



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**CAMPO DE CONOCIMIENTO CIENCIAS MÉDICAS**

**VITAMINA D COMO ADYUVANTE A LA INMUNOTERAPIA ESPECÍFICA  
SUBCUTÁNEA EN PACIENTES CON RINITIS ALÉRGICA**

**TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA**

**JUAN CARLOS FERNANDEZ DE CORDOVA AGUIRRE**

**TUTOR**

**DR JOSELIN HERNANDEZ RUIZ  
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO "Dr. Eduardo Liceaga"**

**CIUDAD DE MEXICO, NOVIEMBRE DE 2016**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**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.



## **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**CAMPO DE CONOCIMIENTO CIENCIAS MÉDICAS**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION**

**HOSPITAL GENERAL DE MEXICO O.D. "DR. EDUADRO LICEAGA"**

**VITAMINA D COMO ADYUVANTE A LA INMUNOTERAPIA ESPECÍFICA SUBCUTÁNEA  
EN PACIENTES CON RINITIS ALÉRGICA**

---

Firma del Tutor

Dr. Joselin Hernández Ruiz

---

Firma del Profesor Titular

Dra. Gloria Eugenia Queipo García

---

Firma del Estudiante

Juan Carlos Fernández de Córdova Aguirre

## ÍNDICE

Capítulo I		
	Resumen	5
Capítulo II		
	Introducción	
	Antecedentes	10
	Planteamiento del problema	40
	Pregunta de investigación	42
	Justificación	43
	Hipótesis	44
	Objetivos	45
Capítulo III		
	Metodología	46
Capítulo IV		
	Resultados	57
Capítulo V		
	Análisis de datos	97
	Discusión	98
	Conclusiones	104
Capítulo VI		
	Referencias bibliográficas	105
Capítulo VII		
	Anexos	118

## Resumen

### Introducción

La inmunoterapia específica subcutánea (ITESC) es el tratamiento de elección para la rinitis alérgica (RA) y el mecanismo parece estar relacionado entre otros cambios inmunológicos con el incremento de interleucina 10 (IL-10). Su inicio de acción es de 6 meses en promedio, lo que coincide con la mejoría clínica. Actualmente se están investigando estrategias para mejorar y acelerar su inicio de acción. En otras patologías, se ha demostrado que la vitamina D (VitD) acelera el inicio de acción de la inmunoterapia, concomitante con un incremento en IL-10. En este trabajo estudiamos la VitD administrada como adyuvante a la ITESC y su efecto sobre el inicio de acción y la IL-10 plasmática en niños con RA.

### Objetivo

Investigar la eficacia y seguridad de la vitamina D como adyuvante a ITESC para acelerar su inicio de acción y analizar el comportamiento de IL-10 en niños con diagnóstico de RA.

### Material y métodos

Realizamos un ensayo clínico aleatorizado controlado con placebo. Incluimos a 40 niños y 40 niñas de 3 a 12 años de edad con diagnóstico de RA y/o asma, con niveles de VitD inferiores a 30 ng/mL, IMC percentilado normal para la edad. Fueron aleatorizados en dos grupos: ITESC más VitD (1 tableta de 1600UI/día oral) e ITESC más placebo (1 tableta de placebo/día oral). Se realizaron

valoraciones y medidas repetidas en los tiempos basal, a los 3 y a los 6 meses, evaluando respuesta clínica con escalas validadas (Control of Allergic Rhinitis and Asthma Test for Children Score, CaratKids), biomarcadores (linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos, inmunoglobulinas, citología nasal, cristales de Charcot-Leyden) y citocinas plasmáticas (IL-10, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL13, IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ ).

## Resultados

Mientras a los 6 meses de tratamiento, los dos grupos fueron similares en CaratKids (VitD=2.94 DE $\pm$ 2.5 vs placebo= 3.71 DE $\pm$ 3.3; p=0.288), a los 3 meses el grupo de ITESC más VitD alcanzó un valor menor que el placebo (VitD=3.18 DE $\pm$ 2.3 vs placebo=6.05 DE $\pm$ 2.8; p=<0.001). En el grupo de VitD, IL-10, IL-17A e IFN- $\gamma$  incrementaron a los 3 meses en comparación con los valores basales (p=<0.001) y disminuyeron los basófilos (p=0.018), eosinófilos séricos (p=0.038) y nasales (p=0.046). En el grupo placebo también disminuyeron los eosinófilos nasales (p=0.03) y PMN nasales (p=0.05) a los 3 meses. No se presentaron efectos adversos en el grupo de vitamina D.

## Conclusión

Los niños/as con RA que recibieron 1600 UI de vitamina D como adyuvante a la ITESC mejoraron sus síntomas clínicos en menos tiempo (3 meses) comparado con los niños/as que recibieron ITESC mas placebo. Las variables clínicas y los biomarcadores fueron similares a los 6 meses. IL-10, IL-17A, IFN- $\gamma$ , basófilos y

eosinófilos juegan un rol en la modulación inmunológica y clínica más temprana cuando se administra VitD los 3 primeros meses como adyuvante a ITESC.

Palabras clave: asma; citocinas; inmunoterapia; niños, rinitis alérgica; tolerancia, vitamina D.

## Abstract

### Background

Subcutaneous specific immunotherapy (IT) is the treatment of choice for allergic rhinitis (AR) and the mechanism seems to be related among other immunological changes with increased interleukin 10 (IL-10). Its onset of action is 6 months on average, coinciding with clinical improvement. Currently they are researched strategies to improve and accelerate its onset of action. In other diseases, it has been shown that vitamin D (VitD) accelerates the onset of immunotherapy, concomitantly with an increase in IL-10. In this paper we study the VitD administered as an adjunct to IT and its effect on the onset of action and IL-10 plasma in children with RA.

### Outcomes

We aimed to investigate the efficacy, safety, and biomarkers response of vitamin D as an adjunct to allergen-specific immunotherapy (SCIT).

### Methods

In this prospective, randomized, placebo-controlled study, we included sixty children with allergic rhinitis and were randomized into two groups as: subcutaneous IT (IT) with vitamin D supplementation (1600 U/day; n: 30) and subcutaneous IT (IT) with placebo supplementation (placebo; n: 30). All patients were evaluated at baseline, 3th and 6th months for scorings of symptoms and biomarkers. In addition, 13 cytokines responses were assessed.

## Results

While at 6 months of treatment, the two groups were similar in CaratKids (VitD =  $2.94 \text{ DE} \pm 2.5$  vs placebo =  $3.71 \pm 3.3$ ;  $p = 0.288$ ) at 3 months the VitD group was lower than placebo (VitD =  $3.18 \pm 2.3$  vs placebo =  $2.8 \pm 6.05 \text{ DE}$ ;  $p = <0.001$ ). In the group of VitD, IL-10, IL-17A and IFN- $\gamma$  increased at 3 months compared to baseline ( $p = <0.001$ ) and decreased basophils ( $p = 0.018$ ), serum and nasal eosinophils ( $p=0.038$  and  $0.046$  respectively). In the placebo nasal eosinophils ( $p=0.03$ ) and nasal PMN ( $p=0.05$ ) decreased at 3 months. No adverse effects were reported in the group of vitamin D.

## Conclusion

Children with AR who received 1600 IU of vitamin D as an adjunct to IT improved their clinical symptoms in less time (3 months) compared to children who received placebo. Clinical variables and biomarkers were similar at 6 months. IL-10, IL-17A, IFN- $\gamma$ , basophils and eosinophils play a role in early clinical and immune modulation.

Keywords: allergic rhinitis; asthma; children; cytokines; immunotherapy; tolerance; vitamin D.

## Antecedentes

### Rinitis alérgica

Rinitis alérgica (RA) es una enfermedad crónica e inflamatoria de la mucosa nasal, que se manifiesta clínicamente con rinorrea hialina anterior y posterior abundante y continua, estornudos, prurito y obstrucción por lo general bilateral y en balanza que dificulta el flujo aéreo nasal<sup>1</sup>. Cuando los signos y síntomas de la RA están presentes constantemente, se los conoce como perenes; y cuando están presentes solo en algunas épocas del año, son llamados estacionales<sup>2</sup>. La incrementada prevalencia de RA en edad pediátrica tiene importante relevancia, especialmente porque deteriora significativamente la calidad de vida de los niños/as y sus padres<sup>3</sup>.

### Epidemiología

La rinitis alérgica es una enfermedad con elevada prevalencia, que se ha incrementado en los países industrializados en las últimas décadas<sup>4</sup>. El Estudio Internacional sobre Asma y Alergias en la Infancia (The International Study of Asthma and Allergies in Childhood, ISAAC)<sup>5</sup>, nos muestra en 3 fases los datos de las tres enfermedades alérgicas más frecuentes en la población infantil: asma, rinitis alérgica y eccema atópico. En una primera fase se midió la prevalencia de los síntomas en la población constituida por niños de 6 a 14 años de edad. En la fase 2 se realizaron pruebas diagnósticas y en la fase 3 se determinó de nueva cuenta la prevalencia de los síntomas alérgicos para estimar la tendencia temporal

después de cinco años<sup>5</sup>. La prevalencia en Europa es de 15%, en Estados Unidos entre 18 y 30%, en Australia de 35% y en México se estima una prevalencia general de 5.5% en niños, aunque varía mucho de acuerdo a las series y lugares estudiados<sup>5</sup>. RA y asma son enfermedades comórbidas; un alto porcentaje de pacientes con rinitis (20-40%) tiene asma, mientras que 30 a 50% de los casos con asma tienen rinitis<sup>6</sup>. Se ha sugerido que el tratamiento óptimo de RA puede prevenir o retrasar la aparición de asma y disminuir la enfermedad existente<sup>6</sup>. En México la prevalencia general de RA en pacientes escolares es de 11.6%, en la Ciudad de México es 17.2%, en Villahermosa es 13.9% y en Mérida es 13.5%<sup>5,7</sup>. En adolescentes de todo el mundo se estima la prevalencia de RA de 14.6%, más alta en África de 18% y en América Latina de 17.3%, mientras que en el norte y este de Europa es de 9.2%<sup>5,7</sup>. En México la prevalencia general de rinitis alérgica en adolescentes es de 15.4%, sobre todo en Mexicali (28.1%), Villahermosa (17.7%), Mérida (15.7%) y Ciudad de México (centro 14.7%)<sup>5,7</sup>.

#### Fisiopatología e inmunología.

Para entender la fisiopatología y la inmunopatología de la rinitis alérgica, es necesario revisar la clasificación de hipersensibilidad de Gell y Coombs<sup>8</sup>. Las reacciones de hipersensibilidad pueden distinguirse por el tipo de inmunorreacción y por diferencias en las moléculas efectoras generadas durante la evolución del fenómeno<sup>9</sup>. En las reacciones de hipersensibilidad inmediata, diferentes isotipos de anticuerpos inducen moléculas efectoras de inmunidad específicas<sup>9</sup>. Los

anticuerpos IgE, por ejemplo, promueven la de-granulación de los mastocitos (también llamados células cebadas) con liberación de histamina y otras moléculas con actividad biológica<sup>10</sup>. En contraste, los anticuerpos IgG e IgM inducen reacciones de hipersensibilidad al activar el complemento<sup>11</sup>. Las moléculas efectoras que participan en las reacciones de complemento son el complejo de ataque a membrana y los productos del desdoblamiento del componente C3a y C5a<sup>11</sup>. Las moléculas efectoras de las reacciones de hipersensibilidad tardía son diversas citocinas que las células Th (“help” células T cooperadoras o ayudadoras) o las células Tc (citotóxicas) activadas secretan<sup>12</sup>. La propuesta de clasificación de las reacciones de hipersensibilidad es en cuatro tipos<sup>8</sup>. Tres de ellos se producen dentro de la rama humoral y son mediados por anticuerpo o por complejos antígeno-anticuerpo: mediadas por IgE (tipo I), mediadas por anticuerpo (tipo II) y mediadas por inmunocomplejos (tipo III). Un cuarto tipo de hipersensibilidad depende de las reacciones que ocurren dentro de la rama mediada por células y se denomina hipersensibilidad tardía o DTH (tipo IV)<sup>12</sup>. Las complejas combinaciones de inmunorreacciones humorales y mediadas por células y mecanismos efectoras están presentes en las enfermedades alérgicas<sup>13</sup>. La rinitis alérgica es causada por una reacción de hipersensibilidad de tipo I mediado por IgE<sup>9</sup>. La hipersensibilidad de tipo I es responsable en gran parte de la fisiopatología e inmunopatología de RA; sin embargo, su función biológica es la defensa frente a parásitos y helmintos<sup>9, 13</sup>. Se divide en dos fases: fase de sensibilización y fase efectora (también llamadas temprana y tardía)<sup>9,13</sup>.

Fase de sensibilización.

El ser humano y su sistema inmunológico se encuentran en interacción constante con diversos antígenos. Algunos de ellos, en conjunción con la susceptibilidad biológica y genética del huésped, pueden generar una respuesta clínica no normal o de hipersensibilidad, la cual es mediada por la producción exagerada de inmunoglobulina de tipo IgE, lo que conocemos como atopía<sup>14</sup>. Por lo general, llamamos alérgenos, a los antígenos que podrían ser los responsables de esta respuesta exagerada, y que en la mayoría de los casos, su naturaleza es proteínica<sup>9, 13,14</sup>. Un alérgeno se define como una proteína o hapteno que puede inducir la formación de anticuerpos específicos de tipo IgE<sup>15</sup>. Los alérgenos provienen de varias fuentes biológicas, los mismos que pueden encontrarse adentro y afuera de las viviendas, conocidos como intramuros y extramuros<sup>16</sup>. Los más importantes son las proteínas de ácaros, mascotas como gatos y perros, cucarachas, hongos, pólenes de árboles, pastos y malezas, abejas, avispa y hormigas; así como también de algunos alimentos y medicamentos<sup>16</sup>. Cuando los alérgenos son transportados hacia las barreras epiteliales son captados por células presentadoras de antígeno (CPA)<sup>9</sup>. Las CPA los degradan y procesan para después en los ganglios linfáticos regionales presentar los péptidos procesados a los linfocitos T Naive o “vírgenes” mediante el complejo mayor de histocompatibilidad clase II (MHCII) expresado por las CPA a los receptores de células T (TCR)<sup>17</sup>. En presencia de un microambiente provisto de IL-4 e IL-13, estos pueden diferenciarse a subpoblaciones Th2, por medio de la estimulación de la vía STAT6, lo que deriva en la activación del factor de transcripción GATA3 que

induce la síntesis de IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13. La IL-4 e IL-13 promueven además la diferenciación del linfocito B a célula plasmática y, en consecuencia, también estimulan el swtich para la producción de IgE específica<sup>9, 13, 15,17</sup>. La activación del linfocito B y el reordenamiento genético de las cadenas pesadas C $\gamma$  o C $\mu$  hacia C $\epsilon$ , deriva en cambio de isotipo a IgE<sup>18</sup>. IgE se encuentra en dos formas: unido a membrana y soluble. En la primera forma se localiza en la membrana plasmática y realiza funciones de receptor en los linfocitos B (BCR) y, mediante los receptores de la porción Fc de la IgE (Fc $\epsilon$ R), sobre los mastocitos o células cebadas, basófilos y eosinófilos lo que da origen a células sensibilizadas<sup>17, 18</sup> (Figura N.-1). En estado soluble es responsable de la activación de los elementos celulares antes descritos. En los seres humanos, la IgE se encuentra en una concentración muy baja; su rango es < 200 ng/mL y su vida media es de 2.5 días<sup>18</sup>.

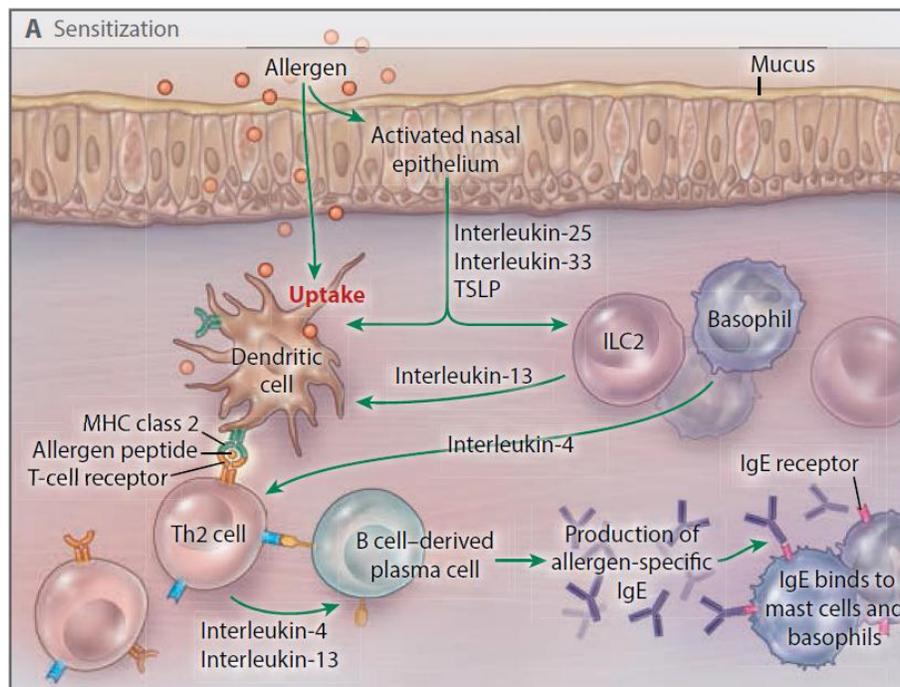


Figura N.-1. Fase de sensibilización alérgica. Tomado de N Engl J Med 2015; 372:456-63.

Fase efectora.

Existen dos clases de FcεR, llamados FcεRI (alta afinidad) y FcεRII (baja afinidad)<sup>18</sup>. Los mastocitos, los eosinófilos y los basófilos expresan FcεRI, que fija la IgE con afinidad alta<sup>14</sup>. Se ha demostrado que otras células también expresan FcεRI, células de Langerhans, monocitos y plaquetas, aunque en concentraciones menores<sup>17</sup>. La de-granulación del mastocito con la consiguiente liberación de mediadores pro-inflamatorios preformados y formación de novo de leucotrienos se produce por la unión del antígeno a la IgE específica previamente unida por el receptor de alta afinidad a las células. Estos eventos biológicos se conocen como el inicio de la segunda fase de la inflamación alérgica o fase efectora<sup>9, 14,17</sup>. Los sucesos bioquímicos que median la de-granulación de los mastocitos y los basófilos sanguíneos comparten muchas características. Aunque la de-granulación del mastocito suele iniciar con el enlace cruzado entre alérgeno e IgE fija, otros estímulos diversos pueden comenzar este proceso, como anafilatoxinas (C3a y C5a), diversos fármacos, haptenos e incluso otros receptores de mastocito<sup>10</sup>. La de-granulación mediada por IgE empieza cuando un alérgeno se enlaza de manera cruzada con la inmunoglobulina que se encuentra fija al receptor Fc sobre la superficie de un mastocito o un basófilo<sup>10</sup>. Por sí misma, la fijación de la IgE al FcεRI no parece tener efecto sobre la célula blanco. Es sólo después de que ocurren otros enlaces cruzados entre alérgeno y complejo IgE cuando se produce la de-granulación<sup>14</sup>. Los procesos de señalización intracelular que en última instancia causan la de-granulación de los mastocitos son polifacéticos, e implican la cooperación entre diversas fosfatasa y cinasas de

proteína y de lípido así como reordenamientos del citoesqueleto<sup>13</sup>. La defosforilación induce la producción de varios segundos mensajeros, entre ellos 1, 4,5-trifosfato de inositol (IP3) y diacilglicerol (DAG), que median el proceso de de-granulación. El IP3 eleva las concentraciones intracelulares de calcio, y el DAG, junto con calcio, activa la cinasa de proteína C. El aumento de los valores intracelulares de calcio y de PKC activada conduce a la de-granulación<sup>13, 14</sup> (Figura N.-2). El aumento de calcio, junto con la inducción de una cinasa de proteína activada por mitógeno (MAPK), da por resultado tanto la producción de citocina como la activación de la enzima fosfolipasa A2 (PLA2)<sup>19</sup>. La PLA2 hidroliza fosfolípidos de membrana, lo que lleva a la formación de ácido araquidónico, que se convierte en dos clases de mediadores lipídicos potentes: prostaglandinas y leucotrienos<sup>19</sup>.

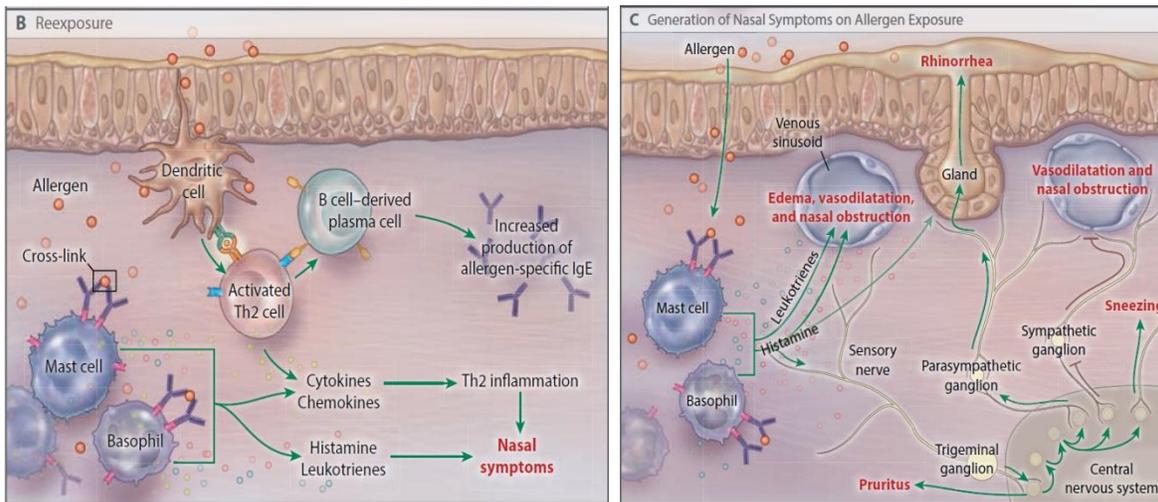


Figura N.-2. Fase de re-exposición al antígeno sensibilizado y generación de síntomas. Tomado de N Engl J Med 2015; 372:456-63.

## Mediadores químicos

Las manifestaciones clínicas de las reacciones de hipersensibilidad tipo I se relacionan con los efectos biológicos de los mediadores liberados durante la de-granulación de los mastocitos o los basófilos. Estos mediadores como la histamina son agentes con actividad farmacológica que actúan tanto sobre los tejidos locales como sobre poblaciones de células efectoras secundarias, como eosinófilos, neutrófilos, linfocitos T, monocitos y plaquetas<sup>19,20</sup>. Los mediadores pueden clasificarse como primarios (preformados) o secundarios (de nueva formación). Los primarios se producen antes de la de-granulación y se almacenan en los gránulos. Los más importantes son histamina, proteasas, factor quimiotáctico de los eosinófilos, factor quimiotáctico de los neutrófilos y heparina. Los mediadores secundarios se sintetizan después de la activación de la célula blanco o se liberan al desintegrarse los fosfolípidos de membrana durante el proceso de de-granulación. Los mediadores secundarios son los responsables de la inflamación lipídica, son conocidos como CysLT e incluyen factor activador de plaquetas, leucotrienos, prostaglandinas, bradicininas y diversas citocinas y quimiocinas<sup>19, 20</sup>.

## Células Th17 y células T reguladoras.

La alteración del balance entre las células Th17 y células T reguladoras ha sido recientemente descrito como otro componente que podría ser un mediador en las enfermedades alérgicas. Clásicamente las células Th17 y su citocina IL-17 se han descrito por su rol pro inflamatorio en las enfermedades autoinmunes y

enfermedades crónicas. Mientras que las células T reguladoras parece ser que controlan respuestas anti inflamatorias y son claves en el desarrollo de la tolerancia inmunológica. IL-10, una de las citocinas reguladora y tolerogénica y TGF- $\beta$  es producido por las células T reguladoras. Algunos estudios sugieren que la alteración entre estas dos células podría contribuir a rinitis alérgica<sup>22, 24,25</sup>. IL-22 se requiere para el inicio del asma alérgico, pero puede tener funciones de regulación negativa en alergias. IL-17A con IL-22 contribuyen a estados proinflamatorios en alergias<sup>21</sup>.

## Citocinas

Las citocinas son moléculas de estructura proteínica producidas en algunas células, que fisiológicamente sirven para la homeostasis del sistema inmunológico. En los niños con rinitis alérgica se liberan una variedad de citocinas liberadas de linfocitos, epitelios, células presentadoras de antígeno, mastocitos, basófilos, etc<sup>26</sup> (Figura N.-3). Algunas de ellas pueden contribuir a las manifestaciones clínicas de la hipersensibilidad tipo I<sup>26</sup>. Los mastocitos humanos secretan IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, GM-CSF y TNF- $\alpha$ , entre otras<sup>20</sup>. Estas citocinas alteran el microambiente local y en última instancia conducen al reclutamiento de células inflamatorias como neutrófilos y eosinófilos<sup>18</sup>. IL-4 e IL-13 estimulan una respuesta de Th2 y por tanto incrementan la producción de IgE por las células B<sup>15</sup>. La IL-5 es en particular importante para el reclutamiento y la activación de los eosinófilos<sup>15</sup>. Las concentraciones elevadas de TNF- $\alpha$  que los mastocitos secretan pueden

contribuir al choque que se observa en las reacciones anafilácticas sistémicas<sup>18</sup>. Las células T cooperadoras o ayudadoras (Th por su siglas en inglés T helper), juegan un rol importante en la respuesta inmunológica. Secretan citocinas para estimular varias células efectoras, células T citotóxicas, células B y macrófagos<sup>25</sup>. Estas citocinas también están involucradas en enfermedades inflamatorias, autoinmunes y alérgicas<sup>25</sup>.

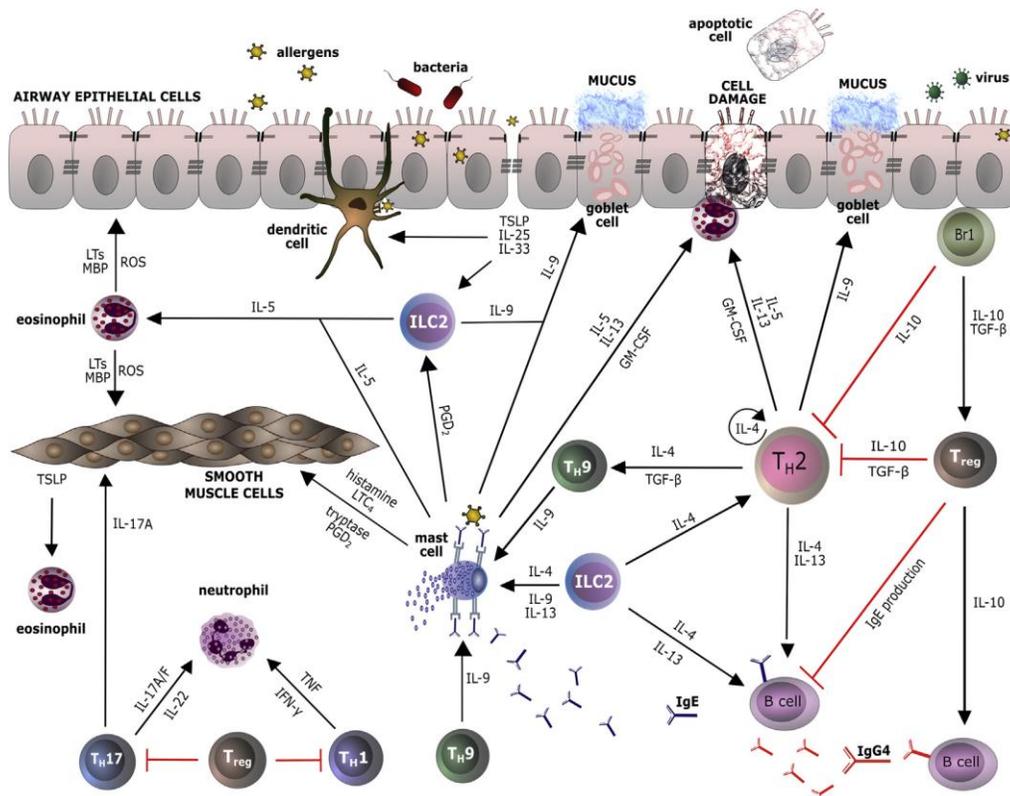


Figura N.- 3. Inmunología de la alergia y el rol de las citocinas en la inflamación alérgica. Tomado de J Allergy Clin Immunol 2015; 135: 626-35.

Cadena  $\gamma$  común.

