



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN

**“Búsqueda de la autorreactividad a escamas humanas en pacientes  
alérgicos al polvo casero y ácaros del polvo (*Dermatophagoides  
pteronyssinus* y *Dermatophagoides farinae*) utilizando la técnica *in vitro* de  
degranulación de basófilos”**

## TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**LICENCIADA EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA**

PRESENTA:

**GLORIA IRENE SOLÍS SABILLÓN**

**ASESOR: Dr. en C. VÍCTOR MANUEL ZENDEJAS BUITRÓN**

**COASESORA: Dra. Ma. ISABEL ROJO GUTIÉRREZ**

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO

2016



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.

## AGRADECIMIENTOS

A la mujer que me ha apoyado en todo, que siempre ha creído en mí y es un ejemplo de carácter y fortaleza. Esta tesis lleva gran parte de ti, gracias mamá.

A la persona que es para mí un ejemplo de vida, orden y perseverancia, mi hermana Ana Isabel.

A la persona que me ha hecho formar parte de su vida, por su cariño, tiempo y apoyo en todo momento gracias a mi novio Arturo Alarcón.

A mi familia que siempre me ha apoyado que ha estado al pendiente de mí a pesar de la distancia.

A las personas que hicieron que la universidad fuera la etapa más feliz de mi vida, gracias a mis amigos en especial a Antonio Vargas, Sandra Tobón, Lourdes Torres, Mayra Lidisey, Valeria de Elías y Axel Rodríguez, este último en especial por su colaboración es esta tesis diseñando las imágenes que la conforman.

A la máxima casa de estudios, la UNAM, por abrirme sus puertas y darme todos los elementos para formarme como profesionista, me siento muy orgullosa de ser universitaria.

A mis profesores: el Dr. Víctor Manuel Zendejas y la Dra. María Isabel Rojo por su paciencia, por sus valiosas enseñanzas las cuales recordaré toda mi vida. Mi mayor admiración para ustedes.

Al equipo que conforma el Laboratorio 2 del Hospital Juárez de México: Q.F.B. Misael González, Q.F.B. Hugo Brito, M. Leticia Buñuelos, T.L.C. Enrique Gamboa y T.L.C. Blanca Aldrete. Por su amistad, enseñanzas y buenos momentos.

A mis compañeros de trabajo, por sus consejos, su experiencia y apoyo, y por darme la oportunidad de empezar a dar los primeros pasos de mi vida profesional.

## ÍNDICE GENERAL

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	2
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	6
<b>INDICE DE FIGURAS</b> .....	7
<b>LISTADO DE ABREVIATURAS</b> .....	8
<b>RESUMEN</b> .....	11
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	13
1.1 Hipersensibilidad.....	13
1.1.2 Hipersensibilidad tipo 1 .....	15
1.1.3 Epidemiología de la Alergia.....	15
1.1.4 Atopia.....	16
1.1.5 Genética de la alergia .....	17
1.1.6 Hipótesis de la higiene .....	19
<b>2. ALÉRGENOS</b> .....	19
2.1 Actividad Biológica.....	20
2.2 Denominación Científica.....	21
2.3 Clasificación.....	21
2.3.1 Aeroalérgenos .....	21
2.3.2 Alérgenos de contacto .....	22
2.3.3 Alérgenos ingeribles.....	22
2.3.4 Alérgenos por inoculación .....	23
2.3.5 Alérgenos endógenos .....	23
2.4 Polvo casero .....	23
2.5 Escamas humanas.....	24
2.6 Ácaros del polvo casero .....	25
2.6.1 Ecología.....	26
2.6.2 Alérgenos de los ácaros.....	27
2.7 Alérgenos de origen humano o autoalérgenos .....	30
2.8 Reactividad cruzada .....	31
<b>3. MECANISMO DE ALERGIA</b> .....	31
3.1 Inmunoglobulina E.....	33
3.2 Receptor de alta afinidad (FcεRI) .....	34

3.3 Receptor de baja afinidad FcεRII (CD23).....	36
3.4 Mastocitos y basófilos.....	36
3.5 Fase de sensibilización:.....	38
3.6 Activación de basófilos y mecanismo de degranulación.....	40
3.6.1 Mediadores liberados por los mastocitos o basófilos.....	42
3.6.1.1 Mediadores preformados.....	42
3.6.1.2 Mediadores formados de <i>novo</i> .....	45
3.6.1.4 Quimiocinas.....	47
<b>4. MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA RESPUESTA ALÉRGICA.....</b>	<b>47</b>
4.1 La marcha atópica.....	49
<b>5. DIAGNÓSTICO DE LAS ENFERMEDADES ALÉRGICAS.....</b>	<b>50</b>
5.1 Historia Clínica.....	50
5.2 Examen Físico.....	50
5.3 Pruebas diagnósticas.....	51
5.3.1 Pruebas <i>in vivo</i> .....	52
5.3.1.1 Pruebas cutáneas.....	52
5.3.2 Pruebas <i>in vitro</i> .....	54
5.3.2.1 Cuantificación de IgE total y específica.....	54
5.3.2.2 Prueba de degranulación de basófilos.....	55
5.3.2.3 “Test” de activación de basófilos (TAB).....	56
<b>6. TRATAMIENTO EN EL CONTROL DE LA ALERGIA.....</b>	<b>56</b>
6.1 Inmunoterapia.....	57
<b>7. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>59</b>
<b>8. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>59</b>
<b>9. OBJETIVOS.....</b>	<b>60</b>
9.1 Objetivo General.....	60
9.2 Objetivos Particulares.....	60
<b>10. HIPOTÉISIS.....</b>	<b>61</b>
<b>11. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>61</b>
11.1 Criterios de inclusión.....	62
11.2 Criterios de no inclusión.....	62
<b>12. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>63</b>
12.1 Colecta del “pool” de escamas humanas.....	63

12.2 Cuantificación de proteínas .....	63
12.3 Realización de las pruebas cutáneas.....	64
12.4 Obtención de la muestra.....	65
12.5 Prueba de degranulación de basófilos .....	65
<b>13. RESULTADOS.....</b>	<b>67</b>
13.1 Análisis estadístico.....	73
13.2 Género de la población.....	73
13.3 Edades de la población.....	74
13.4 Padecimientos alérgicos en la población de estudio .....	75
13.5 Resultados de reactividad a escamas humanas.....	77
<b>14. DISCUSIÓN.....</b>	<b>87</b>
<b>15. CONCLUSIONES.....</b>	<b>94</b>
<b>16. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>95</b>
<b>17. ANEXOS .....</b>	<b>100</b>
<b>17.1 REACTIVOS.....</b>	<b>102</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Tipos de hipersensibilidad.....	14
<b>Cuadro 2.</b> Genes involucrados en el desarrollo de atopia .....	18
<b>Cuadro 3.</b> Alérgenos de los ácaros <i>D. pteronyssinus</i> y <i>D. farinae</i> .....	29
<b>Cuadro 4.</b> Alérgenos de origen humano.....	30
<b>Cuadro 5.</b> Propiedades fisicoquímicas de la IgE.....	33
<b>Cuadro 6.</b> Características de los tipos de mastocitos .....	37
<b>Cuadro 7.</b> Tipos de receptores de Histamina. ....	43
<b>Cuadro 8.</b> Citocinas implicadas en la alergia .....	46
<b>Cuadro 9.</b> Quimiocinas implicadas en la alergia.....	47
<b>Cuadro 10.</b> Enfermedades alérgicas y sus características .....	48
<b>Cuadro 11.</b> Pruebas para el diagnóstico de la alergia.....	51
<b>Cuadro 12.</b> Interpretación de la respuesta alérgica en pruebas cutáneas. ....	53
<b>Cuadro 13.</b> Preparación de las diluciones de escamas humanas. ....	66
<b>Cuadro 14.</b> Reporte general de resultados.....	68
<b>Cuadro 15.</b> Reporte de resultados de pacientes sin reactividad al ácaro o al polvo casero. 72	
<b>Cuadro 16.</b> Distribución de los pacientes estudiados de acuerdo al género.....	73
<b>Cuadro 17.</b> Distribución etaria por décadas. ....	74
<b>Cuadro 18.</b> Comparación de diferentes diluciones contra el control negativo .....	78
<b>Cuadro 19.</b> Correlaciones de Pearson .....	84
<b>Cuadro 20.</b> Correlación de Kendall y Spearman.....	85
<b>Cuadro 21.</b> Autorreactividad a escamas humanas por diagnósticos. ....	86

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Triada ecológica de la alergia. ....	17
<b>Figura 2.</b> Principales componentes del polvo casero .....	24
<b>Figura 3.</b> Ecología de los ácaros del polvo casero .....	26
<b>Figura 4.</b> Acontecimientos en las reacciones de hipersensibilidad inmediata.....	32
<b>Figura 5.</b> Estructura de la IgE.....	34
<b>Figura 6.</b> Estructura del Receptor de alta afinidad (FcεRI).....	35
<b>Figura 7.</b> Morfología del Mastocito y Basófilo .....	38
<b>Figura 8.</b> Fase de sensibilización.....	39
<b>Figura 9.</b> Mecanismo de degranulación.....	41
<b>Figura 10.</b> Estructura química de la Histamina. ....	42
<b>Figura 11.</b> La marcha atópica .....	49
<b>Figura 12.</b> Prueba de degranulación de basófilos.....	55
<b>Figura 13.</b> Obtención de antígeno de escamas humanas. ....	64
<b>Figura 14.</b> Prueba de punción de Prick.....	65
<b>Figura 15.</b> Basófilos en la PDB vistos a 100X. ....	67
<b>Figura 16.</b> Distribución de pacientes por edades de acuerdo al género.....	75
<b>Figura 17.</b> Distribución de frecuencia de enfermedades alérgicas en la población.....	76
<b>Figura 18.</b> Distribución de proporción de reactividad alérgica de los pacientes .....	77
<b>Figura 19.</b> Pacientes alérgicos al acaro con autorreactividad a las escamas humanas .....	77
<b>Figura 20.</b> Frecuencia de positividad de las tres concentraciones de antígeno de EH .....	79
<b>Figura 21.</b> Porcentajes de positividad a las escamas con las concentraciones evaluadas ..	80
<b>Figura 22.</b> Distribución de positividades de acuerdo a la edad. ....	80
<b>Figura 23.</b> Frecuencia de autorreactividad a escamas humanas en relación al género.....	81
<b>Figura 24.</b> Distribución de edad de acuerdo al género en pacientes autorreactivos.....	82
<b>Figura 25.</b> Distribución de autorreactividad a EH según género y grado de reactividad...83	
<b>Figura 26.</b> Autorreactividad a escamas humanas de acuerdo al diagnóstico. ....	86

## LISTADO DE ABREVIATURAS

**ADAM 33:** Traducción del inglés: Desintegrin and metalloproteinase domain containing protein 33.

**Ag:** Antígeno.

**AHA:** Anemia Hemolítica Autoinmune.

**Bla:** Alérgenos del género *Blatella*.

**Blö:** Alérgenos provenientes de *Blomia*.

**C3a:** Componente 3 activado del complemento.

**C5a:** Componente 5 activado del complemento.

**Can:** Alérgenos provenientes de *Canis familiaris*.

**CD:** Determinante de la complementariedad.

**COX:** Cicloxigenasa.

**CTLA:** Antígeno de linfocito T citotóxico.

**DAG:** Diacilglicerol.

**D.A:** Dermatitis atópica.

**Der:** Alérgenos provenientes de *Dermatophagoides*.

**EH:** Escamas Humanas.

**Fc:** Fracción cristalizable para anticuerpos.

**FcεRI:** Receptor de alta afinidad para IgE.

**FcεRII:** Receptores de baja afinidad para IgE.

**Fel:** Alérgenos provenientes de *Felis domesticus*.

**FSH:** Hormona Folículo Estimulante.

**G:** Gravedades.

**GM-CSF:** Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos.

**GPCR:** Receptores acoplados a proteínas G.

**Hom:** Alérgenos provenientes de *Homo sapiens*.

**IFN:** Interferón.

**IgA:** Inmunoglobulina A.

**IgE:** Inmunoglobulina E.

**IgG:** Inmunoglobulina G.

**IL:** Interleucina.

**ITAM:** Motivo de Activación de Inmunoreceptores basado en Tirosina.

**IUIS:** International Union of Immunological Societies.

**K<sub>d</sub>:** Constante de disociación.

**kDa:** Kilodaltones.

**LH:** Hormona luteinizante.

**LO:** Lipoxigenasa.

**LTB<sub>4</sub>:** Leucotrieno B<sub>4</sub>.

**LTC<sub>4</sub>:** Leucotrieno C<sub>4</sub>.

**M:** Molar.

**MAO:** Monoamina oxidasa.

**mm:** Milímetros.

**NF- $\kappa$ B:** Factor nuclear kappa B.

**NOS:** Óxido Nítrico Sintasa.

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**PAF:** Factor Activador de Plaquetas.

**PAMP:** Patrones Moleculares Asociados a Patógenos.

**PDB:** Prueba de Degranulación de basófilos.

**PGD<sub>2</sub>:** Prostaglandinas.

**PKC:** Proteína Cinasa C.

**R.A.:** Rinitis Alérgica.

**Rat:** Alérgenos provenientes de la rata.

**SNC:** Sistema Nervioso Central.

**TCR:** Receptores de linfocitos T.

**TGF:** Factor Transformador de Crecimiento.

**TNF:** Factor de Necrosis Tumoral.

**Th:** Linfocitos T cooperadores.

**Sx:** Síndrome.

**VCAM1:** Molécula de adhesión vascular 1.

**VIP:** Péptido Intestinal Vasoactivo.

**VRS:** Virus Respiratorio Sincicial.

**$\mu$ m:** Micrómetros.

## RESUMEN

El término de autorreactividad se planteó entre 1920 y 1930 cuando los investigadores Storm Van Leuween y Keller demostraron independientemente, que pacientes con atopia grave, pueden llegar a presentar reacciones de hipersensibilidad inmediata contra extractos acuosos de escamas humanas (Cipriani, *et al.* 2014). Fue así como se originó la idea de que la autoinmunidad pudiera tener relación con la hipersensibilidad. Así mismo la alergia a los ácaros se ha considerado uno de los padecimientos más importantes en México y a nivel mundial. En las deposiciones del ácaro es posible encontrar la mayor parte de los alérgenos incluidas proteínas de origen humano. Éstos por su pequeño tamaño de partícula fácilmente son aerolizados y capaces de entrar a las vías respiratorias, produciendo reacciones alérgicas (Colloff, 2009).

En la presente investigación se determinó si los pacientes alérgicos a los ácaros presentaban autorreactividad a un “pool” de escamas humanas utilizando la técnica *in vitro* de degranulación de basófilos, con el propósito de determinar el papel de las escamas humanas en la patogenia de las alergias.

Se estudió un total de 133 pacientes con tres cruces o más de reactividad a los ácaros (*Dermatophagoides pteronyssinus* y *Dermatophagoides farinae*) resultados de la aplicación de las pruebas cutáneas, procedimiento que se realizó en la sección de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital Juárez de México. Posteriormente se les tomó una muestra sanguínea y se le realizó a cada una la prueba de degranulación de basófilos.

Los resultados obtenidos fueron que el 58% de los pacientes alérgicos a los ácaros presentaron reactividad a las escamas humanas. Se encontró que es más común en el género

femenino, donde se presentaron los mayores grados de respuesta. El principal alérgeno asociado fue *D. pteronyssinus*, y a diferencia de estudios anteriores (que apuntaban a dermatitis atópica) la entidad clínica asociada en este trabajo fue el asma bronquial. Esta es una evidencia de la existencia de autorreactividad en pacientes alérgicos y probablemente de tipo autoinmune. Queda por realizar más estudios que confirmen ésta hipótesis.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Hipersensibilidad

Antes del siglo XX, se relacionaba al sistema inmunitario con mecanismos de protección, debido al descubrimiento de las vacunas, el conocimiento acerca de los anticuerpos y las células de defensa, que se sabía que tenían como fin combatir las enfermedades. Sin embargo, gracias a los estudios realizados por diferentes investigadores hoy se sabe que, cuando la respuesta inmunitaria se controla de manera inadecuada, se puede producir daño e incluso la muerte (Salinas, 2010 y Roitt, 2010).

El término *hipersensibilidad* se ha utilizado para describir la excesiva o inadecuada respuesta inmunitaria frente a antígenos ambientales, habitualmente no patógenos, que causa inflamación y daño tisular, así como mal funcionamiento orgánico (Roitt, 2010 y Cardona, 2010). Surge de la definición clínica de la inmunidad como “sensibilidad” que se basa en la observación de que un sujeto que se ha expuesto a un antígeno exhibe una reacción detectable a encuentros posteriores con ese antígeno (Abbas, 2004).

En 1963 Gell y Coombs propusieron la primera clasificación de cuatro mecanismos inmunológicos de daño celular como se muestra en el Cuadro 1. Las enfermedades por hipersensibilidad se clasifican en función del tipo de respuesta inmunitaria de los mecanismos efectores responsables de las lesiones celulares y tisulares. Cabe mencionar los diferentes mecanismos inmunitarios causan trastornos con características clínicas y anatomopatológicas distintas. Tienden a ser complejas ya que presentan combinaciones de respuestas humorales y celulares y múltiples mecanismos efectores (Abbas, 2004).

**Cuadro 1. Tipos de hipersensibilidad**

<b>Tipo</b>	<b>Mecanismo</b>	<b>Ejemplo</b>
<b>I</b>	Se debe a la liberación de mediadores por parte de basófilos y mastocitos sensibilizados por IgE tras contacto con el antígeno.	Asma, rinitis alérgica, anafilaxia.
<b>II</b>	Está implicado un anticuerpo que fija el complemento, con la consiguiente lisis celular o mecanismos de citotoxicidad celular mediada por anticuerpos.	AHA, Púrpura trombocitopénica idiopática.
<b>III</b>	Se asocia con complejos antígeno-anticuerpo solubles componentes del complemento activados, quimiotaxis de polimorfonucleares y la consiguiente vasculitis	Enfermedad del suero Reacción de Arthus.
<b>IV</b>	Se debe a la liberación de linfocinas (que afectan a otras células y producen respuesta celular caracterizada por una lesión tisular por los linfocitos T sensibilizados (CD4+Th1) después de entrar en contacto con el antígeno. La lesión directa de la célula diana por los linfocitos T citotóxicos (CD8) también puede lesionar el tejido hospedero.	Dermatitis de contacto Sx. de Steven Johnson Hepatitis Asma y rinitis crónica

(Porter, 2006)

### 1.1.2 Hipersensibilidad tipo 1

También es llamada Alergia, la cual proviene del griego *αλλεργία* —*allergia*— y de *αλλος* —‘diferente’—, y *εργία*—‘reacción’—; que significan «reacción extraña o diferente». Este término fue definido inicialmente por Clemens Von Pirquet y lo que quería describir era que los tejidos sometidos por más de una vez a una sustancia antigénica respondían de una manera diferente a la primera ocasión en la que estuvieron en contacto con el antígeno. (Vilchis, 2012 y Canseco, 2003)

La hipersensibilidad tipo 1 también es llamada de tipo inmediata porque se presenta en cuestión de minutos (15 aproximadamente) después del contacto con el antígeno, en este caso llamado alérgeno, y la inmunoglobulina IgE en individuos previamente sensibilizados con el antígeno (Salinas, 2010 y Cardona, 2010). Los mecanismos inmunológicos serán explicados más adelante.

### 1.1.3 Epidemiología de la Alergia

Las enfermedades alérgicas constituyen una de las patologías crónicas y recurrentes más frecuentes en el mundo. Se estima que aproximadamente el 20% de la población mundial padece de alguna enfermedad mediada por IgE tal como asma, rinitis, conjuntivitis, rinoconjuntivitis, eccema atópico, anafilaxia, entre otros y según la OMS el asma afecta a más de 200 millones de personas alrededor del mundo. Así mismo esta organización sitúa a las enfermedades alérgicas en el cuarto lugar de la lista de enfermedades mundiales y considera que representan “un importante problema para la sanidad pública tanto a nivel de calidad de vida como de pérdida de jornadas laborales o escolares, costo en medicamentos e incluso mortalidad” (Vilchis, 2012).

Las enfermedades alérgicas respiratorias se han extendido mucho entre la población durante las últimas décadas, hasta el punto de alcanzar niveles máximos en los países occidentales, donde se estima que hasta el 30% de los adultos y el 45% de los niños sufre, en un grado mayor o menor de alergias que involucran de reacciones anafilácticas mediadas por IgE contra alérgenos como pólenes, caspa de animales, heces de ácaros del polvo casero entre otros y estas cifras van en aumento (Canseco, 2003 y Roitt, 2010).

Se cree además que el principal alérgeno son los ácaros del polvo casero y que del 1 al 2% de la población mundial es alérgica a éstos (65-130 millones de personas). La rinitis alérgica es la enfermedad por hipersensibilidad tipo I con mayor prevalencia en todo el mundo, pues afecta hasta el 25% de la población (Canseco, 2003 y Cardona, 2010).

#### **1.1.4 Atopia**

Existe una predisposición familiar o genética que se presenta por la tendencia a sensibilizarse y producir anticuerpos del tipo IgE en respuesta a la exposición de alérgenos para después presentar enfermedades alérgicas como son rinitis, conjuntivitis, dermatitis o asma. Éste término fue definido por Coca y Coke en 1929, en la cual consideraban que las reacciones o manifestaciones podían ser debidas a la presencia de anticuerpos termolábiles que fueron llamados reaginas (IgE), teniendo una predisposición hereditaria a desarrollar la enfermedad. Así mismo como se muestra en la Figura 1, las enfermedades alérgicas se derivan de una compleja relación entre los factores genéticos y ambientales (enfermedades multifactoriales) que deben coexistir para su aparición (Romero. *et al*, 2007 y Romero M. , 2012).

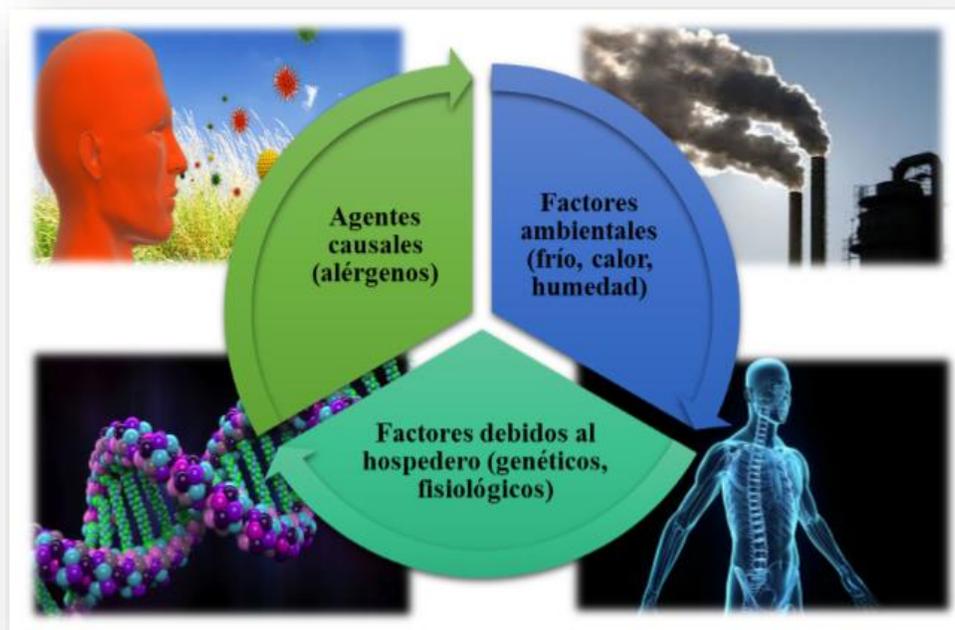


Figura 1. Triada ecológica de la alergia.

### 1.1.5 Genética de la alergia

Los genes implicados en el desarrollo de las enfermedades alérgicas no han sido definitivamente identificados, sin embargo, los estudios epidemiológicos sugieren la presencia de algunos genes que influyen en el desarrollo de las mismas. La herencia de las enfermedades alérgicas es de tipo poligénico es decir hay varios genes implicados para el desarrollo de la patología, y cuanto más ocurran en el individuo, más probable es que se desarrolle la enfermedad (Brito, 2014). En el Cuadro 2 se resumen los principales genes asociados al desarrollo de las enfermedades alérgicas.

**Cuadro 2. Genes involucrados en el desarrollo de atopía.**

<b>Cromosoma</b>	<b>Genes</b>	<b>Fenotipo</b>
<b>2 q 14-33</b>	IL-1 R, CTLA4	Asma
<b>5q 31-33</b>	Citocinas: IL-3, IL-4, IL5, IL-9, IL-13 $\beta$ -adrenorreceptor	Asma e IgE elevado
<b>6p12</b>	IL-4 R	IgE
<b>6p 21.3-23</b>	Región HLA-D	Anticuerpos IgE
<b>7p 15-14</b>	GPCR	Asma e IgE
<b>11q 13</b>	Fc $\epsilon$ RI $\alpha$	IgE elevado, Atopia
<b>12q 14.3-24.1</b>	IFN- $\gamma$ , STAT 6, NOS-1 Sintetasa.	Fenotipo alérgico IgE elevado
<b>14q 11.2</b>	TCR $\alpha$ NF-KB1	Fenotipo alérgico anticuerpos IgE
<b>19q 13.1-13.3</b>	TGF- $\beta$ 1	Asma
<b>20 p13</b>	ADAM33	Asma

(Brito, 2014 y Henry, 2006)

Algunos estudios demuestran que las probabilidades de que un individuo desarrolle alergia sin que ninguno de sus progenitores sea alérgico, es de un 15%. Si uno de sus progenitores es alérgico tiene un 40% de probabilidad de desarrollarla, si ambos padres son alérgicos tiene un 60% y si sus dos padres lo son así como un pariente próximo aumenta a un 75% (Brito, 2014 y Verloet, 2008).

Sumado a los factores genéticos, existen otros factores de riesgo que pueden ser desencadenantes de la alergia desde edades muy tempranas, como lo son conflictos gestacionales, ausencia de lactancia materna, la exposición al humo del tabaco, infecciones virales como el VRS, entre otros (Bellanti. *et al*, 2008).

