



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

Reactividad alérgica cruzada *in vivo* entre *Casuarina equisetifolia* L (pino australiano) con: *Fraxinus uhdei* (Fresno), *Betula occidentalis* (Abedul) *Quercus vellutina* (Encino) y *Liquidambar styraciflua* (Maple) en pacientes con rinitis y/o asma alérgicas.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

HUGO ALFREDO BRITO ARELLANO



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: ABEL GUTIERREZ RAMOS**
VOCAL: **Profesor: MISAEL GONZÁLEZ IBARRA**
SECRETARIO: **Profesor: JULIO CESAR MARTÍNEZ ÁLVAREZ**
1er. SUPLENTE: **Profesor: GIBRÁN PÉREZ MONTESINOS**
2° SUPLENTE: **Profesor: GUSTAVO OLVERA GARCÍA**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio de Inmunoalergología y Micología Médica. División de Investigación. Hospital Juárez de México, O.P.D. SSa

ASESOR DEL TEMA:

Q.F.B.: Misael González Ibarra

SUPERVISOR TÉCNICO:

M. en C. Leticia Bañuelos Ávila

SUSTENTANTE:

Hugo Alfredo Brito Arellano

Índice

1.	Lista de abreviaturas	6
2.	Introducción	9
3.	Bases inmunológicas	10
	Hipersensibilidad	10
	Hipersensibilidad tipo I.....	10
	Hipersensibilidad tipo II.....	10
	Hipersensibilidad tipo III.....	10
	Hipersensibilidad tipo IV	11
	Alergia	11
	Genética de la alergia.....	13
	Hipótesis de la higiene	14
	Los mastocitos.....	15
	Los eosinófilos.....	15
	Receptor de alta afinidad (FcεRI)	16
	Receptor de baja afinidad (FcεRII)	17
	Mediadores químicos liberados por los mastocitos	20
	Quimiocinas y citocinas.....	25
	Inmunoglobulinas.....	28
	Antígenos	31
	Alergenos	34
4.	Árboles alergénicos	36
	Casuarina equisetifolia L	36
	Taxonomía:.....	36
	Área de origen:.....	37
	Distribución secundaria:.....	37
	Distribución en México	37
	Identificación y descripción.....	38
	Requerimientos ambientales	41
	Características adicionales	42
	El polen.....	42
	Alergia al polen de la Casuarina equisetifolia L.....	45

Características de las especies estudiadas.....	47
5. Enfermedades alérgicas	48
Rinitis alérgica	48
Asma.....	52
Urticaria.....	55
Alergia a los alimentos	57
Síndrome de alergia oral	59
Anafilaxia (hiperfilaxia).....	60
Reactividad alérgica cruzada.....	61
Diagnóstico de las enfermedades alérgicas	62
Pruebas cutáneas <i>in vivo</i>	63
Pruebas <i>in vitro</i>	65
Tratamiento de la alergia	66
Antihistamínicos.....	67
Estabilizadores de la membrana de los mastocitos	68
Glucocorticoides.....	69
Inmunoterapia alérgeno-específica (ITE)	70
6. Objetivos	75
7. Metodología	75
Criterios de inclusión:.....	75
Método para realizar la prueba cutánea	76
Análisis de los extractos	77
Determinación de proteínas	77
Análisis electroforético.....	78
Electrotransferencia.....	78
Inmunodetección	79
8. Resultados	80
9. Análisis de resultados.....	89
10. Discusión	94
11. Conclusiones.....	96
12. Anexos	97
13. Bibliografía	99

1. Lista de abreviaturas

1,2 DAG: 1-2 diacilglicerol

1,4,5 PI₃: 1,4,5 trifosfato de inositol

AA:Ácido Araquidónico.

aa: Aminoácidos.

Ac: Anticuerpo.

AE: Asma extrínseco.

AI: Asma intrínseco.

AALP: Asma Alérgica Leve Persistente

AAMP: Asma Alérgica Moderada Persistente

AASP: Asma Alérgica Severa Persistente

AAGP: Asma Alérgica Grave Persistente

Ag: Antígeno.

ALI: Asma Leve Intermitente.

ALP: Asma Leve Persistente.

AMI: Asma Moderada Intermitente.

APA: Agencia de Protección Ambiental.

AMP: Asma Moderada Persistente.

AMPc: Adenosina Monofosfato Cíclico.

ARIA: Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (Rinitis Alérgica y su Impacto en Asma).

COX: Ciclooxygenasa.

CMTC: Células Mastoides del Tejido Conjuntivo.

CMM: Células Mastoides de Mucosa.

CPA: Célula Presentadora de Antígenos.

DA: Dermatitis Atópica.

FcεRI: Receptor para la región cristalizable epsilon. (De alta afinidad).

FcεRII: Receptor para la región cristalizable epsilon. (De baja afinidad).

GINA: Global Initiative for Asthma (Iniciativa Global Para el Asma).

GR: Receptor de Glucocorticoides

H-1: Histamina 1

Ig's: inmunoglobulinas

IgE: Inmunoglobulina de tipo E.

IL: Interleucina.

IMP: Instituto Mexicano del Petróleo.

INF: interferón

ITAM: Motivo de Activación de Inmunoreceptores basado en Tirosina

ITE: Inmunoterapia Específica

HRB: Hiperreactividad Bronquial.

kDa: kiloDalton.

K_{dis}: Constante de disociación

kJ: kiloJoule

LO: Lipoxigenasa.

ng: nanogramo (1×10^{-9} g).

NK: Celulas Natural Killer

µm: micrómetros (1×10^{-6} m).

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PAGE: Electroforesis en Gel de Poliacrilamida.

PC: Pruebas Cutáneas.

PCE: Proteína Catiónica Eosinófila.

PST: Partículas Suspendidas Totales.

PGD2: Prostaglandina D2

PM: Peso molecular.

RAGP: Rinitis Alérgica Grave Persistente

RALP: Rinitis Alérgica Leve Persistente

RAMP: Rinitis Alérgica Moderada Persistente

RANTES: Regulated Activation, normal T Cell Expressed and Excreted

RASP: Rinitis Alérgica Severa Persistente

RCA: Rinoconjuntivitis Alérgica.

RLI: Rinitis Leve Intermitente.

RLP: Rinitis Leve Persistente.

RMI: Rinitis Moderada Intermitente.

RMP: Rinitis Moderada Persistente.

SAGARPA: Secretaria de Agricultura, Ganadería, desarrollo Rural, Pesca y Alimentación

SNC: Sistema nervioso central.

SAO: Síndrome de alergia oral.

SSa: Secretaría de Salud.

TNF: Factor de Necrosis Tumoral

TXA2: Tromboxano A2

VCAM1: vascular adhesión molecules-I (moléculas de adhesión vascular-I)

ZMCM: Zona Metropolitana de la Ciudad de México.

2. Introducción

Acuñado en 1906 por Clemens Von Pirquet, el término alergia se refiere a las reacciones de tipo inmunológico en las cuales se observa una respuesta de hipersensibilidad contra alergenios presentes en pólenes, desechos de animales (ácaros, perro, gato, cucaracha), conidios y micelios de hongos y otras partículas suspendidas en el aire. Estas reacciones están mediadas por anticuerpos de la clase IgE y forman parte de las enfermedades respiratorias de naturaleza no infecciosa como la rinitis y el asma. Estas patologías constituyen hoy en día un problema de salud pública ya que su incidencia en población de diversas edades las posiciona como una de las principales causas de ausentismo tanto laboral como escolar. Su detección y tratamiento constituyen un gasto importante tanto para los pacientes como para los organismos de salud y seguridad social. Estudios recientes han demostrado que estos padecimientos afectan entre el 30 y el 45% de la población mundial. Pero no sólo la alergia se presenta en las vías aéreas, si los alergenios ingresan al organismo vía oral (alimentos), también se pueden observar manifestaciones alérgicas a diferentes niveles del sistema gastrointestinal e incluso la piel. Patologías como la dermatitis atópica, urticaria, angioedema y el síndrome de alergia oral son los que más frecuentemente se asocian a las alergias alimentarias. Los alergenios más frecuentes se encuentran en frutos secos, alimentos de origen animal como la carne, huevo y los lácteos así como también cereales y vegetales.^(74, 56, 11, 89)

Se ha observado que algunas de las proteínas presentes en alergenios polínicos también se encuentran en estructuras de otros vegetales (panalergenios), ya sea en sus pólenes o en componentes químicos de sus frutos aun cuando las especies se encuentren separadas filogenéticamente. Este fenómeno se denomina cruce alérgico. Ejemplo de estos casos es el que se observa en la reacción alérgica cruzada entre el polen de diversas especies de abedul (*Betula sp*) y frutos de la familia *Rosaceae* (manzana, durazno (melocotón), pera, membrillo, albaricoque, ciruela, capulín, cereza, frambuesa, zarzamora, fresa (frutilla)).^(1,12 10,90)

En este trabajo se estudió la reacción alérgica cruzada entre los pólenes de cinco árboles: *Casuarina equisetifolia L* (pino australiano) con *Fraxinus uhdei* (Fresno), *Betula occidentalis* (Abedul), *Quercus vellutina* (Encino) y *Liquidambar styraciflua* (Maple o suchiate).

3. Bases inmunológicas

Hipersensibilidad

La hipersensibilidad es una respuesta inmune adaptativa que se genera en forma excesiva o inapropiada al estar en contacto constante y subsecuente con moléculas inocuas, pueden ser propias o extrañas, que en condiciones normales no desencadenan reacciones de tipo inmunitario. Es una característica individual, genera daño tisular que se manifiesta cuando ocurre contacto subsecuente con la partícula sensibilizante.

En 1963 Peter Gell y Robert Coombs identificaron cuatro tipos de hipersensibilidad clasificándolas de acuerdo a la naturaleza de la respuesta que el sistema inmune monta frente al antígeno y a la sintomatología clínica que se observa.^(11, 12, 17, 86, 89, 1, 46, 52, 68, 69)

Hipersensibilidad tipo I

Llamada también anafiláctica o inmediata. Se genera a partir de los mastocitos sensibilizados con anticuerpos IgE o IgG₄ unidos a la membrana mediante la fracción Fc. Al contacto con el antígeno alergénico, ocurre un entrecruzamiento de IgE adyacentes lo cual induce a la degranulación del mastocito liberando mediadores químicos, como las aminas vasoactivas, que alteran la permeabilidad vascular así como la contracción del músculo liso de diferentes órganos.

Hipersensibilidad tipo II

Denominada citotóxica. Depende de anticuerpos que están dirigidos a antígenos que se encuentran presentes en células propias del individuo, y que al unirse a ellos conducen a una acción citotóxica por células NK, lisis mediada por el complemento o bien dejan a la célula propensa a ser fagocitada.

Hipersensibilidad tipo III

Mediada por complejos inmunes, se desencadena cuando dichos complejos (formados por anticuerpos IgG unidos a antígenos solubles) se forman en gran cantidad en el torrente circulatorio o bien cuando estos complejos no pueden ser

eliminados por el sistema retículo endotelial. Los complejos grandes fijan al complemento, son transportados al hígado o al bazo y son eliminados por fagocitosis. Cuando el tamaño de los complejos inmunes es pequeño, tienden a depositarse y a generar reacciones inflamatorias sobre glomérulos y pequeños vasos sanguíneos. Estos depósitos generan que los neutrófilos sean atraídos al sitio y generen daño tisular como consecuencia de la acción de las moléculas que liberan.

Hipersensibilidad tipo IV

Ocurre cuando las células T sensibilizadas por un antígeno liberan linfocinas después de un contacto secundario con dicho antígeno. Estas linfocinas (INF- γ e IL-2) inducen reacciones inflamatorias, activan y atraen a los macrófagos quienes liberan otro tipo de mediadores.

Alergia

Del griego *ἄλλος* (otro, diferente) y *ἔργον* (trabajo o función). Reacción alterada o exagerada de la respuesta inmunitaria hacia moléculas que generalmente son inocuas para la población general. La alergia corresponde a la hipersensibilidad tipo I y se manifiesta con síntomas respiratorios, cutáneos o nerviosos pudiendo generar la muerte del individuo.

Para que una persona se sensibilice a partículas anemofílicas es necesario que presente un factor genético conocido como atopia. A un individuo que presente enfermedad clínicamente manifiesta se le denomina atópico. En estos pacientes las enfermedades alérgicas pueden variar generando incluso coexistencia de patologías, estando presente siempre los alérgenos en su medio ambiente como factor desencadenante. La exposición repetida y subsecuente a partículas alérgicas conduce a la producción de anticuerpos de la clase IgE contra estas moléculas, por los plasmocitos activados por la IL4 producida por el linfocito Th₂

Las moléculas de IgE sensibilizan a los receptores de alta afinidad (Fc ϵ RI) presentes sobre las membranas de mastocitos del tejido conectivo (piel) y en mucosas (nasal y bronquial), así como sobre basófilos presentes en la sangre. La

exposición subsecuente al mismo alérgeno le permite penetrar la submucosa y entrecruzar a dos anticuerpos IgE adyacentes, este proceso es inmediato y conlleva a la degranulación de mastocitos con la subsecuente liberación de histamina-1 (H1), heparina, bradicinina, serotonina y factores quimiotácticos, todos responsables del mecanismo de hipersensibilidad inmediata tipo I (según la clasificación de Gell y Coombs). Esta respuesta genera prurito, estornudos, rinorrea y obstrucción nasal en la rinitis alérgica, mientras que en el asma genera estertores, sibilancias, tos, y obstrucción bronquial. Ocho horas más tarde, a partir del ácido araquidónico de las membranas de los mastocitos degranulados, se sintetizan prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos que perpetúan y generan una respuesta alérgica crónica. (11, 48, 46, 57, 55, 23, 76, 80, 68, 69, 41)

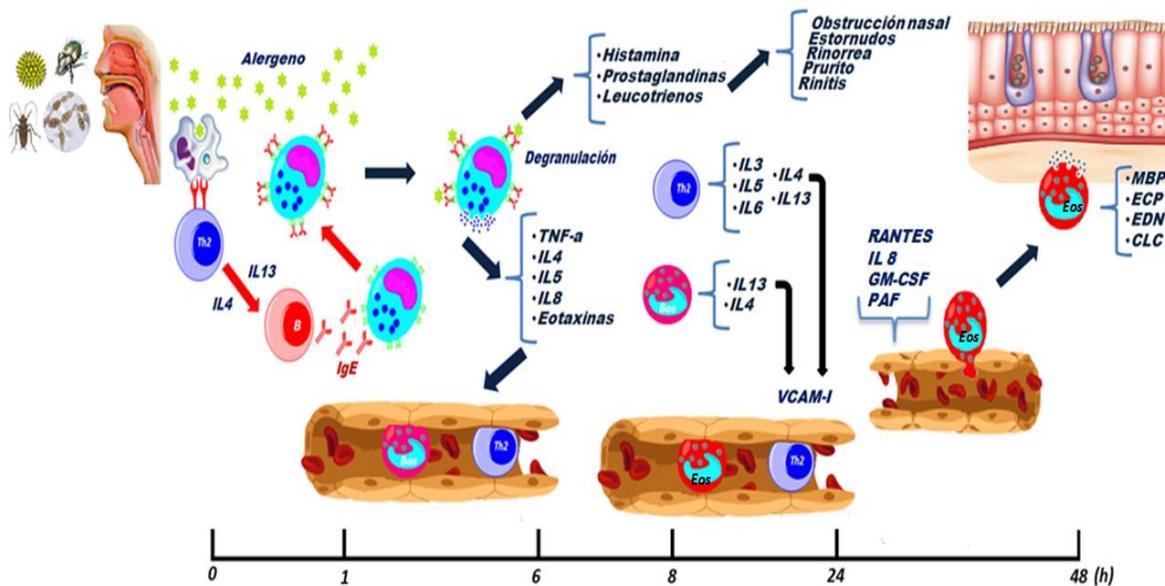


Fig1. Esquema que ilustra el mecanismo de sensibilización a partículas alérgicas, así como las células y moléculas que participan.

Genética de la alergia

Los genes implicados en el desarrollo de las enfermedades alérgicas no han sido definitivamente identificados sin embargo, existen múltiples genes candidatos que influyen, en diverso grado, en el desarrollo de las mismas. La herencia de las enfermedades alérgicas es de tipo poligénico y la forma en que actúan estos se ha explicado con la llamada hipótesis aditiva, la cual considera que cuando hay varios genes implicados en el desarrollo de una patología, cuantos más concurren en un mismo individuo, más probable es que se desarrolle la enfermedad. La historia familiar aporta datos importantes sobre la enfermedad alérgica. Estudios prospectivos demuestran que si un padre expresa alergia en la forma de dermatitis alérgica, asma o rinitis alérgica, existe una posibilidad de entre 38-58% de que su hijo o hija sean alérgicos. Si ambos padres padecen de alguna enfermedad alérgica, la posibilidad de padecer alguna patología alérgica se incrementa entre 60-80%. Los genes involucrados en el desarrollo de las enfermedades alérgicas se exponen en la siguiente tabla.

Cromosoma	Fenotipo asociado	Gen	Función
2q14-33	Asma	IL-1Ra, CTLA4	Receptor de IL-1 Molécula coestimuladora en LT activados.
5q31-33	Asma-IgE	IL-3, IL-5 IL-4 IL-9, IL-13 Rec β_2 LTC4 sintetasa	Factor de crecimiento de Eosinófilos y basófilos Producción de IgE Inducción de Th ₂ Factores de Crecimiento Unión a b2 con función AMPc- dependiente
6p21.3-23	Asma, IgE total, IgE específica	HLA- II TNF α	Presentación de Antígenos Citocina-pronflamatoria
7p15-14	Asma, IgE	GPRA	Receptor acoplado a proteínas G
11q13	Asma, IgE, Atopia PC's positivas a neumoalergenos	FCRI α	Receptor de IgE de alta afinidad
12q14.3-24.1	Asma, IgE	IFN γ STAT 6	Inhibidor de IL-4 Factor de transcripción de citosinas

12q24.3	Asma	NOS-1 (sintetasa)	Producción de óxido-nítrico
14q11.2	IgE específica PC's positivas	TCR α NF- κ B β Inh	Reconocimiento de antígenos Activación de múltiples genes de citosinas
6p12	IgE	IL-4Ra	Receptor de IL-4 (señal celular)
19q13.1-13.3	Asma	TGE β 1	Síntesis de IgE
20p13	Asma	ADAM33	Metaloproteasa

Tabla1. Polimorfismos genéticos relacionados con el desarrollo de enfermedades alérgicas.

Existen otros factores secundarios que pueden ser desencadenantes de alergia, entre estos se encuentran la ablactación temprana, la ingesta de alimentos potencialmente alérgicos e infecciones recurrentes (intestinales o respiratorias) en los primeros tres meses de vida así como la contaminación ambiental intradomiciliaria como el tabaquismo y mascotas, y la extrínseca que involucra humo, gases y partículas suspendidas en el aire.^(10, 25, 26, 85)

Hipótesis de la higiene

En 1989 David Strachan propuso la denominada hipótesis de la higiene según la cual la creciente incidencia de pacientes alérgicos en general están relacionada con la exposición disminuida a enfermedades bacterianas, virales, aumento de la higiene personal, la disminución del tamaño familiar y al contacto más limitado con animales. Concluyó que ser dueño de una mascota, vivir en granjas, asistir a guarderías o tener hermanos ayudaba al sistema inmune a adaptarse apropiadamente de forma que no hay reacción desmedida a un estímulo ambiental.

De acuerdo con esta hipótesis el sistema inmune en ausencia de exposición repetida a sustancias dañinas, reacciona y se estimula excesivamente frente a sustancias externas inocuas para el ser humano, como los pólenes, dando como resultado el desarrollo de las alergias. Esta teoría explica por qué en los países industrializados se da una gran prevalencia de enfermedades de hipersensibilidad y autoinmunes en comparación con su ausencia o poca prevalencia en países subdesarrollados.

Los linfocitos Th₁ producen IFN- γ que neutraliza la respuesta Th₂, los linfocitos Th₂ producen IL-4 que impide la respuesta Th₁. La ausencia de IFN- γ por ausencia de infecciones favorece la respuesta Th₂. (10, 56, 57, 85, 75, 79)

Los mastocitos

Los precursores de los mastocitos o células cebadas se forman en la médula ósea durante la hematopoyesis desde donde migran hacia tejidos vascularizados como la piel, la vía respiratoria, el tracto gastrointestinal y el tracto urogenital donde se diferencian a células maduras. En la piel residen alrededor de 10,000 células por mm³.

Los mastocitos tienen forma globosa y un tamaño entre 10 a 12 μ m, poseen gránulos metacromáticos que contienen moléculas vasoactivas como H-1, triptasa, quimasa, carboxipeptidasa y serotonina. Los mastocitos no se encuentran en circulación sanguínea.

Se han descrito dos poblaciones de mastocitos:

- a) **CMTC Células Mastoides del Tejido Conjuntivo:** Se encuentran en la mayoría de los tejidos alrededor de los vasos sanguíneos, tienen un periodo de vida de más de 40 días, presentan 3×10^4 receptores **Fc ϵ RI** en su superficie y gran contenido de gránulos de H-1.
- b) **CMM Células Mastoides de Mucosa:** Se encuentran altamente concentrados en el pulmón y mucosa del intestino medio, tienen un periodo de vida de hasta 40 días y presentan en su superficie alrededor de 2×10^5 receptores **Fc ϵ RI**. Su contenido de H-1. es relativamente bajo. (56, 57, 10 43, 45, 73, 77, 33, 74)

Los eosinófilos

Los eosinófilos son leucocitos del tipo granulocito circulantes en sangre. Se desarrollan en la médula ósea por estimulación de IL5, IL3 y el factor estimulante de colonias granulocito-macrófago su tamaño va de 10-12 μ m. Tienen una vida media de 3 a 4 días antes de migrar hacia los tejidos donde permanecen durante

varios días más. Representan, en condiciones de salud, alrededor del 5% del total de leucocitos. Durante las enfermedades alérgicas su concentración se ve elevada al igual que durante infecciones parasitarias. Contienen gránulos metacromáticos que se tiñen de rojo con la eosina. Estos gránulos contienen moléculas que durante la reacción alérgica perpetúan el proceso inflamatorio. Entre estas moléculas destacan hidrolasas lisosomales, fosfolipasas, neurotoxinas, la proteína básica mayor o principal (que es tóxica para células eucariontes) y diferentes proteínas catiónicas que tienen efecto tóxico contra células eucariontes y procariontes, ambas proteínas son ricas en arginina. Estas moléculas que tienen importante actividad en la destrucción de parásitos, al ser liberadas en ausencia de ellos, tienen la capacidad de dañar e inflamar el tejido de manera crónica dando lugar a la reacción alérgica tardía. Los eosinófilos se reconocen como la causa principal del daño generado en la vía aérea que ocurre en el asma crónico. (56, 57, 10 43, 45, 73, 77, 33, 74)

Receptor de alta afinidad ($Fc\epsilon RI$)

Presenta una afinidad hacia la IgE de $1-2 \times 10^{-9} M$. Al igual que los basófilos, en la superficie de los mastocitos se expresan abundantemente (hasta 200'000/ célula). El receptor de alta afinidad $Fc\epsilon RI$ que se une a IgE también se expresa en otras células como eosinófilos y plaquetas.

Este receptor se expresa como un heterotetrámero $\alpha\beta\gamma_2$. Está compuesto por cuatro cadenas polipeptídicas una de las cuales es α , una β y dos cadenas idénticas denominadas γ unidas por un puente disulfuro. La cadena α es un proteína integral tipo I de membrana que contiene sitios de unión a Fc en su fracción extracelular (N terminal). Las cadenas β y γ ejercen principalmente funciones citoplasmáticas de señalización celular. La cadena α contiene dos dominios extracelulares $\alpha 1$ y $\alpha 2$ (leídos desde el amino terminal) compuestos por 80 aminoácidos (aa), estos dominios cuentan además con una fracción de tipo intermembrana de 20 aa y algunas secuencias citoplasmáticas de tamaño variable. La cadena β atraviesa cuatro veces la membrana celular y hacia su

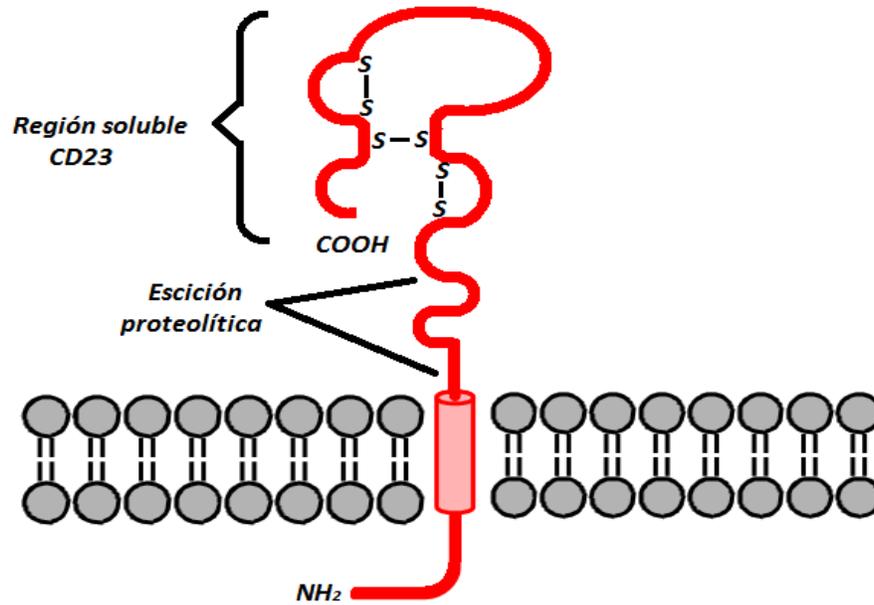


Fig 3. Representación esquemática del receptor Fc ϵ RII de baja afinidad.

