



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN

Reactividad cruzada entre anticuerpos IgE e IgG₁, de pacientes alérgicos al
ácaro del polvo doméstico (*Dermatophagoides pteronyssinus* y/o *farinae*) y
proteínas de escamas humanas o alérgenos de perro y/o gato.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA:

VALERIA VILCHIS GARCÍA

ASESOR: Dr. En C. VÍCTOR MANUEL ZENDEJAS BUITRÓN

ASESORA: M. en C. Ma. ISABEL ROJO GUTIÉRREZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTILÁN
PRESENTE**



ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautillán
EXÁMENES PROFESIONALES

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **TESIS**
Reactividad cruzada entre anticuerpos IgE e IgG1 de pacientes alérgicos al ácaro de polvo doméstico (Dermatophagoides pteronyssinus y/o farinae) y proteínas de escamas humanas o alérgeno de perro y/o gato.

Que presenta la pasante: **Valeria Vilchis García**
Con número de cuenta: **30304041-9** para obtener el Título de: **Química Farmacéutica Bióloga**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cuautillán Izcalli, Méx. a 07 de marzo de 2012.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Susana Elisa Mendoza Elvira	
VOCAL	Dr. Víctor Manuel Zendejas Buitrón	
SECRETARIO	M. en C. Ana Laura Vázquez Martínez	
1er SUPLENTE	Dr. Salvador Fonseca Coronado	
2do SUPLENTE	MIBB. Jorge Luis de la Rosa Arana	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).
HHA/pm

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá

A ti Areli por que sin duda alguna me dejarás la mejor herencia en esta vida la cual es mi carrera, gracias por el apoyo, la paciencia, la educación, los valores y el amor que me brindas día con día, me has enseñado las mejores lecciones de vida entre ellas nunca rendirse, ser responsable y seguir siempre adelante. Simplemente no hay palabras para agradecer todo lo que haces por mí y el amor que tengo hacia ti.

A mi papá

A ti Javier por el apoyo, la comprensión y el amor que me has brindado, en los momento más difíciles y felices en mi vida.

A mis hermanos

Xavi y Juan por el amor, por cada enojo, por cada risa, y por cada momento que seguramente será inolvidable en nuestras vidas.

A mis abuelitos

A ti abue por ser como un madre, por tener siempre unida a la familia, por demostrar esa fortaleza que nadie más tiene, por preocuparte por mí, por quererme tanto, por consentirme, por darme ánimos, por confiar en mí y por creer en mí. A ti abuelito por que fuiste como un padre, te doy gracias por todo lo que me enseñaste y aunque me haces tanta falta y te extraño demasiado sé que te encuentras descansando en algún lugar mejor, también se que estas orgulloso de mí. Este triunfo es también de ustedes.

A mis tías (os)

A todas mis tías, por ser parte fundamental en mi vida, porque cada una ocupa un lugar tan especial en mi corazón, gracias por el apoyo tanto económico y moral, por el amor, por la confianza, por enseñarme a reír, porque nunca me han dejado caer y porque siempre hemos estado unidas a pesar de todo lo malo y lo bueno. Sé que siempre estarán en cada momento de mi vida y al igual siempre estaré con ustedes. Y a cada uno de mis tíos les doy las gracias por el apoyo, las enseñanzas y el amor que he recibido a lo largo de mi vida.

A mis primos

A mis lucecitas, Mony, Gael, Leo y Kevin que día con día alegran mi vida y me han enseñado a sonreír en los peores momentos y a reír de las cosas lindas e inocentes que tiene la vida, nunca dejen que alguien rompa sus sueños.

A Ulises, Alexis, Ari, Michael, Jonathan, Geovanni, Alan y Fer gracias por el apoyo, el amor, la confianza y el respeto, cumplan sus metas, sus sueños, nunca se dejen vencer y siempre sigan adelante, los quiero.

A ti

Pedro quiero agradecerte el apoyo que me brindaste durante mi carrera, el ánimo y sobre todo la comprensión. Gracias por ser incondicional y estar a mi lado en los momentos más difíciles.

U.N.A.M

Te Admiro por la gran labor de formar universitarios dignos de esta gran institución en sus diversas áreas. Gracias por haberme brindado los mejores profesores a nivel bachillerato y a nivel licenciatura y los valores y herramientas necesarias para poder concluir mi carrera profesional y por forjarme en el camino, que antes de que alguien quiera colocar barreras en nuestro destino, por mi raza hablará el espíritu.

A mis asesores

Dr. En C. Víctor Zendejas Buitrón, por la confianza, respeto, los conocimientos y la paciencia que me brindó para realizar este trabajo, gracias por los consejos y la amistad que me brindó.

M. En C. Ma. Isabel Rojo Gutiérrez, gracias por los conocimientos, por su apoyo, paciencia, respeto y confianza que me brindó y por la amabilidad con la que me recibió en el hospital, a su lado crecí en el ámbito laboral y profesional, también me deja grandes lecciones en el ámbito personal, como la humildad, la perseverancia y la sencillez que la caracteriza fue un placer trabajar a su lado.

A mis profesores

Por sus conocimientos, por sus enseñanzas y el apoyo que me brindaron durante la carrera. Quiero agradecer especialmente al Profesor Enrique por el apoyo que me brindó durante mis cursos en Q. analítica, Dr. Ángel y Dr. Salvador por los conocimientos que me brindaron en inmunología y el apoyo al brindarme diversos reactivos y equipo.

A mis sinodales

Por sus consejos, su paciencia y por ayudarme a mejorar este trabajo.

Hospital Juárez de México.

Por aceptarme y colaborar juntos y porque en este lugar conocí a gente que siempre será importante en vida, empezando por el Dr. Daniel Aguilar por participar en el trabajo, por abrirme las puertas del hospital y por su apoyo.

Dr. Jaime Mellado, gracias por la confianza, el respeto, los conocimientos en el área médica y la amistad que me brindó.

Q.F.B. Misael, por el gran apoyo que me brindaste, así como un sin fin de conocimientos en el área de la química clínica, gracias por dejarme trabajar a tu lado y por hacerme pasar grandes momentos de alegría en el laboratorio.

Quiero agradecer a la química Margarita que además de brindarme su apoyo, confianza, respeto y conocimientos en cada momento, me brindó incondicionalmente su amistad, gracias por todo lo que aprendí a tu lado.

Q.B.P Teresa Sandoval por el gran equipo de trabajo que formamos, gracias por tu profesionalismo, tu apoyo, tus conocimientos, respeto y tu amistad.

A Mari la afanadora, por su amistad, por los momentos divertidos que juntas pasamos y por el gran apoyo que recibí.

A la Bióloga Marisa y Dra. Olga por sus conocimientos, por el apoyo, la comprensión, respeto y el ánimo que día a día me dieron.

Enfermera Mary por el apoyo en el consultorio y por todos los alegres momentos que me hizo pasar.

A mis amigos

Por acompañarme a lo largo de la carrera, por estar en los momentos que más los he necesitado, gracias por ser parte de este logro y por el apoyo incondicional que siempre me han brindado y que siempre les brindaré.

ÍNDICE GENERAL

Índice de cuadros	I
Índice de figuras	II
Listado de abreviaturas	III
RESUMEN	1
1.INTRODUCCIÓN	
i) HIPERSENSIBILIDAD	2
a) Clasificación de la hipersensibilidad	2
ii) HIPERSENSIBILIDAD TIPO I O ALERGIA.	
a) Definición de hipersensibilidad tipo I o alergia	3
b) Células cebadas, IgE y el mecanismo en la alergia	5
c) Alérgenos y su importancia	11
d) Epidemiología de las enfermedades alérgicas	20
e) Diagnóstico de las enfermedades alérgicas	22
f) Profilaxis y tratamiento de las enfermedades alérgicas	26
2. JUSTIFICACIÓN	31
3. OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVO ESPECÍFICO	32
4. HIPÓTESIS E HIPOTESIS NULA	33
5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	33
6. MATERIALES Y MÉTODOS	34
7. RESULTADOS	50
8. DISCUSIÓN	73
9. CONCLUSIONES	79
10. REFERENCIAS	81

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No. 1 Clasificación de hipersensibilidad propuestos por Gell y Coombs.	2
Cuadro No. 2 Enfermedades atópicas	4
Cuadro No. 3 Mediadores químicos de la respuesta inflamatoria	6
Cuadro No. 4 Mediadores químicos del ácido araquidónico y de la ciclooxigenasa	7
Cuadro No. 5 Características de IgE.	7
Cuadro No. 6 Citocinas de la respuesta humoral y su función.	8
Cuadro No. 7 Frecuencia de enfermedades alérgicas en México.	21
Cuadro No. 8 Valores de referencia.	25
Cuadro No. 9 Tinción de proteínas.	43
Cuadro No 10 Resultados de la inmunodetección.	50
Cuadro No 11 Valores del peso molecular de proteínas.	56
Cuadro No 12 Peso molecular de las proteínas reconocidas en inmunodetección.	67
Cuadro No.13 Proteínas causantes de reactividad cruzada	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Síntesis <i>de novo</i> de mediadores.	6
Figura 2. Mecanismo de hipersensibilidad tipo I	10
Figura 3. Clasificación de alérgenos según su vía de entrada.	11
Figura 4. Clasificación de alérgenos según su origen.	12
Figura 5. Clasificación de alérgenos inhalables.	12
Figura 6. Pólenes causantes de alergia.	13
Figura 7. Hongos causantes de alergia.	14
Figura 8. Animales causantes de alergia.	7
Figura 9. Estudios para el Diagnóstico de la alergia.	22
Figura 10. Reacciones adversas en la inmunoterapia.	30
Figura 11. Equipo para formar gradiente.	38
Figura 12. Formación de gradiente con colorantes.	38
Figura 13. Llenado de carriles.	39
Figura 14. Peso molecular de proteínas de extracto de escamas de gato.	57
Figura 15. Peso molecular de proteínas de extracto de escamas humanas.	58
Figura 16. Peso molecular de proteínas de extracto de escamas de perro.	59

Figura 17. Frecuencia de la reactividad cruzada entre proteínas de gato y humano. 71

Figura 18. Frecuencia de la reactividad cruzada entre proteínas de gato y perro. 71

Figura 19. Frecuencia de reactividad cruzada entre proteínas de perro, gato y humano. 72

Figura 20. Comparación de las diferentes frecuencias en la reactividad cruzada que presentaron los extractos de escamas de perro, gato y humano. 72

LISTADO DE ABREVIATURAS

Ac	Anticuerpo
Ag	Antígeno
ALI	Asma leve intermitente
ALP	Asma leve persistente
AMP	Asma moderada persistente
AMPC	Monofosfato de adenosina cíclico
APC	Célula Presentadora de Antígeno del Inglés Antigen Presenting Cell.
APS	Persulfato de Amonio.
C3	Componentes 3 del complemento.
C3a	Componente 3 activado del complemento.
Can	Alérgenos provenientes de perro.
D.A	Dermatitis atópica.
DC	Célula Dendrítica del Inglés Dendritic Cell.
Der	Alérgenos provenientes de Dermatophagoides.
Dx.	Diagnóstico.
Fc	Fracción cristizable de los anticuerpos
FcεRI	Receptores de alta afinidad para IgE
FcεRII	Receptores de baja afinidad para IgE
Fel	Alérgenos provenientes de gato.
H 1	Histamina 1.
H2	Histamina 2.
H3	Histamina 3.

H₂O₂	Peróxido de hidrogeno
Hom	Alérgenos provenientes de humano.
HPR	Peroxidasa de Rábano del Inglés horseradish peroxidase.
IFN	Interferón.
IgA	Inmunoglobulina A.
IgE	Inmunoglobulina E.
IgG	Inmunoglobulina G.
IgM	Inmunoglobulina M.
IL	Interleucina.
LT	Leucotrieno.
MHC	Complejo Principal de Histocompatibilida del Inglés Major Histocompatibility Complex.
NK	Células NK del Inglés Natural Killer
OPD	Orto-fenilendiamina
P.M.	Peso molecular.
PAF	Factor activador de plaquetas.
PG	Prostaglandina.
PNC	Papel de nitrocelulosa
RAMP	Rinitis alérgica moderada persistente
Rx.	Rayos X
SDS	Duodecil sulfato de sodio
TEMED	N,N,N',N' tetrametiletilendiamina
Th	Células T cooperadoras del Inglés T helper cells

Resumen

La Alergia es una reacción de hipersensibilidad tipo I del sistema inmunitario mediada por anticuerpos IgE, hacia un antígeno normalmente inocuo. Esta respuesta causa una serie de reacciones físicas y químicas, responsables de los síntomas de la alergia. Entre las principales enfermedades causadas por alergia esta el asma, la rinitis y la dermatitis atópica. La prevalencia de las enfermedades alérgicas a nivel mundial va en aumento y se estima que el 20% de la población mundial sufre alguna enfermedad alérgica, según la Organización Mundial de la Alergia. Las enfermedades alérgicas tienen repercusiones económicas a nivel empresarial y familiar y debido a la alta prevalencia y a los gastos que derivan de las enfermedades alérgicas estas se consideran un problema de salud pública.

En este trabajo se desarrolló una prueba de diagnostico llamada western blot, la cual se basó en la detección de anticuerpos IgE e IgG₁ con el suero de 100 pacientes alérgicos al ácaro de polvo casero, para determinar reactividad cruzada y/o el reconocimiento hacia proteínas de escamas humanas, de perro y de gato.

Las bandas obtenidas muestran reactividad cruzada entre los pacientes alérgicos al acaro de polvo casero con las proteínas de escamas humanas, de perro y de gato, observando un mayor reconocimiento de bandas con las proteínas de gato hacia humano.

En conclusión se observó que los pacientes alérgicos al ácaro de polvo casero presentan auto-reactividad hacia proteínas de escamas humanas y reactividad cruzada hacia proteínas de escamas de perro y de gato.

Introducción:

HIPERSENSIBILIDAD.

Cuando un individuo es sensibilizado inmunitariamente, el contacto posterior con el antígeno conduce a un refuerzo secundario de la respuesta inmunitaria. Sin embargo, la reacción puede ser excesiva y producir cambios tisulares importantes. Los mecanismos subyacentes de estas respuestas inmunitarias inapropiadas que conducen al daño tisular, son denominadas: reacciones de hipersensibilidad, en este tipo de reacciones la definición clásica de la Inmunología como aquella ciencia encargada del estudio de los mecanismos de protección del individuo, deja afuera todas aquellas circunstancias donde la respuesta inmunitaria es causa de daño y no de protección ^{(1) (12) (13)}. Dada la existencia de una gran variedad de situaciones clínicas cuya patología participa la respuesta inmunitaria, Gell y Coombs, en 1963, se dieron a la tarea de analizar aquellas patologías con algún componente inmunológico para clasificarlas de alguna manera con objeto de facilitar su estudio. Dicha clasificación se muestra en el **Cuadro No. 1** ^{(13) (39)}

Cuadro No. 1 Clasificación de hipersensibilidad propuesta por Gell y Coombs

Tipos	Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV
Inmunoreactante	IgE, linfocitos Th2	IgG e IgM	IgG e IgM	Linfocitos T
Antígeno	Ag soluble	Ag asociado con células	Ag soluble	Ag soluble asociado y Ag asociado con células
Mecanismo efector	Activación de Células cebadas	Complemento, fagocitosis y células NK	Activación de macrófagos	Ag soluble asociado y Ag asociado con células
Ejemplo	Asma, rinitis y dermatitis	Anemia perniciosa	Artritis reumatoide	Dermatitis de contacto

Este estudio está enfocado a la hipersensibilidad tipo I, ya que es la involucrada en los procesos alérgicos, siendo la alergia nuestro tema de interés.

HIPERSENSIBILIDAD TIPO I o ALERGIA

Definición de hipersensibilidad tipo I o alergia.

El término alergia fue definido originalmente por Clemens Von Pirquet como “una capacidad alterada del cuerpo para reaccionar frente a una sustancia extraña,” definición extremadamente amplia que incluía todas las reacciones inmunológicas. La alergia se define ahora como “enfermedad que sigue a una respuesta del sistema inmunitario a un antígeno normalmente inocuo”. El término alergia, derivado de los términos griegos *allos* = *estado de alteración* y *ergon* = *reactividad*, se utilizó por primera vez para describir a los pacientes con predisposición hereditaria que presentaban reacciones secundarias al efecto de factores externos sobre su sistema inmunitario ⁽³⁾. A esta predisposición hereditaria ó genética se le conoce como Atopia y es un término introducido por Coca y Cooke en 1923 para definir una serie de enfermedades “extrañas” por su naturaleza heredable. Actualmente se define como la tendencia personal y/o familiar, generalmente en la niñez o adolescencia, a sensibilizarse y producir anticuerpos IgE en respuesta a antígenos comunes, a los que la población general no responde con niveles altos de IgE. Como consecuencia estas personas pueden desarrollar síntomas típicos de las principales enfermedades atópicas como son la rinitis, asma y/o dermatitis ⁽⁵⁾⁽³¹⁾⁽³²⁾. Dichas enfermedades se describen en el **Cuadro No. 2**

Cuadro No. 2 Enfermedades atópicas⁽¹⁸⁾

	Dermatitis	Rinitis	Asma
			
Síntomas	Pápulas de prurigo, áreas de eczema, placas de liquenificación y excoriaciones	Rinorrea, Comezón, estornudos y congestión.	Sibilancias Jadeo Opresión torácica Disnea y tos
Mediadores	IgE, triptasa, histamina citocinas IL 5,4,13 y 3, leucotrienos (LT), prostaglandinas PG D2 factor activador de plaquetas (PAF) bradicininas. Sobre-expresión de los receptores de alta afinidad para IgE en células de Langerhans y células dendríticas de piel.	IgE triptasa, histamina citocinas: IL 4,5,6,13 y 3 leucotrienos (LT), prostaglandinas PGD2 factor activador de plaquetas (PAF) bradicininas.	IgE triptasa, histamina citocinas: IL 4,5,13 y 3 leucotrienos (LT), prostaglandinas PG D 2 factor activador de plaquetas (PAF) bradicininas.
Órgano de choque	Piel	Mucosa nasal	Epitelio de las vías respiratorias
Clasificación	*D.A tipo infantil *D.A. de la niñez *D.A del adulto	Rinits Intermitente ó persistente. y Leve moderada o severa	Asma leve intermitente Asma leve persistente Asma moderada Asma severa

*Dermatitis atópica

Células cebadas IgE y el mecanismo en alergia.

Las células cebadas juegan un papel muy importante en las alergias, estas pueden influenciar el desarrollo, la intensidad y la duración en la respuesta inmunitaria adaptativa, que contribuye en la defensa de huésped. En alergias, son conocidas como células efectoras de la respuesta Th2 y es asociada con la inmunoglobulina E, ya que presentan receptores en su superficie, de alta afinidad para IgE, además contienen gránulos con gran cantidad de histamina, una amina biógena derivada de la histidina, que juega un papel relevante en diversas situaciones normales y patógenas como la contracción del músculo liso y la inflamación. En 1877 Paul Erlich describe a los mastocitos llamándolos células cebadas al observar la gran cantidad de gránulos en el citoplasma. La función más importante de las células cebadas es almacenar los mediadores químicos de la respuesta inflamatoria (**Cuadro No. 3**), que son liberados una vez que se desgranula. Las células cebadas pueden producir dos tipos de respuesta inmunológica la cual es perjudicial y es resultado del establecimiento y la exacerbación de las enfermedades alérgicas como lo comenta Hofman en un estudio realizado. ^{(15) (33) (40) (53)}:

La fase inmediata consiste en liberar, mediante secreción y en pocos minutos, las sustancias almacenadas en los gránulos. Esta reacción se da al haber penetrado el alérgeno y se manifiesta en fenómenos como edema, rinitis alérgica asma y shock anafiláctico.

La fase tardía implica la síntesis *de novo* de mediadores (**Figura 1**), como los leucotrienos y las prostanglandinas de 2 a 4 horas del estímulo inicial, las funciones de dichos mediadores se muestran en el **Cuadro No. 4** ⁽¹⁵⁾⁽³⁸⁾.

Cuadro No. 3 Mediadores químicos de la respuesta inflamatoria.

Mediadores	Función
Histamina	Actúa sobre los receptores de histamina 1 (H1) y de histamina 2 (H2), aumentando la vasopermeabilidad y la vasodilatación, se aumenta la producción de moco de las vías aéreas, prurito, vasodilatación cutánea y secreción de ácido gástrico.
Tripsina	Su actividad se relaciona con el complemento, directamente con las fracciones C3 y C3a.
Proteoglicanos	Incluye la heparina y sulfato de condroitina, esta última involucrada con la producción de tripsina.
Factores quimiotácticos	En las fases tardías o crónicas de las reacciones alérgicas se aumenta el daño tisular por la actividad de estas células.

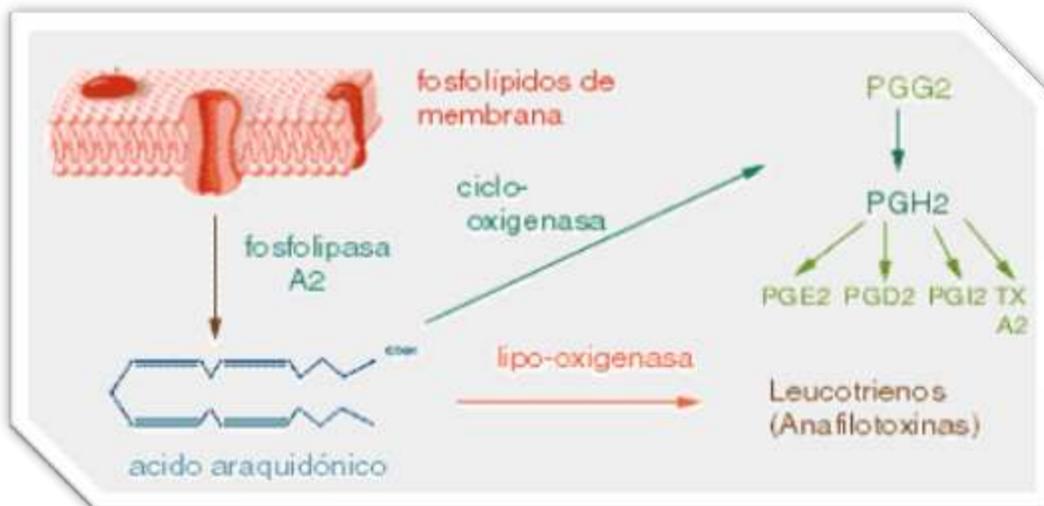


Figura 1. Síntesis *de novo* de mediadores.