La familia de la cadena  $\gamma$  común está formada por IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21; se le dio este nombre por tener en común la cadena  $\gamma$  (CD132). Su función radica en el crecimiento y proliferación celular<sup>26</sup>.

IL-2

Es producida por células CD4+, CD8+, dendríticas, NK y NKT. Su receptor es IL-2R. Es esencial para el desarrollo de células T y B reguladoras (Treg y Breg). Regula a las ILCs y es un factor de crecimiento de las células B, estimula la síntesis de anticuerpos y promueve la proliferación y diferenciación de las células NK<sup>26</sup>.

IL-4

Es producida por células Th2, ILCs2, basófilos, células cebadas y eosinófilos. Su receptor es IL-4R. IL-4 regula condiciones alérgicas y es protectora en contra de helmintos y parásitos. Induce el cambio en las células plasmáticas para producir IgE específica. Podría regular a la baja la inmunidad mediada por las células Th1 e ILCs1. Incrementa la expresión de MHC de clase II en las células B<sup>26</sup>.

IL-5

Podría considerarse como un factor de crecimiento de los eosinófilos y células B. se produce en las células CD4+ Th2, eosinófilos activados, células cebadas, células CD8+, células T  $\gamma\delta$ , NK, NKT y placas de Peyer. Promueve proliferación, activación, diferenciación, supervivencia y adhesión de los eosinófilos<sup>26</sup>.

## IL-6

Su receptor es IL-6R, el mismo que se puede encontrar unido a las membranas y de forma soluble. Es una citocina multifuncional pleiotrópica. Modula la respuesta inmune de regulación, fase aguda, hematopoyesis e inflamación. Es producida por células endoteliales, fibroblastos, monocitos, y macrófagos en respuesta a estímulos de inflamación aguda como IL-1, IL-17 y TNF- $\alpha$ . Promueve también proliferación de células T, diferenciación y supervivencia de células B y producción de IgG, IgA e IgM por las células plasmáticas. Podría estar involucrado en la inflamación de tipo Th2-Th17 en alérgicos<sup>26</sup>.

## IL-9

Es un factor de crecimiento de células T y células cebadas. Son producidas por células Th9, Th2 e ILCs2, células cebadas de los pulmones en asmáticos y eosinófilos. Inhibe la producción de citocinas producidas por células Th1, células B y secreción de moco<sup>26</sup>.

## IL-10

Es comúnmente conocida como una citocina “anti-inflamatoria”, aunque esta aseveración ha sido discutida, porque depende de sus niveles, concentraciones y microambiente para tener esta actividad biológica. Es producida por monocitos, células T reguladoras (TReg), células B reguladoras (BReg), células NK, macrófagos y células dendríticas. Los mastocitos también podrían producir IL-10, con el objetivo de limitar la infiltración de leucocitos e inflamación. Su receptor es IL-10R. Regulan a la baja la expresión de HLA clase II en células presentadoras

de antígenos. Parece ser que es el principal mediador de la tolerancia inmunológica producida por la inmunoterapia específica en pacientes alérgicos. Promueve también la supervivencia, proliferación y diferenciación de células B en los humanos, e incrementa la producción de IgG<sup>4</sup><sup>26</sup>. En el rol antiinflamatorio es crucial para prevenir enfermedades autoinmunes e inflamatorias. Participa en el control de enfermedades alérgicas. Inhibe células efectoras y procesos biológicos proinflamatorios. Sus niveles correlacionan con el control de las enfermedades alérgicas tanto en incidencia como en severidad. Disminuye la activación de mastocitos y eosinófilos. Se ha observado que en linfocitos T obtenidos a partir de lavados broncoalveolares de niños con asma, se produce menor cantidad de IL-10 comparando con los linfocitos de niños sin asma. Los linfocitos T circulantes de niños con alergias producen más cantidad de IL-4 que IL-10; sucede lo contrario en niños sanos<sup>26</sup>. Los linfocitos Treg que proporcionan protección al hospedero de la inflamación alérgica se asocia con una interacción entre IL-10, INF-gamma y TGF-beta<sup>26</sup>. IL-10 juega un rol importante en la tolerancia inmunológica (figura N.-4) mediada por la inmunoterapia específica en enfermedades alérgicas, especialmente en modulación de la expresión de células CD25+ y el incremento del factor de transcripción FOXP3+<sup>26</sup>.

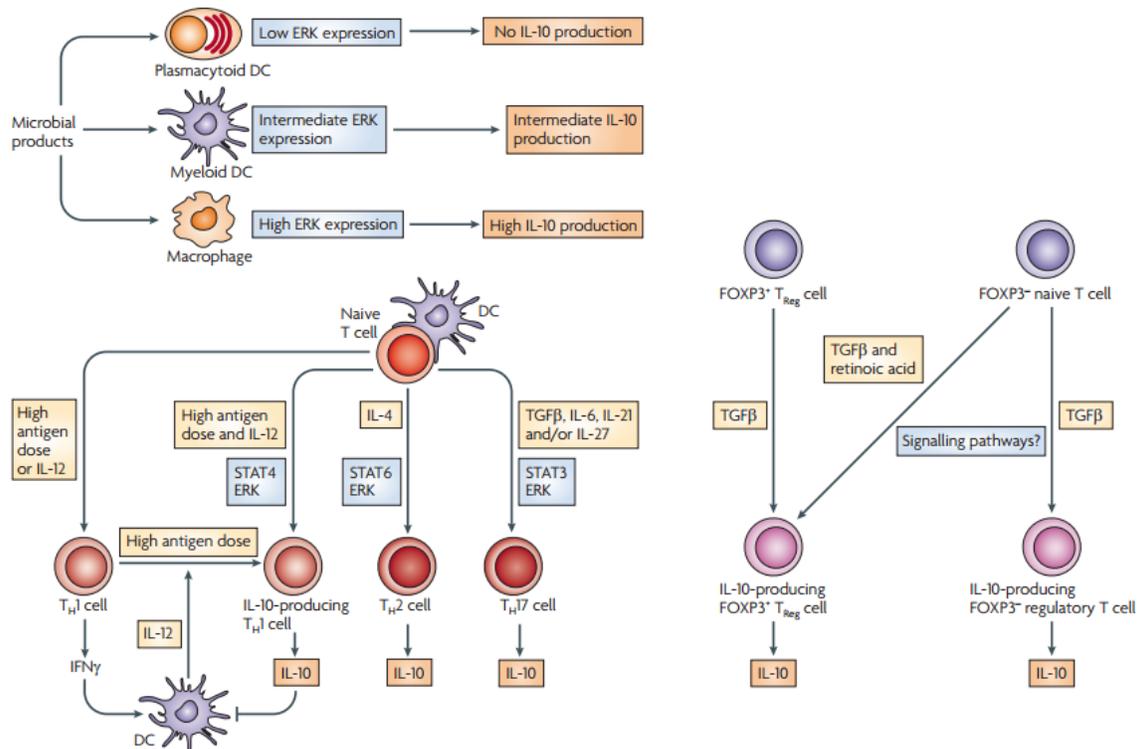


Figura N.- 4. Rol de la citocina IL-10 en la tolerancia inmunológica. Tomado de Nature Rev. Immunol. 2005; 5, 271.

## IL-13

Es expresada por las células Th2 activadas, células cebadas, basófilos, eosinófilos y NKT. Su receptor es IL-13R. Activa casi las mismas señales moleculares que IL-4 e induce producción de IgE. Activa y promueve la supervivencia de células cebadas y eosinófilos<sup>26</sup>.

## IL-17

Se la conoce como IL-17 o IL-17A. Su receptor es IL-17R. La producen los linfocitos T CD4+ Th17, pero también se ha visto que la pueden producir las células CD8+, células T, células  $\gamma\delta$ , células NK y neutrófilos. Para que las células Th17 produzcan IL-17 necesitan un estímulo de su microambiente especialmente

de la presencia de IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-23, and TGF- $\beta$ . ROR es el principal factor de transcripción de las células Th17 para producir IL-17 (figura N.-5). Atrae neutrófilos para la defensa del huésped. Los niveles elevados de IL-17 se ha asociado a enfermedades autoinmunes, sin embargo, también hay reportes de niveles incrementados de IL-17 en pacientes alérgicos. También se ha reportado que los pacientes que tienen niveles elevados de IL-17 son resistentes a los esteroides<sup>26</sup>.

### IL-17F

Entre la familia de las IL-17s, IL-17A e IL-17 F, tienen alto grado de homología, son idénticos en el 50% en los niveles de proteínas. IL-17F tiene afinidad por el mismo receptor de IL-17, aunque con baja afinidad. Las dos citocinas forman heterodímeros, por su estructura. Las células Th17 producen dos isoformas de IL-17F que pueden inducir inflamación<sup>26</sup>.

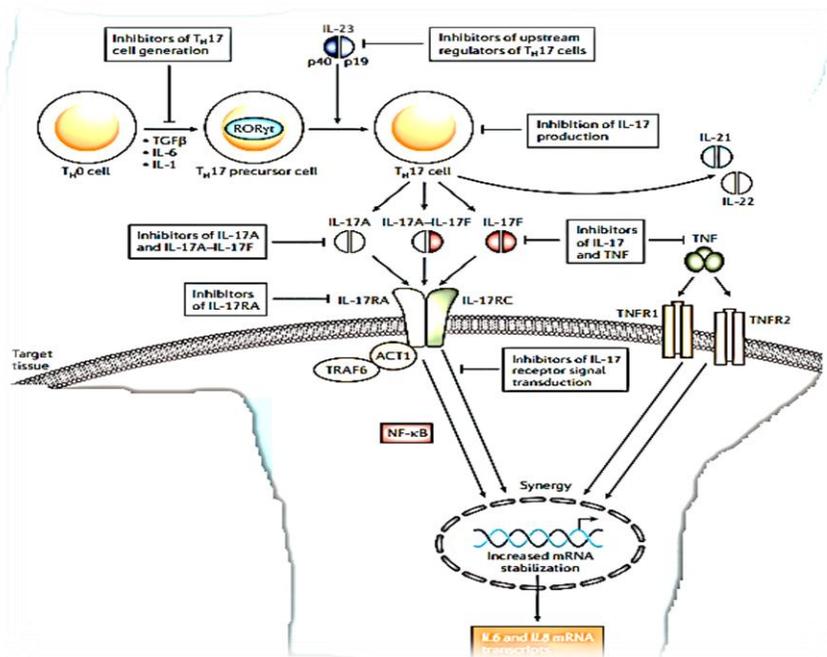


Figura N.- 5. Función de la citocina IL-17 y su receptor. Tomado de Nat. Rev. Drug Discov. 2012. 11, 763–776

## IL-21

Es producido por células T, NKT y foliculares. Afecta la función de las células B, no permite que se diferencien en células plasmáticas. IL-21 incrementa la actividad citotóxica y proliferativa de células CD8+, NK, NKT<sup>26</sup>.

## IL-22

Es expresada por las células Th22, ILCs3, mastocitos, y células NK-22. Su receptor es IL-10R2, otro receptor es IL-22R y se localiza en riñones, intestino delgado, hígado, colon, pulmón, páncreas y piel. Tiene efectos antimicrobianos. Se incrementa su producción en infecciones bacterianas, psoriasis y algunas alergias especialmente de piel. Puede tener efectos “pro” y “anti” inflamatorios. Inhibe IFN- $\gamma$ , CCL5/RANTES y CXCL10. Se han encontrado niveles incrementados en pacientes con dermatitis atópica junto con IL-13, IL-17 e IFN- $\gamma$ . Tiene también efectos antivirales<sup>26</sup>. IL-22 incrementa en pacientes asmáticos comparado con voluntarios sanos.

## TNF- $\alpha$

Es una citocina pleiotrópica involucrada en la defensa del huésped, inflamación y apoptosis. Juega un rol importante en las respuestas de regulación inmunológicas. Puede actuar como “pro-inflamatoria” (inicia respuestas inflamatorias agresivas) y como “anti-inflamatoria” (es un mediador de inmunosupresión, protector en contra de la autoinmunidad y génesis de tumores y es clave en la homeostasis). Tiene actividades antivirales, antibacterianas, antifúngicas, antiparasitarias, anti mycobacterium tuberculosis y anti listeria monocitógenes. En el shock séptico se



## Abordaje clínico de la rinitis alérgica

Para realizar el diagnóstico, clasificación y tratamiento de la rinitis alérgica es útil, práctico y recomendado utilizar las guías internacionales ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma)<sup>27</sup>. Los hallazgos del interrogatorio y examen físico permiten corroborar el diagnóstico de rinitis alérgica y sus subtipos, así como otros tipos de rinitis<sup>28</sup>. Tradicionalmente se la ha clasificado en 2 grandes grupos: estacional y perenne, y más recientemente se incorporó un tercer grupo que es el ocupacional<sup>27</sup>. Los pacientes con rinitis alérgica estacional muestran cambios del cuadro clínico atendiendo a las variaciones de los aero-alérgenos, como pólenes y hongos<sup>1</sup>. Los pacientes con rinitis perenne mantienen síntomas casi todo el año, y los principales alérgenos son los ácaros, epitelio de los animales, cucarachas y hongos<sup>6</sup>. Sin embargo, por numerosas razones esta clasificación no es operativa actualmente, por lo que se prefiere dividirla en 2 grandes categorías: intermitente y persistente<sup>27</sup>. Esta clasificación es más práctica y adecuada a la actividad clínica de la "vida real", y por otro lado tiene una enorme importancia desde el punto de vista de la investigación clínica y del seguimiento de la terapéutica médica<sup>27</sup>. En lo que a la severidad se refiere ARIA establece 2 principales categorías: leve y moderada/severa (Figura N.-7).

## Clasificación de la rinitis alérgica

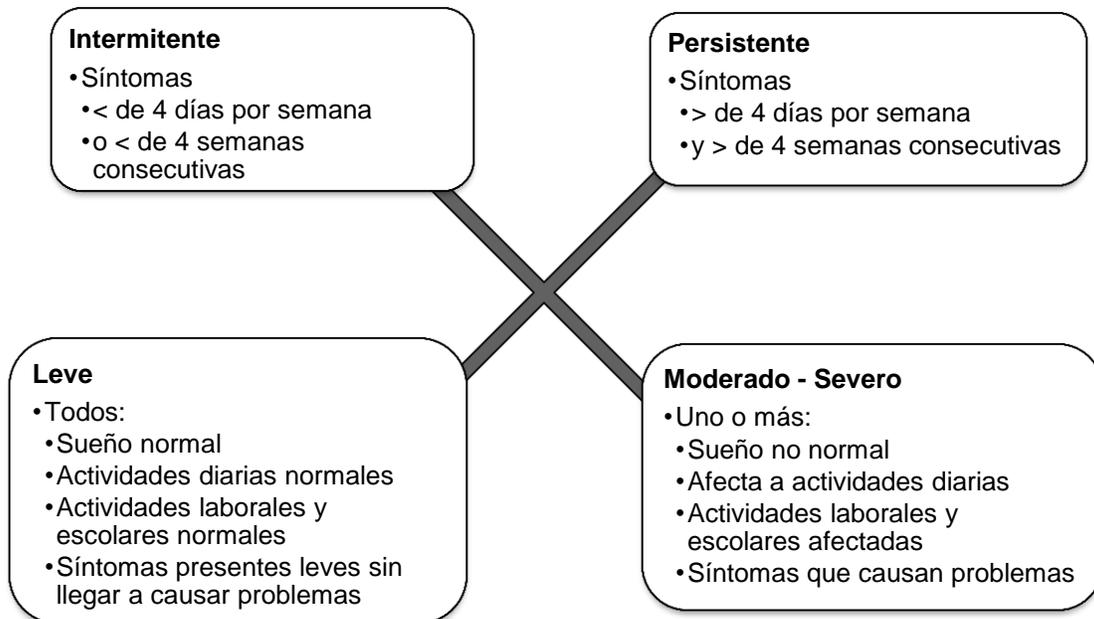


Figura N.-7. Clasificación clínica de la rinitis alérgica. Tomado de Allergy 2008; 63(suppl 86):8-160.

La clasificación según la gravedad diferencia la rinitis alérgica en leve, moderada y grave, según la presencia de síntomas, afectación de las actividades diurnas y del sueño, y la solicitud o necesidad de tratamiento<sup>27</sup>. Para determinar un mejor diagnóstico, es necesario detectar con exactitud los alérgenos causantes en cada paciente<sup>28</sup>. Las dos herramientas más importantes para este fin son la historia clínica dirigida y las pruebas cutáneas con alérgenos de respuesta inmediata<sup>27, 28</sup>. Dado que las alergias son específicas e individuales, la prueba cutánea debe realizarse con las sustancias a las que el paciente se expone cotidianamente y que tengan la potencia de sensibilizarle, es decir, capacidad alérgica<sup>1, 6</sup>. Además debe evitarse la aplicación innecesaria de múltiples alérgenos que cruzan inmunológicamente<sup>29</sup>. Por lo anterior, la composición de las pruebas cutáneas es

un factor determinante para el diagnóstico adecuado de la especificidad de una alergia en el consultorio del alergólogo<sup>29</sup>. Podemos también medir IgE específica en suero, pruebas de liberación de histamina, activación de basófilos y retos nasales, bronquiales y conjuntivales<sup>28</sup>. (Figura N.- 8).

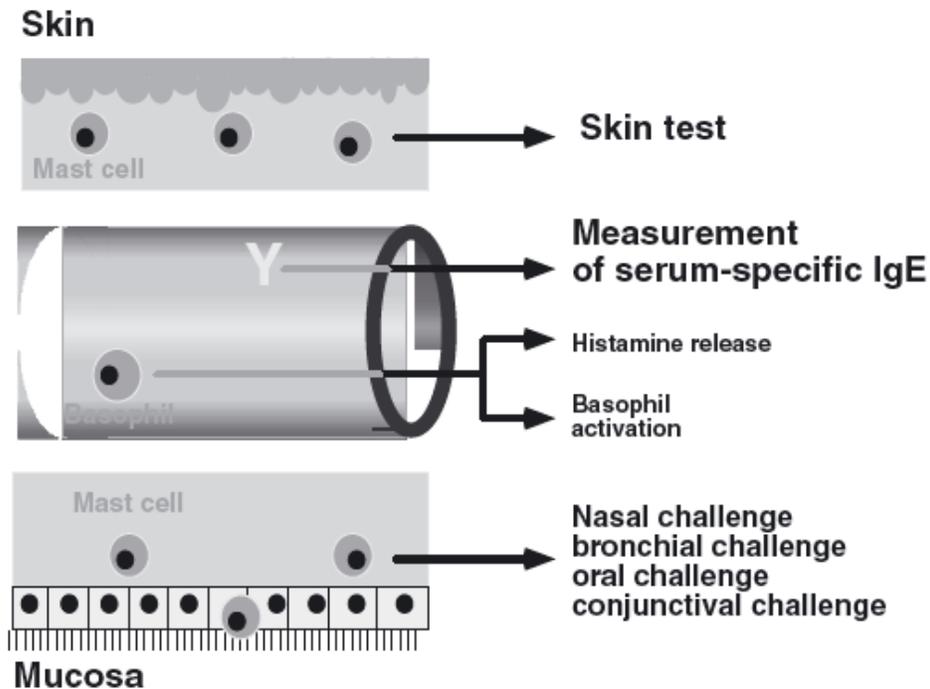


Figura N.-8. Métodos diagnósticos de hipersensibilidad de tipo I mediado por IgE. Tomado de Allergy 2008; 63(suppl 86):8-160.

## Tratamiento

El tratamiento comienza con el consejo y educación para el paciente y su familia acerca de la enfermedad y su tratamiento; evitar el contacto con los alérgenos desencadenantes y la modificación del medio ambiente<sup>30</sup>. Estas medidas iniciales intentan prevenir o disminuir los síntomas de la rinitis alérgica<sup>30</sup>. Las medidas

medio-ambientales frecuentemente comprenden la modificación de los factores que son conocidos o son potencialmente fuente de respuesta alérgica en áreas como el hogar, la escuela y el ambiente laboral<sup>31</sup>. Los antihistamínicos orales y tópicos, los esteroides orales y tópicos, los agentes inhibidores de leucotrienos, los estabilizadores de membrana de las células cebadas, los anticolinérgicos y la aplicación limitada de descongestionantes tópicos juegan un papel significativo en el tratamiento de la rinitis alérgica<sup>30,31</sup>. La acción unificadora entre estos fármacos es la modulación de la respuesta inmunológica hacia el antígeno<sup>30, 31</sup>. En algunos casos, el agente farmacológico apunta a sitios específicos de la respuesta inmunitaria (estabilizadores de la membrana de las células cebadas, antihistamínicos) y en otros, el agente tiene un modo generalizado de acción en la mitigación de la respuesta inmunológica (esteroides)<sup>30,31</sup>(Figura N.- 9).

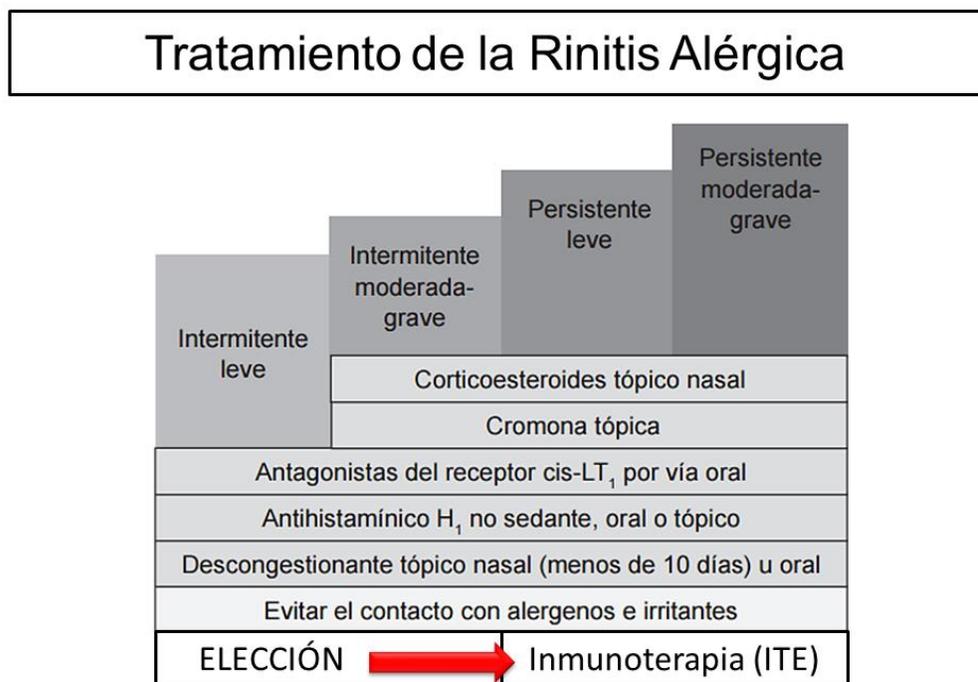


Figura N.- 9. Tomado de J Allergy Clin Immunol 2010;126:466-76.

Las pruebas cutáneas y de laboratorio permiten establecer cuáles son los alérgenos específicos causantes de la hipersensibilidad<sup>29</sup>. Lo anterior es necesario antes de iniciar la inmunoterapia, que se administra y recomienda cuando se trata de un paciente con fuerte tendencia atópica o cuando tiene rinitis alérgica persistente y las medidas antes señaladas son insuficientes para controlar los síntomas<sup>32,33</sup>. Documentar la sensibilidad alérgica mediante IgE específica, preferentemente con pruebas cutáneas in vivo, permite encaminar la inmunoterapia<sup>29,32,33</sup>. La inmunoterapia implica la inyección de cantidades escalonadas de alérgeno hasta alcanzar una “dosis de mantenimiento” o la dosis máxima tolerada que mediante la tolerancia inmunológica, alivia los síntomas<sup>32,33</sup>. El único tratamiento que ha logrado modificar la historia natural de la enfermedad es la inmunoterapia específica (ITE) con alérgenos<sup>32,33</sup>; hoy en día es el tratamiento de elección<sup>33</sup>. La inmunoterapia subcutánea tiene una historia de más de cien años, desde su primera aplicación en Inglaterra en 1911 por Leonard Noon<sup>34</sup>. Se aplica en dos fases: una fase de inducción a la tolerancia y una de mantenimiento. Después de la fase de inducción a la tolerancia en la que paulatinamente se incrementan las dosis hasta llegar a la mayor tolerada, empieza la fase de mantenimiento. La dosis de mantenimiento se suministra dos veces por semana, según las características del extracto. La inmunoterapia se continúa típicamente durante tres a cinco años y resulta en tolerancia inmunológica y control de los síntomas a largo plazo, incluso después de suspenderla, hasta en 75% de los pacientes<sup>32</sup>. La inmunoterapia específica con alérgenos está indicada en pacientes con alergia como causa de sus síntomas. Es el único tratamiento dirigido a la causa de las alergias, que consisten en una respuesta alterada del

sistema inmune. La ITE, manejada de manera óptima, tiene el potencial de re-orientar a la respuesta inmunológica alérgica hacia una respuesta de protección y tolerancia, cambiando la producción de IgE específica por una síntesis de IgG4 específica<sup>34</sup>. Además tiene un efecto inmunorregulador<sup>35</sup> (Figura N.- 10) y en pacientes con rinitis alérgica puede reducir la probabilidad de una evolución hacia asma. El médico especialista en alergología seleccionará cuáles alérgenos incluirá en la inmunoterapia<sup>33</sup>.

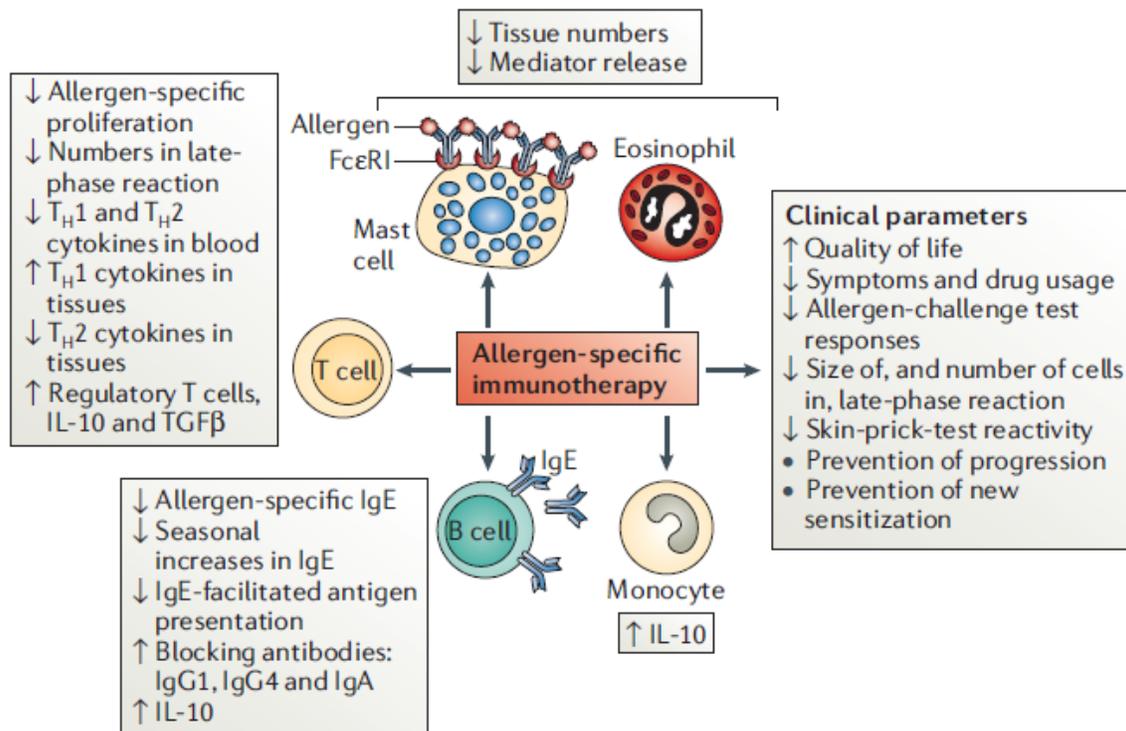


Figura N.- 10. Modulación inmunológica de la ITESC. Tomado de Nature. Rev. Immunol. 6, 761–771 (2006).

Cambios inmunológicos y clínicos de la ITESC en el tiempo.

El tiempo que tarda en iniciar la respuesta terapéutica es prolongado, en promedio 6 meses (Figura N.-11)<sup>32,33</sup>. El principal inconveniente como consecuencia de este

problema es un mal apego al tratamiento de muchos pacientes, por lo tanto es necesario encontrar estrategias que aceleren la respuesta terapéutica<sup>36</sup>. A través de los años, se han realizado varios esfuerzos científicos dirigidos a mejorar la eficacia y la seguridad de inmunoterapia. Por sus efectos inmunomoduladores, proponemos que la vitamina D podría ser un excelente adyuvante a la inmunoterapia específica subcutánea en niños con rinitis alérgica<sup>37</sup>.