Dado que los mastocitos presentan **Fc ϵ RI** en su superficie, pueden sensibilizarse con anticuerpos IgE después del primocontacto con un alérgeno.

La liberación de sus gránulos vasoactivos es un evento que ocurre cuando se da un entrecruzamiento entre anticuerpos IgE fijados en la superficie celular, o bien cuando hay entrecruzamiento de receptores adyacentes. Existen otras posibilidades de desgranulación y liberación de H-1 como las que se ejemplifican en la figura 4.

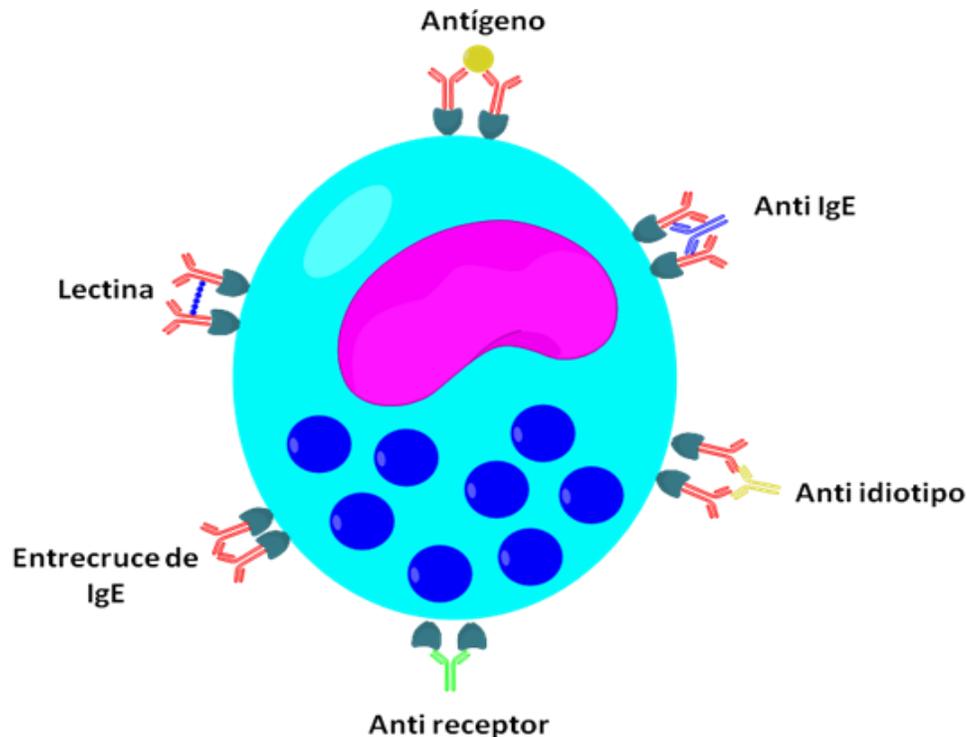


Fig. 4. Mecanismos que generan la desgranulación de los mastocitos.

Las lectinas como la concanavalina A también pueden provocar desgranulación de mastocitos (por ejemplo después de la ingesta de fresas).

El mecanismo bioquímico de la desgranulación de los mastocitos inicia con el entrecruzamiento de moléculas de IgE adyacentes, ya sea por unión de antígenos alérgicos, por otros anticuerpos o por lectinas. Este entrecruzamiento activa a la enzima transmembranal fosfolipasa C que hidroliza un fosfolípido de inositol generando dos productos 1,2 Diacilglicerol y 1,4,5-Trifosfato de inositol. Ambos productos son segundos mensajeros para la activación celular que culmina en la liberación de calcio intracelular, que a su vez da como resultado la liberación de H-1 y otros mediadores químicos asociados a gránulos.

Además de la liberación de gránulos de H-1 y otras moléculas preformadas, la activación de los mastocitos tiene como segunda consecuencia la inducción de la síntesis de mediadores formados de *novo*. Estos mediadores se forman a partir del Ácido Araquidónico (AA) que conduce a la producción de prostaglandinas y

tromboxanos por la vía de la ciclooxigenasa (COX) y leucotrienos por la vía de la lipoxigenasa (LO).^(33, 74, 57, 58, 72, 74)

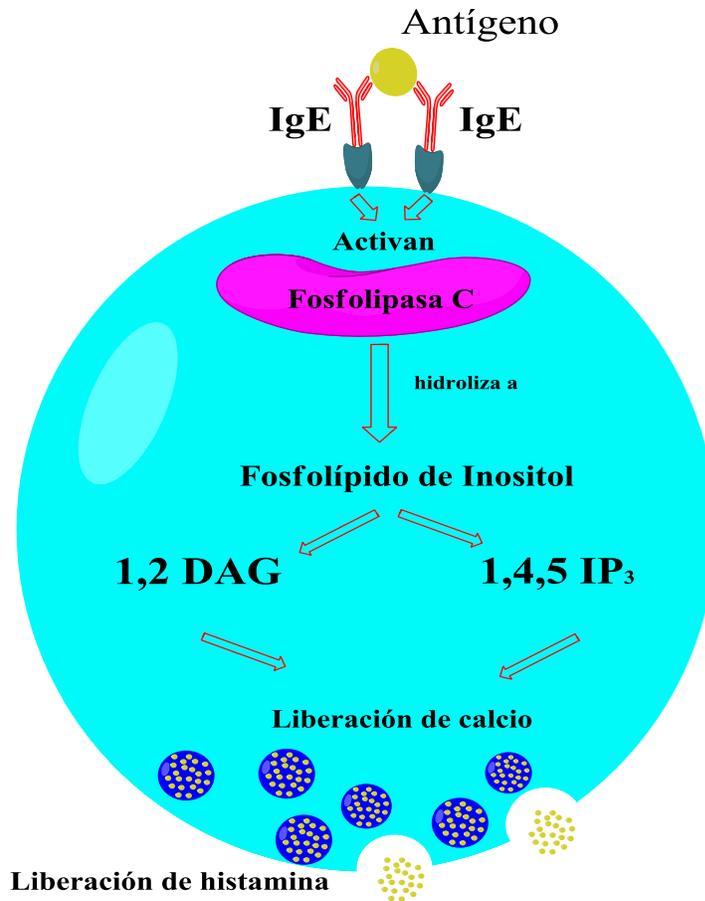


Fig. 5. Mecanismo bioquímico de la degranulación de los mastocitos.

Mediadores químicos liberados por los mastocitos

a) Mediadores preformados Histamina (H-1)

Del griego *ἵστός* (histos): tejido + amina: *Amina de los tejidos*. Es el nombre que se le dio al mediador asociado a los mastocitos, su nombre químico es β -aminoetilimidazol y se forma a partir de la descarboxilación de la histidina.

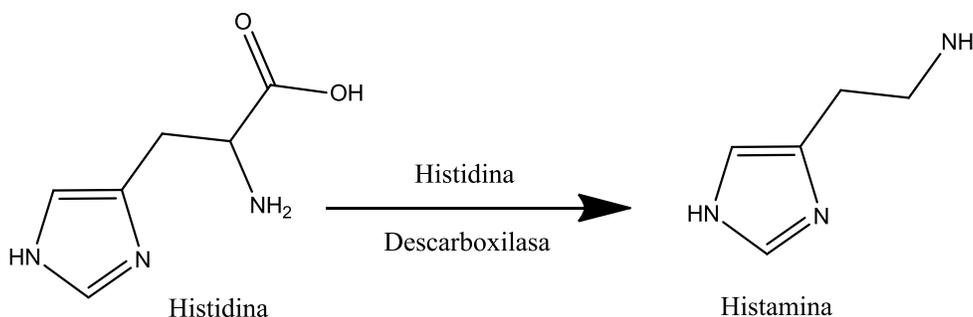


Fig. 6. Biosíntesis de la histamina

La H-1 es el componente mayoritario de los gránulos presentes en los basófilos y en los mastocitos (10% del total de los gránulos) de modo que se encuentra distribuida en el organismo sobretodo en tejidos que contienen abundantemente estas células como por ejemplo la mucosa del árbol bronquial, la piel y la mucosa intestinal, así como las neuronas dentro del SNC, células en regeneración o de tejidos de rápido crecimiento en los cuales el recambio de H-1 es rápido porque hay una liberación continua más que un almacenamiento.^(29,74, 11, 42, 50)

H-1 contribuye a la progresión de las respuestas alérgicas de diferentes maneras: aumenta secreción de citocinas inflamatorias como IL1 α , IL1 β , IL6, quimiocinas como RANTES o IL8 en células de tejidos locales, disminuye la presión sanguínea y aumenta la permeabilidad capilar. *In vivo* se ha observado que su función como quimioatrayente de eosinófilos se ve aumentada por otros factores como la IL5 que es una molécula fundamental para la activación y supervivencia de estas células. Recientemente se ha demostrado que un receptor llamado HR4 es el responsable del reclutamiento selectivo de los eosinófilos así como de la activación de los mastocitos.^(72, 74, 11, 60)

Receptor H-1(HR1)

Formado por 487aa presenta un PM de 56KDa presente en los bronquios y en el endotelio de los pequeños vasos, en músculo liso de la vía aérea, aparato cardiovascular, SNC, y nervios sensitivos. Está asociado a dos localizaciones en cromosomas humanos 3p25, 3p14-p21. Este receptor presenta una mayor afinidad por H-1 y media una respuesta dilatadora relativamente rápida y de corta

duración. Su unión con H-1 induce la contracción del músculo liso intestinal y bronquial, así como un incremento en la permeabilidad de las vénulas. La unión a este receptor estimula a las células del sistema inmunitario potenciando su actividad inflamatoria por la migración incrementada al sitio de inflamación.

Receptor H2 (HR2)

Se encuentra presente en la mucosa gástrica y en la piel. Está compuesto por 359aa y posee un PM de 40KDa, su codificación se localiza en el cromosoma 5. Su unión a la H-2 genera un incremento en la permeabilidad vascular que se da con relativa lentitud, es además más sostenida. Estos efectos vasodilatadores están mediados por AMPc. Se encuentra presente también en músculo liso donde su activación tiene acción relajante; y en músculo bronquial humano, en donde su activación es responsable de la dilatación de este tejido. Con estimulación de las glándulas exocrinas. Es responsable de las secreciones gástricas, la relajación esofágica y la hipersecreción de moco.

Receptor H3 (HR3)

Está compuesto por 445aa y su peso molecular es de 70KDa. Su codificación se encuentra en el cromosoma 20. Se expresa en el SNC, la vía aérea el sistema nervioso periférico y el tracto digestivo. Se le relaciona con la secreción de ácido gástrico y funciona como heteroreceptor presimpático en el SNC y periférico, aquí participa H-3.

Receptor H4 (HR4)

Se codifica en la región 18q11.2, su estructura consta de 390aa. Se expresa en leucocitos, medula ósea, bazo, pulmones, hígado y colon, donde interacciona con la H-4. Tiene actividad de transcripción estimulada por IL-6 y TNF- α e inhibida por IL-10 e IL-13. ^(72, 74, 11, 60)

Bradicinina

Es un potente constrictor de los bronquios, durante los episodios alérgicos actúa uniéndose a un receptor **B₂** en el músculo liso de estos. La estimulación de la producción de moco por las células calciformes y por glándulas mucosas también es otras de sus funciones. Tiene la capacidad de dilatar los vasos bronquiales provocando exudación de plasma hacia el endotelio vascular.

Triptasa

Es expresada tanto en basófilos como en mastocitos. Existe como un tetrámero de subunidades que se unen de manera no covalente. Tienen un peso entre 31 a 38KDa. Sus formas principales son la α -triptasa (α I y α II). Funciona como un marcador de activación de mastocitos, estando presente hasta en cantidades 5 veces mayores en mastocitos de la piel en comparación con los presentes en la mucosa pulmonar.

Durante las reacciones alérgicas es liberada por los mastocitos sensibilizados, su principal actividad es de serinesterasa, además estimula al músculo bronquial a ser contraído por otros mediadores como H-1.

Quimasa

Es una serinproteasa liberada en forma de complejos junto con la carboxipeptidasa y proteoglicanos. Tiene la capacidad de activar a los eosinófilos, estimular la producción de moco y degradar la matriz extracelular generando daño en epitelios.

b) Mediadores formados de novo

A partir de las membranas de mastocitos desgranulados se activa el Ácido Araquidónico (AA), para generar mediadores llamados de *novo* por dos vías diferentes, la vía de la ciclooxigenasa (COX) y la de la lipoxigenasa (LO).

Prostaglandina D₂ (PGD₂)

Es el producto más abundante de la vía de la COX, interacciona con receptores DP₁ y DP₂. DP₁ está presente en células secretoras de moco de la mucosa nasal, en glándulas sebáceas, endotelio vascular, células Th₂, células dendríticas y eosinófilos. Actúa incrementando el efecto vasoconstrictor de la H-1, produce vasodilatación y aumento de la permeabilidad capilar, induce supervivencia de los eosinófilos y la secreción de moco.

DP₂ se expresa en células CD4+Th2 y los CD8+Tc2, basófilos y eosinófilos, en estos últimos induce la desgranulación y aumenta su respuesta quimiotáctica a otras citocinas. Además aumenta la permeabilidad microvascular y constricción de arterias coronarias.

Tromboxano A₂ (TXA₂)

Al igual que las prostaglandinas, el tromboxano A₂ es un mediador formado de *novo* que se sintetiza a partir del Ácido Araquidónico por la vía COX. Tiene una importante actividad como agregador plaquetario y vasoconstrictor. Tiene relevancia además en algunas enfermedades cardiovasculares ya que genera vasoconstricción coronaria y promueve la prevalencia de episodios de angina inestable.

Leucotrieno C₄

Los leucotrienos tienen como origen los leucocitos, se forman a partir del Ácido Araquidónico metabolizado vía LO. Inicialmente se genera un intermediario inestable denominado A₄ que al interactuar con la enzima C₄ sintetasa de leucotrieno genera a este leucotrieno (Leucotrieno C₄). Tiene la capacidad de aumentar la secreción de moco, es un potente broncoconstrictor y aumenta la permeabilidad capilar.

Factor activador plaquetario

Producido por basófilos, macrófagos, neutrófilos, plaquetas y mastocitos se genera por remoción de grupos alquil de fosfolípidos de la membrana mediante hidrólisis por fosfolipasa A₂. Funciona como quimioatrayente de eosinófilos, neutrófilos y linfocitos TCD4; es un potente constrictor bronquial, aumenta la permeabilidad vascular y genera descamación del epitelio bronquial.^(86, 11, 57, 58, 55, 60, 52, 74, 16, 17, 54, 90)

Quimiocinas y citocinas

Las respuestas celulares que tienen lugar en la alergia se llevan a cabo mediante moléculas denominadas citocinas y quimiocinas, de las cuales, las más sobresalientes se describen a continuación.

Interleucina 1 (IL1)

Está representada por cuatro péptidos IL1 α , IL1 β , IL1 receptor antagonista e IL18. Las primeras tienen efectos similares e interactúan con los dos receptores de IL1 con una afinidad muy similar. La IL1 tiene dos receptores expresados en linfocitos B y en neutrófilos.

- Receptor IL1 tipo I: transduce los efectos de la insulina.
- Receptor IL1 tipo II: tiene un dominio intercelular muy pequeño, su interacción con IL1 tiene un efecto antiinflamatorio y es conocido como receptor señuelo.

La captación de IL1 receptor antagonista por su receptor tipo I (que tiene función pro-inflamatoria) sin transducir la señal, es la base de su efecto antagonista.

IL1 es producida principalmente por fagocitos mononucleares, por células endoteliales, queratinocitos, osteoblastos y neutrófilos. Su producción puede ser estimulada por endotoxinas, otras citocinas, microorganismos y antígenos.

Los mecanismos de secreción de IL1 dependen de la escisión por una enzima llamada caspasa 1 o enzima transformante de IL1.

Su función biológica más importante es su capacidad de activar linfocitos T mejorando la producción de IL2 y la expresión de los receptores de IL2. En ausencia de IL1 se observa disminuida la respuesta inmune y se generan estados de tolerancia.

IL1 aumenta la proliferación de linfocitos B y la producción de inmunoglobulinas. Puede interactuar con el sistema nervioso central produciendo fiebre, letargia y sueño. Su interacción con hepatocitos inhibe la síntesis de albúmina y estimula la síntesis de proteínas de fase aguda como amiloide, proteína C reactiva y el complemento. Estimula la adhesión de leucocitos a las células endoteliales a través de regulación positiva de ICAM-I y selectina E. La IL1 es secretada en procesos inflamatorios, su regulación positiva está dada por otras interleucinas como IL4, IL6 e IL13.

Interleucina 4 (IL4)

Producida por Th₂, eosinófilos, basófilos y mastocitos. Se encuentra preformada en eosinófilos y basófilos en forma de gránulos internos que pueden ser liberados rápidamente en la respuesta alérgica inflamatoria. IL4 es un estimulante para la expresión de moléculas MHC II, B7, CD40 y FcεRII en linfocitos B, además induce el cambio de isotipo de IgM a IgE. La presencia de otras interleucinas como IL5, IL9 e IL6 sinergizan con IL4 para incrementar la secreción de IgE. IL 4 tiene efectos en la diferenciación y el crecimiento de células T además les permite prevenir la apoptosis provocando el mantenimiento de la respuesta inmunológica. La producción de IL4 por Th₂ hace a estas células refractarias a la influencia de los corticosteroides.

Tiene además la capacidad de inducir la expresión de moléculas de adhesión a células vasculares (VACM-I) mejorando la adhesión de células T, eosinófilos, basófilos y mastocitos. En mastocitos promueve la expresión del receptor de IgE, induce la expresión de la enzima leucotrieno C4 sintasa; estimula además la producción excesiva de moco en las vías aéreas.

Los receptores funcionales de IL4 son heterodímeros que consisten en una cadena IL-4R α interactuando con una cadena γ compartida, o de una cadena IL13-R α 1. Este uso compartido de las cadenas explica muchas de las similitudes de los efectos biológicos de las citocinas IL4 e IL13. Niveles altos de IL4 inhiben fuertemente el efecto de la IL2, es decir suprime la inmunidad celular.^(59, 13, 11, 57, 58, 29, 1, 56)

Interleucina 13 (IL13)

Es homóloga a la IL4 y comparte muchas de sus actividades biológicas en los fagocitos, las células endoteliales y las células B. La IL13 induce el cambio de isotipo a IgE y la expresión de VCAM I. Los receptores funcionales de IL13 son heterodímeros que contienen una cadena IL4R α y una única cadena IL13R α . Este receptor está más limitado que IL4R α en cuanto a su expresión. Está presente en endotelios, células B, fagocitos y basófilos pero no en mastocitos ni en células T. Esta distribución de IL13R α explica por qué la IL4 es la única con capacidad de inducir la diferenciación de Th₂ y la activación de mastocitos. Sin embargo IL13, puede identificarse con mayor facilidad en tejidos con inflamación ya que se produce más ampliamente que la IL4.^(59, 13, 11, 57, 58, 29, 1, 28)

Interleucina 9 (IL9)

Descrita originalmente como factor de crecimiento de mastocitos, tiene la capacidad de producir proteasas en los mastocitos así como también ayudar tanto al crecimiento como a la supervivencia de los linfocitos T. Incrementa además la expresión del receptor Fc ϵ RI. La IL9 es producida por eosinófilos y linfocitos Th₂, induce la expresión de la eotaxina. Sinergiza con IL5 para aumentar la producción de eosinófilos y con la IL4 para aumentar la producción de IgE.

Interferón gamma (INF γ)

Es un importante regulador de la síntesis de IgE. Tiene como función inhibir la respuesta alérgica a través de su capacidad de inhibir a la IL4 mediadora de la

expresión de **FcεRI** y el cambio de isotipo hacia IgE. Su origen son los linfocitos Th-1 activados.

Interleucina 25 (IL25)

Contribuye a la secreción de IgE a través de su capacidad para estimular la producción de IL4 e IL3. Es un derivado de Th₂.^(38, 13)

Inmunoglobulinas

Las inmunoglobulinas o anticuerpos son glucoproteínas sintetizadas en los linfocitos B. Constituyen el componente humoral de las reacciones inmunitarias.

Las inmunoglobulinas (Ig's) se componen de cuatro polipéptidos, dos cadenas pesadas idénticas entre sí y dos cadenas ligeras idénticas entre sí. Cada una de las dos cadenas ligeras está unida a una cadena pesada mediante un puente disulfuro. Las cadenas pesadas se encuentran unidas entre sí a través de otro tipo de puente disulfuro. Cada cadena pesada y ligera tienen dos dominios funcionales: la región constante y la región variable. Las regiones variables de las cadenas ligeras y pesadas se combinan para formar el sitio de unión al antígeno conocida como región hipervariable.^(1, 74, 60, 75)

Todas las moléculas de anticuerpo comparten las mismas características estructurales básicas, pero muestran una gran variabilidad en el sitio de unión a antígenos. Las inmunoglobulinas tienen varios isotipos que están determinados por la fracción cristalizable (Fc) de la cadena pesada. Los isotipos definen a las clases y las subclases de los anticuerpos denotados como: $\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \gamma_4, \alpha_1, \alpha_2, \mu_1, \delta, \epsilon$.

En general, las inmunoglobulinas o anticuerpos tienen tres principales funciones efectoras después de unirse al antígeno:

- 1) Neutralización del antígeno o toxina en complejos solubles evitando que se unan a otras células.
- 2) Oponizar antígenos vía cascada del complemento o interacción con **FcγR**.
- 3) Forman enlace cruzado de anticuerpo-receptor.

Inmunoglobulina G (IgG)

Inmunoglobulina que se presenta en mayor concentración en el suero (85% aprox de las Ig's totales). Un incremento de IgG en suero es característico de una respuesta de memoria a un cierto antígeno. Presenta cuatro subtipos de los cuales IgG1 es el más prevalente. Los subtipos IgG1, IgG2 e IgG3 se consideran anticuerpos Th₁ mientras que IgG4 se considera Th₂ Aunque los subtipos son 95% homólogos, presentan algunas diferencias funcionales como que IgG4 no activa la cascada del complemento. El papel de la IgG es proveer a los infantes inmunidad pasiva ya que es el único isotipo capaz de atravesar la placenta, excepto IgG2. Su concentración es de 450 a 1700 mgs/dl.

Inmunoglobulina A (IgA)

Su principal papel es la inmunidad en mucosas. Existen dos subclases IgA1 e IgA2, pueden ser encontrados como monómeros o polímeros. En sangre encontramos frecuentemente IgA1 monomérica, la forma polimérica (dimérica) contiene una cadena J que une a dos unidades monoméricas de IgA.

La IgA polimérica puede unirse a polirreceptores y ser transportada a través de la mucosa epitelial, se comporta como un anticuerpo primario de las secreciones tisulares. La deficiencia de IgA selectiva es la inmunodeficiencia primaria más común. Su concentración sérica normal es de 150 a 450 mgs/dl.

Inmunoglobulina M (IgM)

Pentámero de unidades monoméricas unidas por enlaces disulfuro. Este pentámero se une a su vez a una cadena J. La IgM es el primer anticuerpo presente después de un estímulo antigénico. Tiene la capacidad de activar y unir al complemento a través de la vía clásica. Presenta 10 sitios de acción para neutralizar antígenos pero sólo puede usar 5 dado el impedimento estérico. Su concentración sérica normal es de 50 a 250 mgs/dl.

Inmunoglobulina D (IgD)

Su concentración en suero es muy baja (0.2% del total de las Ig's). Su función no está bien definida pero parece ser un receptor a antígeno unido a la membrana de las células B. Es una proteína sumamente lábil tanto a la proteólisis como al calor lo cual ha dificultado mucho su estudio. Presenta alrededor de 12% de carbohidratos asociados a la cadena δ . Carece de la capacidad de unir al complemento. Aunque su función y la especificidad de sus sitios activos no están bien definidas actualmente, su co-expresión con IgM como receptor en membranas de linfocitos al parecer juega algún papel en la activación de estas células.