Cuadro No. 4 Mediadores químicos del ácido araquidónico y de la ciclooxigenasa

Metabolitos del ácido araquidónico	Productos derivados de la ciclooxigenasa
Leucotrieno B4. Involucrado en el proceso de activación y quimiotaxis de neutrófilos y el aumento de la permeabilidad vascular.	Prostaglandina D2. Actúa como bronco-constrictor, vasodilatador periférico, vasoconstrictor arterial pulmonar y coronario, inhibidor de la agregación plaquetaria y aumenta la liberación de histamina de los basófilos.
Leucotrieno C4 y D4. Potentes bronco-constrictores, aumentan la permeabilidad vascular y producen la constricción arterial.	Prostaglandina F2. Sus funciones son similares a la prostaglandina D2, actúa como bronco-constrictor, vasodilatador periférico, vasoconstrictor coronario e inhibidor de la agregación plaquetaria.
Leucotrieno E4. Aumenta la respuesta bronquial y la permeabilidad vascular.	Tromboxano A2. Ocasiona vasoconstricción y bronco-constricción.

La inmunoglobulina E también es pieza fundamental en los fenómenos alérgicos, cuando un alérgeno se une a las membranas de las células cebadas, se activa una vía de señalización al interior de la célula que estimula la liberación de histamina por el proceso de desgranulación ⁽¹⁵⁾. En el **Cuadro No. 5** se muestran diversas características de la inmunoglobulina E.

Cuadro No 5. Características de IgE

CARACTERISTICAS	
Peso molecular	190 kDa
Contenido de carbohidratos	12%
Numero de dominios en cadena pesada	4
Concentración en suero normal	< 450 ng/mL

Las reacciones alérgicas, resultan de la liberación de mediadores preformados de los gránulos, lípidos derivados de membranas, citocinas y quimiocinas, que se producen cuando un alérgeno interactúa con la IgE que está unida a las células cebadas por la cadena alfa de los receptores de alta afinidad de la IgE (FcRI). Este receptor también se encuentra en las células presentadoras de antígenos (APC), donde pueden facilitar la unión de la IgE dependiente de Ag y favorecer la presentación de los alérgenos a las células T. Los eosinófilos también poseen FcεRI-, pero en estas células se presentan de manera intracelular, después de haber sido liberados por la desgranulación de los eosinófilos, esto puede ayudar a regular los niveles de IgE locales. Los inductores más importantes de la producción de IgE son las IL-4 e IL-13 sus funciones se muestran en el **Cuadro No. 6** (15)(34).

Cuadro No. 6 Citocinas de la respuesta humoral y su función

Citocinas	Función
IL-4	Estimula y mantiene la proliferación de linfocitos T CD4/Th2 y activa a los linfocitos B para producir la síntesis de IgE.
IL-5	Es un mediador químico involucrado en la maduración, quimiotaxis y activación de los eosinófilos. Induce la liberación de histamina y leucotrienos. Activa a los linfocitos B para producir la síntesis de IgE.
IL-6	Promueve la producción de moco. Activa a los linfocitos B para producir la síntesis de IgE.
IL-13	Mantiene la proliferación de linfocitos T CD4/ Th2

Una vez explicada la función de las células cebadas y de la inmunoglobulina IgE, el mecanismo de hipersensibilidad tipo I se torna de la siguiente manera.

Los procesos alérgicos se encuentran mediados por anticuerpos de la clase IgE y el mecanismo inicia por el contacto con un antígeno ambiental, éste es captado por las células presentadoras de antígeno (APC) que son macrófagos especializados capaces de particular a las proteínas antigénicas y unir las a moléculas de superficie celular llamadas proteínas del complejo principal de histo-compatibilidad de clase I y II, también conocidas como MCH I y II para ser de esta forma reconocidas por otras células. Las APC presentarán dicho antígeno a los Linfocito Th1 y Th2 y debido a que los pacientes alérgicos tienen mayor número y/o funcionalidad de Th2; se producirán Interleucinas 4,5,13, que inducirán una respuesta de linfocitos B con producción de IgE. La inmunoglobulina E producida se fija a receptores de alta afinidad (FcεRI) y baja afinidad para este anticuerpo presentes en múltiples células como las células cebadas. En este momento se dice que la célula cebada se encuentra sensibilizada ^{(2) (6)}.

En un segundo contacto con el antígeno hay un puenteo de las IgE fijadas a los receptores celulares causando desgranulación y por consiguiente liberación de los gránulos preformados de la misma, estos gránulos liberan sustancias capaces de inducir bronco espasmo, vasodilatación, fuga de líquidos con edema y la hipersecreción de moco tanto en el asma como en rinitis alérgicas ^{(2) (6)}. Estudios realizados en el laboratorio indican que la liberación de mediadores la promueven los procesos que reducen el monofosfato de adenosina cíclico (AMPc). Se ha observado que las sustancias adrenérgicas, en especial los beta-adrenérgicos, más selectivos, aumentan el monofosfato de adenosina cíclico intracelular y con ello inhiben la liberación de histamina. El AMPc es catabolizado

normalmente por la fosfodiesterasa; si la fosfodiesterasa esta inhibida por un inhibidor de esta, aumenta el monofosfato de adenosina cíclico intracelular y se libera menos histamina y otros mediadores. El calcio y el magnesio son esenciales para la liberación de histamina por las células cebadas y basófilos sensibilizados en laboratorio ⁽¹⁴⁾. La interacción entre anticuerpos IgE y un alérgeno en la membrana de la célula cebada no parece capaz de activar la secuencia del complemento por la vía clásica: pero el complemento puede activarse por la vía alterna. En la mayoría de las situaciones se ha visto que los efectores inmunitarios de la reacción de hipersensibilidad tipo I son los anticuerpos IgE, pero debe quedar claro que los mediadores inflamatorios son los responsables de los cambios fisiopatológicos observados en el paciente ⁽¹⁴⁾. El mecanismo se muestra en la Figura 2.

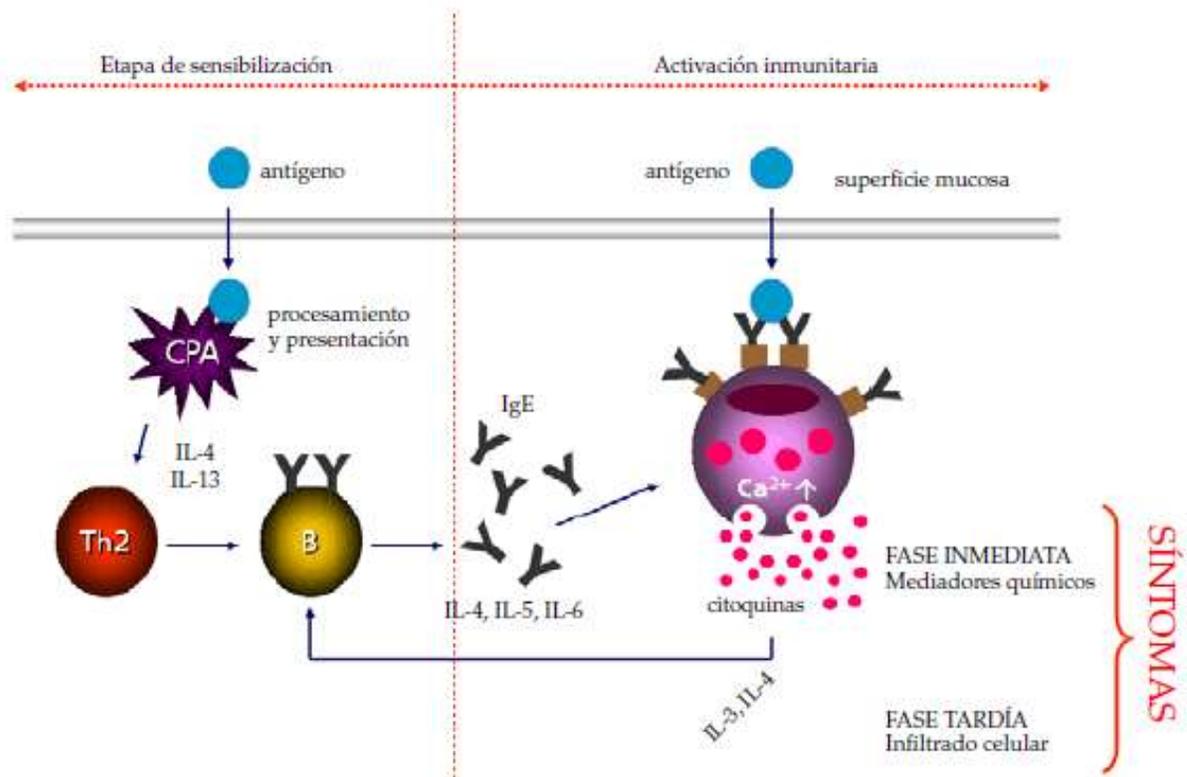


Figura 2. Mecanismo de hipersensibilidad de tipo I

Alérgenos

Los antígenos que participa en la reacción de hipersensibilidad I también son conocidos como alérgenos, este término se refiere a esas sustancias que producen principalmente una respuesta inmuno-alérgica, es decir los antígenos que causan las alergias se denominan alérgenos.

Para reconocer a una partícula como alergénica, se deben tomar en cuenta diversos factores tales como: tamaño, solubilidad, proporción de separación, cantidad, vía de entrada, dosis, frecuencia a la exposición y características moleculares, las cuales contribuyen para determinar a un alérgeno desde el punto de vista clínico para la población en general, según su vía de entrada al organismo los alérgenos se clasifican en exógenos y en endógenos (**Figura 3**) Y según su origen se clasifican en polínico, fúngico y animal como se muestra en la **Figura 4**⁽¹¹⁾.



Figura 3. Clasificación de alérgenos según su vía entrada. Según la vía de entrada los alérgenos se clasifican en exógenos tales como inhalables, ingeribles, inyectables y contactantes. También se clasifican en endógenos conocidos como auto-alérgenos.

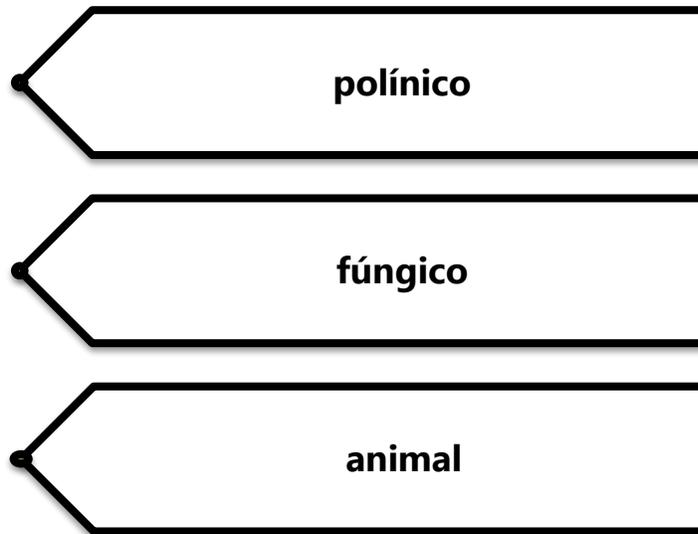


Figura 4. Clasificación de alérgenos según su origen. Según su origen los alérgenos se pueden clasificar como polínico, por ejemplo, los diversos pólenes de arboles, malezas y pasto. En la clasificación fúngica están las formas de reproducción asexual de los hongos y en los animales; la caspa y la saliva.

Los alérgenos exógenos son antígenos cuyo acceso al organismo es principalmente por las vías respiratoria, digestiva, parenteral o por contacto con la piel o las mucosas.

En el caso de los alérgenos inhalables son los más importantes en las alergias respiratorias, estos a su vez los podemos subdividir en dos grupos como se muestra en la **Figura 5.**⁽¹¹⁾:

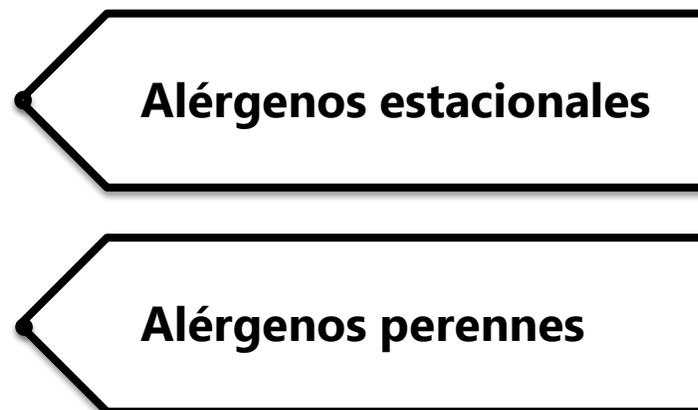


Figura 5. Clasificación de alérgenos inhalables. Los alérgenos estacionales se refieren a la polinización las malezas o árboles según la estación del año. Y los alérgenos perennes son los que encontramos durante todo el año por ejemplo: caspa de animales, polvo casero entre otros.

Los siguientes alérgenos inhalables (**Figura 6, 7 y 8.**) producen rinitis y asma alérgica, y son los que predominan en México.

1.- Pólenes

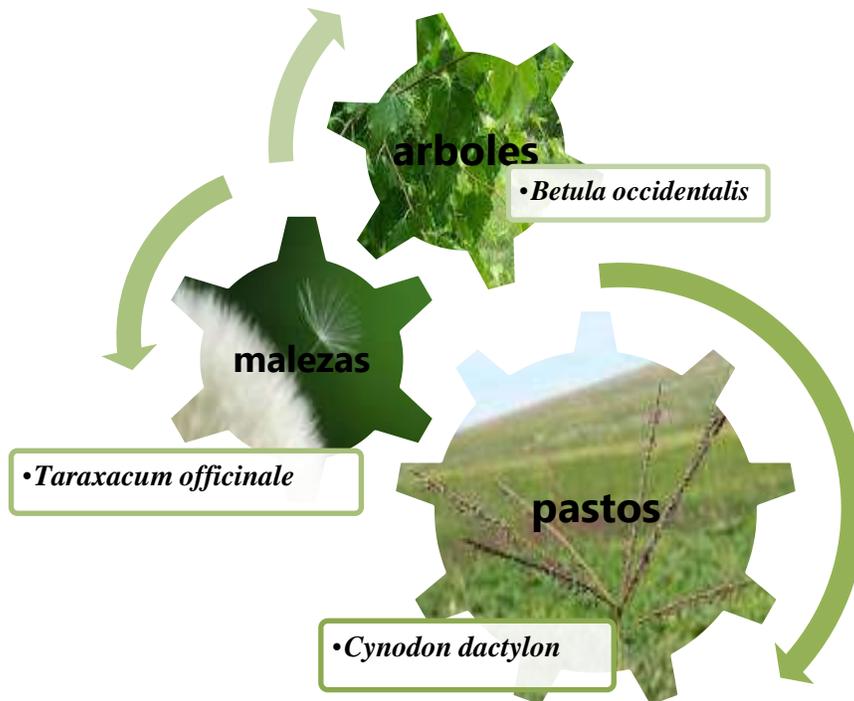


Figura 6. Pólenes causantes de alergia: estos pastos son los principales alérgenos en alergias y se localizan en diversas regiones de la Republica Mexicana, siendo el más común *Cynodon dactylon* también conocido como pata de gallo.

2.-Fúngicos.

Los hongos microscópicos más frecuentemente relacionados:

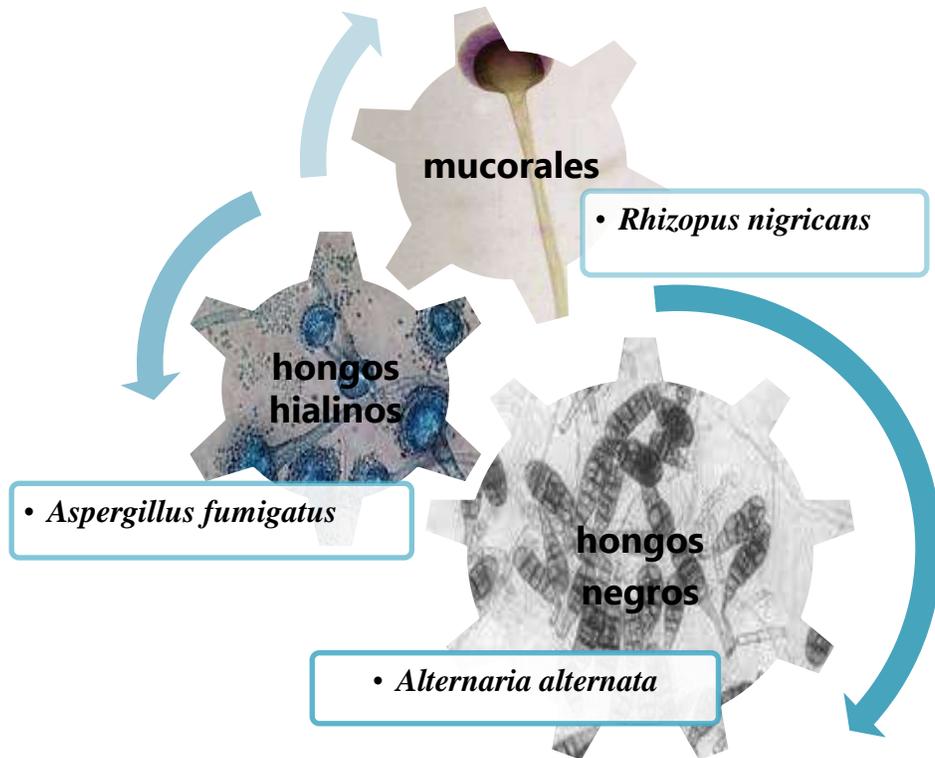


Figura 7. Hongos causantes de alergia: Estos hongos crecen en lugares tropicales húmedos y causan alergias respiratorias persistentes. Realmente no existe alergia a la humedad, sino a diversos hongos que se reproducen asexualmente en estas condiciones ⁽¹¹⁾.

3-. Animales

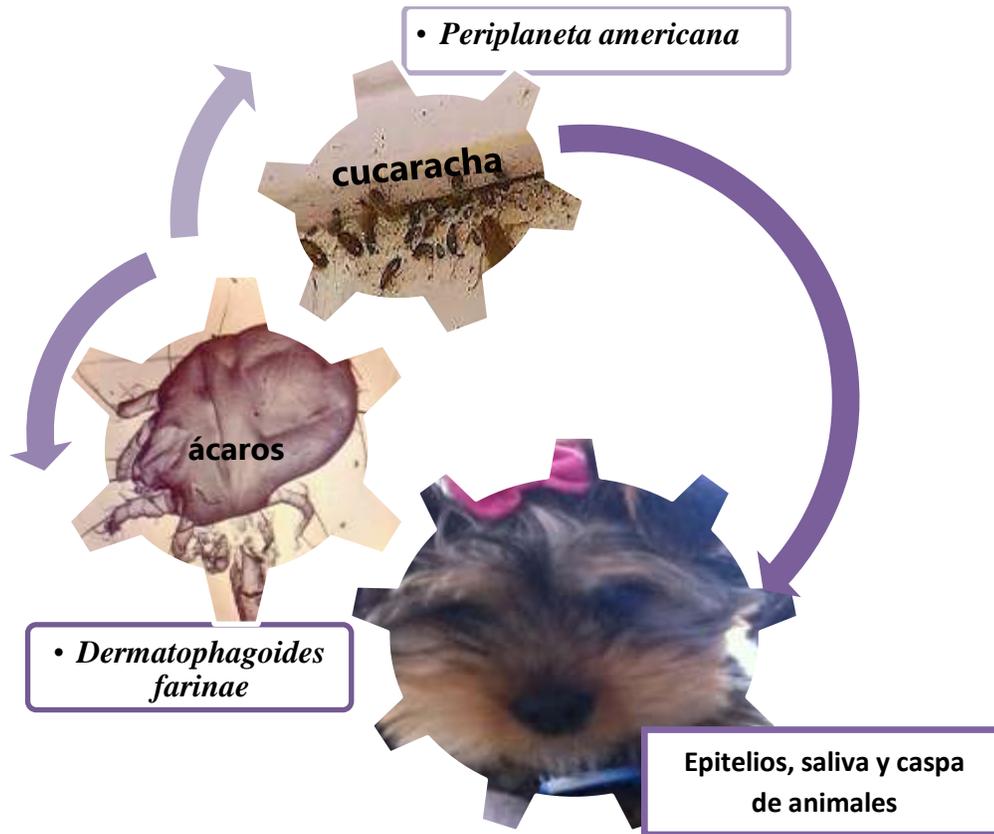


Figura 8. Animales causantes de alergia. Los epitelios y caspa de animales son de los principales alérgenos presentes en el polvo casero y causantes de diversas alergias en México.

Las moléculas proteínicas en los granos de polen, en la superficie de diminutos ácaros que viven en el polvo casero y en la caspa de animales, son alérgenos comunes. Muchas personas que son alérgicas a los gatos y a los perros son en realidad alérgicas a proteínas en la saliva del animal. Ellos se sensibilizan con las proteínas salivales depositadas en el pelaje cuando el animal se lame a sí mismo. Una persona alérgica a la saliva de gato o de perro puede reaccionar a unas cuantas moléculas del alérgeno en cuestión de minutos ⁽⁶⁾⁽⁷⁾.

Alérgenos de perro, gato y ácaro.

La sensibilización al gato es la causa más común de las enfermedades alérgicas en todo el mundo. Los síntomas varían de leves a potencialmente agresivos, las cuales pueden llegar a amenazar la vida del paciente. El principal alérgeno del gato es Fel d1 de 35 kDa, primero se sugirió que el alérgeno era una proteína de la saliva, sin embargo estudios posteriores mostraron que el sitio de síntesis de la proteína era la piel. La piel de los gatos contiene concentraciones elevadas del alérgeno, pero cuando los gatos se acicalan la cantidad de alérgeno disminuye ⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽³⁵⁾.

Los dos principales alérgenos de perro, provienen de las escamas y el pelo: Can f1 es una proteína con un peso molecular de 21 – 25 kDa y Can f 2 tiene un peso molecular de 27 kDa. Can f1 y Can f2, son lipocalinas y muestran un 58% y 23% de secuencia homóloga con la proteína de la glándula de Von Ebner, mientras que Can f2 tiene una secuencia similar a la proteína urinaria de ratón ⁽⁸⁾.

