfonucleares (PMN), son [glóbulos blancos](#) de tipo [granulocito](#). Miden de 12 a 18 [µm](#) y es el tipo de [leucocito](#) más abundante de la sangre en el [ser humano](#). Se presenta del 60 al 75%.

Eosinófilos: [Leucocito granulocito](#) pequeño, posee gránulos [citoplásmicos](#); estas [proteínas](#) granulares son responsables de muchas funciones [proinflamatorias](#), principalmente en la [patogénesis](#) de las enfermedades [alérgicas](#), como [célula](#) efectora de [hipersensibilidad](#) inmediata, así como en la muerte de [parásitos](#).

Linfocitos: Están comprendidos dentro de los [agranulocitos](#). Son los leucocitos de menor tamaño (entre 7 y 15 [µm](#)), y representan del 24 a 32% del total en la [sangre](#) periférica. Los linfocitos son células de alta jerarquía en el [sistema inmune](#), principalmente encargadas de la [inmunidad](#) específica o adquirida.

DEFINICION OPERACIONAL: Determinación de estas células mediante biometría hemática por citometría de flujo.

ESCALA DE MEDICION: Cuantitativa continua.

UNIDADES DE MEDICION: Número de células/mm³.

Inmunoglobulina E:

DEFINICION CONCEPTUAL: Es un tipo de anticuerpo (o inmunoglobulina "isotipo") que sólo se ha encontrado en los mamíferos. Desempeña un papel importante en la alergia y se asocia sobre todo con el tipo 1 de hipersensibilidad. La IgE también se ha implicado en las respuestas del sistema inmune a la mayoría de los gusanos parásitos.

DEFINICION OPERACIONAL: Determinación de esta glucoproteína mediante nefelometría.

ESCALA DE MEDICION: Cuantitativa continua.

UNIDADES DE MEDICION: Unidades Internacionales/mL.

Inmunoglobulina G:

DEFINICION CONCEPTUAL: Los anticuerpos IgG están involucrados predominantemente en la respuesta inmune secundaria. Es la inmunoglobulina más abundante y está distribuida en partes aproximadamente iguales en la sangre y los

líquidos de los tejidos, constituye el 75% de las inmunoglobulinas séricas en los seres humanos.

DEFINICION OPERACIONAL: Determinación de esta glucoproteína mediante nefelometría.

ESCALA DE MEDICION: Cuantitativa continua.

UNIDADES DE MEDICION: Unidades Internacionales/mL.

Subclases de la inmunoglobulina G:

DEFINICION CONCEPTUAL: Existen cuatro subclases de IgG (IgG1, 2, 3 y 4) en los seres humanos, las cuales se nombran de acuerdo a su porcentaje de de su abundancia en el suero (la IgG1 es la más abundante 66%, IgG2 23%, IgG3 7%, IgG4 4%). Presentan diferencias en cuanto a su paso a través de la placenta, la activación de la cascada de complemento y su unión al receptor Fc en las células fagocíticas.

DEFINICION OPERACIONAL: Determinación de estas glucoproteínas mediante nefelometría.

ESCALA DE MEDICION: Cuantitativa continua.

UNIDADES DE MEDICION: Unidades Internacionales/mL.

Inmunoglobulina A:

DEFINICION CONCEPTUAL: Es un anticuerpo que desempeña un papel crítico en la inmunidad de las mucosas. La mayoría de la IgA se produce en el revestimiento de las mucosas en una proporción mayor que el resto de los demás tipos de anticuerpos combinados. Se encuentra en las lágrimas, saliva, calostro y secreciones del tracto

genitourinario, gastrointestinal, próstata y epitelio respiratorio. También se encuentra en pequeñas cantidades en la sangre.

DEFINICION OPERACIONAL: Determinación de esta glucoproteína mediante nefelometría.

ESCALA DE MEDICION: Cuantitativa continua.

UNIDADES DE MEDICION: Unidades Internacionales/mL.

Inmunoglobulina M:

DEFINICION: CONCEPTUAL: Es un anticuerpo que está presente en las células B. La IgM forma polímeros en los que múltiples inmunoglobulinas están unidas covalentemente con puentes disulfuro. Los anticuerpos IgM aparecen temprano en el curso de una infección y por lo general vuelven a aparecer, en menor medida, después de una exposición subsecuente.

DEFINICION OPERACIONAL: Determinación de esta glucoproteína mediante nefelometría.

ESCALA DE MEDICION: Cuantitativa continua.

UNIDADES DE MEDICION: Unidades Internacionales/mL.

Variables demográficas

Edad:

DEFINICION CONCEPTUAL: El número de años cumplidos, referidos por el paciente desde su nacimiento a la fecha de realización del estudio.

DEFINICION OPERACIONAL: El número de años cumplidos, referidos por el paciente desde su nacimiento a la fecha de realización del estudio.