Inmunoglobulina E (IgE)

Fue descrita inicialmente en 1921 por Praustnitz y Kustner como el factor sérico llamada "reagina" humana que reacciona con alérgenos, pero fue hasta 1966 cuando Teruko y Kimishigue Ishizaka pudieron aislarla e identificarla. Tiene su origen en células plasmáticas presentes en los nódulos linfáticos en sitios de entrada de antígenos y también localmente en los sitios en los que ocurren las reacciones alérgicas. La IgE es una glucoproteína que está compuesta por dos cadenas pesadas ϵ y dos cadenas ligeras (λ o κ). Presenta un peso molecular de 190 KDa atribuido a la presencia del dominio CH4. Su cadena pesada H ϵ contiene alrededor de 12% de galactosa y presenta 5 dominios uno de los cuales es variable (HV) y los restantes son constantes. Su concentración sérica normal es de 20 a 100 UI/ml. Una UI es igual a 2.4 ng. En pacientes atópicos pueden observarse concentraciones de hasta 1913 UI/ml. Carece de la capacidad de fijar el complemento por vía clásica, aunque sí puede activarlo por la vía alterna; no atraviesa la placenta. ^(12, 17, 86, 11, 69, 74, 75)

En tejidos se observa su capacidad homocitotrópica ya que se encuentra unida a la superficie de los mastocitos a través de su región C ϵ 4 la cual le permite interactuar con receptores de alta afinidad Fc ϵ RI y de baja afinidad Fc ϵ RII sensibilizando a estas células. Estos mastocitos sensibilizados se desgranularán

una vez que ocurra la interacción IgE-antígeno específico sobre su superficie, con la subsecuente liberación de moléculas vasoactivas. Aunque presenta una vida media corta en circulación de 2.5 días, la IgE tiene la capacidad de permanecer hasta por 12 semanas sensibilizando mastocitos en la piel, esta capacidad se pierde si el anticuerpo se calienta a 56 °C durante 30 minutos, aunque conserva su capacidad de unirse al antígeno a través de la región Fab. El papel benéfico de la IgE reside en su actividad durante las infecciones por helmintos. Durante estas infecciones la IgE activa a los mastocitos que liberarán moléculas vasoactivas para reclutar otras células inflamatorias. Tiene además la capacidad de sensibilizar al parásito para el ataque por eosinófilos.^(44, 74, 11, 23)

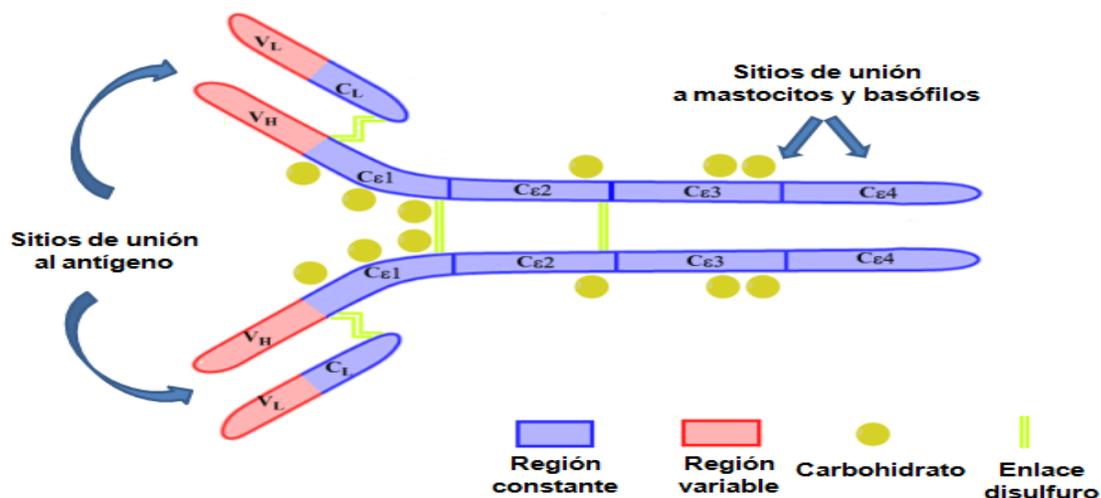


Fig. 7. Esquema que representa al anticuerpo IgE.

Antígenos

Características generales de los antígenos

Los antígenos son un grupo de moléculas que tienen la capacidad de unirse específicamente a anticuerpos o a receptores de los linfocitos T.

Todos los antígenos pueden ser reconocidos por los linfocitos T y por anticuerpos, pero no todos tienen la capacidad de inducir una respuesta inmunitaria. Aquellos

que sí son capaces de inducir dicha respuesta se denominan inmunógenos y generalmente son macromoléculas. Las moléculas pequeñas sólo pueden inducir respuesta inmune cuando se encuentran unidas a macromoléculas, en este contexto, la molécula pequeña se llama hapteno y la macromolécula se denomina transportador. Otra forma de lograr que el hapteno se convierta en inmunógeno, es hacerlo polivalente, lo cual se logra uniendo varias moléculas del hapteno a la molécula de un polisacárido.

El sitio de unión para el anticuerpo en el antígeno se llama determinante antigénico o epítipo. En general las proteínas globulares no presentan en su estructura determinantes repetidas, pero algunas otras moléculas sí las presentan, entonces se dice que dicha molécula es un antígeno polivalente (DNA, RNA, carbohidratos, algunas proteínas).

Cuando los determinantes antigénicos, en un antígeno polivalente, están considerablemente separados, se pueden unir uno o más anticuerpos, en cambio, si los determinantes antigénicos se encuentran muy próximos, se puede dar el fenómeno conocido como solapamiento de determinantes, en el cual una vez que se une el primer anticuerpo ya no puede unirse un segundo anticuerpo debido a un impedimento estérico. Por otro lado, puede ser que cuando se una el primer anticuerpo ocurra una modificación en la conformación del antígeno lo que podrá influir de forma positiva o negativa en la unión del segundo anticuerpo. Esta interacción se conoce como efecto alostérico.^(1, 74, 60)

Los determinantes antigénicos pueden ser:

a) Determinantes lineales

Formados por 6 aa adyacentes los cuales son accesibles casi siempre cuando la molécula de la proteína se encuentra desnaturalizada o cuando se encuentran en fragmentos externos de la proteína.

b) Determinantes tridimensionales

Se observan cuando dos aa, que no están en una misma secuencia pero que están yuxtapuestos en el espacio de una proteína plegada son sitios de unión al anticuerpo.

En cuanto a su interacción con células para generar una respuesta inmune, los antígenos pueden ser: ^(1, 60)

T-dependientes

- Tiene pocas copias del determinante antigénico.
- Son generalmente de naturaleza proteica.

T- Independientes

- Son poliméricos
- Tienen determinantes antigénicas muy repetidas
- Son activadores policlonales
- Son resistentes a la degradación
- Estimulan directamente a las células B
- No requieren intervención de células T
- Generalmente son polisacáridos

Interacciones Antígeno-Anticuerpo

Las interacciones no covalentes que genera la unión Antígeno-Anticuerpo (Ag-Ac) son generalmente electrostáticas, enlaces de hidrógeno, fuerzas de Van Der Waals e interacciones Hidrofóbicas. La competencia relativa de cada una de ellas depende de las estructuras de los lugares de fijación entre Ag-Ac.

La fuerza de fijación o unión entre un determinante y un anticuerpo se denomina afinidad del anticuerpo y se expresa mediante una constante de disociación (K_{dis})

que indica la concentración del Ag necesaria para ocupar los sitios de unión de la mitad de las moléculas de Ac presente en una solución de Ac. De este modo, una K_{dis} baja representará una alta afinidad y una K_{dis} alta representará una afinidad baja. En la respuesta inmunológica se observa una K_{dis} entre 10^{-6} - 10^{-11} M.^(1, 74, 60)

Alergenos

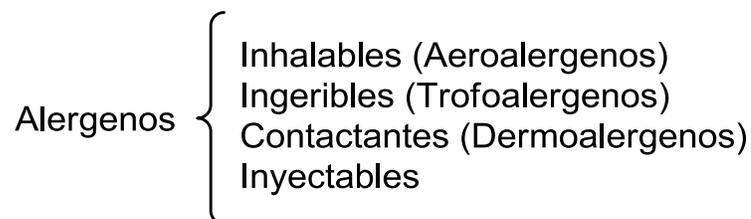
Los alergenos son moléculas que poseen la capacidad de inducir un estado de hipersensibilidad tipo I (Gell y Coombs) en pacientes atópicos, son los factores desencadenantes de la enfermedad alérgica. Estas moléculas deben reunir las siguientes características para poder actuar como antígenos y alergenos:

- Ser extrañas al organismo.
- Tener un alto peso molecular ($>10^5$ Da).
- Ser moléculas de conformación globular.
- Presentar aa aromáticos
- Ser moléculas solubles en agua.
- Estar ampliamente distribuidas en el medio ambiente en que vive el individuo atópico.

Clasificación de los alergenos

Los alergenos pueden ser clasificados de acuerdo a:

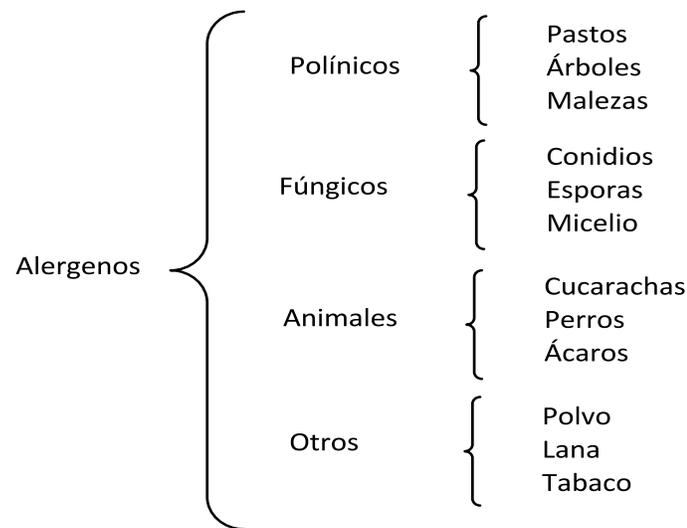
- a) Vía de entrada al organismo



b) Presencia en el hábitat

- **Estacionales:** se presentan únicamente en determinadas estaciones del año (intermitentes).
- **Perennes:** Están presentes todo el año (persistentes).

c) Por su origen



Aeroalergenos

Los aeroalergenos son partículas transportadas por el aire, capaces de desencadenar una respuesta alérgica respiratoria, conjuntival o cutánea. Las partículas que con mayor frecuencia producen cuadros alérgicos a través de inhalación son los pólenes; esporas, conidios y micelios de hongos, saliva, orina y epitelios de animales, y excretas de diversos tipos de ácaros y cucarachas. La naturaleza de estas moléculas es protéica o glucoprotéica, presentan un peso molecular entre 10'000 – 40'000 Da y un tamaño de entre 1 y 60µm. Los aeroalergenos tienen importancia clínica cuando poseen grupos antigénicos específicos capaces de generar respuestas de hipersensibilidad en el hombre y se encuentran en concentración suficiente en el aire generando un alto nivel de exposición. Aunque la literatura internacional reporta más de 5000 alérgenos polínicos, sólo mencionaremos los utilizados en esta investigación.^{(12, 63, 86, 11, 68, 69,}

74, 35)

4. Árboles alergénicos

Casuarina equisetifolia L

Taxonomía:

- Nombre común: Casuarina, Pino Australiano, Pino del mar, Pino de tontos, rompevientos, pino de Paris, árbol de la tristeza.
- Reino: *Plantae*
- Subreino: *Traqueobionta* (plantas vasculares)
- Superdivisión: *Spermatophyla* (plantas con semillas)
- División: *Magnoliophyta* (plantas con flor)
- Clase: *Magnoliopsida* (dicotiledoneas)
- Subclase: *Hammamelidae*
- Orden : *Casuarinales*
- Familia: *Casuarinaceae*
- Género: *Casuarina*
- Especies: *equisetifolia L* y *cunninghamiana*.

Área de origen:

Australia, Malasia y Polinesia. (61)



Fig. 8. Regiones de origen del género Casuarina.

Distribución secundaria:

Asia, África y en todo el continente americano.

Distribución en México

Dadas sus características de adaptación a diferentes climas y suelos, podemos encontrarla en estados de clima seco como Zacatecas, Sinaloa y Chihuahua, hasta en entidades más húmedas como Michoacán, Veracruz, Estado de México, Puebla, Oaxaca y Distrito Federal. (22,73)



Fig. 9. Distribución de la *Casuarina equisetifolia* en México.

Identificación y descripción

El nombre genérico de las Casuarinas fue inventado por Rumphius en el año 1650 y fue aplicado por Lineo para la Taxonomía. Alude a las ramas filamentosas que se parecen al plumaje del ave Casuario australiano o Casuario de Ceram (*Casuaris casuaris*) que es originario de Australia, Nueva Guinea y las islas Malucas. La especie *equisetifolia* indica el parecido de sus ramillas y sus hojas a una planta llamada cola de caballo *Equisetum sp.*^(22, 11, 53, 73, 65, 66)



Fig 10. Casuario de Ceram (*Casuaris casuaris*)



Fig. 11. Cola de caballo (*Equisetum sp.*)



Fig. 12. *Casuarina equisetifolia* L.

La *Casuarina equisetifolia* L. es un robusto pino siempre verde, su tronco es muy ramificado y posee una corteza rugosa de color gris pardo. Su altura va desde 1m hasta 30 m y el diámetro de su tronco puede ir desde 0.5m hasta 1m. Este pino fue traído por Miguel A. de Quevedo junto con el *Gingko biloba* y el árbol del eucalipto.

Presenta un follaje triangular de apariencia ordenada, parecida a la de las coníferas, que consta de ramas colgantes entre 28-30 cm de longitud y hasta de 1mm de diámetro. Estas ramas tienen aspecto de “agujas” segmentadas de color verde oscuro que brotan en verticilos y permanecen colgantes.

Las hojas de éste árbol están reducidas a pequeñas escamas en forma de dientes que brotan colocadas en anillos alrededor de los nudos o segmentos de las ramas, tiene un tamaño de hasta 1mm y alrededor de cada nudo pueden encontrarse desde 4 hasta 16 hojas. ^(11, 22, 79, 36, 64, 43, 83, 37)



Fig. 13. A) Árbol de la *Casuarina equisetifolia*. B) Ramas. C) Hojas.

Su inflorescencia está determinada por el sexo del árbol, las inflorescencias masculinas se encuentran dispuestas en la punta de las ramas y consisten exclusivamente de 1 o 2 estambres rodeados de cuatro pequeñas brácteas. Son de color marrón claro. Las flores femeninas brotan en grupos densos de color guinda, crecen en las ramas bajas del árbol a lo largo de las mismas. La flor femenina está constituida por el ovario rodeado por 2 o 4 brácteas. Estas flores son polinizadas por el viento (febrero a mayo *C. equisetifolia* L. y septiembre a diciembre *C. cunninghamiana* Miq.), después de este evento, las brácteas que rodean el ovario se endurecen para formar las infrutescencias. ⁽⁷³⁾

Los frutos son pequeños conos parecidos a las piñas de los pinos, son redondas de 13 a 20 mm de diámetro, más largos que anchos, ligeramente cilíndricos. Cada fruto se abre para dar semillas en forma de ala de alrededor de 6 mm de longitud y de color marrón claro. ^(2, 22, 73)

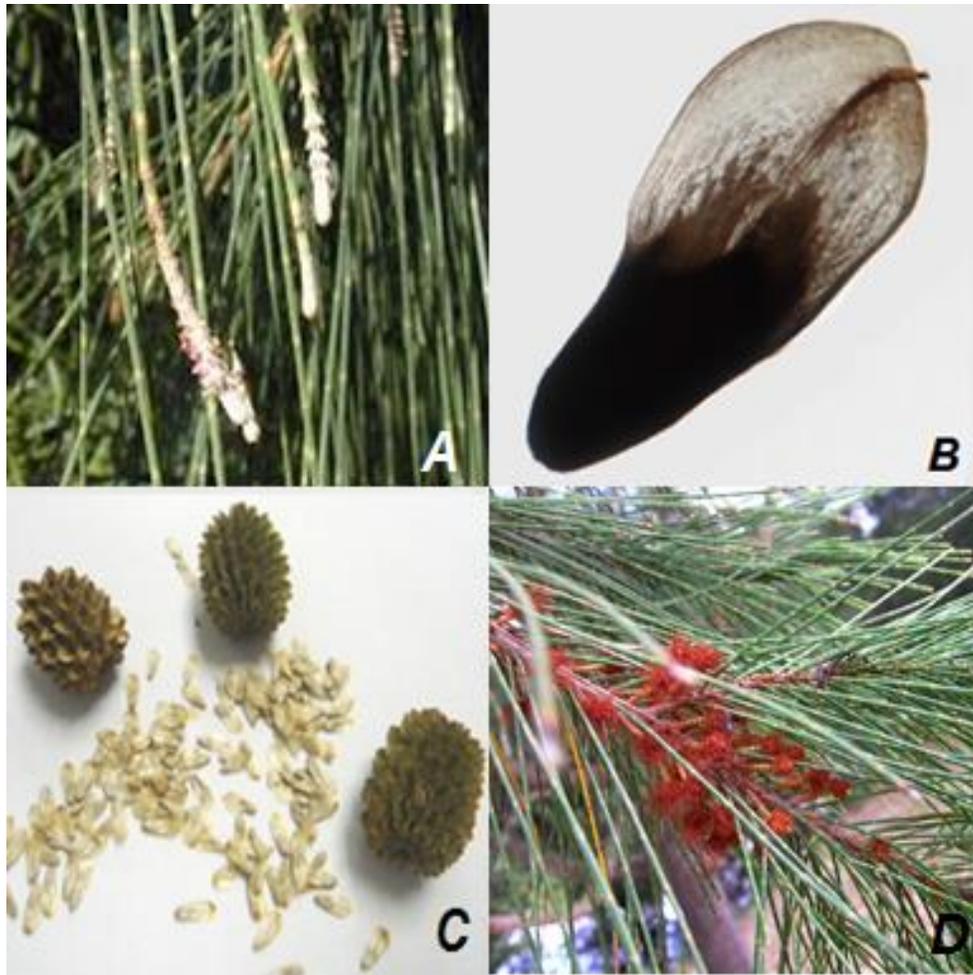


Fig. 14. *Casuarina equisetifolia*. A) Inflorescencia masculina. B) Semilla. C) Fruto. D) Inflorescencia femenina.

Requerimientos ambientales

Temperatura

En forma natural, *Casuarina equisetifolia* L. crece en zonas cálidas tropicales y subtropicales con temperaturas medias entre 10-33°C, es poco resistente a las heladas, pero es muy resistente al clima muy caluroso.

Suelo

Crece en una gran variedad de tipos de suelo, desde los suelos muy salinos próximos al mar, suelos arenosos y suelos rocosos. Resiste suelos con periodos

cortos de inundación y suelos con pH de hasta 9.5. Su crecimiento se ve dificultado en suelos muy pesados como los vertisoles.

Características adicionales

La especie posee gran capacidad para colonizar dunas de arena. Tiene gran resistencia al viento y presenta un crecimiento rápido. Puede resistir la sequía por periodos de hasta de 8 meses por año. ^(22, 73, 66)

g) Usos

La madera de esta especie se ha considerado la mejor leña del mundo por la gran cantidad de calor que libera al arder. Se consume fácilmente, aun cuando está verde, y sus cenizas retienen el calor por un largo periodo de tiempo. Forma un carbón vegetal de excelente calidad (30´000KJ/Kg).

Dada su resistencia, la madera se emplea también en la industria de la construcción para la elaboración de vigas y tarimas, se emplea además como cabos para herramienta, toneles, cajonería y muebles. La pulpa de la madera es fuente de papel. La corteza se usa principalmente para la obtención de taninos útiles para curtir cuero.

Por sus características físicas se emplea como rompevientos para proteger cultivos, como flora de reforestación, para rescatar zonas erosionadas y para frenar el avance de las dunas (principalmente en el Golfo de México). ^(64,79, 36, 22, 83, 66)

El polen

Los pólenes son las células masculinas de reproducción sexual de las fanerógamas. La polinización puede ser anemofílica o entomofílica. Las flores de las plantas alergénicas generalmente son muy vistosas pero carecen de aroma. ^(65, 11, 35, 2)

Polinización de plantas alergénicas en general:

- Pastos: Todo el año
- Malezas: Después de la temporada de lluvia. Principalmente entre septiembre y noviembre.
- Árboles: diferentes épocas dependiendo de la especie.

El proceso de polinización requiere que los pólenes sean especialmente resistentes ya que se ven sometidos a condiciones ambientales adversas. Como adaptación a ello, los pólenes están recubiertos por una estructura llamada exina constituida por una de las sustancias más inalterables de la naturaleza, la esporopolenina. Es un compuesto muy resistente a bases y ácidos. No se ve afectada por las variaciones térmicas habituales de la naturaleza.

La composición química del polen puede variar dependiendo de la especie, pero en general está formado por:

- ✓ Proteínas: 20% (destacan las enzimas como la fosfatasa y la amilasa)
- ✓ Carbohidratos 35-40%
- ✓ Lípidos 5%
- ✓ Minerales composición variable

La intina es la capa interna de las células polínicas, en ella se encuentran las proteínas con carácter alergénico, el peso molecular de estas varía entre los 10'000 y los 30'000 Da. Contiene además celulosa, almidón y el material genético. Para que un polen se considere alergénico debe cumplir con lo establecido en los postulados de Thommen y Vauhan (1931) ^(43, 64, 31)

- El polen debe ser potencialmente alergénico.
- El polen debe ser liviano
- El polen debe ser anemofílico

- Debe ser producido en grandes cantidades.
- La planta que lo produce debe estar ampliamente distribuida en el hábitat del paciente alérgico.
- COROLARIO: los síntomas de alergia se presentarán si y sólo si el paciente es atópico.

c) Características del polen de la *Casuarina equisetifolia* L

La *Casuarina equisetifolia* es una de las especies que es polinizada a través del viento mediante la fertilización chalazogámica. La polinización ocurre desde el mes de febrero a mayo (*Casuarina equisetifolia* L.) y de septiembre a diciembre (*Casuarina cunninghamiana* Miq) El polen de la *Casuarina* es considerado de tamaño mediano de 22-26 μ m. (30-36 μ m de diámetro ecuatorial). Presenta forma trizonosporada, isopolar, radiosimétrica. Es triangular en visión polar y elíptico en visión ecuatorial. Presenta aberturas simples tipo poro dispuestas en la zona ecuatorial, aspidadas de 2-2.5 μ m. Su exina tiene un grosor de entre 1.5 y 2,0 μ m, siendo un poco más gruesa en las aberturas. Su intina es también muy engrosada.

La superficie de los granos de polen está cubierta por granulaciones muy densas que a veces se observan alineadas, esto le da un aspecto rugoso.

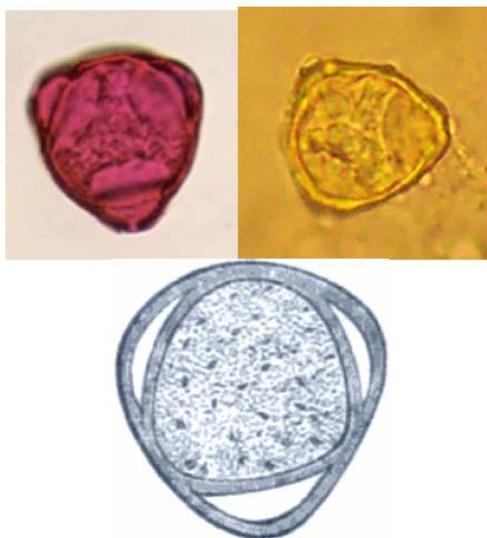


Fig 15. Polen de la *Casuarina equisetifolia* L.

Otros géneros que presentan este tipo de polen son *Corylus* (avellana), *Betula* (abedul) y *Myrica* (mirto), aunque son más grandes^(36, 79, 21,4, 22, 10, 2, 18, 31)

Alergia al polen de la *Casuarina equisetifolia* L.

Ya desde 1942 se tenía conocimiento de la alergenicidad de este polen, Zivit describió tres pacientes con rinitis alérgica cuyas manifestaciones coincidían con la época de polinización del pino australiano.

En 1987 Bucholtz y cols. Reportaron un nuevo estudio en el cual se observó que de 61 voluntarios, 14 presentaron prueba cutánea positiva al polen de la *Casuarina*, 11 de los cuales además tuvieron un resultado positivo en la prueba radioalergenisorbente (RAST) de 1+ o mayor. Sugirieron además que puede existir reactividad cruzada entre el género *Casuarina* y los géneros *Myrica* (mirto), *Morus* (morera) y *Quercus* (roble).^(4, 41, 18, 88)

El estudio de los componentes de la proteína total presentes en el polen de la *Casuarina equisetifolia* L. fueron realizados por primera vez en la Universidad de Hainan, Haikou en China por Li Dongdong y He Shaoheng en el año 2006.

En este se estudió el extracto alergénico puro mediante electroforesis de dos dimensiones encontrando que los alergenos dominantes se encuentran en un rango de peso molecular entre 13.323 – 144.637kDa y un punto isoeléctrico entre 4.0 – 7.0. Detectaron en total 85 diferentes componentes de proteína, la molécula mayor corresponde a una proteína que representa el 38.8% del total de proteínas, se encuentra entre 10 – 20KDa la segunda corresponde a la proteína de 29 – 30KDa la cual representa 24.4% del total.