### 1.1.6 Hipótesis de la higiene

Propuesta por Strachan en 1989, ésta hipótesis explica una relación entre la higiene doméstica y la alergia, respondiendo a la cuestión de que en los últimos años ha aumentado la incidencia de las alergias, principalmente en países desarrollados (Brito, 2014 y Owen, 2014).

En ésta hipótesis se explica como la disminución a la exposición de los humanos a microbios ambientales ha tenido efectos adversos sobre el sistema inmunitario. Expone que factores como asistir a guarderías desde muy pequeños, tener varios hermanos o vivir en granjas de producción lechera, así como tener contacto con animales como perros y gatos disminuye las posibilidades de padecer alergias, asma e incluso enfermedades autoinmunes (Brito, 2014 y Owen, 2014).

La base inmunológica de esta hipótesis radica en que, al estar constantemente expuestos a un aeroalérgeno en el rango de los nanogramos o microgramos, se mantiene una tolerancia inmunológica selectiva de linfocitos T CD4+/ Th2, la cual involucra la inhibición de la producción de anticuerpos IgE y estimula la producción moderada de IgG2, IgA e IgG4. Esto puede ser debido a que la exposición constante a antígenos bacterianos o PAMP, activan la inmunidad innata y la activación de los linfocitos TCD4/TH1, inhibiendo la activación de los linfocitos TH2 (Romero M. , 2012).

## 2. ALÉRGENOS

Los alérgenos son moléculas que desencadenan una respuesta inmunológica (antígeno) capaz de inducir la síntesis de anticuerpos IgE y por lo tanto sensibilizar a individuos con tendencia a desarrollar enfermedades alérgicas (Romero M. , 2012 y García, 2015).

Para que una partícula sea considerada un alérgeno, debe de tener ciertas características fisicoquímicas tales como:

- ✓ Naturaleza proteínica o glico-proteínica
- ✓ Hidrosolubles.
- ✓ Tamaño de partícula 5-60 micras
- ✓ Bajo peso molecular, aproximadamente 5 a 70kDa
- ✓ Tener un mínimo de 30 aminoácidos residuales
- ✓ Tener al menos dos sitios de unión(epítomos) con la IgE

## 2.1 Actividad Biológica

Los alérgenos presentan diversa actividad biológica, principalmente enzimática de tipo proteasa, como es en el caso de Der p1 o Der f1 (alérgenos de los ácaros del polvo casero) así como actividad de carbohidrasa, lipasa, ribonucleasa, oxidoreductasa y transferasa. También hay inhibidores de enzimas (tripsina,  $\alpha$ -amilasa, y cisteína proteasa) algunos tienen la acción capaces de unir y transportar calcio, retinol, hemoglobinas, citocromo C, lípidos, ácidos grasos o esteroides como las lipocalinas como es en el caso de Can f1 y Can f2 (alérgeno del perro), Mus m1(alérgeno del ratón), Rat n1 (alérgeno de la rata).Así mismo tenemos proteínas reguladoras (los que se unen a la actina y proteínas de choque térmico); homólogos a la fosfoproteína ácida ribosomal P2, y otras funciones biológicas (proteínas que confieren resistencia a las enfermedades en las plantas, lectinas, proteínas con actividad citolítica) (Romero M. , 2012 y San Juan. *et al* , 1998).

## 2.2 Denominación Científica

Según criterios del Subcomité de Nomenclatura de Alérgenos de la IUIS-OMS, las proteínas alérgicas se denominan oficialmente con las tres primeras letras del género taxonómico, la primera de la especie, y un número otorgado cronológicamente, que también define los grupos transversales de alérgenos homólogos pertenecientes a diferentes especies taxonómicas. Por ejemplo: Der p 1 (primer alérgeno caracterizado del ácaro del polvo *D. pteronyssinus*) (King. *et al*, 1995, Cardona, 2010 y Ecured.cu, 2015).

## 2.3 Clasificación

Existen diversas formas de clasificar a los alérgenos, como, por ejemplo, por su origen: Polínico, Fúngico o animal (Vilchis, 2012), sin embargo, la más utilizada es la clasificación por su exposición o vía de entrada como se explica a continuación:

### 2.3.1 Aeroalérgenos

Los Aeroalérgenos son alérgenos diseminados en el aire, que debido a su pequeño tamaño de partícula les da la capacidad de permanecer suspendidos en el aire (Romero M. , 2012).

Estos tienden a dar lugar a enfermedades alérgicas en los órganos diana expuestos como son afectaciones en ojos conjuntivitis, afectaciones en nariz como son rinitis, pólipos sinusitis y afectación en bronquios como es el asma (Romero M. , 2012 y Ecured.cu, 2015).

Los Aeroalérgenos a la vez pueden ser:

- **Exteriores:** pólenes (los más frecuentes: olivo, parietaria y gramíneas), hongos aerógenos, (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*) (Romero M. , 2012).

- **Interiores:** Ácaros del polvo casero, pelos, escamas, saliva, orina o heces de animales de compañía, hongos de casa, así como alérgenos de sitios laborales como harinas, maderas, solventes y celulosa (Ecured.cu, 2015).

Los Aeroalérgenos a su vez pueden subdividirse en dos grupos:

- **Alérgenos estacionales:** Son aquellos alérgenos que se encuentran presentes en ciertas estaciones del año debido a la polinización de malezas o árboles (Vilchis, 2012)
- **Alérgenos Perennes:** Son aquellos que encontramos presentes todo el año, como es el caso de pelo o caspa animal, así como los ácaros del polvo casero (Vilchis, 2012).

### 2.3.2 Alérgenos de contacto

Entre ellos tenemos alérgenos que al entrar en contacto con la piel causan reacciones de hipersensibilidad, tales como cremas o lociones de uso tópico, metales, látex, pastos, telas. Estos alérgenos pueden causar enfermedades como dermatitis atópica, eccema de contacto, urticaria o angioedema (San Juan. *et al*, 1998 y Muñoz, 2009).

### 2.3.3 Alérgenos ingeribles

Son aquellos que al ser ingeridos causan reacciones de hipersensibilidad, entre ellos destaca la alergia alimentaria, especialmente a las proteínas de la leche, la albúmina del huevo, verduras, frutos carnosos, secos, pescado, mariscos, moluscos y crustáceos. También aquí se incluye a algunos medicamentos tomados, especialmente los antibióticos (betalactámicos) y los analgésicos (pirazolonas y aspirina). Esto alérgenos tienden a causar reacciones de hipersensibilidad aguda, con manifestaciones como urticaria y / o angioedema, asma bronquial, rinoconjuntivitis y/o anafilaxia (San Juan. *et al*, 1998 y Muñoz, 2009).

### 2.3.4 Alérgenos por inoculación

Entre ellos tenemos a medicamentos inyectados, así como los venenos de insectos como es en el caso de himenópteros como la avispa o la abeja (San Juan. *et al*, 1998 y Muñoz, 2009).

### 2.3.5 Alérgenos endógenos

En esta clasificación se encuentran los alérgenos de origen humano. Éstos son proteínas intracelulares liberados al exterior al haber daño tisular. Entre ellos tenemos al Hom s1, Hom s2, Hom s3 y Homs4 (Romero M. , 2012 y Vilchis, 2012).

## 2.4 Polvo casero

Fue en 1964 que un grupo de médicos confirmaron que el polvo casero era una fuente de alérgenos capaz de inducir reacciones alérgicas. Hoy en día este es considerado el principal aeroalérgeno de los interiores debido a su amplia variedad antigénica. Sus componentes tienden a cambiar, dependiendo de la zona geográfica, así como de la habitación donde éste se encuentre. Entre los principales componentes de polvo casero se pueden ver en la Figura 2 y se encuentran los ácaros de las especies: *D. pteronyssinus* (Der p1, Der p II), *D. farinae* (Der f I, Der f II) principalmente y algunas veces de los *Blomia tropicalis* (Blo t1). También se pueden encontrar restos de insectos como la cucaracha: *Blatella germanica* (Bla gI, Bla g II), *Periplaneta americana*, caspa y pelos de animales domésticos como Gato (Fel dI) y Perro (Can fI); Hongos y sus esporas de los géneros *Penicillium*, *Aspergillus* y *Cladosporium*, agentes contaminantes exteriores como humo de autos o cigarrillos, así como polen, pelos o caspa de ratones de vida libre, entre otros (Romero M. , 2012 y Colloff, 2009).

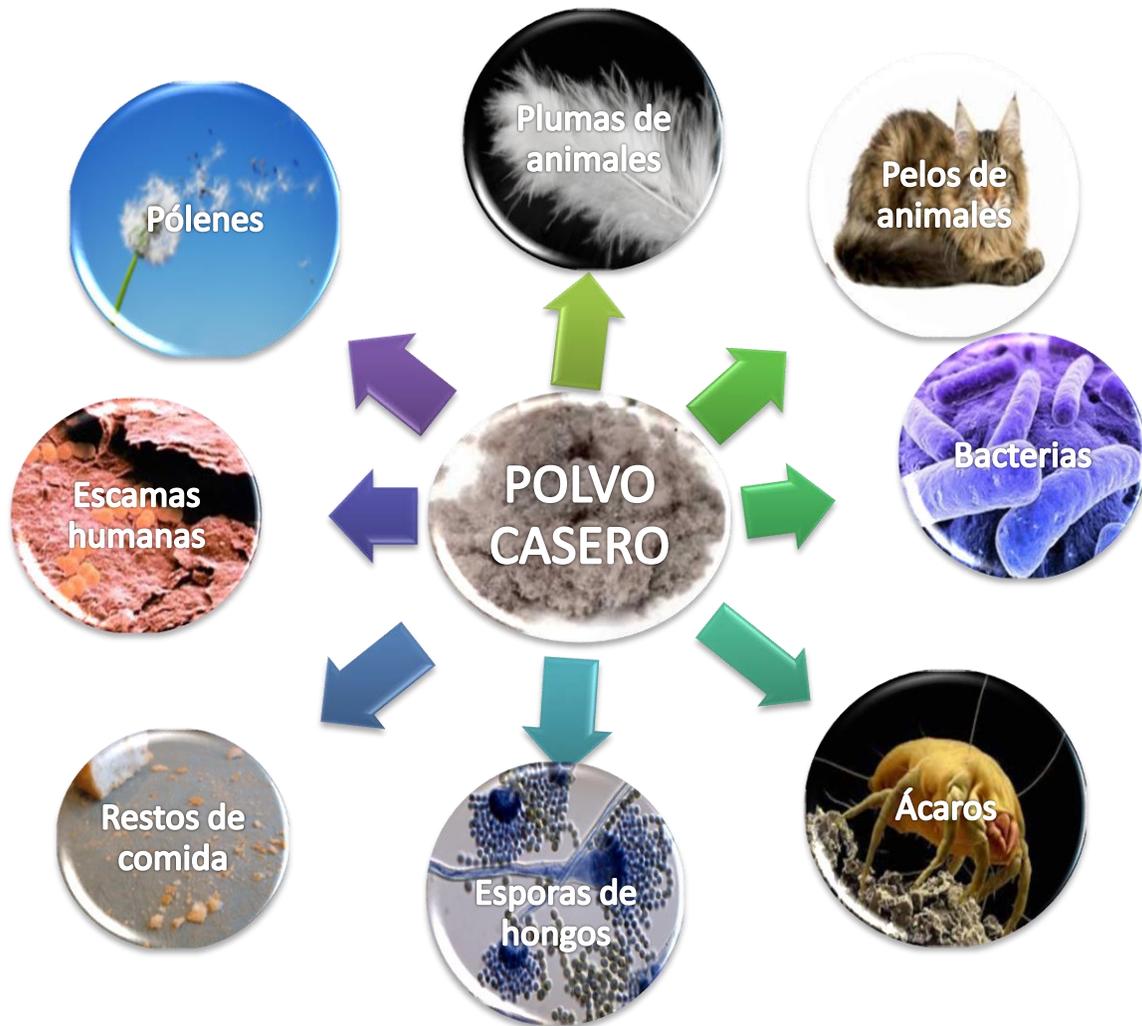


Figura 2. Principales componentes del polvo casero (Romero M. , 2012)

## 2.5 Escamas humanas

Las escamas humanas provienen de la capa externa de la piel o epidermis, la cual está formada por cuatro tipos celulares: células productoras de queratina (queratinocitos) los cuales dan protección y rigidez a la piel; melanocitos, encargadas de dar la pigmentación; células de Merkel, las cuales dan las sensaciones y células de Langerhans encargadas de la respuesta inmunitaria (Kurmar. *et al*, 2007). Estas vienen siendo de gran importancia ya que

juegan el papel del reconocimiento de patógenos y la iniciación de la respuesta innata (Cipriani. *et al*, 2014). De la epidermis se desprenden millones de células muertas, y el humano pierde 1.5 gramos de éstas diariamente (UNAM, 2015).

## 2.6 Ácaros del polvo casero

La asociación entre los ácaros y el hombre comenzó probablemente cuando los humanos se hicieron sedentarios y con el comienzo de la agricultura, sin embargo, no hay registros de que en ese tiempo haya habido enfermedades alérgicas o asma asociados a éstos. Se han encontrado ácaros y sus productos que datan del neolítico en Europa, así como en humanos momificados. Ácaros del polvo casero han sido hallados en viviendas de tribus de Papúa Nueva Guinea, aunque las poblaciones de ácaros empezaron a crecer cuando se empezaron a usar mantas para cubrirse al estilo occidental (Colloff, 2009).

En 1928 se sugirió por primera vez el papel de los ácaros en la alergia al polvo por H. Dekker, tras encontrar un gran número de ácaros no identificados en el polvo doméstico, sobre todo en los colchones, y al observar que los pacientes alérgicos tenían menos síntomas en un ambiente sin ácaros (García, 2015 y Colloff, 2009).

Los ácaros son insectos microscópicos de 0.33 mm de diámetro que pertenecen al *phylum* de los artrópodos que pertenecen a la clase *Arachnida* y al orden *acarina*. Carecen de segmentación abdominal y con el cuerpo formado por la fusión del cefalotórax y el abdomen, tiene una región portadora de piezas bucales llamada gnatosoma (García, 2015 y Olala. *et al*, 2008).

Las principales especies de ácaros implicados en las alergias son los del género *Dermatophagoides*. Principalmente *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides*

*farinae* y *Blomia tropicalis*. El *D. farinae* es más común encontrarlo en Europa continental y Norteamérica, *B. tropicalis* es más común encontrarlo en zonas tropicales (Colloff, 2009).

### 2.6.1 Ecología

Los ácaros del polvo se encuentran en el polvo de todas las casas, especialmente en el que tiende a acumularse en colchones, almohadas, telas, alfombras, peluches y muebles. El polvo casero le brinda además el principal alimento: las escamas de piel humana. El microambiente de los ácaros debe constar de 3 macromoléculas: Queratina, celulosa y quitina. El polvo casero contiene un alto grado de escamas humanas (donde obtienen la queratina) hifas de hongos (donde obtienen la quitina) y materiales fibrosos industriales (donde obtienen la celulosa), otros componentes incluyen diversas partículas minerales y materiales de construcción fibras de madera y papel, plásticos y partículas de alimentos (Olala. *et al*, 2008 y Romero M. , 2012).

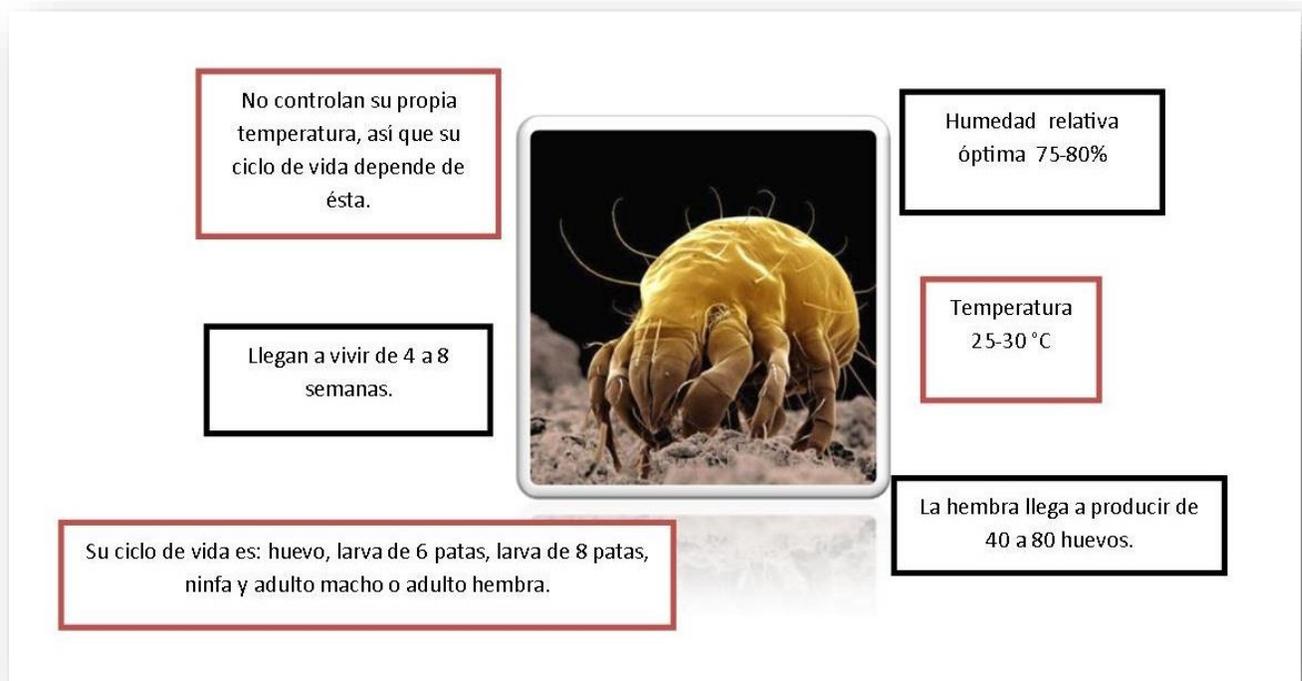


Figura 3. Ecología de los ácaros del polvo casero. (Colloff, 2009)

No se sabe exactamente el número de ácaros que se encuentran en los colchones, y este tiende a variar según la época del año. Es más común encontrar un mayor número en climas húmedos que en climas secos y esta alergia tiende a disminuir también en los lugares montañosos o continentales que en lugares de bajas latitudes o al nivel del mar (Olala. *et al*, 2008).

La pérdida de agua del ácaro limita su crecimiento y reproducción. Los ácaros sobreviven a fluctuaciones de humedad y temperatura realizando excavaciones en el fondo del colchón donde la humedad puede ser retenida o tienden a agruparse con el fin de prevenir la pérdida de agua. Adicionalmente tienen un mecanismo muy simple para extraer el agua del ambiente y evitar que la humedad o el agua retenida se evaporen. Tienen una glándula que contiene  $\text{Na}^+$  y  $\text{KCl}$ , y este fluido le ayuda a absorber el agua del aire y cuando la humedad baja, el agua se evapora de las glándulas y las sales se cristalizan bloqueando la entrada de la glándula reduciendo la pérdida de agua. Cuando la humedad vuelve a aumentar la sal se redisuelve y el agua es absorbida por las sales higroscópicas para evitar la pérdida de agua durante el periodo seco (Romero M. , 2012).

### **2.6.2 Alérgenos de los ácaros**

Los alérgenos de los ácaros se encuentran principalmente en las heces y en el cuerpo del insecto, como por ejemplo Der f1 (glicoproteína procedente de las excretas del ácaro) y Der p2 (proteína procedente del cuerpo del ácaro). El ácaro al alimentarse de las escamas de piel humana, una vez que las digiere, excreta las heces, las cuales contienen grandes cantidades de enzimas digestivas y estas excretas se acumulan en los textiles donde viven los ácaros. Las partículas alérgicas suelen medir de 20 a 50 micrómetros de diámetro por lo que fácilmente tienden a volatilizarse, especialmente al momento de realizar el aseo en los

hogares, por ejemplo, al tender las camas o barrer, éstos se aerolizan y son inhalados (Zendejas, 1997).

Los alérgenos de los ácaros (Cuadro 3) tienen distintas actividades biológicas importantes como Der p1, que es una enzima digestiva, en este caso en especial se ha observado que es capaz de destruir diversos receptores del sistema inmunológico, tanto de la respuesta innata como de la respuesta adquirida. Causa el desprendimiento de las células del epitelio de la tráquea canina en preparaciones *in vitro* y que también causa lesión epitelial sin citólisis en preparaciones de las vías aéreas bovinas, lo cual sugiere una acción específica del Der p 1 sobre la unión del epitelio a la membrana basal, lo que resultaría en un aumento de la permeabilidad a éste a través del clivaje de ocludinas y otras moléculas de adhesión intercelular. Además, por su actividad enzimática, Der p 1 separa al CD23 de la membrana de los linfocitos B, alterando así la regulación de la producción de IgE. Esto explica que la actividad enzimática de este alérgeno influye en la patogénesis del asma alérgica. Otros alérgenos son enzimas funcionales como la amilasa (grupo 4). Los alérgenos del grupo 2 no son encontrados en grandes concentraciones en la materia fecal, probablemente se derivan de otra fuente que no es el intestino. Los alérgenos del grupo 10 y 11 forman parte del citoesqueleto ( $\alpha$ -tubulina) o participan en procesos de motilidad celular. Otros alérgenos se desconocen su función biológica y aún no han sido caracterizados (Romero M. , 2012, Cardona, 2010 y San Juan. et al, 1998).

**Cuadro 3. Alérgenos de los ácaros *Dermatophagoides pteronyssinus* y *Dermatophagoides farinae*.**

Grupo	Alérgeno	PM (kDa)	Actividad Biológica
I	Der p1	24 kDa	Cistein-proteasa
	Der f1	25 kDa	Cistein-proteasa
II	Der p2	14 kDa	Cistein-proteasa
	Der f2	14 kDa	Cistein-proteasa
III	Der p3	30 kDa	Tripsina
	Der f3	30 kDa	Serina-proteasa
IV	Der p4	56 a 63 kDa	Amilasa
V	Der p5	13 kDa	Polipéptido
VI	Der p6	25 kDa	Quimiotripsina
	Der f6	25 kDa	Quimiotripsina
VII	Der p7	22 kDa	-----
	Der f7	30-31 kDa	-----
VIII	Der p8	25 kDa	Glutación-transferasa
	Der f8	32kDa	Glutación-transferasa
IX	Der p9	24 kDa	Serina-proteasa
X	Der p10	36 kDa	Tropomiosina
	Der f10	37 kDa	Tropomiosina
XI	Der p11	103 kDa	Paramiosina
	Der f11	98 kDa	Paramiosina
XIII	Der f13	-----	Proteína de unión a ácidos grasos
XIV	Der p14	177 kDa	Apolipoporina
	Der f14	177 kDa	Apolipoporina
XV	Der p15	-----	Proteína parecida a citinasa
	Der f15	98-109 kDa	Citinasa
XVI	Der f16	53 kDa	Gellsolin/Villin
XVII	Der f17	53 kDa	Proteína de unión a calcio
XVIII	Der p18	-----	Proteína de unión a quitina
	Der f18	60 kDa	Proteína de unión a quitina
XX	Der p20	-----	Arginina-cinasa
	Der f20	40 kDa	Arginina- cinasa
XXI	Der f21	14 kDa	-----
XXIII	Der p23	14 kDa	Dominio de periproteína
XXIV	Der f24	14 kDa	Proteína homologa ligando de ubiquitina y citocromo c
XXV	Der f25	35 kDa	Trifosfatoisomerasa
XXVI	Der f26	18 kDa	Miosina alcalina de cadena ligera
XXVII	Der f27	48 kDa	Serina proteasa
XXVIII	Der f28	70 kDa	Proteína de choque térmico
XXIX	Der f29	16 kDa	Ciclofilina
XXX	Der f30	16 kDa	Ferritina
XXXI	Der f31	15 kDa	Cofilina
XXXII	Der f32	35 kDa	Pirofosfatasa inorgánica secretada
XXXIII	Der f33	52 kDa	Alfa-tubulina

## 2.7 Alérgenos de origen humano o autoalérgenos

Los alérgenos de origen humano o autoalérgenos (Cuadro 4) fueron caracterizados por (Valenta. *et al*, 1998 y Natter. *et al*, 1998) y son proteínas intracelulares expresadas en una variedad de tejidos y células con una importante función biológica y fisiológica (Vilchis, 2012). Además, se ha demostrado la presencia de autoanticuerpos de IgE e IgG tanto en padecimientos alérgicos como en padecimientos autoinmunes. Los autoalérgenos son liberados tras el daño tisular inducido por la inflamación, y son capaces de alcanzar la circulación y unirse a anticuerpos IgE (García, 2015).

**Cuadro 4. Alérgenos de origen humano**

Alérgeno	PM kDa	Actividad biológica
<b>Hom S1</b>	55 -60	Expresado en la epidermis y ocasionalmente en fibroblastos y células endoteliales.
<b>Hom S2</b>	N.D.	Está involucrado en la translocación de proteínas intracelulares y puede actuar como coactivador transcripcional. Induce la respuesta linfoproliferativa en la sangre con células mono nucleadas en pacientes con dermatitis.
<b>Hom S3</b>	22-23	Es el encogen BCL7B
<b>Hom S4</b>	54	Relacionado con la atopia, contiene 2 dominios de unión al calcio y está fuertemente expresado en los queratinocitos de la epidermis y en células endoteliales. Puede llegar a tener reactividad cruzada con alérgenos de plantas y peces.
<b>Hom s5</b>	N.D.	Es la citoqueratina tipo II

(Vilchis, 2012 y Allergen.org, 2015)

## 2.8 Reactividad cruzada

La reactividad cruzada se basa en la homología de secuencia peptídica y estructura de alérgenos similares provenientes de distintas fuentes, en ocasiones taxonómicamente distantes (Ecured.cu, 2015).

El conocimiento de las reactividades cruzadas es de gran importancia para el diagnóstico de las enfermedades alérgicas. Los llamados pan-alérgenos son proteínas sumamente conservadas entre especies diferentes, por ejemplo, la tropomiosina, la cual está presente en todas las células eucariotas asociadas con el filamento delgado en el músculo y microfilamento en muchas células no musculares y se asocia a la reactividad cruzada entre ácaros, crustáceos y cucarachas (Lopez E. , 2014 y Ecured.cu, 2015).