En 1964 se confirmó que las diversas especies de Dermatophagoides son una fuente principal, en el desarrollo de las alergias, sus principales alérgenos están presentes en el polvo casero y se clasifican en dos grupos. El primer grupo se constituye por Der p1 y Der f1 tienen un peso molecular de 24 kDa y se encuentran en las heces de los ácaros; el segundo grupo está constituido por Der p2 y Der f2, con un peso molecular de 14 kDa y también se encuentran en las heces de los ácaros, para el diagnóstico clínico estos dos grupos son los más relevantes en los padecimientos alérgicos ⁽⁹⁾⁽⁴²⁾⁽⁴³⁾.

Importancia del estudio de los alérgenos.

La importancia para el estudio de los alérgenos exógenos, como alérgenos de perro, gato y ácaros, radica en la reactividad cruzada que presentan estos. La reactividad cruzada se ha determinado por analogías estructurales: es decir, dos proteínas dan reactividad cruzada sólo cuando comparten estructuras primarias y terciarias y en general, poseen pliegues proteínicos similares, como la reactividad cruzada presente entre los alérgenos de perro, hacia alérgenos de gato, como lo muestra un estudio realizado por Grönlund y Col. en el 2010, sus resultados muestran que en la caspa de perro y de gato, existen antígenos de reacción cruzada como Fel d2 hacia Can f3 y otros más los cuales no son descritos. Por otro lado Reininger y Col. en el 2007, realizó un estudio, en el cual identificó una proteína de 20 kDa en diferentes extractos de escamas de perro, que presentó reactividad cruzada con el principal alérgeno de gato Fel d1, también observaron que más del 20 % de los pacientes alérgicos al gato y al perro, montan anticuerpos IgE directamente contra Fel d1, esta explicación lo muestra otro estudio en el que Brandt reportó que los anticuerpos IgE específicos para escamas de perro son inhibidos por alérgenos epiteliales de gato. La asociación clínica entre alergias de perro y gato, se conoce tiempo atrás, sin embargo se siguen estudiando alérgenos de reactividad cruzada por las implicaciones para el diagnóstico y terapia mediada por IgE para pacientes alérgicos al perro.⁽³⁵⁾⁽³⁶⁾⁽³⁷⁾

El hallazgo de similitudes moleculares entre los alérgenos exógenos y las proteínas humanas y la consecuente demostración de autoreactividad de IgE condujeron a trabajar en una nueva línea de investigación, enfocándose en los pacientes con dermatitis atópica que presentan auto anticuerpos IgE contra una variedad de proteínas humanas. El hallazgo más relevante fue el descubrir auto alérgenos que reaccionaban con la IgE. En el 2000 Valenta

describe al primer auto-alérgeno, Hom s1 expresado en la epidermis, en el pulmón y en la vía gastrointestinal. Su principal característica es la similitud con el auto-antígeno SARTT-1, responsable del cáncer esofágico. Hom s2 es la cadena alfa del complejo asociado al polipéptido “nascent” de humanos. Similar a las chaperoninas Hom s2 está involucrado en la translocación de proteínas intracelulares y puede actuar como co-activador transcripcional. Hom s2 es una proteína termoestable que induce la respuesta linfoproliferativa en la sangre con células mono-nucleadas en pacientes con dermatitis. Hom s3, nombrado también BCL7B es un oncogen y Hom s4 es una proteína que contiene dominios de unión a calcio en su secuencia. Finalmente Hom s5 es una forma de la parte central de la queratina de humanos tipo II. Todos estos auto-alérgenos representan proteínas intracelulares que son expresadas en una variedad de tejidos y células con una importante función fisiológica y biológica ⁽⁸⁾⁽⁹⁾.

Algunos auto-alérgenos como Hom s1 y Hom s3 fueron hallados en complejos IgE-auto-alérgenos en el suero de pacientes con dermatitis atópica y dicha circulación de los complejos anticuerpo-auto-alérgeno propicia blancos para los órganos involucrados en la atopia uniendo a los receptores Fcε para inducir el cuadro de atopia e inducir las reacciones alérgicas. Los pacientes con dermatitis atópica con auto-anticuerpos IgE tienden a padecer manifestaciones cutáneas más severas que aquellos que no se detectan los auto-anticuerpos y la autoreactividad de IgE aumenta con los síntomas en la piel donde se agrava la respuesta con el contacto a los aero-alérgenos. ⁽⁸⁾⁽⁹⁾

En otros estudios realizados por Sawai se ha revelado que los extractos de escamas humanas, separados en cuatro fracciones de acuerdo a sus pesos moleculares, presentaban una reacción positiva en pacientes alérgicos, en especial en los pacientes con dermatitis, a

dos proteínas de peso molecular de 10 y 13 kDa, esto revela la probabilidad de que la escama humana sea un auto alérgeno y que haya más auto-alérgenos que permitan el desarrollo de la auto-hipersensibilidad ⁽¹⁰⁾.

Epidemiología de las enfermedades alérgicas.

La prevalencia de la facilidad para producir anticuerpos específicos IgE es variable en todo el mundo, habiéndose publicado cifras que oscilan entre el 10 % y el 45 %, dependiendo de la raza, edad, sexo, factores ambientales y criterios, por lo que es difícil establecer comparaciones seguras ⁽¹⁷⁾.

Un estudio realizado en el 2009 nos muestra que la prevalencia de enfermedades alérgicas en la ciudad de México fue de 42.6%, principalmente la rinitis alérgica; los niños fueron el grupo más afectado. La mayor prevalencia se encontró en la delegación Tláhuac. La coexistencia de enfermedades alérgicas se encontró en 19.9%. el 44.2% de los pacientes recibió atención del médico general, 20.4% gastó entre 10 y 20% de sus ingresos en medicamentos y 26% no tuvo dinero para comprar medicamentos. El ausentismo anual en el trabajo y la escuela fue de 3.37 ± 3.86 y 6.2 ± 12.84 días, respectivamente. Y se llegó a la conclusión que la rinitis alérgica fue el padecimiento más frecuente, al igual que se ha reportado en otros países. La población pediátrica fue la más afectada. Los médicos generales son los profesionales de salud que atienden a la mayoría de los pacientes ⁽¹⁷⁾.

Dado que la morbilidad y ausentismo laboral y escolar por enfermedades alérgicas, tienen repercusiones económicas a nivel empresarial y familiar y debido a la alta prevalencia y a los gastos que derivan de las enfermedades alérgicas, éstas deben considerarse un problema de salud pública en la Ciudad de México ^{(16) (17)}.

Actualmente las afecciones alérgicas han aumentado notoriamente en países desarrollados en donde del 8 a un 10% de los niños sufren asma y hasta un 25% de la población sufren rinitis, dermatitis atópica o asma. Es posible que una menor frecuencia de cierto tipo de infecciones en la infancia permita que la respuesta inmunológica sea programada desde

muy temprano hacia el tipo Th2, que predispone a las afecciones alérgicas como parte de un nuevo síndrome llamado “desequilibrio de citocinas” ⁽¹⁷⁾

A continuación en el **Cuadro No. 7** Se muestra la frecuencia de enfermedades alérgicas hasta el año 2010. Se presenta de un 20 a 33 % de la población en general ⁽¹⁷⁾.

Cuadro No. 7 Frecuencia de enfermedades alérgicas en México

Edad	Porcentaje
De 3 meses a 14 años	56.4%
De 15 a 30 años	35.5%
De 31 a 45 años	6.6%
Mayores de 45 años	1.5%

Diagnóstico de las enfermedades alérgicas.

La historia clínica es la base y el cuidadoso interrogatorio que ponga en evidencia los factores genéticos y desencadenantes suelen ser suficientes para establecer un diagnóstico preciso, Una vez que el médico ha llevado a cabo la historia clínica orientada, y está seguro de que su paciente puede ser alérgico, entonces enviará al paciente para practicarle estudios generales, de gabinete y en caso de duda o necesidad de comprobación, se puede acudir a métodos *In vivo* e *In vitro* como se muestra en la **Figura 9.** ⁽¹²⁾.

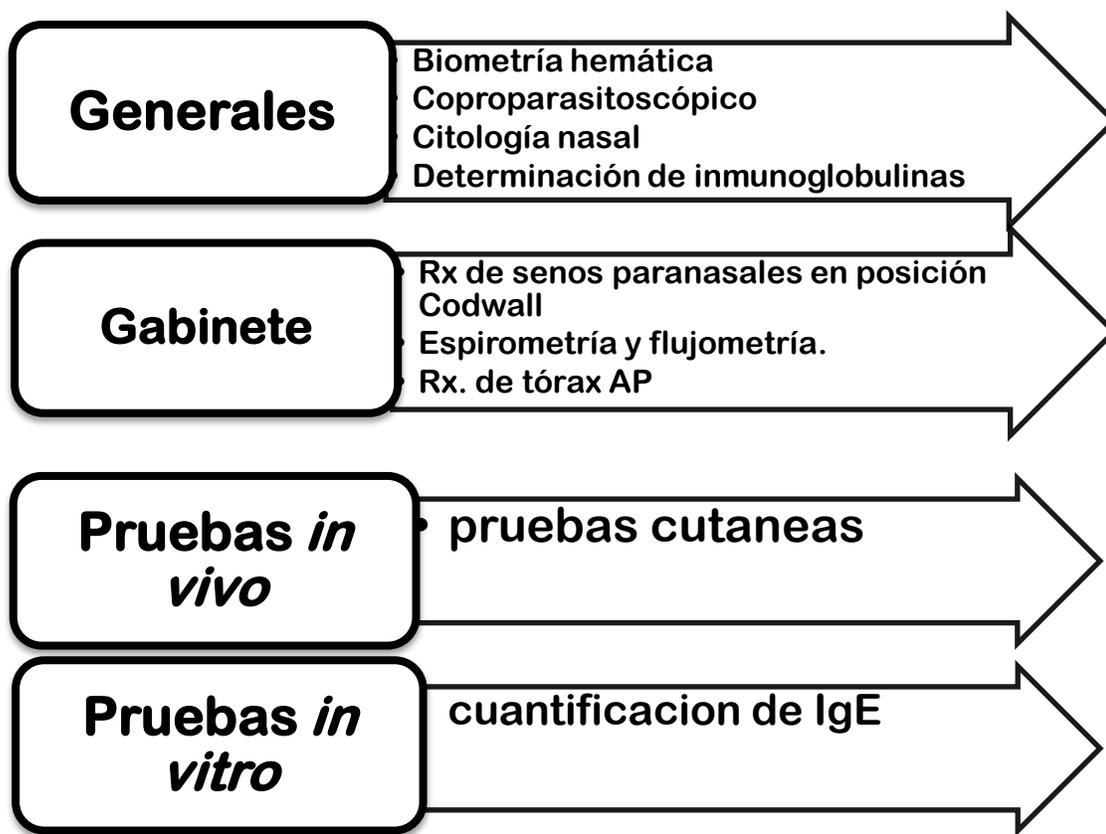


Figura 9. Estudios para el Diagnóstico de la alergia.

Las pruebas *In vivo* incluyen pruebas cutáneas como: prueba por escarificación o scratch, punción o prick, intradermorreacción.

Por lo general, su empleo es suficiente para la evaluación de un paciente con un problema alérgico, y permite determinar cuál es el posible alérgeno responsable del desencadenamiento de las manifestaciones alérgicas. Por medio de excoriación en la piel, se aplican extractos preparados a base de los alérgenos que se van a estudiar⁽¹²⁾

Cuando se realiza una prueba cutánea, las reacciones son mayores en el tronco, mayores, cerca de la fosa cubital que cerca de la muñeca y mayores en el lado ulnar que en el lado radial de los antebrazos. La edad también influye en la reacción, y los niños menores de 2 años tienen unas reacciones menores que los niños mayores y adultos⁽¹²⁾. Existen algunas pruebas de que los sujetos atópicos tienden a presentar mayor número de reacciones positivas a medida que envejecen⁽¹²⁾.

Es importante suspender la administración de antihistamínicos como mínimo de 24-48 horas antes de las pruebas cutáneas, para evitar falsos negativos, que por otra parte pueden producirse. Así los antihistamínicos pueden disminuir la reacción, se ha sugerido que los bloqueantes beta-adrenérgicos, como el propanolol, pueden disminuir significativamente la reactividad cutánea⁽¹²⁾.

El American Comitee on Standardization recomendó imitar estas reacciones con histamina como testigo positivo siempre que se realicen pruebas cutáneas. Otro asunto es que este tipo de reacción indique siempre una respuesta IgE. Parish y Col en (1970) observó que ciertos anticuerpos IgG pueden inducir una sensibilización durante un periodo breve de tiempo en las células cebadas y, por lo tanto, pueden introducir unas reacciones inmediatas

a las pruebas cutáneas. El uso principal de las pruebas cutáneas es para confirmar una alergia a los alérgenos inhalantes más habitual, en especial los pólenes de las gramíneas, los ácaros de polvo y los animales domésticos, de granja o de laboratorio ⁽¹²⁾⁽⁴¹⁾.

Interpretación

En la prueba positiva aparece una reacción de eritema y pápula en 10 a 20 minutos. Y aquellos que den igual que el control positivo (de 3-7 mm de Roncha + 20 a 30 mm de Eritema) se les asignará (+++), de 9 – 14 mm, roncha (++++), + 15mm: +++++.

La prueba se puede hacer simultáneamente para varios alérgenos, inoculándolos en lugares diferentes del antebrazo o de la espalda ⁽¹⁵⁾.

En el caso de las pruebas *In vitro* no presentan riesgo inherente y suele implicar la demostración de IgE específica. La detección de IgE específica es menos sensible y específica que en la prueba cutánea. Las pruebas para cuantificar IgE-alérgeno-específica no dependen de la ingesta de antihistamínicos y no son dolorosas puesto que sólo se realiza una toma de 8 ml de sangre total. La muestra sanguínea debe ser tomada después de un ayuno de 12 horas para evitar presencia de grasas, no debe estar hemolisada ni icterica. El suero es inmediatamente separado y congelado a -75°C , hasta la realización de la prueba. La IgE-alérgeno específica libre puede cuantificarse mediante inmunoensayo-enzimático (ELISA), radioinmunoanálisis (RAST) o quimioluminiscencia (MAST) ⁽⁵⁴⁾.

El principio de la prueba MAST es muy simple y se fundamenta en que los anticuerpos IgE-alérgeno-específicos se unen a su alérgeno (previamente acoplados a hilos de hemicelulosa). Este proceso ocurre de 18-20 horas. Después de 3 lavados con solución amortiguadora, se incorporan los anticuerpos IgG anti-IgE marcados con luminol (La

región Fab de las IgG anti-IgE se unen a la región Fc de las IgE). Esta reacción se lleva a cabo en 4 horas. Después de 3 lavados con solución amortiguadora, finalmente se le agrega el reactivo final, se deja actuar durante 30 minutos, y se lee en el quimioluminómetro ⁽⁵⁴⁾.

El reporte final de la concentración de la IgE-alérgeno-específica se realiza por clases como se muestra en el **cuadro No. 8**:

Cuadro No. 8 Valores de referencia.

LU (unidades de luminiscencia)	Clase	Interpretación
Más de 242	4	Muy alto
143-242	3	Alto
66-142	2	Moderado
27-65	1	Bajo
12-26	1/0	Muy bajo
0-11	0	No detectable

Interpretación

Las clases 1 y 2, con pruebas cutáneas negativas, con sintomatología leve, pueden estar indicando sensibilidad previa o que la mayor parte de IgE específica se encuentra unida a sus células cebadas. Las clases 3 y 4, tienen valor clínico predictivo de enfermedades alérgicas. En estos pacientes generalmente la IgE total es alta, y puede ser que sus síntomas sean muy severos (con pruebas cutáneas muy positivas)⁽⁵⁴⁾.

Siempre se tendrá que correlacionar los resultados de las pruebas cutáneas con los valores obtenidos de la IgE total y de la IgE-alérgeno específica en suero. Tomándose varios criterios selectivos y siendo determinante para un diagnóstico certero, la historia clínica⁽⁵⁴⁾.

Profilaxis y Tratamiento de las enfermedades alérgicas

La aspiración del medio como método de aseo, en lugar del barrido, es indispensable en el caso del asmático. Este cambio puede ser suficiente para mejorar apreciablemente el problema de un paciente. El limpiar muebles, cortinas y muros con trapo húmedo o aspiradora y no con un sacudidor, son medidas simples que pueden bajar suficientemente la concentración de un alérgeno. Evitar el empleo de tapices, carpetas, colchones o almohadas de materiales como la paja, la lana o cualquier otro material orgánico que pueda ser de por sí alergénico, o facilite la colonización de ácaros, es una medida que da buenos resultados en el manejo de determinados pacientes. Es indispensable la exclusión de animales domésticos, cuando se ha establecido alguna sensibilización a ellos. Igualmente, la exclusión de flores o plantas contra las cuales se haya logrado establecer sensibilización en el paciente, puede solucionar un problema alérgico ⁽¹⁵⁾.

Para el control del proceso inflamatorio, se debe tener en cuenta la prevención de la síntesis de mediadores con el empleo de esteroides puesto que se ha demostrado su utilidad en el control del proceso inflamatorio, este se puede emplear por vía parenteral u oral y en el asma por inhalación ⁽¹⁵⁾.

También se debe evitar la liberación de mediadores. La acción de la histamina se inicia en segundos y tiene una duración corta, de 10 a 15 minutos. Su efecto se ejerce a través de receptores especiales de membrana en las células blanco. Los receptores para la histamina son de tres tipos: lo H1, H2 y H3. Los primeros pueden ser bloqueados por los antihistamínicos conocidos farmacológicamente, mientras que los H2, presentes especialmente en la mucosa gástrica, son antagonizados por la cimetidina. Los H3, regulan

la producción de la histamina. Los antihistamínicos actúan sobre los receptores H1. Los de primera generación como la clorfeniramina y similares, dan mucha somnolencia mientras que los de la segunda generación como el astemisol, loratadina, terfenadina, cetirizina, azelastina, fexofenadina y mequitazina no tienen efecto sedante porque no traspasa la barrera hematoencefálica y su acción es prolongada. Cuando no es suficiente el control ambiental y el tratamiento farmacológico, se debe recurrir a la inmunoterapia ^{(15) (23)}.

La inmunoterapia de la alergia se basa en la administración de dosis crecientes de un alérgeno durante meses o años, con el objetivo de que el paciente desarrolle tolerancia. La inmunoterapia se utilizó por primera vez para el tratamiento de la fiebre del heno en 1911, en Inglaterra y aun se sigue utilizando casi con exclusividad para el tratamiento de la alergia mediada por IgE. El mecanismo preciso de la inmunoterapia se desconoce, pero en el curso de la administración del alérgeno se han observado diversas alteraciones de la inmunidad humoral y celular de los pacientes tratados, es decir se producen cambios inmunológicos a distintos niveles. Estos cambios pueden agruparse en modificaciones de la respuesta inmunitaria como la inmunomodulación y disminución de la reactividad del órgano de choque ^{(22) (23)}.

Durante la inmunoterapia se han descrito las siguientes modificaciones

- 1-. Con la administración de inmunoterapia se produce un aumento inicial de la IgE específica, seguida de la pérdida del aumento de IgE durante la exposición al alérgeno y finalmente un lento descenso de la concentración de IgE. Estos cambios en la IgE específica no se correlacionan con la eficacia clínica ⁽²³⁾.

2-. La inmunoterapia produce un aumento de los niveles de anticuerpos IgG específicos, primero IgG1 y luego IgG4 ⁽²³⁾.

3-. Se producen modificaciones en el patrón de linfocinas secretadas por los linfocitos T alérgeno-específicos, disminuyendo la producción de IL-4 e IL-5 respecto a la de IFN-g. ⁽²³⁾

4-. Con el tiempo se produce una situación de ausencia de repuesta al alérgeno por parte de los LT, disminuyendo la respuesta proliferativa y la producción de citocinas, salvo la IL-10, tras la exposición al mismo ⁽²³⁾.

5-. La inmunoterapia disminuye ligeramente la respuesta alérgica inmediata al alérgeno pero inhibe intensamente la respuesta tardía hasta abolirla ⁽²³⁾.

6-. El órgano de choque, disminuye la producción de mediadores y el reclutamiento de células efectoras (linfocitos T y eosinófilos) tras la provocación con alérgeno. También disminuye el número de células cebadas ⁽²³⁾.

Inmunomodulación

La inmunomodulación es el cambio producido por la inmunoterapia en la respuesta inmunitaria al alérgeno. La inmunomodulación puede producirse a distintos niveles y por distintos mecanismos ⁽¹⁸⁾:

Inmunomodulación por anticuerpos:

Pueden ser debidas a un mecanismo de antagonismo con la IgE de tipo competitivo o no competitivo ⁽¹⁸⁾.

Antagonismo competitivo

Este mecanismo de actuación es el más probable, ya que la mejoría clínica se correlaciona bien con el nivel de anticuerpos bloqueantes IgG que, como lo sugiere su nombre, podrían fijarse al alérgeno y evitar su interacción con la IgE asociada con células cebadas, sin embargo, la IgG puede reaccionar con epítomos del alérgeno distinto a los de la IgE ⁽¹⁸⁾

Antagonismo no competitivo

La IgG podría formar inmunocomplejos con el alérgeno y alterar la capacidad de este para producir la agregación de IgE a receptores de membrana de células cebadas y basófilos, también podría alterarse el procesamiento del antígeno por las APC y la presentación a los linfocitos T con las señales co-estimuladoras adecuadas, lo que llevaría a la anergia⁽¹⁸⁾

Cambio de perfil

El cambio en el patrón de citocinas secretadas en respuesta al alérgeno se relaciona con un cambio de los linfocitos T alérgeno-específicos desde el fenotipo Th2 al fenotipo Th1. Este cambio se atribuye a que las grandes cantidades de antígeno introducidas con la inmunoterapia producen dos fenómenos ⁽¹⁸⁾

1-. Un cambio en las APC que presentan al antígeno que, en lugar de LB y las células dendríticas DC2, serán macrófagos y células dendríticas DC1. Estas células producen grandes cantidades de IL-12 que favorecen la diferenciación de Th1 ⁽¹⁸⁾.

2-. Se produce una gran intensidad de señal a través del TCR de los linfocitos T, lo que también induce la diferenciación de Th1 ⁽¹⁸⁾.