Este estudio no determina específicamente al alergeno mayor del polen de la *Casuarina*, sin embargo son de relevancia las bases que se aportan para determinarlo en un estudio posterior.^(36, 79, 44, 64, 53, 65, 31, 21)

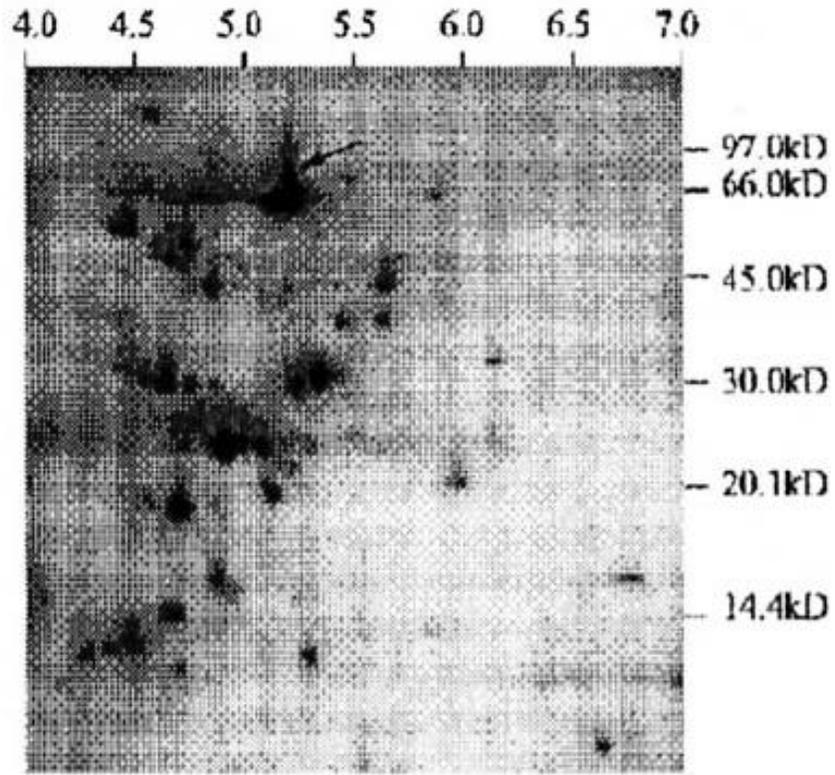


Fig 16. Perfil por electroforesis 2D de proteínas totales presentes el polen de la *Casuarina equisetifolia* L. (Li Dongdong 2006)

Características de las especies estudiadas (22, 12, 62, 36)

<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> Especie <i>Casuarina equisetifolia</i> <i>Betula occidentalis</i> <i>Quercus vellutina</i> <i>Fraxinus uhdei</i> <i>Liquidambar styraciflua</i> </div>					
Característica					
Distribución geográfica en México	Zacatecas Sinaloa Chihuahua Michoacán Veracruz Estado de México Puebla Oaxaca Distrito Federal	Chiapas Chihuahua Distrito Federal Durango Estado de México Hidalgo Nayarit Oaxaca Puebla Querétaro Tlaxcala	Baja California B California Sur Coahuila Chiapas Chihuahua Durango Hidalgo Jalisco Nuevo León Oaxaca Veracruz	Colima Chiapas Durango Guanajuato Guerrero Jalisco Estado de México Morelos Nuevo León Oaxaca Veracruz	Chiapas Distrito Federal Hidalgo Michoacán Morelos Nuevo León Oaxaca Puebla S Luis Potosí Tamaulipas Veracruz
Árbol					
Hojas					
Polen					

Fig 17. Cuadro en el que se comparan algunas de las características de las especies de árboles estudiados.

5. Enfermedades alérgicas

Las enfermedades alérgicas constituyen un problema de salud pública a nivel mundial cuya incidencia según las previsiones científicas más confiables aumentará a mediano y largo plazo. Hoy en día se estima que entre 30 y 45% de la población mundial se encuentra afectada por alguna de ellas. Según cifras de la Secretaría de Salud, en la Ciudad de México puede observarse al menos en un 42.5% (hasta 2009) de los cuales, alrededor de 56.40% son pacientes pediátricos entre 3 meses y 14 años, 35.5% entre 15 y 30 años, 6.6% pacientes entre 31 y 45 años y 1.4% pacientes mayores a 45 años.^(11, 12, 57, 58, 82, 49, 89, 41)

Dependiendo del órgano de choque que afectan, podemos clasificar a las enfermedades alérgicas de la siguiente manera.

<u>Enfermedad alérgica</u>	<u>Órgano de choque</u>
Conjuntivitis	Conjuntiva ocular
Rinosinusitis	Mucosa nasal / Senos paranasales
Rinitis alérgica	Mucosa nasal
Asma	Tracto respiratorio superior
Dermatitis atópica	Piel
Urticaria / Angioedema	Piel
Gastroenteropatías	Mucosa gástrica
Choque anafiláctico	Generalizado

Tabla 2. Asociación de las enfermedades alérgicas con su respectivo órgano de choque.

Rinitis alérgica

Se presenta como un síndrome caracterizado principalmente por inflamación de la mucosa nasal, hiperemia, prurito y congestión nasal que puede producir resequedad de la boca, estornudos en salva, rinorrea anterior y posterior, así como halitosis. Todas estas alteraciones producen a su vez, tos matinal, ronquera y en ocasiones faringitis. El prurito ocular, provoca frotamiento de los ojos y como consecuencia se asocia blefaritis o queratitis. La rinorrea ocasiona irritación de la

piel y como consecuencia infección agregada. Las mucosas de los cornetes que se tornan edematosas, pueden sangrar con facilidad ante cualquier traumatismo nasal y causar epistaxis. Es frecuente la congestión ótica que genera ruidos e hipoacusia, síntomas muy molestos provocados por la disfunción de la trompa de Eustaquio. Pueden coexistir alteraciones vestibulares y del oído interno, y así causar vértigo. Otros síntomas por demás dolorosos son las cefaleas sinusuales causados por olores penetrantes como el humo del tabaco, perfumes y aromas de flores. La estasis crónica de la sangre en el plexo vascular de los párpados inferiores ocasiona la dilatación de las vénulas y la aparición de secreciones, y como consecuencia los pliegues de Dennie-Morgan (Fig.18). Por el prurito nasal recurrente conlleva al frotamiento de la nariz hacia arriba con las manos, lo que genera el septum nasal, característico dentro de los estigmas del paciente con RA.



Fig 18. Pliegues de Dennie-Morgan

La RA Puede presentarse durante todo el año (perenne o persistente) o durante ciertas épocas del año (estacional o intermitente). Es la enfermedad más frecuente pues se sabe que entre 25 y 30 % de la población la padece. Se encuentra con mayor frecuencia en los países industrializados. Los pacientes que la padecen adquieren la capacidad de sensibilizarse comúnmente a varios aeroalergenos. Las afecciones graves de larga evolución conducen a la otorrea persistente, en ocasiones complicada con otitis media crónica con disminución de la capacidad

auditiva que conlleva a dificultades en el aprendizaje. La Respiración bucal persistente en los niños con RA, en la mayoría de los casos ocasiona el estrechamiento y elevación del paladar, esto en algunos pacientes refleja mala oclusión y por ende tratamiento necesario por el ortodoncista. La congestión crónica sinusal incrementa los procesos infecciosos, puede ocurrir que la sinusitis se vuelva también crónica y se desarrolle con el tiempo la formación de pólipos en la cavidad sinusal. Alrededor de un 20% de niños con RA desarrollan asma.

Secundariamente se generan implicaciones psicosociales que afectan la calidad de vida del paciente con RA. Entre los más importantes se denota la irritabilidad, dificultad para dormir, apetito deficiente, episodios de cansancio, melancolía y alteraciones en la conducta y una baja en el rendimiento escolar. La clasificación actual categoriza a los pacientes en los siguientes tipos de acuerdo a la clasificación de ARIA (Allergic Rhinitis Impact in Asthma).^(24, 20, 72, 11, 25, 8, 90, 41)

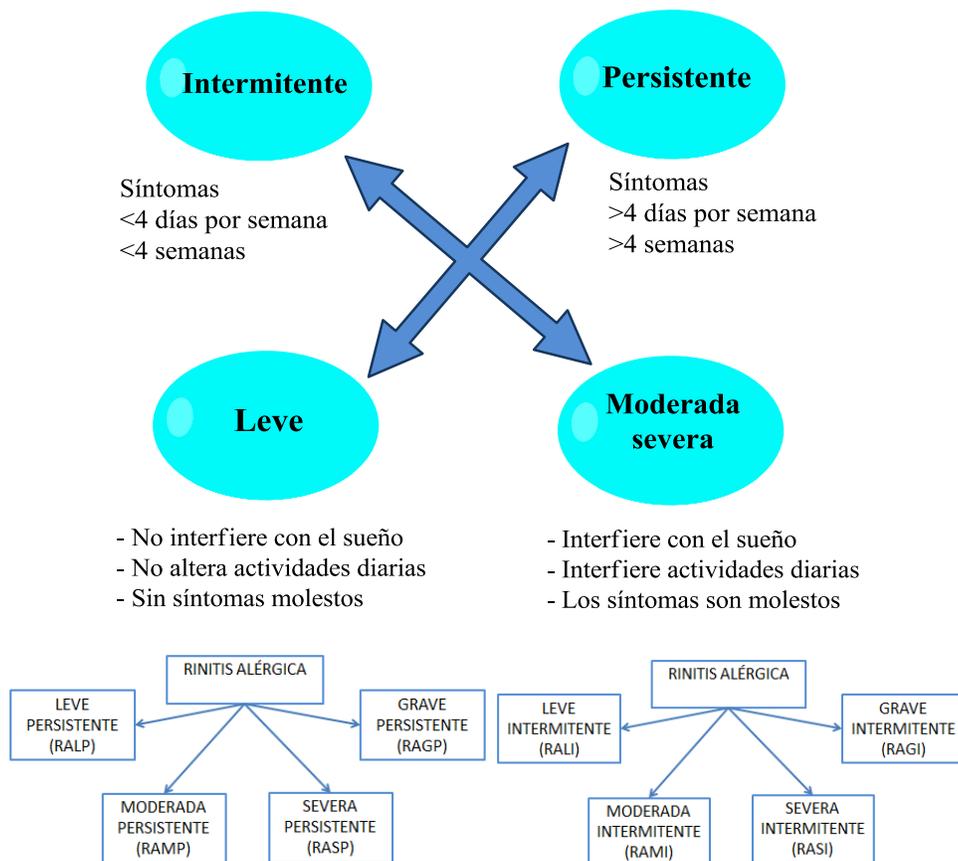


Fig 19. Clasificación actual de la rinitis alérgica según ARIA.

Los mastocitos juegan un papel muy importante al mediar la respuesta inmediata frente a los alérgenos, en la rinitis alérgica perenne (persistente) existe un mayor número de mastocitos que presentan un incremento en la expresión de FcεRI aumentando con ello su capacidad de fijar IgE. Los mastocitos se activan al generarse el entrecruzamiento de IgE en su membrana, lo cual provoca la desgranulación de los mediadores pro-inflamatorios preformados como la H-1 que genera la fase temprana (1 a 60 min) de la reacción. Esta fase se caracteriza por estornudos y rinorrea. Durante esta fase también son producidos los leucotrienos, tromboxanos y prostaglandinas cuyo efecto provoca un aumento en la permeabilidad vascular y secreción glandular a través de su efecto en fibras nerviosas sensoriales y por vía refleja por H-1. La liberación de factores como la bradicinina y el factor activador plaquetario favorecen el aumento en la permeabilidad vascular. Puede coexistir con la conjuntivitis alérgica observándose como enrojecimiento de la conjuntiva, lagrimeo y prurito ocular. (24, 72, 11, 3, 8, 74, 16, 17, 12, 20, 89)

La fase tardía se observa de 3 a 6 horas después de la exposición al alérgeno, presenta un pico entre 6 y 8 horas y disminuye en 24 a 48 horas. La fase tardía se manifiesta por recurrencia de estornudos, aumento de la rinorrea e incremento en la resistencia al flujo de aire. Deriva inicialmente de la presencia de citocinas y quimiocinas que activan la expresión de moléculas de adhesión, la atracción de células inflamatorias y la infiltración en mucosas de neutrófilos, basófilos y eosinófilos, siendo estos últimos los más importantes al generar LTC₄ que juega un papel más importante que la H-1 en la producción de congestión nasal. Todo este proceso involucra liberación de IL4, IL13 e IL6, la expresión de proteínas de adhesión vascular como el VCAM-1 y el reclutamiento de más células inflamatorias, niveles elevados de proteína básica mayor y proteína catiónica de eosinófilos que generan daño directo sobre las células epiteliales. Los eosinófilos también participan en la hiperreactividad nasal, la cual se caracteriza por inflamación de vías eferentes del sistema nervioso parasimpático generando una respuesta vigorosa de las glándulas, los órganos de choque y la vasculatura cuando reciben un estímulo natural.

La rinitis alérgica puede ser estimulada por una gran variedad de aeroalergenos, principalmente pólenes, epitelios y salivas de animales, *detritus* de diversos tipos de ácaros y cucarachas así como micelios y conidios de hongos microscópicos. (24, 20, 72, 11, 3, 8, 16, 17, 12, 29, 33, 41)

Asma

El asma es una enfermedad pulmonar de curso crónico y reversible que se caracteriza por grados variables de broncoconstricción e hiper-respuesta a diferentes estímulos acompañada de inflamación, presencia de tos, sibilancias, expectoración, dificultad para respirar, disnea paroxística que remiten con tratamiento o espontáneamente. Se observa en la población infantil hasta en un 10% mientras que en la población adulta alcanza un 5%. (40, 29, 33, 39)

El asma puede ser clasificada como:

- **Asma intrínseco**

Es más frecuente en adultos, los cuales no presentan antecedentes de atopia, las pruebas cutáneas son negativas y se observan niveles normales de IgE. El asma intrínseco es inducido por infecciones pulmonares, ejercicio, autoinmunidad o medicamentos.

- **Asma extrínseco**

Se considera una enfermedad multifactorial donde tienen una fuerte predominancia los factores genéticos, además de factores ambientales como infecciones virales, emociones y la actividad física. El asma alérgico, es mediado por IgE y se manifiesta después de la exposición a aeroalergenos específicos. Estudios recientes demuestran su asociación con diversas regiones cromosómicas, como el cromosoma 5q (relacionado con la respuesta predominante Th₂) y los cromosomas 6, 11q, 12, 13q y 14. Otros estudios lo relacionan con genes asociados a la respuesta de la vía de la 5-LO y la respuesta β-adrenérgica. Recientemente se descubrió además al gen ADAM33 que codifica para una metaloproteasa relacionada con reparación del daño tisular. Es un

padecimiento frecuente en niños y en jóvenes en los que generalmente también se observa rinitis alérgica o dermatitis atópica. ^(11, 12, 57, 58, 82, 49, 26, 27, 20, 89, 41)

El asma extrínseco se presenta casi en el 30% de los infantes predominantemente de sexo masculino, aunque al término de la pubertad la distribución es mayor en el sexo femenino. Estudios revelan que niños que al nacer tiene un peso menor a 1.5 kgs, presenten niveles elevados de IgE en cordón umbilical o presenten niveles de IL 13 altos, tienen más riesgo de desarrollar asma; por otro lado se sabe que un factor protector es la alimentación exclusiva con leche materna. Este síndrome se registra con mayor frecuencia en zonas con clima frío o en ciudades industrializadas. Estos cuadros asmáticos pueden ser exacerbados principalmente por tabaquismo, infecciones virales (influenza, parainfluenza y rinovirus), algunos fármacos, actividad física, exposición al aire frío o gases irritantes, sinusitis y enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE), así como algunos alimentos y el estrés. Se asocian a esta patología tres características: inflamación, broncoespasmo e hipersecreción mucosa. ^(11, 19, 30, 45, 77, 87)

Se caracteriza por espasmo del músculo liso bronquial, edema de mucosa, hipersecreción de moco y diferentes grados de inflamación en la mucosa y submucosa. El componente inflamatorio se presenta en la mucosa respiratoria desde la nariz hasta los bronquios terminales.

Dentro del proceso participan una gran cantidad de células inflamatorias como mastocitos, macrófagos, células dendríticas, eosinófilos, neutrófilos, linfocitos T y B así como células endoteliales y epiteliales. Sin embargo, la respuesta inflamatoria predominante es Th₂ ya que principalmente se liberan interleucinas pro-inflamatorias como IL4, IL5 e IL13 que ayudan al reclutamiento y activación de los eosinófilos. Durante el proceso, una vez que se ha presentado el alérgeno a los linfocitos Th₂, se estimula la producción de IgE que sensibiliza a los mastocitos, basófilos y eosinófilos. Se sabe además que IL13 induce la hiperreactividad bronquial de manera independiente a la IgE. Al igual que en otras enfermedades alérgicas, el desenlace de la interacción de estas células es la desgranulación mastocitaria en la que se liberan H-1, leucotrienos y bradicinina.

Estos mediadores conducen a la contracción del músculo liso bronquial, aumento de la permeabilidad vascular generando edema y obstrucción del flujo aéreo por hipersecreción de moco. Esta obstrucción de la vía aérea se intensifica por la adhesión de eosinófilos y neutrófilos a través de moléculas de ICAM-I y VCAM-I. (51, 45, 77, 87)

La hiperreactividad es consecuencia de la respuesta inflamatoria y se manifiesta como una respuesta broncoconstrictora excesiva. Está relacionada con la variabilidad exagerada (hasta del 50%) del calibre de la vía aérea.

Los cambios histopatológicos secundarios al proceso son descamación del epitelio, taponamiento mucoso de los bronquios y bronquiolos, infiltración de neutrófilos, eosinófilos y linfocitos T activados, depósito de colágena bajo la membrana basal, edema de la submucosa, vasodilatación, angiogénesis, hipertrofia e hiperplasia del musculo liso (que genera engrosamiento). La presencia de reversibilidad parcial del proceso obstructivo indica una remodelación estructural de la vía aérea. A pesar de ello, algunos pacientes manifiestan obstrucción irreversible de esta vía que es consecuencia del remodelado excesivo del tejido lo que involucra hipertrofia del músculo liso, hiperplasia vascular y de glándulas mucosas. Se ha observado que este proceso se lleva a cabo por mediadores diferentes a los involucrados en la respuesta inflamatoria aguda, pero asociados a esta como un proceso de reparación por enzimas tisulares.

Es importante mencionar que entre 70 y 90% de los pacientes coexiste el asma y la rinitis alérgica y que estas enfermedades aumentan en personas que viven en regiones con mucho tránsito de vehículos, ya que los productos de la combustión que pueden ser agentes oxidantes, compuestos orgánicos, metales y partículas sólidas producen en la mucosa inflamación aguda que puede hacerse crónica si su acción se mantiene dando lugar a fenómenos de hiperreactividad bronquial. (40, 89)

Los síntomas más característicos del asma son:

- a) Tos. Principalmente nocturna o en la madrugada que puede ser seca o productiva y acompañada de expulsión de moco en el que se observa al microscopio una gran cantidad de eosinófilos.
- b) Opresión torácica. Con sensación de inspiración incompleta.
- c) Sibilancias. Generalmente son espiratorias. Originadas por el paso de aire a través de la vía aérea estrechada, es el síntoma más característico.
- d) Disnea. Principalmente en las primeras horas de la noche y durante la madrugada.

Los cuadros asmáticos pueden agravarse y generar complicaciones de entre los cuales el más peligroso es el choque anafiláctico cuyos síntomas clínicos son mareo, edema de glotis, epiglotis y laringe, contracción de vías aéreas bajas generando disminución drástica de la presión sanguínea culminando en la muerte del paciente.

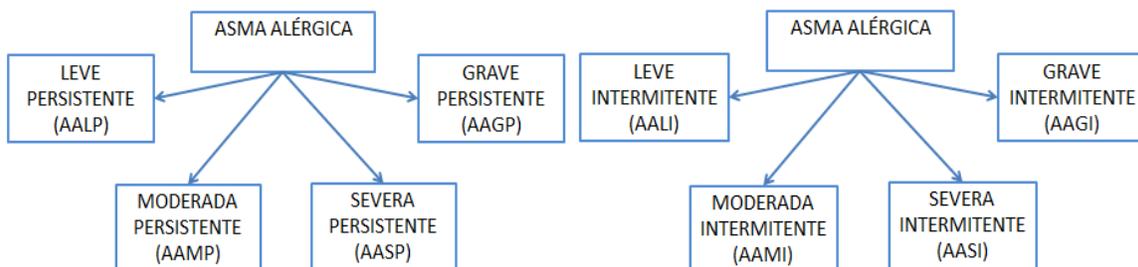


Fig 20. Clasificación actual del asma alérgica alérgica según ARIA.

Urticaria

Es una patología cutánea muy frecuente que puede afectar en algún momento de su vida al 15-20% de la población. Es más común en las mujeres que en los hombres, siendo en los niños aún más frecuente. Se caracteriza clínicamente por brotes agudos de ronchas (elevaciones cutáneas) que afectan sólo la porción superficial de la dermis.

- Urticaria aguda

Se presenta generalmente en forma de lesiones autolimitadas muy eritematosas y pruriginosas que tienden a desaparecer en un margen variable de tiempo que va desde unos minutos hasta 24 horas.

Puede afectar porciones de piel de extensión variable, siendo a veces localizado y otro muy extenso. Las lesiones pueden presentarse aisladas o confluyentes. Esta mediada por la liberación de sustancias pro-inflamatorias en la piel, principalmente H-1 proveniente de mastocitos, se produce además extravasación de líquidos y eritrocitos hacia la dermis. Generalmente el angioedema es localizado, bien delimitado y afecta capas profundas de la piel incluyendo el tejido subcutáneo.

- Urticaria crónica

Es un proceso en el que los brotes evolucionan a lo largo de más de 6 semanas. En sólo el 20% de los casos se logra identificar una posible causa y en menos del 5% de los casos se encuentra confirmación de la misma.

La evolución de este proceso es imprevisible, habitualmente dura meses, pero en ocasiones puede mantenerse por muchos años.

Cuando no se logra identificar el agente causal se habla de urticaria crónica idiopática. Varias hipótesis intentan explicar su origen y su mecanismo. Se habla de que se producen anticuerpos IgG liberadores de H-1 que actúan contra la IgE o contra su receptor en la superficie de los mastocitos.

Dado que un importante porcentaje de urticarias tanto crónicas como agudas se mantienen como idiopáticas no se ha logrado establecer una clasificación formal.

Un consenso realizado por especialistas de 20 países publicó las directrices de la EAACI (Sociedad Europea de Alergia e Inmunología), GA²LEN (Global Allergy and AstmaEuropean Network) y el Foro Europeo de Dermatología (FED) que unifican criterios en cuanto a la definición, clasificación, diagnóstico y tratamiento de la urticaria.

Según estas nuevas directrices la urticaria se clasifica según su duración, frecuencia y causas de acuerdo a la tabla siguiente: ^(11, 32, 39)

Clasificación actual de la urticaria		
Grupo	Subgrupo	Definición
Espontánea	Urticaria aguda	Ronchas espontáneas de menos de 6 semanas.
	Urticaria crónica	Ronchas espontáneas de más de 6 semanas.
Urticaria Física	Urticaria de contacto por frío	Factor desencadenante: Aire, agua, viento, frío.
	Urticaria por presión retardada	Factor desencadenante: Presión vertical.
	Urticaria de contacto por calor	Factor desencadenante: Calor localizado.
	Urticaria solar	Factor desencadenante: Rayos UV o luz visible.
	Urticaria demográfica	Factor desencadenante: Fuerzas mecánicas.
	Urticaria vibratoria	Factor desencadenante: Fuerzas vibratorias
Otras urticarias	Urticaria acuagénica	Factor desencadenante: Agua
	Urticaria colinérgica	Factor desencadenante: Aumento en la temperatura corporal.
	Urticaria de contacto	Factor desencadenante: Contacto con una sustancia urticariogénica.
	Anafilaxis	Factor desencadenante: Ejercicio físico.

Tabla 3. Clasificación actual de la urticaria.

Alergia a los alimentos

Al igual que las patologías anteriores, la alergia a los alimentos es una reacción inmunitaria mediada por IgE resultado de la ingesta de alérgenos presentes en un alimento o un aditivo alimentario, es un proceso que se produce a nivel local en el aparato gastrointestinal o puede extenderse a órganos distales.

A diferencia de la alergia a pólenes y otros aeroalérgenos, los cuales típicamente se presentan en ciertas épocas del año, la alergia alimenticia se presenta en cualquier momento. Es más prevalente en menores de edad manifestándose como dermatitis atópica hasta en un 30% y un 6% asma secundaria a la ingesta de leche de vaca, huevo y cítricos.

Al igual que los aeroalérgenos, las moléculas alérgicas de alimentos son generalmente glucoproteínas hidrosolubles, termoestables y resistentes a las enzimas digestivas. La alergia a trofoalérgenos se manifiesta con más frecuencia

en el primer año de vida, los casos fatales se observan generalmente en pacientes con carga atópica que presentan asma.

La alergia a alimentos debe diferenciarse adecuadamente de otras patologías como:

a. Intolerancia a alimentos

Es una respuesta fisiopatológica a un alimento o aditivo alimentario en la que no hay participación de la respuesta inmune, más bien se debe a una respuesta de idiosincrasia farmacológica, deficiencia metabólica o enzimática.

b. Intoxicación por alimentos

Se refiere a un efecto adverso que es secundario a la ingestión de un alimento o aditivo alimenticio. No hay participación del sistema inmune a pesar de que existe liberación de mediadores químicos, las toxinas, que pueden proceder del mismo alimento o de microorganismos que estén contaminando dichos alimentos.

c. Reacción anafilactoide a alimentos

Reacción anafiláctica ante un alimento o aditivo alimenticio en consecuencia a la liberación no inmunológica de mediadores químicos.

Fisiopatología de la alergia a los alimentos

El aparato gastrointestinal cuenta con mecanismos de defensa tanto inmunológicos como físicos y químicos estos le permiten defenderse tanto de microorganismos como de proteínas alergénicas, las cuales pueden ser modificadas en su estructura y en su tamaño.

La barrera inmunológica con la que cuenta el sistema gastrointestinal es el tejido linfóide asociado a la mucosa gastrointestinal GALT, está compuesto principalmente de folículos linfoides presentes en toda la mucosa, células epiteliales intestinales, células plasmáticas, mastocitos y la IgA que por su gran capacidad de unir proteínas forma complejos grandes para evitar absorción.