## 3. MECANISMO DE ALERGIA

Como ya se había mencionado anteriormente, para que un individuo se vuelva alérgico a un determinado antígeno, es necesario que esté presente el factor genético de atopia, así como tener la influencia de factores ambientales que lo lleven a padecer esta enfermedad. El individuo llega a tener una primera exposición al alérgeno, que se conoce como fase de sensibilización, ya sea por vía respiratoria, gastrointestinal, piel, picadura de insecto, o la inyección de algún medicamento, que lleva a la activación de linfocitos TH2 y a la producción de anticuerpos de tipo IgE, así como la unión de estos en las células cebadas. Posteriormente cuando el sujeto tenga una exposición repetida al alérgeno, se activarán los mastocitos liberando sus gránulos que contienen mediadores como aminas vasoactivas y mediadores lipídicos. Esta reacción ocurre minutos después de la exposición al alérgeno por lo que se llama reacción de hipersensibilidad inmediata (Figura 4). Las consecuencias

fisiológicas de esta reacción se manifiestan en fenómenos como edema, rinitis alérgica asma y shock anafiláctico, dependiendo del órgano diana. Posteriormente ocurre una reacción de fase tardía de 2-4 horas después de la exposición repetida al alérgeno en la cual se liberarán citocinas y quimiosinas (Valenta. *et al*, 2010):

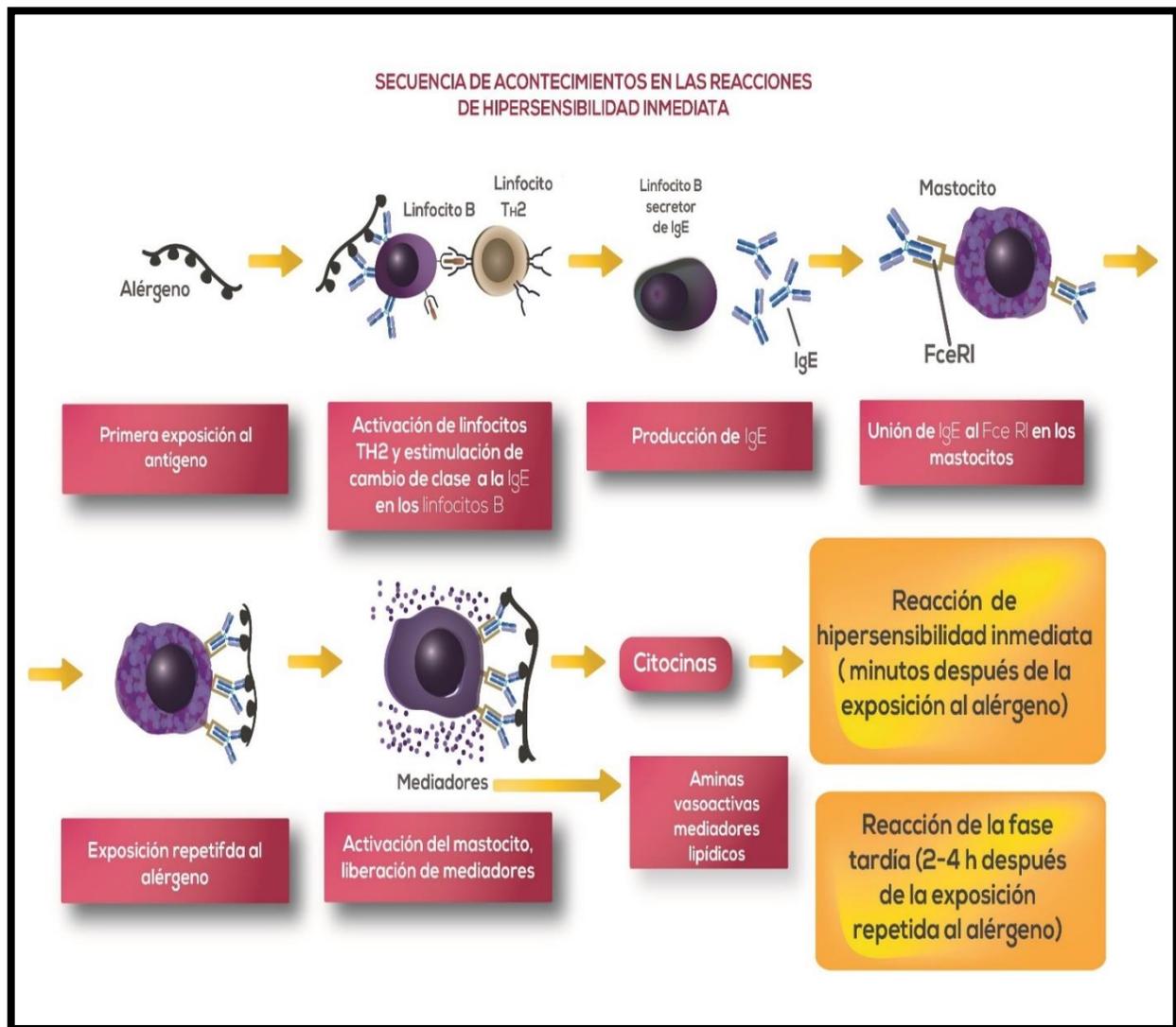


Figura 4. Acontecimientos en las reacciones de hipersensibilidad inmediata. Basado en (Abbas, 2004)

### 3.1 Inmunoglobulina E

La inmunoglobulina E es la pieza fundamental de la respuesta alérgica, fue descrita inicialmente en 1921 por Praustnitz y Kustner como el factor sérico llamado “reagina” humana que reacciona con alérgenos, pero no fue hasta 1966 cuando Teruko y Kimishigue Ishizaka pudieron aislarla e identificarla (Brito, 2014).

La IgE es una inmunoglobulina monomérica divalente, su estructura consta de dos cadenas polipeptídicas dos pesadas  $\epsilon$  y dos cadenas ligeras ( $\lambda$  o  $\kappa$ ). Se produce en el revestimiento de los tractos respiratorios e intestinales y forma parte del sistema secretor externo de anticuerpos (Brito, 2014 y Henry, 2006). Sus características fisicoquímicas se muestran en el siguiente cuadro:

**Cuadro 5. Propiedades fisicoquímicas de la IgE.**

Cadenas pesadas	$\epsilon$
<b>Formula molecular</b>	$2\epsilon+2\kappa$ o $2\lambda$
<b>Peso Molecular</b>	190 kDa
<b>Carbohidratos (%)</b>	11.7
<b>Numero de monómeros</b>	1
<b>Valencia</b>	2
<b>Fijación complementaria (clásica)</b>	Ninguna
<b>Transferencia placentaria</b>	Ninguna
<b>Vida media en suero(días)</b>	2.5
<b>Niveles en suero (UI/mL)</b>	20 – 100

(Henry, 2006 y Doan. *et al*, 2008)

De todas las inmunoglobulinas, la IgE es la que se encuentra en menor concentración en suero, sin embargo, los sujetos atópicos producen cantidades elevadas de IgE en respuesta a

alérgenos ambientales, así como en las infecciones por helmintos. La actividad biológica de la IgE radica en su propiedad de unirse mediante su región Fc a basófilos y a su equivalente en tejidos los mastocitos por medio del receptor FcεRI y de esta manera iniciar la reacción alérgica (Abbas, 2004 y Henry, 2006). Sus características estructurales se muestran en la siguiente figura:

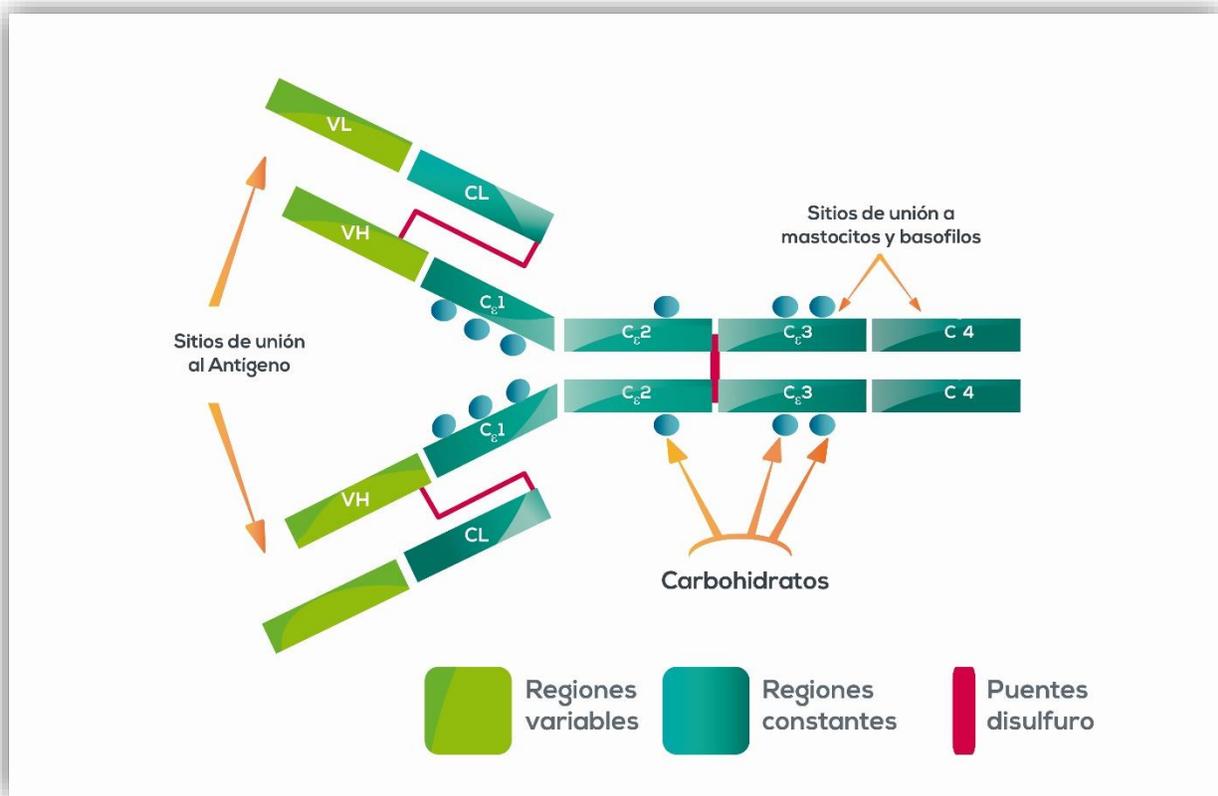
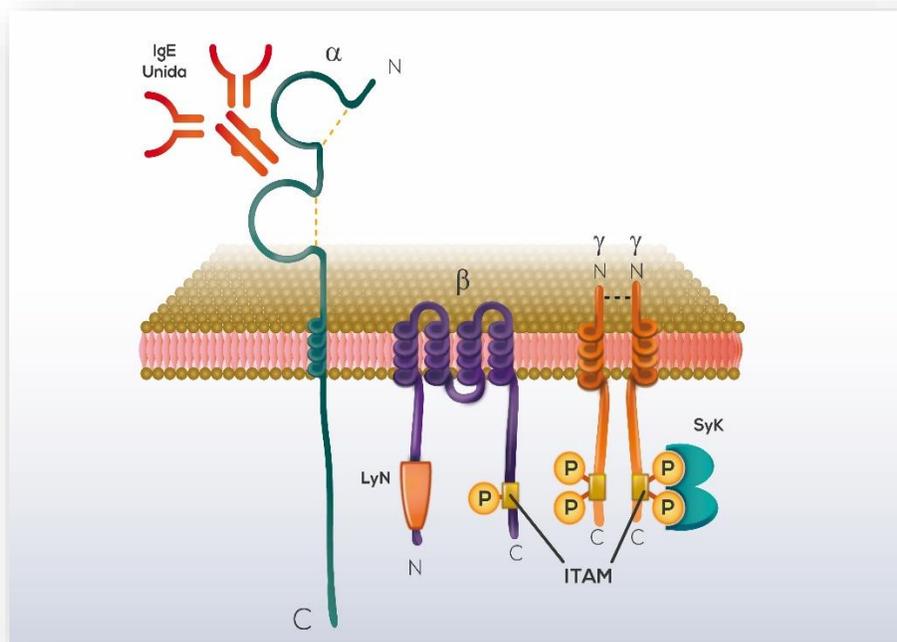


Figura 5. Estructura de la IgE

### 3.2 Receptor de alta afinidad (FcεRI)

El receptor de alta afinidad para la IgE (FcεRI) es un tetrámero que se encuentra presente en basófilos y mastocitos (Figura 6). Tiene una muy alta afinidad a la IgE, con una  $K_d$  de  $1 \times$

$10^{-10}$ M. Los mastocitos y basófilos expresan entre 40.000 y 90.000 moléculas del FcεRI en su superficie, lo que explica que la reacción de hipersensibilidad tipo 1 se lleve a cabo en minutos luego de la exposición al alérgeno. Está compuesto por cuatro subunidades: Una cadena α, una cadena β y un dímero de cadenas γ unidas por puentes disulfuro. La cadena α contiene dos dominios que interactúan con los dominios CH3 y CH4 de las cadenas pesadas de la IgE. Cada cadena γ tiene en su porción intracelular un motivo conservado de activación basado en tirosinas (ITAM) mientras que la cadena β solo contiene una en el dominio carboxilo terminal citoplasmático (Figura 6). La fosforilación de las tirosinas de la ITAM de las cadenas β y γ inicia una cascada de señales en el receptor para la activación de los basófilos o mastocitos. (Cardona, 2010, Abolk, 2004, Abbas, 2004 y Martínez, 2012)



**Figura 6. Estructura del Receptor de alta afinidad (FcεRI). Basado en (Abbas, 2004)**

### 3.3 Receptor de baja afinidad FcεRII (CD23)

Son específicos para el dominio Cε3 de las cadenas pesadas de IgE sin embargo se une a esta con una baja afinidad  $K_d$  de  $1 \times 10^{-6}$  M y su función consiste el control de la intensidad de las respuestas mediadas por la IgE. El entrecruzamiento por un alérgeno de varias moléculas de IgE unidas al FcεRII conduce a la activación de las células B, de los macrófagos alveolares y de los eosinófilos. También se puede encontrar de forma soluble, aumentando la producción de IgE en los linfocitos B. Además, este receptor en la superficie de los linfocitos B al facilitar la captura de alérgenos, procesamiento y presentación del antígeno, y amplifica la inflamación en la fase tardía de la reacción alérgica. Los individuos atópicos presentan una mayor expresión de este receptor (Cardona, 2010 y Brito, 2014).

### 3.4 Mastocitos y basófilos

Los basófilos (sangre) y mastocitos (tejidos), así como los eosinófilos son las células efectoras de las reacciones de hipersensibilidad inmediata y de las enfermedades alérgicas (Roitt, 2010).

Los mastocitos derivan de progenitores de la médula ósea. Estos migran a los tejidos periféricos en forma de células inmaduras y allí se diferencian. En la piel residen alrededor de 10,000 células por  $\text{mm}^3$ . Tienen forma globosa y un tamaño entre 10 a 12  $\mu\text{m}$ . Poseen gránulos metacromáticos que contienen moléculas vasoactivas. También liberan citosinas como IL-4, IL-5, IL-13, así como GM-CSF que estimula que estimula la diferenciación, proliferación y activación de eosinófilos, así como TNF- $\alpha$  el cual también induce la producción de otras citosinas y quimiocinas (Zubiria, 2004, Brito, 2014 y Henry, 2006).

Existen dos poblaciones de mastocitos como se muestra en el Cuadro 6, los cuales son clasificados de acuerdo a su localización anatómica, pero que presentan diferencias en el contenido de sus gránulos y por lo tanto en su actividad.

**Cuadro 6. Características de los tipos de mastocitos.**

### Mastocitos de mucosas

- **Localización:** Mucosa intestinal y espacios alveolares del pulmón
- **Contenido de sus gránulos:** Triptasa, sulfato de condroitina y bajo contenido de histamina.
- **Actividades:** Participan en enfermedades por hipersensibilidad inmediata dependientes del linfocito T y de la IgE que afectan vías respiratorias y mucosas.

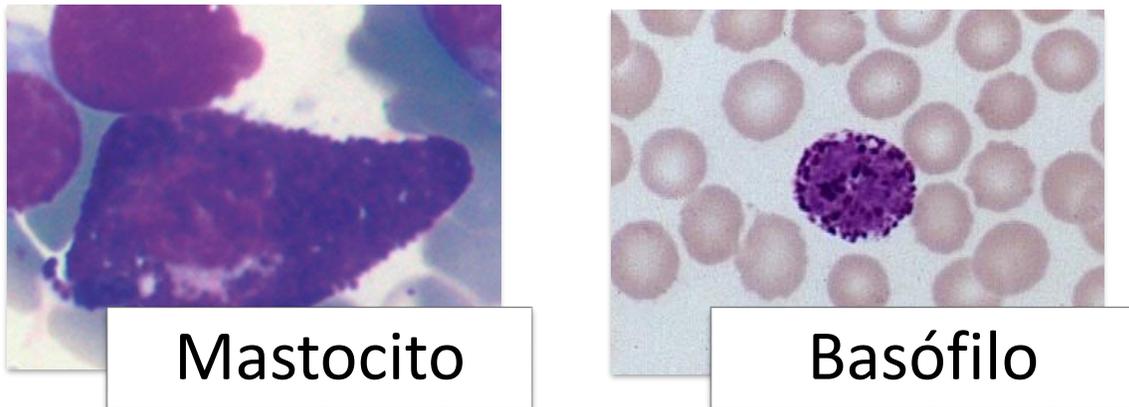
### Mastocitos de tejido conjuntivo

- **Localización:** Piel y submucosa intestinal.
- **Contenido de sus gránulos:** Heparina, proteasas neutras: triptasa, quimasa, catepsina G, carboxipeptidasa y alto contenido de histamina.
- **Actividades:** Reacciones de hipersensibilidad inmediata en piel.

(Barrio Nuevo, 2014)

Los basófilos, (Figura 7), son granulocitos sanguíneos muy similares estructural y funcionalmente a los mastocitos. Maduran en la médula ósea y están en la circulación sanguínea como células maduras, conformando el 0.5% al 1% de los leucocitos sanguíneos. La IL-3 parece ser un factor importante para su desarrollo, aunque podrían influir otros factores de crecimiento. Expresan altos niveles del receptor FcεRI y son capaces de responder de forma inmediata al alérgeno. Estos no se encuentran en las vías aéreas de los pacientes sanos, sin embargo, los estudios han demostrado infiltración de basófilos en vías aéreas en caso de asma fatal. Igual que los mastocitos, producen altas concentraciones de histamina,

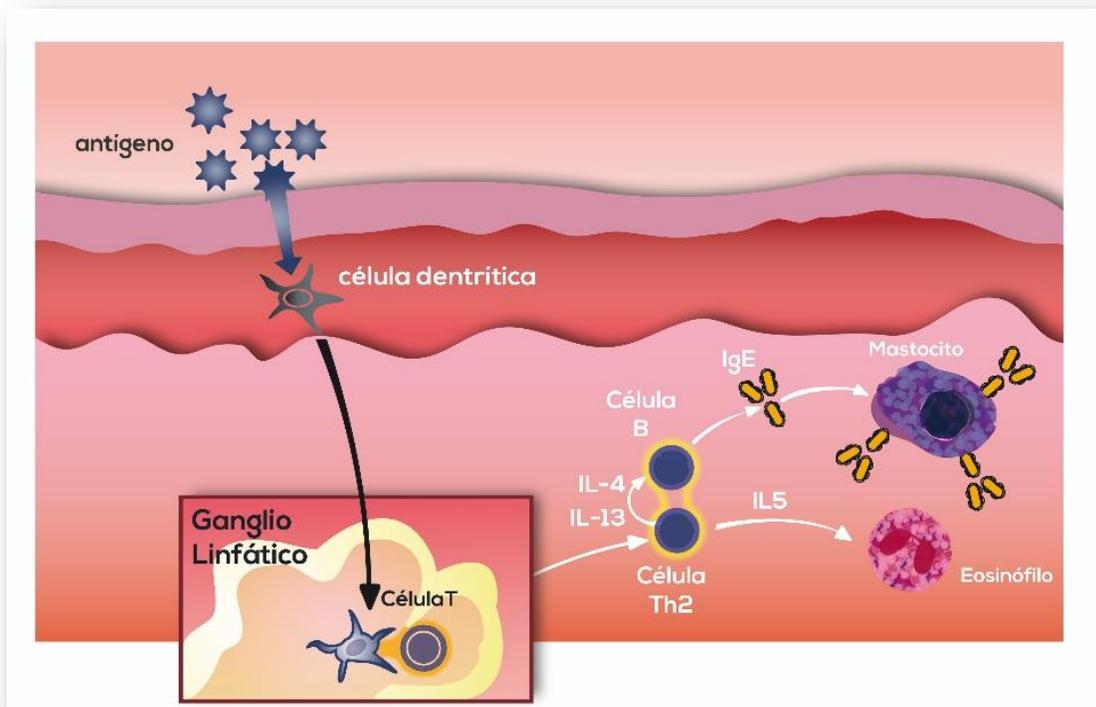
sulfato de condroitina y proteasas, así como IL-4 e IL-13 (Zubiria, 2004, Abbas, 2004 y Barrio Nuevo, 2014).



**Figura 7. Morfología del Mastocito y Basófilo (Fleury.com, 2015)**

### **3.5 Fase de sensibilización:**

Las células dendríticas del epitelio a través del cual entran los alérgenos, ingieren los antígenos, posteriormente los transportan a los ganglios linfáticos, donde los procesan y presentan los péptidos a los linfocitos T CD4<sup>+</sup> (Figura 8). Los linfocitos T se diferencian entonces en linfocitos Th2 y en linfocitos T cooperadores foliculares que secretan citocinas Th2 gracias a la IL-4, además de la linfopoyetina estromaltímica, secretada por las células epiteliales de la piel, el intestino y los pulmones, que potencia la capacidad de las células dendríticas tisulares de promover la diferenciación Th2 (Abbas, 2004 y Bellanti. *et al*, 2008).



**Figura 8. Fase de sensibilización. (Adelman, 2005)**

Bajo la influencia del ligando para CD40 y citocinas como la IL-4 la IL-13 producidas por las células T, los linfocitos B sufren un cambio de isotipo de cadena pesada y producen la IgE (Abbas, 2004 y Bellanti. *et al*, 2008). Una vez liberada por la célula plasmática, la IgE se une al receptor de alta afinidad (FcεRI) presentes en la superficie de mastocitos y basófilos quedando sensibilizados contra uno o varios alérgenos específicos. Durante las siguientes exposiciones, el individuo va a desencadenar una respuesta inflamatoria una vez que la IgE específica reconozca los epítomos del alérgeno. La interacción entre el alérgeno y al menos dos moléculas de IgE desencadenarán las señales necesarias para la activación celular, ocasionando la degranulación de los basófilos o mastocitos y la liberación y formación de mediadores (Young, 2005, Adelman, 2005 y Brito, 2014).

### 3.6 Activación de basófilos y mecanismo de degranulación

La activación de células cebadas o basófilos (Figura 9) se da por el entrecruzamiento de moléculas FcεRI, lo que ocurre por la unión de antígenos multivalentes a las moléculas de IgE unidas a los receptores para el Fc (Martínez, 2012).

Una vez ocurrido el entrecruzamiento, la tirosina cinasa Lyn fosforila a la ITAM en los dominios citoplasmáticos de las cadenas β y γ del receptor (Rojas, 2001 y Abbas, 2004).

Después se recluta la tirosina cinasa Syk en la ITAM de la cadena γ, se activa y fosforila y activa otras proteínas de la cascada de señales como la cascada de la cinasa MAP, así como de las tirosinas presentes en la fosfolipasa C específica del fosfatidilinositol (PI-PLCγ) (Abbas, 2004).

Al unirse al LAT, la PLC γ se fosforila y cataliza la escisión del difosfato de fosfatidilinositol para obtener trifosfato de inositol (IP3) y diacilglicerol (DAG) (Abbas, 2004).

El IP3 eleva las concentraciones plasmáticas de calcio intracelular a partir del retículo endoplásmico. El calcio y el DAG activan la proteína cinasa C (PKC), que fosforila sustratos como la cadena ligera de la miosina que lleva al desensamblaje de los complejos de actina-miosina que hay por debajo de la membrana plasmática, lo que permite a los gránulos entrar en contacto con la membrana plasmática (Martínez, 2012).

Tras la fusión de la membrana, el contenido de los gránulos del mastocito se libera al ambiente extracelular. Esta reacción dura 30 segundos a partir del entrecruzamiento de los FcεRI y puede visualizarse por una pérdida de los gránulos densos de los mastocitos o basófilos (Martínez, 2012 y Rojas, 2001).

El calcio y las cinasas MAP se combinan para activar la enzima citosólica fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), que inicia la síntesis de mediadores lipídicos, como las prostaglandinas (PGD<sub>2</sub>) y leucotrienos (Abbas, 2004).