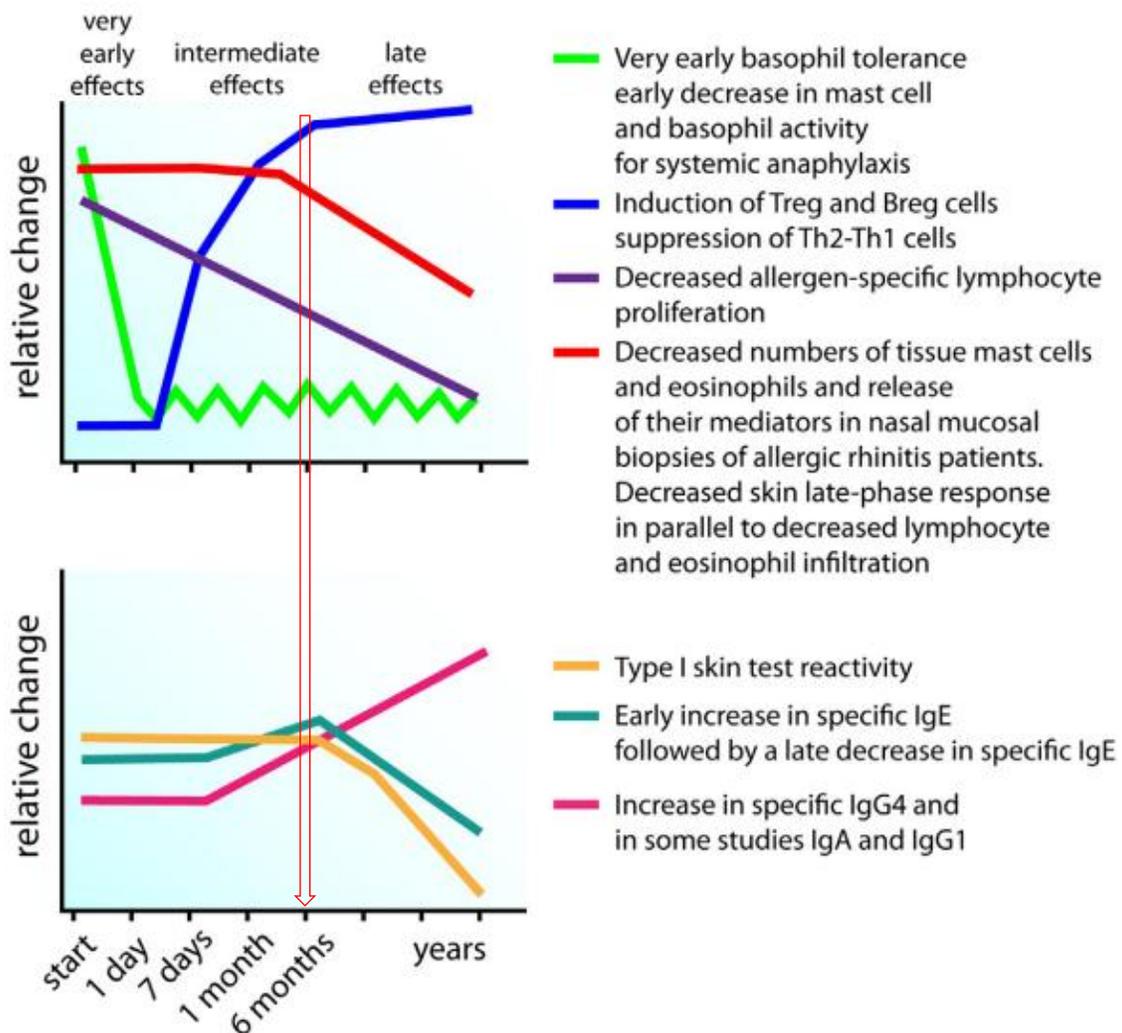


Figura N.-11. Efectos clínicos e inmunológicos de ITESC. Tomado de J Allergy Clin Immunol 2014; 133:621-31.

## Vitamina D

En las últimas décadas la vitamina D ha destacado por el descubrimiento de sus funciones inmunoregulatoras, contribuyendo a la autotolerancia y mejorando la respuesta inmune innata contra microorganismos<sup>38</sup>. Estudios clínicos, epidemiológicos y experimentales muestran el papel potencial de la vitamina D en el desarrollo y perpetuidad de diversas enfermedades autoinmunes, como son: lupus eritematoso sistémico (LES), diabetes mellitus tipo 1 (DM1), esclerosis múltiple (EM) y artritis reumatoide (AR)<sup>39</sup>, y más recientemente en enfermedades alérgicas<sup>40</sup>. La piedra angular de la inmunorregulación por esta vitamina lo constituye el receptor de la vitamina D (RVD), el cual se encuentra presente en varias células del sistema inmune. La unión de 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> al receptor induce: mejoría de la fagocitosis, disminución de la expresión del complejo principal de histocompatibilidad clase II DR en las células dendríticas; así como, disminución de la expresión y respuesta a moléculas coestimuladoras que regulan su maduración y migración, bloqueando su diferenciación final; inducción a la madurez de la célula natural killer (NK) y de células TCD4+CD25+Foxp3 (célula T reguladora) capaces de mediar la tolerancia inmune, disminución de la diferenciación y proliferación de linfocitos B a células plasmáticas y apoptosis de las mismas. Respecto a su acción sobre las citocinas inflamatorias, disminuye la producción de las tipo proinflamatorias: IL-17A, IL-17F, IL-22, IL-23, IL-12, IL-2, IL-6, Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) y de interferón  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ); al mismo tiempo incrementa la producción de las citocinas antiinflamatorias: IL-10 y factor de crecimiento transformante beta (TGF $\beta$ )<sup>41-47</sup>. El mecanismo molecular a través

del cual actúa la interacción vitamina D/RVD es interfiriendo con el factor nuclear de la célula T Activada (NF-AT), con el factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B); así como, modulando directamente las regiones promotoras en los genes de diversas citocinas<sup>48</sup>, además incrementa la concentración de IL-4<sup>49</sup>, el ARNm de IL-2, así como de citocinas producidas por las células Treg (CD4+CD25+); también destaca la expresión de TLR4<sup>50, 51</sup>. La concentración sérica de vitamina D depende de varios factores: exposición a la luz solar, edad, etnicidad, índice de masa corporal, uso de medicamentos (esteroides e inmunosupresores) así como suplementos alimenticios<sup>52</sup>. Son varios los factores asociados con la baja concentración sérica de vitamina D, desde el punto de vista epidemiológico, la deficiencia de vitamina D se ha relacionado con la presencia y actividad de enfermedades autoinmunes reumáticas, así como otras enfermedades crónicas entre las cuales destacan enfermedades cardiovasculares, hipertensión, cáncer y alergias<sup>53</sup>. La forma biológicamente activa de la vitamina D podría ser un buen adyuvante para acortar el inicio de acción de la ITESC modulando la respuesta inmune innata y adaptativa de forma más temprana<sup>54</sup>. La vitamina D es capaz de restaurar la secreción de IL-10 por células Treg aisladas de los asmáticos resistentes a esteroides y tiene la capacidad de incrementar las células T reguladoras funcionales, capaces de suprimir la respuesta mediada por Th2<sup>55</sup>. La vitamina D es una sustancia sintetizada por el organismo a través de un complejo proceso químico que se activa cuando el cuerpo se expone a los rayos del sol (Figura N.-12): la luz ultravioleta transforma una prohormona (7-dehydrocholesterol) en vitamina D3, la cual es metabolizada primero por el hígado y luego por el riñón, para finalmente transformarse en moléculas que el cuerpo utiliza para diversas funciones<sup>56</sup>. La

vitamina D también puede obtenerse a través de algunos alimentos, aunque la proporción es menor si se le compara con la producida por estimulación de la luz solar<sup>57</sup>. La leche fortificada y los pescados grasos como atún, salmón y cebolla son las mejores fuentes de esta sustancia; mientras que el hígado de res, el queso, las yemas de huevo y los champiñones también la proporcionan pero en cantidades más pequeñas<sup>57</sup>. La vitamina D participa en muchas funciones en el organismo. Entre las que más se conocen está el papel que juega en la acumulación de calcio en los huesos (o pico de masa ósea) la cual llega a su punto más alto alrededor de la segunda década de vida<sup>58</sup>. A partir de esa edad se va perdiendo densidad mineral ósea. Si los niños no cuentan con niveles adecuados de vitamina D podrían no llegar a alcanzar la cantidad apropiada de calcio en los huesos y esto a su vez contribuiría con el desarrollo de osteoporosis en la edad adulta, sobre todo en niñas<sup>58</sup>. La vitamina D también se relaciona con el crecimiento, el desarrollo del sistema nervioso y la respuesta inmune; protege contra infecciones respiratorias como la influenza y la tuberculosis; ayuda prevenir ataques de asma; tiene un efecto protector sobre la diabetes juvenil y juega un papel en la regulación de la inflamación crónica<sup>59</sup>.

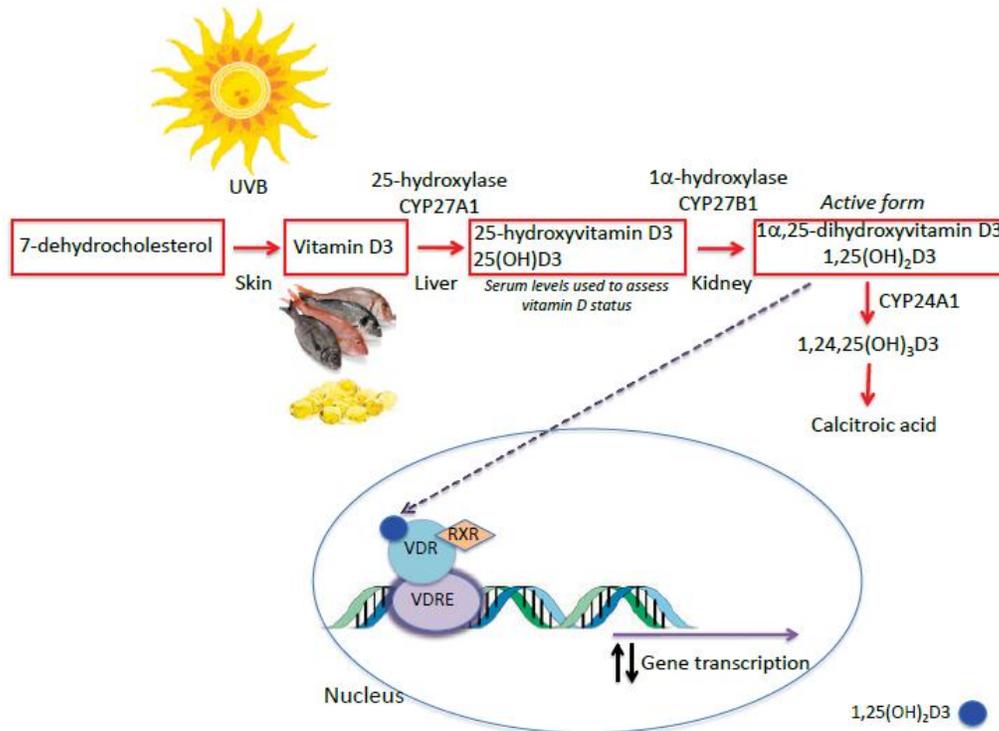


Figura N.- 12. Fuentes y efectos biológicos de la VitD. Tomado de GLOBAL ATLAS OF ALLERGIC RHINITIS AND CHRONIC RHINOSINUSITIS Published by the European Academy of Allergy and Clinical Immunology

## Vitamina D en México

En 2011 se realizó un estudio para conocer los niveles de vitamina D en México, a través de las muestras de suero de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del 2006. Ya que el diseño estadístico de esta encuesta le permite tener representatividad nacional, los resultados publicados mostraron un panorama general sobre los niveles de esta vitamina en todo el país; en síntesis: una población con deficiencia e insuficiencia de vitamina D<sup>63</sup>. Se encontró que 6 de cada 10 niños de entre 2 y 12 años tenían niveles suficientes de vitamina D (61%) 16% presentó deficiencia y el 23% insuficiencia de esta vitamina. La

deficiencia fue mayor en los niños preescolares (de 2 a 5 años) que en los de 6-12 (escolares) Los niños de áreas urbanas tuvieron concentraciones menores de vitamina D en comparación con los de áreas rurales. Los adolescentes (de 13 a 19 años) también presentaron niveles insuficientes de vitamina D. El 8.11% y el 23% de los adolescentes mostraron deficiencia e insuficiencia, respectivamente. Sólo el 69% presentó niveles suficientes de vitamina D. El 9.8% de los adultos presentaron deficiencia y 20% insuficiencia. Aproximadamente 70% de los adultos mexicanos presentaron suficiencia de vitamina D. Nuestros resultados previos señalan una prevalencia de 70% de niveles menores a 30 ng/ml<sup>79</sup>. En México, la ingesta diaria sugerida de vitamina D es de 5.6 g/día (224 UI), que resulta significativamente menor a las recomendaciones en los Estados Unidos y Europa (entre 400 y 1,000 UI)<sup>64</sup>.

### Vitamina D y alergias

Hoy día se conoce claramente que la vitamina D más inmunoterapia disminuyen los síntomas en enfermedades alérgicas y el uso de fármacos, asociado a incremento de IgG4, IL10, TGF- $\beta$ 17 y linfocitos T reg<sup>65</sup>. También inhibe las reacciones inmunológicas mediadas por los linfocitos TH1 y TH 17<sup>66</sup>. Además reduce la inflamación y la expresión de citocinas mediadas por linfocitos TH2<sup>67</sup>. Previamente, en un modelo animal se demostró que con la vitamina D disminuye IL-5 e IL-13 en 3 meses<sup>68</sup>. Varios estudios demuestran que la vitamina D estimula la producción de Treg CD4+CD25+FOXP3+, lo cual ayudaría a la producción de

tolerancia inmunológica más temprano<sup>69</sup>. Varios estudios han probado vitamina D en enfermedades alérgicas parecidas a la rinitis alérgica como asma y dermatitis atópica. Se conoce que la suplementación de vitamina D más el tratamiento convencional en dermatitis atópica mejora la resolución de la severidad de los síntomas 40% más rápido que cuando se utiliza el tratamiento convencional solo, es decir evitar el alérgeno, hidratación cutánea, antihistamínicos y esteroides; además normaliza los patrones de citocinas TH1, TH2, TH17 y Treg en 3 meses<sup>70</sup>.

#### Niveles de vitamina D

La sociedad Americana de endocrinología considera los valores séricos de 25(OH)D normales cuando son superiores a 30 ng/ml, insuficiencia entre 21 y 29 ng/ml y deficiencia menor a 20 ng/ml<sup>71</sup>. Estudios previos recomiendan que los niños alérgicos a beneficiarse de la administración suplementaria de vitamina D 1600 UI son aquellos que presenten niveles séricos de 25(OH)D menores a 30 ng/ml<sup>72</sup>.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La rinitis alérgica representa un problema global de salud pública<sup>73</sup>. En México, la prevalencia va del 10 al 30%<sup>7</sup>. La inmunoterapia es el tratamiento de elección<sup>32</sup>, siendo la única intervención terapéutica que ha logrado modificar la historia natural de la enfermedad<sup>32</sup>. Sin embargo, el tiempo que tarda en iniciar la respuesta terapéutica es prolongado, en promedio 6 meses<sup>33</sup>. El principal inconveniente como consecuencia de este problema es una mala adherencia al tratamiento que va del 13% al 89%<sup>74</sup>. Entonces, es necesario encontrar estrategias que aceleren la respuesta terapéutica. Se sabe que la administración de vitamina D más inmunoterapia en enfermedades alérgicas disminuyen los síntomas y el uso de fármacos, asociado a incremento de IgG4, IL10, TGF- $\beta$  y linfocitos T reg<sup>65</sup>. También inhibe las reacciones inmunológicas mediadas por los linfocitos Th1 y Th17, reduce la inflamación alérgica y la expresión de citocinas mediadas por linfocitos Th2<sup>68</sup>, aunque se desconoce si disminuye el tiempo del inicio de acción de la inmunoterapia específica en niños con rinitis alérgica. Se sabe que si se adiciona vitamina D al tratamiento convencional de pacientes con dermatitis atópica disminuye la severidad de los síntomas 40% más rápido, es decir en 3 meses, que solo con el tratamiento convencional<sup>70</sup>. Se ha visto que la vitamina D se asocia con algunos cambios valiosos, aunque limitado, en los parámetros inmunológicos en el pulmón<sup>75</sup>. En modelos murinos, la adición de vitamina D a un protocolo convencional de inmunoterapia para alergias reduce el tiempo del inicio de acción<sup>68</sup>. Interesantemente, los efectos inmunomoduladores beneficiosos se lograron mediante la administración vía oral<sup>72</sup>. En inmunología, un adyuvante es

un potenciador del sistema inmunológico o es un inmunomodulador, que puede activar o desactivar procesos biológicos y moleculares. Se han utilizado para mejorar la respuesta inmune hacia antígenos de las vacunas, con el fin de mejorar, acelerar y prolongar la respuesta inmune específica. Los adyuvantes se pueden emplear para optimizar una respuesta inmune deseada, por ejemplo, con respecto a las clases de inmunoglobulinas y la inducción de células citotóxicas o linfocitos cooperadores<sup>76</sup>. Clásicamente, vitamina D regula la densidad mineral ósea, actualmente se investiga cada vez más por sus efectos extra esqueléticos. Tiene la capacidad biológica de modular tanto la inmunidad innata y adaptativa y regular las cascadas inflamatorias. Esto nos conduce a pensar que la vitamina D cumple los requisitos para ser considerada un adyuvante. Por lo tanto, planteamos que la administración de la inmunoterapia que es el tratamiento convencional en niños con rinitis alérgica, más vitamina D como adyuvante, podría disminuir el tiempo de inicio de acción de la inmunoterapia por lo menos en 3 meses y por lo tanto se mejoraría su eficacia y seguridad mediante una mejor adherencia al tratamiento.

## PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Podrá la vitamina D, administrada junto con la inmunoterapia específica con alérgenos, acelerar el tiempo de mejoría clínica en niños de 3 a 12 años con rinitis alérgica que son atendidos en consulta externa del servicio de alergia e inmunología clínica del Hospital General de México?

## JUSTIFICACIÓN

La rinitis alérgica es una enfermedad inflamatoria crónica de la mucosa nasal, caracterizada por rinorrea hialina, obstrucción y prurito nasal y estornudos en salva a repetición. Frecuentemente se acompañan de síntomas respiratorios, oculares tales como ojo rojo, prurito ocular, epifora y fotofobia. En menor proporción prurito ótico y palatino. El mal control de esta enfermedad se asocia a ausentismo escolar y laboral, mala calidad de vida, bajo rendimiento de las actividades diarias en los lugares de trabajo y/o estudio, problemas sociales y económicos<sup>77</sup>. Puede complicar el curso de otras enfermedades alérgicas.; 80% de los pacientes con asma padecen rinitis alérgica y 20 a 40% de los pacientes con rinitis alérgica tienen posibilidades de padecer asma. La mortalidad es baja, pero su morbilidad representa un problema mundial de salud pública. Basados en estudios recientes de mecanismos bien conocidos de la actividad de la vitamina D en los elementos particulares del sistema inmunológico, y su influencia en el curso de las enfermedades alérgicas como rinitis alérgica se propone esta investigación teniendo en cuenta la posibilidad de una muy buena contribución sencilla, económica y segura a mejorar la calidad de las vacunas de alergias en términos de tiempo y así mejorar la adherencia de la inmunoterapia específica.

## HIPOTESIS

**Si** la administración de vitamina D más tratamiento convencional en enfermedades alérgicas produce cambios inmunológicos y clínicos más tempranos (3 meses) y con tamaño del efecto de 0.5 comparado con el tratamiento convencional solo; **entonces** al administrar vitamina D junto con inmunoterapia, los pacientes presentarán mejoría inmunológica (incremento de IL-10) y clínica valorada por cuestionarios validados, en menor tiempo (3 meses) con tamaño del efecto de 0.5 comparado con los pacientes que no reciben vitamina D.

## OBJETIVOS

### General

- Evaluar la eficacia de la vitamina D como adyuvante a la inmunoterapia específica con alérgenos en niños de 3 a 12 años de edad con diagnóstico de rinitis alérgica, en términos de reducción del tiempo de respuesta terapéutica medido con el Score CaratKids de 17 puntos.

### Específicos

- Comparar el tiempo de mejoría clínica entre el grupo que recibe vitamina D contra el grupo que recibe placebo con las escalas rTNSS, ARIA y GINA (la última en el caso de tener asma).
- Comparar los deltas de cambio de las escalas de valoración clínica entre los valores basales y a los 3 meses en los dos grupos.
- Comparar los biomarcadores de enfermedad alérgica entre el grupo que recibe vitamina D contra el grupo que recibe placebo.
- Analizar la relación entre los valores de la vitamina D en los dos grupos antes y después del tratamiento.
- Evaluar la seguridad de la vitamina D.
- Comparar la concentración de citocinas plasmáticas (IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ ) antes y después del tratamiento, en los grupos de VitD y placebo.

## METODOLOGÍA

### Tipo y diseño de estudio

Ensayo clínico aleatorizado controlado con placebo, doble ciego de 2 grupos paralelos: 1.- Inmunoterapia + Vitamina D y 2.- Inmunoterapia + Placebo.

### Población y tamaño de la muestra

#### El universo

Niñas y niños de entre 3 a 12 años de edad que acuden al Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga" al servicio de Alergia e Inmunología Clínica por consulta externa, con diagnóstico de rinitis alérgica por un médico alergólogo certificado, que cumplan los criterios diagnósticos de ARIA y estén sensibilizados a un aero-alérgeno valorado por pruebas cutáneas.

#### Cálculo del tamaño de muestra

Para realizar el cálculo del tamaño de muestra, nos basamos en un estudio de niños alérgicos que utilizaron vitamina D más inmunoterapia que fue publicado en el 2014 y realizado en el departamento de pediatría de la Universidad Marmara, Estambul Turquía. Como pretendemos comparar 2 tratamientos decidimos utilizar la fórmula de Manova (análisis multivariado de la varianza) de efectos globales a 2 colas con un nivel de confianza del 95%, el poder estadístico del 90%, tamaño del efecto de 0.5, en dos grupos de intervención (vitamina D y placebo) y una variable de salida (escala de valoración clínica); utilizando el programa GPower, lo cual nos dio un tamaño de muestra de 25 por grupo. Ajustamos la muestra a un 15% de

pérdidas lo que nos dio un resultado de 30 pacientes por grupo. Es decir 60 pacientes en total, 30 en el grupo intervención y 30 en el grupo placebo.

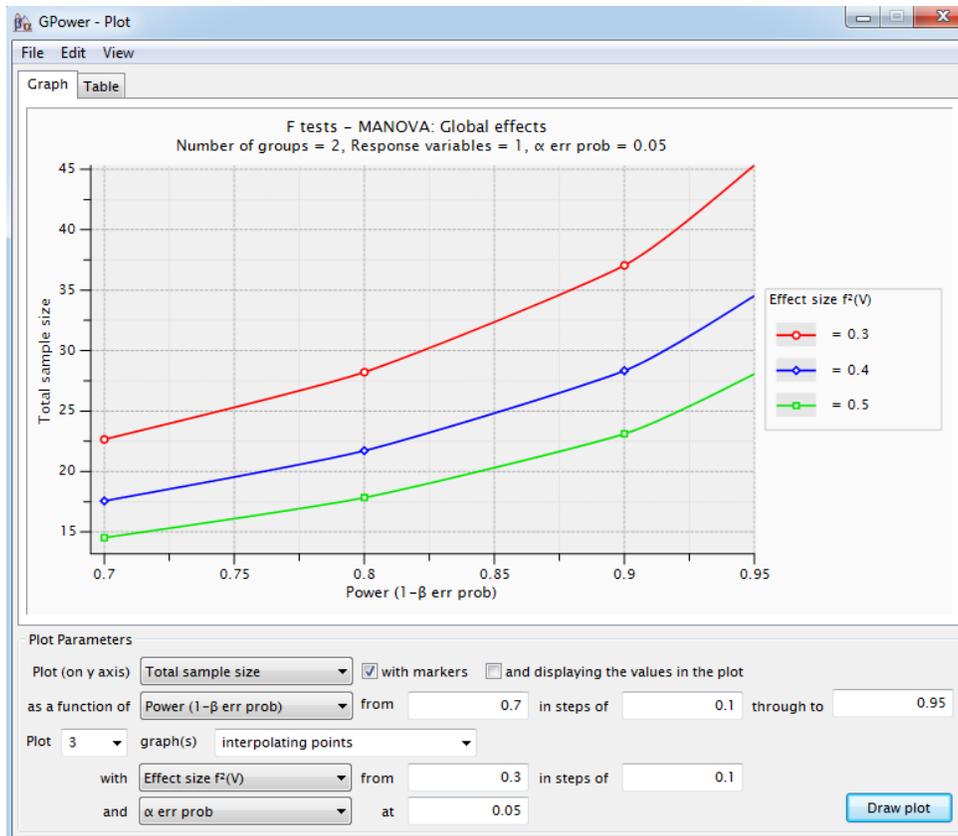


Figura N.-13. Imagen del software G Power para cálculo de tamaño de muestra.

## CRITERIOS DEL ESTUDIO

### Criterios de inclusión

1. Pacientes hombres y mujeres de entre 3 a 12 años con diagnóstico de rinitis alérgica persistente según la guía ARIA, diagnosticados por un alergólogo certificado.
2. Que firmen el consentimiento informado los representantes legales y obtener el asentimiento informado de el/la paciente.
3. Que estén sensibilizados a un aeroalérgeno mediante pruebas cutáneas y que sean candidatos a recibir inmunoterapia específica subcutánea.
4. Que presenten niveles séricos de vitamina D, 25(OH)D menores a 30 ng/ml.
5. Que estén en Estadio 1 o 2 de Tanner.
6. Con IMC percentilado (OMS) dentro de límites normales.

### Criterios de exclusión

1. Que tengan diagnósticos de inmunodeficiencias primarias y/o secundarias.
2. Que presenten poliposis naso sinusal crónica o enfermedad respiratoria exacerbada por aspirina y/o antiinflamatorios no esteroideos.
3. Adenoiditis y/o amigdalitis candidatos a resolución quirúrgica.
4. Que hayan tomado vitamina D en los últimos 6 meses.
5. Que hayan utilizado inmunoterapia específica con alérgenos en los últimos 5 años.

## Criterios de eliminación

1. Que en el transcurso del estudio presente infecciones graves o exacerbaciones de la enfermedad alérgica que requieran hospitalización y/o suspensión de la inmunoterapia.
2. Que solicite abandonar el estudio.
3. Que no acuda a sus citas programadas, toleraremos una ventana de tiempo de una semana.
4. Que no desee realizarse los estudios subsecuentes.
5. Falta de apego al tratamiento, se tolerará un 20% del total.
6. Falta de apego al protocolo y a las indicaciones establecidas.

## DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES A EVALUAR Y FORMA DE MEDIRLAS

### Operacionalización de las variables

<b>Operacionalización de las variables</b>				
<b>VARIABLES</b>	<b>DEFINICIÓN</b>	<b>DIMENSIÓN</b>	<b>INDICADOR</b>	<b>ESCALA</b>
<b>Edad</b>	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la fecha de último seguimiento	Tiempo transcurrido	Años cumplidos desde la fecha de su nacimiento	Numérica
<b>Género</b>	Son las características fenotípicas que diferencian al hombre de la mujer	Características fenotípicas	Fenotipo	1.-Hombre 2.-Mujer
<b>Residencia habitual</b>	Lugar en que usualmente vive (por más de 6 meses) en el momento de la entrevista.	Lugar de residencia y tiempo	Lugar de residencia y tiempo	1.-urbano 2.- rural
<b>Sensibilización</b>	Presencia de IgE específica para alérgenos	Sensibilización	Reacción en las pruebas cutáneas	1.-Positivo 2.-Negativo
<b>Rinitis alérgica</b>	Enfermedad alérgica caracterizada por rinorrea, obstrucción nasal, inflamación de la mucosa nasal diagnosticada por 1 médico alergólogo	Entrevista directa y revisión de expediente	Entrevista directa y revisión de expediente	1.-Si 2.- No
<b>IgE sérica total</b>	Recuento en sangre periférica de IgE total	Normal (menos de 160) y patológica (mayor de 160)	UI/ml	Numérica continua
<b>Eosinófilos totales</b>	Recuento en sangre periférica de eosinófilos totales	Normal (menos de 100) y patológica (mayor de 100)	Eosinófilos/uL	Numérica continua
<b>Cumplimiento terapéutico</b>	Grado en que el paciente sigue el compromiso o pacto establecido con los profesionales de la salud que le atienden, en relación a los medicamentos que debe tomar	Decisión de cumplimiento por parte del paciente y/o familiares	Entrevista directa mencionado por el paciente y familia	Si cumple No cumple
<b>Eosinófilos en Citología nasal</b>	Recuento de celularidad en la mucosa nasal	Cantidad de células encontradas	Eosinófilos	1.- Ausentes 2.- Leves 3.- Moderados 4.- Abundantes
<b>Mejoría clínica</b>	Es la mejoría de todos los signos y síntomas de la rinitis alérgica permitiendo una vida normal	Limitación de actividades, problemas de sueño, síntomas nasales y oculares, problemas sociales, económicos y emocionales.	1.- Score CaratKids 2.- Clasificación ARIA 3.- Score rTNSS	1.- Numérica 2.- Porcentajes 3.- Numérica
<b>Alérgenos</b>	Alérgenos intra y extra muros a los que es sensible	Principales involucrados en la sensibilización	5 primeros antígenos o alérgenos	Porcentaje
<b>Cambios inmunológicos</b>	Diferencias en valores citocinas	Perfiles de TH1 TH2 TH17	13 citocinas	Numérico en pg/ml

## PROCEDIMIENTO

No es un estudio de la industria, es un estudio por iniciativa del investigador. Realizamos una búsqueda de pacientes de 3 a 12 años de edad candidatos a ser incluidos en el estudio de todos los niños y niñas que acudían por consulta externa y por primera vez al Servicio de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, y que luego de ser valorados por un médico alergólogo certificado cumplan criterios de rinitis alérgica basados en las guías ARIA. Se realizaron pruebas cutáneas con alérgenos, siguiendo las directrices<sup>78</sup>. En la visita 1 se les explicó ampliamente en que consiste el estudio a los niños/as y a sus representantes legales. Los pacientes se incluyeron posterior a su aceptación verbal y con el respaldo legal, mediante la firma del consentimiento más asentimiento informado por ser niños y niñas por sus representantes legales y por ellos mismos respectivamente. Si los niños/as no podía escribir obtuvimos sus huellas digitales. Se solicitaron estudios complementarios para comprobar los criterios de inclusión y de exclusión. En la visita 2 los niños/as que cumplieron los criterios de inclusión y que no cumplieron los criterios de exclusión fueron aleatorizados en la misma proporción. Las tablas de aleatorización se realizaron previamente en el programa Excel y luego realizamos una asignación aleatoria en bloques para los grupos vitamina D y placebo entre los niños y niñas con rinitis alérgica con asma y sin asma. Se incluyeron igual número de niños y niñas en los grupos. Llenamos los formatos y cuestionarios del estudio y se les entregó el primer frasco con 45 tabletas de vitamina D o placebo, previa explicación clara y concisa de como tienen que tomarse las tabletas. En la visita 3, al mes y medio, se

analizó apego al tratamiento, seguridad, efectos colaterales y se le entregó el segundo frasco con 45 tabletas. En la visita 4 (a los 3 meses) y visita 5 (a los 6 meses) llenamos los formatos y cuestionarios del estudio, analizamos el cumplimiento del tratamiento, eventos adversos y se tomaron muestras de sangre para los laboratorios. Se realizaron controles telefónicos de apego al tratamiento y posibles efectos colaterales 2 veces por mes. Se realizaron 3 valoraciones clínicas y tomas de muestras para los estudios de laboratorio, una basal, otra a los 3 meses y la última a los 6 meses en los 2 grupos. Se valoraron parámetros clínicos con los cuestionarios validados Score CaratKids, rTNSS, ARIA y GINA. Se tomaron muestras de sangre periférica para cuantificar niveles de vitamina D (25, hidroxivitamina D total, calciferol, método: electroquimioluminiscencia, en el laboratorio Carpermor, con acreditación del College of American Pathologist, LAP 6235101) y citocinas y para realizar biometría hemática, IgE (UI/ml), IgG, IgA e IgM (mg/dl) totales. También se tomaron muestras para valorar citología nasal y coproparasitoscópico. Medimos las siguientes citocinas: IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$  mediante LEGENDplex™ Human Th Cytokine Panel (13-plex) catálogo N.- 740001. La estandarización de los procedimientos y los análisis los realizamos en la Unidad de Medicina Experimental de la UNAM, en el laboratorio HIPAM. Utilizamos un citómetro de flujo FACS Calibur II.

Análisis de citocinas en plasma.

Se tomaron muestras de 10 ml de sangre periférica en tubos con anticoagulante EDTA. Inmediatamente se centrifugó a 2000 g por 10 minutos a 4°C. Obtuvimos plasma y criopreservamos a -80°C hasta su análisis. La concentración de las citocinas fue medida en una adquisición simultánea. Utilizamos un kit LEGENDplex™ Human Th Cytokine Panel (13-plex) catalogo N.- 740001 y un citómetro de flujo Facs Calibur II. El rango de detección fue de 3 a 10.000 pg/ml para todas las citocinas.

Seguridad.

Se realizó el seguimiento de la seguridad de la VitD mediante encuesta directa por teléfono o en la cita programada al paciente y a los padres o representantes legales. Cualquier efecto adverso que se presente desde el inicio del consumo de vitamina D se tomó como reacción adversa al fármaco.

Apego al tratamiento.

Se toleró una falta de apego del 20% mediante conteo de las tabletas. Además se realizó un estrecho seguimiento de la toma de VitD mediante recordatorios vía telefónica y en las citas programadas.

Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se realizaron por el método de intención de tratar. Se realizó un análisis descriptivo de las características iniciales basales de la

población estudiada. El objetivo principal o variable de salida principal fue el cambio en el score de control de rinitis alérgica para niños (CARATkids) a 0 (basal), 3 (segunda medición) y 6 (tercera medición) meses. Luego de comprobar los supuestos para distribución normal, analizamos mediante una t de student dependiente los grupos en el tiempo, y con una t de student independiente entre los dos grupos. Luego realizamos un análisis multivariante de la varianza o MANOVA de efectos globales para poder incluir otra variable dependiente que no puede ser combinada de manera simple, que fueron los niveles de vitamina D. En el modelo utilizamos interacción tratamiento y tiempo. Edad, género y presencia o ausencia de asma se incluyeron como covariables en el modelo para corregir las posibles diferencias entre los grupos. La prueba de hipótesis se realizó a dos colas con un valor alfa del 95%, y calculamos el tamaño del efecto y d de cohen. Se determinaron los cambios en porcentaje de las escalas usadas (ARIA y rTNSS). Las variables de laboratorio y citocinas se analizaron mediante ANOVA en caso de cumplir los supuestos, caso contrario fueron analizados con estadísticos no paramétricos. Las variables continuas se expresan como media  $\pm$  desviación estándar. Utilizamos pruebas t de muestras relacionadas para comparar las medias de las variables antes y después de la intervención, y se utilizó una prueba t independiente para comparar los 2 grupos. Dentro del grupo de cambio se evaluó mediante una prueba t pareada muestras, mientras que el cambio entre grupos respecto al valor basal se evaluó mediante una prueba t de muestras independientes. Un valor de p de 0,05 fue considerado estadísticamente significativo. Todos los cálculos estadísticos se realizaron con SPSS Statistics 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.).

## Cronograma de actividades

Cronograma de actividades

ACTIVIDADES	FECHA																							
	FEBRERO 2015	MARZO 2015	ABRIL 2015	MAYO 2015	JUNIO 2015	JULIO 2015	AGOSTO 2015	SEPTIEMBRE 2015	OCTUBRE 2015	NOVIEMBRE 2015	DICIEMBRE 2015	ENERO 2016	FEBRERO 2016	MARZO 2016	ABRIL 2016	MAYO 2016	JUNIO 2016	JULIO 2016	AGOSTO 2016	SEPTIEMBRE 2016	OCTUBRE 2016	NOVIEMBRE 2016	DICIEMBRE 2016	
PRESENTACIÓN DE PROTOCOLO	x																							
SOCIALIZACIÓN		x																						
APROBACIÓN			x	x																				
EJECUCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN					x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x					
SOCIALIZACIÓN DE LOS AVANCES											x	x	x	x	x	x	x	x						
PRESENTACIÓN DEL PRIMER INFORME FINAL																				x				
PRESENTACIÓN DEL INFORME FINAL																					x			
SUSTENTACIÓN DE LA TESIS																						x		
VERSIÓN FINAL																								x

### Aspectos éticos y de bioseguridad

Se trata de un estudio con riesgo bajo para el paciente ya que sólo se realizó un cuestionario, se obtuvo una muestra de sangre y se administrará vitamina D que por lo general no tiene efectos colaterales. Se conservó la confidencialidad del paciente al utilizar una clave alfanumérica para identificar los cuestionarios pero no utilizar los datos del paciente. La información obtenida se conservó y sólo es accesible para los integrantes del equipo de investigación. En caso de que el paciente quiera conocer los resultados del estudio, se le proporcionarán.

## Relevancia y expectativas

- Mejorar el tratamiento de los pacientes con rinitis alérgica.
- Tesis de grado de Maestría en Ciencias
- Presentar en los congresos nacionales e internacionales de alergia e inmunología clínica
- Publicación de resultados
- Educación a los pacientes para mejorar su calidad de vida

## Recursos

Se utilizaron recursos del Hospital como estudios de laboratorio complementarios de rutina y de la Unidad de Medicina Experimental HIPAM. Los recursos para la recolección de los datos fueron autofinanciados por el autor. La industria farmacéutica (Laboratorios Valdecasas, Calciferol, Valmetrol-3 1600 UI) proporcionó el medicamento.

## RESULTADOS

Descripción general del estudio.

En la Figura N.- 1 mostramos el esquema y descripción general del estudio (CONSORT).

Características basales de la población estudiada.

Se evaluaron 120 pacientes de los cuales 80 cumplieron criterios de inclusión y fueron aleatorizados a dos grupos: 40 al grupo de vitamina D y 40 al grupo placebo. Durante el seguimiento se perdieron 15 pacientes. En el grupo de vitamina D se perdieron 5 pacientes por falta de apego y por salir de la ciudad a vivir en otro estado y en el grupo placebo se perdieron 10 pacientes por falta de apego y por voluntad propia. Para la descripción basal se incluyeron 80 pacientes y en el análisis final 65 pacientes 35 del grupo de vitamina D y 30 del grupo placebo. La n calculada fue de 60 pacientes, por lo tanto, se cumplió el número necesario. Las características clínicas, de laboratorio, comorbilidades e inmunológicas basales se muestran en la Tabla N.-1. No encontramos diferencias entre los grupos, fueron homogéneos, lo que nos indica que la aleatorización si funcionó.

Figura N.- 1. Diagrama de flujo del estudio (ESQUEMA CONSORT)

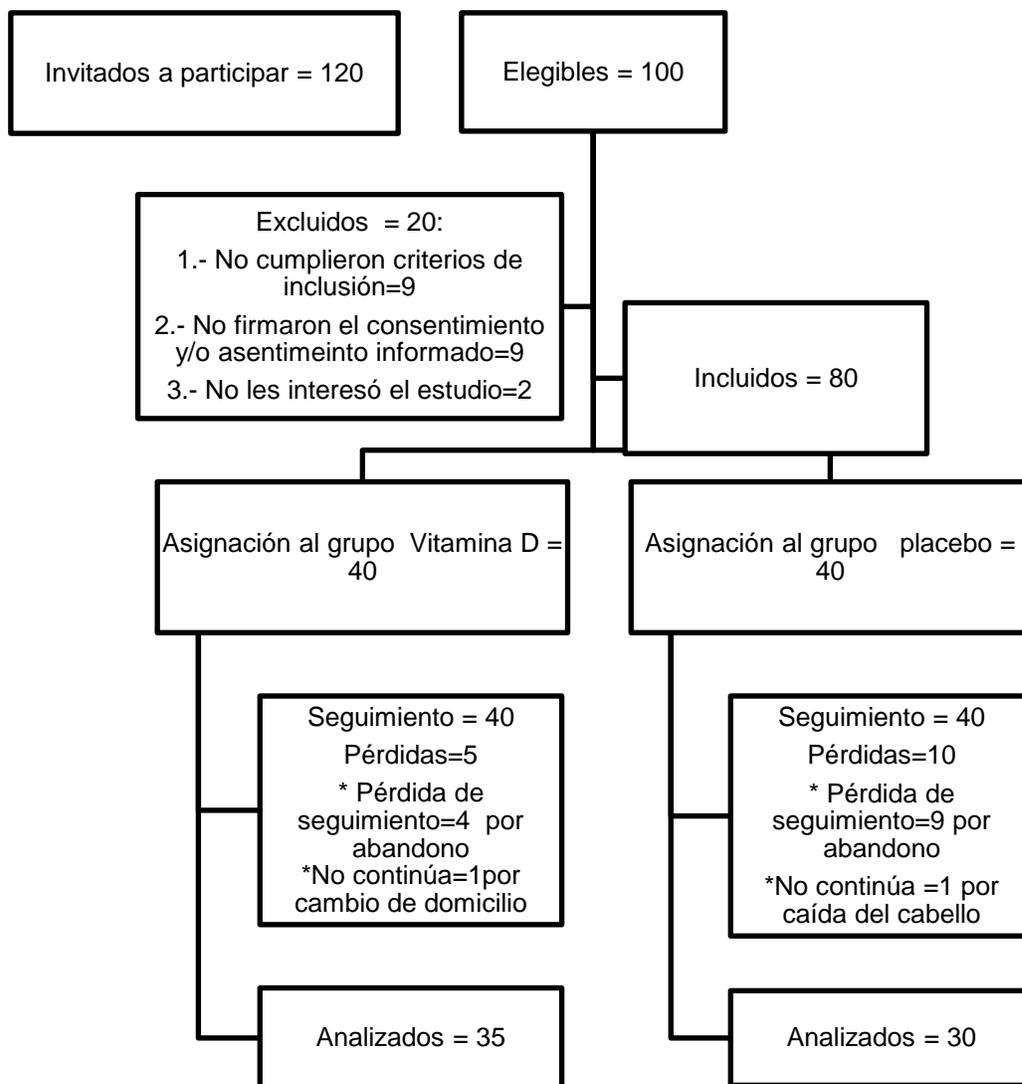


Tabla N.- 1. (A) Características basales generales de la población de estudio, (B) Comorbilidades, (C) Laboratorios, (D) Citología nasal, (E) Inmunoglobulinas totales, (F) Citocinas.

<b>(A) Características basales generales de la población estudiada</b>				
		Vitamina D	Placebo	valor de p
		n=40	n=40	
Género	Masculino n (%)	20(50)	20(50)	1
	Femenino n (%)	20(50)	20(50)	1
Edad en años media (DE)		7.02(2.91)	6.85(2.76)	0.783
Vitamina D (ng/ml) media (DE)		20.9(6.32)	22.6(4.86)	0.182
Peso en Kg media (DE)		26.75(11.9)	25.12(9.83)	0.508
Talla en metros media (DE)		1.22(0.19)	1.2(0.17)	0.611
Fumador pasivo n (%)		22(55)	18(45)	0.371
Tomó leche materna mínimo 4 meses n (%)		15 (37.5)	20 (50)	0.26
Vivienda	Urbano n (%)	34(85)	37 (92.5)	0.288
	Rural n (%)	6(15)	3 (7.5)	0.288
Utiliza protector solar diariamente n (%)		12(30)	11 (27.5)	0.805
Convive con animales n (%)		28 (70)	24 (60)	0.348

### **(B) Comorbilidades**

		Vitamina D	Placebo	valor de p
		n=40	n=40	
Comorbilidades n (%)				
Asma		20 (50)	20 (50)	1
Conjuntivitis alérgica		27 (67.5)	28 (70)	0.809
Dermatitis atópica		11 (27.5)	11 (27.5)	1
Urticaria		2 (5)	5 (12.5)	0.235
Alergia a alimentos		9 (22.5)	5 (12.5)	0.239
Alergia a medicamentos		8 (20%)	7 (17.5)	0.775
Sinusitis		20 (50)	16 (40)	0.369
Adenoiditis		15 (37.5)	18 (45)	0.496

**(C) Laboratorios**

Laboratorios Media (DE)		Vitamina D	Placebo	valor de p
Leucocitos	Número absoluto	7610.5 (1996.82)	8219.5 (2403.72)	0.221
Linfocitos	Número absoluto	3193.25 (1453.01)	3198.5(1413.95)	0.987
	Porcentaje	42.2 (10.72)	38.9 (11.72)	0.193
Neutrófilos	Número absoluto	3366.25 (1254.63)	3960.50 (1827.57)	0.094
	Porcentaje	43.75 (10.83)	47 (13.75)	0.244
Eosinófilos	Número absoluto	392 (324.95)	428 (389.41)	0.655
	Porcentaje	4.93 (4)	5 (4.61)	0.922
Basófilos	Número absoluto	41.8 (45.68)	47.42 (111.18)	0.768
	Porcentaje	0.65 (0.46)	0.7 (1.2)	0.807
Monocitos	Número absoluto	540.82 (216.57)	573.5 (253.87)	0.538
	Porcentaje	6.68 (2.04)	6.66 (2.43)	0.968
Eritrocitos	Número absoluto	5120250 (353034.37)	5141000 (530712)	0.837
Hemoglobina(g/dl)	Número absoluto	13.65 (1.09)	13.9 (1.05)	0.303
Hematocrito (%)	Número absoluto	43.10 (3.08)	43.47 (3.02)	0.585
Plaquetas	Número absoluto	301952.5 (61697.84)	320792 (72681)	0.215

**(D) citología nasal**

		Vitamina D	Placebo	valor de p
Eosinófilos en citología nasal n (%)	Ausente	14 (35)	9 (23.1)	0.139
	Leve	14 (35)	13 (33.3)	
	Moderado	5 (12.5)	13 (33.3)	
	Abundante	7 (17.5)	4 (10.3)	
	Campo lleno	0	0	
PMN en citología nasal n (%)	Ausente	9 (22.5)	4 (10.3)	0.539
	Leve	10 (25)	10 (25.6)	
	Moderado	13 (32.5)	15 (38.5)	
	Abundante	8 (20)	9 (23.1)	
	Campo lleno	0	1 (2.6)	

**(E) Inmunoglobulinas totales en sangre periférica**

Media (DE)	Vitamina D N=40	Placebo N=40	valor de p
IgA total (mg/dl)	149.88 (81.45)	151.9 (75.82)	0.831
IgG total (mg/dl)	1110.35 (274.25)	1155.52 (284.96)	0.633
IgM total (mg/dl)	144.6 (56.77)	160 (64.59)	0.311
IgE total (UI/ml)	379.82 (686.93)	440.3 (560.94)	0.556

**(F) Citocinas plasmáticas en pg/ml**

Media (DE) pg/ml	Vitamina D N=40	Placebo N=40	valor de p
IL-2	21.39 (67.64)	13.92 (27.67)	0.579
IL-4	11.01 (16.03)	3.99 (6.97)	0.032
IL-5	23.26(39.9)	12.58(12.38)	0.386
IL-6	69.52(71.6)	45.89(27.3)	0.224
IL-9	23.96(37.17)	9.53(12.34)	0.243
IL-10	6.99 (38.66)	3.95 (19.83)	0.704
IL-13	10.07(17)	5.07(4.8)	0.258
IL-17A	114.33 (66.41)	122.60 (54.74)	0.603
IL-17F	35.01(52.78)	13.57(17.59)	0.331
IL-21	41.34 (21.22)	36.19 (8.97)	0.227
IL-22	50.53 (50.31)	52.82 (36.8)	0.842
TNFalfa	202(363.3)	92.65(127)	0.5
INF g	60.15 (78.49)	57.14 (51.67)	0.862

Incluimos niños y niñas de 3 a 12 años de edad. La media de edad global fue de 6.98 (DE 2.82). Mediante la asignación en bloques controlamos la presencia o ausencia de asma, es decir la mitad de los pacientes presentan la enfermedad. En los dos grupos más del 80% de pacientes residen en zona urbana. Las comorbilidades más importantes presentes en la población estudiada fueron la conjuntivitis alérgica con el 70% y sinusitis presente en 40% de los pacientes en los dos grupos; mientras que la dermatitis atópica se presentó en el 27 % de los

niños/as. En general se presentó eosinofilia y niveles incrementados de IgE basales, esto es esperado por ser pacientes alérgicos.

## Vitamina D

Utilizamos la clasificación de la Sociedad American de Endocrinología, quienes recomiendan que los niveles de vitamina D se los clasifique como deficiencia si 25(OH) D está por debajo de 20 ng/ml (50 nmol/liter) e insuficiencia si 25(OH) D está entre 21–29 ng/ml (525–725 nmol/liter); por lo tanto los valores superiores a 30 ng/ml se consideran normales. Uno de los criterios de inclusión a este estudio fue que presenten niveles por debajo de 30 ng/ml. Los resultados de los valores basales son presentados en la Tabla N.- 2.

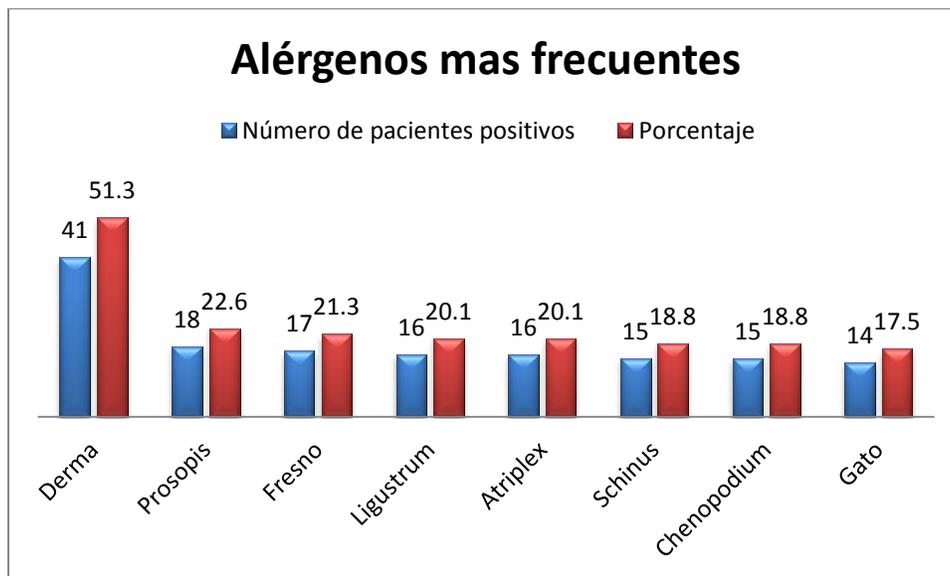
Tabla N.- 2. Valores basales de vitamina D en ng/ml en los 2 grupos.

			<b>Categorías</b>			
			Media (DE)	Suficiencia n (%) >30 ng/ml	Insuficiencia n (%) 21-29 ng/ml	Deficiencia n (%) <20 ng/ml
<b>Estado basal</b>	Vitamina D	Rinitis alérgica	19.46 (6.74)	0	8 (40)	12 (60)
		Rinitis alérgica más asma	22.13 (5.69)	0	14 (70)	6 (30)
	Placebo	Rinitis alérgica	21(6.32)	0	13 (65)	7 (35)
		Rinitis alérgica más asma	20.91(4.23)	0	15 (75)	5 (25)

## Pruebas cutáneas

Se realizaron pruebas cutáneas para pólenes, inhalables intra domiciliarios, mascotas y hongos a todos los pacientes (Suplementarios, Tabla N.-1). El alérgeno que más sensibilización presentó fue dermatofagoides. En la figura N.- 2 mostramos los 8 alérgenos más frecuentes.

Figura N.- 2. Alérgenos más frecuentes.

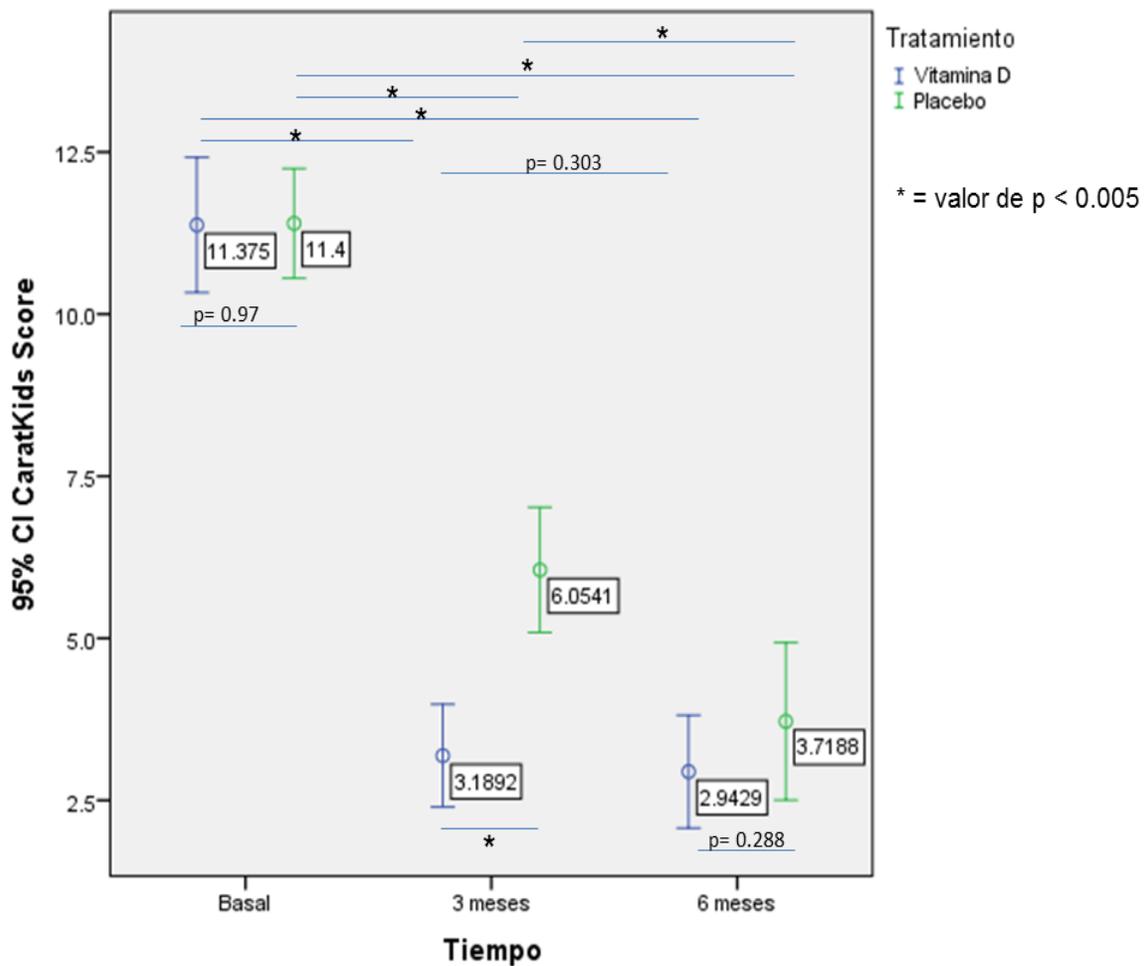


Se muestran los 8 alérgenos más frecuentes en la población de estudio. En la primera columna observamos el número de pacientes positivos al antígeno estudiado mediante pruebas cutáneas. En la segunda columna el porcentaje.

## Objetivo principal

La variable de salida principal o “endpoint” más importante del estudio fue evaluar la eficacia de la vitamina D como adyuvante a la inmunoterapia específica con alérgenos en niños de 3 a 12 años de edad con diagnóstico de rinitis alérgica en términos de reducción del tiempo de respuesta terapéutica medidos con la escala validada CaratKids Score pediátrico de 17 puntos. El resultado se muestra en la figura N.-3

Figura N.- 3. Mejoría clínica más temprana a los 3 meses en el grupo de vitamina D comparado con placebo.