Del total de macromoléculas que se absorben en forma intacta, sólo el 2% genera tolerancia oral, esta tolerancia oral la genera el sistema inmune local y el sistémico y en este proceso hay una participación importante de las células TCD8+, la hipersensibilidad a alimentos es el resultado de la pérdida de esta tolerancia.

La alergia alimentaria se presenta comúnmente en pacientes pediátricos debido a la inmadurez del sistema inmune gastrointestinal con una disminución de la IgA secretora combinada con una disminución relativa de linfocitos TCD8+ o de macrófagos supresores sobre todo en individuos predispuestos genéticamente a estas alteraciones. Es frecuente encontrar pacientes que presentan alergia alimentaria y deficiencia selectiva de IgA.

Los síntomas relacionados con la alergia a los alimentos pueden ser consecuencia de diferentes tipos de hipersensibilidad (clasificación de Gell y Coombs) siendo las más frecuentes las de tipo I seguidas de aquellos causados por sintomatología mixta y finalmente las de tipo IV, III y II. Las manifestaciones iniciales pueden ser leves, moderadas o graves. En piel, se generan placas eritematosas con edema (ronchas), muy pruriginosas; prurito intenso en boca, labios, nariz, conjuntiva ocular, cara y brazos, inclusive en todo la superficie corporal, o edema de labios con intenso prurito en cavidad oral (síndrome de alergia oral), edema palpebral, en casos graves edema de glotis, epiglotis con choque anafiláctico, la mayoría de las veces fatal. En tercer lugar están las manifestaciones digestivas caracterizadas por náuseas, vómito, dolor abdominal y/o diarrea, inmediatamente después de ingerir el alimento. La anafilaxia puede también iniciarse con vómito, náusea y diarrea. Pueden inducir también rinitis y broncoespasmo en asmáticos.^(3, 57, 58, 11)

Síndrome de alergia oral

Síndrome de alergia oral (SAO) es considerado una forma de urticaria debido al contacto con los alérgenos alimentarios con la mucosa oral. Los síntomas incluyen prurito con o sin angioedema de labios, lengua paladar y orofaringe posterior. Estos síntomas aparecen entre 10 y 15 minutos después de la ingesta del alimento, generalmente son de intensidad leve y desaparecen poco después del

inicio. Está asociado a la ingesta de frutos secos y algunas verduras, también es el resultado de la actividad alérgica cruzada entre un alérgeno alimentario y un aeroalérgeno (principalmente algún polen). Las manifestaciones en vía aérea son poco frecuentes y generalmente consisten en cuadros asmáticos que pueden presentarse con el simple hecho de inhalar algún alimento que se esté cocinando en ese momento (alérgenos osmilógenos). ^(90, 3, 57, 58, 11, 54, 46, 56)

Factores predisponentes para desarrollar alergia a los alimentos

- Antecedentes de atopia
- Inmunodeficiencias de IgA e IgG
- Alteración en la función de células TCD8+
- Niveles altos de IgE en cordón umbilical al momento del nacimiento
- Eosinofilia en sangre periférica
- Ablactación temprana (antes de cuatro meses)
- Introducción de alimentos potencialmente alérgicos en etapas no acordadas durante la lactancia.

Anafilaxia (hiperfilaxia)

La anafilaxia es la manifestación más grave que existe en la respuesta alérgica. Se trata de una reacción sistémica debida a la liberación masiva de mediadores inflamatorios de los basófilos y mastocitos de distintos tejidos que provoca la aparición brusca de manifestaciones clínicas en el árbol respiratorio, el sistema cardiovascular, la piel y el tracto digestivo como broncoespasmo, hipotensión, urticaria-angioedema, vómitos y diarrea en su forma clínica completa. Por lo general se debe a un mecanismo mediado por anticuerpos IgE y se desencadena tras la exposición al alérgeno por vía parenteral u oral.

Los alérgenos que con mayor frecuencia producen esta reacción son medicamentos como penicilina, hormonas o proteínas o los propios extractos

alergénicos usados para las pruebas cutáneas o inmunoterapia, alimentos como pescado, moluscos, crustáceos, huevos, leche y sus derivados, chocolate, frutos secos y aditivos alimentarios como tartracinas y sulfitos; también puede desencadenarse por venenos de insectos.

Los síntomas se presentan de forma inmediata (5-20 min) tras la exposición al alérgeno o agente desencadenante. El paciente presenta prurito, malestar general profundo, opresión torácica, vómitos y diarrea. Los síntomas pueden progresar y aparecer edema laríngeo, broncospasmo e hipotensión. En casos muy extremos puede llegar a ser fatal, sobre todo si no se reconocen los síntomas y no se actúa rápidamente. El diagnóstico es absolutamente clínico y generalmente se establece cuando los síntomas remiten.

Hay sustancias que pueden causar reacciones anafilácticas por un mecanismo independiente de los anticuerpos IgE, en cuyo caso se habla de reacciones anafilactoides. Dicho mecanismo puede ser inmunológico, por activación del complemento y generación de anafilotoxinas C3a y C5a, o bien deberse a una acción directa sobre mastocitos y basófilos.

Reactividad alérgica cruzada

Se ha observado que algunas de las proteínas alérgicas de los pólenes son muy similares a las de las frutas y verduras. Cuando esta similitud es grande los anticuerpos IgE dirigidos hacia alérgenos del polen pueden identificar estructuras similares en alérgenos de frutas y de otros alimentos uniéndose a ellas desencadenando una reacción alérgica cruzada. Esta reacción con frecuencia es débil y se limita a manifestarse en la mucosa oral a modo de prurito e hinchazón de los labios y la lengua. Se observa comúnmente con alimentos como avellanas, frutos secos, cacahuates, leguminosas, plátano, kiwi y aguacate. También se presenta hacia productos naturales como el látex. El fenómeno más estudiado entre aeroalérgenos que cruzan con alimentos es el que se presenta entre distintos pólenes de la familia *Betulaceae* (*Betula sp*, árbol del abedul) y frutos de la familia *Rosaceae* como manzana, durazno, pera, ciruela, chabacano y capulín.

Este importante grupo de proteínas son las profilinas (PM = 14 - 16 kDa) o proteínas homólogas de Bet v 1, pertenecen al grupo 10 o proteínas de defensa vegetal. Estas proteínas que forman parte del citoesqueleto de las células vegetales y pólenes, también se encuentran presentes en venenos de himenópteros como las abejas y las avispas. Su función está relacionada con la polimerización de la actina, la fijación de calcio y la resistencia a enfermedades. Tienen características de un panalergeno con gran actividad cruzada.

A pesar de la heterogenicidad de las familias botánicas existen alergenos coexistentes entre especies vegetales, la mayoría de estos alergenos pertenecen a un grupo de proteínas de defensa vegetal, a proteínas de almacenamiento, proteínas de transferencia de lípidos. Estas proteínas son resistentes a condiciones químicas y físicas extremas, por ejemplo las temperaturas de cocción de los alimentos y al efecto de las enzimas digestivas, de modo que cuando se encuentran presentes en alimentos y son ingeridas, suelen generar manifestaciones de procesos alérgicos. Este tipo de reactividad ha cobrado importancia en los últimos años debido a que determinan la relación inmunoquímica inter-especie, ayudando a establecer diagnósticos precisos al reconocer exactamente las fuentes alergénicas para cada paciente así como para desarrollar nuevas estrategias en la inmunoterapia alergeno-específica para padecimientos alérgicos. ^(11, 12, 57, 82, 49, 26, 27, 63)

Diagnóstico de las enfermedades alérgicas

El diagnóstico de las enfermedades alérgicas se lleva a cabo mediante la elaboración de la historia clínica a través de un exhaustivo interrogatorio que ponga en evidencia los factores tanto genéticos y los factores desencadenantes. Si el paciente presenta signos y síntomas de enfermedad alérgica, se le practicarán estudios generales, de gabinete así como pruebas especiales para el diagnóstico de alergia ^(11, 56, 57, 82)

Generales	<ul style="list-style-type: none"> ▪Biometría hemática ▪Coproparasitoscopia ▪Citología nasal ▪Determinación de inmunoglobulinas
Gabinete	<ul style="list-style-type: none"> ▪Rayos X en posición Cadwell ▪Espirometría y flujometría ▪Rayos X de Tórax AP
Especializadas	
Pruebas <i>in vivo</i>	▪Pruebas cutáneas
Pruebas <i>in vitro</i>	▪Cuantificación de IgE alergenoespecífica

Tabla4. Estudios para el diagnóstico de la alergia

Pruebas cutáneas *in vivo*

Las pruebas cutáneas son métodos aplicados directamente en los pacientes con la finalidad de determinar de manera semicuantitativa la presencia de IgE alérgico específica sobre los mastocitos de la capa superior de la dermis.

Estas pruebas se efectúan en pacientes con sospecha de enfermedad alérgica para determinar el grado de sensibilización que presenta un individuo a diversos alérgenos.

Las pruebas cutáneas se dividen en dos grupos:

- 1.- Epicutáneas: unción, escarificación (scratch) y punción (prick).
- 2.- Intracutáneas: intradermorreacción.

En este estudio las pruebas se realizaron mediante punción (prick).



Fig. 21 Pruebas cutáneas por prick.

a) Punción (Prick)

Se empleó el kit para prueba cutánea por prick de Multitest® el cual incluye (un soporte con 48 pozos) que contiene los extractos alergénicos para la población mexicana, estos se encuentran a una concentración 1:20 p/v (estéril y libre de pirógenos) incluye un control positivo de fosfato de histamina a una concentración de 1.0 mg/ml (de acuerdo a lo establecido por el American Comitee Standardization) y un control negativo (Solución glicero-salina estéril y despirogenizada) (fig 17). Todos estos reactivos son comercializados por Laboratorios Allerstand S.A. de C.V. México D.F. (marca registrada y con los permisos autorizados por la SSA).

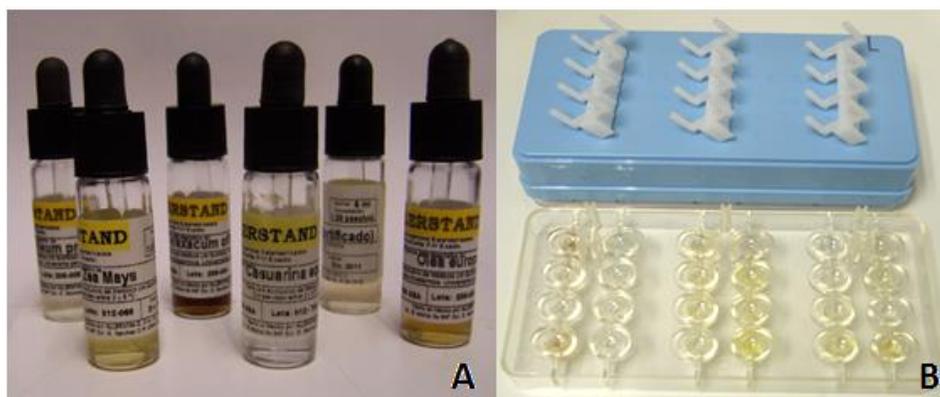


Fig 22. A) Extractos alergénicos para la población mexicana. B) Imagen. Kit Multitest® de 24 pozos para pruebas cutáneas.

Pruebas *in vitro*

En este estudio utilizamos el método *In vitro* por quimioluminiscencia para la semicuantificación de IgE alérgico específica en el suero de los pacientes con sospecha de enfermedad alérgica. Este Kit consta de una cámara plástica que contiene filamentos de hemicelulosa dispuestos individualmente a los cuales están acoplados los alérgenos mayores (determinante antigénico al que se acopla específicamente más del 60 % de IgE-alérgico-específica), de cada partícula anemofílica. Es una técnica muy sensible para este fin, debido a que se usan anticuerpos monoclonales anti-IgE y quimioluminol como reactante final, de tal manera que la cantidad de luz emitida es directamente proporcional a las concentraciones de IgE-alérgico-específica, además de contar con un control de calidad interno en cada cámara, que permite comprobar el rendimiento de los reactivos.

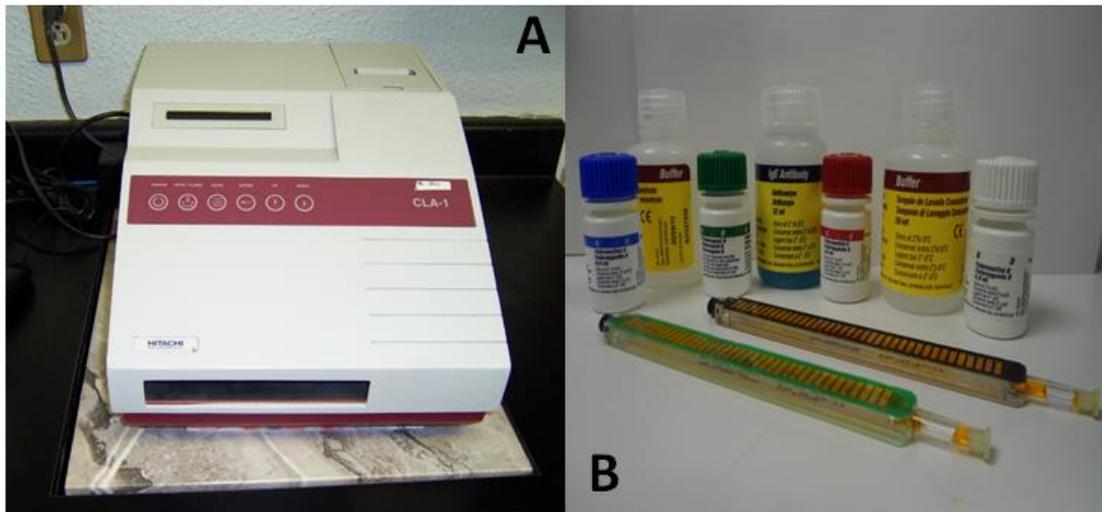


Fig 23. A) Quimioluminómetro HITACHI. B) Reactivos para la determinación de IgE específica *in vitro*.

Método

El análisis se realiza a partir de muestras de suero humano obtenido por flebotomía y posterior centrifugación de la sangre a 3500 RMP durante 30 minutos. Una vez separado el suero, se procede al llenado de las cámaras de Análisis CLA® HITACHI (Con alérgenos específicos o mezclas de alérgenos

unidos covalentemente a un filamento de hemicelulosa). Para el llenado se emplean 1.5 ml de suero. Estas cámaras se dejan reposar de 16 a 24hrs. Después del periodo de reposo, la cámara se vacía. Posteriormente se realizan 4 lavados con 10 ml del buffer de fosfatos.

En seguida se añade el anticuerpo Anti-IgE a las cámaras de análisis y se espera un periodo de reposo de 4 hrs. Al concluir el periodo se realiza un segundo lavado y finalmente se adiciona la mezcla fotorreactiva, se dejan reposar 25 minutos. Se sellan las cámaras con tapones de goma. Finalmente se lee la quimioluminiscencia de las muestras empleando el quimioluminómetro HITACHI®.

Interpretación

El instrumento detecta la luz emitida por los filamentos en unidades de luminiscencia (LU). Los valores de CLA se clasifican de acuerdo a la siguiente tabla según la cantidad de luz emitida. ⁽⁴⁷⁾

CLASE CLA	Unidades de luminiscencia UL	Concentración de IgE alérgico específica
4	>242	Muy alto
3	143-242	Alto
2	66-1442	Moderado
1	27-65	Bajo
1/0	12-26	Muy bajo
0	0-11	No detectable

Tabla 5. Interpretación de los resultados de la prueba in vitro para determinar IgE específica

Tratamiento de la alergia

En la mayoría de las alergias a pólenes resulta difícil o hasta imposible eliminar el alérgico del medio ambiente del paciente alérgico. Por ello es necesario recurrir a otras alternativas para dar una mejor calidad de vida a éstos, se tratará de mejorar el control del medio ambiente y evitar la exposición y así impedir que los factores desencadenantes inicien la respuesta alérgica.

Antihistamínicos

El tratamiento farmacológico de primera elección empleado con mayor frecuencia y el más eficaz es a base de antihistamínicos H-1. Los efectos de la H-1 sobrevienen una vez que esta ha sido liberada por mastocitos y se ha unido a sus receptores en diferentes tejidos como: el músculo liso, células de la mucosa del sistema respiratorio y células endoteliales. Todos los antagonistas disponibles de la H-1 son inhibidores competitivos de esta con sus receptores. Todos tienen una fracción etilamina sustituida, generalmente presentan un grupo amino terciario ligado a dos sustituyentes aromáticos por una cadena de dos o tres átomos. Presentan la siguiente estructura general.^(11, 42)

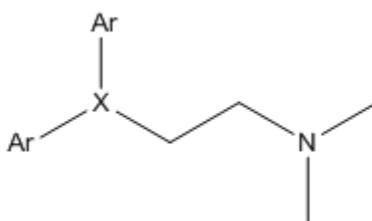


Fig 24. Estructura general de los antihistamínicos

Propiedades farmacológicas

Los antagonistas H-1 inhiben las respuestas de la H-1 a diferentes niveles, dentro del árbol vascular, inhiben el efecto vasoconstrictor y hasta cierto grado los efectos vasodilatadores más rápidos que son mediados por receptores H-1 en las células endoteliales, impide el aumento en la permeabilidad capilar, la formación del edema y la roncha.

Los antihistamínicos H-1 suprimen el prurito nasal y ocular, así como la secreción acuosa ocular; inhibiendo o disminuyendo la rinorrea y el goteo postnasal, el ardor de garganta y halitosis, aliviando los síntomas generales de la respuesta alérgica, sin embargo, no controlan la broncoconstricción y la hipotensión.

De acuerdo a su estructura química, los antihistamínicos H-1 se clasifican en 3 grupos. Los de primera, 2da y los nuevos de 3ra generación, diferentes en estructura de los clásicos fármacos de primera generación.

Los de primera generación tienen la capacidad de actuar a nivel del SNC ya sea deprimiéndolo generando somnolencia, disminución del estado de alerta y alentamiento de los tiempos de reacción o estimulándolo provocando que los pacientes se vuelvan inquietos, nerviosos y que padezcan dificultad para conciliar el sueño, cansancio, molestias gastrointestinales, resequedad bucal e impotencia. Los antagonistas más nuevos no generan estos efectos indeseables pues no atraviesan la barrera hematoencefálica.

Los antihistamínicos están contraindicados o deben ser empleados con mucha precaución en pacientes hipersensibles a los mismos, en pacientes con glaucoma de ángulo cerrado, con úlcera péptica estenosante, hipertrofia prostática sintomática, ataques asmáticos, obstrucción piloroduodenal o del cuello vesical. Así, como en recién nacidos, prematuros, en embarazo o en lactancia.

Los antihistamínicos con efectos no sedantes son el astemizol, terfenadina, loratadina, cetirizina, desloratadina, levocetirizina, evastina, rupatadina, entre otros. Estos suelen tolerarse bien, sin embargo, se ha informado de efectos colaterales cardiovasculares con la terfenadina y astemizol, incluyendo prolongación del intervalo QT y taquicardia ventricular. Además. Debe evitarse la administración concomitante con antimicóticos como ketoconazol o itraconazol, así como con eritromicina y otros antibacterianos. (11, 12, 57, 58, 82, 49, 46, 50, 70, 71)

Estabilizadores de la membrana de los mastocitos

Estos fármacos previenen la degranulación de los mastocitos y la liberación de mediadores que desencadenan los mecanismos de las reacciones alérgicas. Su mecanismo de acción radica en impedir el flujo de calcio a través de la membrana celular, se sabe además que pueden inhibir respuestas neurales mediadas por bradicininas en las fibras C sensoriales de las células del tracto respiratorio e inhibe la activación de neutrófilos mastocitos y eosinófilos. Entre los más importantes se encuentran el cromoglicato disódico al 4% (disponible en solución oftálmica o solución en aerosol), el ketotifeno comprimidos de 1.0 o 2.0 mgs y la Lodoxamida al 1% solución oftálmica. (57,58, 11, 71, 42, 50)

Glucocorticoides

Los glucocorticoides son moléculas cuya estructura química está relacionada con la fórmula básica de la hidrocortisona, resultando de variaciones estructurales. Actúan sobre receptores de glucocorticoide específicos (GR) que están localizados predominantemente en el epitelio y endotelio de la vía aérea. Los glucocorticoides se unen al receptor citosólico, el cual se trasloca al núcleo. Dentro del núcleo, el GR se une a un dímero de DNA elemento específico (GREs) en la región promotora de genes y esto resulta en la modulación de la transcripción, algunos genes son de-regulados; más para llevar a cabo sus efectos antiinflamatorios, el papel principal de los glucocorticoides es mediado a través de la represión de genes. Dentro de los efectos farmacológicos de los glucocorticoides en pacientes alérgicos se encuentran la inhibición de la fosfolipasa A2 (que inhibe la producción de leucotrienos), inhibición de la activación de Linfocitos T, inhibición de la producción de IL2, de IL 4 y de sus receptores. Disminuyen notablemente el número de eosinófilos circulantes, inhibe su sobrevivencia (mediada por IL5) así como su flujo en la LPR tardía; disminuye los niveles de H-1. Los esteroides de aplicación intranasal están indicados en pacientes de todas las edades, se pueden utilizar junto con los antihistamínicos o en aquellos pacientes en los que no pueden utilizarse antihistamínicos H-1. Los que se utilizan en nuestro país son la budesonida, el furoato de mometasona al 1 %, furoato de fluticasona y ciclosonida, todos en spray nasal. Todos son bien tolerados, sin embargo, algunos pacientes pueden presentar epistaxis, irritación e infecciones micóticas locales. Excepcionalmente se ha reportado el desarrollo de cataratas.

Bromuro de Ipratropio: es un agente anticolinérgico utilizado para el tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y el asma. Se administra con la ayuda de un inhalador graduado. Por vía nasal puede ser eficaz para pacientes con rinorrea excesiva o goteo postnasal que no responden a otros agentes, sin embargo, no se ha autorizado la administración nasal. Los efectos marcados de este fármaco son resequedad nasal y mareos.

En pacientes con síntomas alérgicos graves, está indicado esquemas con multifármacos: antihistamínicos, descongestionantes, cromoglicato disódico y corticosteroides todos intranasales, así como la inmunoterapia alérgeno específica (11, 42, 70, 71, 81)

Inmunoterapia alérgeno-específica (ITE)

La inmunoterapia o vacunación antialérgica es un tratamiento inmunológico eficaz para las enfermedades alérgicas respiratorias que ayuda a inhibir la reacción inmediata y tardía. Los pacientes candidatos para ITE deben estar sintomáticos y tener resultados positivos en las pruebas cutáneas o IgE-alérgeno específica. La ITE está indicada en pacientes que no han respondido o que no toleran los efectos secundarios, que tienen complicaciones con la farmacoterapia, o que presentan complicaciones como otitis crónica o recurrente, brotes recurrentes de sinusitis o asma alérgica.

La ITE consiste en la administración repetida y con dosis incrementadas de extractos alérgicos específicos para pacientes con niveles elevados de IgE-alérgeno específica, con el fin de reducir la severidad de la enfermedad a la exposición natural a estos alérgenos. Esta administración puede ser oral o subcutánea.

La ITE y la reducción a la exposición a los alérgenos son los únicos esquemas con potencial para reducir los síntomas a largo plazo. La magnitud de la eficacia, la aplicación práctica, los efectos secundarios, el costo y la duración son factores importantes para considerar el uso de la inmunoterapia.

Aunque se han intentado vías de administración alternas como la nasal, conjuntival, oral, bronquial y sublingual, la OMS y la Organización Mundial de la Alergia han establecido la vía de administración sublingual como la más exitosa y con mayor evidencia de eficacia.

Independientemente de la vía de administración, los esquemas de ITE incluyen dos fases principales:

- 1) Fase de incremento: en la cual se administran dosis de alérgeno que se elevan progresivamente hasta alcanzar una dosis máxima tolerada.
- 2) Fase de mantenimiento: una vez alcanzada la dosis máxima tolerada se continúa con la aplicación de esta con la finalidad de mantener el efecto inmunológico de tolerancia hacia el alérgeno.^(5, 14, 15, 67)

Mecanismos de acción de la ITE

Estudios recientes confirman que durante la inmunoterapia se observa reducción de IgE acompañada de un aumento de IgG₄, ésta inmunoglobulina se forma cuando los linfocitos B son estimulados por linfocitos Th₂, en presencia de altos niveles de IL10. Dado que primero se conoció la secuencia linfocito Th₂> linfocito B (en presencia de alta concentración de IL4 e IL13)> IgE, la respuesta con altos niveles de IL10 que lleva a la formación de IgG₄ se llamó respuesta Th₂ alterada.
(14, 15, 11, 51)

Hoy se sabe que IgG₄, llamados también anticuerpos bloqueadores (*blocking antibodies*) tienen un efecto al menos en los siguientes niveles:

- 1) Bloquea la relación de IgE unida al mastocito con el alérgeno.
- 2) Inhibe el reconocimiento facilitado del alérgeno por la CPA.
- 3) Estimulación de expresión de **FcRεII** en la superficie de los mastocitos por co-fijación al alérgeno junto con IgE.