ESCALA DE MEDICION: Cuantitativa continua.

UNIDAD DE MEDICION: Años.

Género:

DEFINICION CONCEPTUAL: Sexo de asignación del sujeto.

DEFINICION OPERACIONAL: Sexo de asignación del sujeto.

ESCALA DE MEDICION: Nominal dicotómica.

UNIDAD DE MEDICION: Hombre o mujer.

F. Procedimiento.

Los pacientes con rinitis alérgica fueron diagnosticados en base a cuadro clínico, exámenes de laboratorio (eosinófilos en secreción nasal, determinación de inmunoglobulinas, biometría hemática) y pruebas cutáneas a alérgenos comunes, las cuales deberán haber resultado positivas por lo menos a un alérgeno ya sea pólenes, caspas de animales u hongos.

Una vez que los pacientes fueron informados de la naturaleza del estudio y dar su consentimiento por escrito, se les tomó una muestra de sangre de 5 mL en un tubo con EDTA para determinación de biometría hemática, marcadores celulares y otra de 5 mL en un tubo sin anticoagulante para determinación de marcadores humorales.

Los marcadores celulares determinados fueron CD3, CD4, CD8 y FOX-P3, los cuales se cuantificaron mediante citometría de flujo. Esta técnica de análisis celular permite medir las características de dispersión de luz y [fluorescencia](#) que poseen las células conforme se las hace pasar a través de un rayo de luz. Para su análisis por citometría de flujo, las células deben encontrarse individualmente en [suspensión](#) en un [fluido](#). Al atravesar el rayo de luz, las células interaccionan con éste causando [dispersión](#) de la luz, basándose en la [difracción](#) de la luz en sentido frontal, se puede evaluar el tamaño de las células que pasan y al medir la [reflexión](#) de la luz de

manera lateral se evalúa la granularidad o complejidad de estas. Además de la dispersión de la luz, si previamente a su análisis se coloca a las células en presencia de [anticuerpos monoclonales](#) marcados con [moléculas fluorescentes](#), se pueden evaluar que células poseen los [antígenos](#) complementarios a los anticuerpos monoclonales usados.

Los marcadores humorales determinados son los que habitualmente se cuantifican en pacientes alérgicos, los cuales son IgE, IgG, subclases de IgG, IgA e IgM, los cuales se cuantificaron mediante ELISA con equipo automatizado disponible en el laboratorio del hospital.

G. Análisis estadístico.

Para la descripción de las características generales del grupo se utilizaron medidas de resumen (promedios, mediana y porcentajes) así como de dispersión, (desviación estándar). Para evaluar diferencia estadística entre las variables cuantitativas se utilizará la prueba U de Mann–Whitney de acuerdo a la distribución muestral.

7. CONSIDERACIONES ÉTICAS.

El trabajo de investigación fue aprobado por el Comité Local Investigación de la institución.

Este estudio representa un riesgo menor al mínimo. Las muestras sanguíneas son las mismas que se requieren para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes. Los pacientes fueron incluidos sólo después de ser informados acerca de la naturaleza del estudio y dar su consentimiento por escrito para la utilización de sus muestras sanguíneas en la investigación.

Se aplicaron las normas de seguridad necesarias de acuerdo a los principios del Código de Nuremberg, la Declaración de Helsinki, la Enmienda de Tokio y el Informe Belmont.

8. RESULTADOS

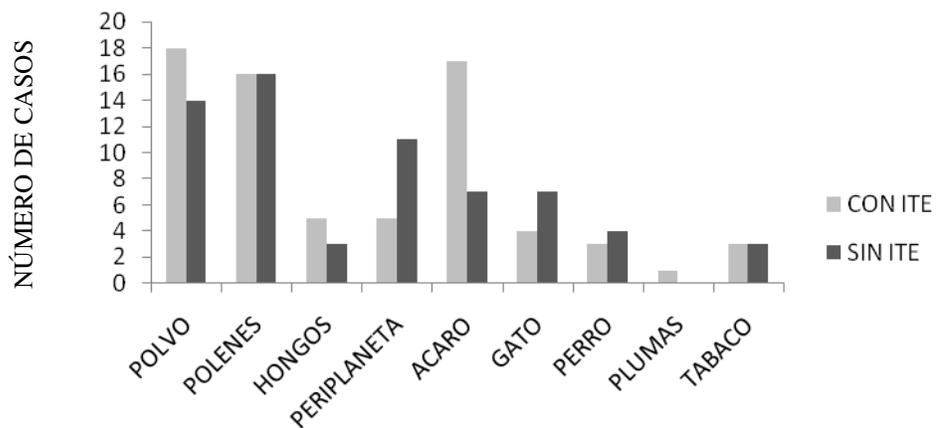
Se incluyeron 59 pacientes con rinitis alérgica de enero a julio de 2010, 29 pacientes se encontraban bajo inmunoterapia específica (ITE) y 30 pacientes aún no iniciaban dicho tratamiento. Todos los pacientes incluidos presentaban rinitis alérgica leve intermitente. Los pacientes en el grupo de ITE se habían mantenido bajo tratamiento de hiposensibilización por lo menos durante un año. Las características demográficas se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Características demográficas de pacientes con rinitis alérgica