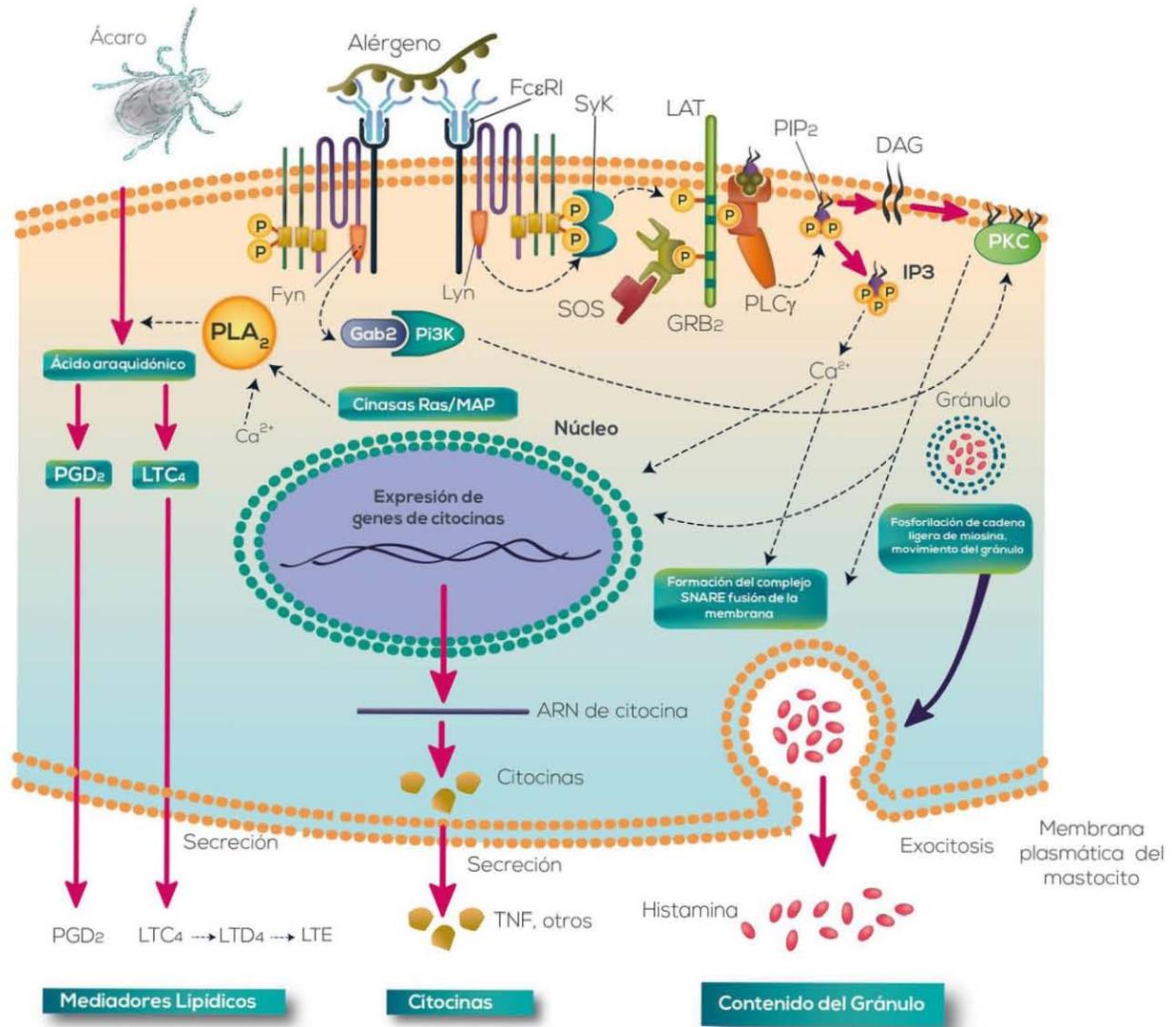


Figura 9. Mecanismo de degranulación. Modificado de (Abbas, 2004)

Existen además otros estímulos que pueden inducir la degranulación de los mastocitos o basófilos por estímulos inmunológicos o no inmunológicos independientes de IgE, que hacen que los mastocitos o basófilos se degranulen directamente. Entre los estímulos inmunológicos de anticuerpos anti-FcεRI y de anti IgE, la anafilotoxina C5a y C3a, factor activador de plaquetas (PAF) y el neuropéptido sustancia P. y entre los no inmunológicos encontramos a los opioides, medios de contraste (Tincopa, 2014 y Barrio Nuevo, 2014).

### 3.6.1 Mediadores liberados por los mastocitos o basófilos

La activación de los mastocitos da lugar a tres tipos de respuestas biológicas:

- 1.- La secreción de contenido preformado del gránulo por exocitosis (degranulación).
- 2.- Síntesis y secreción de mediadores lipídicos.
- 3.- Síntesis y secreción de citosinas.

#### 3.6.1.1 Mediadores preformados

##### Histamina

La histamina (Figura 10) es una amina que se encuentra almacenada dentro de los gránulos de los mastocitos y basófilos. Está compuesta por un anillo imidazólico y una cadena lateral de etilamino y se forma a partir de la descarboxilación de la histidina (Brito, 2014).

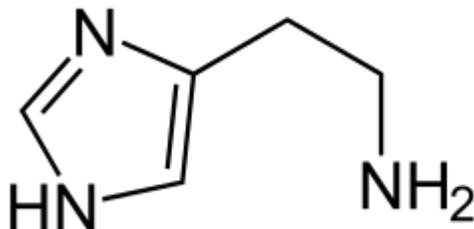


Figura 10. Estructura química de la Histamina.

En condiciones normales, la histamina se encuentra almacenada en 500 a 1000 gránulos por célula. La histamina, junto con varias hidrolasas, se halla asociada débilmente en su mayor parte a la matriz por enlaces iónicos, pero una pequeña parte puede estar en forma libre (Florez, 2013).

Poco se sabe acerca del papel que cumple en el funcionamiento normal de los tejidos. Se tiene conocimiento acerca de su participación en la secreción del ácido clorhídrico del jugo gástrico. También es posible que desempeñe algún papel en la regulación circulatoria local, tanto en tejidos periféricos como en la circulación cerebral y en los procesos de cicatrización y reparación tisular (Brito, 2014, Florez, 2013 y Montes. *et al*, 2005)

Una vez que la histamina es liberada de la célula, ésta se une a los receptores de histamina que se encuentra en los tejidos, produciendo sus efectos. Los tipos de receptores de histamina, así como su localización y funciones se enlistan en el Cuadro 7:

**Cuadro 7. Tipos de receptores de Histamina.**

Receptor H1	Receptor H2	Receptor H3	Receptor H4
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>LOCALIZACIÓN:</b></li> <li>• Músculo liso respiratorio, células endoteliales, linfocitos y SNC</li> <li>• <b>FUNCIÓN:</b></li> <li>• Contracción de músculo liso, prurito, permeabilidad vascular, liberación de mediadores, prurito, secreción de moco, taquicardia.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>LOCALIZACIÓN:</b></li> <li>• SNC, corazón, músculo, mastocitos, basófilos, linfocitos T y B.</li> <li>• <b>FUNCIÓN:</b></li> <li>• Permeabilidad vascular, secreción gástrica de HCL, producción de moco, proliferación de linfocitos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>LOCALIZACIÓN:</b></li> <li>• Neuronas del SNC y periférico y en mastocitos gástricos.</li> <li>• <b>FUNCIÓN:</b></li> <li>• Feedback de neurotransmisores, controla histamina, broncoconstricción y liberación excesiva de HCL.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>LOCALIZACIÓN:</b></li> <li>• Pulmón, hígado, baz, SNC, neutrófilos, eosinófilos, corazón, músculo.</li> <li>• <b>FUNCIÓN:</b></li> <li>• Probablemente en procesos inflamatorios como alergia y asma.</li> </ul>

(Holgate, 2001)

## Proteoglicanos

Incluye la heparina y sulfato de condroitina, su relación está involucrada con la producción de triptasa, limitando su inactivación, así como enlenteciendo su difusión en el tejido local (Romero M. , 2012 y Adelman, 2005)

## Proteasas neutras

Son las más abundantes en los gránulos e incluyen a la triptasa, quimasa y a la carboxipeptidasa A. La Triptasa es la principal proteasa liberada por las células cebadas, está presente tanto en mastocitos como en basófilos. Su actividad se relaciona con el complemento, ya que genera C3a, degrada neuropéptidos tales como VIP (péptido intestinal vasoactivo) e induce la producción epitelial de IL-8, además de que puede causar reacción bronquial exacerbada. Existe la  $\alpha$  triptasa y la  $\beta$  triptasa. La  $\beta$  triptasa se utiliza como un marcador de anafilaxia, ya que esta tiende a elevarse en suero durante 6 horas con una vida media de 90 minutos. La quimasa es encontrada en piel junto con la carboxipeptidasa y se ha documentado que estimula la secreción de moco bronquial, así como la degradación de la matriz extracelular generando daño en epitelios (Romero M. , 2012, Adelman, 2005 y Brito, 2014)

## Neuropéptidos

Entre ellos tenemos a la taquinina, sustancia P, neuroquinina A, bradicinina, así como el péptido relacionado con el gen de la calcitonina. Estos neuropéptidos se activan gracias al reflejo axonal producido por la liberación de la histamina además de que actúa activando fibras nerviosas sensoriales en la mucosa nasal induciendo estornudos y reflejos secretorios. Además, causan vasodilatación, aumento en la permeabilidad vascular, broncoconstricción y migración celular, así como la activación de metabolitos del ácido araquidónico (Romero M. , 2012, Bellanti. *et al*, 2008 y Adelman, 2005).

### **3.6.1.2 Mediadores formados *de novo***

Los mediadores formados de *novo* se generan a partir de dos vías diferentes, la vía de la ciclooxigenasa y de la lipoxigenasa. (Brito, 2014)

#### **Prostaglandina D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>)**

Son generadas a partir del ácido araquidónico y son liberados por los mastocitos, mas no los basófilos convirtiéndose en un marcador de diferenciación entre ambos tipos celulares. Causa broncoconstricción, así como vasodilatación que resulta en obstrucción nasal, además aumenta la permeabilidad vascular y la constricción de las arterias coronarias (Holgate, 2001 y Brito, 2014).

#### **Leucotrienos LTB<sub>4</sub> Y LTC<sub>4</sub>**

Al igual que las prostaglandinas se forman a partir del Ácido Araquidónico por la vía (LO). El LTC<sub>4</sub>, encontrado en los mastocitos y basófilos, es un potente bronco-constrictor, aumenta la secreción de moco, permeabilidad vascular y es quimioatrayente de neutrófilos, al igual que el LTB<sub>4</sub> (Rojas, 2001) .

#### **TromboxanoA<sub>2</sub>**

Se sintetiza igual a partir del Ácido Araquidónico por la vía de la COX, actúa como broncoconstrictor, constrictor microvascular, aumenta la agregación plaquetaria y genera la quimiotaxis de leucocitos, así como su adherencia al endotelio (Adelman, 2005).

#### **Factor activador de plaquetas (PAF)**

Es sintetizado por los mastocitos, además de otros leucocitos y células endoteliales. Funciona como quimio-atrayente de eosinófilos, neutrófilos y linfocitos T cooperadores y promueve la

agregación plaquetaria. Es un potente broncoconstrictor, aumenta la permeabilidad vascular y genera descamación del epitelio bronquial (Bellanti. et al, 2008, Brito, 2014 y Adelman, 2005).

### 3.6.1.3 Citocinas

Los mastocitos y basófilos producen citocinas y quimiocinas diferentes que contribuyen a la inflamación alérgica (Abbas, 2004). Entre los posibles efectos de estas citocinas está la amplificación del fenómeno inflamatorio, aumento de la producción de IgE, sobreexpresión de VCAM-1 y la diferenciación de los linfocitos Th2 (Adelman, 2005). Sus propiedades y funciones son explicadas en los Cuadros 8 y 9.

**Cuadro 8. Citocinas implicadas en la alergia.**

<b>IL-1</b>	Originada en monocitos, macrófagos, células del músculo liso y del endotelio, está representada por la IL- $\alpha$ , IL- $\beta$ y la IL-1ra. Su función más importante es la activación de las células T y de las células epiteliales de las vías respiratorias. Además, promueve la proliferación de las células B.
<b>IL-2</b>	Promueve la proliferación de las células T y la expansión clonal, así como la quimiotaxis de eosinófilos
<b>IL-3</b>	Estimula el desarrollo de mastocitos y basófilos. Promueve la diferenciación y activación de granulocitos y promueve la supervivencia de los eosinófilos.
<b>L-4</b>	Estimula y mantiene la proliferación de linfocitos T CD4/TH2 promueve el crecimiento, diferenciación y cambio de isotipo hacia la producción de IgE de las células B. Aumenta la concentración de Fc $\epsilon$ RI y de CD23.
<b>IL-5</b>	Está involucrado en la maduración, quimiotaxis y activación de los eosinófilos y basófilos. Induce la liberación de histamina y leucotrienos. Activa a los linfocitos B para producir la síntesis de IgE. Activa y prolonga la supervivencia de los eosinófilos.
<b>IL-6.</b>	Es un factor coestimulante de células inmunitarias. Activa las células madre hematopoyéticas y diferencia las células T y B. Promueve la producción de moco. Activa a los linfocitos B para producir la síntesis de IgE.
<b>IL-8</b>	Actúa como factor quimiotáctico de eosinófilos, basófilos y neutrófilos.
<b>IL-13</b>	Se encuentra presente en Células T y basófilos. Estimula y mantiene la diferenciación, proliferación y cambio de isotipo hacia la producción de IgE de las células B. Promueve el desarrollo de células dendríticas, así como la acumulación de eosinófilos mediante el aumento de la expresión de VCAM-1 en las células endoteliales.
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Aumenta la citotoxicidad de eosinófilos y mastocitos. Promueve la quimiotaxis de neutrófilos y monocitos y la producción de otras citosinas por los linfocitos T CD4.
<b>GM-SCF:</b>	Es un factor de crecimiento de eosinófilos y neutrófilos. Prolonga la vida de los eosinófilos.

### 3.6.1.4 Quimiocinas

**Cuadro 9. Quimiocinas implicadas en la alergia.**

<b>MIP-1 alfa</b>	Diferenciación de macrófagos, quimiotaxis y citotoxicidad de neutrófilos.
<b>MIP-1 beta</b>	Quimiotaxis de monocitos.
<b>RANTES</b>	Quimiotaxis de eosinófilos, basófilos y monocitos.

(Holgate, 2001)

## 4. Manifestaciones clínicas de la respuesta alérgica

Las enfermedades alérgicas han aumentado drásticamente en los últimos años, afectando la calidad de vida de la población, considerándose un problema de importante de salud pública debido a las repercusiones económicas que esta afecta, además del ausentismo laboral y escolar que esta representa (Vilchis, 2012 y Lopez, *et al*, 2009).

Los síntomas que un individuo alérgico manifestará durante una reacción alérgica inmediata, dependerá de la anatomía de los órganos diana y de la reactividad de sus tejidos a los mediadores inflamatorios. Por ejemplo, en la vía respiratoria superior la respuesta alérgica consiste en secreción nasal acuosa (rinorrea) prurito, estornudos y obstrucción nasal. En la vía respiratoria inferior gracias a los mediadores liberados por los mastocitos ocurre la broncoconstricción, que se manifiesta por disnea, opresión torácica, sibilancias y tos (Holgate, 2001).

En la piel la mayoría de los mastocitos están concentrados en la dermis superficial, provocará la formación de eritema local debido a la vasodilatación arteriolar mediada por los receptores de histamina. También se formarán habones debido al aumento en la permeabilidad vascular y la trasvasación del plasma (Martínez, 2012).

De todas las enfermedades alérgicas (Cuadro 10), específicamente en la Ciudad de México, encontramos que la rinitis es la enfermedad más frecuente, la población pediátrica es la más afectada, así como el género femenino (García, 2015 y Lopez. *et al*, 2009).

### Cuadro 10. Enfermedades alérgicas y sus características.

<p>• Es la enfermedad alérgica más común, afectando el 25% de la población mexicana. Los síntomas son estornudos, prurito nasal y rinorrea, los cuales son atribuibles a la acción de los mediadores en el tracto respiratorio superior.</p> <p><b>Rinitis alérgica</b></p> 	<p>• Enfermedad crónica caracterizada por inflamación, obstrucción de la vía aérea, sibilancias recurrentes, disnea, tos y opresión torácica. Intervienen las células T CD4+ y sus productos en la respuesta inflamatoria. Los linfocitos TH2 específicos al antígeno generan esta respuesta mediante la secreción de IL-4, IL-13, IL-5 e IL-9.</p> <p><b>Asma</b></p> 	<p>• Enfermedad cutánea, inflamatoria, pruriginosa crónica que afecta al 10% de los niños y predice el desarrollo de enfermedad alérgica posterior.</p> <p><b>Dermatitis atópica</b></p> 
<p>• En esta enfermedad el alérgeno entra en la película lagrimal teniendo contacto con los mastocitos. La degranulación de éstos libera histamina produciéndose edema, vasodilatación y acumulación de eosinófilos dando los síntomas característicos de lagrimeo recurrente, prurito ocular y tumefacción.</p> <p><b>Conjuntivitis alérgica</b></p> 	<p>• La urticaria y angioedema son manifestaciones clínicas de vasodilatación mucocutánea y de aumento de la permeabilidad vascular producido por la histamina, bradicinina, LCT4, PGD2 derivados de mastocitos y basófilos de la dermis. Se caracteriza por la aparición de ronchas evanescentes de variado tamaño y vida corta sin pruriginosas manifestaciones sistémicas aunque pueden ser indicio de anafilaxia</p> <p><b>Urticaria y angioedema</b></p> 	<p>• Es una reacción sistémica inmediata causada por la liberación de mediadores tanto de mastocitos en piel como de basófilos en sangre que ponen en peligro la vida. Pueden incluir cambios cutáneos como prurito y urticaria, edema broncoespasmo, colapso cardiovascular y síntomas gastrointestinales y la muerte.</p> <p><b>Anafilaxia</b></p> 

(De la Cámara. *et al*, 2003, Adelman, 2005, Romero M ,2012, Tincopa, 2014, Pazmiño. *et al*, 2014)

## 4.1 La marcha atópica

Estudios longitudinales se han empleado para conocer la historia natural de las enfermedades alérgicas llamada marcha atópica la cual se caracteriza por la progresión de dermatitis atópica y alergia a alimentos hacia asma y rinitis alérgica como se observa en la siguiente figura (Burguete, 2015).

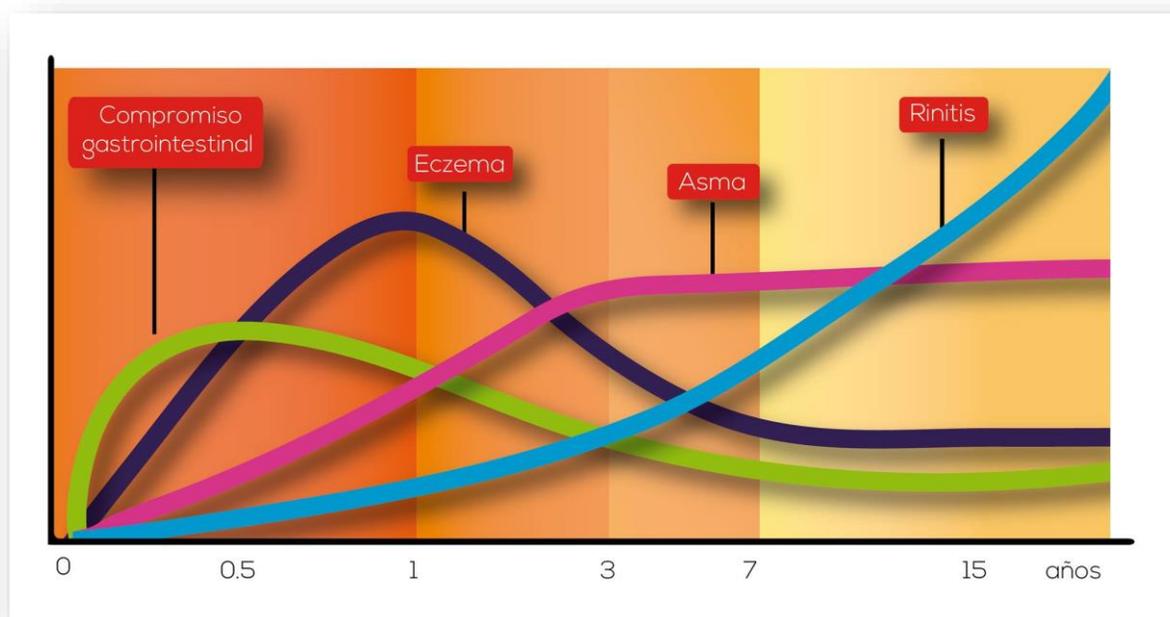


Figura 11. La marcha atópica. Basado en (Burguete, 2015)

La dermatitis atópica es la manifestación inicial de alergia, y puede estar asociada o seguida por la alergia alimentaria. Posteriormente o en conjunto aparece el compromiso gastrointestinal, que incluyen vómitos, diarrea y cólicos intestinales. Los problemas respiratorios en vías aéreas altas como rinitis se presentan entre los tres y siete años de edad siendo este un factor de riesgo para el desarrollo del asma, el cual puede ocurrir de los siete y quince años de edad. No todos los individuos llegan a presentar todas las enfermedades sin

embargo las probabilidades de padecer más de una se incrementan (Burguete, 2015 y Gonzalez. *et al*, 2006).

## **5. DIAGNÓSTICO DE LAS ENFERMEDADES ALÉRGICAS**

### **5.1 Historia Clínica**

Para realizar el diagnóstico, el médico realiza un exhaustivo interrogatorio al paciente para conocer el comienzo, naturaleza, duración y carácter de los síntomas, así como los factores ambientales al que el paciente está expuesto en su vida diaria. También es importante conocer actividades que realiza y conducta por ejemplo si tiene el hábito de fumar o está constantemente expuesto a aeroalérgenos, así como el impacto que ha ocasionado en su calidad de vida la probable enfermedad. Es igualmente necesario conocer la historia familiar y personal de atopia, así como la presencia de otras enfermedades con el fin de que el tratamiento no interfiera con el de otras comorbilidades (Adelman, 2005 y Cardona, 2010).

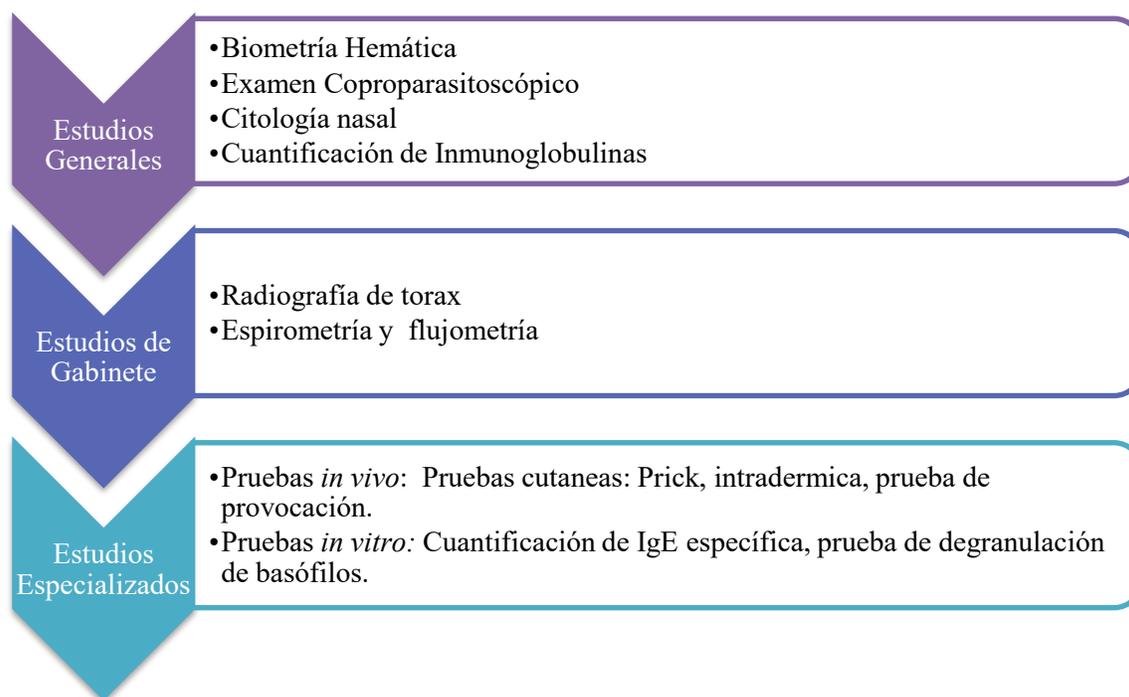
### **5.2 Examen Físico**

Posteriormente el clínico deberá examinar la piel del paciente para detectar anomalías como lesiones urticariantes, angioedema, dermatitis o dermatografismo. También revisará los ojos en busca de edema o hiperemia conjuntival, los oídos, la parte externa de la nariz notando el repliegue transversal llamado saludo alérgico, en la parte interna apreciando el color de la mucosa, cantidad o cualidad de las secreciones o presencia de desviación septal. En la orofaringe buscará edema o eritema o supuraciones y examinará el tórax mediante una auscultación para detectar sibilancias (Brito, 2014 y Adelman, 2005).

### 5.3 Pruebas diagnósticas

La finalidad de la realización de pruebas diagnósticas será hacer un diagnóstico diferencial con enfermedades no alérgicas, así como el tipo de alérgeno que esté causando los síntomas, el grado de sensibilización, así como direccionar el tratamiento o evitar la exposición al o los alérgenos causantes. En el Cuadro 11 se muestran los exámenes de laboratorio para el diagnóstica de la alergia. (Arruda, 2004)

**Cuadro 11. Pruebas para el diagnóstico de la alergia**



(Brito, 2014)

### 5.3.1 Pruebas *in vivo*

#### 5.3.1.1 Pruebas cutáneas

En ellas se aplica directamente los alérgenos en las células cutáneas del paciente que reaccionan liberando mediadores inflamatorios locales que promueven la formación de una pápula con eritema demostrando la presencia de IgE al alérgeno aplicado (Arruda, 2004).

Para realizar estas pruebas es muy importante que el paciente evite el uso de antihistamínicos de primera generación 72 horas antes de la prueba y los de segunda 1 semana para impedir falsos negativos (Adelman, 2005).

También es muy importante aplicar un control de calidad a la prueba revisando que los alérgenos estén estandarizados y su composición documentada, así como preservarlos a una temperatura de 2°C-8°C para evitar su deterioro (Adelman, 2005).

Es necesario que el ensayo se realice con controles negativos y positivos. Generalmente se utiliza como control negativo el diluyente del extracto (solución amortiguadora salina o de fosfatos) y como control positivo histamina al 0.1% (Adelman, 2005 y Arruda, 2004).