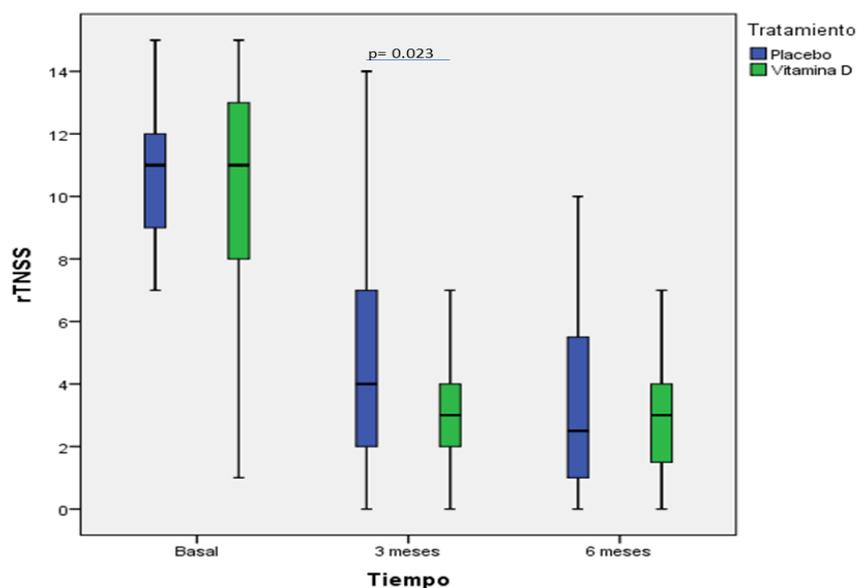


La media de los valores basales del Score CaratKids fue similar. A los 3 meses el grupo de vitamina D presenta una media de 3.1, mientras que el grupo placebo presenta una media de 6, mostrando diferencia ( $p < 0.001$ ). Los valores del score en el grupo de vitamina D fueron similares a los 3 y 6 meses ( $p = 0.288$ ); mientras que en el grupo placebo fueron diferentes ( $p < 0.001$ ). A los 6 meses, los dos grupos presentaron medias del score similares, lo que refleja mejoría clínica en los dos grupos. Utilizando los valores de los 3 meses, calculamos la  $d$  de Cohen y la correlación del tamaño del efecto, obteniendo 0.61 de  $d$  de Cohen y correlación del tamaño del efecto de 0.3.

#### Valoración por escalas de control de rinitis alérgica

En la figura N.-4 presentamos los resultados de la valoración con la escala rTNSS para control de los síntomas y signos de rinitis alérgica. Los resultados se presentan en medianas.

Figura N.- 4. Mejoría clínica más temprana a los 3 meses valorado por rTNSS.



## Clasificación ARIA

La OMS recomienda utilizar la clasificación establecida por el programa ARIA (Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma), que de acuerdo a la duración de los síntomas la categoriza en intermitente (menos de cuatro días a la semana y menos de cuatro semanas al año) o persistente (más de cuatro días a la semana y más de cuatro semanas al año). La gravedad se establece, teniendo en cuenta el compromiso clínico del paciente, en: leve (sueño normal, sin impedimento de la actividad diaria: deporte, tiempo libre, escolaridad, trabajo y sin asociación mórbida) o moderada/grave, donde se encuentran afectados cualquiera de los aspectos mencionados anteriormente. Presentamos los resultados de la valoración basal, a los 3 y a los 6 meses de la clasificación ARIA en la figura N.-5.

Figura N.- 5. Valoración en el tiempo de la clasificación ARIA en los dos grupos, Basal.

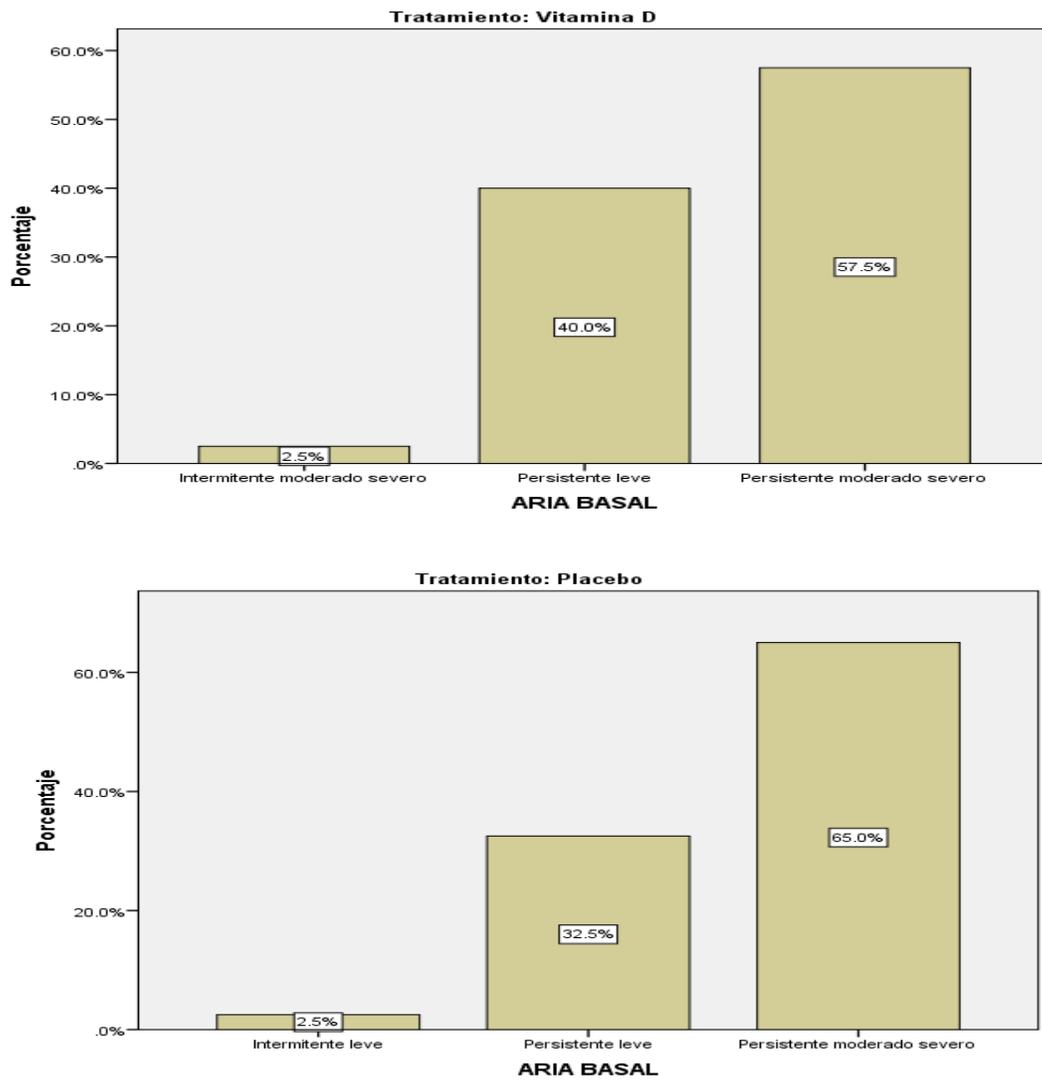


Figura N.- 5. Valoración en el tiempo de la clasificación ARIA en los dos grupos, a los 3 meses.

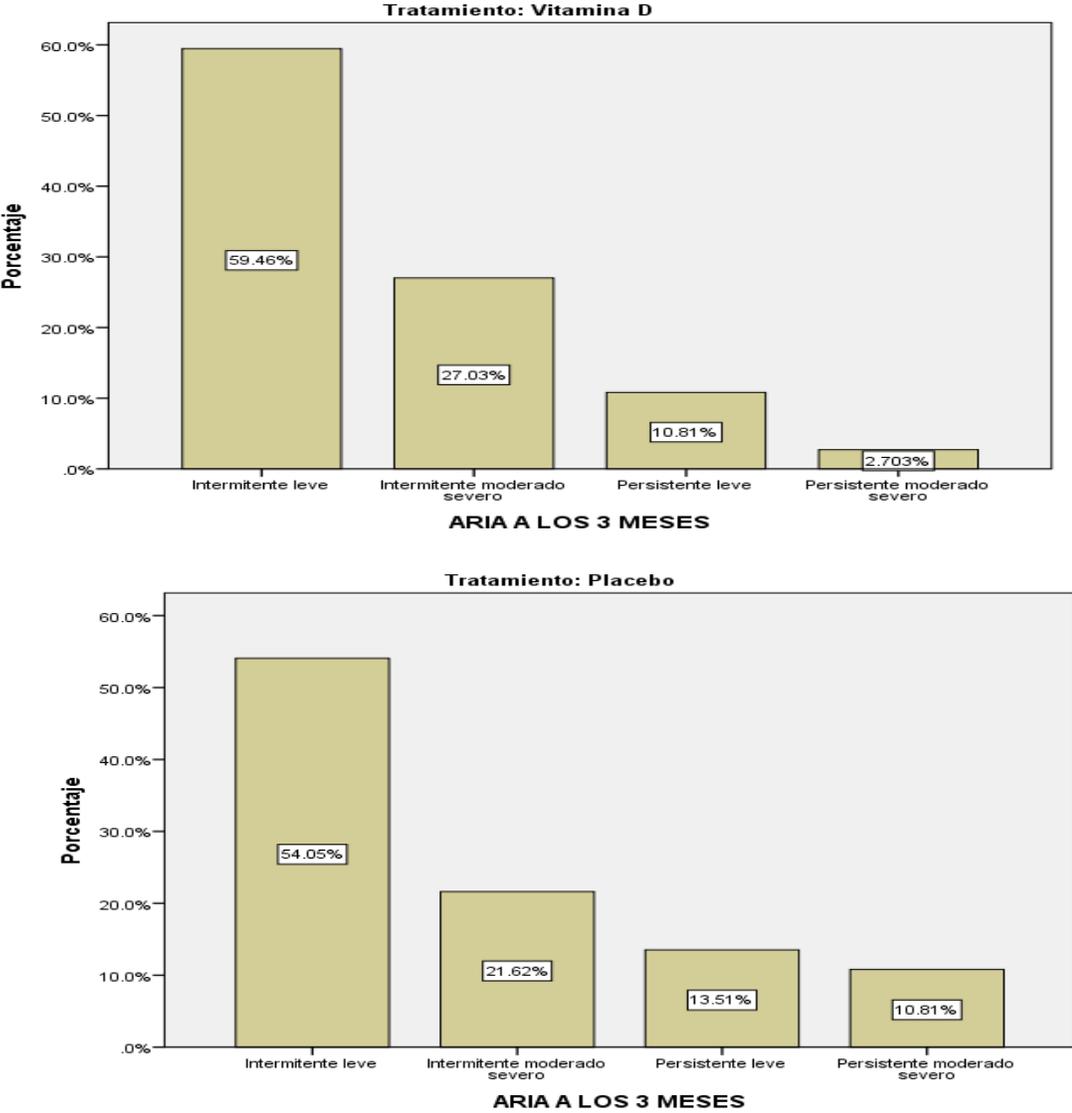
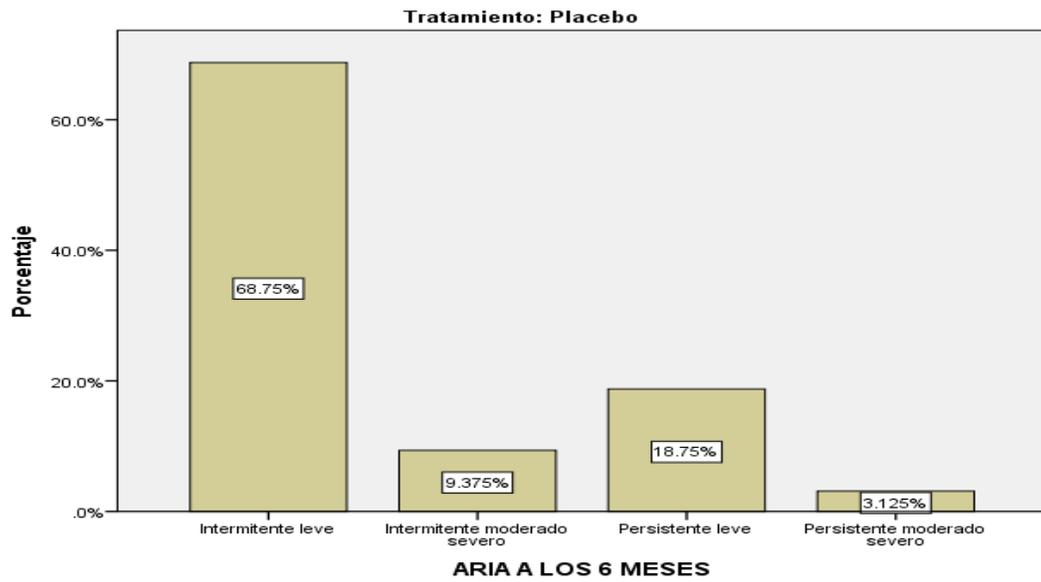
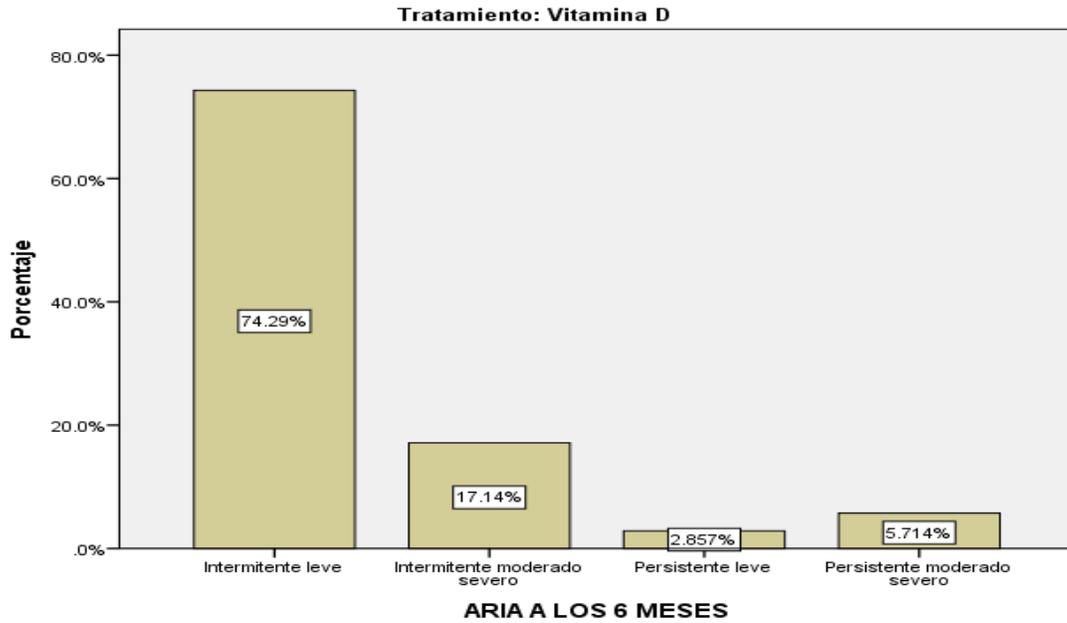


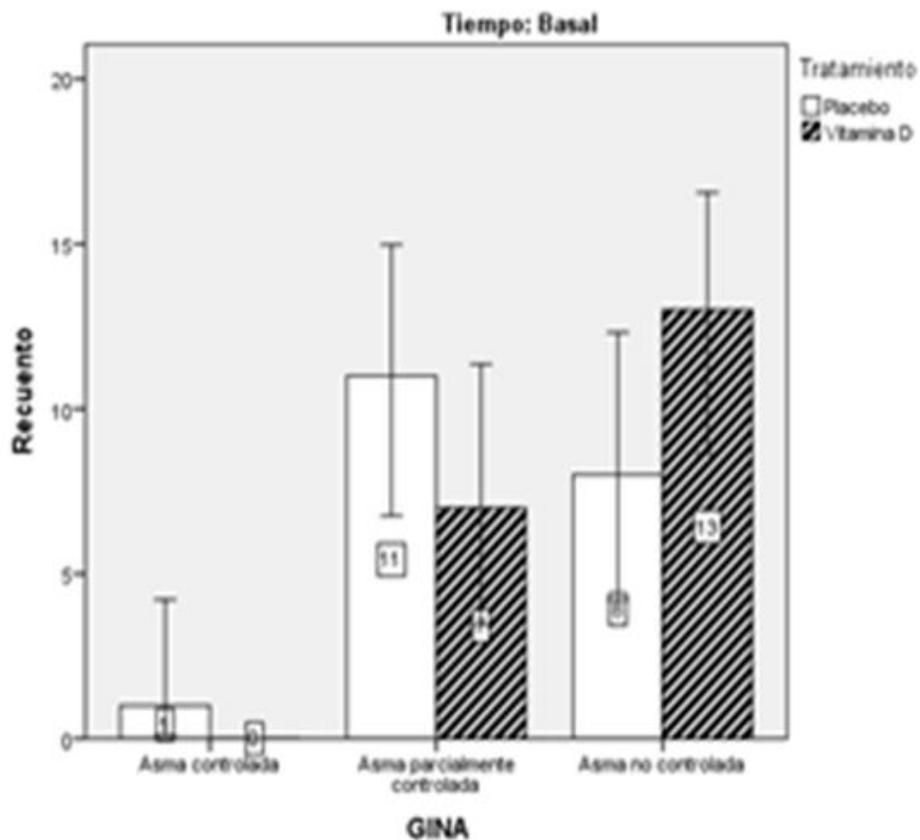
Figura N.- 5. Valoración en el tiempo de la clasificación ARIA en los dos grupos, a los 6 meses.

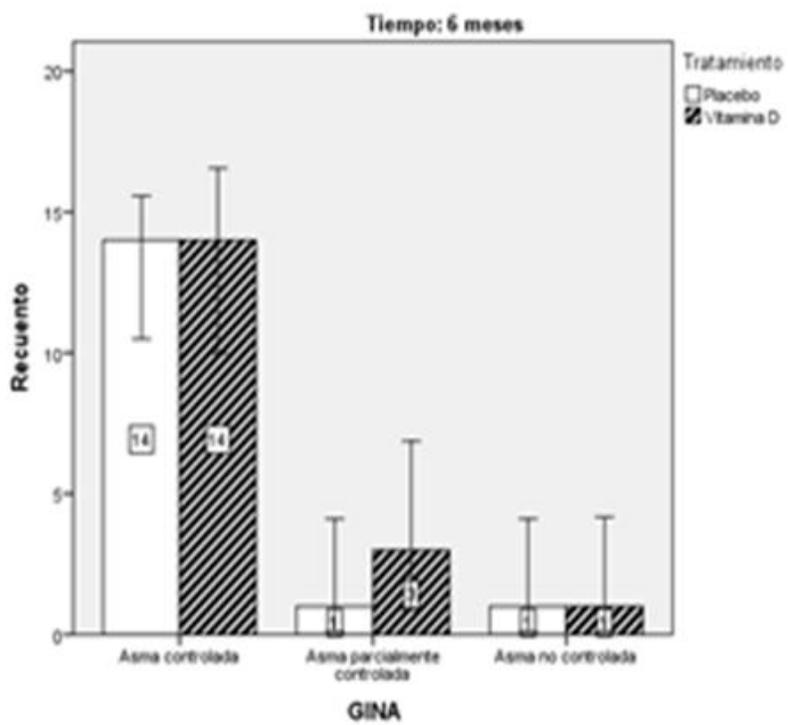
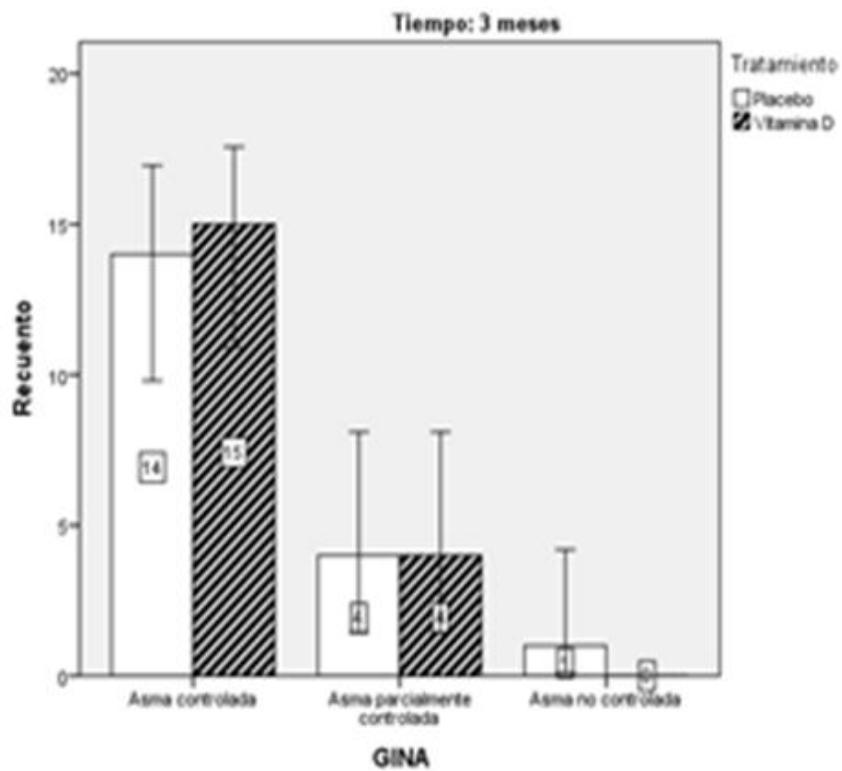


Valoración de la respuesta clínica en los pacientes con rinitis alérgica y asma mediante GINA.

Asma fue una variable que controlamos en la asignación de pacientes. Valoramos la respuesta clínica en los dos grupos con la clasificación de GINA. Los resultados se muestran en la figura N.- 6. Podemos observar que en el estado basal los pacientes están en dos categorías de control: parcialmente controlado y no controlado y a los 3 y 6 meses la mayoría de pacientes están controlados en los dos grupos sin observarse diferencias.

Figura N.- 6. Categorías de valoración de GINA en pacientes con rinitis alérgica y asma.





## Comportamiento de la vitamina D.

En la figura N.- 7 y en la tabla N.- 3 describimos el comportamiento de la vitamina D en los dos grupos.

Figura N.-7. Comportamiento de la vitamina D en la población estudiada.

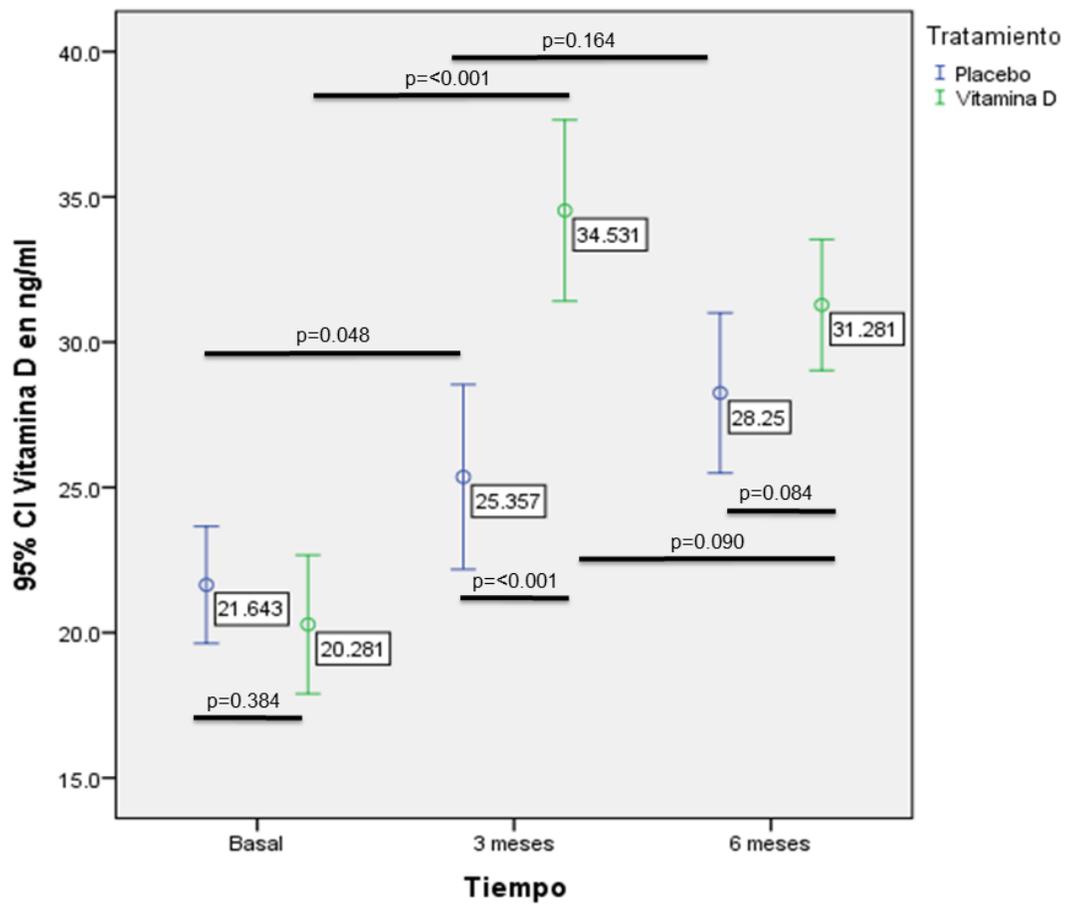


Tabla N.- 3. Comportamiento de la vitamina D en la población estudiada.

		Categorías				
		Media (DE)	Suficiencia, n (%)	Insuficiencia, n (%)	Deficiencia, n (%)	
<b>Estado basal</b>	Vitamina D	Rinitis alérgica	19.46 (6.74)	0	8 (40)	12 (60)
		Rinitis alérgica más asma	22.13 (5.69)	0	14 (70)	6 (30)
	Placebo	Rinitis alérgica	21(6.32)	0	13 (65)	7 (35)
		Rinitis alérgica más asma	20.91(4.23)	0	15 (75)	5 (25)
<b>3 meses de seguimiento</b>	Vitamina D	Rinitis alérgica	32.84 (9.49)	10 (50)	8 (40)	0
		Rinitis alérgica más asma	36.4 (7.4)	13 (65)	5 (25)	1 (5)
	Placebo	Rinitis alérgica	26.63 (10.73)	10 (50)	3 (15)	4 (20)
		Rinitis alérgica más asma	23.16 (6.14)	6 (30)	8 (40)	3 (15)
<b>6 meses de seguimiento</b>	Vitamina D	Rinitis alérgica	29.54 (7.8)	4 (20)	8 (40)	1 (5)
		Rinitis alérgica más asma	33.87 (3.52)	13 (65)	2 (10)	0
	Placebo	Rinitis alérgica	29.64 (9.17)	5 (25)	5 (25)	1 (5)
		Rinitis alérgica más asma	26.17 (4.82)	4 (20)	6 (30)	2 (10)

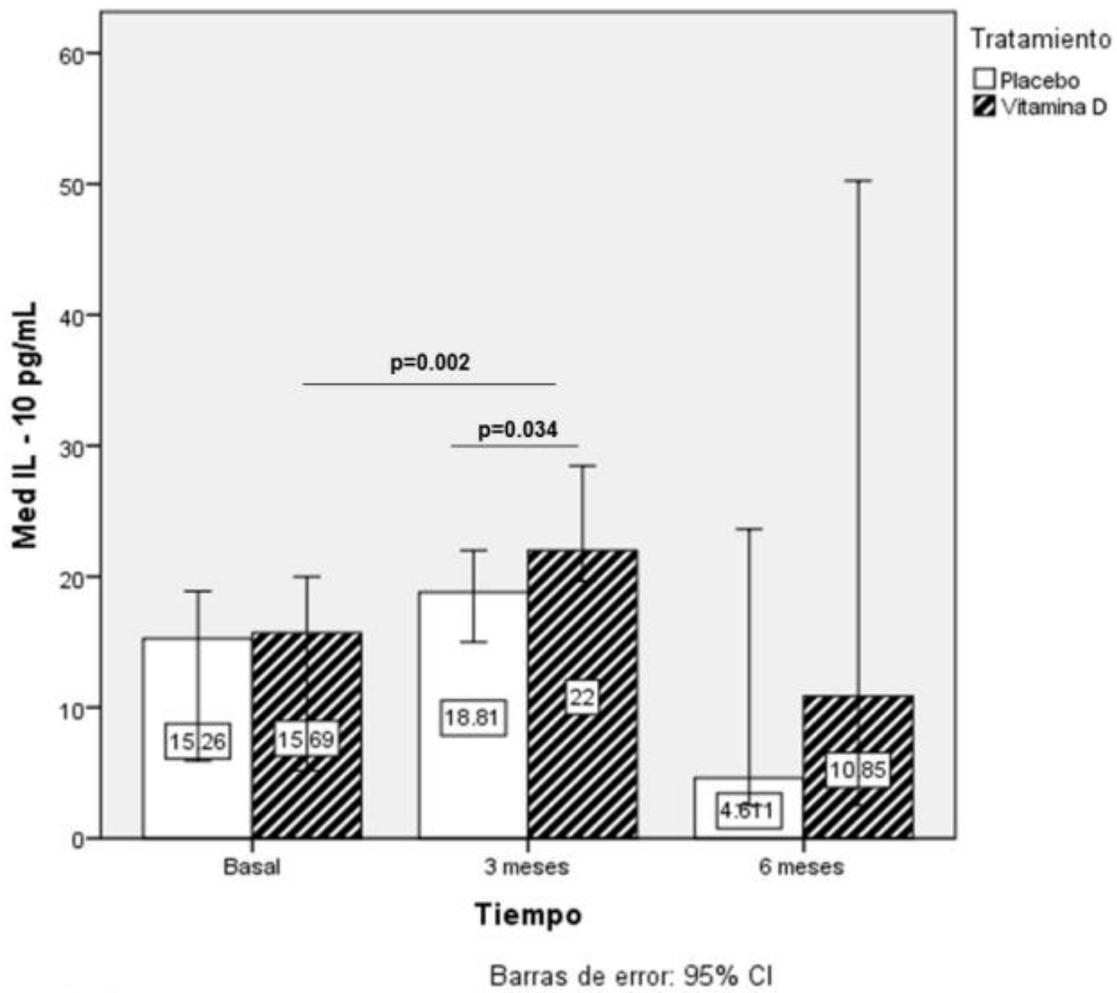
Como fue esperado, los valores de los niveles de la vitamina D en el grupo de intervención subieron a los 3 y 6 meses, siendo diferentes a los valores basales. Los valores de los niveles de vitamina D en el grupo placebo también subieron, aunque menos que le grupo intervención.