La inmunodesviación se produce y consolida lentamente a lo largo del tratamiento ⁽¹⁸⁾

Reacciones adversas

La inmunoterapia puede producir una serie de reacciones adversas, su clasificación se muestra en la **Figura 10**:

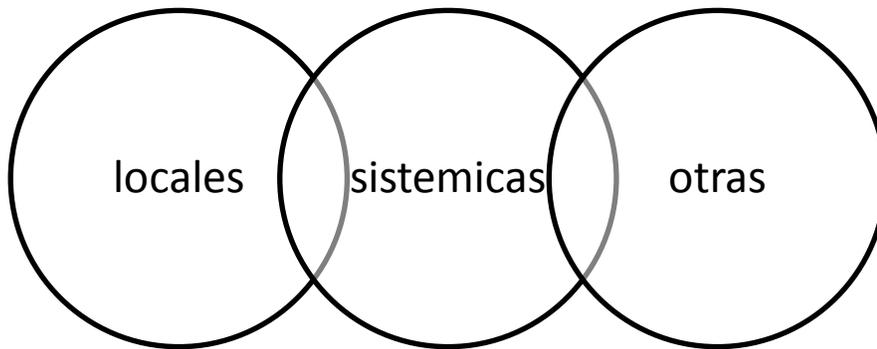


Figura 10. Reacciones adversas en la inmunoterapia. Las reacciones adversas en la inmunoterapia se pueden clasificar como locales sistémicas y otras.

Dentro de las locales encontramos que son las más frecuentes, produciendo eritema, tumefacción y prurito locales en la zona de inyección. Las sistémicas son aquellas que aparecen a distancia del punto de la inyección por ejemplo lagrimeo, estornudos entre otras.

Y finalmente se pueden presentar síntomas inespecíficos es decir no están mediados por IgE, entre estos se han descrito cefaleas, malestar, artralgias.

Es importante mencionar que el éxito obtenido a menudo no es completo, pero algunos pacientes logran estar libres de síntomas durante periodos prolongados. En otros casos se logra reducir los síntomas lo suficiente para permitir un tratamiento solo sintomático, aunque en algunos casos debe reinstaurarse la inmunoterapia ⁽¹⁸⁾.

JUSTIFICACIÓN

La prevalencia de las enfermedades alérgicas a nivel mundial va en aumento, considerándose un problema de salud pública, actualmente se ha observado que el éxito obtenido en la inmunoterapia no es el esperado, ya que en algunos pacientes, no les resulta efectiva; lo que los lleva a prolongar el tratamiento por años o inclusive llegar a suspenderlo, esto se puede deber a la reactividad cruzada presente entre diversos alérgenos exógenos y endógenos, lo cual complica tanto el diagnóstico como el tratamiento en las alergias, dado esto, es necesario el estudio de dichos alérgenos, para poder tener un diagnóstico certero e identificar aquellos alérgenos que no son efectivos o funcionales y aquellos que se han descrito en los últimos años y no han sido incorporados a la inmunoterapia como en el caso de los alérgenos endógenos, que pueden llegar a ser efectivos para esta.

OBJETIVO GENERAL.

Determinar la frecuencia con que los pacientes alérgicos al ácaro del polvo presentan respuesta de anticuerpos IgG o IgE contra los alérgenos contenidos en las escamas de humanos, gatos y perros y si existe reactividad cruzada entre ellos, por medio de la técnica de inmunoelectrotransferencia.

OBJETIVOS PARTICULARES.

- ❖ Realizar geles en gradiente y el corrimiento electroforético de los extractos de escamas humanas, de perro y de gato.
- ❖ Realizar la transferencia de las proteínas de escamas humanas, de perro y de gato a una membrana de nitrocelulosa
- ❖ Obtención y procesamiento de muestra sanguínea a 100 pacientes alérgicos al ácaro de polvo casero
- ❖ Detección de anticuerpos IgE e IgG₁ contra los extractos de escamas humanas, de perro y de gato, con los sueros de los pacientes alérgicos al ácaro de polvo casero; mediante la técnica de inmunodetección,
- ❖ Determinar la frecuencia de las proteínas que pueden dar reactividad cruzada, tanto en las escamas de humano, de perro y de gato.

HIPÓTESIS.

Los anticuerpos específicos contra *Dermatophagoides* de los pacientes alérgicos, presentan reconocimiento hacia los extractos de escamas humanas y además reconocen las escamas de perro y de gato.

HIPÓTESIS NULA.

Los anticuerpos específicos contra *Dermatophagoides* de los pacientes alérgicos, no presentan reconocimiento hacia los extractos de escamas humanas y no reconocen las escamas de perro y de gato.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- ❖ Una población de 100 pacientes con historia clínica comprobada de alergia contra *D. pteronysinus* y/o *D. farinae*.
- ❖ Pacientes con pruebas cutáneas positiva (+ + + o roncha mayor a 5 mm) y o IgE específica positiva en clase III o IV contra los antígenos referidos.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- ❖ Pacientes que han recibido tratamiento farmacológico a base de corticoesteroides sistémicos recientemente por al menos 1 mes.
- ❖ Pacientes que presenten enfermedades que afecten la respuesta inmunológica tal como inmunodeficiencias, tratamiento inmunosupresor o neoplasias.

MATERIALES Y MÉTODOS

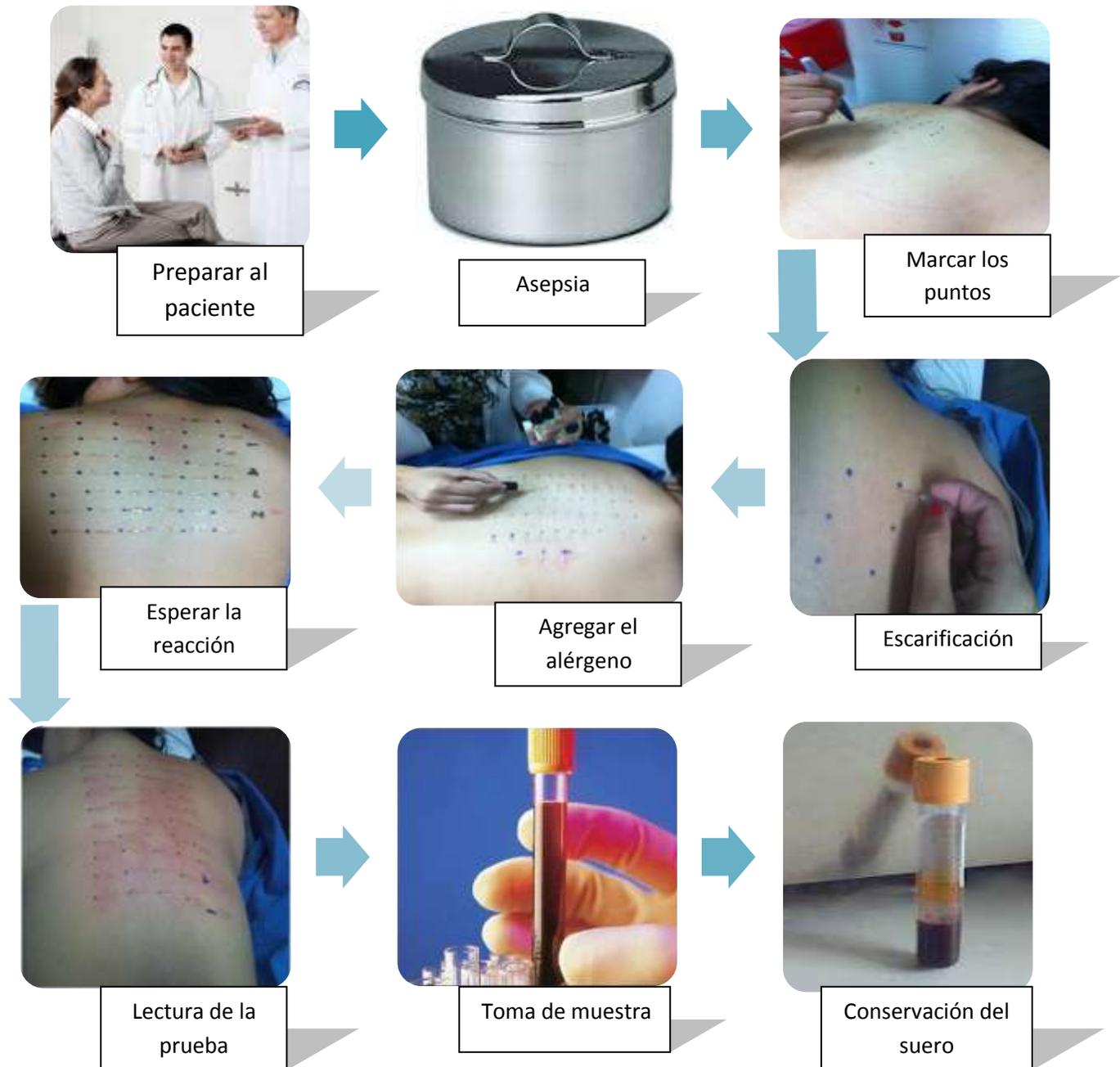
Pruebas cutáneas y toma de muestra

Se realizaron pruebas cutáneas a pacientes del Hospital Juárez de México, de todas las edades y ambos sexos, con sospecha de alergia, cada paciente tuvo su consulta previa con los médicos alergólogos, los cuales mandaron la orden para realizar dicho estudio. Una vez que el paciente ingresó al consultorio para realizar la prueba, se le dieron las indicaciones necesarias; tales como descubrirse la espalda y colocarse una bata que la enfermera le proporcionaba, posteriormente se le dio la indicación de acostarse boca abajo sobre una cama que se tiene en el consultorio, una vez que el paciente tomó esta posición, se le realizó una asepsia; con torundas y alcohol en la espalda, con la finalidad de eliminar todo lo que pudiera interferir en la prueba, posteriormente se dibujó sobre la espalda con un marcador de tinta indeleble, 52 puntos los cuales sirvieron de guía para identificar cada alérgeno, en seguida del punto se realizó una escarificación con una aguja de jeringa de insulina con el mayor cuidado para no lastimar al paciente, sobre la escarificación se agregó un alérgeno comercial marca Allerstand, S.A DE C.V. el cual es un extracto alergénico glicerinado 1:20 p/v, y se dejó sobre la espalda de 10 a 15 min, transcurrido este tiempo se interpretó y se reportaron los resultados obtenidos de la prueba. Finalmente se retiraron los alérgenos con toallas de papel y torundas.

Los pacientes con pruebas cutáneas positivas a *Dermatophagoides* ya sea *D. farinae* o *D. pteronyssinus*, se les tomó una muestra sanguínea con sistema vacutainer y se llenó un tubo con tapón amarillo de 5 mL, posteriormente se centrifugó a 10,000 rpm x 15 min, en una

centrifuga clínica, para la obtención del suero, el cual se colocó en viales Eppendorf de 0.5 mL y se congeló a $-17\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dicho procedimiento se muestra en el **Diagrama de flujo 1**.

Diagrama de flujo 1. Procedimiento de Pruebas cutáneas y toma de muestra.



Electroforesis

En este estudio se realizó electroforesis mediante un sistema discontinuo, acoplado a geles en gradiente, la separación electroforética de proteínas suele efectuarse en geles de poliacrilamida y para la formación de nuestra matriz de poliacrilamida fue necesaria la preparación de dos tipos de geles, separador y concentrador. La separación ocurre en el gel separador, encima de este gel se sitúa el gel concentrador, generalmente de una menor altura, en el que la muestra se concentra en una zona muy estrecha; lo que determina la separación en bandas finas en el gel separador y alto poder de resolución ⁽²¹⁾.

El gel separador se realizó con la técnica en gradiente; ya que el uso de geles de poliacrilamida que tienen un gradiente creciente de concentración de acrilamida + bis-acrilamida, y en consecuencia un gradiente decreciente en el tamaño del poro, pueden tener ventajas sobre los geles de concentraciones uniformes de acrilamida. En un gel en gradiente la proteína migra hasta alcanzar una zona donde el tamaño de poro impida cualquier avance. Una vez que se alcanza el límite del poro no se produce una migración apreciable aunque no se detiene completamente. Una de las ventajas de este tipo de geles es que se obtiene una mejor resolución de las bandas pues las concentra en regiones más estrechas, además de aumentar el rango de pesos moleculares que se pueden resolver en un mismo gel comparado con los de una concentración fija; por dichas razones se decidió utilizar el gel separador en gradiente ⁽²¹⁾.

Al realizar el gel en gradiente, se utilizaron 2 concentraciones diferentes, una fue al 15% y otra al 5% , con la finalidad de que el gel, tuviera concentraciones del 15% al 5% ; el gel al 15% se preparó de la siguiente forma; se agregaron 0.84 mL de agua desionizada, 1.75 mL de acrilamida al 30% , 1.53 mL de Tris 8.8, 0.035 mL de SDS, 0.035 mL , una vez

preparados estos reactivos se agregaron en un contenedor del equipo para formar gradiente, mostrado en la **Figura 11**. Posteriormente el gel al 5% se preparó de la siguiente forma; se agregaron 2.25 mL de agua desionizada, 0.83 mL de acrilamida al 30%, 1.53 mL de Tris 8.8, 1.08 mL de SDS, 0.04 mL y al igual que el gel al 15% se agregó en otro contenedor del equipo para formar gradiente. Una vez que dichos reactivos se agregaron en los diferentes contenedores, se agregó 0.035 mL de APS y en seguida 0.00014 mL de TEMED al contenedor con el gel al 15% y para el gel al 5% se le agregó 0.04 mL de APS y 0.003 mL de TEMED, e inmediatamente, se abrió la llave reguladora (hasta una marca que nos aseguró que la velocidad con la que se formó el gradiente fue siempre la misma), que contenía el gel al 15%, se dejó correr 1.5 mL hasta la salida del equipo, el cual estaba conectado a las dos hojas de los cristales, iniciando así con el moldeado del gel, en seguida se abrió la llave reguladora del contenedor con el gel al 5% (de igual forma hasta la marca) y se dejó correr 1.5 mL del reactivo, con la finalidad de que, el restante del gel al 15% se mezclara con el gel al 5% que iba corriendo, hasta que se agotará la mezcla de los geles al 15% y al 5%. Finalmente se dejó correr lo restante (1.5 mL) del gel al 5% de tal forma que el gradiente que se formó tuvo una concentración del 5% hasta el 15%. A continuación se muestra una imagen, en la cual se observa la formación de gradiente, para la visualización del gradiente se utilizaron dos colorantes, llamados lugol y azul de coomasie (**Figura 12**)

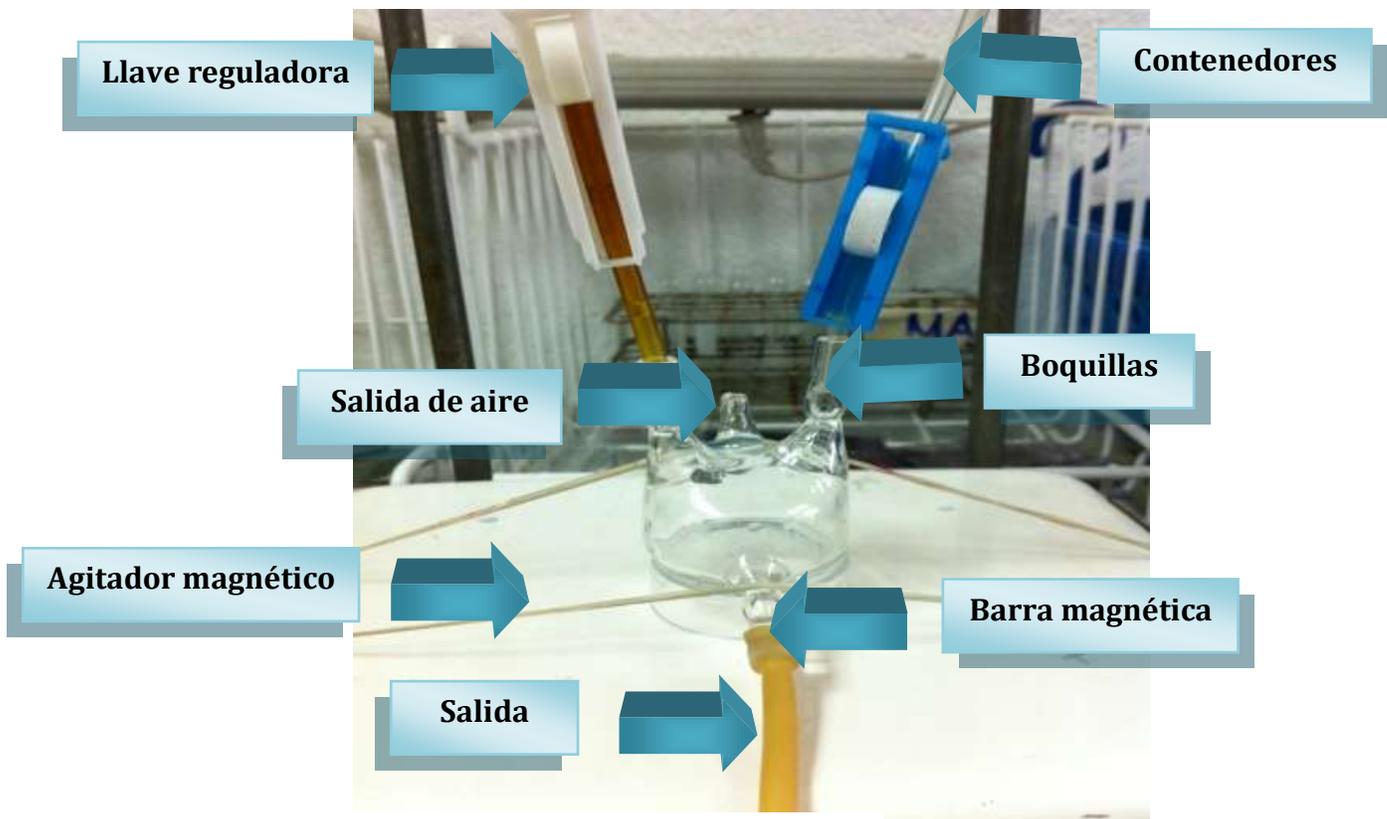


Figura 11. Equipo para formar gradiente



Figura 12. Formación de gradiente con colorantes

Ya moldeado el gel separador en las dos hojas de cristales, se preparó el gel concentrador al 5% utilizando 2.1 mL de agua desionizada, 0.5 mL de acrilamida al 30, 0.38 mL de Tris 8.8, 0.03 mL de SDS, 0.03 mL de APS y 0.003 mL de TEMED. Esta preparación se agregó en la parte superior del gel separador ya moldeado en las dos hojas de cristales e inmediatamente se colocó un peine ciego, el cual se retiró, una vez gelificado se agregaron los antígenos de perro, gato ó humano **Figura 13.**

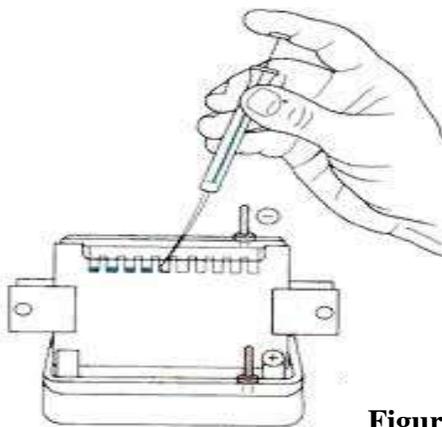


Figura 13. Llenado de carriles

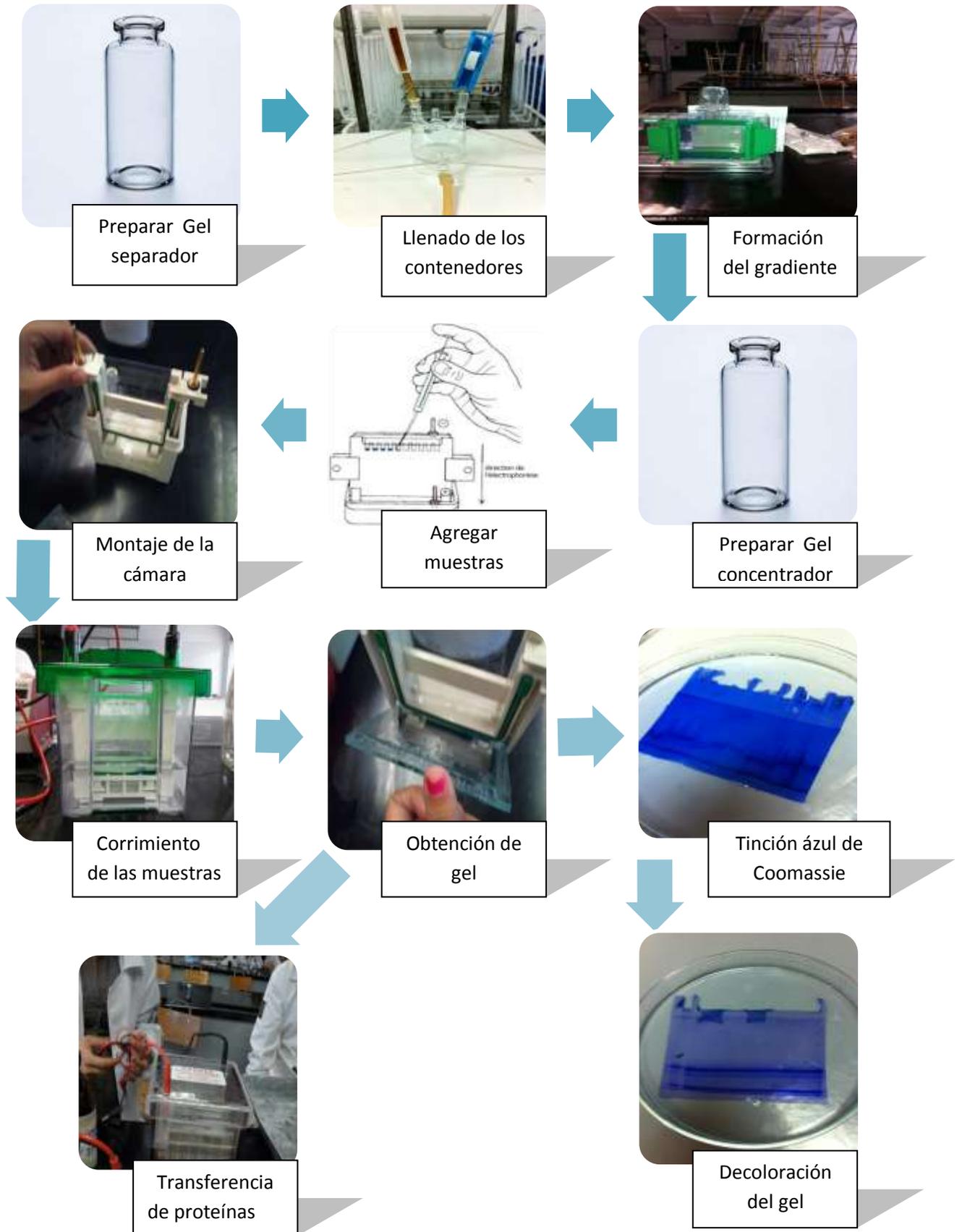
Los antígenos utilizados en este trabajo fueron obtenidos por Q.F.B Miguel A. Romero Roa⁽⁴⁴⁾. Y se trabajaron en condiciones reductoras o desnaturalizantes, para trabajar en estas condiciones se agregaron 100 microlitros de la muestra del antígeno y 100 microlitros de mercapto-etanol y se dejaron hervir durante 10 minutos con la finalidad de romper las uniones entre cisteínas, es decir los puentes disulfuro.