	Pacientes con ITE	Pacientes sin ITE
Número	29	30
Edad (años)	36.4 (18-58)	40.4 (18-60)
Hombres	8 (27.5%)	11 (36.6%)
Mujeres	21 (72.5%)	19 (63.4%)

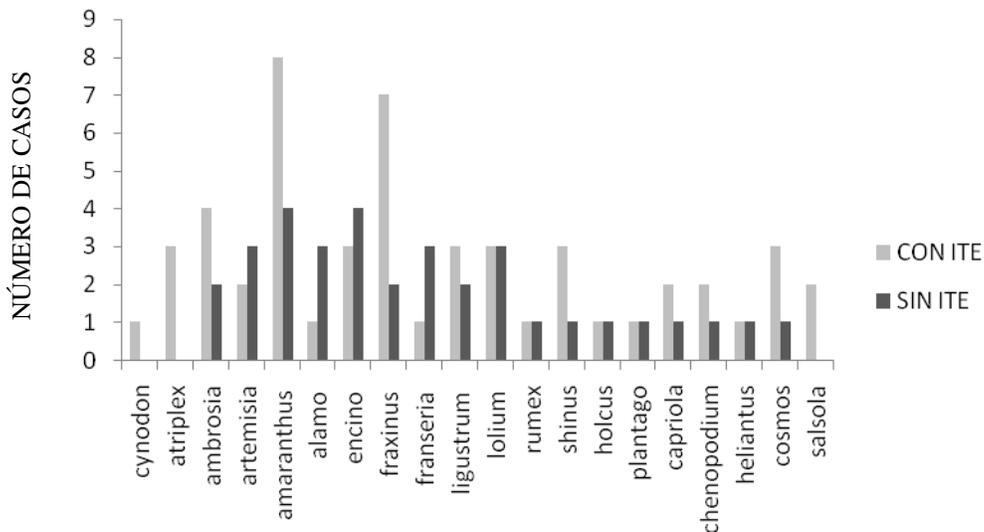
El alérgeno más común en ambos grupos fue el polvo, seguido por el ácaro y diversos pólenes. La gráfica número 1 muestra la distribución de los distintos alérgenos tanto en el grupo que recibía inmunoterapia como en el que no.

Gráfica 1. Distribución de los distintos alérgenos entre ambos grupos de pacientes.



Con respecto a los pólenes, tanto los pacientes con ITE como los que se encontraban sin ITE mostraron mayor reactividad a los pastos y malezas (Amaranthus y Artemisia) y a árboles (Fraxinus, Alamo y Encino). La gráfica 2 muestra la distribución de la reactividad a los distintos pólenes.

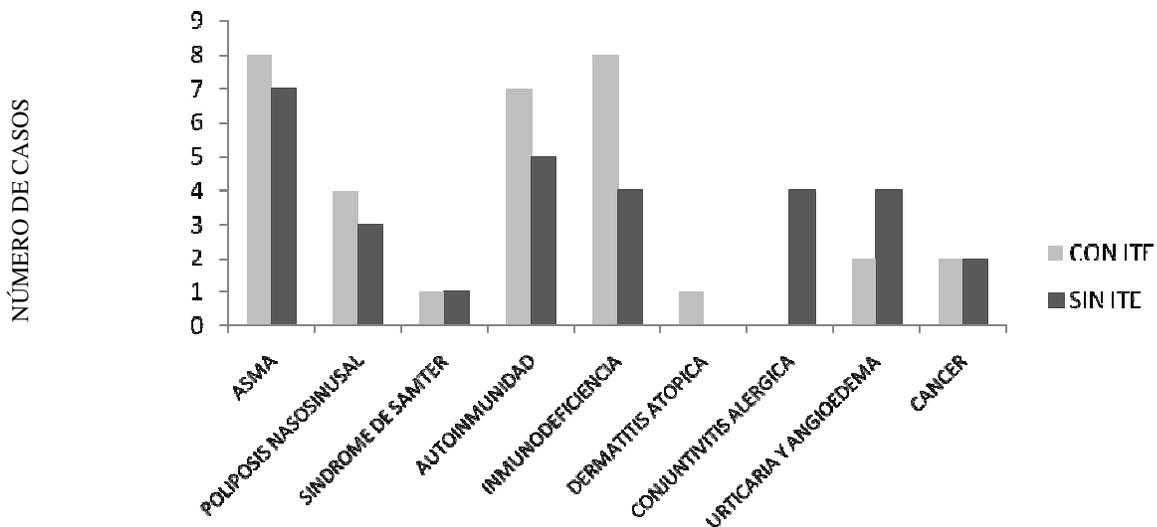
Gráfica 2. Reactividad a los distintos pólenes entre los pacientes con rinitis alérgica.