Cambio de Th₂ a Th₁

Hoy se sabe que la inmunoterapia aumenta el balance Th₁/ Th₂ a favor de Th₁ pero no a través de una desviación de Th₁ a Th₂, lo que ocasionaría riesgo de enfermedad autoinmune, sino más bien debido a la participación de linfocitos T reguladores Tr1 a nivel del tracto respiratorio que reprimen a Th₂ más que a Th₁ generando microambientes con alta concentración de IL2 e INF-γ y reducción de las concentraciones de IL4, IL5 e IL13.

Aún se discute si el origen de Tr_1 es Th_0 , lo que sí se sabe, es que estos linfocitos se activan cuando ocurre un aumento en la concentración sérica de IL10, la cual es fuertemente inhibitoria de múltiples eventos clave en el proceso alérgico siendo sus principales efectos la estimulación del linfocito B a cambiar de IgE a IgG₄, inhibe la activación de mastocitos, reduce la capacidad de respuesta de Th_2 al contacto con el alérgeno, disminuye la activación y supervivencia de eosinófilos y la producción de citocinas pro-inflamatorias como IL5, IL4 e IL13. Con todos estos efectos, induce tolerancia para ciertas moléculas. Es importante mencionar que la ITE y la farmacoterapia no son mutuamente excluyentes, por el contrario, son terapias que se complementan con la finalidad de reducir los síntomas de la enfermedad alérgica y con ello mejorar la calidad de vida del paciente, ya que si bien la ITE es la piedra angular del tratamiento etiológico, la farmacoterapia funciona como soporte para conseguir la estabilización clínica del paciente mientras la ITE va desarrollando sus efectos terapéuticos a mediano y largo plazo. Una vez que se diseña la estrategia terapéutica ésta debe ser revisada periódicamente puesto que la eficacia del tratamiento producirá una reducción progresiva de las necesidades terapéuticas. (5, 6, 14, 15, 11, 51, 85, 67)

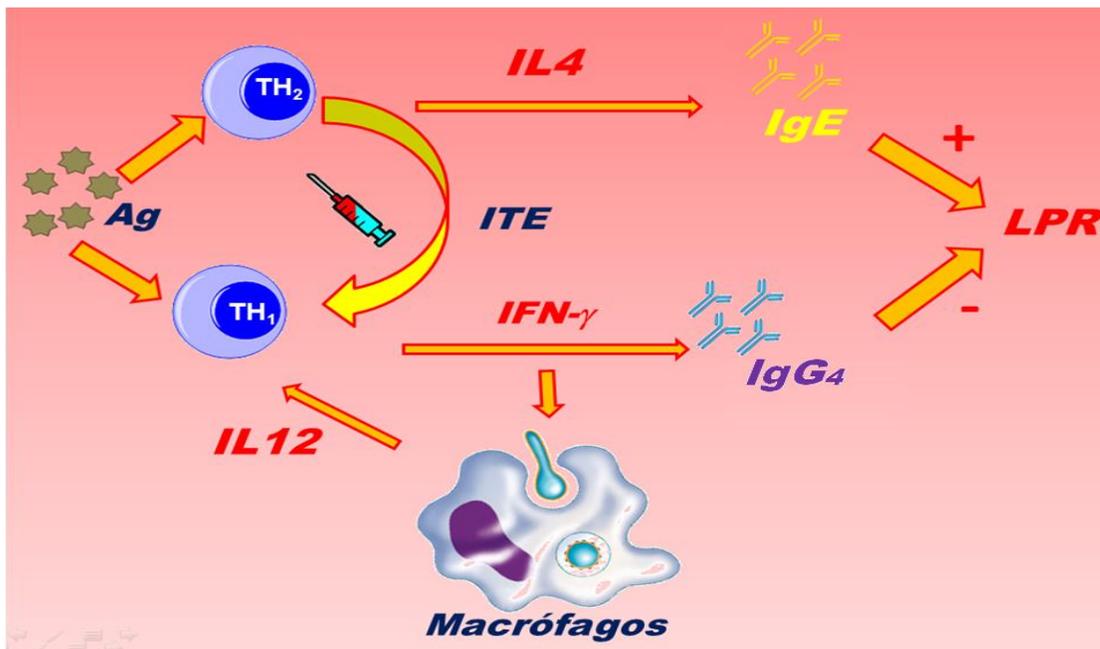


Fig. 25. Mecanismo de acción de la inmunoterapia

La ITE debe ser indicada lo más rápidamente posible, con el fin de contribuir a controlar el proceso inflamatorio, antes de que se generen lesiones estructurales irreversibles de la vía aérea. El único tratamiento capaz de alterar el curso natural de la enfermedad alérgica es la ITE, por tanto, si no se aplica aún cuando estuviera indicada, podría conducir a la acentuación de las manifestaciones clínicas y, por consiguiente, una necesidad progresivamente mayor del uso de fármacos.^(7, 9, 51)

Eficacia de la ITE

La eficacia de la ITE con extractos antigénicos de aeroalergenos viene indicada por el descenso en la sensibilidad de los órganos diana cuando se compara la provocación nasal, bronquial y/o conjuntival con el alérgeno correspondiente antes y después del tratamiento. Se ha demostrado que la eficacia de la ITE está relacionada con la duración del tratamiento, aunque la eficacia comienza a ser patente a menudo durante el primer año de tratamiento se ha establecido diseñar esquemas terapéuticos de al menos tres años de duración para acentuar la memoria inmunitaria y reducir el riesgo de recaídas. Es de suma importancia completar el esquema de inmunoterapia sin interrupciones, ya que la respuesta de este tratamiento, ya sea curativo o como preventivo, depende en gran parte de este aspecto.

Estudios recientes demuestran que el efecto de la ITE en la alergia inducida por pólenes de gramíneas, árboles o *Ambrosía artemisifolia* dura varios años después de la interrupción del tratamiento. Cuando aparecen recaídas, la memoria inmunológica persiste y estos pacientes pueden ser buenos respondedores a un nuevo régimen de inmunoterapia.

La ITE puede ser eficaz más rápidamente en los pacientes sensibilizados a alérgenos estacionales, que en aquellos pacientes sensibilizados a alérgenos perennes dado que los alérgenos estacionales producen hiperreactividad bronquial transitoria y una hiperreactividad nasal que persiste durante unos días o semanas después de una estación polínica determinada. En cambio los ácaros

domésticos y otros alérgenos perennes, ante los cuales la exposición es continua, pueden inducir una inflamación persistente y una hiperreactividad no específica en nariz y bronquios. Los pacientes con asma crónica desarrollan cambios de las vías aéreas que en algunos casos da lugar a una obstrucción irreversible del flujo aéreo.

Todas las evidencias de la eficacia de la ITE han permitido que las guías internacionales del asma alérgico (GINA) y de la rinitis alérgica (ARIA) incluyan el uso de la ITE como una muy buena forma complementaria en el tratamiento de estas enfermedades cuando se demuestra una etiología alérgica. ^(8, 40, 11, 14, 15, 84, 85)

El uso de la ITE está indicado para el tratamiento de las siguientes enfermedades:

- Rinitis alérgica persistente (moderada y severa)
- Rinosinusitis crónica alérgica
- Conjuntivitis crónica alérgica
- Asma crónica persistente alérgica (leve, moderada y grave)
- Dermatitis atópica alérgica
- Alergia a himenópteros (abeja, avispa y hormiga de fuego)

La ITE no se recomienda para pacientes con urticaria crónica, con pacientes que se encuentran en medio de un cuadro de exacerbación de su problema alérgico o cuando se encuentran en tratamiento con β -bloqueadores. ^(14, 15, 11, 62, 51, 85)

6. Objetivos

General

Evaluar y demostrar la reactividad alérgica cruzada *in vivo* entre *Casuarina equisetifolia* L (pino australiano) con: *Fraxinus uhdei* (Fresno), *Betula occidentalis* (Abedul), *Quercus vellutina* (Encino) y *Liquidambar styraciflua* (Maple) en pacientes con rinitis y/o asma alérgicas.

Particulares

1. Determinar la reactividad alérgica cruzada entre el polen de *Casuarina equisetifolia* L. y los géneros *Fraxinus*, *Betula*, *Quercus*, y *Liquidambar* a través de las pruebas *in vivo* (pruebas cutáneas por punción (prick)).
2. Determinar a través de electroforesis las proteínas de *Casuarina equisetifolia* L., *Fraxinus*, *Betula*, *Quercus*, y *Liquidambar* que actúan como alérgenos y que existe cruce antigénico entre estos géneros.
3. Determinar mediante inmunodetección que la IgE presente en sueros de pacientes alérgicos a *C. equisetifolia* L. tiene capacidad de unirse a tiras de nitrocelulosa sensibilizadas con proteínas alérgicas de *Fraxinus*, *Betula*, *Quercus*, y *Liquidambar*.

7. Metodología

En el Servicio de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital Juárez de México O.P.D. SSa. se reciben pacientes con diagnóstico de diversas enfermedades alérgicas respiratorias, cutáneas y/o sistémicas. Esta especialidad proporciona la evaluación clínica, diagnóstico y tratamiento específico de estas patologías. Este estudio se realizó con 118 pacientes seleccionados de acuerdo a los siguientes criterios:

Criterios de inclusión:

1. Pacientes mexicanos del sexo masculino o femenino.
2. Edad entre 3 a 70 años.
3. Residentes del Valle de México y Área Metropolitana.

4. Historia clínica comprobada de alergia respiratoria (rinitis alérgica, rinoconjuntivitis alérgica, asma alérgico)
5. Pruebas cutáneas positivas a extracto alérgico de polen de *Casuarina equisetifolia* L.

Criterios de exclusión:

1. Pacientes bajo tratamiento con antihistamínicos.
2. Pacientes bajo tratamiento con esteroides sistémicos.
3. Padeecer dermatitis atópica, urticaria o dermatografismo, con lesiones cutáneas activas en espalda.

Método para realizar la prueba cutánea

Se realiza limpieza (con torundas impregnadas con etanol al 70%) del área de la espalda media hasta la parte superior en donde se van a efectuar las pruebas. Utilizando el aplicador Multitest®, nuevo y previamente sumergido en los pozos que contiene los extractos alérgicos, se realiza una punción en la espalda presionando ligeramente sobre la piel. La lectura de la prueba se efectúa después de 15 – 20 minutos. La respuesta frente a cada alérgeno se reporta con la suma o promedio del diámetro de roncha más eritema en milímetros, estos datos se registran en la hoja de resultados (Anexo 1) Es importante mencionar que debe suspenderse la administración de antihistamínicos al menos tres semanas antes de realizar esta prueba para evitar falsos negativos.

La primera prueba que debe leerse es la del control positivo que, dependiendo de la respuesta de cada paciente, produce una roncha de 6 – 7 mm y un eritema de 22–40 mm de diámetro. A esta lectura se le asigna una interpretación de (+++). El control negativo no genera respuesta en la piel.

Cada respuesta obtenida durante la prueba se compara con el control positivo y a cada una se le asigna un valor igual o mayor que dicho control en base al siguiente esquema de interpretación:

Interpretación		
Roncha (mm)	Eritema (mm)	Grado
<5	<5	0
5-10	5-10	+/-
5-10	10-20	+
5-10	21-30	++
6-10 o pseudópodo	31-40	+++
>15 o pseudópodo	>40	++++

Tabla 6: Esquema de interpretación de las pruebas cutáneas.

La realización de las pruebas cutáneas se llevó a cabo los días jueves y viernes, con un número aproximado de 10 pacientes por día. La duración aproximada de cada prueba es de 20 minutos por paciente.

Análisis de los extractos

Determinación de proteínas

Para realizar el análisis electroforético de los extractos utilizados, fue necesario determinar previamente la concentración de proteínas totales de los extractos, para ello empleamos el método de Bradford usando el kit comercial de BIO-RAD. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

Curva standar para determinacion de proteínas

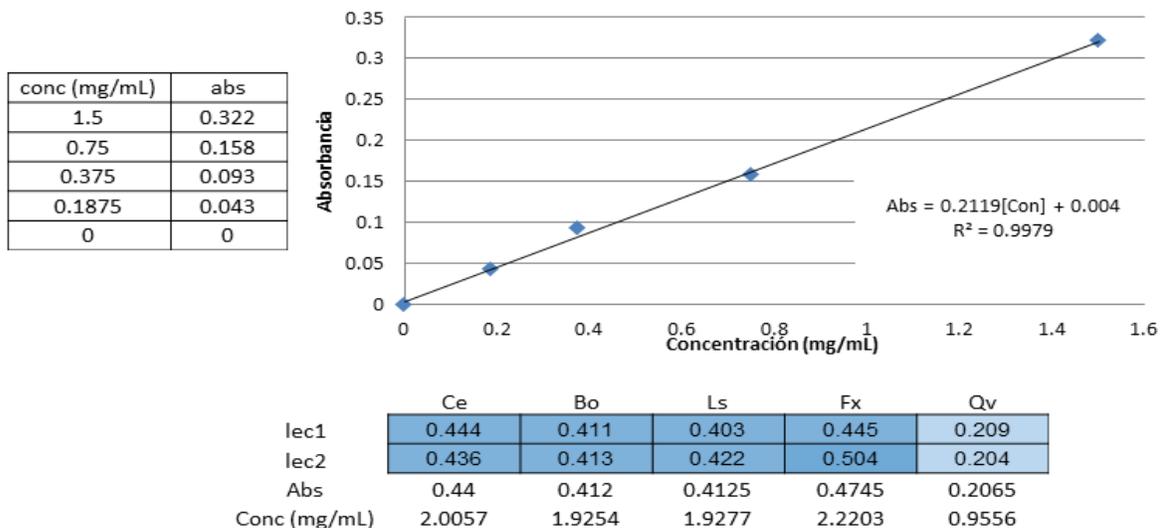


Fig 26. Determinación de proteínas totales en los extractos utilizados

Análisis electroforético

En este trabajo realizamos un análisis electroforético de los extractos empleados. Para ello preparamos geles de acrilamida bajo las condiciones citadas en la tabla 7. Una vez terminado el proceso teñimos las proteínas aplicando el método de la tinción de plata con el kit comercial Silver Stain Plus® de BIO-RAD.

Calibre del gel (mm)	1.0	Tiempo de corrida (min)	100
Número de pozos	10	Amperaje constante (mA)	28
Concentración del gel separador (%)	15	Rango del marcador de PM (ver anexo 2) (kDa)	10-250
Tiempo de desnaturalización (min)	15	Volumen de carga (μ l/ pozo)	20

Tabla 7. Condiciones en las que se realizó la electroforesis de los extractos.

Electrotransferencia

Realizamos además la electrotransferencia de las proteínas del gel hacia una membrana de nitrocelulosa de acuerdo a las condiciones de la tabla 8. Terminado el proceso procedimos a teñir las membranas con Rojo de Ponceau para corroborar la transferencia de las proteínas del gel hacia la membrana.

Temperatura ($^{\circ}$ C)	4	Voltaje (V)	100
Amperaje constante (mA)	280	Tiempo de transferencia (min)	60

Tabla 8. Condiciones en las que se realizó la electrotransferencia de las proteínas.

Inmunodetección

Una vez que verificamos la transferencia de las proteínas hacia las membranas y de haber efectuado el bloqueo de las mismas, procedimos a cortarlas en tiras de 3mm. Cada una de estas tiras sensibilizadas con los alérgenos de los extractos fueron sumergidas en 2ml de una dilución 1:5 del suero positivo para *Casuarina equisetifolia* en solución de bloqueo (de acuerdo a la tabla 9) con la finalidad de que la IgE presente en dichos sueros se una específicamente a las proteínas presentes en las tiras, este proceso se llevó a cabo durante 12 horas a 37° en agitación para optimizar la unión Ag-Ac. Después de este periodo realizamos 3 lavados con 15ml de solución de bloqueo.

Posteriormente empleamos 0.5 ml de solución para cada tira de un segundo anticuerpo Anti IgE humana cGe1 (Sigma Aldrich) diluido 1:20 en PBS-Tween, Incubamos durante 2 horas en agitación a 37°C. Transcurrido el periodo, realizamos 5 lavados de 1 minuto con PBS-Tween a cada tira. Procedimos a agregar el anticuerpo secundario anti IgG marcado con HRP (Sigma Aldrich) 0.5ml de una dilución 1:300 Incubando durante 2 horas a 37°C con agitación constante. Realizamos nuevamente 5 lavados de 1 min con PBS-Tween. Finalmente revelamos agregando 0.5 ml de una solución de Ortofenilendiamina/ peróxido de hidrógeno en buffer de citratos; incubamos en agitación constante, durante 15 minutos.

No. de tira	Extracto sensibilizante	Características del suero probado
1	<i>Casuarina equisetifolia</i> L.	<i>C. equisetifolia</i> L. (++++)
2	<i>Betula occidentalis</i>	<i>C. equisetifolia</i> L. (++++)
3	<i>Quercus vellutina</i>	<i>C. equisetifolia</i> L. (++++)
4	<i>Fraxinus uhdei</i>	<i>C. equisetifolia</i> L. (++++)
5	<i>Liquidambar styraciflua</i>	<i>C. equisetifolia</i> L. (++++)
C(-)	<i>Dermatophagoides farinae</i>	<i>C. equisetifolia</i> L. (++++)

Tabla 9. Reacciones Ag-Ac entre las tiras sensibilizadas y sueros de pacientes.

8. Resultados

Los resultados del estudio realizado se muestran a continuación en la tabla 10. En esta tabla los números seguidos de una cruz representan el grado de respuesta al alérgeno de *Casuarina equisetifolia* que se obtuvo en las pruebas cutáneas.

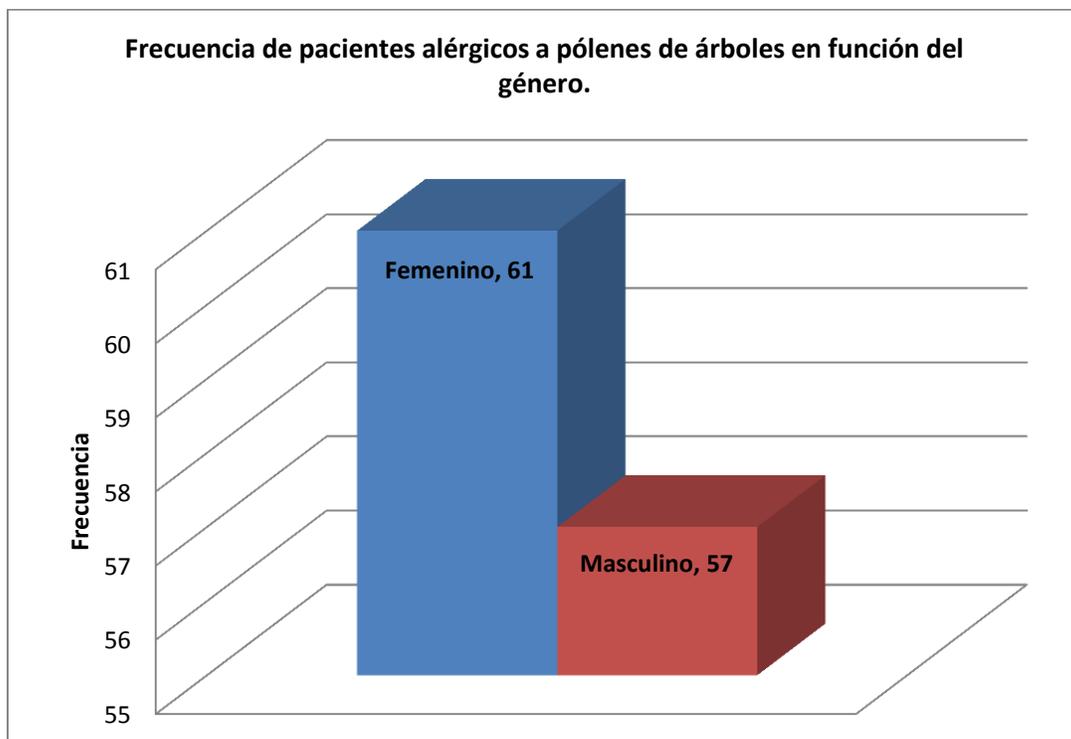
No	Género	Edad	Casuarina	Betula	Quercus	Fraxinus	Liquidambar
1	F	32	2+	✓	✓		
2	F	14	4+	✓	✓	✓	✓
3	F	15	5+		✓	✓	
4	F	7	3+		✓		
5	F	23	4+		✓		
6	M	9	3+	✓	✓		
7	F	29	3+	✓	✓		
8	M	5	3+	✓		✓	
9	F	29	5+	✓	✓	✓	
10	M	9	3+	✓	✓		
11	M	52	3+	✓			✓
12	M	32	3+	✓	✓	✓	
13	M	24	2+	✓	✓		
14	F	24	3+		✓	✓	
15	F	31	2+	✓	✓	✓	
16	M	11	2+		✓		
17	M	33	6+	✓	✓		✓
18	M	40	6+	✓			✓
19	M	9	3+	✓	✓	✓	✓
20	F	42	2+	✓	✓	✓	
21	F	46	4+	✓	✓		✓
22	M	38	3+		✓	✓	
23	F	23	3+	✓	✓		✓
24	M	11	3+		✓		
25	M	5	3+	✓	✓	✓	✓
26	F	11	4+	✓	✓		✓
27	F	57	3+	✓	✓		
28	F	36	6+	✓	✓	✓	✓
29	M	9	4+	✓	✓	✓	✓
30	M	10	10+			✓	✓

No	Género	Edad	Casuarina	Betula	Quercus	Fraxinus	Liquidambar
31	F	15	4+	✓	✓	✓	
32	M	14	4+	✓		✓	
33	M	58	3+			✓	
34	F	8	3+	✓		✓	
35	M	9	3+	✓			
36	M	6	3+	✓		✓	
37	M	50	4+	✓	✓		✓
38	F	17	3+	✓			
39	F	42	4+		✓	✓	
40	M	54	4+	✓	✓		✓
41	M	8	3+	✓	✓		✓
42	F	24	3+				✓
43	F	59	6+	✓			✓
44	M	12	5+	✓	✓	✓	
45	M	10	5+	✓			✓
46	F	33	5+	✓	✓	✓	✓
47	F	9	3+	✓		✓	
48	F	10	3+	✓			
49	F	42	5+	✓		✓	✓
50	F	15	4+	✓	✓		✓
51	F	27	3+	✓	✓	✓	
52	F	19	3+				
53	M	11	2+	✓			
54	M	57	3+	✓	✓	✓	✓
55	M	6	3+		✓	✓	
56	M	11	5+	✓	✓	✓	✓
57	M	24	4+	✓		✓	
58	M	43	4+	✓	✓		
59	F	37	4+	✓	✓		
60	F	23	4+	✓	✓		
61	M	43	4+	✓	✓		
62	F	15	5+	✓			
63	M	14	4+	✓			
64	F	39	4+	✓	✓		
65	F	28	5+	✓	✓		

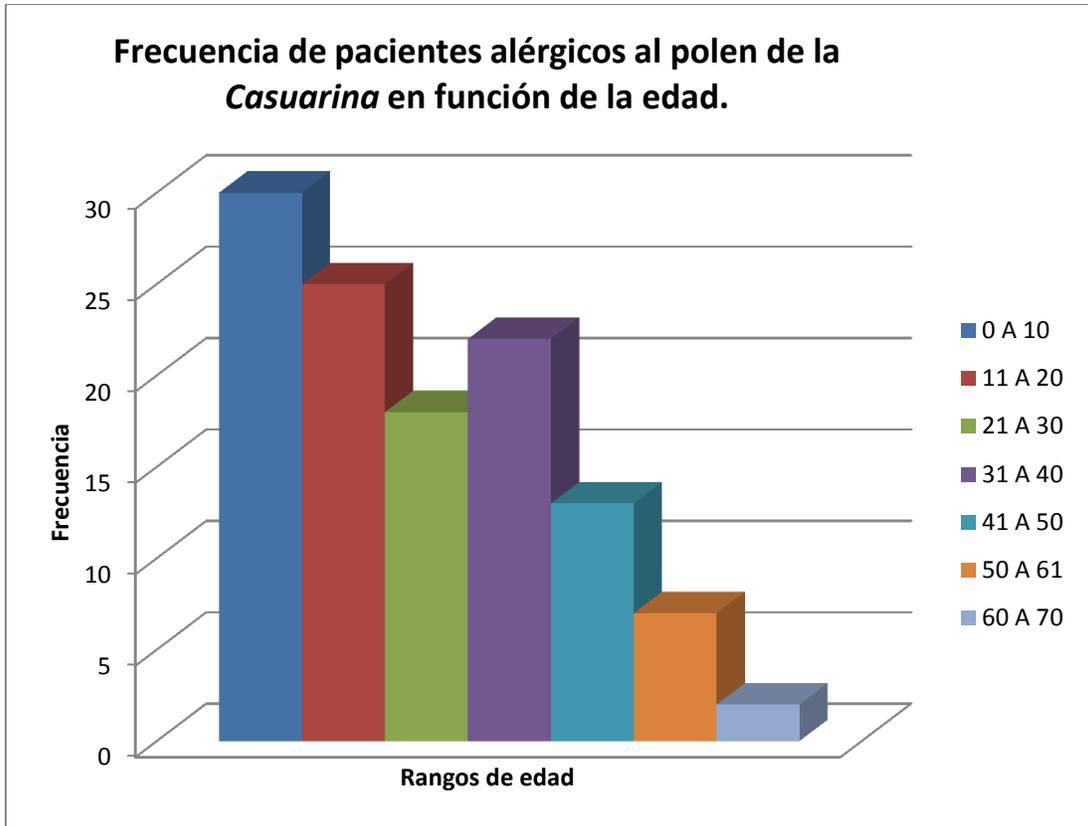
No	Género	Edad	Casuarina	Betula	Quercus	Fraxinus	Liquidambar
66	M	39	5+	✓	✓		
67	M	36	5+	✓	✓		
68	M	16	4+	✓	✓		
69	F	25	3+	✓	✓	✓	✓
70	M	37	5+	✓			
71	F	36	3+	✓	✓		✓
72	M	24	4+	✓	✓	✓	
73	F	9	3+		✓		
74	M	8	2+				
75	M	14	2+		✓		
76	M	22	2+	✓	✓	✓	
77	F	14	3+				
78	F	49	3+				
79	M	6	2+			✓	
80	F	41	2+	✓	✓		✓
81	F	9	2+				
82	F	7	3+		✓		✓
83	M	17	4+	✓	✓		
84	F	40	4+		✓		
85	F	34	3+		✓	✓	
86	F	22	4+		✓		
87	M	14	4+		✓	✓	✓
88	M	11	3+	✓	✓	✓	
89	F	4	2+	✓			
90	M	39	4+	✓	✓	✓	
91	F	31	3+	✓	✓		✓
92	M	9	3+	✓		✓	✓
93	M	10	4+	✓	✓	✓	
94	F	34	2+	✓	✓	✓	
95	M	43	2+				
96	F	62	3+	✓	✓	✓	
97	F	43	2+	✓	✓	✓	
98	F	34	4+	✓	✓		✓
99	F	25	2+	✓	✓	✓	
100	M	20	4+		✓		