Finalmente se realizó el corrimiento electroforético de las muestra, se utilizó una cámara de marca Biorad, conectada a una fuente de poder a 100 volts aproximadamente 1 hora 30 min. Los complejos proteína-SDS cargados negativamente emigraron en dirección del ánodo, en la parte inferior del gel. La acción del tamizado de un gel poroso de poliacrilamida separa las proteínas de acuerdo con su tamaño, moviéndose más rápido las

más pequeñas y desplazándose fácilmente, mientras que las moléculas mucho mayores que los poros permanecieron casi inmóviles. Las moléculas de tamaño intermedio se desplazaron a través del gel con diversos grados de dificultad.

Después del corrimiento electroforético, las proteínas se visualizaron en una pequeña porción del gel, tiñéndolas con azul de Coomassie que revelaron una serie de bandas. La función del colorante azul de Coomassie se debe a que el medio ácido en el que se encuentra, favorece la atracción electrostática de las moléculas del colorante hacia proteínas, formando complejos. Mientras que la otra porción del gel se utilizó para la inmunoelectrotransferencia. El procedimiento se muestra en el **Diagrama de flujo 2**.

Diagrama de flujo 2. Procedimiento de la Electroforesis



Transferencia de proteínas

Después de la separación electroforética de las proteínas, se realizó una transferencia a una membrana de nitrocelulosa, utilizando el método de transferencia electroforética, es decir la movilidad electroforética de las proteínas transferidas desde el gel hasta la membrana de nitrocelulosa, implicó poner en contacto directo el gel de poliacrilamida con la membrana de nitrocelulosa, de 0.45 μm de tamaño de poro (Bio-Rad USA) según el método por Towbin y Cols. se formó un sándwich entre dos electrodos sumergidos en solución conductora; un buffer compuesto por TrisHCl 25 mM, glicina 0.2 M, SDS 0.1% y metanol 20%. Posteriormente se aplicó un campo eléctrico durante 2 horas a 120 mA, de tal forma que las proteínas migraron fuera del gel de poliacrilamida hacia la superficie de la membrana donde quedaron fuertemente adheridas, por lo que la membrana resultante fue una copia exacta del patrón de proteínas que se tenía en el gel de poliacrilamida; esto se comprobó realizando una tinción reversible llamada rojo de Ponceau **Cuadro No 9**. a la membrana de nitrocelulosa, ya que después de la transferencia y antes de realizar la inmunodetección es aconsejable teñir la membrana para comprobar la eficacia de la transferencia^{(22) (48)}. El procedimiento se muestra en el **Diagrama de flujo 3**.

Cuadro No. 9 Tinciones de proteínas.

Tinción	Procedimiento	Ventajas	Desventajas
Tinta china	* agregar 1 mL de tinta china durante 18 hrs, lavar con H ₂ O en agitación durante 5 min.	* es económica * fácil de realizar	*es una tinción permanente. * no es muy sensible * tardada.
Negro de amido	*agregar el colorante al PNC durante 5 min, lavarlo con agua y finalmente decolorarlo hasta la aparición de las bandas.	* es la más sensible de las 3 * Rápida.	*es una tinción permanente y por lo tanto ya no es posible utilizar el papel teñido
Rojo de ponceau	*Realizar un dilución 1:20 del colorante, agregarlo al PNC durante 5 minutos y lavar con H ₂ O	* es una tinción lavable, es decir se puede utilizar el papel ya que se le quita el colorante. * rápida	* es la menos sensible de las tres.

Una vez realizada la tinción se lavó el colorante de la membrana y se incubó en solución de bloqueo durante 24 horas a 4°C, para poder realizar la inmunodetección de anticuerpos IgE e IgG₁.

Diagrama de flujo 3. Procedimiento de la Transferencia de proteínas



Inmunodetección

Una vez transferidas las proteínas a la membrana de nitrocelulosa, esta se cortó en tiras de 3 a 5 mm de grosor, las tiras se conservaron en tubos Falcon y en bolsas selladas herméticamente con desecantes para evitar humedad y posible contaminación por hongos.

Los anticuerpos primarios que se utilizaron fueron los siguientes:

Anticuerpo monoclonal anti IgE de humano, clona Ge-1, marca Sigma-Aldrich

Anticuerpo monoclonal anti IgG₁ de humano, clona SG-16, marca Sigma-Aldrich

El anticuerpo secundario que se utilizó, fue un anticuerpo conjugado marcado con peroxidasa, anti IgG de ratón, desarrollado en cabra, marca Sigma-Aldrich.

Al anticuerpo IgE se le realizó una dilución 1:200, pero con la finalidad de mantener el anticuerpo en alícuotas, para evitar constantes descongelaciones, se le realizó una dilución inicial 1:10 para 2.5 mL, es decir se agregó 0.25 mL de IgE, mas 2.25 mL de pbs –tween, para 2.5 mL

$$\frac{1: 10}{2.5 \text{ mL}} \quad \underline{\quad} \quad 0.25 \text{ mL de IgE} + 2.25 \text{ mL de PBS-tween.}$$

Al anticuerpo IgG₁, de igual forma se le realizó una dilución 1:500, pero para evitar constantes descongelaciones, se le realizó una dilución inicial 1:10 para 2.5 mL

$$\frac{1: 10}{2.5 \text{ mL}} \quad \underline{\quad} \quad 0.25 \text{ mL de IgG}_1 + 2.25 \text{ mL de PBS-tween.}$$

Una vez obtenidas dichas diluciones se realizaron alicuotas en viales Eppendorf de 0.5 mL y se conservaron a -1 ° C.

Al inicio de cada detección, se rotularon 6 tubos Falcon por cada paciente, ya que por cada extracto, se realizó detección para IgE e IgG1.

Una vez rotulados los tubos. Se realizó una dilución 1:5 a cada suero de paciente alérgico totalmente descongelado, es decir: se tomaban 0.2 mL de suero y se diluía con 0.8 mL de una solución de bloqueo.

$$\frac{1: 5}{1 \text{ mL}} = 0.2 \text{ mL de suero} + 0.8 \text{ mL de solución de bloqueo}$$

Posteriormente se colocó en cada tubo, una tira de la membrana de nitrocelulosa con el antígeno de perro, gato y humano y se dejó incubando 19 horas a 37°, transcurrido este tiempo se realizaron 5 lavados con PBS-tween 10x, cada lavado de un minuto, con la finalidad de evitar que el anticuerpo se uniera inespecíficamente, en seguida se realizaron las siguientes diluciones de los anticuerpos primarios ya descongelados.

Para IgE se realizó una última dilución 1:20, es decir se agregaron 0.75 mL de IgE , mas 14.25 mL de PBS-tween para obtener 15 mL del anticuerpo.

$$\frac{1: 20}{15 \text{ mL}} = 0.75 \text{ mL de IgE} + 14.25 \text{ mL de PBS-tween}$$

De esta dilución se agregaron 0.5 mL a cada tubo de antígeno de perro, gato y humano rotulado con IgE, y se incubó 2 horas; la primera hora en agitación y a temperatura ambiente y la segunda hora sin agitación y a 37°C.

En el caso de la IgG₁ se realizó una dilución final 1:50, se agregó 0.3 mL de IgG₁ mas 14.7 mL de PBS-tween para obtener 15 mL del anticuerpo.

$$1: \frac{50}{15 \text{ mL}} = 0.3 \text{ mL de IgG}_1 + 14.7 \text{ mL de PBS-tween}$$

De dicha dilución se agregaron 0.5 ml de la dilución a cada tubo de antígeno de perro, gato y humano rotulado con IgG₁ y se incubó 2 horas; la primera hora agitación y a temperatura ambiente y la segunda hora sin agitación y a 37°C.

la finalidad de agregar el anticuerpo primario es para permitir la unión del anticuerpo contra la proteína buscada y como la proteína se desnaturalizó durante la electroforesis en gel, es preciso que el anticuerpo reconociera específicamente la proteína desnaturalizada.

Una vez transcurrido el tiempo de incubación del anticuerpo primario, se realizaron 5 lavados de un minuto con PBS-tween a cada tubo, para eliminar el anticuerpo primario que no se unió. En seguida se agregó al anticuerpo secundario marcado con la peroxidasa del rábano (HRP); este reconoce de forma específica una región concreta del anticuerpo primario.

Al anticuerpo secundario se le realizó una dilución 1:300, realizando una dilución inicial 1:10 para realizar alícuotas y congelarlo a -1°C

$$1: \frac{10}{10 \text{ mL}} = 1 \text{ mL de Ac secundario} + 9 \text{ mL de PBS-tween}$$

En el momento de la experimentación se utilizó una alícuota del anticuerpo secundario, se descongeló y se realizó una dilución final 1:30, es decir se tomaron 1.0 ml del anticuerpo mas 29mL de PBS-tween, para obtener 30 ml del anticuerpo.

$$\begin{array}{l} 1: \underline{30} \text{ —} \\ 30 \text{ mL} \end{array} \quad 1.0 \text{ mL de Ac secundario} + 29 \text{ mL de PBS-tween}$$

De la dilución se agregaron 0.5 mL a cada tubo de antígeno de perro, gato y humano, tanto para IgE como para IgG₁, posteriormente se incubó 2 horas; la primera hora en agitación y a temperatura ambiente; la segunda hora sin agitación y a 37°C. Una vez transcurrido el tiempo de incubación se realizaron 5 lavados de un minuto con PBS-tween a cada tubo para eliminar el anticuerpo secundario que no se unió.

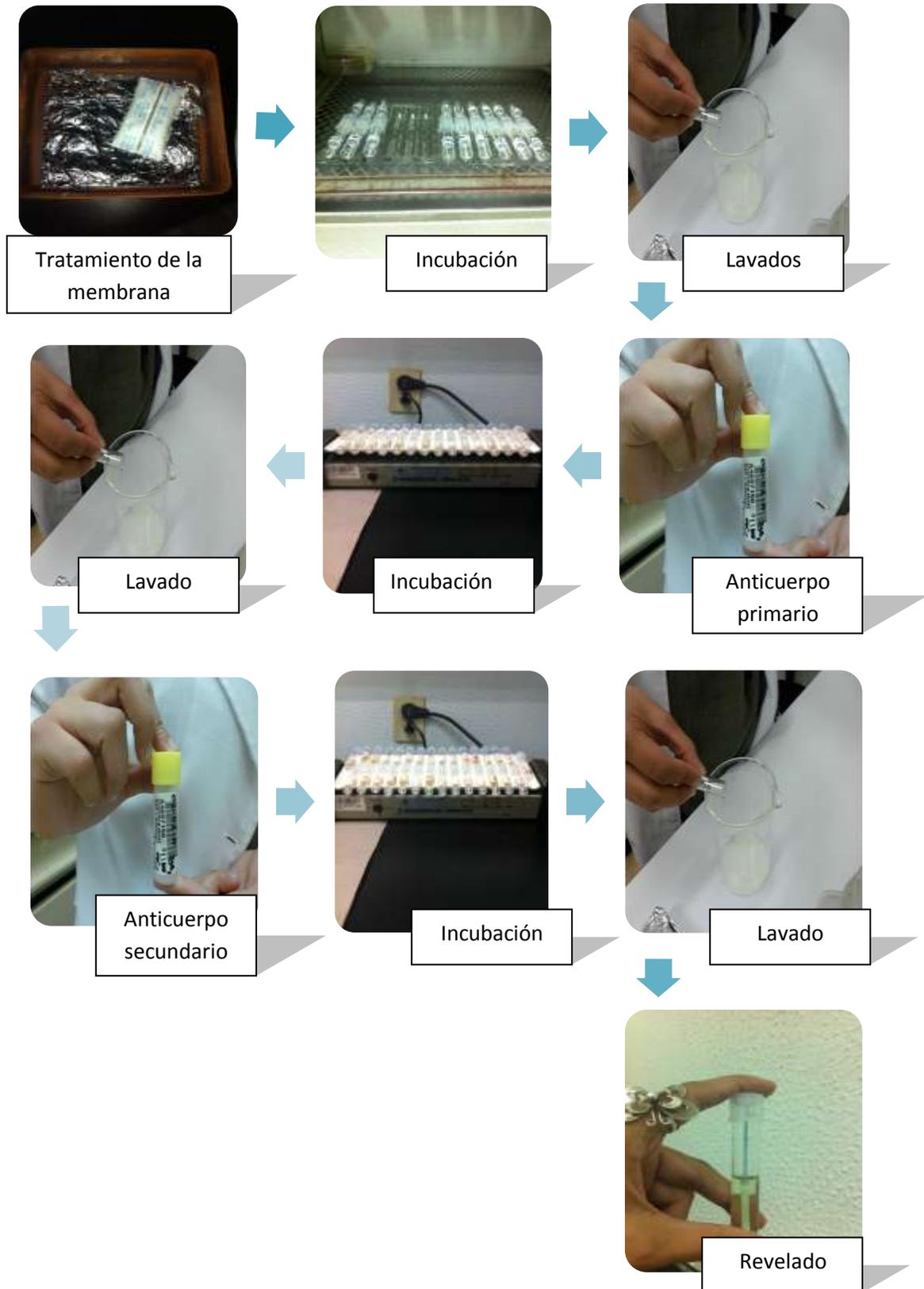
Finalmente se realizó un revelado, el cual consistió, en que el anticuerpo secundario unido a su respectiva enzima catalizó la transformación de un sustrato soluble en un producto colorido soluble. De esta forma, se reveló como una banda de color donde estaba la proteína de interés. Esto se debe a que enzimas como la peroxidasa de rábano cataliza la oxidación de ciertos compuestos donadores de hidrógeno, como fenoles y aminas aromáticas (o-fenilendiamina) en presencia de peróxidos (H₂O₂).

El proceso de revelado se realizó de la siguiente forma; en un tubo Falcon de 13 mL se agregaron 13 mL de buffer de citratos, 108 microlitros de peróxido de hidrogeno al 3% y 1 mg de OPD , posteriormente se agregaron 0.5 mL a cada tubo tanto para IgE como para IgG₁, se dejó en agitación durante 15 min y finalmente se observaron resultados.

En la inmunodetección, se comprueba la presencia en la membrana de una determinada proteína. Para ello se emplea un anticuerpo específico contra ella unido a enzima que, en

presencia de su sustrato, cataliza una reacción colorimétrica. De esta forma, se hace patente la unión con el antígeno, la proteína, así como su localización⁽²²⁾.

Diagrama de flujo 4. Procedimiento de la Inmunodetección



RESULTADOS

En el **Cuadro No. 10** se muestran los resultados obtenidos en la técnica de inmunodetección, dichos resultados muestran con el símbolo (+) los sueros pacientes alérgicos al ácaro de polvo casero que presentaron anticuerpos IgE e IgG₁ y que reconocieron proteínas de escamas de perro, gato y humano. También se muestra la edad de cada paciente y su diagnóstico.

Cuadro No. 10 Resultados de la inmunodetección

P	IgE			IgG₁			Dx.	EDAD
	Ag de perro	Ag de gato	Ag de humano	Ag de Perro	Ag de gato	Ag de humano		
1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	AMP	3 años
2	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	RA + AMP	5 años
3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RA	14 años
4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RAMP + ALP	12 años
5	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	RA	9 años
6	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	ALP	5 años
7	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RA + ALI	25 años
8	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RAMP	15 años
9	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	ALI	8 años
10	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	AMP	41 años
11	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RAMP	10 años
12	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	RAMP	14 años
13	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RA + AMP	12 años

38	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RA	11 años
39	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RA	10 años
40	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RAMP	9 años
41	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RA	9 años
42	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	ALI + RA	10 años
43	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	RA	7 años
44	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	RA	9 años
45	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RAMP + ASMA	6 años
46	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	RA	5 años
47	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RA	17 años
48	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RA	9 años
49	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RA	39 años
50	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	ASMA	11 años
51	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	RA + ASMA	26 años
52	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	RAMP + ALI	8 años
53	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	RAMP + AMP	8 años
54	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	RA	44 años
55	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RASP	6 años
56	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RA	12 años
57	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	RA + ASMA	43 años
58	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RA	6 años
59	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RAMP + AMP	18 años
60	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RAMP + ALP	10 años
61	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	RAMP	51 años

86	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	ALI	9 años
87	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	R.A	27 años
88	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	R.A.	31 años
89	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	R.A	9 años
90	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	ALI	7 años
91	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	ALI	5 años
92	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	R.A.	7 años
93	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	R.A.	4 años
94	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RAMP	11 años
95	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	R.A	4 años
96	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RAMP	12 años
97	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	ALI	13 años
98	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RAMP	11 años
99	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RAMP	23 años
100	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	RAMP	5 años

ALI = Asma leve intermitente.

AMP = Asma moderada persistente.

ALP = Asma leve persistente.

D.A = Dermatitis atópica

R.A = Rinitis alérgica.

RAMP = Rinitis alérgica moderada persistente.

RASP = Rinitis alérgica severa persistente

Los resultados obtenidos indican que del 100 % de los pacientes alérgicos al ácaro de polvo casero, el 29% de los pacientes reconocieron una o más proteínas de los extractos de escamas de perro, gato y humano, el 13% presentó anticuerpos IgE que reconocieron a los diversos extractos; el 22 % presentaron anticuerpo IgG₁, que reconocieron a los diversos extractos de escamas de perro, gato y humano y el 6 % presentaron ambos anticuerpos. Finalmente del 29% de los pacientes que reconocieron una o más proteínas,

el 13% presentaron diagnóstico de rinitis alérgica, 6% asma y el 10% presentaron ambas. Dichos porcentajes se obtuvieron con la siguiente fórmula:

$$100 \text{ pacientes} \text{ ----- } 100\%$$

$$29 \text{ pacientes} \text{ ----- } X =$$

29% de los pacientes reconocieron una ó más proteínas de los extractos

A continuación se muestra un cuadro (**Cuadro No.11**) con los valores del peso molecular de las proteínas encontradas en los extractos analizados.

Cuadro No. 11 Valores del peso molecular de proteínas.

Peso molecular de proteínas extracto de humano (kDa)	Peso molecular de proteínas extracto de perro café (kDa)	Peso molecular de proteínas extracto de gato (kDa)
294.5	292.9	292.9
	289.6	290.4
271.4	271.0	271.7
	261.3	
		179.1
133.7	137.1	134.1
105.0		102.7
	82.9	
		52.9
44.2	47.9	46.3
	33.5	
30.6	31.3	30.2

Los pesos moleculares fueron calculados en un trabajo previo ⁽⁴⁴⁾.

En seguida se presenta la identificación de las proteínas en los geles de poliacrilamida realizados, en base a su los pesos moleculares descritos anteriormente.