## Citocinas

### IL-10

Las concentraciones basales de IL-10 fueron similares en los dos grupos. A los 3 meses se incrementó en el grupo de VitD ( $p=0.034$ ). Al comparar las concentraciones basales de IL-10 contra las concentraciones a los 3 meses, se observa que fueron diferentes en el grupo de VitD ( $p=0.002$ ). Los resultados se muestran en la figura N.-8.

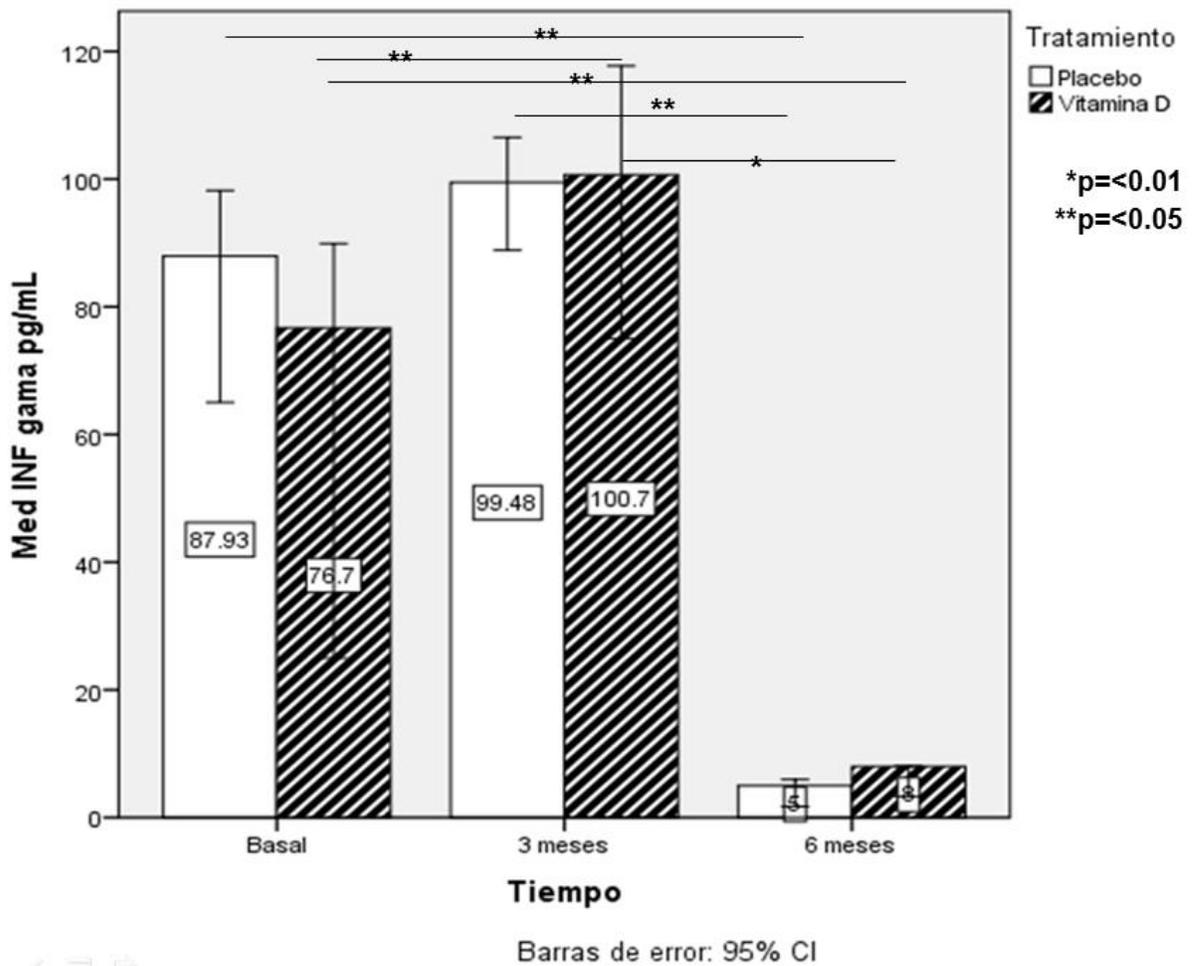
Figura N.- 8. Comportamiento de la citocina IL-10.



## INF- $\gamma$

Las concentraciones basales de INF- $\gamma$  fueron similares en los dos grupos. A los 3 meses incrementaron las concentraciones en el grupo de VitD ( $p=0.038$ ). A los 6 meses en los dos grupos claramente se observan diferencias, los valores de INF- $\gamma$  disminuyen con respecto a los basales y a los valores de los 3 meses. Los resultados se muestran en la figura N.-9.

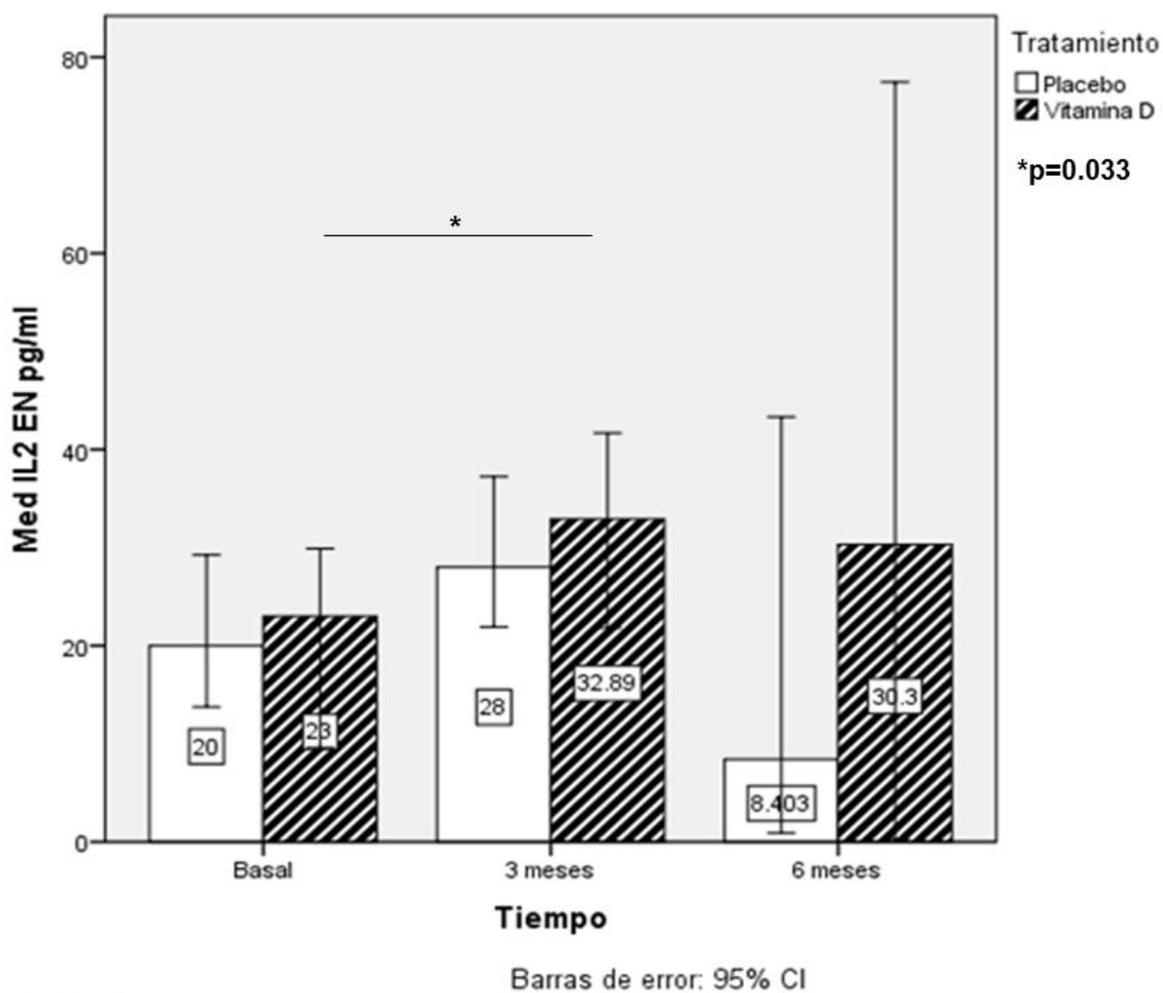
Figura N.- 9. Comportamiento de INF- $\gamma$ .



## IL-2

Las concentraciones plasmáticas de IL-2 fueron similares en la medición basal y a los 6 meses. Aunque a los 3 meses no se encontró diferencia entre los dos grupos, esta citocina incrementó en el grupo de VitD donde la mediana fue de 32.89 a los 3 meses con respecto al valor basal (mediana de 23) y una  $p=0.033$ . Los resultados se muestran en la figura N.-10.

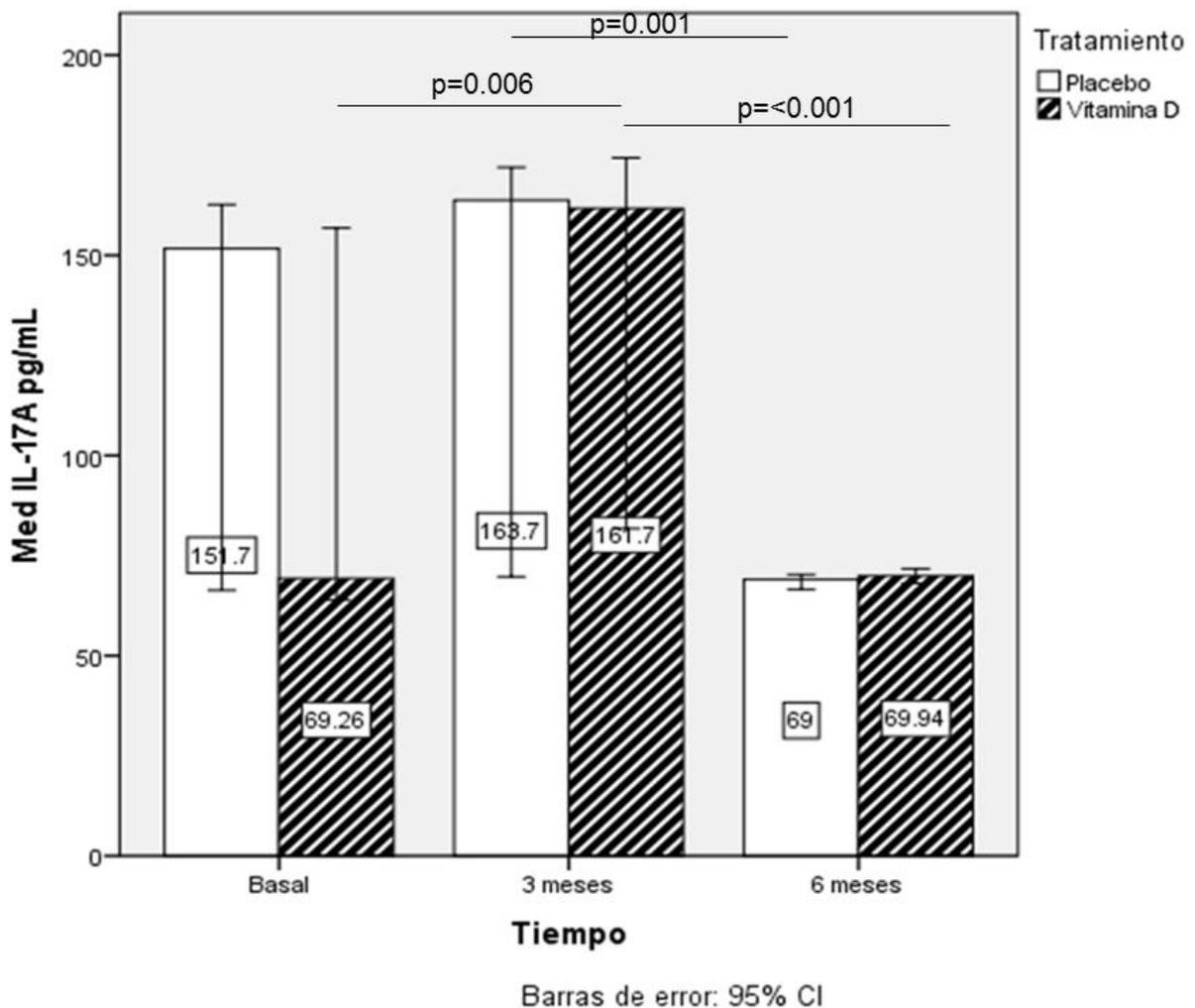
Figura N.- 10. Comportamiento de la citocina IL-2.



## IL-17A

Se observó un incremento de IL-17A al tercer mes en el grupo de VitD, y no en el grupo placebo. A los 6 meses de tratamiento en los dos grupos disminuyen los valores de esta citocina comparados con los valores de los 3 meses. Los resultados se muestran en la figura N.-11.

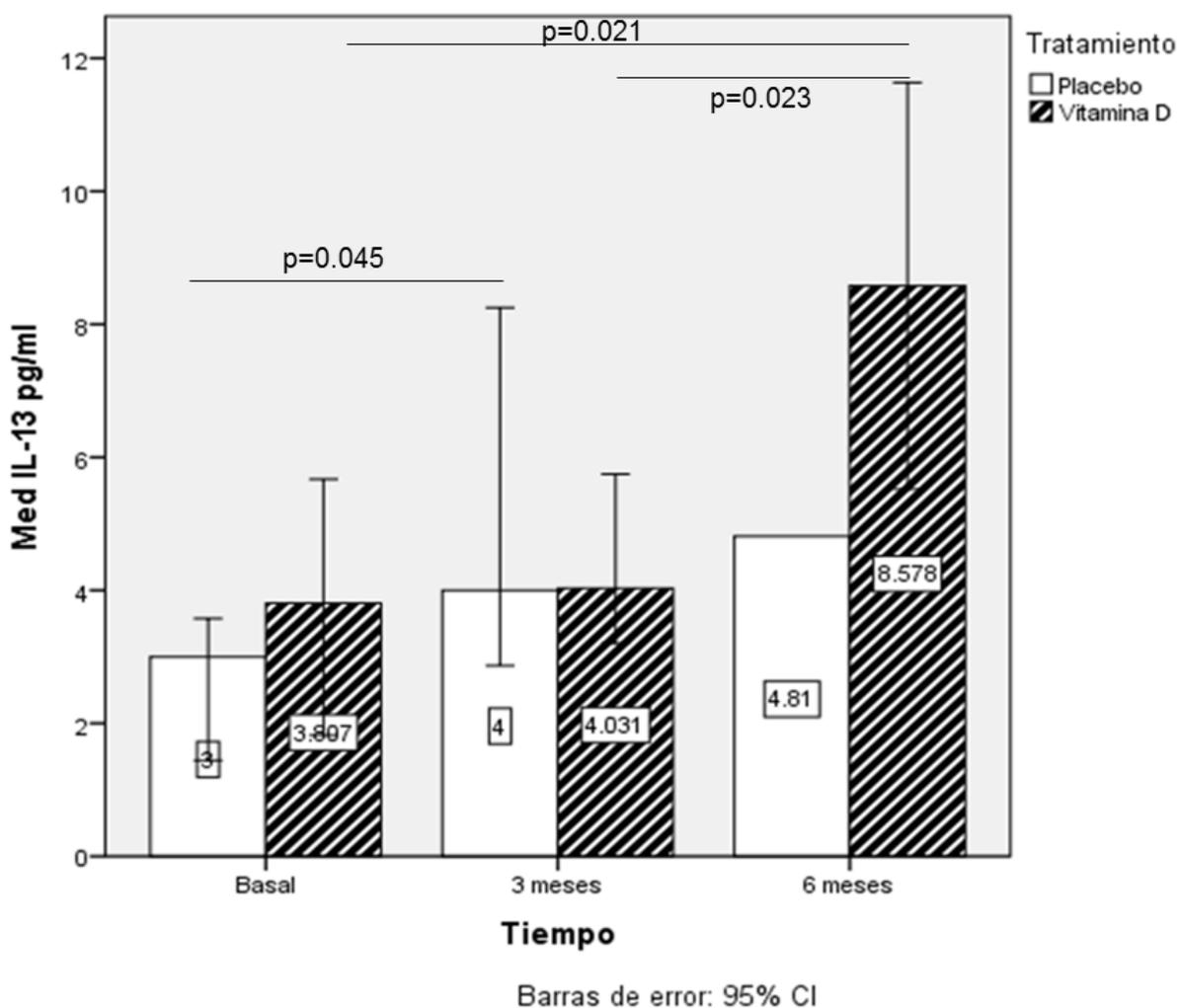
Figura N.- 11. Comportamiento de la citocina IL-17A.



## IL-13

Los valores basales de IL-13 fueron similares (mediana de 3.8 para VitD y 3 para placebo). A los 3 meses IL-13 subió en el grupo placebo ( $p=0.045$ ). Los niveles de esta citocina no se modificaron a los 3 meses en el grupo de VitD, pero si incrementaron a los 6 meses. Los resultados se muestran en la figura N.-12.

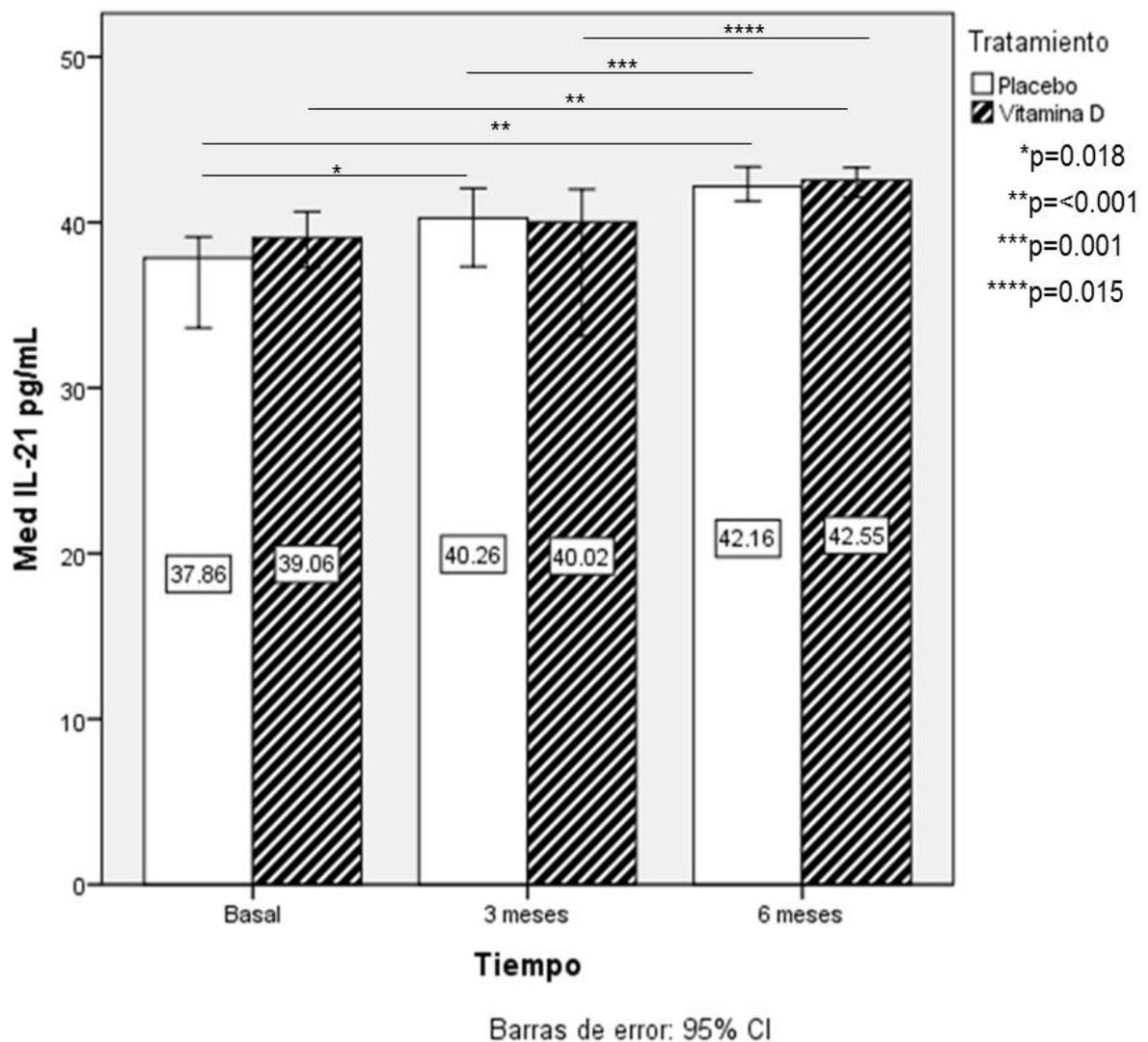
Figura N.- 12. Comportamiento de la citocina IL-13.



## IL-21

Se observó que incrementaron los niveles de IL-21 a los 3 meses en el grupo placebo, mientras que en el grupo de VitD fueron similares. A los 6 meses subieron los niveles de esta citocina en los dos grupos y fueron más altos comparados con los valores basales y los valores de 3 meses. Los resultados se muestran en la figura N.-13.

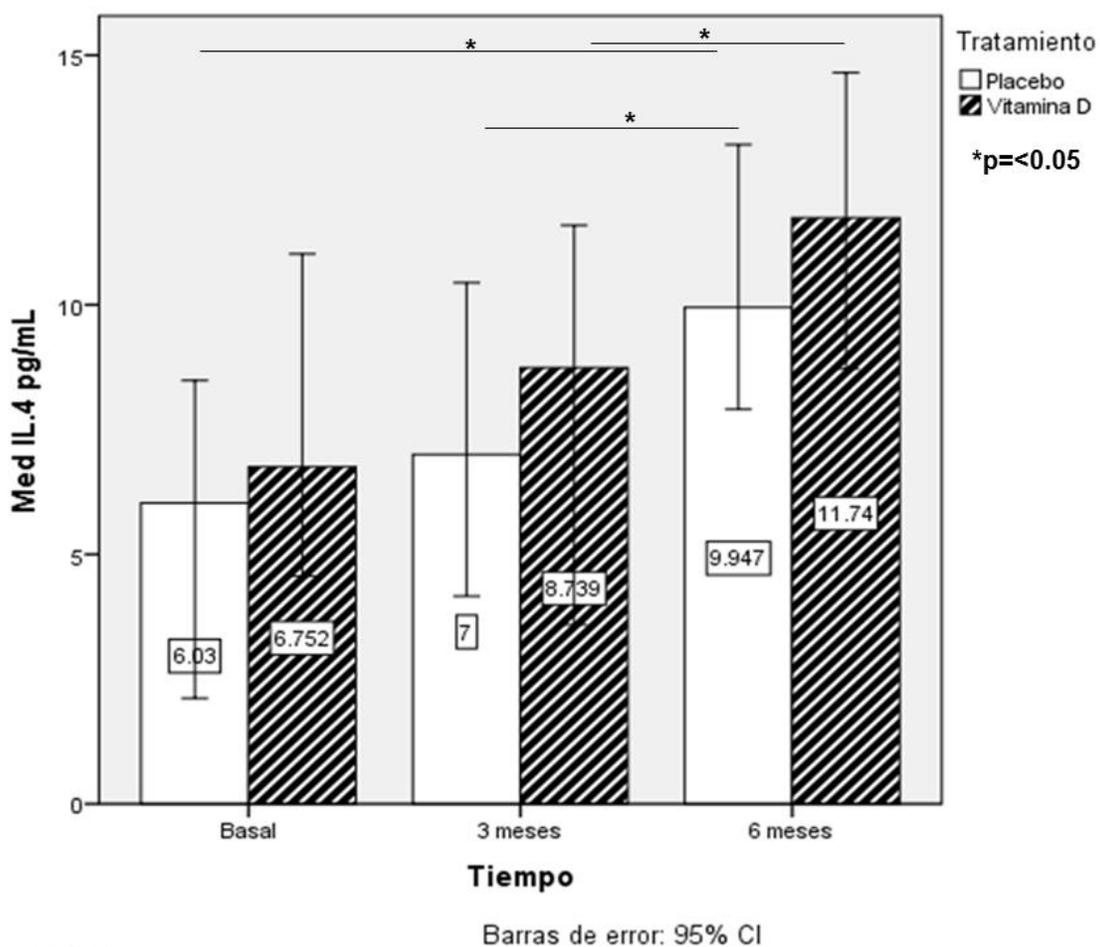
Figura N.- 13. Comportamiento de la citocina IL-21



## IL-4

IL-4 no fue diferente entre los dos grupos en las mediciones basales, a los 3 ni a los 6 meses. Se observaron diferencias de incremento cuando comparamos las medianas de VitD y placebo a los 3 y 6 meses. IL-4 incrementó en el grupo placebo entre el valor basal y a los 6 meses ( $p < 0.05$ ). Los resultados se muestran en la figura N.-14.

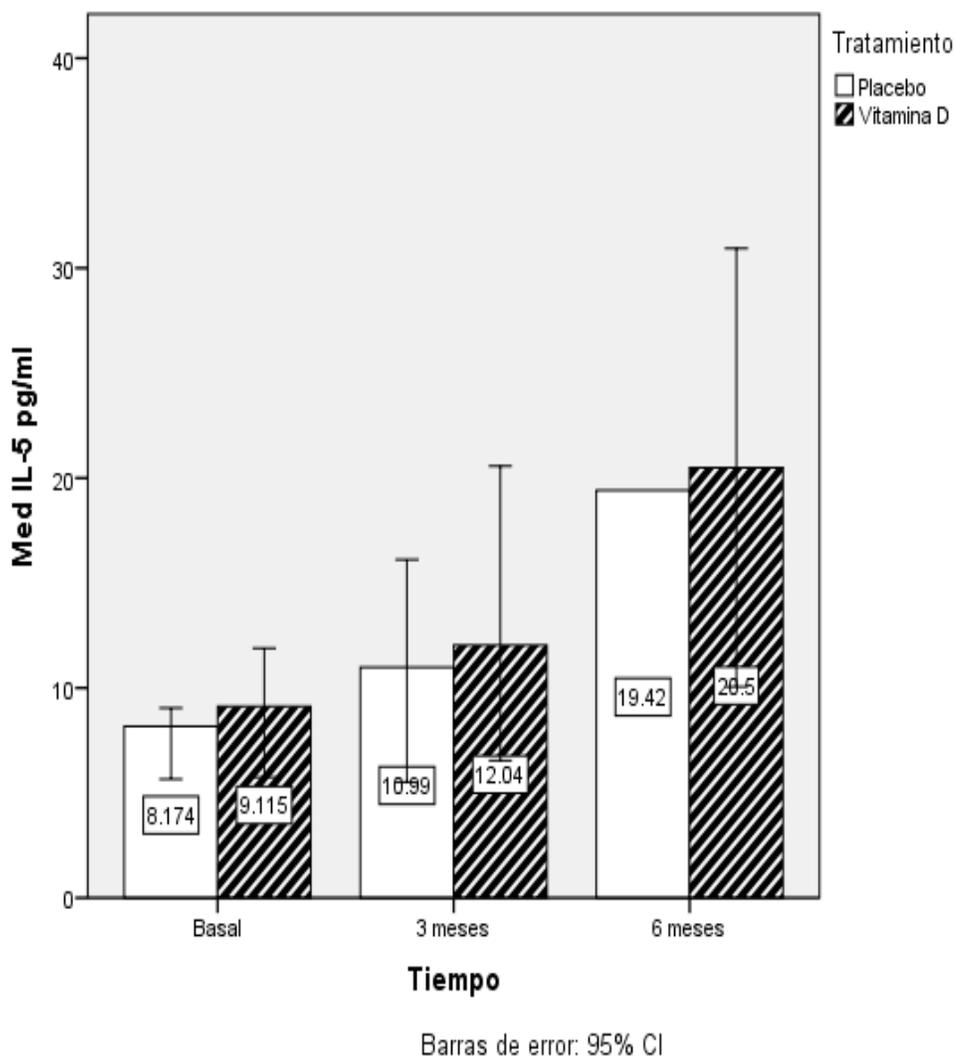
Figura N.- 14. Comportamiento de la citocina IL-4.