Se observó que en ambos grupos de tratamiento los pacientes con rinitis alérgica muestran distintas comorbilidades, las más frecuentes, son padecimientos alérgicos como asma pero una alta proporción muestran autoinmunidad e inmunodeficiencia. Con respecto a las enfermedades autoinmunes el 17.2% presentaba tiroiditis autoinmune (5 pacientes), el 6.8% vitíligo (2 pacientes) y el 3.4% uveítis (1 paciente) en el grupo de ITE; en el grupo de pacientes sin ITE el 13.3% presentaba tiroiditis

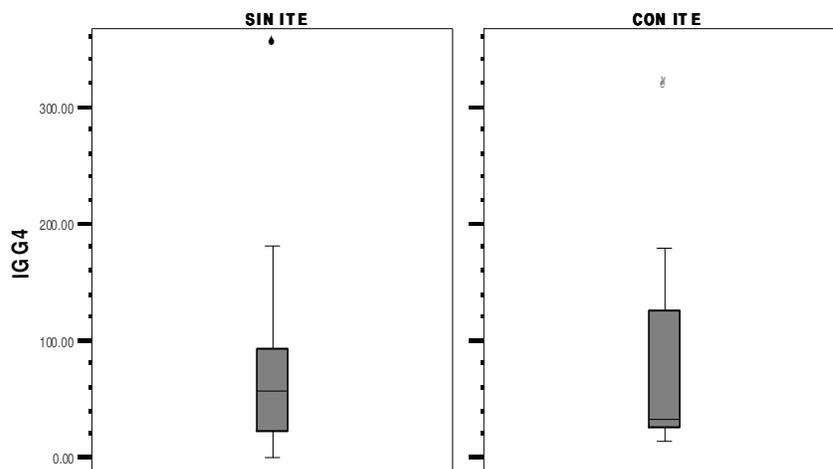
autoinmune (4 pacientes) y el 3.3% psoriasis (1 paciente). También, la frecuencia de inmunodeficiencias fue distinta entre los grupos, en el grupo de pacientes con ITE el 20.6% presentaba deficiencia de linfocitos T CD4 (6 pacientes), el 3.4% deficiencia de linfocitos T CD8 (1 paciente) y el 3.4% deficiencia de IgA (un paciente); en el grupo sin ITE el 6.6% presentaba deficiencia de linfocitos T CD4 (2 pacientes) así como el 6.6% presentaba deficiencia de linfocitos T CD8 (2 pacientes). En ambos grupos el 6.6% presentaba cáncer de mama (dos pacientes). La gráfica 3 señala las distintas enfermedades que presentaron los pacientes con rinitis alérgica.

Gráfica 3. Tipo de comorbilidades de los pacientes con rinitis alérgica.



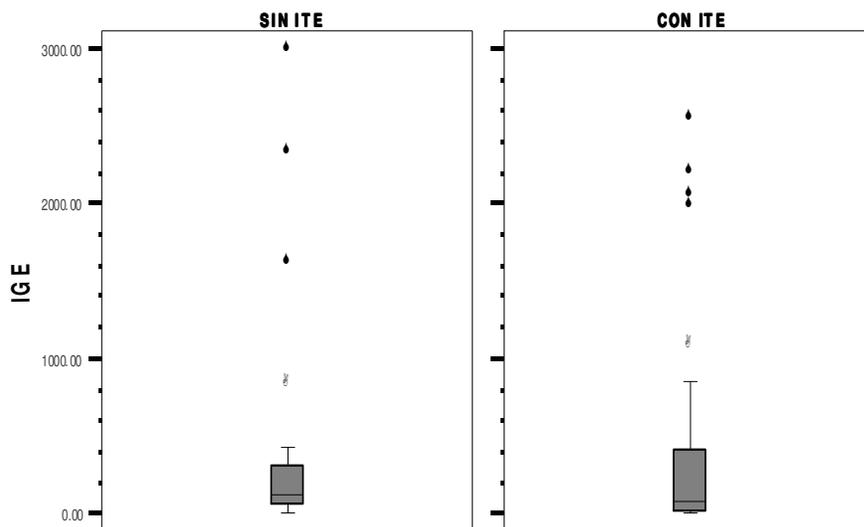
Se realizaron determinaciones de leucocitos y su diferencial sin encontrarse diferencia estadística entre los grupos. Tampoco se observaron diferencias estadísticas entre las subpoblaciones de linfocitos, IgM, IgA, IgG y las subclases de IgG. El isotipo IgG4 mostró concentraciones mayores en el grupo de ITE pero no presentó significancia estadística. La gráfica 4 muestra la distribución de este isotipo de inmunoglobulina entre los grupos.