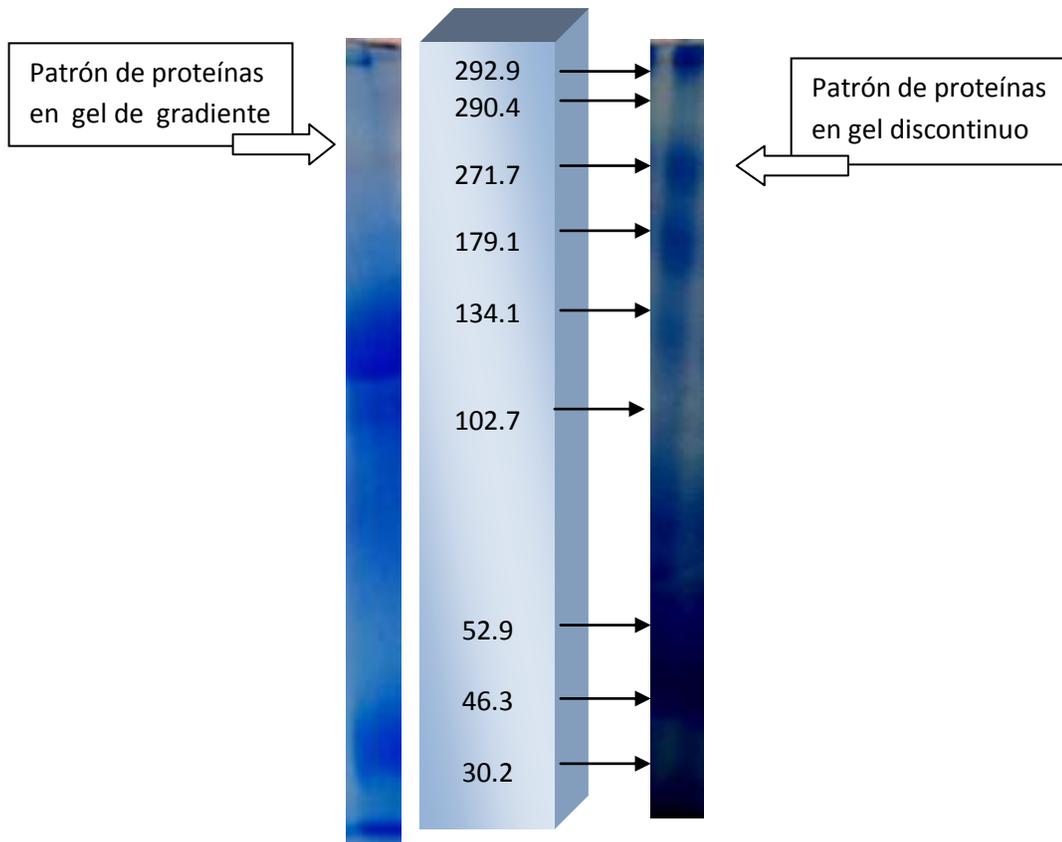
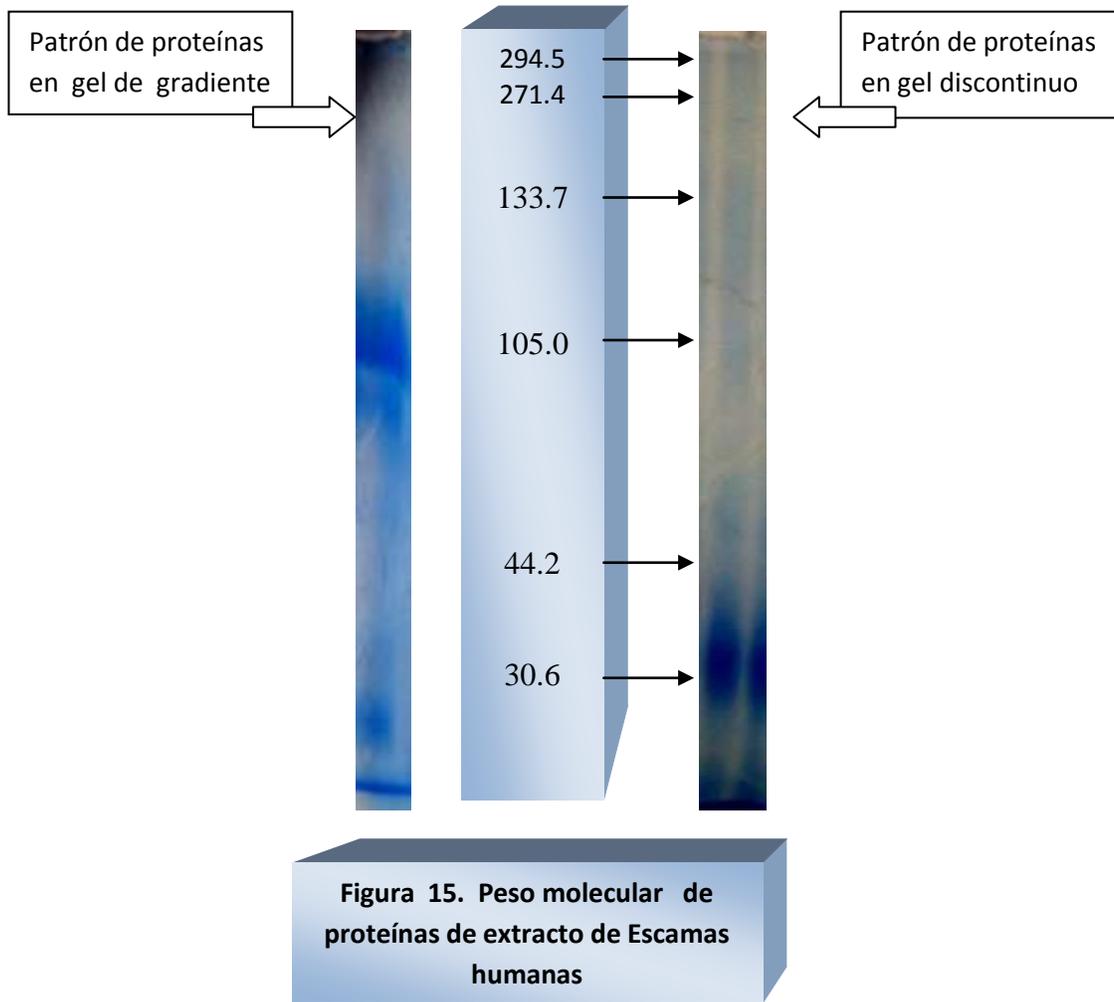
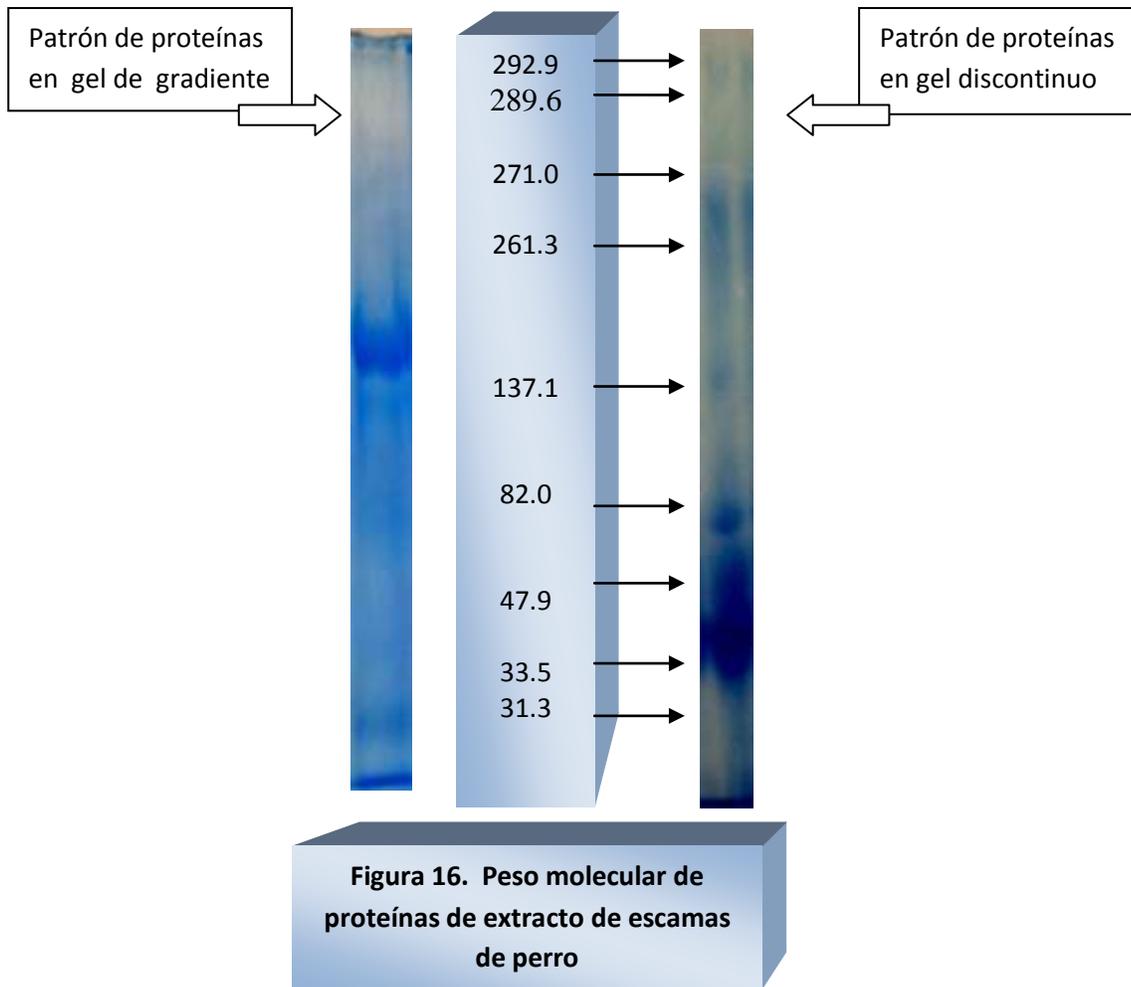


Figura 14. Peso molecular de proteínas de extracto de escamas de gato

En la **Figura 14**, se muestran los pesos moleculares del antígeno de Escamas de gato en condiciones reductoras, señalando e identificando así cada banda obtenida tras la realización de geles discontinuos, en la imagen de la izquierda no se observa ningún señalamiento, ya que nuestro objetivo es identificar cada banda a partir de la posición y aproximación a estos pesos moleculares debido a que dichos geles se realizaron por la técnica de gradiente y por lo tanto no se calcularon sus pesos moleculares.

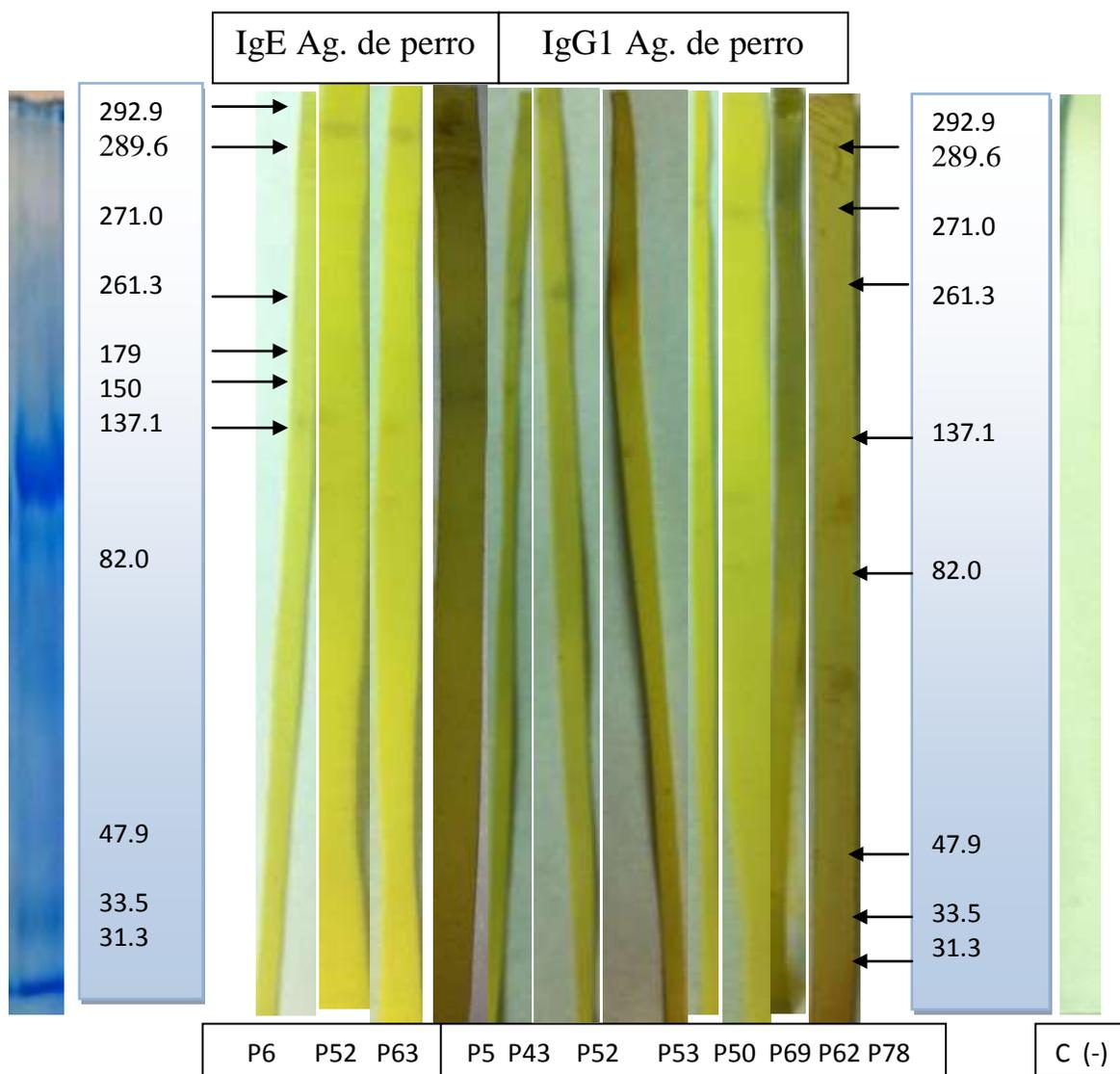


En la **Figura 15**, se muestran los pesos moleculares del antígeno de Escamas humanas en condiciones reductoras, señalando e identificando así cada banda obtenida tras la realización de geles discontinuos, en la imagen de la izquierda no se observa ningún señalamiento, ya que nuestro objetivo es identificar cada banda a partir de la posición y aproximación a estos pesos moleculares debido a que dichos geles se realizaron por la técnica de gradiente y por lo tanto no se calcularon sus pesos moleculares.



En la **Figura 16** , se muestran los pesos moleculares del antígeno de Escamas de perro en condiciones reductoras, señalando e identificando así cada banda obtenida tras la realización de geles discontinuos, en la imagen de la izquierda no se observa ningún señalamiento, ya que nuestro objetivo es identificar cada banda a partir de la posición y aproximación a estos pesos moleculares debido a que dichos geles se realizaron por la técnica de gradiente y por lo tanto no se calcularon sus pesos moleculares.

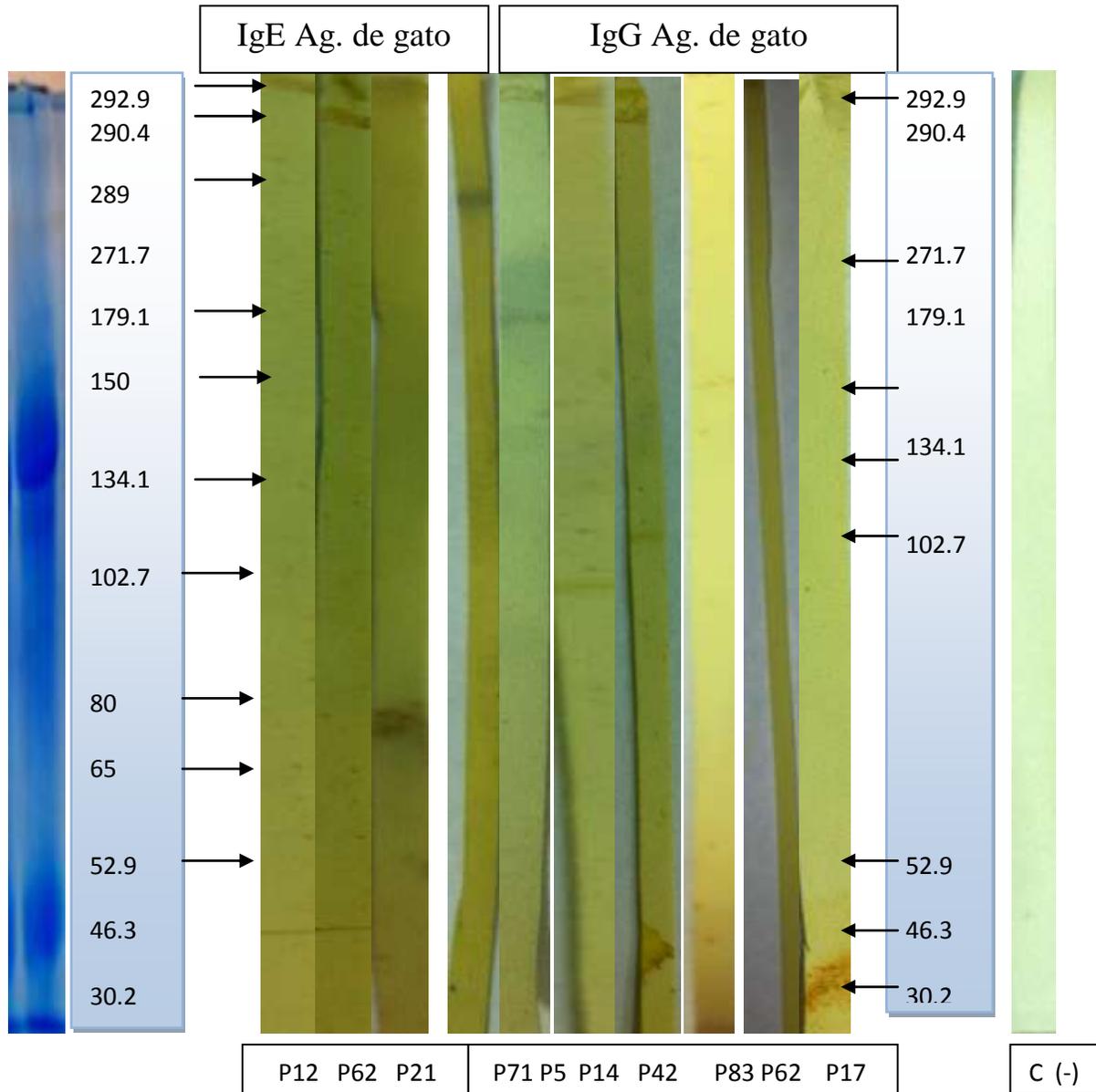
Resultados de inmunodetección hacia extracto de escamas de Perro



P = paciente

Los resultados muestran que los sueros de pacientes alérgicos al ácaro de polvo casero presentan anticuerpos IgE e IgG₁ contra proteínas de escamas de perro. Las proteínas reconocidas son las siguientes 292.9 kDa, 289.6 kDa, 271.0 kDa, 261.2 kDa, 137.1 kDa y 82.0 kDa y se pueden observar con la formación de una banda oscura.

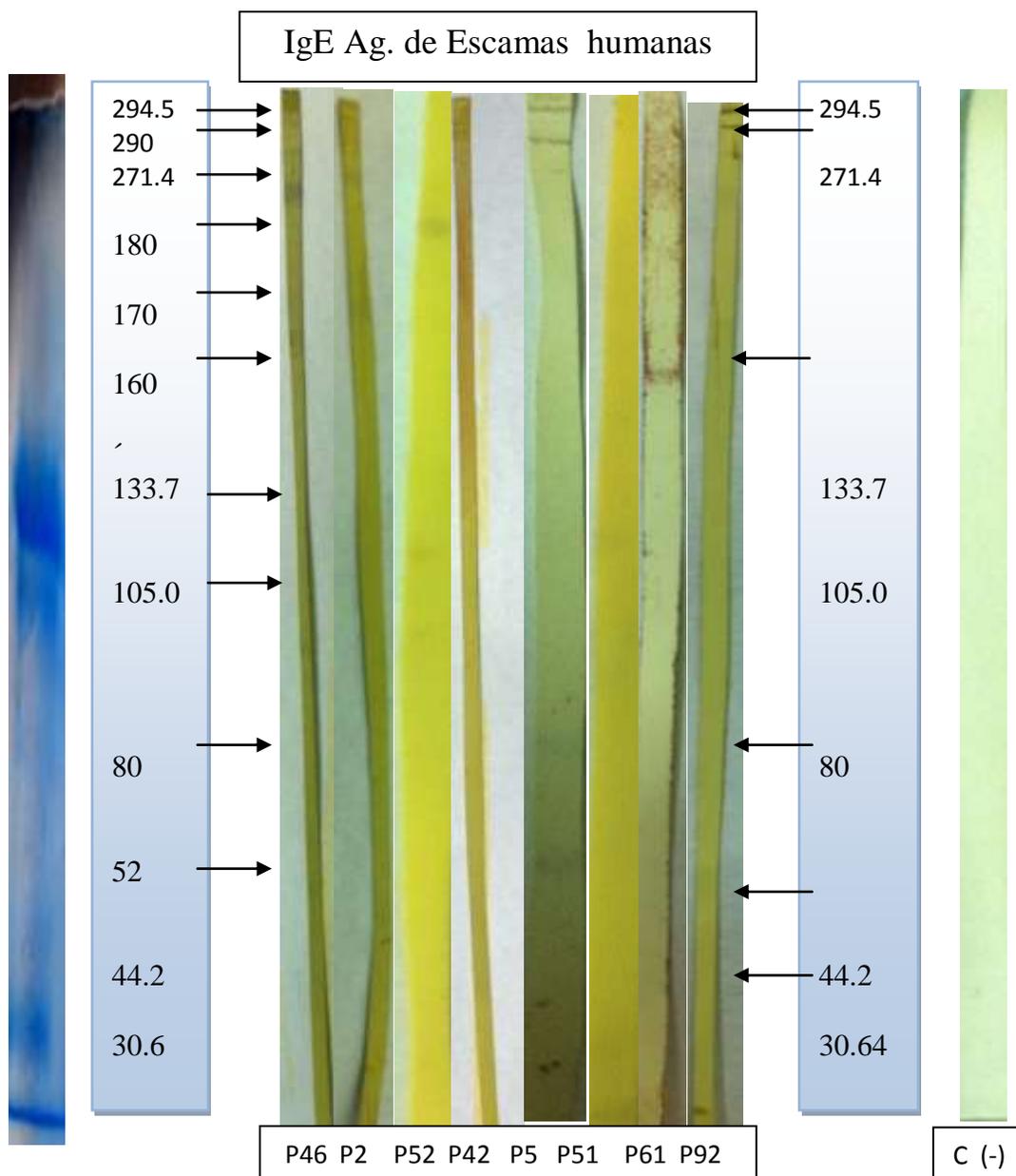
Resultados de inmunodetección hacia los extractos de escamas de Gato



P= paciente

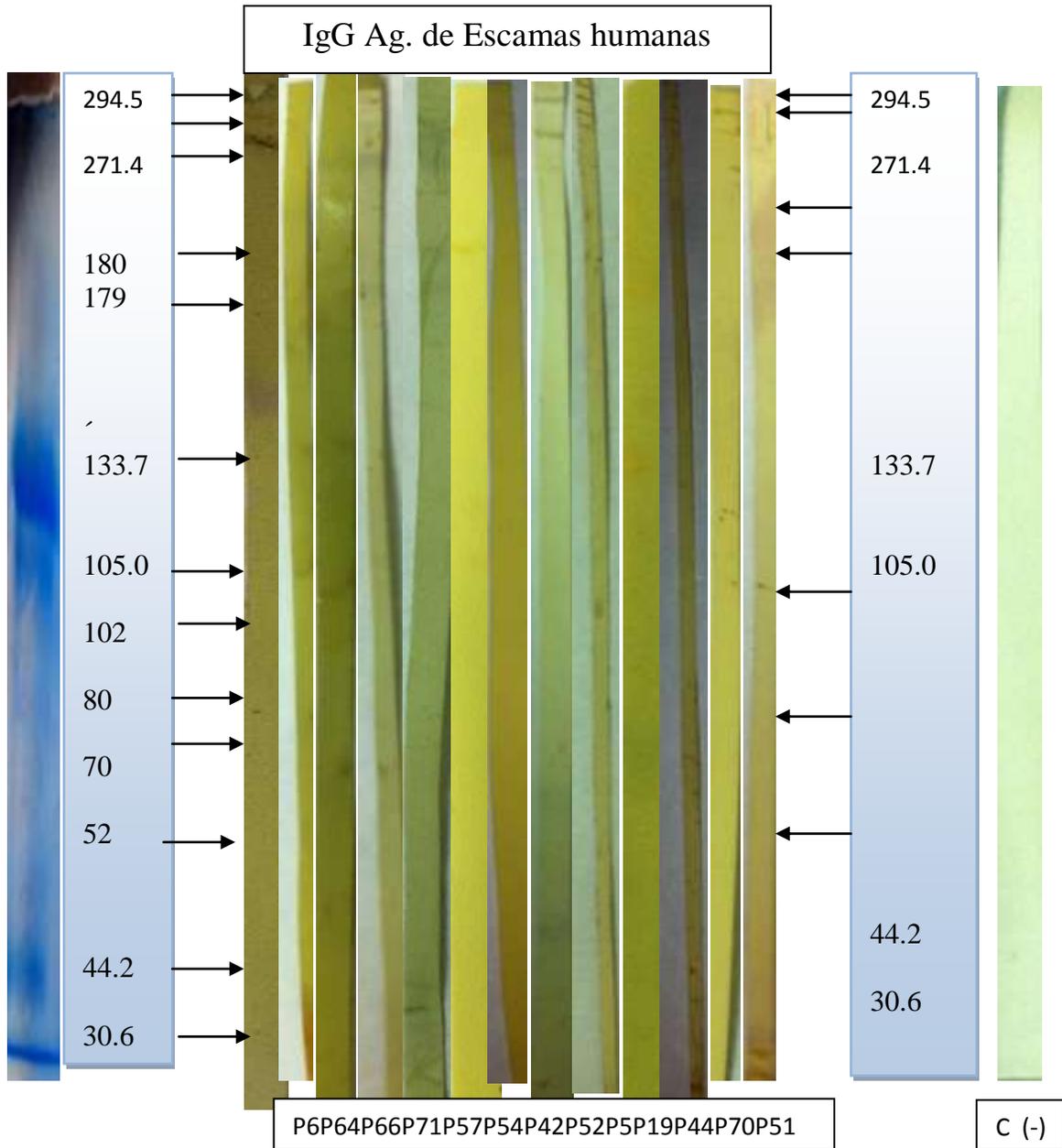
Los resultados muestran que los sueros de los pacientes alérgicos al ácaro de polvo domestico presentaron anticuerpos IgE e IgG₁ hacia las proteínas de los extractos de gato, dichas proteínas tienen los siguientes pesos moleculares: 292.9 kDa, 290.4 kDa, 271.7 kDa, 179.1 kDa, 134.1 kDa, 52.9 kDa, 30.2 kDa, el reconocimiento se logró observar con la formación de bandas oscuras.