No	Género	Edad	Casuarina	Betula	Quercus	Fraxinus	Liquidambar
101	F	9	4+	✓		✓	✓
102	F	37	3+	✓	✓	✓	✓
103	F	27	3+	✓	✓		
104	F	54	3+	✓	✓	✓	✓
105	F	21	2+	✓	✓	✓	✓
106	F	7	3+		✓		✓
107	M	10	2+	✓			
108	F	45	3+	✓	✓		✓
109	M	18	4+	✓			
110	M	5	3+	✓			
111	F	3	3+				
112	M	12	2+		✓		
113	M	15	2+				
114	F	42	3+				
115	M	21	2+				
116	M	10	2+		✓		
117	F	33	3+				
118	M	5	3+				

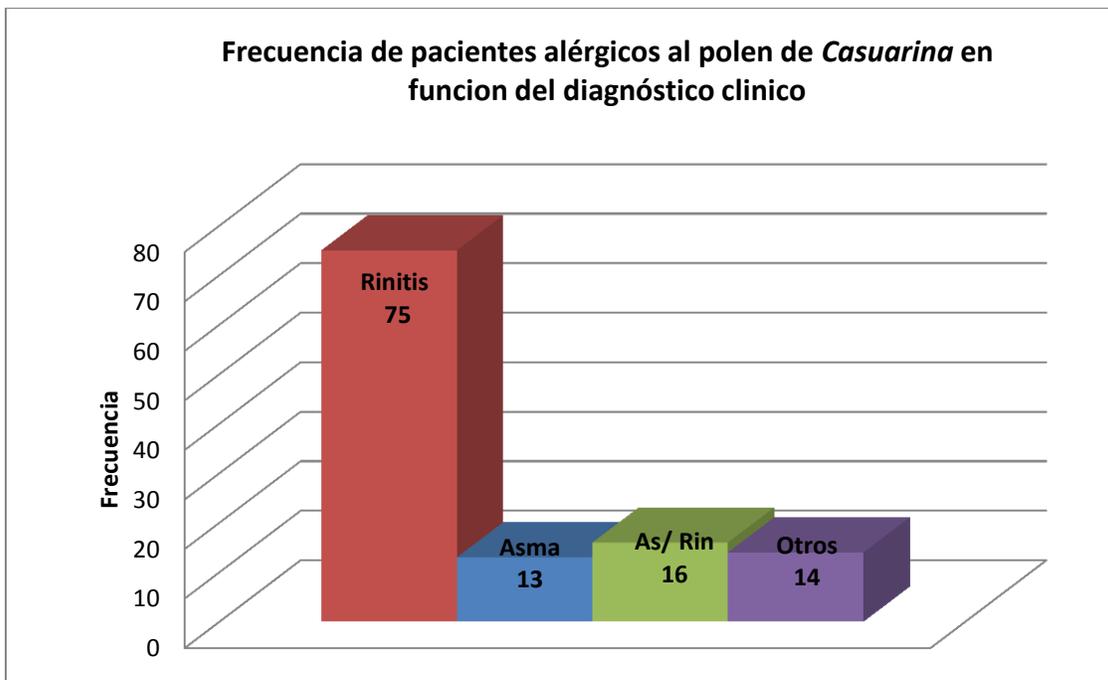
Tabla 10. Resultados obtenidos durante la realización de las pruebas cutáneas.



Gráfica 1. Frecuencia de pacientes alérgicos al polen de la *Casuarina* en función del género.

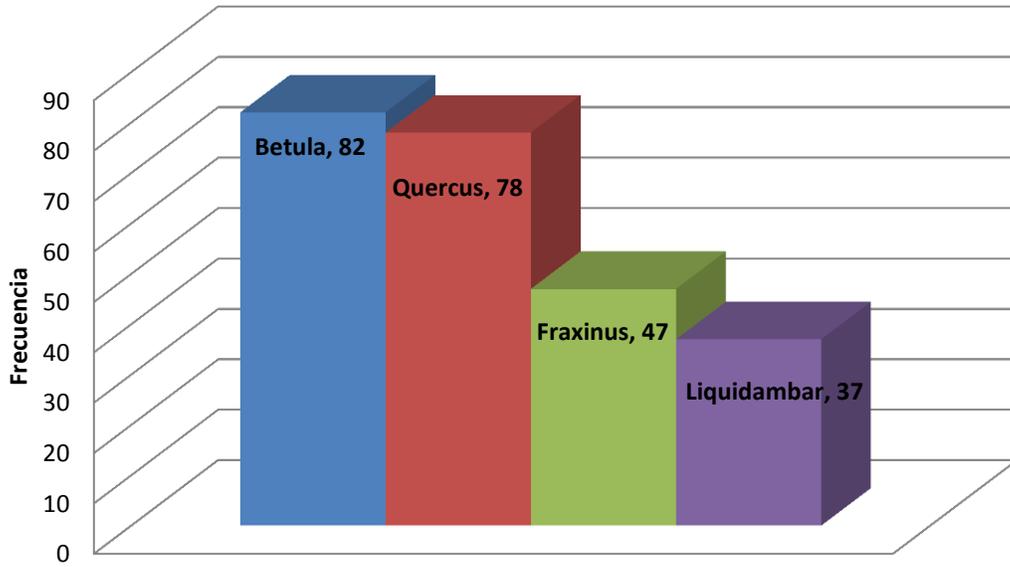


Grafica 2. Frecuencia de pacientes alérgicos al polen de la *Casuarina* en función de la edad.



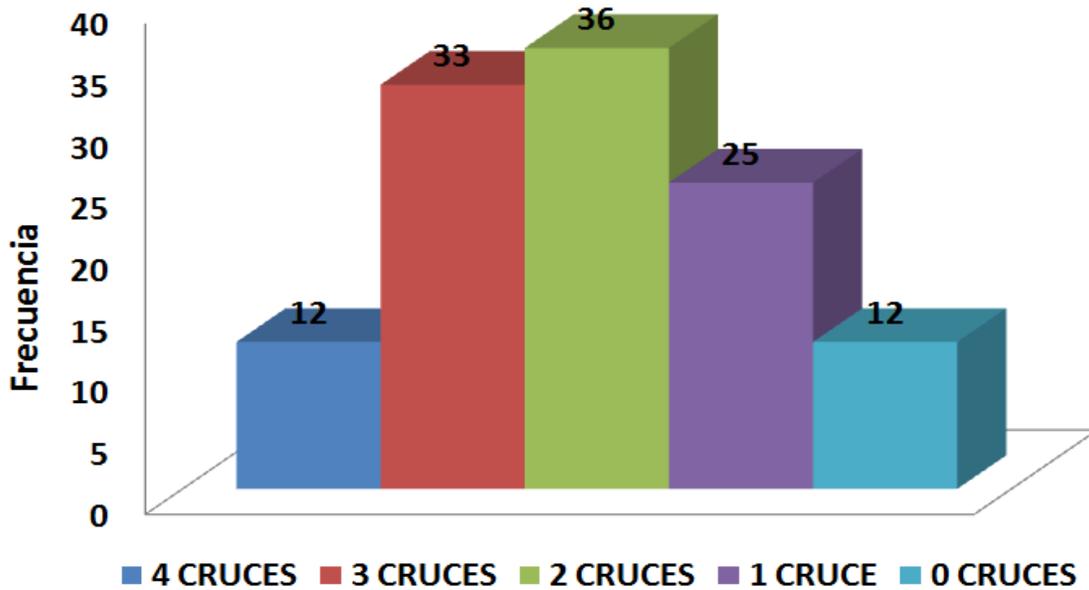
Grafica 3. Frecuencia de pacientes alérgicos al polen de la *Casuarina* en función del diagnóstico clínico.

Frecuencia de reactividad cruzada *in vivo* en pacientes alérgicos al polen de la *Casuarina* en función con otras especies de árboles.

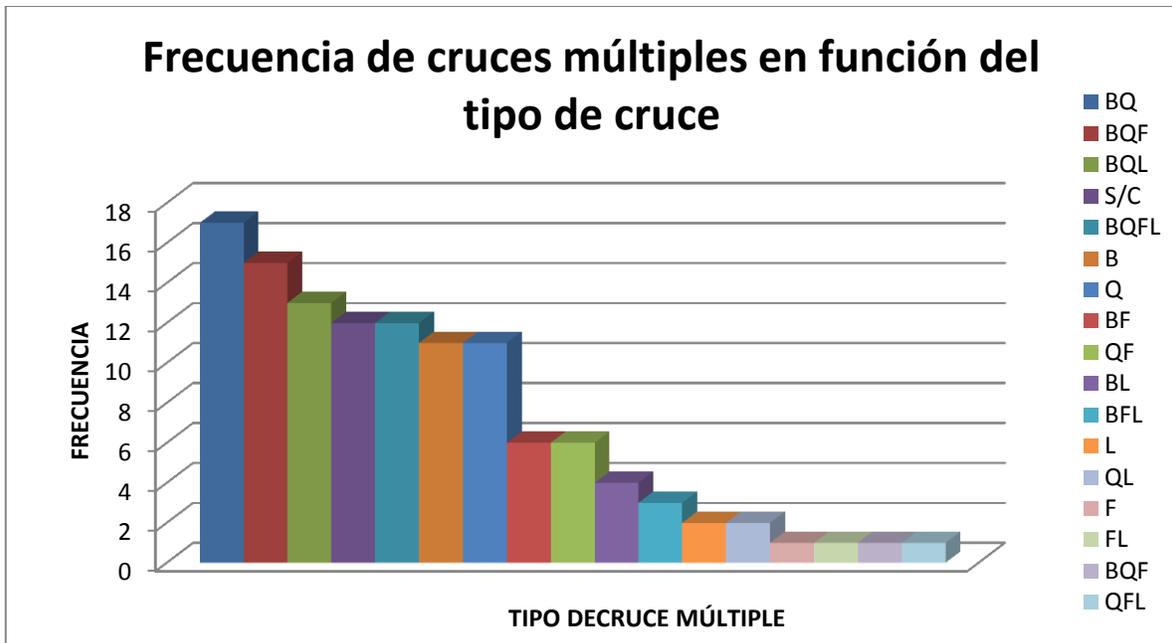


Grafica 4. Frecuencia de cruce entre *Casuarina* con otros árboles estudiados.

Frecuencia de cruces múltiples en función del número de cruces alérgicos



Gráfica 5. Frecuencia de cruces múltiples en función del número de cruces.



Gráfica 6. Frecuencia de cruces múltiples en función del tipo de cruce.

Análisis electroforético de los extractos alergénicos empleados

Empleando extractos alergénicos de cada una de las 5 especies estudiadas realizamos una electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) con la finalidad de conocer el perfil de proteínas presentes en cada uno de estos extractos. La electroforesis la realizamos en gel de poliacrilamida a una concentración de 10% y para evidenciar las bandas empleamos la tinción de plata Silver Stain Plus. (BIO-RAD)

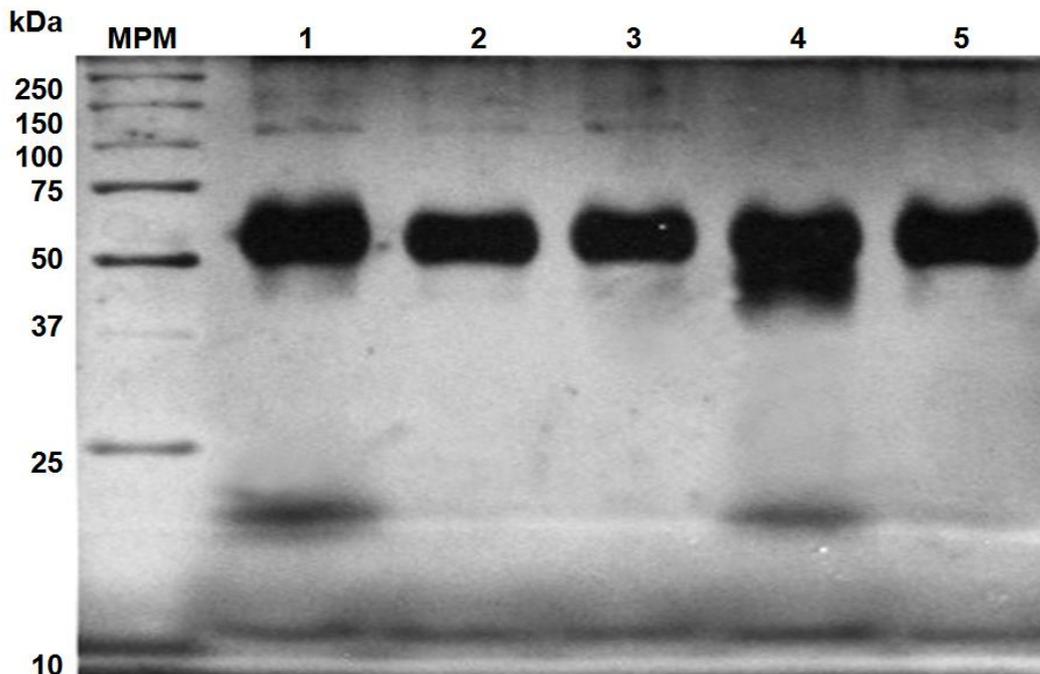


Figura 27. Perfil de proteínas correspondientes a los extractos alergénicos de las especies estudiadas 1) *Casuarina equisetifolia* L; 2) *Betula occidentalis*; 3) *Quercus vellutina*, 4) *Fraxinus uhdei*; 5) *Liquidambar styraciflua*.

Electrotransferencia de alergenios

Una vez resuelto el perfil proteico de los extractos procedimos a transferirlo hacia membranas de nitrocelulosa mediante electrotransferencia, la finalidad de este procedimiento es sensibilizar estas membranas con las proteínas alergénicas para luego hacerlas reaccionar con sueros de pacientes y observar si existe reacción entre los alergenios fijos en las tiras y los anticuerpos presentes en los sueros.

Resultados obtenidos de la inmunodetección

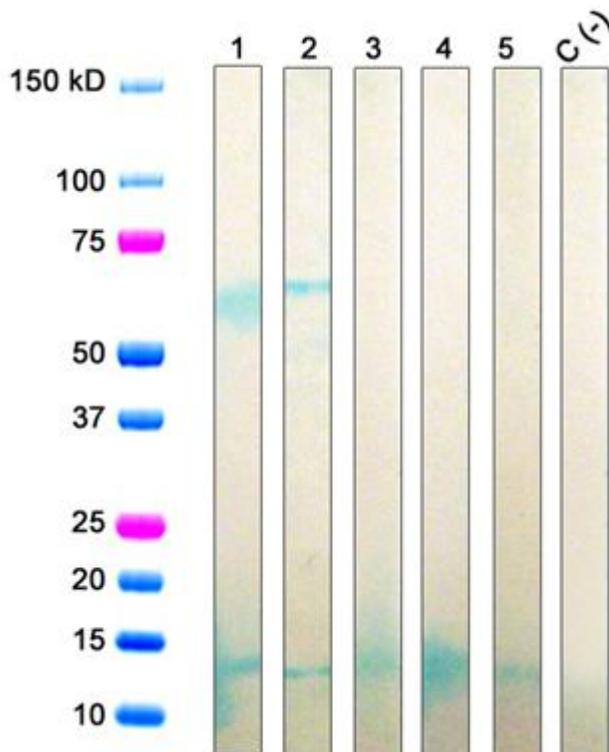


Fig. 28 Resultados de la inmunodetección

No. de tira	Extracto sensibilizante	Características del suero probado	Resultado
1	<i>Casuarina equisetifolia L.</i>	<i>C. equisetifolia L.</i> (++++)	2 bandas (60 y 14kDa)
2	<i>Betula occidentalis</i>	<i>C. equisetifolia L.</i> (++++)	2 bandas (60 y 14kDa)
3	<i>Quercus vellutina</i>	<i>C. equisetifolia L.</i> (++++)	1 banda(14kDa)
4	<i>Fraxinus uhdei</i>	<i>C. equisetifolia L.</i> (++++)	1 banda(14kDa)
5	<i>Liquidambar styraciflua</i>	<i>C. equisetifolia L.</i> (++++)	1 banda(14kDa)
C(-)	<i>Dermatophagoides farinae</i>	<i>C. equisetifolia L.</i> (++++)	Negativo

Tabla 11. Resultados de la inmunodetección

9. Análisis de resultados

Los alérgenos analizados en este trabajo pertenecen a árboles que resultan altamente sensibilizantes en la Ciudad de México y la Zona Metropolitana. La *Casuarina equisetifolia* L es una especie ampliamente distribuida (D.F. y varios estados del norte, centro y sur del país), su polen es liviano, anemofílico y producido en grandes cantidades, cumple con los criterios de Thommen y Vauhan para ser considerado como alérgico y ésta capacidad está bien sustentada por diversos estudios realizados alrededor del mundo.

En esta tesis estudiamos una población de 118 pacientes, cuyo muestreo fue aleatorio, en aquellos pacientes que resultaron positivos en la prueba cutánea a extracto alérgico de *Casuarina equisetifolia* L. A partir de esta población evaluamos diferentes parámetros como la frecuencia de sensibilización en función de la edad, el género y el diagnóstico clínico. Posteriormente obtuvimos el porcentaje de pacientes que presentan cruces alérgicos *in vivo* con las otras 5 especies de árboles a fin de evidenciar el orden de frecuencias que presenta cada cruce. Además analizamos mediante electroforesis la composición de los 5 extractos alérgicos purificados, se realizó electrotransferencia de las proteínas a fin de sensibilizar membranas de nitrocelulosa para hacerlas reaccionar con sueros de pacientes alérgicos a *C. equisetifolia* L. Este ensayo lo realizamos con la finalidad de demostrar que existe una fracción de los anticuerpos IgE específicos para *C. equisetifolia* L, presentes en sueros de pacientes alérgicos, que se pueden unir al antígeno purificado de cada una de las especies estudiadas (*Fraxinus uhdei*, *Betula occidentalis*, *Quercus vellutina* y *Liquidambar styraciflua*) dada la similitud estructural que existe entre proteínas alérgicas de éstas especies, es decir, que existe un cruce alérgico entre estos árboles.

En la gráfica 1 se presenta la distribución que tiene nuestra población en función del género, en ésta gráfica se observa que de nuestra población total, 61 pacientes (51.7%) corresponde al género femenino, los restantes 57 pacientes (48.3%) son del género masculino.

La gráfica 2 nos muestra la frecuencia de pacientes alérgicos a *C. equisetifolia L* en función de la edad, manejando intervalos de 10 años. En ésta gráfica podemos observar que la tendencia de enfermedades alérgicas en función de la edad de nuestra población corresponde a lo que la literatura establece; la mayoría de los casos de enfermedad alérgica se presenta en etapas tempranas de la vida y a medida que aumentamos la edad en nuestros intervalos, la frecuencia de casos fue disminuyendo.

Dado que los pólenes generan principalmente manifestaciones alérgicas a nivel del aparato respiratorio, estudiamos la frecuencia de pacientes alérgicos al polen de la *Casuarina equisetifolia L.* en función del diagnóstico clínico (gráfica 3) y podemos observar que de nuestra población de 118 pacientes, 75 (63.56%) presentaron diagnóstico de RA, 13 (11.01%) presentaron diagnóstico de Asma alérgico, 16 (13.56%) presentaron diagnóstico de coexistencia de ambas patologías y 14 (11.86%) tuvieron diagnóstico de otras enfermedades alérgicas.

La gráfica 4, corresponde a la frecuencia de la reactividad cruzada *in vivo* en pacientes alérgicos al polen de la *C. equisetifolia L.* en función con otras especies de árboles. Ésta gráfica muestra como la población que estudiamos se comporta de tal manera que de nuestro total de pacientes que presentaron prueba cutánea positiva para *C. equisetifolia L.*, 82 (69.49%) fueron positivos también en la prueba cutánea con *Betula occidentalis*; 78 (61.86%) presentaron prueba positiva a *C. equisetifolia L* así como a *Quercus vellutina.*; 47 (39.83%) fueron positivos a *C. equisetifolia L.* y frente a *Fraxinus uhdei*, mientras que 37 (31,35%) presentaron prueba positiva a *Casuarina equisetifolia L.* así como a *Liquidambar styraciflua*. Este orden decreciente denota que existe mayor frecuencia de cruce entre las proteínas alergénicas presentes en el polen de *C. equisetifolia L.* y las presentes en *Betula occidentalis*, que las presentes en los otros árboles estudiados; esto puede deberse a que contienen un mayor número de proteínas alergénicas en común entre estas especies o bien mayor grado de similitud entre las proteínas de estos dos árboles, en comparación con la que existe entre *C. equisetifolia L* y las

otras especies que estudiamos; ambos casos pueden ser responsables de que exista cruce alérgico entre estas especies.

En la gráfica 5, podemos observar que la gran mayoría de los pacientes alérgicos a *C. equisetifolia* L. presentan cruces múltiples, es decir, además de ser alérgicos a *C. equisetifolia* L. lo son también a al menos otros dos árboles. Los datos en esta gráfica presentan una tendencia de tipo normal o gaussiana, las categorías de los extremos (4 cruces alérgicos y 0 cruces alérgicos respectivamente) presentan menor frecuencia que las categorías al centro de la gráfica, de todas ellas, la categoría correspondiente a pacientes con 2 cruces de positividad es la que presenta una mayor frecuencia. De esta información se puede concluir que del total de pacientes que se estudiaron, 12 son exclusivamente alérgicos a la *C. equisetifolia* L.; 25 son alérgicos al menos a *C. equisetifolia* L. y a otro árbol, 36 lo son a *C. equisetifolia* L. y a otros dos árboles, 33 pacientes son alérgicos a *Casuarina equisetifolia* L y a 3 árboles. mientras que sólo 12 pacientes fueron alérgicos a todas las especies estudiadas, es decir presentaron una polisensibilización a pólenes de árboles.

En la gráfica 6, presentamos la frecuencia de los cruces alérgicos en función del tipo de cruce. Esta gráfica muestra la frecuencia en orden decreciente de los tipos de cruce que se observaron durante este trabajo. Podemos apreciar que el cruce que se presentó con mayor frecuencia fue *Casuarina-Betula-Quercus* (BQ), mientras que el que se presentó con menor frecuencia fue *Casuarina-Quercus-Fraxinus-Liquidambar* (QFL). Al conjuntar el análisis de frecuencia del número de cruces y de frecuencia de tipos de cruces, observaremos que el cruce “sencillo” (*C. equisetifolia* y otro único árbol) con más frecuencia es *Casuarina- Betula* (11 pacientes), el cruce sencillo menos frecuente fue *Casuarina-Fraxinus* (1 paciente). De los cruces “dobles” que se presentaron (*Casuarina equisetifolia* y otras dos especies) el más frecuente fue *Casuarina-Betula-Quercus* con 17 pacientes (éste cruce fue además el que presentó más frecuencia en este trabajo), de los cruces dobles, el menos frecuente fue *Casuarina-Fraxinus-Liquidambar*. De entre los cruces “triples” (*C. equisetifolia* y tres árboles más) el más frecuente fue

Casuarina-Betula-Quercus-Fraxinus con un total de 15 pacientes; el menos frecuente de estos fue *Casuarina-Quercus-Fraxinus-Liquidambar*. Finalmente el cruce entre todas las especies (*Casuarina-Betula-Quercus-Fraxinus-Liquidambar*) tuvo una frecuencia de 12 pacientes.

Podemos notar que en todos los cruces más frecuentes aparece el alergeno *Betula occidentalis*, genera frecuencias importantes al presentarse en un cruce “sencillo” como cuando se presenta en un cruce múltiple. Por otro lado, este trabajo revela que *Liquidambar styraciflua*, que si bien tiene una participación muy discreta al presentarse como cruce “sencillo”, tiene una participación casi nula cuando se presenta en un cruce múltiple, pues los cruces múltiples en los cuales participa presentan poca frecuencia.