#### 5.3.1.2 Prueba cutánea de punción o “Prick”

Para realizar esta prueba se limpia la zona generalmente la parte superior de la espalda. Posteriormente se aplica una gota de los alérgenos incluyendo controles positivo y negativo, y mediante un dispositivo de metal de plástico se realiza una punción superficial a través de la gota. Se espera alrededor de 15 a 30 minutos y se leen los resultados. Un resultado positivo se manifiesta con la formación de una pápula o habón con eritema el grado de reacción se mide siguiendo los parámetros del siguiente cuadro:

**Cuadro 12. Interpretación de la respuesta alérgica en pruebas cutáneas.**

<b>Grado</b>	<b>Habón</b>	<b>Eritema</b>
0(-)	<3mm	0-5mm
1+	3-5mm	0-10 mm
2+	5-10mm	5-10mm
3+	10-15mm	>10mm
4+	>15mm o con pseudópodos	>20mm

(García, 2015)

### 5.3.1.3 Prueba Intradérmica

Es una prueba de alta sensibilidad en la cual se aplica profundamente el alérgeno en la dermis del brazo o la espalda. Es más dolorosa y se corre el riesgo de producir falsos negativos, así como efectos sistémicos. La lectura se realiza de manera similar a la prueba de Prick. En un estudio realizado en paciente asmáticos exponiéndolos a aeroalérgenos como ácaros, hongos, cucaracha y epitelios de animales, se observó que tanto como la prueba de Prick y la Prueba Intradérmica concuerdan en el 89.9% de los casos (Arruda, 2004 y Moreira. *et al*, 2001).

### 5.3.1.4 Prueba de Provocación

La prueba de Provocación Oral se considera estándar de oro para en el diagnóstico de alergia a alimentos y medicamentos. Consiste en la administración de dosis crecientes del probable alérgeno y se observa si hay manifestaciones clínicas de alergia. En el caso del diagnóstico de asma o rinoconjuntivitis alérgica se utiliza la prueba de provocación bronquial y nasal o conjuntival respectivamente. En esta prueba se busca desencadenar la reacción alérgica en los órganos diana utilizando el alérgeno sospechoso. Estas pruebas deben de ser realizadas bajo vigilancia médica y en un lugar donde se tengan las condiciones para atención de emergencia (Malvran, 2015).

### 5.3.2 Pruebas *in vitro*

Las pruebas *in vitro* poseen menor sensibilidad diagnóstica que las pruebas *in vivo*, sin embargo, han demostrado ser más específicas y estandarizables, llegando a ser utilizadas incluso en aquellos casos en donde las pruebas en piel no dan resultados concluyentes como en el caso de pacientes con dermatografismo o dermatitis atópica (Monterrey. *et al*, 2011).

#### 5.3.2.1 Cuantificación de IgE total y específica

La IgE total puede ser realizada mediante diversos, métodos de inmunoanálisis, por ejemplo, la radio-inmunoabsorción (RIA) e inmunoensayo enzimático (ELISA). La cuantificación de IgE total es de poca utilidad diagnóstica en la evaluación de las enfermedades alérgicas debido a que ésta puede estar elevada además en otros padecimientos como en enfermedades parasitarias, síndrome de hiperglobulina E, VIH o en reacciones adversas a algunos fármacos (Bellanti. *et al*, 2008 y Monterrey. *et al*, 2011).

La IgE específica ofrece una mayor utilidad en el diagnóstico puede cuantificarse mediante radioinmunoanálisis (RAST), inmunoensayo enzimático (ELISA), o quimioluminiscencia (MAST). En el inmunoensayo enzimático (ELISA), se realiza en placas de 96 que se fijan con una solución del extracto a probar. Se utiliza un suero como control positivo con altos niveles de IgE, así como varios sueros como controles negativos no expuestos. Los resultados se miden en unidades de absorbancia, y la señal obtenida será proporcional a la cantidad de complejos antígeno-anticuerpo formados. En el caso del MAST esta es una técnica semicuantitativa muy sensible en la que se utilizan 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 específica unida al alérgeno (Brito, 2014, Adelman, 2005 y Barrio Nuevo, 2014).

### 5.3.2.2 Prueba de degranulación de basófilos

Es una prueba *in vitro* en la cual se enfrentan los basófilos con el alérgeno de estudio para inducir su degranulación (Figura 12). Esta se observa con ayuda de microscopía óptica, y permite identificar la desaparición de los gránulos teñidos por un colorante metacromático (Figura 15). Este colorante está compuesto por Azul de Toluidina, el cual tiñe de color violeta-rojo las estructuras ricas en proteoglicanos sulfatados (gránulos de heparina-histamina), Rojo de Metilo, el cual intensifica la tinción, y el Azul de Toluidina aumenta el tamaño de la célula. Para realizar este estudio, se utiliza sangre heparinizada, separando el plasma rico en leucocitos. Posteriormente se exponen a diferentes concentraciones del alérgeno a retar durante una hora (con el fin de observar el comportamiento dosis-respuesta), se realiza un frotis y se lee en el microscopio comparando la lectura con el testigo negativo. Un resultado de igual o mayor al 30% de degranulación indica un resultado positivo. (Martínez, 2012 y Morton. *et al*, 1975)

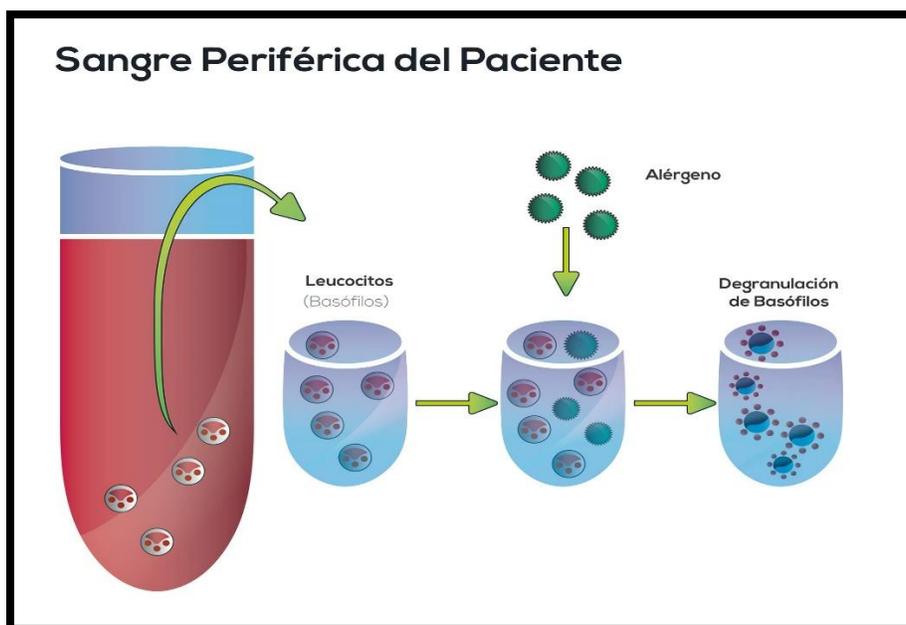


Figura 12. Prueba de degranulación de basófilos

### **5.3.2.3 “Test” de activación de basófilos (TAB)**

Es una prueba realizada por medio de citometría de flujo en la cual se detecta el marcador de membrana CD63, el cual aparece en la superficie del basófilo y su expresión correlaciona con la degranulación. El TAB se realiza en muestras de sangre periférica o con el “buffy coat” y consiste en poner a los basófilos en presencia de diferentes concentraciones del alérgeno a probar y se marcan con anticuerpos monoclonales conjugados a una partícula fluorescente para medir posteriormente el aumento de la expresión de los marcadores de activación mediante el citómetro de flujo (Barrio Nuevo, 2014).

## **6. TRATAMIENTO EN EL CONTROL DE LA ALERGIA**

El mejor tratamiento para un paciente alérgico es evitar que entre en contacto con el alérgeno. Sin embargo, hay ocasiones en la cual es imposible evitar exponerse a ellos. En el caso de estos pacientes el tratamiento consistirá en tratar los síntomas tales como Rinitis, conjuntivitis o asma por medio de antihistamínicos, corticoesteroides, probablemente inmunoterapia, así como el control ambiental de la casa habitación. Los antihistamínicos son considerados el tratamiento más eficaz ya que inhiben la unión de la molécula de histamina a los receptores H1, inhibiendo su respuesta (vasoconstricción, aumento de la permeabilidad vascular), suprimiendo el prurito nasal y ocular, así como rinorrea. De acuerdo a su estructura química, se clasifican en antihistamínicos de primera o segunda generación. Entre los de primera generación tenemos a la Clorfenamina, Bromfenihramina, Difenidramina, Clemastina e Hidroxicina. Su uso hoy en día es limitado porque actúan a nivel SNC por lo que produce sedación, deterioro neurocognitivo y resequedad en mucosas. Los de segunda generación debido a que no atraviesan barrera hematoencefálica, no producen sedación y

entre ellos tenemos a la Loratadina, Fexofenadina, y Desloratadina. Actualmente son los más utilizados por sus pocos efectos adversos (Olala. *et al*,2008 y Lawrence. *et al*, 2006).

También es muy importante el control del proceso inflamatorio, previniendo la síntesis de mediadores, por lo que el tratamiento se combina con el uso de corticoesteroides. Estos fármacos promueven o no la transcripción de ciertos genes, inhibiendo la fosfolipasa A2 (Inhibiendo a su vez la producción de leucotrienos) reduce la acumulación de células inmunes en los sitios de inflamación mediante la inmunosupresión de síntesis de citocinas (IL2-IL-4), induciendo la apoptosis de los eosinófilos, reduciendo la expresión de moléculas de adhesión y la permeabilidad vascular de la vía aérea. Los corticoesteroides se pueden tomar por vía oral o por nebulización tópica nasal en el caso de las crisis asmáticas. También es común utilizar fármacos como el Montelukast en los casos de asma, debido a que funciona como antagonista de leucotrienos, inhibiendo la permeabilidad vascular y vasodilatación, aliviando los síntomas de congestión nasal (Lawrence. *et al*, 2006).

## 6.1 Inmunoterapia

En 1910 Leonard Noon administró inyecciones subcutáneas con extractos de polen a dosis crecientes con el fin de sensibilizar a los pacientes hasta que sus síntomas fueran disminuyendo, dando con esto el inicio a la inmunoterapia (Bellanti. *et al*, 2008).

La inmunoterapia con vacunas con extractos de ácaro en pacientes alérgicos a este alérgeno tiene resultados favorables, ya que se basa en la administración de extractos alergénicos a dosis progresivamente crecientes durante meses o años y una vez alcanzada la dosis máxima tolerada se continúa con la aplicación de ésta para mantener el efecto inmunológico de

tolerancia hacia el alérgeno. La vía de administración puede ser subcutánea o sublingual (Brito, 2014 y Bellanti. *et al*, 2008).

La inmunoterapia reduce los síntomas tanto de la respuesta inmediata como de la respuesta tardía. Se pueden observar 3 tipos de cambios:

**1.- Modulación de la respuesta de anticuerpos alérgeno específico:** Durante los primeros meses se induce a un aumento en los niveles de IgE circulante y al final del tratamiento se observan niveles más bajos de IgE que antes de la vacunación. También se observa un aumento del IgG<sub>4</sub> y de la IgA específica, por lo tanto, estos captarán los alérgenos antes que los capten las moléculas de IgE unidas a los mastocitos impidiendo así su activación (Roman. *et al*, 2008 y Bellanti. *et al*, 2008).

**2.-Disminución en el reclutamiento y activación de células pro inflamatorias:** Se ha demostrado que tanto la inmunoterapia subcutánea y sublingual inhiben el reclutamiento y activación de células pro inflamatorias tras la exposición al alérgeno (Roman. *et al*, 2008).

**3.-Cambios en el patrón de respuesta de las células T alérgeno específicas:** Otro propósito de la inmunoterapia es el cambio de perfil TH2 a TH1 mediante la participación de los linfocitos T reguladores, los cuales suprimen la respuesta TH2 a través de la producción de IL-10 y TGF- $\beta$ . Aún se necesitan realizar más estudios para precisar el mecanismo de acción de esta terapia (Roman. *et al*,2008).

En el caso de los pacientes asmáticos de origen alérgico o urticaria crónica, en los últimos años se han empezado a tratar con terapia de anticuerpos monoclonales como el medicamento Omalizumab. Este es un anticuerpo monoclonal de tipo IgG<sub>1</sub> que tiene unión específica con la IgE circulante, disminuyendo su concentración, además bloquea su acción impidiendo su

unión con el receptor de alta afinidad FcεRI en la superficie de los mastocitos y de los basófilos. Se considera como terapia complementaria, ya que no es útil para los episodios agudos de la enfermedad (Novartis, 2014).

## **7. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El propósito de nuestra investigación es contribuir a explicar el papel de las escamas humanas en la patogenia de las alergias. Dicha prueba va a enfrentar a los basófilos de los pacientes para inducir su degranulación y contar lo anterior como evidencia del papel patogénico de las escamas humanas. Algunas evidencias que se han encontrado provienen de estudios in vitro en donde anticuerpos IgG1 e IgE en pacientes alérgicos al polvo casero han reconocido las escamas humanas en ensayos de ELISA y de Western Blot (Vilchis, 2012 y Romero M. , 2012). Un paso adelante sería conocer si además de las moléculas, las células de estos pacientes también son capaces de reconocer a dichos alérgenos y ser una evidencia más de autorreactividad en estos pacientes.

## **8. JUSTIFICACIÓN**

Las alergias afectan alrededor de un 20% de la población general. Están considerados problemas de salud pública y el asma y la rinitis alérgica dentro de los 10 primeros lugares de morbilidad. El tratamiento de los problemas alérgicos puede ser de tipo farmacológico y de tipo inmunológico. El primero busca remediar los síntomas, pero no su curación, y a la larga los pacientes sufren efectos adversos por los fármacos y el agravamiento de su condición. El segundo disminuye la reactividad de los sujetos alérgicos y disminuye su consumo de medicamentos. La reactividad más importante o más frecuente es a los ácaros

del polvo casero. Una de las razones para las mejoras parciales en el tratamiento inmunológico es: el desconocimiento de papel que juegan las escamas humanas como fuente de alérgenos debido a que estas son el alimento común de los ácaros del polvo casero, desafortunadamente este tipo de alérgenos no está bien caracterizado.

Debido a lo anterior se necesitan más evidencias de la participación de las escamas humanas para inducir una reacción de hipersensibilidad, se realizará en un sistema *in vitro* para garantizar la inocuidad de este ensayo en los pacientes. Debido a razones éticas este tipo de estudios deben ser inicialmente *in vitro*. Para tal efecto estudiaremos si los antígenos de escamas humanas son capaces de degranular a las células cebadas de pacientes alérgicos al ácaro.

## **9. OBJETIVOS**

### **9.1 Objetivo General**

Determinar por medio de la técnica *in vitro* de degranulación de basófilos si éstas células de sangre periférica de pacientes alérgicos a los ácaros polvo casero pueden ser inducidas para su degranulación al enfrentarlos con el antígeno de escamas humanas, con el propósito de determinar si existe reactividad a proteínas propias de la piel.

### **9.2 Objetivos Particulares**

- Elaborar un “pool” de escamas humanas en estado acuoso para estandarizarlo y utilizarlo como antígeno.
- Evaluar la reactividad a escamas humanas en pacientes alérgicos a los ácaros del polvo casero, de cualquier sexo o edad, para determinar la frecuencia, si ésta se da en alguna etapa de la vida o si predomina en el género masculino o femenino.

- Determinar si la respuesta a escamas humanas correlaciona con la reactividad a los ácaros del polvo (*D. pteronyssinus* o *D. farinae*) para conocer si existe asociación en particular.
- Analizar que enfermedades alérgicas presentan los pacientes dentro del estudio para identificar la entidad clínica que podría relacionarse con la reactividad a escamas humanas.

## 10. HIPOTÉISIS

Si existe autorreactividad a escamas humanas en pacientes alérgicos al polvo casero y a los ácaros *D. pteronyssinus* y *D. farinae*, entonces se inducirá la degranulación de sus basófilos mediante la técnica *in vitro* al enfrentarlos con escamas humanas.

## 11. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Para el presente trabajo de investigación se realizó un estudio de tipo clínico, descriptivo y transversal.

Para determinar el tamaño de la población se tomaron en cuenta las estadísticas de la población alérgica del país, así como la que ingresa al Hospital Juárez de México. El cálculo se realizó con la siguiente fórmula:

$$n = \frac{t^2 \times p(1-p)}{m^2}$$

Donde.

n= tamaño de la muestra

t= nivel de fidelidad del 95% (valor es de 1.96)

p= prevalencia estimada de la enfermedad (0.1)

m= margen de error del 5% (valor estándar del 0.05)

*Cálculo:*

$$n = \frac{1.96^2 \times 0.1(1-0.1)}{0.05^2} \quad n = 138$$

Por motivos técnicos en la manipulación de las muestras se eliminaron 5 pacientes quedando un total de 133 sujetos. Posteriormente se tomaron en cuenta los siguientes criterios:

### 11.1 Criterios de inclusión

- Pacientes de la consulta de Alergia e Inmunología del hospital Juárez de México con diagnóstico confirmatorio de alergia al ácaro o al polvo casero (*Dermatophagoides pteronyssinus* y *Dermatophagoides farinae*).
- Sin rango de edad
- Ambos sexos.
- Que firmen consentimiento informado (Anexo 2)

### 11.2 Criterios de no inclusión

- Paciente que no firme consentimiento informado.
- Pacientes de la consulta de Alergia e Inmunología del Hospital Juárez de México que no cuenten con diagnóstico confirmatorio de alergia al ácaro o al polvo casero.
- Pacientes de la consulta de Alergia e Inmunología del Hospital Juárez de México con uso de corticoesteroides y Ketotifeno (como estabilizadores de membrana) esteroides (1 semana) Ketotifeno (2 meses).
- Pacientes con uso de antihistamínicos una semana antes del estudio y por periodos superiores a un mes.

- Pacientes con enfermedades hematológicas que modifiquen concentraciones normales de basófilos.
- Pacientes con uso de inhibidores de la MAO o de inmunosupresores.

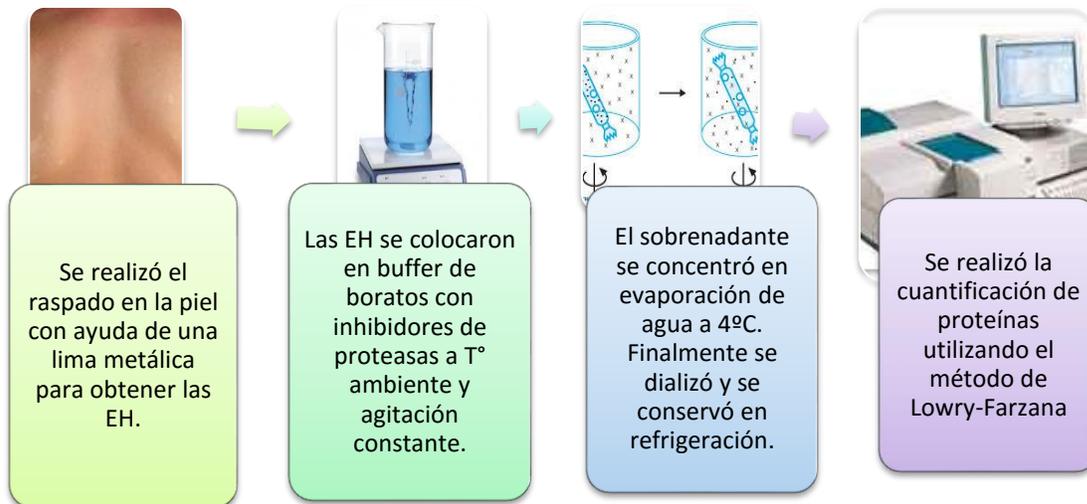
## **12. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **12.1 Colecta del “pool” de escamas humanas**

Las escamas de piel humana se obtuvieron de 10 personas sanas, mediante el raspado del talón del pie con ayuda de una lima metálica, así como de la piel en proceso de desprendimiento posterior al bronceado de la espalda o extremidades. Se colectó 1 g de escamas, el cual se colocó en solución amortiguadora de boratos con tres inhibidores de proteasas (Ver sección 17.1 Reactivos) a temperatura ambiente y agitación constante durante 48 horas. Posteriormente el extracto se centrifugó a 1918 G durante 15 minutos. Para concentrar las proteínas y eliminar el exceso de iones, el sobrenadante se colocó en una membrana de diálisis del número 1 (Spectra/POR<sup>®</sup>) en condiciones de evaporación de agua por refrigeración a 4°C hasta que se alcanzó la reducción de un tercio del volumen total. El contenido del extracto se alicuotó en volúmenes de 300 µL en tubos Eppendorf<sup>®</sup> y se congelaron a -60°C hasta su utilización (Figura 13).

### **12.2 Cuantificación de proteínas**

La concentración de proteínas del “pool” de escamas humanas se determinó por la técnica de Lowry-Farzana por medio de una curva estándar con albúmina bovina. Las determinaciones se realizaron por triplicado en un espectrofotómetro Cary 100 UV-Vis.



**Figura 13. Obtención de antígeno de escamas humanas.**

### 12.3 Realización de las pruebas cutáneas

La obtención de las muestras se realizó en el Servicio de Alergia e Inmunología del Hospital Juárez de México, los días jueves y viernes, días que se realizan las pruebas cutáneas. Una vez que el paciente ingresaba para que se realizara la prueba, se le daba la indicación de descubrirse de la cintura para arriba, así como colocarse una bata proporcionada por el servicio, indicándole que se acostara boca abajo. Posteriormente se le realizaba la asepsia con torundas y alcohol étílico 70% por la espalda. Para realizar las punciones se utilizaron cuatro aplicadores Multitest® los cuales previamente estuvieron sumergidos en pozos con extractos alérgenos, posteriormente se realizó la punción presionando éstos sobre la piel (Figura 14). Se esperaron de 15 a 20 minutos, se leyeron los resultados midiendo el diámetro del eritema y del edema formado, comparando con la respuesta del control positivo. La magnitud de la respuesta se da en cruces (+) (Cuadro 12), y se registró en una hoja de resultados (Anexo1).



**Figura 14. Prueba de punción de Prick**

#### **12.4 Obtención de la muestra**

Una vez que se tuvieron los resultados, aquellos pacientes que presentaran tres o más cruces de reactividad a cualquiera de los dos ácaros: *D. pteronyssinus* y *D. farinae* se les propuso participar en la investigación. Se les dio una breve explicación acerca del estudio, se aclararon sus dudas, y se les dio a firmar el consentimiento informado (Anexo 2). Se anotaron en la bitácora los datos del paciente como número de expediente, edad, sexo, probable diagnóstico, así como los resultados de las pruebas cutáneas, y si presentaban reactividad al polvo casero. Posteriormente al paciente se le tomaron 10 mL de sangre mediante el sistema Vacutainer en tubo con heparina de sodio.

#### **12.5 Prueba de degranulación de basófilos**

- 1.- La muestra de sangre con heparina se dejó sedimentar durante 1 hora a 37°C.
- 2.- Se separó el plasma y se centrifugó a 150 G durante 10 minutos

3.- Se decantó y se resuspendió el botón celular con 1 ml de SSF al 0.9% y se realizó un ajuste de células a  $30 \times 10^6$  células/ml.

4.- Se prepararon los sistemas de acuerdo al Cuadro 13 incubándose durante 1 hora, agitando cada 10 minutos para homogenizar la suspensión.

Solución	Control negativo	Control negativo salino	Problema 1 concentrado	Problema 2 (1:10)	Problema 3 (1:100)
Suspensión celular ( $30 \times 10^6$ cel/mL)	200µL	200µL	200µL	200µL	200µL
Solución salina 0.09%	-----	50µL	-----	-----	-----
Antígeno de EH (1.165µg/µL)	-----	-----	50µL	-----	-----
Antígeno de EH (0.1165µg/µL)	-----	-----	-----	50µL	-----
Antígeno de EH (0.01165 µg/µL)	-----	-----	-----	-----	50µL

**Cuadro 13. Preparación de las diluciones de escamas humanas.**

5.- Se realizó un frotis de cada sistema preparado y se dejó secar a temperatura ambiente.

6.- Los frotis se tiñeron por cuatro minutos con el colorante de trabajo (ver sección 17.1 Reactivos).

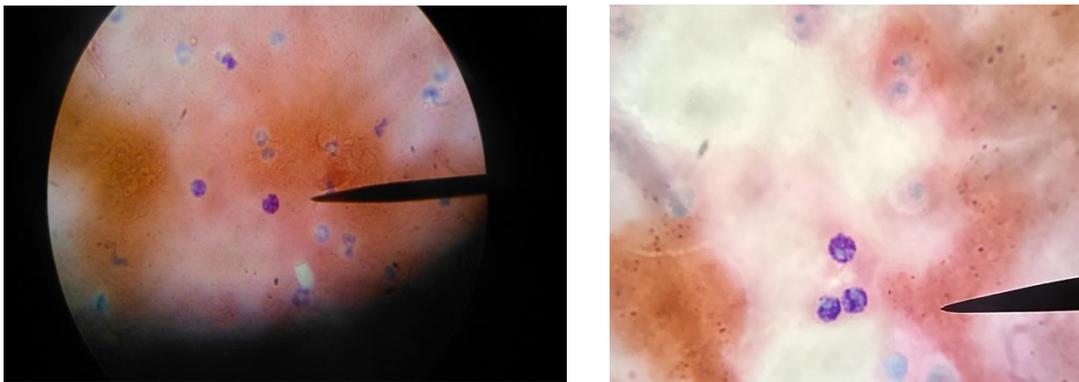
7.- Se observó por microscopía de luz a 100X, contando los basófilos que se encontraron en 1500 células blancas en varios campos al azar.

8.- Para obtener el porcentaje de degranulación de basófilos de cada sistema se tomó en cuenta el resultado del conteo de basófilos del Control negativo y el conteo de basófilos del sistema utilizando la siguiente fórmula:

$$X = \frac{\text{basófilos de problema} \times 100}{\text{basófilos del control}}$$

% degranulación = 100 - X

El criterio de interpretación de la prueba se basa en un valor límite >30% de degranulación para considerarlos positivo y en cualquiera de las tres diluciones empleadas (Irigoyen, 2005 y Martínez, 2012).



**Figura 15. Basófilos en la PDB vistos a 100X.**

### **13. RESULTADOS**

Se obtuvo un “pool” de escamas humanas proveniente de donadores no alérgicos como fuente del alérgeno a estudiar y representativo de nuestra población mexicana. Además de que, al haber sido varios donadores de EH, hizo que se minimizaran las variaciones en las concentraciones de las diferentes muestras. También las escamas se obtuvieron de diferente parte del cuerpo tales como espalda, extremidades y el talón del pie con el propósito de aumentar la variedad antigénica. Cabe resaltar que en este estudio no utilizamos alérgenos

recombinantes sino de origen natural sin conservadores y únicamente con inhibidores de proteasas para garantizar la integridad estructural de las proteínas. La cantidad de proteínas obtenidas se ajustó a una concentración de 1.165 µg/µL por sistema a la que denominamos antígeno sin diluir. Posteriormente se utilizaron otras dos (1:10 y 1:100) que correspondieron a una cantidad de proteínas de 0.1165 µg/µL y 0.01165µg/µL respectivamente (Cuadro 14).