Gráfica 4. Distribución de la IgG4 entre los grupos de pacientes con rinitis alérgica.



Los niveles de IgE fueron similares entre ambos grupos sin presentar diferencia estadística. La tabla 2 muestra la distribución de estos parámetros entre los grupos. La gráfica 5 muestra la distribución de la IgE entre los grupos.

Gráfica 5. Distribución de la IgE entre los grupos de pacientes con rinitis alérgica.



Con respecto al nivel de expresión de la proteína FOXP3, ésta se encontró más baja en los pacientes con rinitis alérgica con ITE, sin embargo, no se encontró diferencia estadísticamente significativa con respecto a los pacientes sin ITE. Ver tabla 2, gráfica 6.

Gráfica 6. Distribución de los valores de expresión de FOXP3 entre los grupos.

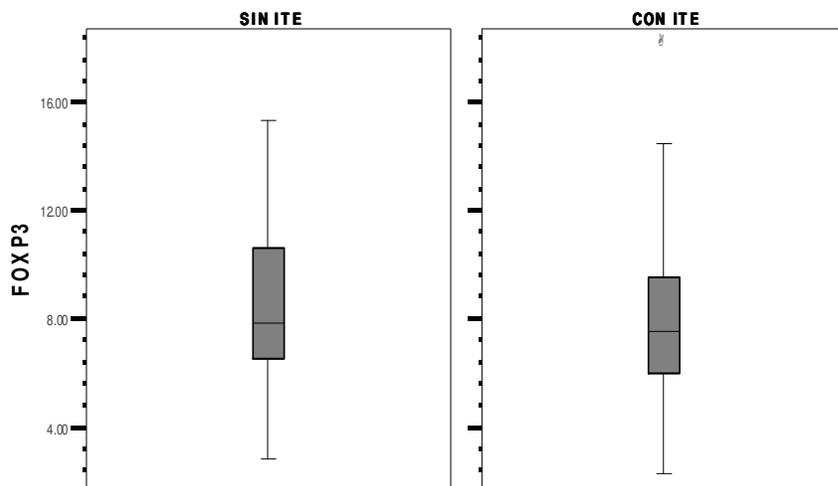


Tabla 2. Comparación de niveles de proteína FOX-P3, leucocitos e inmunoglobulinas.

		Media	Desviación estándar	IC 95%		P
FOXP3	SIN ITE	8.24	3.09	-1.46	2.06	.57
	CON ITE	7.94	3.58			
IgE	SIN ITE	387.45	696.26	-	311.61102	.37
	CON ITE	460.83	767.32	458.37597		
IgM	SIN ITE	131.81	46.40	-33.03366	27.65344	.73
	CON ITE	134.50	68.29			
IgA	SIN ITE	257.94	109.54	-18.49201	86.39937	.34
	CON ITE	223.99	90.35			
IgG	SIN ITE	1243.10	319.04	-	122.84905	.46
	CON ITE	1285.83	315.93	208.30422		
IgG1	SIN ITE	795.23	202.93	-	148.81749	.88
	CON ITE	795.70	299.09	149.75595		
IgG2	SIN ITE	319.65	140.85	-92.86447	88.43099	.77
	CON ITE	321.87	148.56			
IgG3	SIN ITE	29.45	17.17	-26.89324	10.76601	.80
	CON ITE	37.51	43.65			
IgG4	SIN ITE	72.46	75.91	-57.55110	38.18369	.67
	CON ITE	82.14	80.55			
Eosinófilos en moco nasal	SIN ITE	24.14	33.19	-21.09236	14.77563	.58
	CON ITE	27.30	33.72			
Linfocitos CD3	SIN ITE	1571.37	496.86	-	284.15803	.63
	CON ITE	1565.38	568.84	272.18332		
Linfocitos CD4	SIN ITE	922.30	296.03	-	217.27248	.34
	CON ITE	878.48	366.69	129.63799		
Linfocitos CD8	SIN ITE	576.97	267.14	-	76.60202	.29
	CON ITE	644.55	285.86	211.77214		
Relación linfocitos T CD4/CD8	SIN ITE	1.76	.62	-.10408	.59096	.09
	CON ITE	1.52	.71			
Leucocitos	SIN ITE	7243.33	1682.23	-	1544.88652	.11
	CON ITE	6602.76	1786.34	263.73710		
Linfocitos	SIN ITE	2194.70	697.42	-	257.24371	.77
	CON ITE	2305.86	715.72	479.56785		
Neutrófilos	SIN ITE	4100.67	1516.08	-17.08356	1422.55482	.06
	CON ITE	3397.93	1224.03			
Eosinófilos	SIN ITE	261.73	223.20	-	134.99780	.46
	CON ITE	262.41	293.62	136.35872		