El orden observado en nuestro trabajo para la tendencia de cruce alérgico con respecto a *C. equisetifolia L* es el siguiente:

Betula occidentalis > *Quercus vellutina* > *Fraxinus uhdei* > *Liquidambar styraciflua*.

La figura 21 corresponde al perfil de proteínas de los extractos alérgicos resueltas a través de electroforesis en gel de acrilamida (PAGE). En esta figura podemos observar que alrededor de los 60kDa existen proteínas similares en todos los extractos, estas proteínas conforman un grupo que por su similitud en PM no pudieron ser resueltas con mayor eficiencia durante este trabajo.

El alergeno principal de *C. equisetifolia L*. no se han descrito hasta el momento pero este perfil nos permite identificar su posible ubicación ya que se aprecian al menos tres regiones candidato, una alrededor de los 70 kDa, otra cerca de los 20kDa y la última por encima de 10kDa. Este perfil nos reveló además que existen proteínas con PM muy similar entre las cinco especies estudiadas al menos en dos regiones, alrededor de los 70kDa y por encima de 10kDa. Existen además otras bandas que son comunes entre algunas especies (por ejemplo la banda ubicada por debajo de 25kDa y pequeñas bandas por encima de 100kDa) pero como no se encuentran en todas las especies y sabemos que los cruces alérgicos generalmente se dan a través de proteínas homólogas de PM similar

estas bandas que son comunes únicamente en algunas de las cinco especies estudiadas podrían tener poca relevancia en nuestro estudio.

Los resultados de la inmunodetección revelaron que el suero *C. equisetifolia* L. de (+++++) de positividad, utilizado en nuestro estudio reaccionó con la tira sensibilizada a esta misma especie en dos regiones, marcando dos bandas bien definidas, la primera alrededor de lo 60kDa y la segunda ligeramente por debajo de 15kDa. Este hecho hace suponer que las proteínas que actúan como alérgenos principales de *C. equisetifolia* L. deben encontrarse en esas regiones ya que cumplen con la característica de unir más del 60% de la IgE alérgeno específica al grado de generar bandas de reacción muy visibles.

También observamos que existe una banda de reacción común, aunque de diferente intensidad, entre las 5 especies estudiadas situada por debajo de 15kDa. Esta banda aparece también en el análisis electroforético que realizamos de los extractos y el PM de las proteínas presentes en esta región se encuentra dentro del rango de PM de las profilinas vegetales (14-16 kDa) que son moléculas reconocidas ampliamente por su capacidad de generar reacciones cruzadas de alergia tanto entre pólenes y alimentos como entre pólenes de diferentes especies. Podemos con este resultado confirmar que existe reactividad cruzada entre las especies estudiadas e incluso señalar a estas proteínas como las responsables de dicha reactividad cruzada observada *in vivo*.

Finalmente, la inmunodetección hizo evidente la presencia de una proteína que sólo es común en los extractos de *Casuarina equisetifolia* L y *Betula occidentalis*. Esta proteína cuyo PM está alrededor de 60kDa tiene relevancia en el sentido de que respalda el resultado que obtuvimos *in vivo* al realizar el análisis de frecuencias de cruce alérgico en función de las especies estudiadas, en el que observamos que de nuestro total de 118 pacientes 82(61.86%) tuvieron además reactividad positiva a *Betula occidentalis*. Dicha proteína podría ser la responsable de la alta frecuencia del cruce entre ambas especies que se observó en este estudio.

10. Discusión

Desde que se reportaron y describieron los primeros casos de alergenicidad del polen de la *Casuarina* en 1942 y la posibilidad de su reactividad cruzada con otras especies de árboles propuesta por Bucholtz(1987) en Australia se han realizado en realidad pocos trabajos acerca de este alergen, la mayoría de ellos encaminados a evaluar la frecuencia de sensibilización que produce éste polen en diferentes ciudades del mundo.

Estudios realizados por Bucholtz (1987) y Burton (2007) en Australia; García (1997), Trigo (1999) y Gastaminza (2003) en España; Aher(2009) en India; así como por Álvarez y Monroy (2009); Velasco y Velázquez (2014) en México, han establecido, en ciudades de estos países, tanto la prevalencia como el aumento de pacientes sensibilizados a este polen.

Todos estos autores coinciden en que *Casuarina equisetifolia L.* es un árbol de importancia alérgica no sólo porque se han reportado un gran número de pacientes alérgicos a éste, sino también porque en todos estos países el árbol se encuentra como flora ampliamente distribuida en las principales ciudades. Estos trabajos se han complementado con las investigaciones realizadas para describir las proteínas del polen de esta especie por Li D. y He S. (2006) en China

En el presente estudio de este alergen demostramos tanto *in vivo* como en experimentación *in vitro* la reactividad alérgica cruzada que existe entre *Casuarina equisetifolia L* y cinco especies de árboles a pesar de que su filogenia es bastante alejada: *Fraxinus uhdei* (Fresno), *Betula occidentalis* (Abedul) *Quercus vellutina* (Encino) y *Liquidambar styraciflua* (Maple), dicha reactividad, aunque ya se manejaba como hipótesis desde 1987, no se había determinado ni comprobado experimentalmente.

Otro aspecto importante que nuestros resultados aportan al estudio de esta especie como alergen de impacto está encaminado a la dilucidación del alergen principal de *Casuarina equisetifolia L.* ya que encontramos, a través de inmunodetección, dos regiones en los perfiles electroforéticos del polen de esta especie que tienen capacidad de fijar IgE alergen específica. Esto permite

delimitar las regiones en las cuales podremos encontrar a dicho alergen principal, logro que seguramente sea el siguiente paso en el estudio de esta especie de importancia alérgica. En nuestro estudio no fue posible determinarlo ya que para ello es necesario un equipo de electroforesis 2D, con el que para este estudio no contamos.

11. Conclusiones

- Determinamos, a través de pruebas cutáneas por punción (prick) *in vivo*, la reactividad alérgica cruzada entre el polen de *Casuarina equisetifolia L* y los géneros *Fraxinus*, *Betula*, *Quercus* y *Liquidambar*. Observando el siguiente orden de reactividad alérgica cruzada:

Betula occidentalis > *Quercus vellutina* > *Fraxinus uhdei* > *Liquidambar styraciflua*.

- Determinamos a través de PAGE el perfil de proteínas de los extractos de pólenes de *Casuarina equisetifolia L.*, *Fraxinus uhdei*, *Betula occidentalis*, *Quercus vellutina*, y *Liquidambar styraciflua*, demostrando que existen proteínas con PM similares que son las responsables de las reacciones alérgicas cruzadas que se observan *in vivo* entre estas especies.
- Mediante inmunodetección identificamos una proteína (PM=14kDa) común en los extractos de pólenes de las especies estudiadas que tuvo la capacidad de fijar anticuerpos IgE anti *Casuarina equisetifolia L* presentes en suero de pacientes alérgicos a esta última especie.
- Identificamos a través de inmunodetección una proteína (PM= 60kDa) común entre *C. equisetifolia L* y *Betula occidentalis* que posiblemente sea la responsable de la alta frecuencia que existe del cruce alérgico de estas dos especies.
- Demostramos, basados en los resultados obtenidos *in vivo* e *in vitro*, la reactividad alérgica entre *Casuarina equisetifolia L* (pino australiano) con: *Fraxinus uhdei* (Fresno), *Betula occidentalis* (Abedul), *Quercus vellutina* (Encino) y *Liquidambar styraciflua* (Maple) en pacientes con rinitis y/o asma alérgicas.

12. Anexos

Anexo 1. Formato para reporte de resultados de las pruebas cutáneas



HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO, OPD-SSA
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA
LABORATORIO 2 DE INMUNOALERGOLOGÍA Y MICOLOGÍA MÉDICA

NOMBRE _____ EDAD _____
 SEXO _____ EXP _____ DX _____ FECHA _____

PRUEBAS CUTANEAS POR PRICK
 Con antígenos de la marca ALLERSTAND en una concentración p/v 1:20

ANTÍGENO	A= ANIMAL P= POLEN H= HONGO O=OTROS	(+)= POSITIVO (-)= NEGATIVO	ANTÍGENO	A= ANIMAL P= POLEN H= HONGO O=OTROS	(+)= POSITIVO (-)= NEGATIVO
8. ASPERGILLUS FUMIGATUS	H		1. ACACIA LONGIFOLIA	P	
7. ARTEMISIA LUDOVICIANA	P		2. AGROSTI ALBA	P	
6. AMBROSIA COMFERTIFLORA	P		3. ALTERNARIA TENIUS	H	
5. AMBROSIA ARTEMISIFOLIA	P		4. AMARANTHUS PALMERI	P	
16. COSMOS BIPINNATUS	P		9. ATRIPLEX BRACTEOSA	P	
15. CLADOSPORIUM CLADOS	H		10. AVENA SATIVA	P	
14. CHENOPODIUM ALBUM	P		11. BETULA OCCIDENTALIS	P	
13. CANDIDA ALBICANS	H		12. BLATELA GERMANICA	A	
24. LIQUIDAMBAR STIRACIFLUA	P		17. CYNODON DACTILON	P	
23. LIGUSTRUM LUCIDUM	P		18. DERM. FARINAE	A	
22. HELMINTHOSPORIUM SAT.	H		19. FRAXINUS UHDEI	P	
21. HELIANTHUS ANNUS	P		20. GATO (CAT 1)	A	
32. TARAXACUM OFFICINALE	P		25. LOLIUM PERENNE	P	
31. PHLEUM PRATENSE	P		26. MUCOR MUCEDO	H	
30. CANIS FAMILIARIS (PERRO)	A		27. DERM PTERONYSSINUS	A	
29. PERIPLANETA AMERICANA	A		28. PENICILLIUM NOTATUM	H	
40. SCHINNUS MOLLE	P		33. POLVO CASERO	O	
39. SALSOLA KALI	P		34. POPULUS ALBA	P	
38. RUMEX CRISPUS	P		35. PROSOPIS JUNIFLORA	P	
37. RHIZOPUS NIRICANS	H		36. QUERCUS VELLUTINA	P	
48. CONTROL NEGATIVO (-)	****		41. SORGHUM HALAPENSE	P	
47. CONTROL POSITIVO (+)	****		42. ZEA MAYS	P	
46. POA PRATENSE	P		43. CASUARINA EQUISETIFOLIA	P	
45. JUNIPERUS ASHEI	P		44. OLEA EUROPEA	P	

Por la presente hoy _____ autorizo realización de la prueba cutánea a mí (o mi paciente) _____ después de que el Dr. o Dra. _____ me informó de los riesgos y beneficios de la prueba cutánea. Recibiendo copia del resultado.

Nombre y firma del paciente o el tutor _____

Testigo _____ Testigo _____

ELABORÓ: _____

Anexo 2. Características de los reactivos comerciales empleados.

1) Kit comercial para determinación de proteínas

- DC TM Protein Assay (BIO-RAD)

2) Tinción de plata para proteínas en gel de acrilamida.

- Silver Stain Plus TM(BIO-RAD)

3) Amortiguador de corrida para PAGE

- 10xTris/Glycine/SDSBuffer (BIO-RAD)

4) Marcador de peso molecular para PAGE

- Precision Plus Protein TM Dual Color Standards (BIO-RAD)

5) Anticuerpo primario para inmunodetección

- Monoclonal Anti-human IgE antibody produced in mouse (cGe1 IgG2b) (SIGMA ALDRICH)

6) Anticuerpo secundario para inmunodetección

- Anti-Mouse IgG (whole molecule)–Peroxidase antibody produced in goat, affinity isolated antibody, buffered aqueous solution (SIGMA-ALDRICH).

13. Bibliografía

1. Abbas, Abdul K. (2004) Inmunología Celular y Molecular. 5ta edición. Ed. Elsevier. Madrid, España. (3-15)
2. Akiko S, Junko N, Tanguy J, Hiroshi T. (2004). Pollen-tube growth pattern and chalazogamy in *Casuarina equisetifolia* (Casuarinaceae). J Plant Res 117:37–46.
3. Alergia a alimentos Guías para el diagnóstico y tratamiento. Colegio Mexicano de Alergia, Asma e Inmunología pediátrica (COMAAIPE) 2010.
4. Álvarez Arellano Arcelia, Monroy Iván (2009): Frecuencia De Sensibilización Del Pino Australiano (*Casuarina Equisetifolia L*) En Pacientes Con Alergia Respiratoria De La Zona Metropolitana De La Ciudad De México. Tesis de licenciatura UNAM. Facultad de Química.
5. Anand B. Singh and Shipra Shahi. (2008): Aeroallergens in Clinical Practice of Allergy in India- ARIA Asia Pacific Work-shop Report. ASIAN PACIFIC JOURNAL OF ALLERGY AND IMMUNOLOGY. Delhi, India. 26: (245-256)
6. Anand B. Singh, Pawan Kumar (2003): Aeroallergens in clinical practice of allergy in India. Ann Agric Environ Med Delhi, India 10, (131–136)
7. Arffa Robert, *et al.* (2007): Atlas de Alergia e Inmunología Clínica. 3ª Edición. Ed. Elsevier. España (369-377)
8. ARIA Report (<http://www.whiar.org/>).
9. Atlas de alergia e inmunología clínica (2006): 3ª Edición. Elsevier., Barcelona. (35 – 54)
10. Arffa Robert (2000) Australianpine (*Casuarina equisetifolia*) Allergy, 57:1: (32-40).
11. Bellanti *et al.* (2008): Alergia enfermedad multisistémica. Fundamentos básicos y clínicos Ed Panamericana México DF (19-54)

12. Blanquet Martínez, Juan Carlos, (2007): Frecuencia de sensibilización al polen de tres especies del género *Betula sp.* (*Betula occidentalis*, *B. lenta* y *B. verrucosa*) en pacientes con alergia respiratoria del área metropolitana. Tesis de Licenciatura. UNAM. FES Cuautitlán.
13. Borish Larry and Steinke John (2003): Cytokines and chemokines. Journal allergy Clinimmunol. Vol 111: 2 (460-475)
14. Bousquet J, Lockey RF, Malling H-J. (1998): Allergen immunotherapy: Therapeutic vaccines for allergic diseases. Allergy; 53:1-49.
15. Bousquet J. (2006). Sublingual Immunotherapy: validated. Allergy 61:S81: (s5-6)
16. Brasó Asnar y Jorro Martínez. (2003): Manual de alergia clínica. MASSON Barcelona, España (16-17)
17. Brasó José. 2003. Manual de Alergia Clínica. Ed. Reverte. España.
18. Bucholtz GA et al. (1987): (*Casuarina equisetifolia*) pollen as an aeroallergen. Annals of allergy 59:1:(52-56).
19. Bulletin of the World Health Organization (2005) ;83(7):(548-54)
20. Calhoun y cols. (1990). Normal nasal airway resistance in noses in different type and shape. Otorrinolaringology head and neck surgery. 103:4; (605-609)
21. Características del Polen de la *Casuarina equisetifolia* L: <http://www.ugr.es/~aerobio/casuarina.htm>. (Consultado febrero 2014)
22. *Casuarina equisetifolia* L. CONABIO: www.conabio.gob.mx. (Consultado febrero 2014)
23. Cennelier Marc (1999): Alergia y homeopatía Ed. Paidotribo. España (27)
24. Cohen y cols. (1985): Normal nasal cytogram in infancy. Annals of allergy:52:2: (112-114)

25. Colegio Mexicano de Alergia, Asma e Inmunología Pediátrica. (2006). Rinitis alérgica. CoMAAIPe
26. Cookson W.O, Mofat M. (2004). Making sense of asthma genes. N. England J Med. 35. (1974-1976)
27. Cookson W.O. (2002) : Asthma genetics. Chest 121: suppl 3 (7S-13S.)
28. Corry David B. (1999): IL-13 in allergy: home at last. Current Opinion in Immunology, 11(610–614)
29. Cortés Cortés et al. (2000):. Asma bronquial Concepto moderno. IPN-FCE México.(31-93, 125-144, 193-208)
30. Covar RA, *et al.* (2005): Medications as asthma triggers. Immunol Allergy Clin North Am. 86: 991-1008
31. D'Amato, *et al.*(1998): Pollen-related allergy in Europe. Allergy U.K. 53 (567-578).
32. Dubertret y cols. (2007). Once-daily rupatadine improves the symptoms of chronic idiopathic urticarial: randomized, double-blind, placebo-controlled study. Eur J Dermatol.; 17 :3: (223-8)
33. Fireman, P. (1989): Clínicas pediátricas de Norteamérica. Vol:5. Interamericana México DF. (1227-1243)
34. Fox Stuart Ira. (2011): Fisiología humana. 12a Edición. Ed Mc Graw Hill México (486-524)
35. Fradkin V.A. (1980). Alergenos. . Ed Mir Moscú. URSS(119-131)
36. García *et al.* (1997): Pollinosis due to Australian pine (Casuarina): an aerobiologic end clinical study in southern Spain. Allergy. U.K. 52: (11-17)
37. Gastaminza Lasatre. (2003): Alergia a polen de pino ¿Sólo en Euzkadi? Sancho el sabio España 18 (105-118)

38. Ghaemmaghamiy cols. (2001): Human T cell subset commitment determined by the intrinsic property of antigen: the proteolytic activity of major mite allergen Der p 1 conditions T cells to produce more IL-4 and less IFN- γ . Germany Eur. J. Immunol. 31:1211-1216
39. Giménez-Arnau *et al.* (2007): Rupatadine in treatment of chronic idiopathic urticarial: a double-blind, randomized, placebo controlled multicenter study. Allergy.; 62: (539-546)
40. GINA (2010). (Global initiative for Astma) Global strategy for astmamanagement and prevention (<http://www.ginasthma.com/>).
41. González Lozano, *et al.* (1999): Comportamiento de las partículas suspendidas y polen en la atmósfera de la región norte de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México. Journal of the Mexican Chemical Society: 43005: (155-164).
42. Goodman A *et al.* (1991). Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8ª Edición. Panamericana. México (565-602)
43. Guidos y Almeida. (2005). Polinosis y aeroalergenos. México. Alergia, asma e inmunología.:14: (52-55)
44. Hannan *et al* (2003): The Biology of IgE and the basis of allergic disease. Ann. Rev. Immunol.. 21: (579–628)
45. Harding S.M. *et al* (2000): The prevalence of gastroesophageal reflux in astma patients without reflux symptoms. Am J Respir Crit Care Med. 162:1 (34-39)
46. Holgate, S.T y Church, M. (2012). Allergy 4ª Ed Elsevier. London, UK (3-11).
47. Inserto del equipo MAST Hitachi Chemical Diagnostics, Inc. Prospecto internacional prueba de dilución alternativa para la determinación de IgE alergeno específica CLA® AP 1800.

48. Janeway C. *et al.* (2005): Allergy and hypersensitivity. Garland Science Pub. New York, U.S.A. pp (1001-2299).
49. Jiménez Moreno Ángel. (2011). Alergia al Latex (*Hevea brasiliensis*). Trabajo monográfico de actualización. Facultad de Química. UNAM.
50. Katzung BG. (1989): Basic and Clinical Pharmacology. 3a Ed. Mc Graw Hill U.S.A.
51. Larché M. *et al.* (2006): Immunological mechanism of allergen-specific immunotherapy. Nature reviews 6 (761-771)
52. Lessof. (1986). Alergia: aspectos clínicos e inmunológicos Ed. Reverte. España.
53. Li, Dongdong; He, Shaoheng. (2006). Components of total proteins in pollen of Australia pine (*Casuarina equisetifolia L.*) revealed by two-dimensional electrophoresis. FenziZhiwuYuzhong 4.1, (83-8)
54. López, Blancas, Huerta y Vargas. (2009): Prevalencia de las enfermedades alérgicas en la Ciudad de México. Revista de alergia México 56:3: (72-79)
55. Lorenzo I.S., Ubeira F.M. (2000): Anisakis y alergia. Imprenta Pavillón de Servicios Campo Universitario. Santiago de Compostela. (24-25)
56. Luana, P., Antunes D., *et al.* (2010): Role of IL-4 in aversion induced by food allergy in mice. Cellular Immunology Volume 262, Issue 1. (62–68)
57. Middleton, E. (1992): Alergia, Principios y prácticas. Mecanismos de la hipersensibilidad mediada por IgE, Biología de los mastocitos y los basófilos. Tomo I. Ed. Salvat Editores, S.A. Madrid, España. (68-128)
58. Middleton E. *et al.* (1996): Alergia, principios y práctica Ed. Salvat. México pp (100-120).
59. Mueller *et al.* (2002): Structure, binding, and antagonist in the IL-4/IL-13 receptor system Biochemica et Biophysica Acta Germany 1592: (237-250)

60. Murphy *et al.* (2009). Inmunología de Janeway Ed. Mc Graw Hill. México.
61. Nacional Academy Press. (1984): Casuarinas: Nitrogen – Fixing trees for adverse sites., Washington D.C.
62. Nieto Antonio, *et al.* (2000): Inmunoterapia con alergenos: Vacunas terapéuticas para las enfermedades alérgicas. Equipo Incus. España (1-39)
63. Nieto García Samuel. (2003): Reactividad alérgica cruzada de 3 especies de *Betula sp*: en pacientes con rinitis y asma alérgica. Tesis de licenciatura. UNAM. F.Q.
64. Ogunwande y cols. (2011): Chemical composition of *Casuarina equisetifolia* L. *Eucalyptus toreliana* L. and *Ficus elastic Roxb.* Ex Hornem cultivated in Nigeria. South Africa Journal of Botany:77: (645-649)
65. P. K. Burton, (2007). Characteristics of the *Casuarina* Pollen Season in the Sydney District. Allergy Clin Immunology. NSW (S-102)
66. Parrota John A. (2003): *Casuarina equisetifolia* L. ex J.R. & G. Forst. *Casuarina*, pino australiano *Casuarinaceae* Familia de las casuarinas: <http://www.fs.fed.us/global/iitf/Casuarinaequisetifolia.pdf>
67. Passalacqua Giovanni, *et al.* (2003): Sublingual immunotherapy. Revista de Alergia México V.50:6. (220-225)
68. Peralta. F.R. (1997): Inmunología y Alergia, Historia y Protagonistas: synopsis histórica de la Alergología. You & Us, SA Madrid.
69. Peralta, R. y Mar, G. (2001): Guía de alergia para residentes y atención primaria. Ed. Díaz de Santos. Madrid España. (49)
70. Rang & Dale (2008): Farmacología 6ª Edición. Ed Elsevier España (452, 767-768)

71. Remington. (2003). Farmacia Tomo 2. 20ª Edición. Editorial Panamericana Buenos Aires (1614-1622)
72. Robbins *et al.* (2004): Patología Humana. Elsevier 7a edición. España.(103-121)
73. Rodríguez, S.L. *et al.* (2003): Guía de árboles y arbustos de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México. REMUCEAC, UAM, GDF – Secretaría del Medio Ambiente. México.(172-175)
74. Roitt, I.M. (2003): Inmunología, Fundamentos. 10a edición. Ed. Médica Panamericana S.A. Buenos Aires, Argentina. (367-373).
75. Rojas, E.O.. (2001): Inmunología de memoria 2ª Edición. Ed Panamericana. México. (1-10)
76. Salazar Mallén, M. (1958). La alergia en la teoría y la práctica. Ed Méndez Oteo. Distrito Federal, México.
77. Sandberg S. *et al.* (2000): The role of acute and chronic stress in asthma attacks in children. *Lancet*. 365:9234 (982-987)
78. Tortora & Derrickson (2013): Principios de anatomía y fisiología. 13ª Edición. Ed Panamericana (808-853)
79. Trigo M. (1999): Annual variations of airborne *Casuarina* pollen in the Iberian peninsula, *Polen* 10(67-73).
80. Tristram G. *et al.* (2002). Inmunología básica y clínica. 10ª Edición. Manual Moderno. México (411-413) .
81. Vademécum Farmacéutico IPE, (2003): Versión en CD ROM.
82. Vilchis García Valeria. (2012): Reactividad cruzada entre anticuerpos IgE e IgG₁ de pacientes alérgicos al ácaro del polvo doméstico (*D. pteronyssinus* y/o *D. farinae*) y proteínas de escamas humanas o alérgenos de perro y/o

gato. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.

83. W. Arthur Whistler and Craig R. Elevation (2006): *Casuarina equisetifolia* (beach she-oak) *C. cunninghamiana* (river she-oak) Casuarinaceae (*Casuarina* family). Species profiles for Pacific Island Agroforestry. U.S.A. (16pp)
84. Wachholz PA, Nouri-Aira *et al.* (2002): Grass pollen immunotherapy for hay fever is associated with increases in local nasal but not peripheral Th1:Th2 cytokine ratios. *Immunology* 105 (56-62)
85. Wachholz PA, Soni NK, Durham SR. (2003): Inhibition of allergen-IgE binding to B cells by IgG antibodies alters grass pollen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 112:(915-922)
86. Wah Lee Bee (2000) Respuesta de IgE y su regulación en enfermedades alérgicas): *Allergy and hypersensitivity*. Garland Science Pub. New York, U.S.A. pp (1033)
87. Wright R.J. *et al.* (1998): Review of psychosocial stress and asthma: an integrated biopsychosocial approach. *Thorax*. 53 (1066-1074).
88. Zivit, N. (1942): Allergy to Australian pine, *J Allergy*; 13:3 (14-16).
89. Zubeldía J.M. *et al.* (2012): Libro de las enfermedades alérgicas de la fundación BBVA. Fundación BBVA (487p)
90. Zuburía. (2004) :Asma bronquial Ed. Panamericana. México. (cap 1)