Posteriormente se estudiaron 133 pacientes alérgicos a cualquiera de los siguientes ácaros del polvo: *D. pteronyssinus* y *D. farinae*. Se evaluaron variables demográficas (edad y sexo), enfermedad (es) alérgicas, y reactividad al polvo casero. Esto, junto con el resultado en la prueba de degranulación de basófilos de las tres diluciones empleadas como se muestra en el siguiente cuadro:

**Cuadro 14. Reporte general de resultados.**

Nº de muestra	Diagnóstico	Edad	Sexo	<i>D. Pteronyssinus</i>	<i>D. farinae</i>	Polvo casero	PDB, EH Sin diluir (%)	PDB, EH 1:10 (%)	PDB, EH 1:100 (%)
885598	R.A.	13	M	✓			14.28	14.28	14.20
800302	R. Ay Asma	7	F		✓		25.00	25.00	16.66
924506	Asma	7	F		✓		54.54	45.45	27.27
900758	R. A. y Asma	11	M		✓	✓	41.66	41.66	25.00
915562	R.A.	13	M		✓		20.00	20.00	10.00
774557	R.A.	13	F	✓		✓	80.00	60.00	10.00
917990	R.A.	10	M	✓			41.66	0.00	0.00
927154	R.A.	26	F	✓	✓		61.53	46.15	30.76
927984	R.A.	13	M	✓			18.75	0.00	0.00
913145	R.A.	10	M	✓			0.00	0.00	0.00
773757	R.A.	48	F		✓		33.33	0.00	0.00
931096	R.A.	32	F	✓	✓		20.00	10.00	10.00
171013	R.A.	20	F	✓	✓		50.00	35.71	0.00
865211	R.A.	34	F	✓	✓		0.00	0.00	0.00
910350	R.A.	44	F	✓			20.00	0.00	0.00
901545	R.A.	22	M	✓	✓		0.00	0.00	0.00
746639	Asma	23	F	✓	✓		64.28	64.28	64.28
400244	R.A.	42	F	✓	✓	✓	0.00	0.00	0.00
838529	Asma	17	M	✓	✓		0.00	0.00	0.00
663523	R.A.	28	F		✓		73.68	73.68	42.10
931334	R.A.	29	F	✓	✓	✓	70.58	0.00	0.00

Nº de muestra	Diagnóstico	Edad	Sexo	<i>D. Pteronyssinus</i>	<i>D. farinae</i>	Polvo casero	PDB, EH Sin diluir (%)	PDB, EH 1:10 (%)	PDB, EH 1:100 (%)
933849	R.A.	10	M		✓		73.33	0.00	0.00
891133	Asma	35	F	✓			47.80	47.80	30.43
877392	D.A	12	F	✓	✓	✓	18.75	12.50	0.00
776626	R.A.	8	M	✓	✓		20.00	0.00	0.00
792273	R.A. y Asma	13	M	✓	✓	✓	50.00	33.33	25.00
935692	R.A.	13	M	✓	✓	✓	53.84	0.00	0.00
740012	R.A.	56	F	✓	✓	✓	50.00	26.92	26.92
603837	R.A.	11	F		✓	✓	38.88	11.00	0.00
849485	R.A y Asma	20	F	✓	✓	✓	0.00	0.00	0.00
926336	R.A.	12	M	✓			50.00	41.66	25.00
834761	R. y Asma	11	F	✓	✓		75.00	75.00	75.00
942510	R.A. y Asma	10	F		✓		71.42	71.42	71.42
897371	Otras	41	F	✓	✓		60.00	40.00	20.00
935693	Asma	32	F	✓	✓	✓	68.75	50.00	50.00
739738	R.A.	48	F		✓		25.00	12.50	12.50
905467	R.A.	26	F	✓	✓		14.28	14.28	0.00
800302	R.A. y Asma	7	F		✓		0.00	0.00	0.00
664369	R.A.	29	F	✓	✓		42.85	35.71	0.00
937872	Asma	5	F	✓	✓		88.88	88.88	88.88
908066	R.A.	4	F	✓	✓		64.28	0.00	0.00
940199	R.A.	12	F	✓		✓	72.72	54.54	9.09
203808	Asma	38	F	✓	✓	✓	0.00	0.00	0.00
929117	R.A.	6	F	✓	✓	✓	42.80	42.80	14.28
838960	Asma	23	M	✓			61.11	44.44	33.33
821345	R. y Asma	9	M	✓			85.00	67.00	26.00
813412	R.A.	31	F	✓			9.09	0.00	0.00
761800	R.A. y Asma	32	F	✓			85.71	28.57	14.28
943400	R.A. y Asma	8	F	✓			73.68	31.57	31.57
416634	Asma	39	M	✓	✓		45.45	45.45	0.00
934941	R.A.	7	F	✓		✓	85.71	57.14	57.14
943830	R.A.	13	M	✓		✓	57.14	57.14	0.00
930527	R.A.	10	M	✓			84.61	23.07	7.69
937871	Otras	10	M	✓			27.27	0.00	0.00
943589	R.A.	43	F		✓		70.58	52.94	0.00
936696	Asma	10	M	✓	✓		55.00	5.00	0.00
828288	R.A.	10	M	✓	✓	✓	0.00	0.00	0.00
913780	R.A.	9	M	✓			58.33	0.00	0.00
915435	R.A. y Asma	5	M	✓	✓		36.36	36.36	0.00
926167	R.A.	12	M	✓			16.16	16.16	0.00
902164	R.A.	3	F	✓		✓	75.00	56.25	0.00
913044	R.A.	9	M	✓	✓		71.42	71.42	42.85
787420	D.A	10	M	✓	✓	✓	30.76	30.76	0.00

Nº de muestra	Diagnóstico	Edad	Sexo	<i>D. Pteronyssinus</i>	<i>D. farinae</i>	Polvo casero	PDB, EH Sin diluir (%)	PDB, EH 1:10 (%)	PDB, EH 1:100 (%)
813434	Asma	20	F		✓		70.83	54.16	29.16
803162	Urticaria	33	F	✓	✓		80.00	60.00	40.00
947395	R.A. y Asma	42	F	✓		✓	6.66	0.00	0.00
942413	R.A. y Asma	11	M	✓		✓	41.66	41.66	41.66
875590	Asma	50	F	✓	✓	✓	85.71	42.85	42.85
920147	Asma	6	M		✓	✓	0.00	0.00	0.00
940139	Asma	9	M	✓			70.00	0.00	0.00
948047	R.A.	44	F	✓	✓	✓	71.42	0.00	0.00
941503	R.A.	5	M	✓		✓	0.00	0.00	0.00
928491	Otras	53	M	✓			0.00	0.00	0.00
947261	R.A.	9	M	✓		✓	75.00	50.00	37.50
941528	R.A.	7	M	✓			0.00	0.00	0.00
945789	R.A.	37	M		✓		57.14	42.85	14.28
950870	R.A. y Asma	42	F	✓			0.00	0.00	0.00
950683	R.A. y Asma	21	F	✓			0.00	0.00	0.00
949789	R.A.	15	M	✓	✓		26.66	26.66	26.66
914616	R.A.	8	M	✓			71.42	71.42	28.57
928052	R.A.	16	M	✓			66.66	44.44	33.33
883747	R.A.	17	F	✓	✓	✓	5.26	5.26	5.26
881232	R.A.	11	M	✓	✓		64.70	64.70	47.05
943665	R.A. y Asma	8	F	✓			7.69	7.69	7.69
936099	R.A.	37	M	✓	✓	✓	42.85	21.42	21.42
938916	R.A.	12	M	✓	✓	✓	57.89	31.57	0.00
931141	R.A.	17	M		✓		47.05	47.05	41.17
600218	R.A.	13	M	✓	✓	✓	0.00	0.00	0.00
728233	R.A.	13	F	✓			42.85	0.00	0.00
938633	D.A.	20	F	✓	✓		57.14	57.14	0.00
951280	R.A.	47	F	✓		✓	60.60	60.60	60.60
937919	R.A.	17	F	✓			37.50	37.50	37.50
887613	R.A.	10	M	✓			50.00	0.00	0.00
611945	R.A.	11	M	✓	✓	✓	7.14	7.14	7.14
953482	R.A.	28	F	✓	✓		54.54	27.20	18.18
949076	R.A.	12	M		✓		60.00	20.00	10.00
770482	R.A.	27	F		✓		33.33	22.22	0.00
959684	R.A. y Asma	9	M	✓	✓	✓	27.27	0.00	0.00
945778	Asma	10	M		✓		75.00	16.66	0.00
882602	Asma	12	F	✓			0.00	0.00	0.00
874684	R.A. y Asma	10	M	✓	✓		0.00	0.00	0.00
862116	R.A.	30	M		✓		50.00	25.00	12.50
886342	R.A.	13	F		✓		28.50	0.00	0.00
924189	R.A.	25	M	✓			0.00	0.00	0.00
815867	Asma	22	M	✓			68.18	0.00	0.00
951020	Asma	8	M	✓			33.33	0.00	0.00
952784	Asma	12	M	✓		✓	10.00	0.00	0.00

N° de muestra	Diagnóstico	Edad	Sexo	<i>D. Pteronyssinus</i>	<i>D. farinae</i>	Polvo casero	PDB, EH Sin diluir (%)	PDB, EH 1:10 (%)	PDB, EH 1:100 (%)
806324	Otras	26	F	✓	✓		25.00	0.00	0.00
950686	R.A. y Asma	6	F	✓		✓	6.66	6.66	0.00
847919	Rinitis	16	M	✓	✓	✓	80.00	60.00	50.00
786652	Otras	21	F	✓	✓	✓	25.00	25.00	12.50
830192	Otras	10	M	✓	✓		28.50	28.50	14.20
693969	R.A.	38	F	✓			25.00	25.00	8.33
943509	R.A.	12	M	✓	✓	✓	15.70	0.00	0.00
945510	R.A.	20	F	✓			50.00	40.00	0.00
934499	R.A.	16	M	✓	✓		0.00	0.00	0.00
947776	R.A.	16	F		✓	✓	88.88	55.55	44.44
220287	Otras	27	F		✓		71.42	0.00	0.00
946364	R.A.	22	M	✓		✓	57.10	14.28	14.28
929709	R.A.	6	M	✓	✓		57.14	42.85	71.42
960993	R.A.	9	M	✓	✓		11.11	11.11	0.00
853498	R.A.	7	M	✓	✓		13.33	0.00	0.00
951921	D.A.	49	F	✓	✓		0.00	0.00	0.00
943071	R. A.	41	M	✓			22.22	0.00	0.00
938928	R.A. y Asma	17	F	✓	✓		35.29	17.64	0.00
957879	D.A.	11	M	✓	✓		10.00	10.00	0.00
895897	R.A.	11	F	✓			0.00	0.00	0.00
909114	R.A.	33	M	✓	✓	✓	36.00	36.00	36.00
935693	Asma	32	F	✓	✓	✓	38.46	30.76	30.76
893405	R.A. y Asma	14	M		✓		60.00	20.00	10.00
831157	R.A. y Asma	25	M	✓	✓	✓	25.00	18.75	12.50
861646	R.A.	20	M	✓	✓		25.00	25.00	12.50
928445	Asma	11	F	✓	✓	✓	0.00	0.00	0.00

Para demostrar la sensibilidad y especificidad de la prueba usamos una población de 19 pacientes alérgicos a otros alérgenos, pero negativos a la prueba cutánea a cualquiera de los dos ácaros y al polvo casero como se observa en el Cuadro 15.

**Cuadro 15. Reporte de resultados de pacientes alérgicos sin reactividad al ácaro o al polvo casero.**

N° de muestra	Diagnostico	Edad	Sexo	<i>D.pteronyssinus</i>	<i>D.farinae</i>	PDB, EH Sin diluir (%)	PDB, EH 1:10 (%)	PDB, EH 1:10 (%)
930420	Rinitis.	23	M	-	-	0.00	0.00	0.00
922141	Otras	9	M	-	-	0.00	0.00	0.00
845471	Rinitis	3	M	-	-	7.70	7.70	0.00
937358	Asma	46	F	-	-	0.00	0.00	0.00
376700	Rinitis	44	F	-	-	11.11	0.00	0.00
929244	Otras	60	M	-	-	21.42	21.42	0.00
942310	Rinitis	8	F	-	-	0.00	0.00	0.00
271189	Ninguna	24	M	-	-	0.00	0.00	0.00
140389	Ninguna	25	F	-	-	0.00	0.00	0.00
515254	Rinitis	49	F	-	-	7.69	7.69	0.00
928431	D.A.	43	M	-	-	0.00	0.00	0.00
30755	Rinitis	58	F	-	-	0.00	0.00	0.00
11288	Ninguna	25	M	-	-	0.00	0.00	0.00
480588	Rinitis	65	F	-	-	0.00	0.00	0.00
115771	Ninguna	49	F	-	-	0.00	0.00	0.00
160790	Ninguna	24	M	-	-	34.48	44.82	0.00
923450	Otras	46	F	-	-	20.00	0.00	0.00
634073	Rinitis	55	F	-	-	10.00	0.00	0.00
930420	Rinitis	23	M	-	-	0.00	0.00	0.00

Se realizó el cálculo de sensibilidad y especificidad de la técnica de degranulación de basófilos frente a las escamas humanas. Se debe hacer la aclaración de que éste cálculo corresponde a un sistema heterólogo. Si bien lo ideal fue haber utilizado un sistema homólogo, debido a que en un estudio paralelo encontramos que existe un alto grado de correlación entre el extracto de ácaros y el de escamas ( $r= 0.91$ ) (García, 2015) se tomó la decisión de realizar esta aproximación.

Sensibilidad 58%  
 Especificidad 95%  
 Prevalencia 88%  
 Valor predictivo positivo de 99%  
 Valor predictivo negativo 24%

	Pacientes	
Degranulación de basófilos	Alérgicos	No alérgicos
Positivo	77	1
Negativo	56	18

### 13.1 Análisis estadístico

Para realizar el análisis estadístico, los datos se analizaron mediante el programa SPSS 12.0 (Statistics Products Solutions Services). Primero se analizaron los datos demográficos de la población de estudio con base en la frecuencia de alergia a los ácaros y posteriormente se realizó el análisis con los resultados obtenido de la prueba de degranulación de basófilos al enfrentarse con las escamas humanas.

### 13.2 Género de la población

De nuestra población de estudio, evaluamos 66 pacientes del sexo femenino (49.6%) y 67 del sexo masculino (49.3%) (Cuadro 16).

**Cuadro 16. Distribución de los pacientes estudiados de acuerdo al género.**

SEXO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Femenino	66	49.6%
Masculino	67	50.4%
Total	133	100.0%

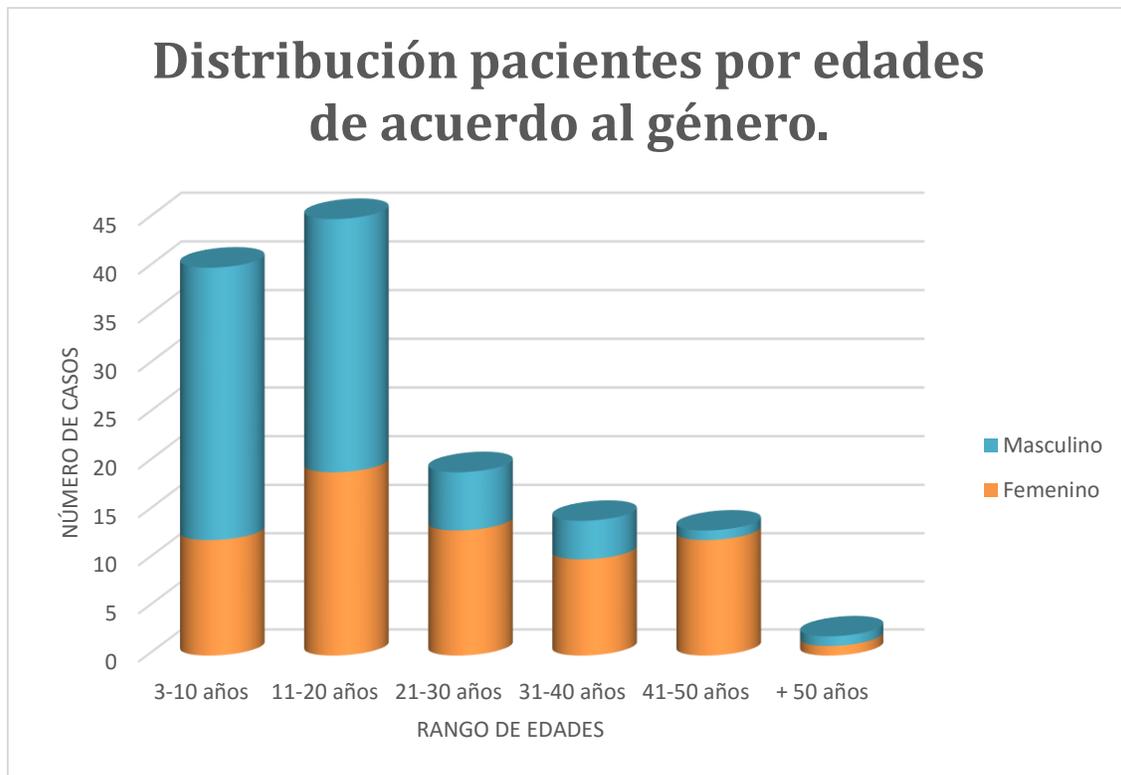
### 13.3 Edades de la población

Las edades de la población de estudiada fueron de 3 a 56 años de edad con una media de 19.64 años, una mediana de 13 años y una moda de 10 años. La distribución por edades se dividió en rangos por décadas encontrando la siguiente frecuencia (Cuadro 17).

**Cuadro 17.- Distribución etaria por décadas.**

<b>Edades</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje %</b>
<b>3-10 años</b>	40	30.3
<b>11-20 años</b>	45	34
<b>21-30 años</b>	19	14.2
<b>31-40 años</b>	14	10.7
<b>41-50 años</b>	13	10
<b>+ 50 años</b>	2	1.6

La población general estudiada alérgica a ácaros tiene una distribución del sexo y edad reportada con la siguiente distribución (Figura 16):



**Figura 16. Distribución de pacientes por edades de acuerdo al género.**

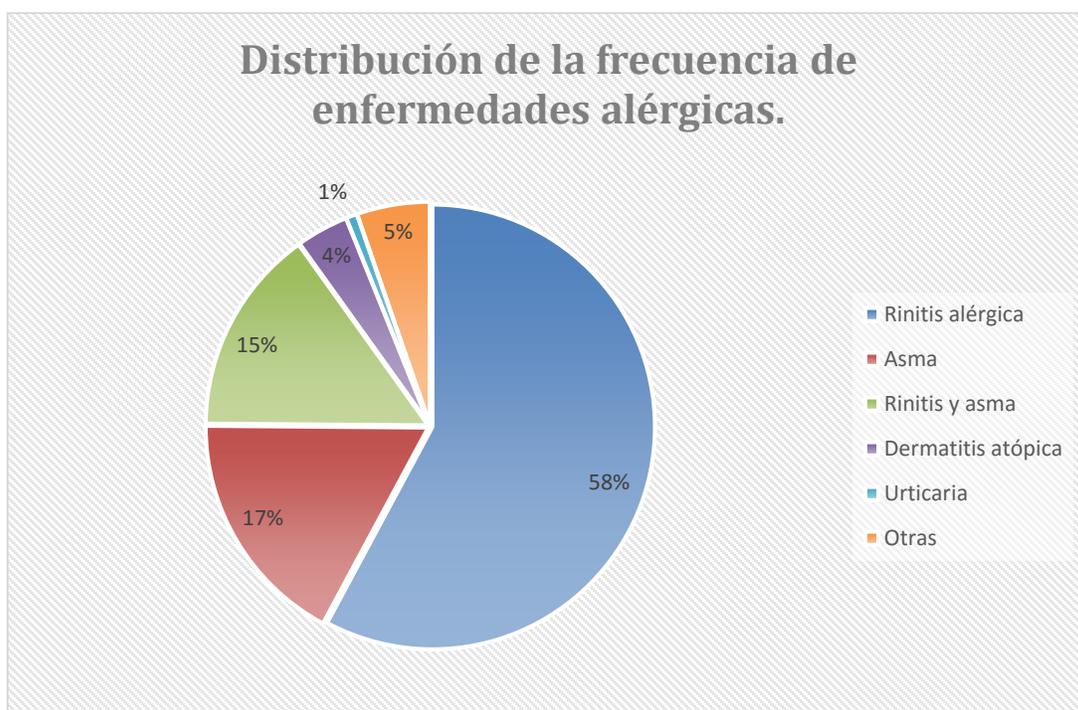
Se puede resaltar que, en las dos primeras décadas de vida, la reactividad a los ácaros es mayor en el género masculino. A partir de la tercera década esta proporción se invierte y se encuentra ahora que predomina la hipersensibilidad a los ácaros con el género femenino.

### 13.4 Padecimientos alérgicos en la población de estudio

La frecuencia de las entidades clínicas que manifestó nuestra población de estudio se muestra en la Figura 17, aunque se debe considerar que hay muchos pacientes que contaban con más de un diagnóstico, donde la rinitis alérgica se presentó en el 57.9% de los casos. Le sigue asma con un 17.3%, rinitis y asma en un 15%, dermatitis atópica en un 3.8%, urticaria en un 0.8% y otras enfermedades en un 5.3%. Entre estas últimas tenemos Rinoconjuntivitis alérgica (dos casos, uno masculino y otro femenino), síndrome de Sampter (un caso paciente

femenino), Dermatitis atópica (tres pacientes masculinos, dos femeninos), Rinitis mixta (dos femeninos y un masculino) escleroderma (un caso paciente femenino).

La distribución de las manifestaciones alérgicas encontradas en nuestra población, se asemeja a la distribución esperada para una población promedio de 19.64 años, en donde se espera que la frecuencia de enfermedades sea: Rinitis>Asma >Dermatitis >otras. Lo anterior con base en la historia natural de las enfermedades alérgicas (marcha atópica).



**Figura 17. Distribución de la frecuencia de enfermedades alérgicas en la población de estudio.**

A continuación, observamos la gráfica de frecuencia (Figura 18) donde se puede observar la distribución de positividades en los pacientes a los diferentes alérgenos por separado: *D. pteronyssinus*, *D. farinae* representan el 100% y polvo casero el 16.4%.

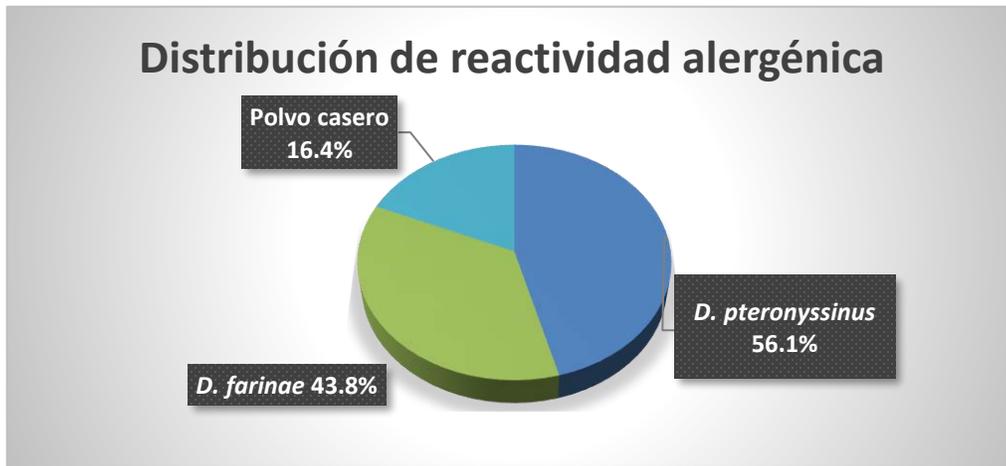


Figura 18. Distribución de la proporción de reactividad alérgica de los pacientes estudiados.

### 13.5 Resultados de reactividad a escamas humanas

Estudiamos 133 pacientes alérgicos a los ácaros del polvo casero, de los cuales 77 resultaron positivos (57.8%) al alérgeno de escamas humanas y 56 pacientes (42%) resultaron negativos (Figura 19).



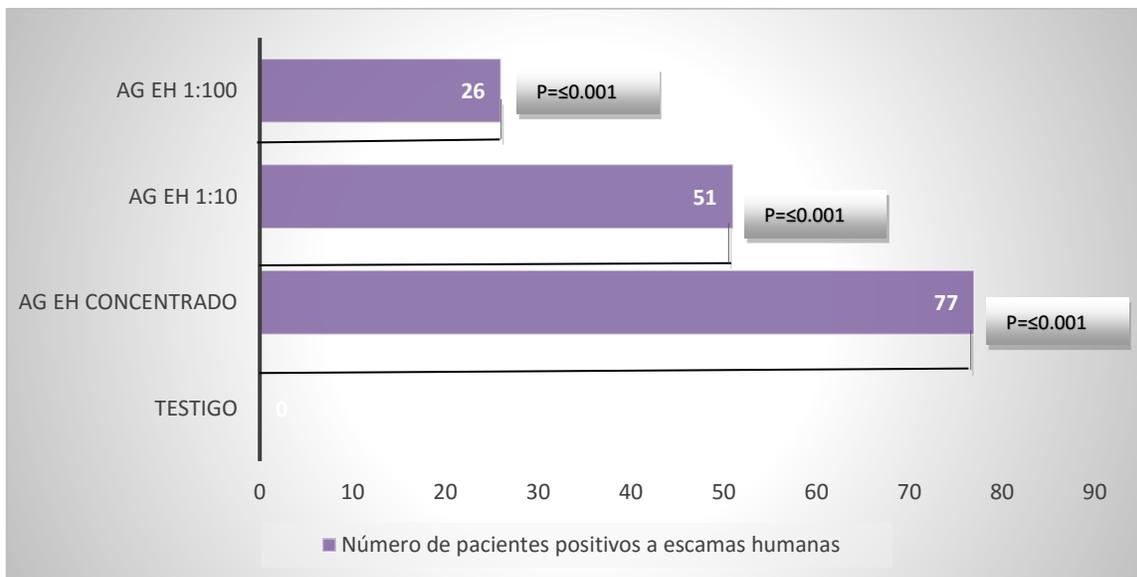
Figura 19. Pacientes alérgicos al acaro con autorreactividad a las escamas humanas

Se realizó una tabla ANOVA en la cual se comparan los 3 sistemas empleados: Antígeno de escamas humanas concentrado, Antígeno de escamas humanas a dilución 1:10 y Antígeno de escamas humanas a dilución 1:100, con el fin de observar la significancia en cada sistema, donde se puede demostrar que las 3 diluciones tienen reactividad comparativamente con el control con una significancia menor de 0.001 y al realizar la tabla de reactividad encontramos que la mayor concentración tiene más pacientes que resultan positivos a la escama de piel, y al evaluar el porcentaje de degranulación el comportamiento de la gráfica es similar (Cuadro 18).