Prueba U de Mann-Whitney

9. DISCUSION

Se ha comprobado desde hace un siglo la efectividad de la inmunoterapia específica favoreciendo la hipo o desensibilización de los pacientes alérgicos¹. Diversos estudios clínicos controlados han demostrado la mejoría clínica a largo plazo³⁶. Recientemente, se han dilucidado algunos de los mecanismos inmunológicos responsables de dicha eficacia.

Una molécula, la proteína FOX-P3 ha sido asociada a la regulación de la respuesta inmune^{13,14}. Se ha descrito implicada en la evitación de enfermedades alérgicas y autoinmunes ya que se expresa en las células Treg, las cuales han sido propuestas como uno de los mecanismos que favorecen la hiposensibilización a largo plazo inducida por la inmunoterapia específica³⁷.

Se ha observado que los pacientes con rinitis alérgica tratados con ITE a polen de pasto muestran aumento en la expresión de FOXP3, lo cual favorece la supresión de la proliferación de las células T efectoras, y la producción de INF-g³⁸.

Recientemente, O'Hehir RE *et al* demostraron en un ensayo clínico controlado con placebo con pacientes con rinitis alérgica sometidos a ITE con polvo casero que las células Treg CD4+CD25+FOXP3+ incrementan en los pacientes bajo tratamiento lo cual correlaciona positivamente con la calidad de vida y disminución de los síntomas.

Además, los niveles de IL-10 y TGF- β aumentaron

Induciendo la supresión de las células T CD4 efectoras³⁹.

En nuestro estudio no encontramos diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes con rinitis alérgica que habían recibido ITE durante más de un año en comparación con los pacientes que aún no iniciaban este tratamiento. Observamos que los niveles de expresión de la proteína FOX-P3 fueron mayores en el grupo sin ITE. Lo anterior puede ser debido a que un alto porcentaje de pacientes en el grupo

de ITE (27.4%) mostraban otras alteraciones en la regulación del sistema inmune como enfermedades autoinmunes en comparación con el grupo sin ITE (16.6%), que no pudieron favorecer el incremento de las células Treg como lo reportado por otros autores, además, de que no todos los pacientes habían recibido la ITE durante el mismo tiempo. Otra de las causas que podría haber influido en los resultados es que en nuestro servicio de inmunología y alergia no se utilizan alérgenos estandarizados que son los que han demostrado mayor eficacia en el tratamiento⁴⁰.

10. CONCLUSIONES

Los pacientes con rinitis alérgica que no han recibido inmunoterapia específica no muestran diferencia en los niveles de expresión de FOX-P3 en comparación a los pacientes que han recibido este tratamiento por más de un año.

La IgG4 es mayor en los pacientes con rinitis alérgica que han recibido inmunoterapia específica.

Los pacientes con rinitis alérgica tienen riesgo de presentar comorbilidades propias de alteraciones en la regulación de la respuesta inmune como son autoinmunidad y cáncer.

Una proporción importante de pacientes con inmunodeficiencia desarrolla manifestaciones alérgicas como la rinitis alérgica.