Resultados de inmunodetección hacia extractos de escamas humanas.



P= paciente

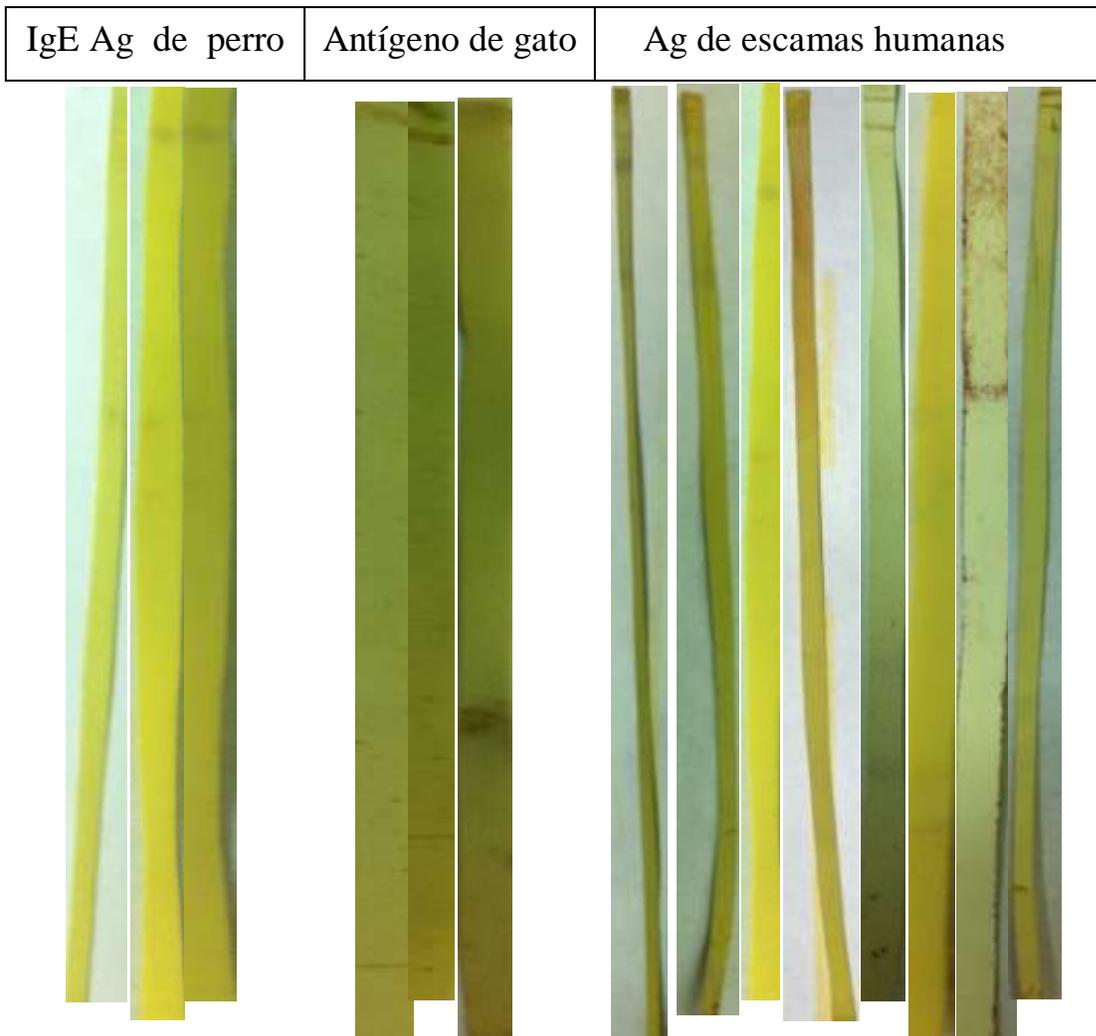
Los resultados muestran, a los pacientes que presentaron anticuerpos IgE hacia las proteínas de extractos de escamas de humano, las proteínas reconocidas presentan los siguientes pesos moleculares 294.5 kDa, 271.4 kDa, 133.7 kDa, 105.0 kDa, 44.2 kDa y 30.6 kDa, dichas proteínas se logran observar por la formación de bandas.



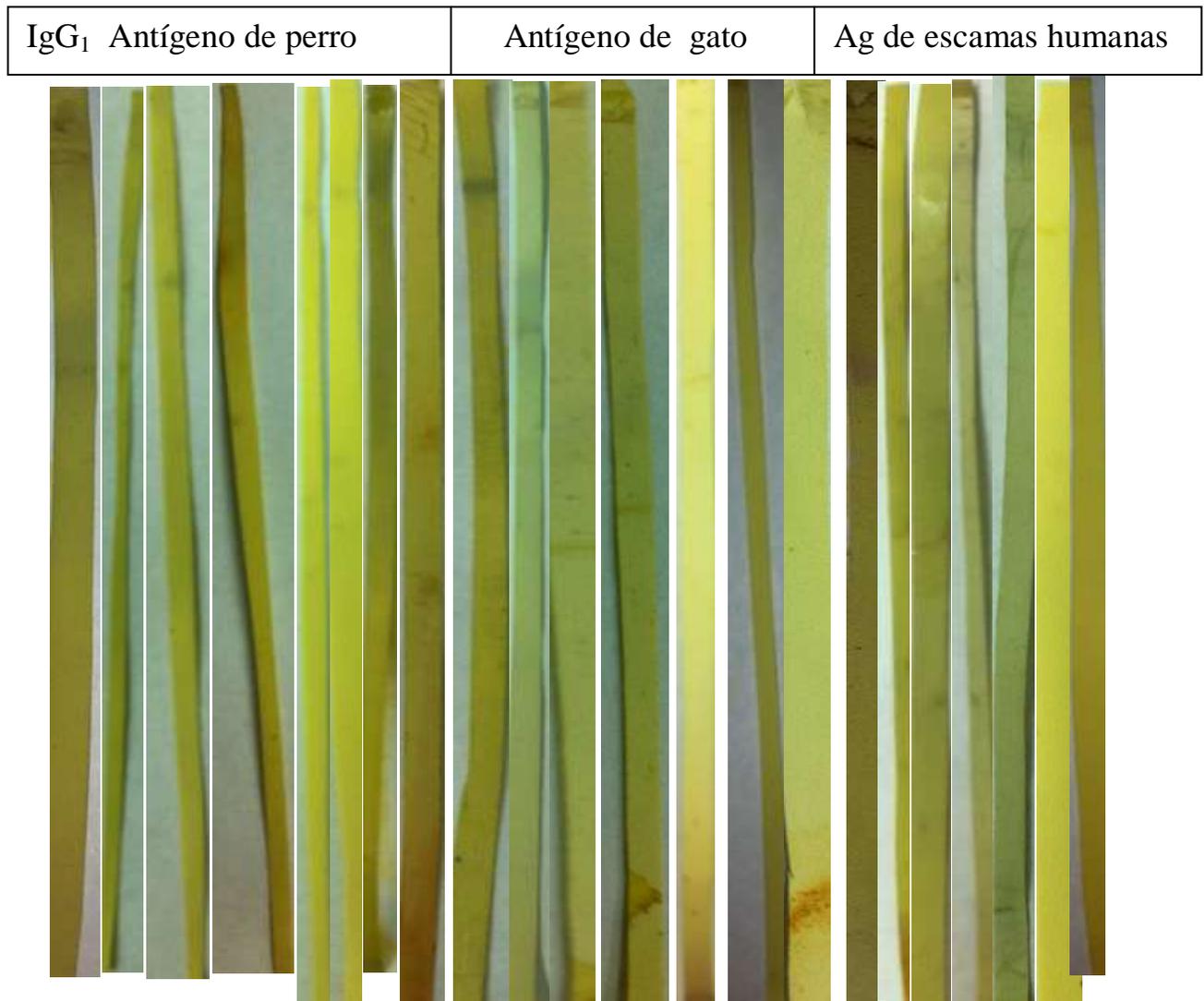
P= paciente

En este caso se observan la bandas formadas a partir de la unión de los anticuerpos IgG₁ presentes en los sueros de pacientes alérgicos al ácaro de polvo casero hacia proteínas de los extractos de escamas humanas, dichas proteínas presentan los siguientes pesos moleculares 294.5 kDa, 271.4 kDa, 133.7 kDa, 105.0 kDa, 44.2 kDa y 30.6 kDa.

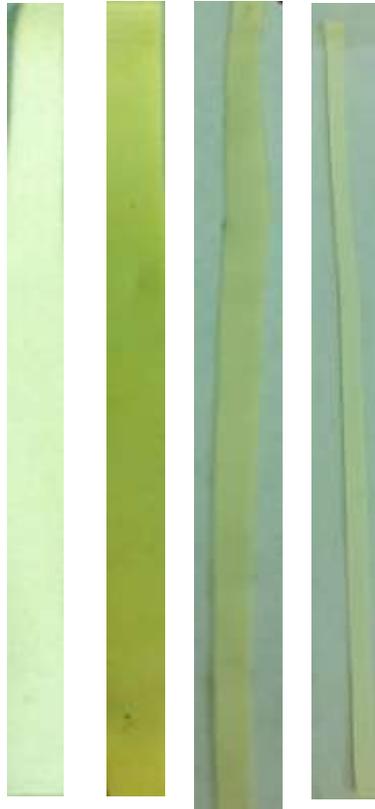
A continuación se muestra una comparación de las proteínas reconocidas. En dicha comparación se logró observar que proteínas entre los 290 y 271 kDa, 140 y 100 kDa, y entre 50 y 30 kDa, estuvieron presentes en los extractos de escamas de perro, gato y humano y fueron reconocidas por anticuerpos IgE.



En la siguiente imagen se muestran las bandas formadas en la membrana de nitrocelulosa en los tres extractos; es decir se observó que los sueros de los pacientes alérgicos al ácaro de polvo casero presentan anticuerpos IgG₁ que reconocieron proteínas de los extractos de perro, gato y humano. Las proteínas reconocidas se encontraron en los 3 extractos y presentaron pesos moleculares entre los 290 y 271 kDa, 262 a 170 kDa, 135 y 101 kDa, y entre 50 y 30 kDa.



A continuación se muestra el testigo negativo, en el cual se utilizó un suero de paciente no alérgico y por lo tanto no se observó reconocimiento con ningún extracto.



C (-)	Humano	Gato	Perro
-------	--------	------	-------

Cuadro No.12 Peso molecular de la proteínas reconocidas en inmunodetección.

Paciente	IgE			IgG		
	Perro	Gato	Humano	Perro	Gato	Humano
P2			294.5 290 271.4 170			
P5			294.5 80 51	289.7 179 150 33	292.9 271.7 179.1 52.5	294.5 271.4 180 133.8 52
P6	292.9 289.7 137.1					294.5 290 271.4 179 44.2
P12		292.9 52.9				
P14					292.9 134.1 52.9	
P17					292.9 65 30.2	
P19						105.0 52 30.6
P21		292.9 80 52.9				
P42			294.5 290 180		292.9 290.4 134.1 32.9	294.5 290
P43				261.4 289.6 150		

P44						294.5 290 271.4 133.8 179 44. 30.6
P46			294.5 290 271.4			
P50				271.0 137.1		
P51			294.5 271.4 52			180 30.6
P52	289.6 137.1 102		180 133.7 105.0	289.6 261.3		294.5 290 271.4 80 52 44.2 30.6
P53				289.6 261.3 137.1		
P54						30.6
P57						294.5 290 271.4 189 179 44.2
P61			294.5 271.4 160 44.2			
P62		292.9 290.4 52.9		289.6 271.0 33.5 31.3	292.9 46.3 30.2	
P63	289.6 137.1					

	102					
P64						179 133.7 105.0 102 44.2
P66						271.4 179 105.0 102 70
P69				271.0 137.1		
P70						294.5 180 105
P71					289 150 102.7 30.2	294.5 271.4 180 133.7 80
P78				137.1 82.0 47.9 33.5 31.3		
P83					290.4 150	
P92			44.2			

En el **Cuadro No. 12** se muestran los diversos pesos moleculares de cada banda observada en la membrana de nitrocelulosa transferida con los extractos de escamas de gato, perro y humano, la identificación de las bandas con sus pesos moleculares es muy importante, ya que a partir de esto, se puede determinar, que proteínas son responsables de reactividad cruzada, como se muestra en el **Cuadro No. 13**

Cuadro No. 13. Proteínas causantes de reactividad cruzada.

Perro	Gato	Humano	Proteínas de reactividad cruzada
292.9	292.9	294.51	292.9 perro-gato
289.6	290.4	290	290 gato-humano
271.0	289	271.4	289 perro-gato
261.3	271.7	271	271 perro-gato-humano
		189	
		180	
179	179.1	179	179 perro-gato-humano
		170	
		160	
150	150		150 perro-gato
137.1	134.1		
		133.78	
		105.04	
102	102.7	102	102 perro-gato-humano
	80	80	80 gato-humano
82.0		70	
	65		
	52.9	52	52 gato-humano
		51	
47.9	46.3		
		44.2	
33.5	32.9		
31.3			
	30.2	30.6	30 gato-humano

Las proteínas mencionadas en el cuadro No. 13 se muestran en las figuras 17, 18, 19 y 20 para observar la frecuencia con la que fue identificada cada proteína de reactividad cruzada.

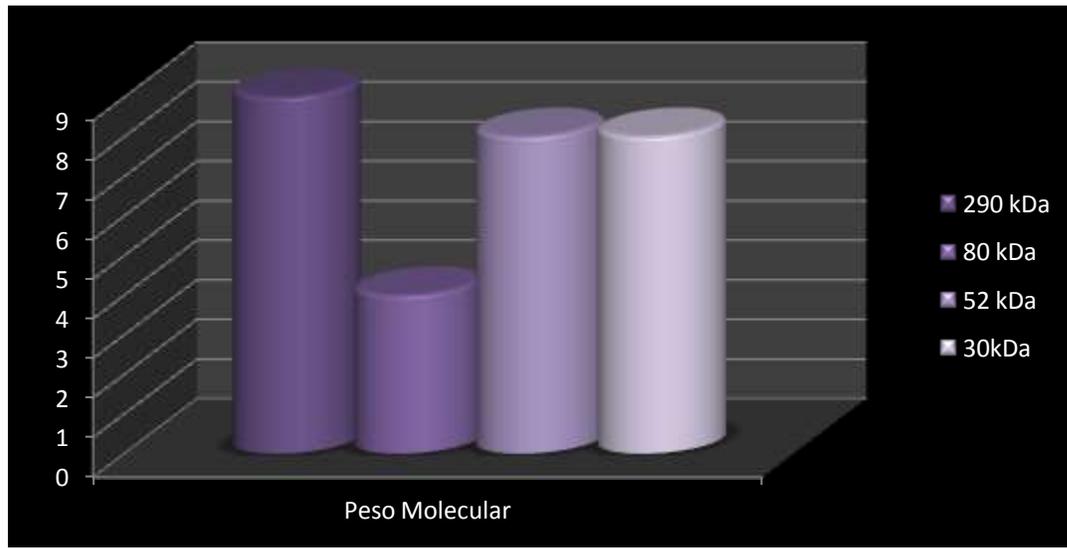


Figura 17. Frecuencia de la reactividad cruzada entre proteínas de gato y humano. En la figura se muestra la frecuencia con la que fueron reconocidas las proteínas que presentaron reactividad cruzada entre los extractos de escamas de gato y humano

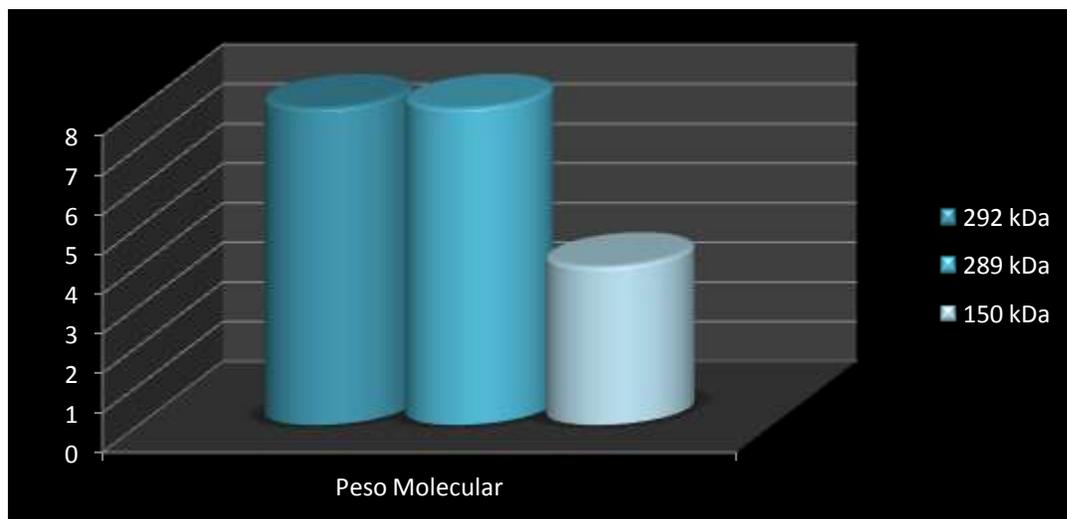


Figura 18. Frecuencia de la reactividad cruzada entre proteínas de gato y perro. En la figura se muestra la frecuencia con la que fueron reconocidas las proteínas que presentaron reactividad cruzada entre los extractos de escamas de gato y perro.

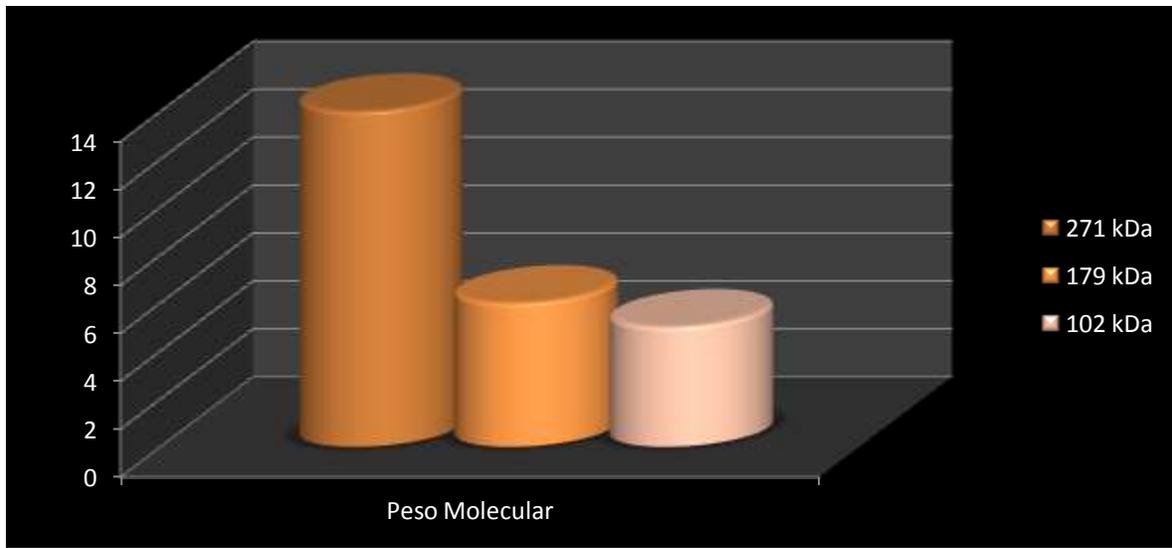


Figura 19. Frecuencia de reactividad cruzada entre proteínas de perro, gato y humano. En la figura se muestra la frecuencia con la que fueron reconocidas las proteínas que presentaron reactividad cruzada entre los extractos de escamas de perro, gato y humano.

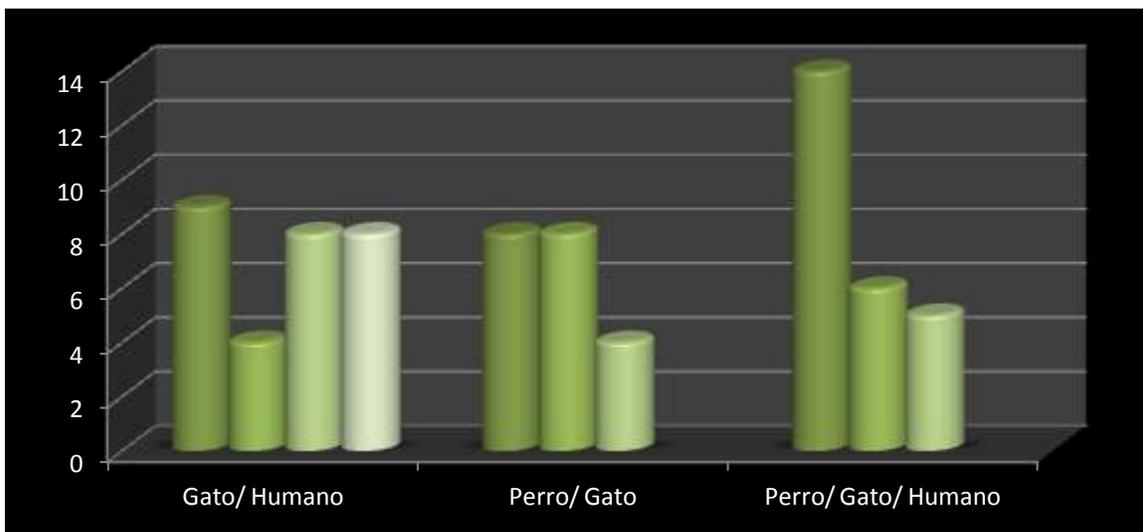


Figura 20. Comparación de las diferentes frecuencias en la reactividad cruzada que presentaron los extractos de escamas de perro, gato y humano. En la figura se muestra una comparación entre la frecuencia en la reactividad cruzada entre las proteínas de escamas de gato y humano, la frecuencia en la reactividad cruzada entre las proteínas de escamas de perro y gato y finalmente se muestra la frecuencia en la reactividad cruzada entre las proteínas de escamas de perro, gato y humano.