**Cuadro 18. Comparación de diferentes diluciones contra el control negativo**

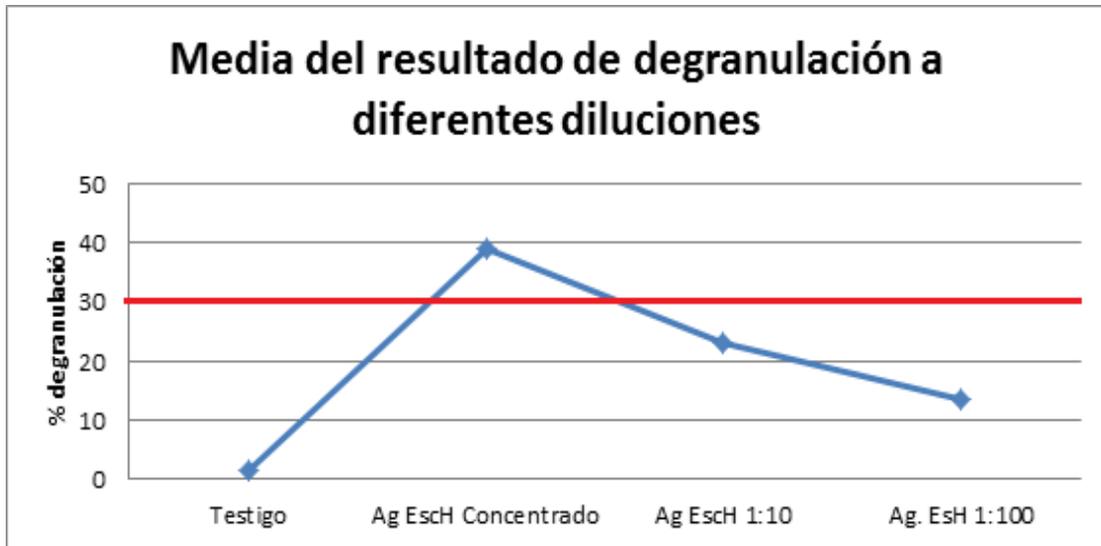
ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Testigo negativo (medio salino)	Inter-grupos	4131.854	22	187.812	431.130	≤ 0.001
	Intra-grupos	48.355	111	.436		
	Total	4180.209	133			
Ag. EH concentrado	Inter-grupos	2679.808	22	121.809	10.441	≤ 0.001
	Intra-grupos	1294.946	111	11.666		
	Total	3974.754	133			
Ag. EH 1:10	Inter-grupos	3302.216	22	150.101	19.854	≤ 0.001
	Intra-grupos	839.165	111	7.560		
	Total	4141.381	133			
Ag. EH 1:100	Inter-grupos	3454.623	22	157.028	29.258	≤ 0.001
	Intra-grupos	595.736	111	5.367		
	Total	4050.358	133			

Con el propósito de estudiar la respuesta de los pacientes alérgicos a los ácaros hacia las escamas humanas de una manera dosis dependiente se realizó una curva dosis-respuesta. El análisis de esta respuesta nos indicó que a la mayor concentración de antígeno utilizado se obtuvo el mayor efecto biológico, en este caso expresado como la degranulación de basófilos. También se puede mencionar que como en cualquier sistema ligando-receptor, el grado de estimulación depende de la concentración, se encontró que en éste sistema la concentración que tuvo la mayor significancia clínica fue la de antígeno concentrado (Figura 20).



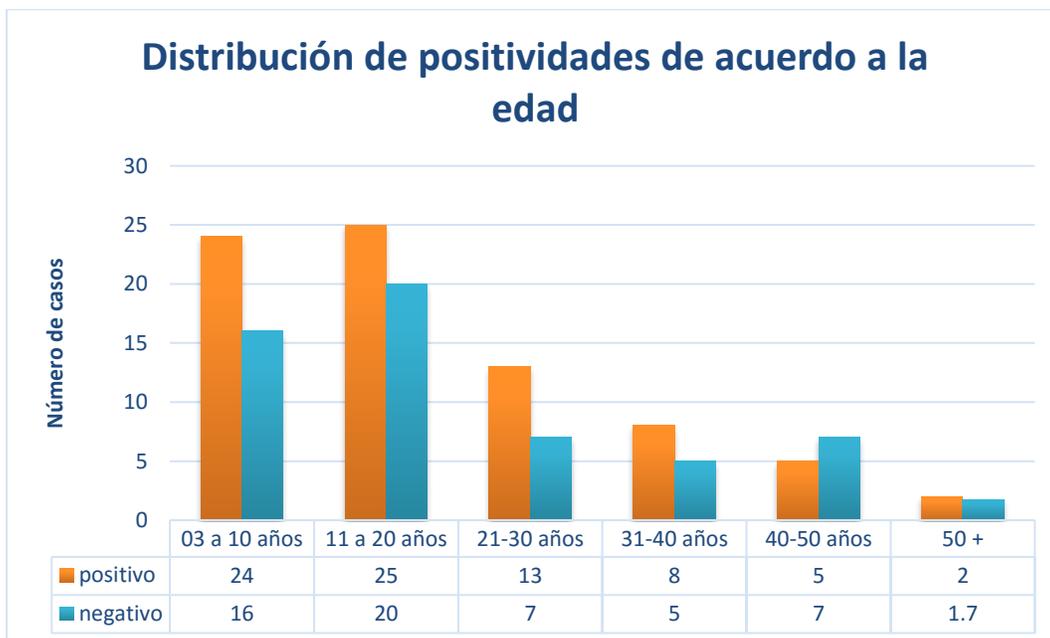
**Figura 20. Frecuencia de positividad de las tres concentraciones de antígeno de escamas humanas**

El valor de corte utilizado para dar un diagnóstico clínico positivo o negativo fue del 30%, el cual es el que recomiendan los artículos especializados. Este generalmente se obtiene al calcular la media y sumarle tres desviaciones estándar para obtener el valor de referencia (Figura 21).



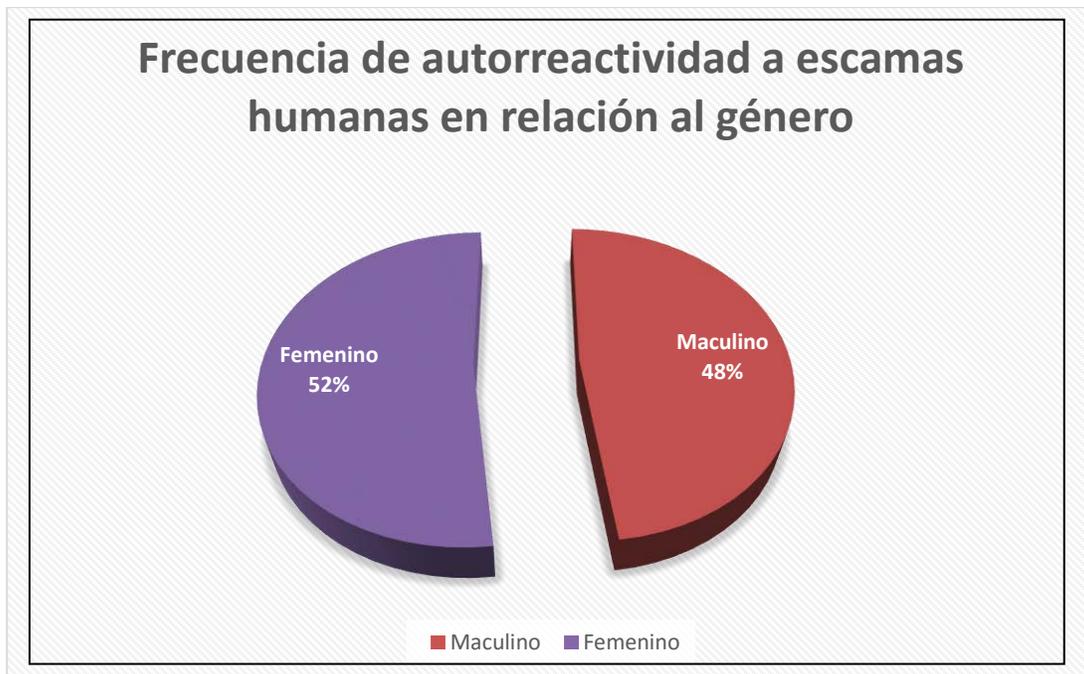
**Figura 21.** Porcentajes de positividad a las escamas de acuerdo a las tres concentraciones evaluadas

Haciendo un análisis por grupo de edades de la reactividad frente a escamas humanas, se encontró que durante las primeras dos décadas de vida es cuando se presentó la mayor reactividad. Durante las siguientes tres décadas disminuye gradualmente, siendo casi nulo después de los 50 años (Figura 22).



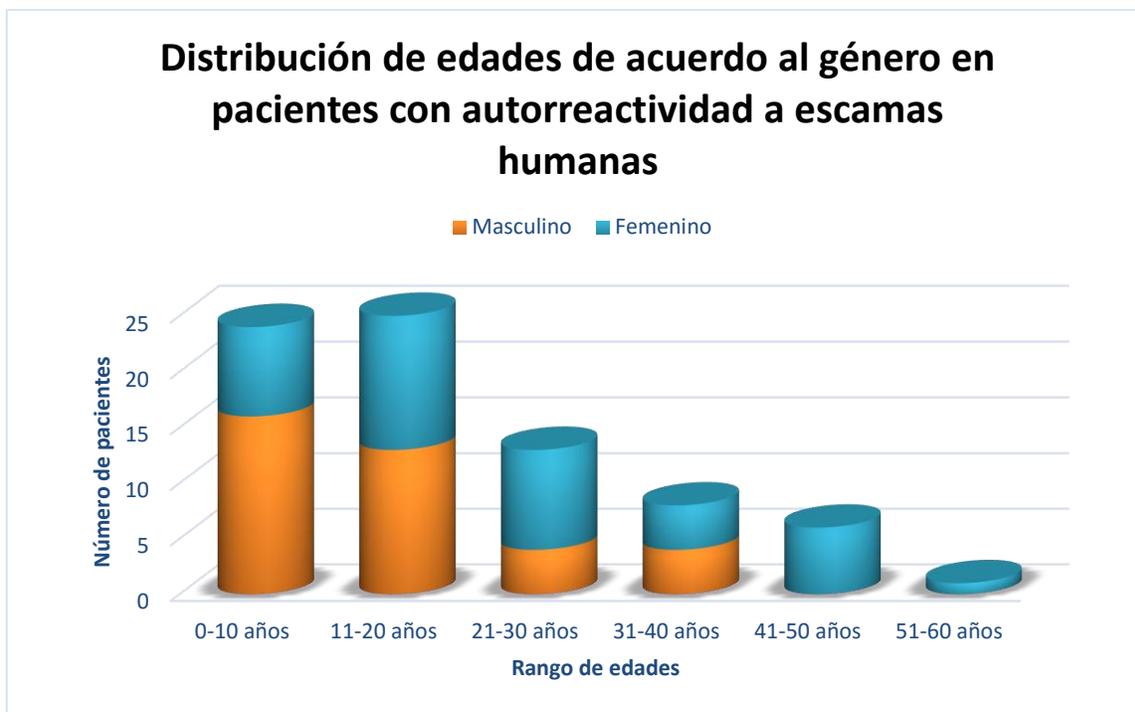
**Figura 22.** Distribución de positivities de acuerdo a la edad.

Para conocer si la autorreactividad a escamas humanas fue más frecuente en el sexo femenino o en el sexo masculino se realizó el análisis de la frecuencia encontrándose que el género femenino es el predominante con un 52% y el género masculino correspondió a un 48% (Figura 23).



**Figura 23. Frecuencia de autorreactividad a escamas humanas en relación al género**

Cuando se comparó la frecuencia de reactividad con respecto al grupo etario y el género, se encontró que en la primera década de vida el fenómeno de reactividad a las escamas es más frecuente en el género masculino. Posteriormente viene una década de transición en donde se iguala la proporción masculino-femenino. A partir de la tercera década comienza un predominio de la manifestación de auto-reactividad del género femenino con una tendencia progresiva al aumento (Figura 24).



**Figura 24. Distribución de edades de acuerdo al género en pacientes con autorreactividad a escamas humanas.**

Realizando un análisis del grado de autorreactividad a escamas humanas en los pacientes positivos, se dividió la población en 4 grupos según el grado que presentaban.

1°: El 1+ representa pacientes que tuvieron 30%-60% de degranulación.

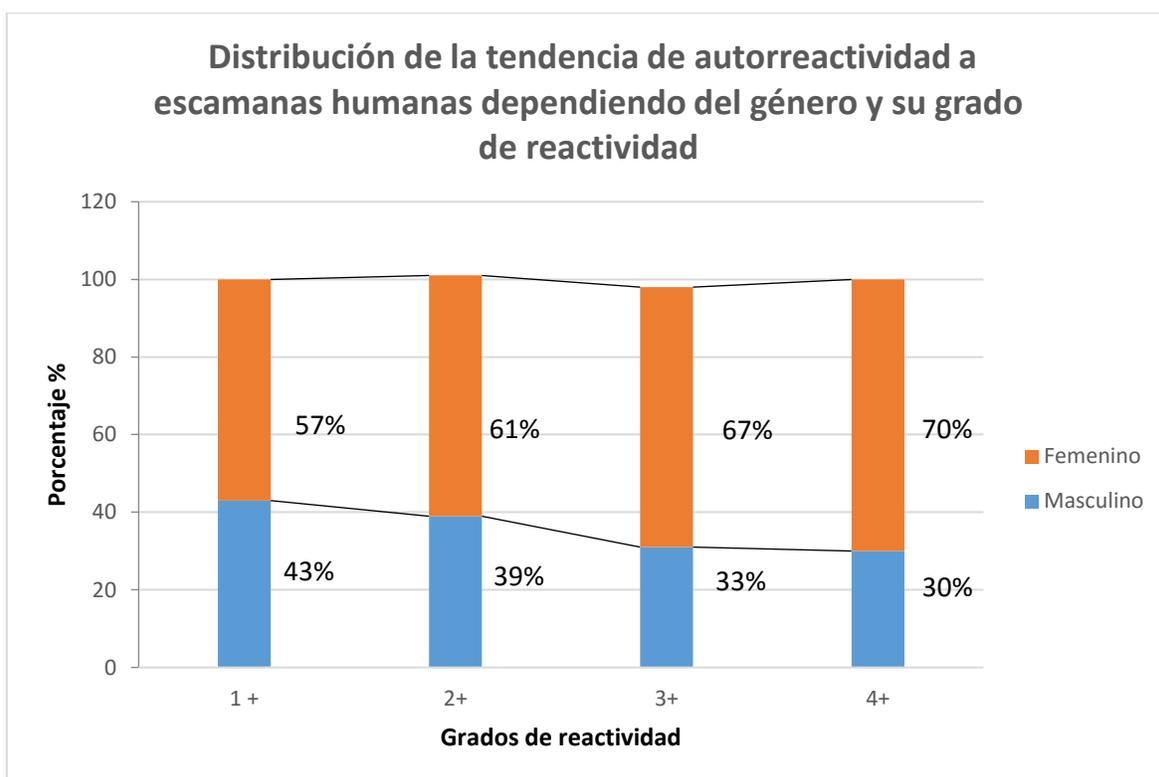
2°: El 2+ pacientes con más de 60% de degranulación.

3°: El 3+ pacientes con más de 70% de degranulación.

4°: Finalmente 4+, pacientes con más de 80% de degranulación.

De la población con autorreactividad a escamas, se puede observar que existe un mayor grado de compromiso en la población del género femenino, debido a que se encontró que conforme aumentaba el grado de reactividad, se presenta una mayor presencia de este género. Por

ejemplo, en el grupo de reactividad 1+, el porcentaje de mujeres/hombres fue de 57%/43%. En el siguiente grupo de reactividad, 2+ el porcentaje fue de 61%/39%. La tendencia al aumento continuó en el grupo de reactividad 3+ con un 67%/33%. Este aumento se estabilizó en el grupo de mayor reactividad, 4+ con un 70%/30% (Figura 25).



**Figura 25. Distribución de la tendencia de autorreactividad a escamas humanas según el género y grado de reactividad.**

La correlación entre la autorreactividad a escamas humanas con alérgenos de acaro del polvo se hizo por prueba de correlación de Pearson (Cuadro 19), Kendall y Spearman (Cuadro 20). El análisis mostró que la mayor correlación se presentó entre la respuesta al *D. pteronyssinus*

con las escamas humanas con una significancia de 0.062. Con *D. farinae* presentó una correlación menor.

**Cuadro 19. Correlaciones de Pearson**

Alérgenos		<i>D.pterony-</i> <i>ssinus.</i>	<i>D.farinae</i>	Escamas humanas
D.pteronyssius	Correlación de Pearson	1	-.353**	-.163
	Sig. (bilateral)		0.000	0.062
	N	133	133	133
D. farinae	Correlación de Pearson	-.353**	1	.025
	Sig. (bilateral)	.000		0.775
	N	133	133	133
Escamas humanas	Correlación de Pearson	-.163	.025	1
	Sig. (bilateral)	.062	.775	
	N	133	133	133
**. La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).				

**Cuadro 20. Correlación de Kendall y Spearman.**

Alérgenos			<i>D. pteronyssinus</i>	<i>D. farinae</i>	Escamas humanas
Tau_b de Kendall	<i>D. pteronyssinus.</i>	Coeficiente de correlación	1.000	-.353**	-.163
		Sig. (bilateral)	.	.000	.062
		N	133	133	133
	<i>D. farinae</i>	Coeficiente de correlación	-.353**	1.000	.025
		Sig. (bilateral)	.000	.	.774
		N	133	133	133
	Escamas humanas	Coeficiente de correlación	-.163	.025	1.000
		Sig. (bilateral)	.062	.774	.
		N	133	133	133
Rho de Spearman	<i>D. pteronyssinus</i>	Coeficiente de correlación	1.000	-.353**	-.163
		Sig. (bilateral)	.	.000	.062
		N	133	133	133
	<i>D. farinae</i>	Coeficiente de correlación	-.353**	1.000	.025
		Sig. (bilateral)	.000	.	.775
		N	133	133	133
	Escamas humanas	Coeficiente de correlación	-.163	.025	1.000
		Sig. (bilateral)	.062	.775	.
		N	133	133	133
**. La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).					

En cuanto a la asociación de la autorreactividad a escamas humanas a los diferentes diagnósticos se encontró un mayor número de casos de pacientes con R.A. (Figura 26). Sin embargo, se realizó una tabla con valores porcentuales (para suprimir el sesgo) encontrando

que la mayor asociación de la autorreactividad a las escamas humanas fue con el asma bronquial (74%). Seguido de la rinitis alérgica y la dermatitis atópica con un 60%. Menor porcentaje presentó la asociación rinitis-asma con un 45% (Cuadro 21).



**Figura 26. Autorreactividad a escamas humanas de acuerdo al diagnóstico.**

**Cuadro 21. Autorreactividad a escamas humanas por diagnósticos.**

		Diagnósticos					
		Rinitis alérgica	Asma	Rinitis y asma	Dermatitis atópica	Urticaria	otros
Escamas humanas	Negativo	31	6	11	4	0	5
	positivo	46	17	9	6	1	2
	% Positivos	59.7%	73.9%	45%	60%	100%	40%
Total		77	23	20	10	1	7

## 14. DISCUSIÓN

La alergia a los ácaros del polvo casero (*D. pteronyssinus*, *D. farinae*) es la más importante o frecuente en la población mexicana y en el mundo. Debido a lo anterior es muy importante buscar con que otros alérgenos se presentan relaciones, así como con que enfermedades alérgicas se pueden llegar a asociar. Se ha descrito reactividad cruzada entre los alérgenos de los ácaros y alérgenos presentes en cucarachas (Perfetti. *et al*, 2004), camarón (Olala. *et al*, 2008) y escamas humanas (Witteman. *et al*, 1994). Esta reactividad cruzada se presenta por similitud estructural entre las proteínas, por lo que en el presente estudio revisamos si los pacientes alérgicos a los ácaros presentan anticuerpos de la clase IgE dirigidos contra un autoalérgeno como son las escamas humanas, medido mediante el ensayo de degranulación de basófilos.

Cuando se analizó a la población de estudio la cual comprendió de 133 pacientes alérgicos a uno o a ambos ácaros del polvo casero (*D. pteronyssinus*, *D. farinae*) se observó que en relación al género fue similar en ambos, el masculino con 67 pacientes y 66 pacientes del género femenino, a diferencia de otros estudios donde la mayoría de los pacientes que llegan al servicio de alergia son mujeres.

La media en población de estudio osciló entre los 11 y 20 años, lo cual coincide con los estudios publicados en donde se muestra que la población alérgica es más común en adolescentes y adultos jóvenes. También observó que la población alérgica va disminuyendo conforme van pasando los años, siendo la población masculina la que se va aminorando potencialmente comparada con la población femenina, la cual se mantiene constante hasta los 50 años, posteriormente también sufre un decremento drástico.

Las enfermedades alérgicas mayormente detectadas fueron la Rinitis alérgica 50%, lo cual concuerda con las referencias nacionales e internacionales, ya que ésta se considera la enfermedad atópica más común afectando a un 20% de la población mexicana (Lopez. *et al* 2009), seguido por el asma en un 17%, después ambas enfermedades concomitantes en un 15%, posteriormente el 5% lo componen otras enfermedades como Rinoconjuntivitis alérgica, síndrome de Sampter, Dermatitis atópica, Rinitis mixta y escleroderma, posteriormente la dermatitis atópica en un 4% y la urticaria en un 1%.

En la respuesta dérmica positiva a diferentes alérgenos de los pacientes seleccionados para el estudio, se encontró que la sensibilización a *D. pteronyssinus* fue la más frecuente con un 56.1%. Lo anterior fue debido a la zona geográfica donde nos encontramos, en la cual se reporta a este ácaro como el más predominante. Es menos común en nuestro país con un 43.8% el *D. farinae*, el cual es más frecuente en Europa (Colloff, 2009). Los pacientes estudiados presentan en tercer lugar reactividad al polvo casero en un 17 % de los casos debido a que éste alérgeno tiene una amplia variedad antigénica y entre sus componentes están los ácaros anteriormente mencionados, además de pólenes, escamas de insectos, entre otros (Perfetti. *et al*, 2004 y Lopez E. , 2014).

El hallazgo principal de este estudio fue que al realizar la prueba de degranulación de basófilos en 133 pacientes alérgicos a los ácaros se encontró un porcentaje mayoritario de respuesta a las escamas humanas correspondiente a un 58%. Lo anterior significa que la frecuencia de respuestas “autorreactivas” asociadas con hipersensibilidad es más frecuente de los que se pensaba. Una posible explicación a esta asociación es la presencia de reactividad cruzada entre los exoalérgenos y los autoalérgenos de la piel. En trabajos previos de nuestro grupo de trabajo estudiando pacientes reactivos a los ácaros, se reportó una frecuencia del

70%, mediada por anticuerpos de la clase IgE e IgG1 hacia las escamas humanas medido por ELISA e Inmuno-electrotransferencia (Vilchis, 2012 y Romero M. , 2012). También en el ensayo de proliferación de linfocitos provenientes de pacientes alérgicos a los ácaros frente a escamas humanas, se encontró un 50% de reactividad (García, 2015).

La asociación más fuerte entre autoinmunidad e hipersensibilidad tipo 1 se ha descrito en los pacientes con dermatitis atópica, en los cuales se ha estudiado que puede existir un determinante genético, como por ejemplo un defecto en el gen de la filagrina o en los genes que codifican proteínas para el complejo de diferenciación epidérmica, lo cual puede llegar a alterar la integridad de la piel haciéndola más propensa a que penetren alérgenos o estímulos que induzcan reacciones inmunológicas secundarias. Se cree que el mecanismo de sensibilización hacia proteínas propias se da cuando el individuo se sensibiliza hacia alérgenos exógenos. Esto puede conducir a que el daño tisular en los órganos diana (piel, ojos, tracto respiratorio, tracto gastrointestinal), se liberen proteínas intracelulares que funcionan como epítomos y sean reconocidos por las células presentadoras de antígeno, conduciendo a la “autoalergia”. En los pacientes atópicos, al predominar la respuesta TH2, permite que los linfocitos B produzcan autoanticuerpos IgE en contacto con los autoantígenos. Estos autoanticuerpos IgE, pueden ser distribuidos por la circulación y entrar en contactos con los FcεRI de mastocitos o basófilos y provocar la liberación de mediadores (Cipriani. et al 2014 y Valenta. et al, 2000).

Por otra parte, en este estudio se consideró importante utilizar tres concentraciones del alérgeno de escamas humanas para valorar el efecto dosis-respuesta. En nuestro sistema se consideró la utilización de dos testigos negativos. Uno de los cuales fue una suspensión celular, el cual representa a las células sin ningún tipo de estímulo. El otro fue una suspensión

celular en presencia de solución salina, el cual representa un estímulo no alérgico. Se observó que no hubo diferencia entre ambos sistemas, lo cual nos demostró que fueron buenos testigos negativos debido a que el vehículo no representa una fuente de alérgenos. Se realizó una comparación de medias entre los resultados de las tres concentraciones comparadas con el control negativo; observando una alta significancia en los tres grupos con una  $p \leq 0.001$ , lo cual nos indica que cualquiera de las tres diluciones pueden ser correctamente empleadas, sin embargo al analizar los porcentajes de degranulación y las gráficas la concentración que mejor refleja el efecto del alérgeno de escamas humanas sobre los basófilos es el de mayor concentración, debido a que es en donde se observan los mayores porcentajes de degranulación.