11. BIBLIOGRAFIA.

1. Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA. Allergic rhinitis and its impact on asthma. *Allergy* 2008; 63: S8–160.
2. Lamb CE, Ratner PH, Johnson CE, et al. Economic impact of workplace productivity losses due to allergic rhinitis compared with select medical conditions from an employer perspective. *Curr Med Res Opin* 2006; 22: 1203–10.
3. Kessler, Almeida DM, Berglund P, et al. Pollen and mold exposure impairs the work performance of employees with allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001; 87: 289–95.
4. Spector SL. Overview of comorbid associations of allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: S773-80.
5. International Consensus Report on Diagnosis and Management of Rhinitis. International Rhinitis Management Working Group. *Allergy* 1994; 49(19 Suppl):1-34.
6. Dykewicz MS, Fineman S. Executive Summary of Joint Task Force Practice Parameters on Diagnosis and Management of Rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998; 81: 463-8.
7. Van-Cauwenberge P, Bachert C, Passalacqua G, Bousquet J, Canonica G, Durham S, et al. Consensus statement on the treatment of allergic rhinitis. EAACI Position paper. *Allergy* 2000; 55: 116-34.
8. Abbas AK, Lichtman AH. Immediate hypersensitivity. In: Abbas AK, Lichtman AH, editors. *Cellular and molecular immunology*. 5th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p. 432–52.
9. Walden SM, Proud D, Bascom R, et al. Experimentally induced nasal allergic responses. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 81: 940–9.
10. Solomon WR, Weber RW, Dolen WK. Common allergenic pollen and fungi. In: Bierman CW, Pearlman DS, Shapiro GG, et al, editors. *Allergy, asthma, and immunology from infancy to adulthood*. Philadelphia: WB Saunders Company; 1996. p. 93–114.
11. Chew GL, Higgins KM, Gold DR, et al. Monthly measurements of indoor allergens and the influence of housing type in a northeastern US city. *Allergy* 1999; 54: 1058–66.
12. Bluestone JA, Abbas AK. Natural versus adaptive regulatory T cells. *Nat Rev Immunol* 2003; 3:253–7.
13. Sakaguchi S, Wing K, Miyara M. Regulatory T cells – a brief history and perspective. *Eur J Immunol* 2007; 37 (Suppl. 1):S116–23.
14. Gershon RK, Kondo K. Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes. *Immunology* 1970; 18: 723–37.
15. Gershon RK, Kondo K. Infectious immunological tolerance. *Immunology* 1971; 21: 903–14.
16. Gershon RK, Cohen P, Hencin R, Liehaber SA. Suppressor T cells. *J Immunol* 1972; 108: 586–90.
17. Corthay A. How do Regulatory T Cells Work. *Scand J Immunol* 2009; 70:326–336.
18. McGonagle D, Georgouli T. The importance of ‘Mechnikov’s thorn’ for an improved understanding of 21st century medicine and immunology: a view from the eye. *Scand J Immunol* 2008; 68:129–139.
19. Curotto de Lafaille MA, Muriglan S, Sunshine MJ et al. Hyper immunoglobulin E response in mice with monoclonal populations of B and T lymphocytes. *J Exp Med* 2001; 194: 1349–59.

20. Akbari O, Freeman GJ, Meyer EH et al. Antigen-specific regulatory T cells develop via the ICOS-ICOS-ligand pathway and inhibit allergen-induced airway hyperreactivity. *Nat Med* 2002; 8: 1024–32.
21. Zuany-Amorim C, Sawicka E, Manlius C et al. Suppression of airway eosinophilia by killed *Mycobacterium vaccae*-induced allergen specific regulatory T-cells. *Nat Med* 2002; 8: 625–9.
22. Chen Y, Kuchroo VK, Inobe J, Hafler DA, Weiner HL. Regulatory T cell clones induced by oral tolerance: suppression of autoimmune encephalomyelitis. *Science* 1994; 265: 1237–40.
23. Weiner HL. Oral tolerance: immune mechanisms and treatment of autoimmune diseases. *Immunol Today* 1997; 18: 335–43.
24. Zhang X, Izikson L, Liu L, Weiner HL. Activation of CD25(+)CD4(+) regulatory T cells by oral antigen administration. *J Immunol* 2001; 167: 4245–53.
25. Karlsson MR, Rugtveit J, Brandtzaeg P. Allergen-responsive CD4 + CD25 + regulatory T cells in children who have outgrown cow's milk allergy. *J Exp Med* 2004; 199: 1679–88.
26. Aluvihare VR, Kallikourdis M, Betz AG. Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nat Immun* 2004; 5: 266–71.
27. Dembic Z. Beginning of the end of (understanding) the immune response. *Scand J Immunol* 2008; 68:381–2.
28. D.S. Robinson. Regulatory T cells and asthma *Clinical & Experimental Allergy* 2005; 39: 1314–1323.
29. Lee JH, Yu HH, Wang LC, Yang YH, Lin YT, Chiang BL. The levels of CD4+CD25+ regulatory T cells in paediatric patients with allergic rhinitis and bronchial asthma. *Clin Exp Immunol*.2006; 148: 53-63.
30. Xu G, Mou Z, Jiang H, Cheng L, Shi J, Xu R, Oh Y, Li H. A possible role of CD4+CD25+ T cells as well as transcription factor Foxp3 in the dysregulation of allergic rhinitis. *Laryngoscope*. 2007; 117: 876-80.
31. Zhang Q, Qian FH, Liu H, Zhou LF, Huang M, Zhang XL, Yin KS. Expression of surface markers on peripheral CD4+CD25high T cells in patients with atopic asthma: role of inhaled corticosteroid. *Chin Med J (Engl)*. 2008; 121: 205-12.
32. Shapiro PA. Effects of nasal obstruction on facial development. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 81: 967–71.
33. The European Academy of Allergology and Clinical Immunology. Position paper: allergen standardization and skin tests. *Allergy* 1993; 48: S48–82.
34. Bernstein DI, Levy AL, Hampel FC, et al. Treatment with intranasal fluticasone propionate significantly improves ocular symptoms in patients with seasonal allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 2004;34:952–957.
35. Alvarez-Cuesta E, Bousquet J, Canonica GW et al. Standards for practical allergen-specific immunotherapy. *Allergy* 2006; 61(Suppl. 82): 1–20.
36. Des-Roches A, Paradis L, Knani J, Hejjaoui A, Dhivert H, et al. Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract: V. Duration of efficacy of immunotherapy after its cessation. *Allergy* 1996;51:430–433.
37. Akdis CA. Future of Allergen-Specific Immunotherapy: Better Understanding of the Mechanisms, Novel Treatments, and Long-Term Cure. *Immunol Allergy Clin N Am* 2006; 26: xiii– xxii.