DISCUSIÓN

La alergia al polvo casero es la causa más importante de alergia respiratoria, se desencadena por factores prevalentes en el medio ambiente; en un estudio se encontró que los asientos tapizados pueden constituir un reservorio importante tanto de alérgenos de gato y alérgenos del ácaro de polvo casero, los cuales presenta un factor de riesgo importante para el desencadenamiento de síntomas y mantenimiento de la inflamación en las personas alérgicas y también constituye un factor de riesgo para la sensibilización. Se ha comprobado que cada cien ácaros por gramo de polvo casero constituyen un factor de riesgo para la sensibilización; y de 100 a 500 ácaros por gramo son un factor de riesgo importante para el desarrollo de la sintomatología. Estudios epidemiológicos han demostrado que del 26 al 85% de las alergias inducidas por el polvo casero están directamente relacionadas con la presencia de los Dermatophagoides. Actualmente las afecciones alérgicas han aumentado notoriamente en países desarrollados en donde del 8 al 10% de los niños sufren asma y hasta un 25% de la población sufren rinitis, dermatitis atópica o asma ⁽⁴⁸⁾ (26)

La reactividad cruzada se ha determinado por analogías estructurales: es decir, dos proteínas dan reactividad cruzada sólo cuando comparten estructuras primarias y terciarias y en general, poseen pliegues proteínicos similares. Este fenómeno se basa en la similitud entre la superficie molecular de las proteínas homólogas. Un grado de identidad en la secuencia de aminoácidos superior al 25% puede ser suficiente para que dos proteínas se plieguen de modo equivalente y compartan una estructura terciaria común. Sin embargo, es necesario un mayor grado de identidad para que dos proteínas compartan aminoácidos expuestos en la superficie molecular y epítomos de IgE, y por tanto; para que la reactividad

cruzada tenga lugar. Si un alérgeno no posee estos pliegues proteínicos comunes, puede excluirse su posible reactividad cruzada ⁽²⁴⁾ ⁽²⁵⁾. La reactividad cruzada ya se ha descrito para diferentes tipos de alérgenos, como en el caso de los alérgenos de perro y gato. Un estudio realizado reportó que existe una homología entre el alérgeno principal de gato Fel d1 hacia las escamas de perro, mostrando así reactividad cruzada. Por otro lado Reininger reportó que existe reactividad cruzada entre Fel d1 y una proteína de 20 kDa que se encontró en diversos extractos de escamas de perro ⁽²⁷⁾ ⁽²⁸⁾ ⁽³⁶⁾ ⁽⁴⁶⁾.

Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con los estudios ya mencionados ya que se encontró, que los sueros de pacientes alérgicos al ácaro de polvo casero presentan anticuerpos IgE e IgG₁ que reconocen proteínas de reactividad cruzada entre alérgenos de perro y de gato; sin embargo las proteínas encontradas presentaron un peso molecular de 292.90, 289 y 150 kDa, lo que explica, que no se tratan de proteínas que se han reportado como principales alérgenos de gato Fel d1 de 35 kDa, Fel d4 de 19 kDa o principales alérgenos de perro Can f1 de 25 kDa, Can f2 de 18 kDa . Otro estudio realizado por Romero ⁽³⁶⁾, muestra los diferentes pesos moleculares de las proteínas de los extractos de gato, perro y humano, que obtuvo a partir de un corrimiento electroforético, las cuales coinciden con las proteínas que se encontraron en este estudio, finalmente el comentó que existe un mayor parecido entre el extracto de escamas humanas con el de escamas de gato, coincidiendo con los resultados obtenidos, ya que un hallazgo importante en este estudio es que las proteínas de 290, 80, 52 y 30 kDa, presentan reactividad cruzada entre las escamas de gato y humano y las proteínas de 271, 179 y 102 kDa presentan reactividad cruzada entre los tres extractos de escamas de perro, gato y humano. Estos resultados indican que existe una mayor similitud y reactividad cruzada entre las proteínas de

humano con gato. También podemos confirmar que las pruebas *In vitro* pueden llegar a ser más sensibles y/o específicas de alérgeno, que las pruebas *In vivo*, esto lo observamos, ya que, a los pacientes se les realizaron pruebas cutáneas y ninguno tuvo una prueba cutánea positiva hacia gato o perro, es decir no se observó reactividad cruzada entre perro y gato en las pruebas cutáneas, sin embargo se logró observar la reactividad cruzada entre *D. pteronyssinus* y *D. farinae*, pues bien ya se ha demostrado que esta reactividad es mayor entre especies filogenéticamente más cercanas. Sin embargo, este fenómeno depende también de la relación estructural entre alérgenos y en este sentido es posible encontrar reactividad cruzada entre alérgenos provenientes de fuentes muy poco relacionadas como en este caso, pero que comparten alérgenos homólogos. En cambio en las pruebas *In vitro* logramos observar que dichos pacientes alérgicos al acaro de polvo casero reconocieron proteínas de perro, gato y humano. Es importante mencionar que la relevancia clínica de la reactividad cruzada depende de factores como la respuesta inmunitaria de pacientes, la exposición y el alérgeno. Un efecto interesante del fenómeno de reactividad cruzada es que la sensibilización primaria por inhalación de un alérgeno puede provocar la reacción alérgica posterior a otra fuente alérgica, cuya ruta de exposición sea distinta. Otra explicación a esta reactividad cruzada entre las escamas de gato, perro y humano en los pacientes alérgicos al acaro de polvo domestico se puede deber a que en el polvo casero se encuentra un sin fin de alérgenos, el cual está constituido por una mezcla de sustancias de procedencia y composición diversa ya sea pólenes, pelos y caspa de animales, fibras textiles, hongos entre otros, pero sin duda alguna del componente más alérgico, que es el ácaro del polvo y dentro de los principales alérgenos producidos por los ácaros se encuentran Der p1, Der f1, Der p2 y Der f2, estos dos son muy similares en su estructura,

presentando reactividad cruzada entre ellos , sin embargo aun no se ha descrito la probable reactividad cruzada entre alérgenos de ácaros con alérgenos de gato y/o perro. ^{(24) (25)(26)(46)}.

En los resultados , se presenta también que los pacientes alérgicos al ácaro de polvo casero reconocieron proteínas del extracto de escamas humanas tales como: 294.5 , 290, 271.4, 189, 180, 179, 170, 160, 133.7, 105.0, 102, 80, 70, 52, 51, 44.2 y 30.6 kDa. En cuanto a las proteínas de alto peso molecular, estas, se podrían tratar de un grupo de proteínas del colágeno y /o queratinas; pues se ha demostrado que los autoantígenos existen en varias estructuras de los queratinocitos, incluyendo la superficie celular, la cual presenta una interacción directa con las células presentadoras de antígeno para facilitar la presentación del autoantígeno, el cual puede contribuir en la cronicidad de las enfermedades alérgicas ⁽⁴⁸⁾. Por lo que estos resultados sugieren una autoreactividad. La cual es iniciada o al menos precedida por una sensibilización frente a alérgenos ambientales, siendo aquella paralela al daño tisular. La IgE dirigida contra autoalérgenos aumenta durante las exacerbaciones, a diferencia de la IgE contra alérgenos exógenos que aumenta después de la exposición. La auto reactividad ya ha sido descrita por Valenta en Alemania en el año de 1998 y en México por Zendejas en el año 1996 en escamas humanas y en queratinocitos humanos axénicos. En otro estudio realizado por Valenta en el 2000, se dedicó a conocer la implicación exacta del reconocimiento entre la IgE y auto alérgenos en el mantenimiento crónico de la dermatitis atópica, el comenta que mucho antes del descubrimiento de la IgE se informó que el extracto de caspa humana puede provocar reacciones de tipo inmediato de la piel en pacientes con atopia grave y que esta sensibilidad de la piel puede ser transferida pasivamente con suero ^{(29) (30) (51)}.

Diversos estudios han reavivado el interés en este fenómeno y dieron lugar a la idea de que la autoreactividad con IgE puede desempeñar un papel patogénico en las formas graves y crónicas de la atopia. La elucidación de la naturaleza de varios alérgenos ambientales ha revelado llamativas similitudes estructurales e inmunológicas con proteínas humanas. También se observó que los pacientes con predominio de manifestaciones severas y crónicas de la atopia, contiene anticuerpos IgE contra una amplia variedad de proteínas expresadas en tipos de células relacionadas histo-genéticamente humanos y muestras de tejido. Los auto alérgenos caracterizados hasta la fecha representan principalmente proteínas intracelulares, pero algunos de ellos se pudieron detectar en forma de complejos inmunes IgE en suero de pacientes sensibilizados. Se sugiere que al menos dos mecanismos patógenos podrían desempeñar un papel en auto alergia. En primer lugar, los autoalérgenos pueden activar células efectoras a través de anticuerpos IgE y la consecuente liberación de mediadores inflamatorios, dando lugar a síntomas de tipo inmediato. En segundo lugar, por la presentación de auto alérgenos a través de IgE para activar células T autoreactivas que liberan citocinas proinflamatorias, contribuyendo a la magnitud de la reacción alérgica en tejido^{(29) (30)}.

Un estudio realizado por Sabine, demostró que la autoreactividad de la IgE es común en pacientes con dermatitis atópica; realizó una técnica llamada Western blot para detectar la reactividad de la IgE contra la línea celular A431 de células epiteliales de humano y queratinocitos, sus resultados revelaron que el 28% de los pacientes con dermatitis atópica muestran reactividad de la IgE sérica. A partir de diversas tinciones que realizó, observó restos de membranas celulares, las cuales asociaron a los anticuerpos IgE autoreactivos y finalmente a partir de un análisis estadístico determinaron que la autoreactividad en

pacientes con dermatitis atópica, aumenta significativamente los niveles de IgE sérica⁽⁴⁸⁾. Sin embargo, en este trabajo se aportan datos de que los pacientes con rinitis, asma o ambas, además de los de dermatitis, también pueden presentar dicha autoreactividad. Ya que el 29% de los pacientes estudiados presentaron reactividad hacia alguno de los tres tipos de escamas; de los cuales el 13% de los pacientes presentan rinitis alérgica, 6% presentan asma y el 10% presentan tanto rinitis como asma; en los pacientes con dermatitis atópica no hubo tal reconocimiento y esto debido al pequeño número que entraron en este estudio, ya que en nuestra población de pacientes alérgicos, solo el 2% presentaban dermatitis atópica, siendo esta la principal atribución del por qué los pacientes con dermatitis atópica no reconocieron escamas humanas. La presencia de los Ac IgG₁ e IgE en los pacientes alérgicos al polvo casero hacia los diferentes tipos de escamas puede significar que posiblemente dichos anticuerpos se encuentran relacionados con la patología de los pacientes alérgicos. Un estudio realizado en 1996 muestra que la autoreactividad, que presenta la IgE puede ser un factor patogénico en las enfermedades atópicas, otro estudio realizado por Talay, reportó la IgE, tiene un papel patogénico en las enfermedades atópicas⁽⁵⁰⁾⁽⁵²⁾. Quedan abiertas nuevas líneas de investigación, para la continuación de la búsqueda de la autoreactividad y la presencia de auto alérgenos mediante estudios de inmunohistoquímica en donde se demuestre la presencia de antígenos así como la de anticuerpos. La población de estudio presentaba prueba cutánea igual o mayor de tres cruces al polvo casero, pero ninguno presentó reactividad a las escamas de perro y gato. Además los pacientes no han recibido inmunoterapia, lo que significa que esos anticuerpos no aparecieron por inmunización debida a la inmunoterapia; por lo que la presencia de esos anticuerpos sólo se puede explicar por reactividad cruzada con el alérgeno más importante no sólo en la Ciudad de México, sino a nivel mundial.

CONCLUSIONES

Se realizó la separación electroforética de los extractos de perro, gato y humano, obteniendo una buena resolución de las bandas requeridas.

Se transfirieron correctamente proteínas de extractos de escamas de perro, gato y humano a una membrana de nitrocelulosa.

Se encontró que, sueros de pacientes alérgicos al acaro de polvo casero presentaron reactividad cruzada con escamas de perro gato y humano.

Se observó que existe una mayor reactividad cruzada de los extractos entre gato con humano, ya que estas dos especies, identificaron 7 proteínas en común las cuales son: 290, 271, 179, 102, 80, 52, y 30 kDa

Se confirmó la reactividad cruzada de los extractos de escamas de gato con perro ya que el reconocimiento de proteínas entre estas dos especies fue amplio, puesto que identificaron 6 proteínas, las cuales son: 292.95, 289, 271, 179, 150 y 102 kDa.

Se identificaron tres proteínas de alto peso molecular que tienen reactividad cruzada entre los extractos de escamas de perro, gato y humano tales como: 271, 179 y 102 kDa, estas proteínas fueron reconocidas por los tres extractos.

No se encontró reactividad cruzada, de los extractos de humano con perro.

Se evidenció la existencia de autoreactividad, en sueros de pacientes alérgicos al acaro de polvo casero al reconocer proteínas de escamas humanas.

Finalmente se observó el reconocimiento de anticuerpos IgE e IgG₁ hacia los extractos de escamas de perro, gato y humano en sueros de pacientes que padecen asma y rinitis o ambas, alérgicos al acaro de polvo casero y dicha reactividad debe significar alguna patología asociada por tener las células cebadas y basófilos receptores para dichos anticuerpos.

REFERENCIAS

- 1-. Espinosa Rojas, Óscar. (2006). *Inmunología*. México: Ed. Panamericana.
- 2-. Tortora, Gerard y Berdell, R. Funke. (2007). *Introducción a la microbiología*. Buenos Aires: Ed. Panamericana.
- 3-. Raffa, Robert. (2008). *Netter Farmacología ilustrada. España*: Ed. Elsevier-masson.
- 4-. Stoelting, Robert y Dierd, Stephen. (2003). *Anestesia y enfermedad coexistente. España*: Ed. Elsevier
- 5-. Murphy, Kennet; Travers, Paul y Walport, Mark. (2009). *Inmunología de Janeway*. Mexico: Ed. McGraw-Hill.
- 6-. Vivas, Enrique y Pelta, R. (1997). *Piel y alergia*. España: Ed. Díaz de santos.
- 7-. Campbell, Neil A.(2001). *Biología*. México: Ed. Pearson educación.
- 8-. Konieczny, A. *The major dog allergens, can f1 and can f2, are salivary lipocalin proteins; cloning and immunological characterization of the recombinant forms. Immunology, 1997; 92 577-586*
- 9-. Mittermann, I. *Autoimmunity and atopic dermatitis. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2004. 4(5):367-371.*
- 10-. Sawai, T. *Immediate hypersensitivity skin reactions to human dander in atopic dermatitis. partial purification and characterization of human dander allergens. Archives of dermatology, 1988;124.*
- 11-. Valtuleña, J. y Prieto, J.(2010). *Balcells. La clínica y el laboratorio*. España: Ed. Elsevier.
- 12-. Lessof, M.H. (1986). *Alergia: aspectos clínicos e inmunológicos*. España: Ed. Reverte.
- 13-. Roitt. (2008). *Inmunología fundamentos*. Ed. Médica panamericana.
- 14-. Fireman, Philip.(2007). *Atlas de Alergia e Inmunología Clínica*. España: Ed. Elsevier
- 15-. Brasó Jose. (2003). *Manual de alergia clínica*. España: Ed. Elsevier
- 16-. Rojas Montoya William (2004). *Inmunología*. Ed. Corporación para investigaciones biológicas.

- 17-. Lopez, Gerardo; Morfin, Blanca; Huerta, José y Vargas, Florencia. ***Prevalencia de las enfermedades alérgicas en la Ciudad de México***. Revista Alergia México 2009;56(3):72-79.
- 18-. Janeway, Charles. (2003). *Inmunobiología. El sistema inmunitario en condiciones de salud y enfermedad*. España: Ed. Elsevier.
- 19-. Parham, Peter. (2006). *Immunology*. Ed. Médica Panamericana.
- 20-. Berg, Jeremy; Stryer, Lubert y Tymoczko, John. (2008). *Bioquímica*. Ed. Reverte.
- 21-. Berck, Arnold y Lodish, Harvey. (2005). *Molecular and cellular biology*. Ed. Médica panamericana.
- 22-. Vértice. (2009). *Las enfermedades autoinmunes y el laboratorio*. Ed. Vértice.
- 23-. R. Alfonso. (2003). *Remington farmacia. The science and practice of pharmacy*. Ed. Médica panamericana.
- 24-. Reyes, Marco y Aristazábal Gustavo. (2006). *Neumología Pediátrica: Infección, Alergia Y Enfermedad Respiratoria En El Niño*. Ed. Médica Panamericana.
- 25-. Mendez, Julia y Huerta, Joseph. (2008). *Alergia: enfermedad multisistémica: fundamentos básicos y clínicos*. Ed. Médica Panamericana.
- 26-. Zuburía, Eduardo. (2004). *Asma bronquial*. Ed. Médica Panamericana.
- 27-. Saarelainen, S. ***Animal-derived lipocalin allergens exhibit immunoglobulin E cross-reactivity***.
- 28-. Spitzauer, S. ***Major cat and dog allergens share IgE epitopes***. J Allergy clin immunol. 1997;99:100-106
- 29-. Valenta, R. ***autoallergy: A pathogenetic factor in atopic dermatitis?*** J. Allergy clin immunol 2000; 105: 432-7.
- 30-. Valenta, R. ***molecular characterization of an autoallergen, hom s1, identified by serum IgE from atopic dermatitis***. J. invest. Dermatol. 1998, 111-1178-1179
- 31-. Pearce, N. ***How much asthma is really attributable to atopy?*** Thorax 1999, 54:268-272
- 32-. Coca, AF, Cooke, RA: ***On the classification of the phenomena of hypersensitiveness***. J Immunol 8: 163–182, 1923
- 33-. Stephen J Galli, Susumu Nakac y Mindy Tsai. ***Mast cells in the development of adaptive immune responses***. Nature Immunology 2005.

- 34-. Gould Hanna. y Sutton B. *IgE in allergy and asthma today*. Nature reviews immunology 8. 2008.
- 35-. Hans Gronlund, Tiiu Saarne y Gafvelin Guro, *Fel D 1 Major cat allergen in teraphy*. *Allergy Immunol* 2010; 151:265-274
- 36-.Reininger R , Varga. E , Zach M , Balic N y Lindemeier. *Detection of an allergen in dog dander that cross-react with the major cat allergen, Fel d 1*. *Clin Exp Allergy* 2007; 37:116-24.
- 37-. Brandt R, Yman L. *Dog dander allergens. Specificity studies based on the radioallergosorbent technique*. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1980;61(4):361-70
- 38-. Oettgen, H. *IgE in asthma and atopy: celular and molecular connections*. *The Journal of Clinical Investigation*.1999; 104,837-843.
- 39-. Gell PGH, Coombs RRA, eds. *Clinical Aspects of Immunology*. 1st ed. Oxford, England: Blackwell; 1963.
- 40-. Crivellato E, Beltrami C, Mallardi F, Ribatti D. *Paul Ehrlich's doctoral thesis: a milestone in the study of mast cells*. *Br. J. Haematol*. 2003;123:19–21.
- 41-. Parish, W.E *Short-term anaphylactic IgG antibodies in human sera*. 1970 *Lancet*, ii, 591.
- 42-. U pham, J. *Enviroment and develop of atopy*. *Current opinion in allergy and clinical immunology*.2005;5(2):167-172
- 43-.Glass,Emett. *Asthma and the challenges of house dust mite management*.1999 Medscape General Medicine.
- 44 Romero, M. Estudio comparativo sobre el perfil electroforético de las proteínas de escamas humanas, de perro y/o gato. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.2012.
- 45-. Towbin, H, Staehelin, T, Gordon, J: *Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels in nitrocellulose sheets: procedure and some applications*. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 4350–4354, 1979.
- 46- Capture. *Clinical association between cat and dog allergy can be due to crossreactivity between Fel d 1 in cat dander and a homologous protein in dog dander*. A commentary on recente Allergy Papers. 2007. Issue1
- 47-. Chaithanya M, Ola B y Hannes U. *Crystal Structure of the Dog Lipocalin Allergen Can f 2: Implications for Cross-reactivity to the Cat Allergen Fel d 4*. *Journal of Investigative Dermatology* 2010

- 48-. Sabine A, Ernst K y Moser J. ***Serum IgE Autoantibodies target Keratinocytes in patients with Atopic Dermatitis.*** Journal of Investigative Dermatology. 2008.
- 49-. Perfetti L, Ferrari M, y Galdi E. ***House dust mites (Derp 1, Der f 1), cat (Fel d 1) and cockroach (Bla g 2) allergens in indoor work-places (offices and archives)*** Science of The Total Environment, 2004
- 50-. Valenta R, Dieter Maurer¹ y Steine R. ***Immunoglobulin E Response to Human Proteins in Atopic Patients.*** Journal of Investigative Dermatology (1996) **107**, 203-208; doi: 10.1111/1523-1747.ep12329617.
- 51-. Zendejas, V. ***Reconocimiento de antígenos de un ácaro de polvo casero (Dermatophagoides spp) por sueros de pacientes alérgicos y de sus convivientes.*** Tesis Doctoral. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politecnico Nacional. 1996.
- 52-. Talay O, Yan D, Brightbill, H. ***IgE⁺ memory B cells and plasma cells generated through a germinal-center pathway.*** Nature Immunology 2012.
- 53-. Hofmann, A y Soman, A. ***New roles for mast cells in pathogen defense and allergic disease.*** Discovery Medicine.2012.
- 54-. Artaza C. Determinación de IgE específica en el laboratorio.