## IL-5

El análisis de los valores de IL-5 mostró que no existen diferencias inter ni entre grupos en las mediciones basal, a los 3 ni a los 6 meses. Los valores (medianas) de IL-5 fueron de 9 pg/ml basal, a los 3 meses 12 pg/ml y a los 6 meses 20 pg/ml en el grupo de vitamina D; de 8 pg/ml basal, a los 3 meses 10 pg/ml y a los 6 meses 19 pg/ml en el grupo de placebo. Los resultados se muestran en la figura N.-15.

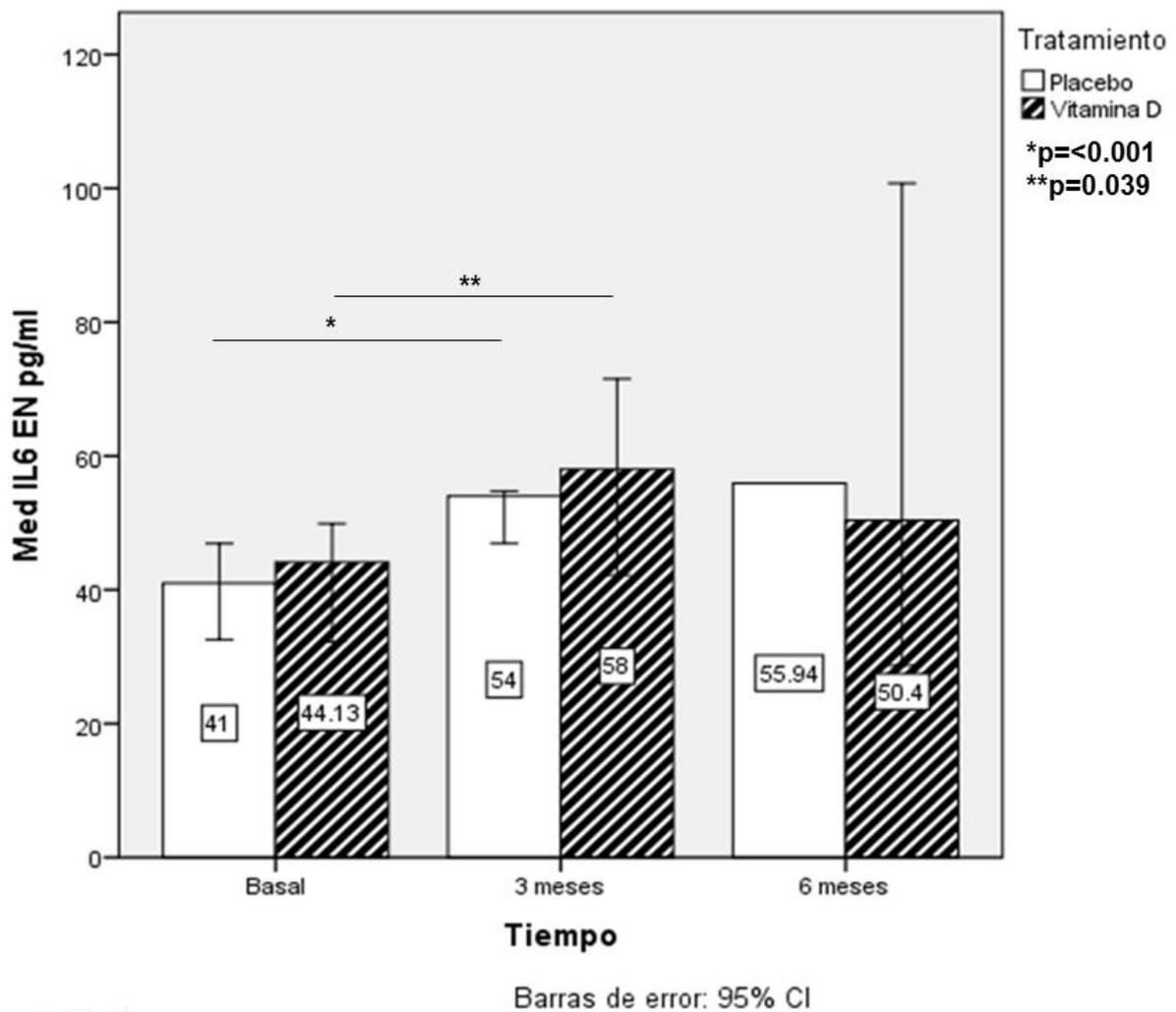
Figura N.- 15. Comportamiento de la citocina IL-5.



## IL-6

IL-6 incrementó a los 3 meses en los dos grupos comparando con el valor basal. A los 6 meses no se modificaron los valores. Las comparaciones entre grupos al inicio, a los 3 meses y a los 6 meses no mostraron diferencias. Los resultados se muestran en la figura N.-16.

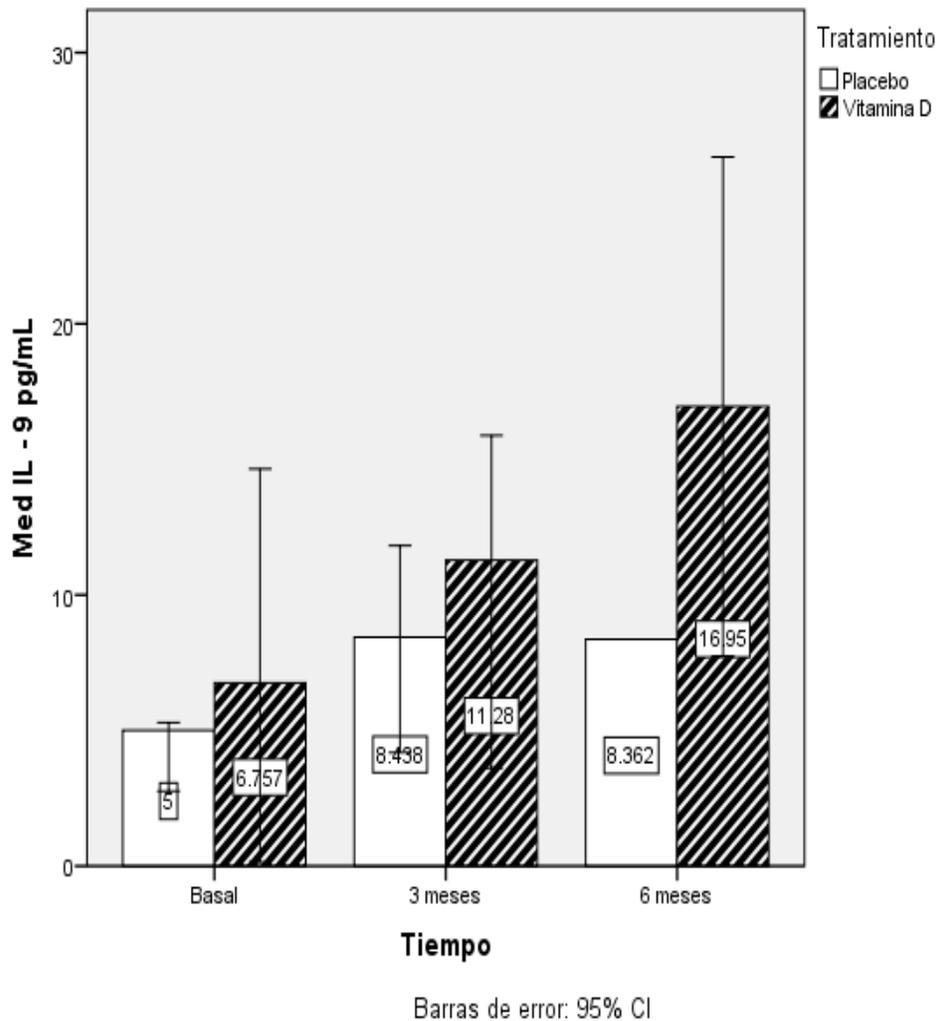
Figura N.- 16. Comportamiento de la citocina IL-6.



## IL-9

IL-9 en la primera medición presenta un valor (mediana) de 6 pg/ml en el grupo de vitamina D y 5 pg/ml en el grupo placebo. A los 3 meses 11 pg/ml y a los 6 meses 16 pg/ml en el grupo de vitamina D, mientras que en el grupo placebo a los 3 y 6 meses los valores fueron de 8 pg/ml. No encontramos diferencias a los 3 ni 6 meses. Las dispersiones son grandes. Los resultados se muestran en la figura N.- 17.

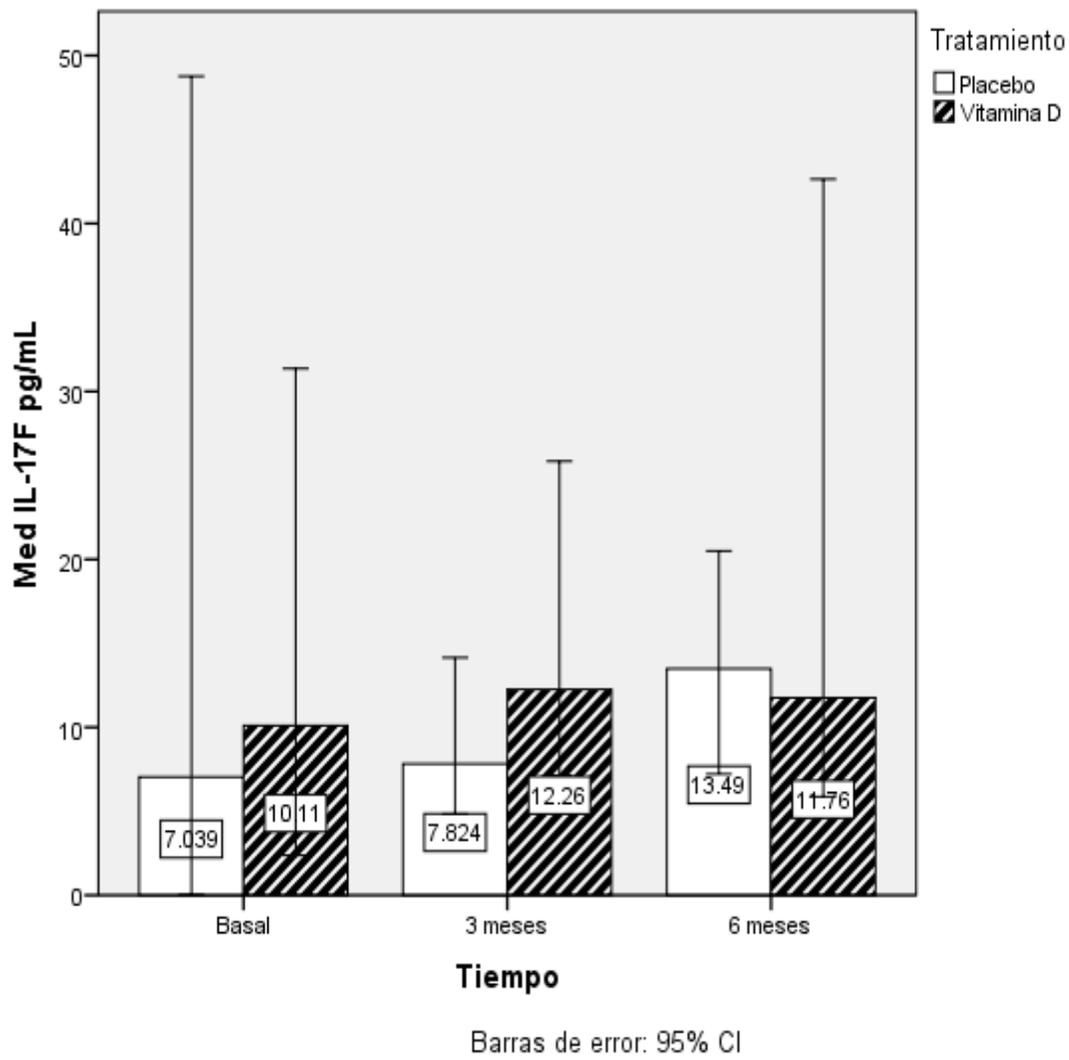
Figura N.- 17. Comportamiento de la citocina IL-9.



## IL-17F

Al comparar los niveles de la citocina IL-17F no encontramos diferencias. Fueron similares entre los grupos e inter grupos en las mediciones basales, a los 3 y a los 6 meses. Las dispersiones fueron grandes. Los resultados se muestran en la figura N.-18.

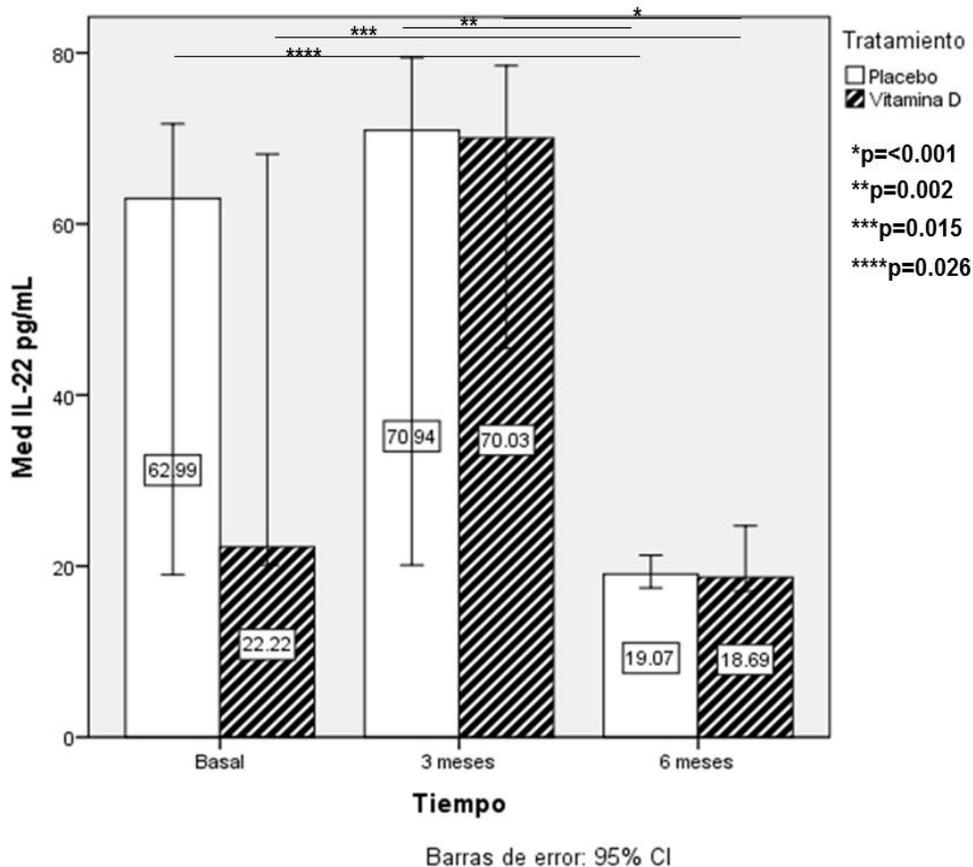
Figura N.- 1. Comportamiento de la citocina IL-17F.



## IL-22

Los valores basales en el grupo VitD fue 22.22 pg/ml y 62.99 pg/ml en el grupo placebo, sin embargo no fueron diferentes estadísticamente. A los 6 meses en el grupo de vitamina D disminuyó ( $p=0.015$ ). En el grupo de vitamina D los valores en pg/ml (medianas) de IL-22 fueron de 22, 70 y 18, basal, a los 3 meses y 6 meses, respectivamente; en el grupo de placebo los valores en pg/ml (medianas) de IL-22 fueron de 62, 70 y 19, basal, a los 3 meses y 6 meses, respectivamente. A los 6 meses disminuyeron los valores de IL-22 en los dos grupos. Los resultados se muestran en la figura N.-19.

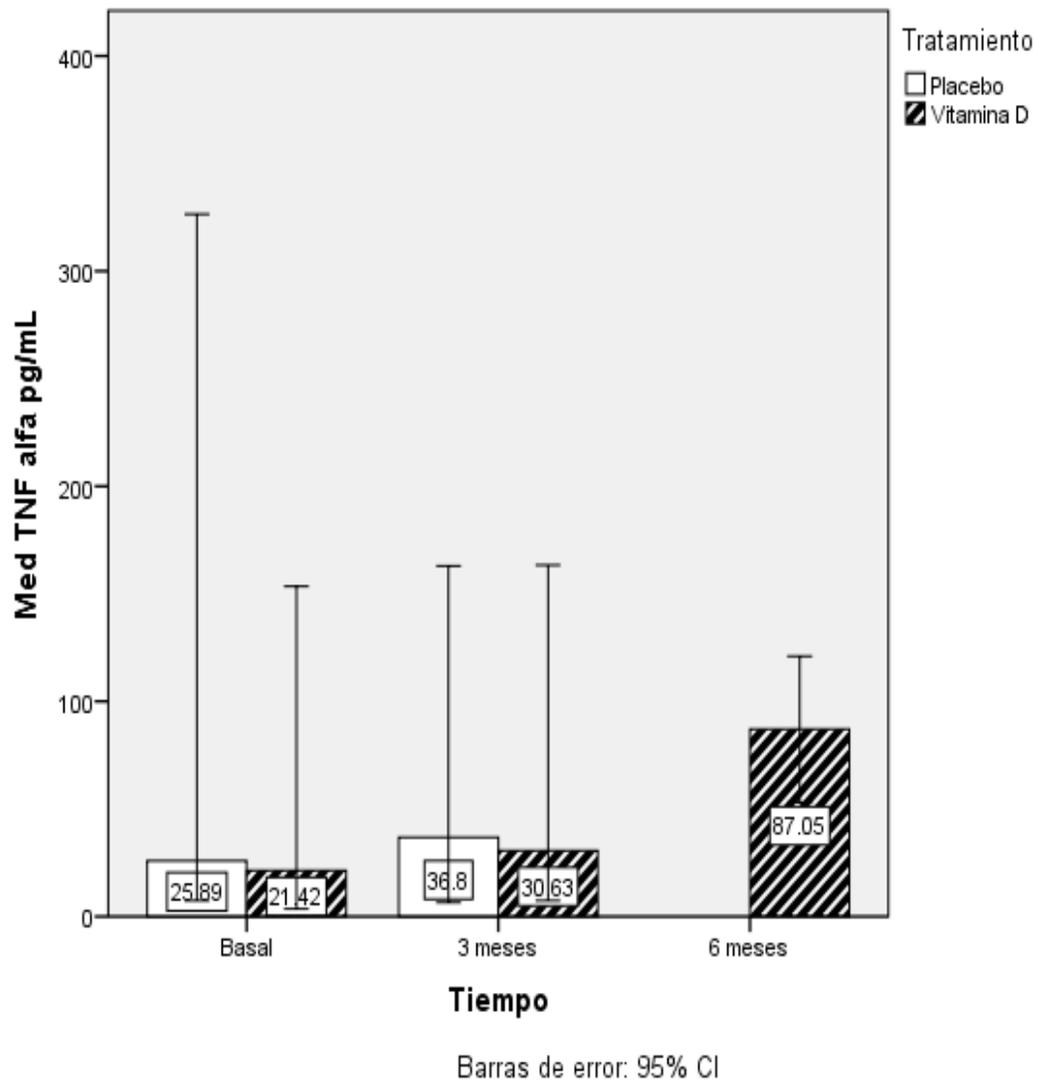
Figura N.- 19. Comportamiento de la citocina IL-22.



## TNF alfa

No se modificaron los valores de TNF alfa en las mediciones entre los grupos en las mediciones basales a los 3 y a los 6 meses. A los 6 meses en el grupo placebo fue 0. Los resultados se muestran en la figura N.-20.

Figura N.- 20. Comportamiento de TNF alfa.



## Análisis multivariado

Realizamos el análisis multivariado aplicando MANOVA de efectos globales. Los resultados los mostramos en la Tabla N.- 4.

Tabla N.- 4. Análisis multivariado. En el modelo las variables de salida fueron el Score CaratKids y los niveles de vitamina D. Ajustado por edad, género y presencia o ausencia de asma.

Tratamiento	Variables de salida			Valor de p
Vitamina D	Score	Basal	3 meses	<0.001
		Basal	6 meses	<0.001
		3 meses	6 meses	0.953
	Vitamina D (ng/ml)	Basal	3 meses	<0.001
		Basal	6 meses	<0.001
		3 meses	6 meses	0.238
Placebo	Score	Basal	3 meses	<0.001
		Basal	6 meses	<0.001
		3 meses	6 meses	0.001
	Vitamina D (ng/ml)	Basal	3 meses	0.006
		Basal	6 meses	0.003
		3 meses	6 meses	0.593

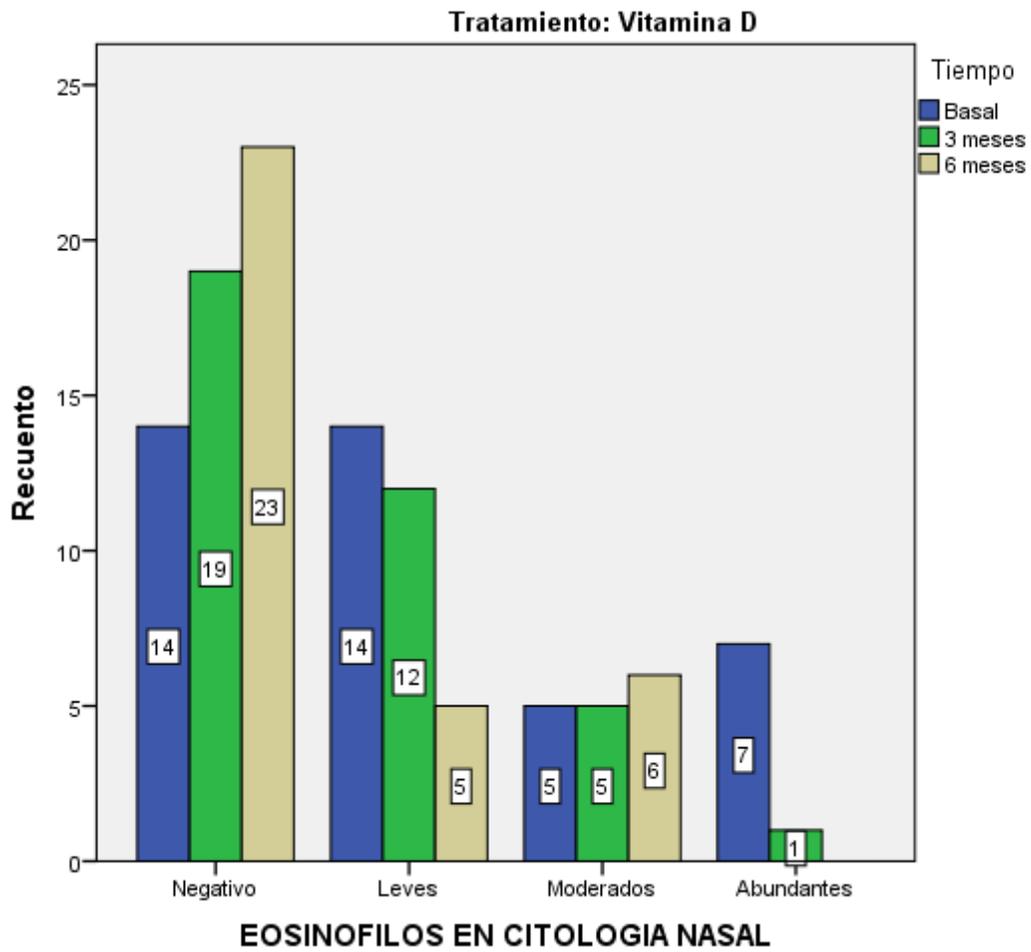
## Biomarcadores

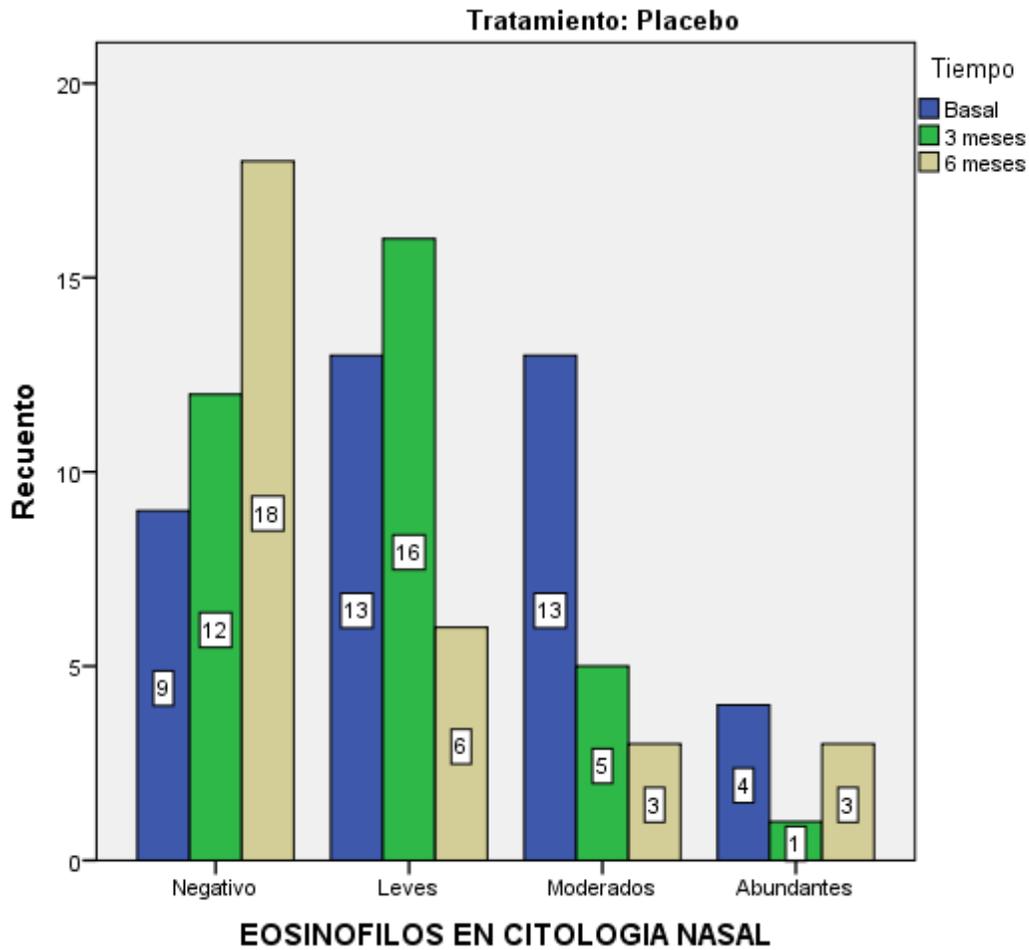
### Células en citología nasal

Estudiamos eosinófilos y células PMN en citología nasal. Se clasificaron en 4 grupos: ausente, leves, moderados, abundantes y campo lleno. En la comparación de los porcentajes basales contra 3 y 6 meses (ji cuadrada), estas células disminuyeron con el paso del tiempo en el grupo placebo ( $p=0.011$ ) y en el grupo

de VitD ( $p < 0.001$ ). A los 3 meses en el grupo de vitamina D los eosinófilos se negativizaron en más pacientes comparando con el grupo placebo.

Figura N.- 23. Eosinófilos en citología nasal.