38. Mittag D, Scholzen A, Varese N, et al. The Effector T Cell Response to Ryegrass Pollen Is Counterregulated by Simultaneous Induction of Regulatory T Cells. *J Immunol* 2010; 184: 4708 - 4716.
39. O'Hehir RE, Gardner LM, De Leon MP, et al. House Dust Mite Sublingual Immunotherapy. The Role for Transforming Growth Factor- β and Functional Regulatory T Cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180: 936 - 947.
40. Canonica GW, Baena-Cagnani CE, Bousquet J, et al. Recommendations for standardization of clinical trials with Allergen Specific Immunotherapy for respiratory allergy. A statement of a World Allergy Organization (WAO) taskforce. *Allergy* 2007;62:317-324.

12. ANEXO 1

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México DF a ____ de _____ de 2010.

Por medio de la presente se me invita a participar en el protocolo de investigación: “**LINFOCITOS T REGULADORES CD4+CD25+FOX-P3+ EN PACIENTES CON RINITIS ALERGICA**” el cual fue aprobado por la comisión científica del ISSSTE. La Dra. Erika Coria Ramírez, Residente del servicio de Inmunología Clínica y Alergia del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre se encuentra realizando la especialidad de Inmunología Clínica y Alergia y realizará este estudio para presentarlo como tesis de especialidad. El objetivo del estudio es: **Conocer si existen diferencias en unas moléculas que se llaman CD25 y FOX-P3 en los linfocitos (glóbulos blancos) de pacientes con rinitis alérgica comparados con pacientes sin esta enfermedad, ya que se ha observado que los niveles alterados de estas moléculas pudieran favorecer el desarrollo de las enfermedades alérgicas.** Se me ha explicado que mi participación consistirá en: Otorgar una muestra de 10 mililitros de sangre venosa (aproximadamente 3 cucharadas de café) mediante un piquete en alguno de mis brazos. Además, deberé responder preguntas para evaluar mi estado de salud.

Los posibles riesgos son los siguientes: Dolor en el sitio de punción (extracción de la muestra), equimosis transitoria (moretón) en el sitio de punción. Para reducir las molestias al mínimo se garantizará que la persona encargada de la toma de la muestra tenga experiencia y así lo haga con el mayor cuidado.

Se me explicó que no obtendré ningún beneficio inmediato de los resultados del presente trabajo, pero que la información que se obtenga ayudará al mejor conocimiento de la enfermedad que se estudia. Se me ha informado que en caso de no aceptar no hay problema por no participar pues continuaré recibiendo la atención médica de la misma manera. Podré hacer cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee de los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o de la enfermedad que se estudia. Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto. El Investigador Responsable me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. Se me explicó que los resultados no se me entregarán, pero puedo conocerlos, y que no serán utilizados para tomar decisiones acerca de mi enfermedad.

Nombre, firma y dirección del otorgante

Nombre, firma y dirección del testigo

Nombre, firma y dirección del testigo

Investigadores responsables: Dra. Erika Coria Ramírez Residente de Inmunología Clínica y Alergia
Dra. María Eugenia Vargas Camaño. Médico adscrito al servicio de
Inmunología Clínica y Alergia
Servicio de Inmunología Clínica y Alergia Tel 52005003ext 14526

Presidente del Comité de Ética: Dr. Abel Archundia García CMN 20 de Noviembre ISSSTE
Tel 52005003. Comité de Ética ext. 14629

Av. Félix Cuevas 540 Col. Del Valle, Delegación Benito Juárez C.P. 03229 Tel 52005003 ext. 14629

ANEXO 2

ABREVIATURAS

CD	Grupo de diferenciación (del inglés “cluster of differentiation”)
Fc	Fracción cristizable de las inmunoglobulinas
FcεRI	Receptor de alta afinidad
FOX-P3	Gen que codifica para la proteína que lleva su nombre (del inglés “Forkhead box P3”)
Ig	Inmunoglobulina
IL	Interleucina
ITE	Inmunoterapia específica
MHC	Complejo mayor de histocompatibilidad
TCR	Receptor de célula T
Th	Células T cooperadoras (del inglés “T helper”)
Treg	Células T reguladoras