Se utilizó un grupo testigo negativo el cual consistió de 19 sujetos negativos en las pruebas cutáneas a los ácaros *D. pteronyssinus* y *D. farinae*. En dicha población se presentó una sola respuesta positiva a las escamas, por lo que cuando se hizo el cálculo de la especificidad este resultó elevado correspondiente a un 95%, lo cual significa que este ensayo presenta un excelente valor predictivo positivo.

El patrón de presentación de autorreactividad frente a las escamas humanas presenta una distribución por edades muy similar a la encontrada en la hipersensibilidad. Se encontró que la mayor frecuencia se presentó entre el grupo que va de los 11 a los 20 años, seguido del grupo de la primera década de vida. A partir de la tercera década se observa una disminución progresiva tanto en el grado de autorreactividad e hipersensibilidad. Generalmente cuando la autoinmunidad se da de manera independiente, se presenta un incremento conforme la edad aumenta. En cambio, cuando esta se encuentra asociada con la hipersensibilidad se

encuentran relacionadas de manera que cuando declina la hipersensibilidad también lo hace la autoinmunidad (Cipriani. *et al*, 2014 y García, 2015).

También se observó que la autorreactividad a escamas humanas fue ligeramente más frecuente en el género femenino, en un 58% a diferencia del 42% presente en el género masculino. Además, en el ensayo de proliferación de linfocitos existe la tendencia de una mayor respuesta del género femenino (50%) en comparación con el género masculino (45%). Así mismo se demostró que durante la primera década de la vida, la autorreactividad es más común en el género masculino que en el femenino y a partir de la segunda década de vida incrementa la incidencia de pacientes del género femenino. Estudios epidemiológicos en pacientes asmáticos sugieren que, en entidades clínicas como el asma, son más frecuentes las hospitalizaciones en niños que en niñas durante la primera década de vida. Mientras que durante la adolescencia aumenta de manera progresiva el número de pacientes del género femenino. Esto sugiere que las hormonas juegan un papel importante en la autorreactividad, ya que el incremento a partir de la segunda década de vida se pudiera asociar a los cambios hormonales que ocurren durante la pubertad (Cieza. *et al*, 2008). Se ha documentado que las hormonas femeninas (estrógenos, progesterona y estradiol) son un factor que actúa favoreciendo la inflamación y la hiperreactividad de la vía aérea mediante la modulación de la síntesis y liberación de citocinas, como son: la IL-1, IL-5, IL-6, de IFN- $\gamma$  y el Factor de Crecimiento  $\alpha$ . La progesterona favorece el desarrollo de las células Th produciendo citocinas del perfil Th2 y tiene efecto supresor de la histamina, pero, al mismo tiempo potencia la formación de IgE. El estradiol puede aumentar la activación de los mastocitos y la sensibilización alérgica. Este esteroide sexual puede mejorar tanto la formación de prostaglandina F2- $\alpha$ , a través de la activación  $\alpha$ -9-cetogluterasa, y el metabolismo del ácido

araquidónico (Balzano. *et al*, 2001). Además, los estrógenos son propensos a aumentar la formación de uniones comunicantes en el músculo liso bronquial. Los andrógenos parecen tener un efecto inmunosupresor comportándose como protectores. También se ha demostrado que la mucosa alérgica sobre-expresa receptores hacia estrógenos y progesterona (Balzano. *et al*, 2001, Ansar. *et al*, 1985 y Da Silva, 1995). Con la llegada de la menopausia en una minoría de la población femenina coincide con el inicio o exacerbación de síntomas clínicos por ejemplo de asma, sin embargo, el patrón hormonal que llegan a presentar se asemeja al de las mujeres en edad fértil (niveles altos de 17- $\beta$  estradiol y niveles bajos de FSH Y LH), por lo que sugiere que los niveles bajos de estrógenos, el cual tiende a disminuir con la edad en pacientes sanas, ejerce un efecto protector.

Al analizar el grado de degranulación de basófilos en los pacientes con reactividad a escamas, se encontró que los niveles altos de degranulación (mayor al 60%) correspondieron al género femenino, y mientras la reactividad aumentó, mayor fue el número de pacientes de este género. Esto concuerda con el estudio realizado por (Balzano *et al*, 2001) en el que demostró que las mujeres tienden a presentar respuestas exacerbadas a autoantígenos, explicando la predisposición de las mujeres hacia las enfermedades autoinmunes.

En la población estudiada se encontró que existió una mayor correlación de respuesta a escamas humanas al *D. pteronyssinus* ( $p=0.062$ ), en comparación con *D. farinae* ( $p=0.775$ ) con correlación de Pearson, lo cual se explica por la mayor prevalencia del primero sobre el segundo en el área metropolitana de la Ciudad de México.

En anteriores estudios realizados por investigadores como (Valenta. *et al*, 1998 y Natter. *et al*, 1998) la evidencia mostrada fue que la autorreactividad solo ocurre en los casos severos de

dermatitis atópica y no en los casos de alergias respiratorias. En la presente investigación la mayor asociación entre autorreactividad y entidades alérgicas se presentó en el asma bronquial con un 74%; seguida de rinitis alérgica y Dermatitis atópica, ambas con un 60%, y la asociación rinitis y asma con un 45%. Se presentó un 100% de Urticaria, pero es de destacar que solo se estudió un paciente con éste padecimiento el cual como es de esperarse dio positivo. Un hallazgo original del presente trabajo es que la evidencia nos indicó que la entidad clínica alérgica con la que se asoció más la reactividad a escamas humanas fue el asma. En otros trabajos apuntan hacia D.A, (Valenta. *et al*, 1998) pero en nuestra experiencia ésta se presentó junto con la rinitis la segunda mayor frecuencia de autorreactividad. Esto sugiere que en futuros estudios el enfoque se dirija a pacientes con asma y rinitis alérgica además de los de dermatitis.

En trabajos nacionales (Martínez, 2012 y Hernández, 2014) el asma bronquial también ha sido relacionado con la presencia de una alta proporción de autorreactividad, demostrado por prueba de suero autólogo, lo cual se infirió en el estudio la presencia de autoanticuerpos contra el receptor FcεRI.

De manera no entendible la asociación de las entidades clínicas rinitis y asma presenta un porcentaje de autorreactividad de un 45%, el cual resulta menor a los porcentajes de estas entidades por separado.

## 15. CONCLUSIONES

- Se determinó que el 58% de los pacientes alérgicos a los ácaros del polvo casero, sus basófilos degranulan al enfrentarse con el antígeno de escamas humanas, por medio de la técnica de degranulación de basófilos
- La concentración de escamas humanas óptima para la realización de la prueba de degranulación de basófilos fue de 1.165  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$
- Se encontró que la etapa de vida con mayor autorreactividad se presenta entre los 11 y 20 años.
- Se encontró que la autorreactividad no solo es más frecuente en el género femenino, sino que este presenta el mayor grado respuesta hacia las escamas humanas.
- Se presentó el hallazgo de que el alérgeno con mayor asociación a la autorreactividad a escamas humanas es *D. pteronyssinus*, a diferencia de *D. farinae*.
- Se demostró que la entidad clínica con mayor asociación en los pacientes alérgicos a los ácaros del polvo casero fue la rinitis alérgica, mientras que en los pacientes con autorreactividad a escamas fue el asma bronquial.
- En el presente trabajo se presentó evidencia de autorreactividad hacia las escamas humanas, lo cual puede deberse a la presencia de anticuerpos contra componentes de tejido propio sugiriendo que estas enfermedades tienen gran componente de autorreactividad.

## 16. BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Abbas, A. (2004). Inmunología celular y molecular. Madrid, España: Elsevier.
- 2.- Abolk, H. (2004). Inmunología celular y molecular. Madrid, España: Elsevier.
- 3.- Adelman, D. (2005). Alergia e Inmunología. Madrid, España: Marban SL.
- 4.- Allergen.org. (12 de Septiembre de 2015). Obtenido de: <http://www.allergen.org/search.php?TaxSource=Animalia%20Arthropoda>
- 5.- Ansar, S., Penhale, W., & Talal, N. (1985). Sex hormones, immune responses, and autoimmune diseases. Mechanism of sex hormone action. *Journal of pathology*(121), 531-551.
- 6.- Arruda, E. (2004). Diagnostic Test and their clinical use in allergy. (15), 113-117.
- 7.- Balzano, G., Fuschillo, S., Melillo, G., & Bonini, S. (2001). Asthma and sex hormones. (56), 13-20.
- 8.- Barrio Nuevo, E. (2014). Papel del test de activación de basófilos en el diagnóstico de rinitis alérgica local. Málaga, España: Tesis Doctoral, Universidad de Málaga.
- 9.- Bellanti, J., Mendez, J., Huerta, J., Ovilla, R., & Escobar, A. (2008). Alergia, Enfermedad multisistémica. CDMX: Medica Panamericana.
- 10.- Brito, H. (2014). Reactividad alergenica cruzada in vivo entre Casuarina equisetifolia L(pino australiano)con: Fraxinus ubdei(Fresno)Betula occidentalis(Abedul) Quercus vellutina(Encino) y Liquidambar styraciflua (Maple) en pacientes con rinitis y/o asma alérgicas. CDMX: Tesis de Licenciatura, UNAM.
- 11.- Burguete, M. (2015). La Marcha Atópica. Recuperado el 22 de Noviembre de 2015, de <http://institutodepediatria.com.mx/recursos/236-marcha-atopica>.
- 12.- Canseco, C. (2003). Pontuario sobre enfermedades alérgicas. (1º Edición ed.). México D.F.: Mendez Editores.
- 13.- Cardona, R. (2010). Alergia, abordaje clínico, diagnóstico y tratamiento. Bogotá, Colombia: Médica Panamericana.
- 14.- Cieza, D., Centeno, C., & Pinto, M. (2008). Características clínicas, perfil hormonal y marcadores de autoinmunidad de pacientes con enfermedad de graves. *Revista Médica de Hered*, 19(4), 152-157.

- 15.- Cipriani, F., Ricci, G., Leoni, M., Capra, L., Baviera, G., Longo, G., & Maiello, N. (2014). Autoimmunity in atopic dermatitis: Biomarker or simply epiphenomenon? (41), 569-576.
- 16.- Colloff, M. (2009). Dust Mites. New Zeland: Csiro Publishing.
- 17.- Da Silva, J. (1995). Sex hormones, glucocorticoids and autoimmunity: facts and hypotheses. *Annals of Rheumatic Diseases*(16), 54-64.
- 18.- De la Cámara, J., Ruiz, S., & Anglada, J. (2003). Urgencias de atención primaria. Conjuntivitis alérgica. Recuperado el 31 de Octubre de 2015, de: <http://www.elsevier.es>
- 19.- Doan, T., Melvod, R., Viselli, S., & Waltenbaugh, C. (2008). *Inmunología*. Beijing, China: Wolters Kluwer Health.
- 20.- Ecured.cu. (2015). EcuRed. Recuperado el 8 de Agosto de 2015, de <http://www.ecured.cu/index.php/AI%C3%A9rgenos>
- 21.- Fleury.com. (2015). Fleury.com.br. Obtenido de <http://fleury.com.br/medicos/educacao-medica/artigos/pages/quando-suspeitar-de-mastocitose-e-como-confirmar-o-diagnostico.aspx>
- 22.- Florez, J. (2013). *Farmacología Humana* (6° ed.). Madrid , España: Elsevier Masson.
- 23.- García, I. (2015). Proliferación de linfocitos totales en presencia de escamas humanas en pacientes alérgicos al ácaro del polvo. Cuautitlán Izcalli: Tesis de Licenciatura, UNAM.
- 24.- Gonzalez, P., & Carlos, J. (2006). La Marcha atópica. (*Revista de Neumología pediátrica*) Recuperado el 22 de Noviembre de 2015, de <http://www.neumologia-pediatria.cl/PDF/200613/MarchaAtopica.pdf>
- 25.- Henry, J. (2006). *Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio*. Madrid, España: Salvat.
- 26.- Hernández, M. (2014). Búsqueda de auto-reactividad en pacientes alérgicos mediante el uso de la prueba de suero autólogo. Cuautitlán Izcalli: Tesis de Licenciatura, UNAM.
- 27.- Holgate, S. (2001). *Alergia*. Madrid, España: Elsevier.
- 28.- Irigoyen, C. (2005). *Guías prácticas para el Laboratorio de Inmunología*. Editorial Medicina Familiar Mexicana.
- 29.- King, P., Hoffman, D., Lowenstein, H., & Marsh, D. (1995). Allergen Nomenclature. (50), 764-765.

- 30.- Kurmar, V., Abbas, A., Fausto, N., & Aster, J. (2007). Patología estructural y funcional. Madrid, España: Elsevier.
- 31.- Lawrence, M., Tierney, J., McPhee, S., & Papadakis, M. (2006). Diagnóstico Clínico y Tratamiento (41° ed.). CDMX: Manual Moderno.
- 32.- Lopez, E. (2014). Frecuencia de sensibilización a ácaros, cucarachas y camarón en adultos con alergia respiratoria. (61), 59-64.
- 33.- Lopez, G., Morfín, B., López, J., Mejía, F., López, J., & Aguilar, G. (2009). Prevalencia de las enfermedades alérgicas en la Ciudad de México. Revista Alergia, 56(3), 72-79.
- 34.- Malvran, A. (2015). El laboratorio en el diagnóstico de alergia. (Asociación Argentina de Inmunología Clínica) Recuperado el 23 de Noviembre del 2015, de [http://www.alergia.org.ar/profesionales/emc/prodai2008/laboratorio\\_diagnostico\\_alergia.pdf](http://www.alergia.org.ar/profesionales/emc/prodai2008/laboratorio_diagnostico_alergia.pdf)
- 35.- Martínez, K. (2012). Comparación y evaluación de la autoreactividad medida por la prueba in vitro (Suero autólogo) e in vitro (degranulación de basófilos) en el diagnóstico de pacientes con urticaria crónica. Cuautitlán Izcalli, Edo México: Tesis de Licenciatura UNAM.
- 36.- Monterrey, C., Silva, Y., García, N., Camacho, N., Monzon, N., & Silva, N. (2011). Total IgE sensitivity against specific IgE against mites and molds in workers for the screening of type 1 allergy. 11(2), 77-87.
- 37.- Montes, J., Flores, J., & Barrón, E. (2005). Histamina: receptores y antagonistas. 68(3), 164-169.
- 38.- Moreira, M., & Mendonca, M. (2001). Sensitization to indoor allergens among asthmatic patients living in Uberlandia. 24(1), 11-21.
- 39.- Morton, M., Soifer, M., Hirsch, R., & Milisou, K. (1975). Degranulación de basófilos y pruebas cutáneas.
- 40.- Muñoz, M. (2009). Hipersensibilidad a medicamentos. XIII, 819-834.
- 41.- Natter, S., Seiberler, S., & Hufnagl, P. (1998). Isolation of cDNA clones coding for IgE autoantigens with serum IgE from atopic dermatitis patients. 12, 1559-1569.
- 42.- Novartis.com.ar. (2014). Ficha técnica del Medicamento Omalizumab. (Novartis) Recuperado el 8 de Noviembre de 2015, de [www.novartis.com.ar](http://www.novartis.com.ar)
- 43.- Olala, R., & García, M. (2008). Alergias, los ácaros del polvo doméstico. 27(4).
- 44.- Owen, J. (2014). Kuby, Inmunología. CDMX: Mc Graw Hill.

- 45.- Pazmiño, F., & Navarrete, M. (2014). Mecanismos inmunológicos implicados en la patología del asma alérgica. 62(2), 265-277.
- 46.- Perfetti, L., Ferrari, M., Galdi, E., Pozzi, V., Cottica, D., & Grignani, E. (2004). House dust mites (Der p1, Der f1), cat (Fel d1) and cockroach (Bla g2) allergens in indoor work places (office and archives).
- 47.- Porter, R. (2006). El Manual Merck. México D.F: Panamericana.
- 48.- Roitt, I. (2010). Inmunología. Fundamentos. (11 ed.). Editorial Médica Panamericana.
- 49.- Rojas, W. (2001). Inmunología (12° ed.). Medellín, Colombia: Corporación para investigaciones biológicas.
- 50.- Roman, A., & Olalde, S. (2008). Inmunoterapia específica con alérgenos. IT del Sistema Nacional de Salud, 32(2), 39-44.
- 51.- Romero, J., Pereira, Q., & Zini, R. (2007). Reacciones de Hipersensibilidad. (167).
- 52.- Romero, M. (2012). Estudio comparativo sobre el perfil electroforético de las proteínas de escamas humanas, de perro y/o gato. Cuautitlán Izcalli: Tesis de Licenciatura, UNAM.
- 53.- Salinas, M. (2010). La Inmunología en la Salud y la Enfermedad. Mexico DF.: Médica Panamericana.
- 54.- San Juan, H., Caraballo, L., & Puerta, L. (1998). Alérgenos. Relación entre función biológica y alergenidad. 1(18), 68-88.
- 55.- Sawai. (1988). Immediate Hypersensitivity skin reactions to human dander in atopic dermatitis .
- 56.- Tang, T. (2012). Does "autorreactivity" play a role in atopic dermatitis? (129), 1209-1215.
- 57.- Tincopa, O. (2014). Urticaria y Angioedema. Una visión general. 2(21), 111-124.
- 58.- UNAM. (2015). Evolución escrita en piel. Recuperado el 20 de 09 de 2015, de [www.cienciorama.unam.mx/a/pdf/264\\_cienciorama.pdf](http://www.cienciorama.unam.mx/a/pdf/264_cienciorama.pdf)
- 59.- Valenta, R., Ferreira, F., Focke, M., Linhart, B., Niederberger, V., & Swoboda, I. (2010). From allergene genes to allergy vaccines. (28), 211.
- 60.- Valenta, R., Natter, S., Seiberler, S., Wichlas, S., Maurer, D., & Hess, M. (1998). Molecular characterization of an autoallergen Hom s1 identified by serum IgE from atopic dermatitis patients. 6(111), 1178-1183.

- 61.- Valenta, R., Seiberler, S., Natter, S., Mahler, V., Mossabeb, R., & Ring, J. (2000). Autoallergy: A pathogenic factor in atopic dermatitis? 105(3), 432-437.
- 62.- Verloet, D. (8 de Septiembre de 2008). Stallergenes Greer. Recuperado el 8 de Agosto de 2015, de <http://www.stallergenes.es/ciencia-e-innovacion/la-alergia/epidemiologia-y-clinica.html>
- 63.- Vilchis, V. (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 alergenos de perro y/o gato. Cuautitlán Izcalli: Tesis de licenciatura UNAM.
- 64.- Witteman, A., Akkerdaas, J., & Leeuwen, J. (1994). Identification of a crossreactive allergen (presumably tropomyosin) in shrimp, mite and insects. 105, 56-61.
- 65.- Young, S. H. (2005). Alergias. Buenos Aires, Argentina: Granica.
- 66.- Zendejas, V. (1997). Reconocimiento de antígenos de un ácaro del polvo casero (*Dermatophagoides pteronyssinus*) por parte de sueros de pacientes alérgicos y sus convivientes. México D.F.: Tesis de doctorado.
- 67.- Zubiria, E. (2004). Asma Bronquial. Bogotá, Colombia: Médica Panamericana.

## 17. ANEXOS

### Anexo 1 Formato de registro de resultados de las pruebas cutáneas




**HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO, OPD-SSA**  
**DIVISION DE INVESTIFACION Y ENSEÑANZA**  
**LABORATORIO 2 DE INMUNOALEROLOGIA Y MICOLOGIA MEDICA**

NOMBRE \_\_\_\_\_ EDAD \_\_\_\_\_  
 SEXO \_\_\_\_\_ DX \_\_\_\_\_ EXPEDIENTE \_\_\_\_\_ FECHA \_\_\_\_\_

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

ANTIGENO	A=Animal P=Polen H=Hongos O=Otros	(+)=Positivo (-)=Negativo	ANTIGENO	A=Animal P=Polen H=Hongos O=Otros	(+)=Positivo (-)=Negativo
1.- ACACIA LONGIFOLIA	P		7.- ARTEMISA LUDOVICIANA	P	
2.- AGROSTI ALBA	P		8.- ASPERGILLUS FUMIGATUS	H	
3.- ALTERNARIA TENUIS	H		9.- ATRIPLEX BRACTEOSA	P	
4.- AMARANTHUS PALMERI	P		10.- AVENA SATIVA	P	
5.- AMBROSIA ELAÏOR	P		11.- BETULA OCCIDENTALIS	P	
6.- AMBROSIA CONFERTIFLORA	P		12.- BLATELLA GERMANICA	O	
13.- CANDIDA ALBICANS	H		19.- FRAXINUS AMERICANA	P	
14.- CHENOPODIUM ALBUM	P		20.- FELIS DOMEST (GATO)	O	
15.- CLADOSPORIUM CLADOS	H		21.- HELIANTHUS ANNUUS	P	
16.- COSMOS BIPINNATUS	P		22.- HELMINTHOSPORIUM S.	H	
17.- CYHODOM DACTYLON	P		23.- LIGUSTRUM LUCIDUM	P	
18.- DERM. FARINAE	O		24.- LIQUIDAMBAR STYR.	P	
25.- LOLIUM PERENNE	P		31.- PHLEUM PRATENSE	P	
26.- MUCOR MUCEDO	H		32.- TARAXACUM OFFICINALE	P	
27.- DERM. PTERONYSSINUS	O		33.- POLVO CASERO	O	
28.- PENICILLIUM NOTATUM	H		34.- POPULUS ALBA	O	
29.- PERIPLANETA AMERICANA	O		35.- PROSOPIS JUNIFLORA	P	
30.- CANIS FAMILIARIS (PERRO)	O		36.- QUERCUS VELLUTINA	P	
37.- RHIZOPUS HIGRICANS	H=hongos		43.- CASUARINA	P	
38.- RUMEX CRISPUS	P=maleza		44.- OLEA EUROPEA	P	
38.- SALSOLA KALI	P=maleza		45.- JUNIPERUS	P	
40.- SHINUS MOLLE	P=arbol		46.- POA PRATENSE	P	
41.- SORGHUM HALAPENSE	P=pasto		47.- CONTROL POSITIVO	Control	
42.- ZEA MAYS	P=pasto		48.- CONTROL NEGATIVO	Control	

Por la presente hoy \_\_\_\_\_ autorizo realización de 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 de este resultado.

Nombre y Firma del paciente o tutor \_\_\_\_\_  
 Testigo \_\_\_\_\_ Testigo \_\_\_\_\_

ELABORÓ: \_\_\_\_\_

## Anexo 2: Hoja de consentimiento informado

### HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

#### DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN

##### Consentimiento Informado para Participantes de Investigación

“Búsqueda de la autorreactividad a escamas humanas en pacientes alérgicos al polvo casero y ácaros del polvo (*Dermatophagoides pteronyssinus* y *Dermatophagoides farinae*) utilizando la prueba *in vitro* de degranulación de basófilos”.

El propósito de esta ficha de consentimiento es proveer a los participantes en esta investigación con una clara explicación de la naturaleza de la misma, así como de su rol como participantes.

La presente investigación es conducida por la Dra. María Isabel Rojo Gutiérrez del Hospital Juárez de México. La presente investigación tiene como objetivo determinar la presencia de autorreactividad en pacientes alérgicos al ácaro y al polvo casero con las escamas humanas, la cual será determinada mediante la realización de la prueba *in vitro* de degranulación de basófilos. Ésta implica extraer del paciente sangre venosa (10 mL) la cual será obtenida por la vena basilica del brazo izquierdo. La participación de este estudio es estrictamente voluntaria. La información que se obtenga será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de la investigación. Quedarán registrados en el expediente clínico del Hospital por lo que solo podrán ser revisados por el personal médico.

Entiendo que el estudio no tiene costo adicional para mí y que la atención médica que se me proporciona no se verá afectada por mi participación en el estudio. Los investigadores me han ofrecido aclarar cualquier duda o contestar cualquier pregunta que al momento de firmar la presente no hubiese expresado, o que surja durante el desarrollo de la investigación.

En caso de que la prueba sea positiva la Dra. María Isabel Rojo Gutiérrez, me informará a cerca de la interpretación del mismo.

Se me ha garantizado que puedo retirar mi consentimiento en cualquier momento, sin que ello signifique que la atención médica que se me proporcione se vea afectada por este hecho.

Yo \_\_\_\_\_ el día de hoy\_\_\_ de \_\_\_\_\_de 20 \_\_,estoy de acuerdo en participar en éste estudio, por lo que firmo la presente junto al investigador que me informó. En base a la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública Gubernamental en sus artículos 1°,2°,4°,5°, 6°, 10°,18°,19°, 20°,21° y 22° fracción V, autorizo a las partes contratantes a utilizar la información obtenida de mi participación en el estudio para su inclusión en los conformes científicos correspondientes, así como para presentarla en reuniones científicas o publicarla.

Nombre

Firma

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Testigo (Nombre y Firma)

Testigo (Nombre y Firma)

## 17.1 REACTIVOS

### Inhibidores de proteasas:

<b>Fenilmetasulfonifluoruro (PMSF)</b> Stock: 10 mg/mL en isopropanol Concentración sugerida: 20-40 µg/mL
<b>L-Cloro 3-(4-tasilamida)-4 fenil-2-butano (TPCK)</b> Stock: 10 mg/mL en etanol Concentración sugerida 100µg/mL
<b>Acido-p-Hidroxi-mercuribenzoico (PHMB)</b> Stock: 0.1M en isopropanol Concentración sugerida: 0.001M

### Preparación de colorante para tinción de degranulación de basófilos:

<b>Preparación Etanol al 30%</b>	30 mL de Etanol absoluto + 70 mL de agua destilada
<b>Disolución de azul de Toluidina</b>	10 mL de Azul de Toluidina 1% + 90 mL de etanol al 30%
<b>Disolución de rojo de metilo</b>	1.2 mL de rojo de metilo 0.5% R.A

### Colorante



El presente trabajo obtuvo un premio en el Congreso Nacional de Inmunología Clínica y Alergia celebrado en el WTC de Boca del Rio Veracruz en mayo del 2014.