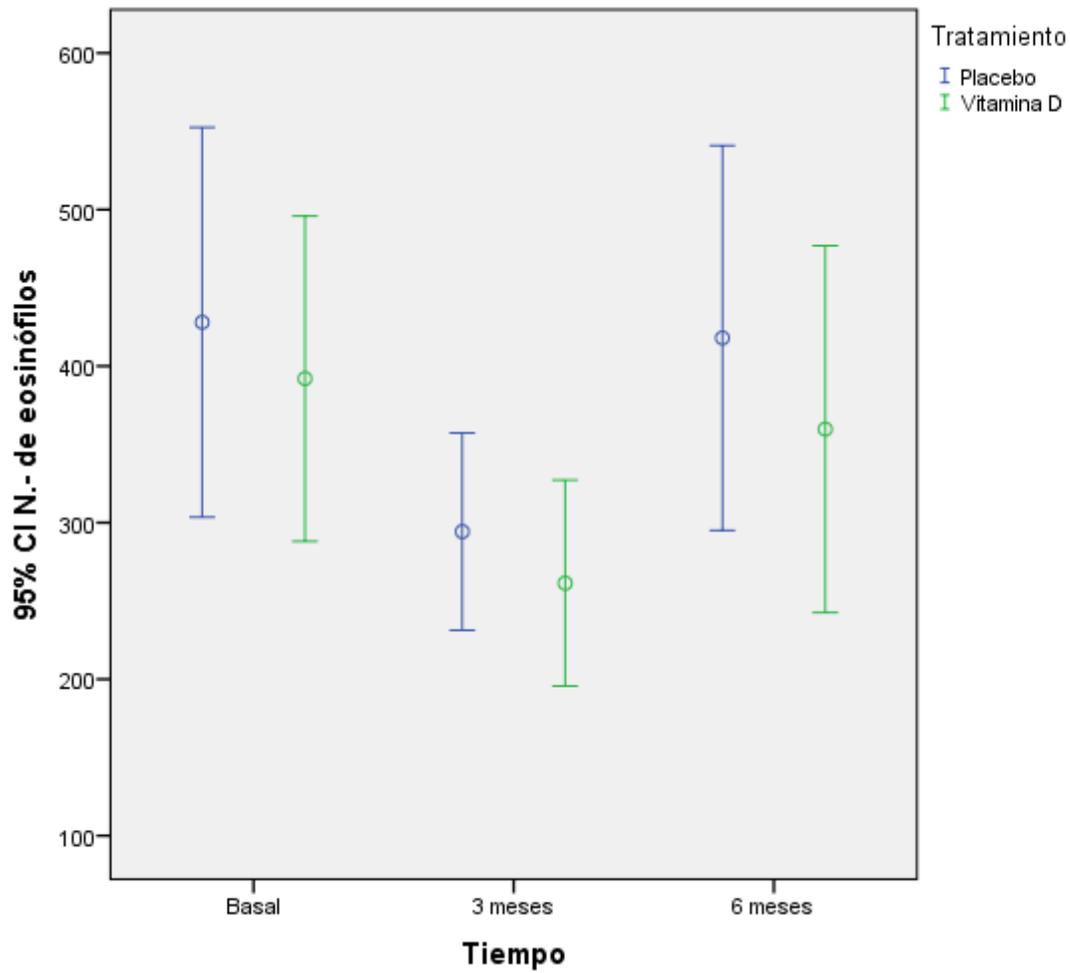




Eosinófilos, basófilos y citología nasal.

En el grupo de VitD disminuyeron los basófilos ( $p=0.018$ ), eosinófilos séricos ( $p=0.038$ ) y nasales ( $p=0.046$ ). En el grupo placebo también disminuyeron los eosinófilos nasales ( $p=0.03$ ) y PMN nasales ( $p=0.05$ ) a los 3 meses.

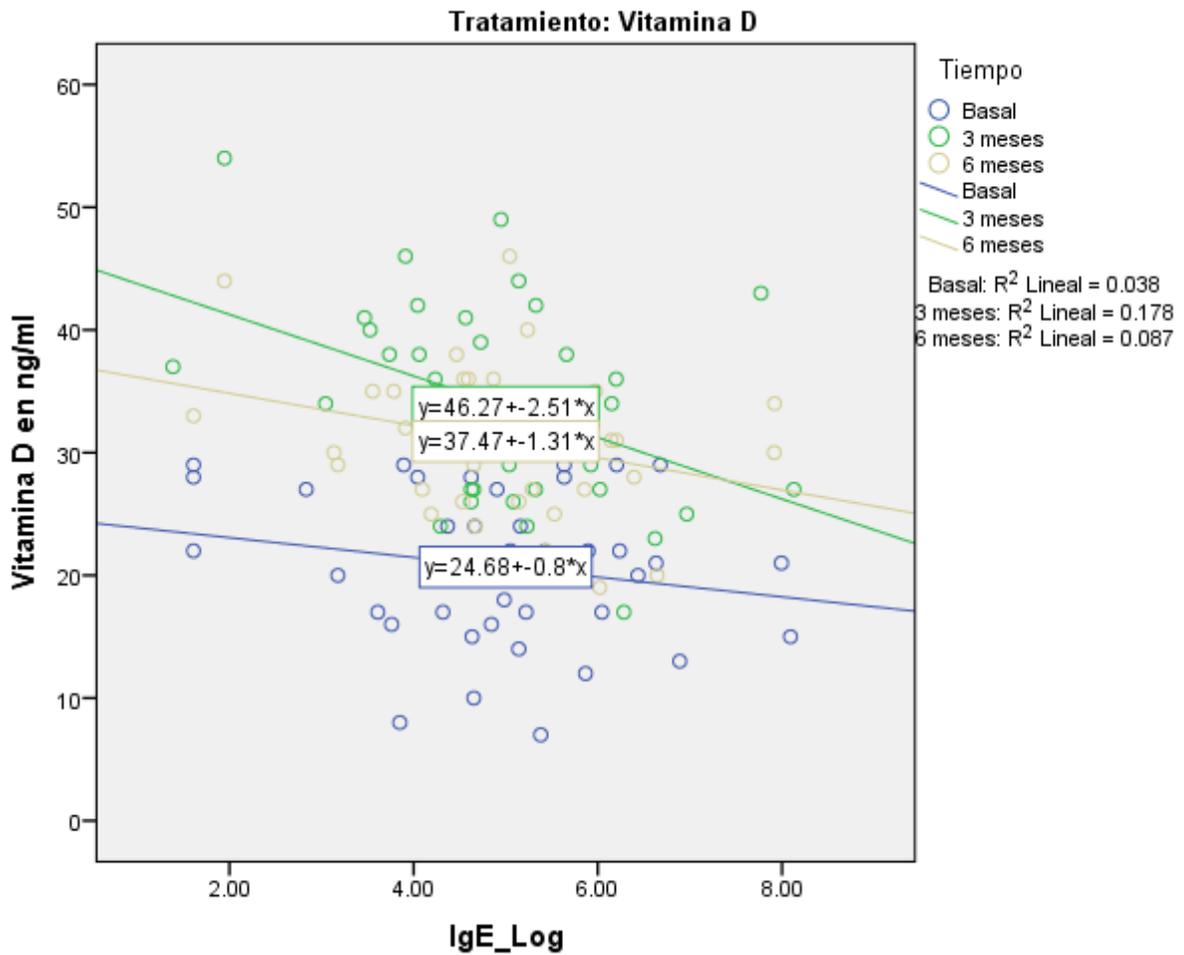
Figura N.- 24. Comportamiento de los eosinófilos totales.



### Correlación entre vitamina D e inmunoglobulina E

Para hacer el análisis de correlación entre VitD e IgE, normalizamos los valores de IgE mediante logaritmo natural. Observamos una correlación negativa ( $p=0.01$ ) con una  $r^2$  de 0.178 en el grupo de VitD a los 3 meses.

Figura N. 25. Correlación negativa entre VitD e IgE.

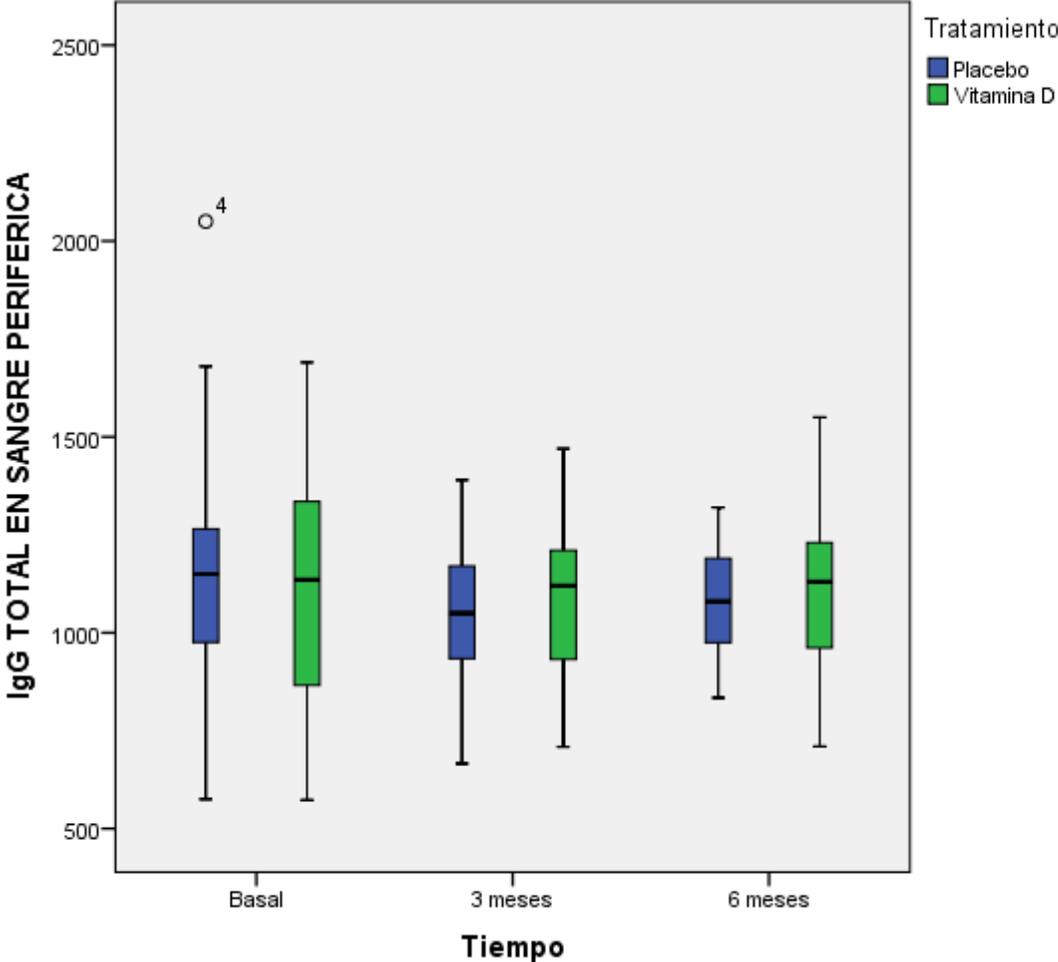


### Inmunoglobulinas

En la figura 26 mostramos el comportamiento de las inmunoglobulinas en el tiempo en los dos grupos.

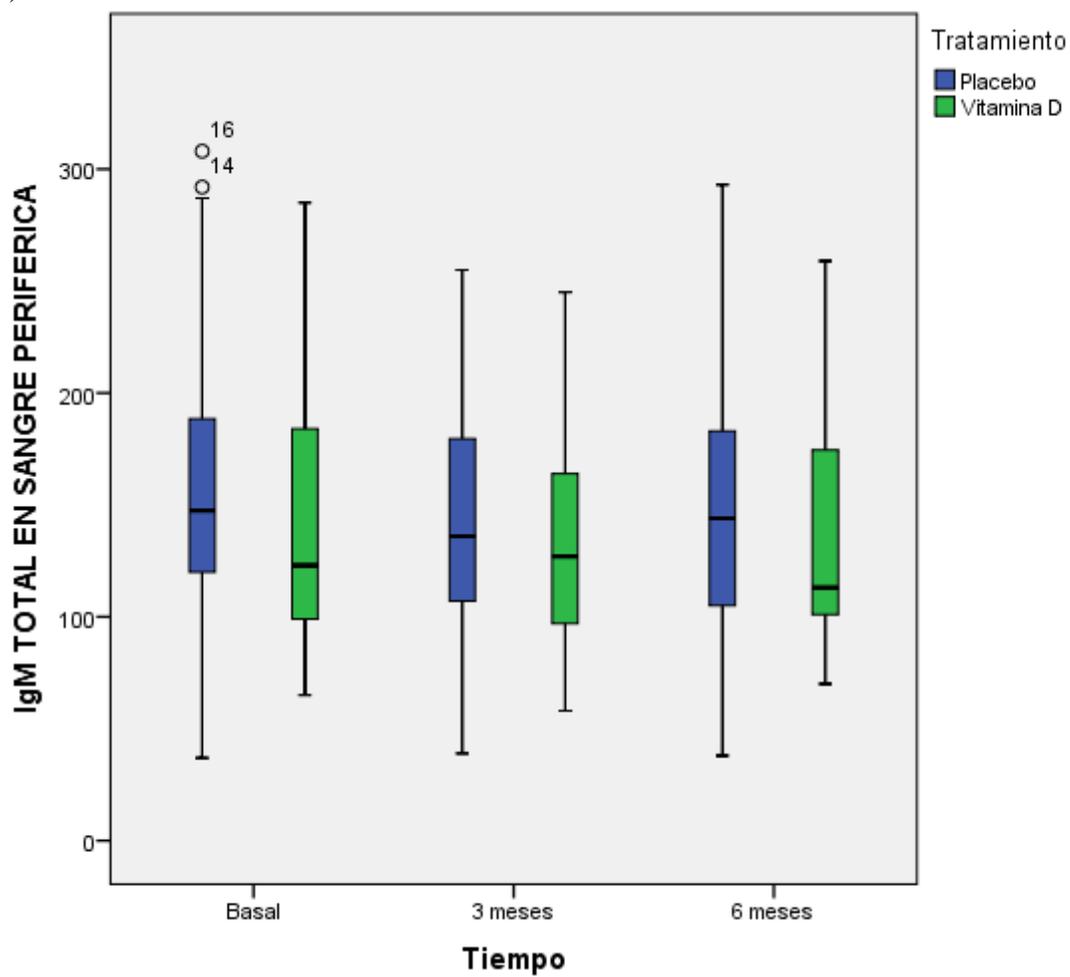
Figura N.- 26. Comportamiento de las inmunoglobulinas. (a) IgG, (b) IgM, (c) IgA.

(a)



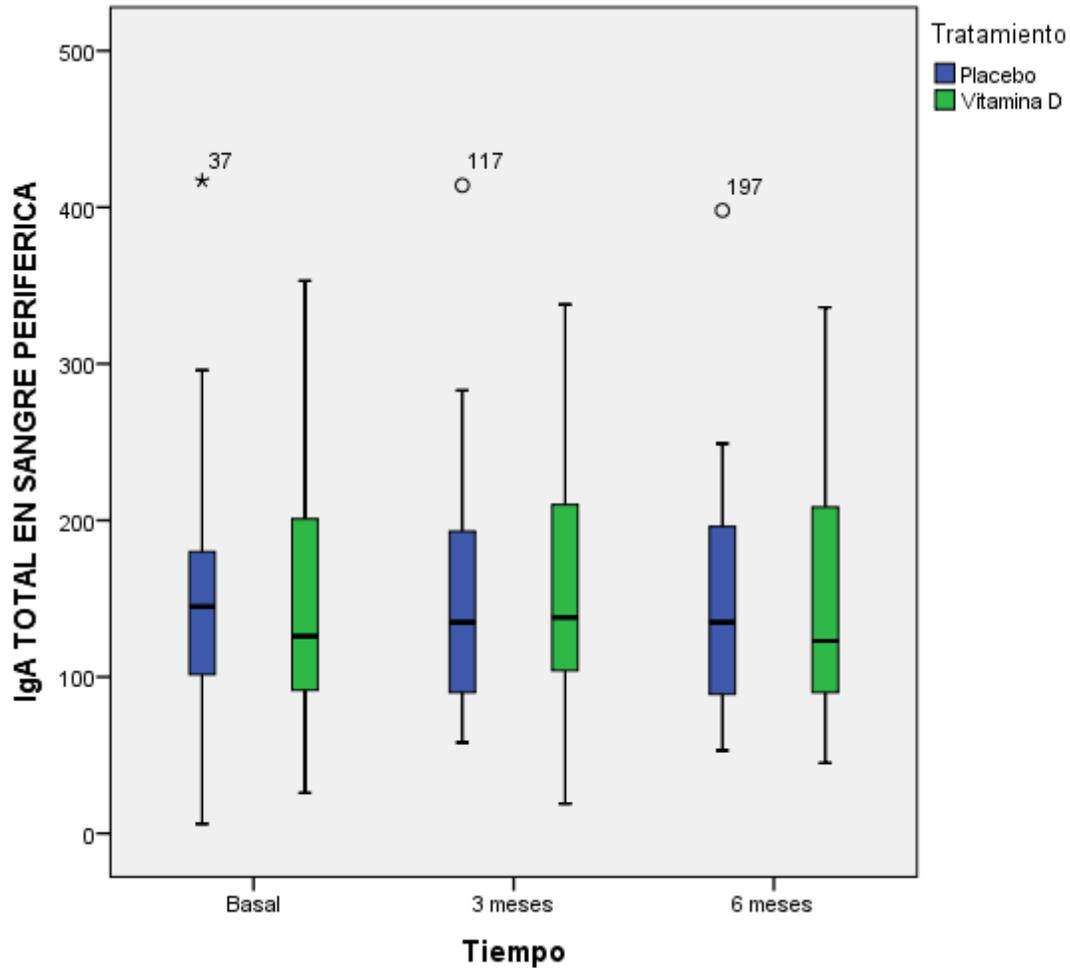
No hay diferencias, se comportan similares los dos grupos, en las tres mediciones.

(b)



No hay diferencias, se comportan similares los dos grupos, en las tres mediciones.

(c)

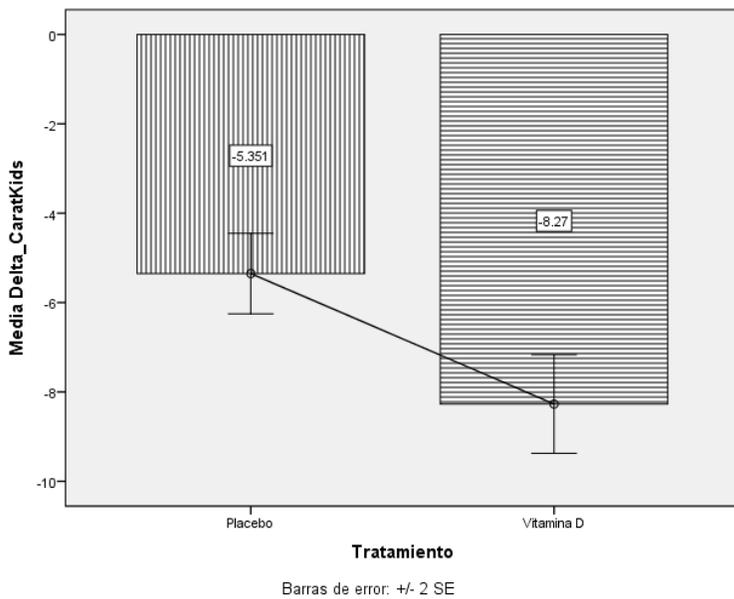


No hay diferencias, se comportan similares los dos grupos, en las tres mediciones.

Deltas de cambios a los 3 meses en los dos grupos

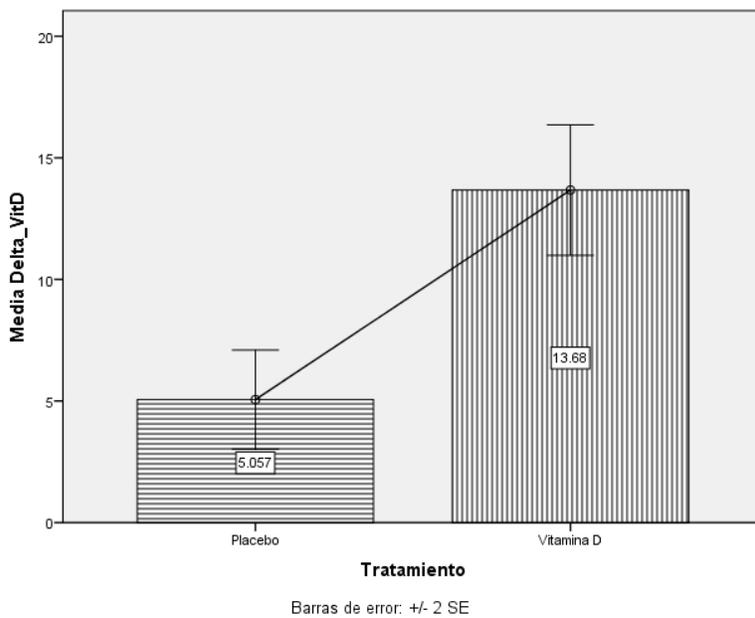
La media de la Delta de cambio de los valores de CaratKids, el grupo de VitD fue de -8.27, mientras que en el grupo placebo fue de -5.3 ( $p < 0.001$ ), figura N.-27.

Figura N.- 27. Delta de cambios en CaratKids.



La media de la Delta de cambio de los niveles de VitD, en el grupo de VitD fue de 13.68, mientras que en el grupo placebo fue de 5.05 ( $p < 0.001$ ). , figura N.-28.

Figura N.- 28. Delta de cambios en niveles de VitD.



## Análisis de datos

### Análisis multivariado de las Deltas de cambio

En las tablas N.-5 y N.- 6 mostramos los resultados del análisis multivariado de las deltas de cambio en CaratKids y VitD.

Tabla N.-5. Delta de cambios en CaratKids. Modelo multivariado ajustado por edad, género, presencia o ausencia de asma y consumo de leche materna.

		Valor de p
Delta de cambios en CaratKids entre valores basales y 3 meses	Asma	0.031
	Edad	0.036
	Género	0.8
	Leche materna	0.8

Tabla N.-6. Delta de cambios en VitD. Modelo multivariado ajustado por edad, género, presencia o ausencia de asma y consumo de leche materna.

		Valor de p
Delta de cambios en Vitamina D entre valores basales y 3 meses	Asma	0.5
	Edad	0.024
	Género	0.9
	Leche materna	0.05

## Discusión

Este estudio de investigación aborda un tema relevante a nivel mundial y también en México, en donde la rinitis alérgica es prevalente y en ocasiones de difícil control, representando un problema de salud pública por la morbilidad que implican en la población pediátrica<sup>3</sup>.

Nuestra línea de investigación es la inmunomodulación con vitamina D en enfermedades alérgicas. Los estudios previos a nivel mundial utilizan como criterio de inclusión pacientes que tengan niveles insuficientes o deficientes de vitamina D. El primer paso para iniciar este estudio fue describir cual es la prevalencia de niños con niveles de vitamina D por debajo de 30 ng/ml. Coincidiendo con la literatura mundial<sup>37</sup>, encontramos que el 70% de los niños alérgicos que acuden a nuestra consulta externa presentan niveles de vitamina D por debajo de 30 ng/ml<sup>79</sup>.

En la población pediátrica en general, la obesidad se ha relacionado con niveles bajos de VitD<sup>96, 97</sup>. Por lo tanto, decidimos controlar esta variable. Incluimos a pacientes con IMC normal para la edad percentilado. Otros factores de riesgo posibles descritos en la literatura son raza negra, vivir en lugares sin sol por muchos meses del año como los países nórdicos, falta de ingesta de alimentos que contengan vitamina D<sup>70</sup>.

Teniendo en cuenta que podemos mejorar el tiempo e intensidad de respuesta de ITESC, intentamos lograrlo mediante inmunomodulación con vitamina D<sup>42</sup>. Otros estudios clínicos con pacientes demostraron que en 3 meses, la administración de

VitD produce efectos terapéuticos benéficos<sup>70,72</sup>. Nosotros mostramos que disminuye el tiempo del inicio de mejoría clínica en niños con rinitis alérgica con la administración de ITESC mas vitamina D.

CARATkids, es el primer cuestionario validado para analizar la respuesta clínica de niños con rinitis alérgica y asma<sup>98</sup>. Las herramientas utilizadas para medir mejoría clínica son las recomendadas para estudios de investigación, las mismas que en nuestro estudio mostraron cambios benéficos a favor del grupo de VitD.

Los valores basales fueron similares en los dos grupos por la aleatorización, lo cual nos permite hacer el análisis inferencial. Para incluir a los pacientes se invitó a participar a más de 100 niños y fueron evaluados los niveles de vitamina D para valorar criterios de inclusión. Utilizamos la clasificación de los endocrinólogos de los Estados Unidos, donde se recomienda que valor normal es más de 30 ng/ml<sup>71</sup>. Sorprendentemente, encontramos que al utilizar esta clasificación el 70% de los niños de la consulta externa presenta valores inferiores al punto de corte utilizado<sup>79</sup>. Nos queda la interrogante si esta clasificación es útil para niños mexicanos. Al no tener otra clasificación validada, utilizamos la americana. Los alérgenos más frecuentes que sensibilizaron a nuestros pacientes fueron: ácaros 41 pacientes (51.3%), prosopis 18 pacientes (22.6), fresno y ligustrum en tercer puesto (cruce antigénico conocido) 17 pacientes (21.3%), schinus y chenopodium en cuarto lugar con 15 pacientes (18.8) y en quinto puesto gato 14 pacientes (17.5%). La media de vitamina D basal en el grupo placebo fue de 21 ng/ml y en el grupo de intervención fue de 20 ng/ml (p=0.384).

En este trabajo encontramos que en niños con rinitis alérgica, al suplementar vitamina D a la inmunoterapia específica subcutánea, la mejoría clínica aumentó a los 3 meses, ya que el grupo de VitD presentó menor valor en el CARATKids que en el grupo placebo. En el análisis multivariado, se corrobora este hallazgo y señala que la VitD mejora el beneficio clínico de la inmunoterapia a los 3 meses, llegando a valores de CARATKids que se alcanzan en el placebo hasta 6 meses.

No encontramos en la literatura un estudio que demuestre la eficacia de VitD como adyuvante a la ITESC en niños con rinitis alérgica en términos de tiempo para acelerar la mejoría clínica. Este es el primer reporte, donde mostramos que la administración de VitD como adyuvante a la ITESC acelera el tiempo de mejoría clínica en pacientes con rinitis alérgica.

En el grupo intervención, a los 3 meses los niveles de VitD cambió como se tenía esperado y la media fue de 34 ng/ml ( $p < 0.001$ ) y a los 6 meses bajó a 31 ng/ml. Sin embargo, llama la atención que en el grupo placebo la media sube de 21 ng/ml a 25 ng/ml ( $p = 0.05$ ) y a los 6 meses 28 ng/ml, no llegan a valores normales, es decir 30 ng/ml; sucedió un comportamiento similar en el estudio VIDA<sup>55</sup> en donde se observa que el 9% de pacientes en el grupo placebo incrementaron sus valores a niveles superiores de 30 ng/ml. Podemos analizar varios supuestos de este incremento en el grupo placebo, como ingesta de suplementos alimenticios con vitamina D, cambio de estilo de alimentos, incremento de exposición a la luz solar, ingesta de suplementos alimenticios que no fueron considerados en las valoraciones clínicas. Cuando hicimos un sub análisis entre los niños con RA y asma y niños con RA sin asma, a los 3 y 6 meses los niveles suficientes de

vitamina D, es decir, más de 30 ng/ml, no fueron diferentes en el grupo de niños con rinitis alérgica y rinitis alérgica más asma. El análisis de los biomarcadores de alergia, es decir, linfocitos, eosinófilos, neutrófilos, e inmunoglobulinas mostró que en los dos grupos a lo largo del tiempo basal, 3 y 6 meses mediante ANOVA no fueron diferentes.

Pensamos que los cambios biológicos tenían que ser in-situ, por lo que analizamos células en la mucosa nasal. La citología nasal (eosinófilos y PMN) la estudiamos como variables categóricas; la primera ausencia de células, la segunda presencia leve de células, tercera presencia adundante de células y cuarta campo lleno. Analizamos con una ji cuadrada y encontramos que los eosinófilos y los PMN disminuyen más temprano en el grupo de VitD ( $p < 0.005$ ).

El comportamiento de las citocinas nos mostró que cuatro se comportan de forma similar. IL-10, IL-17, IL-22 e IFN- $\gamma$ . IL-10 incrementó en el grupo VitD a los 3 meses. Está descrito que la ITESC incrementa IL-10 para la controlar la inflamación alérgica mediante tolerancia inmunológica. Entonces esperamos que se incremente en los dos grupos. Al incrementar IL-10 a los 3 meses en el grupo de VitD, proponemos que vitamina D incrementa la respuesta inmune tolerogénica mediada por IL-10, lo cual coincide con otros autores que han reportado que IL-10 se asocia con tolerancia inmunológica e incremento de respuesta celular mediado por T reg<sup>80</sup>. Sin embargo también conocemos que IL-10 es producida por varias sub clases celulares además de T reg como TH1, TH2, TH17, NK, CD8+, células B reguladoras, células dendríticas, macrófagos, mastocitos, eosinófilos y neutrófilos. Entonces parece ser que VitD es uno de los estímulos celulares para

la producción de IL-10 en niños con rinitis alérgica que reciben ITESC. Es posible que la vitamina D como adyuvante a la ITECS presente un efecto en la diferenciación, respuesta inmune tolerogénica y homeostasis como se discute en otros artículos<sup>65</sup>. También es esperado que disminuyan los valores por activación del “feedback” de regulación de esta citocina. A los 6 meses encontramos esta diferencia, dejamos abierta la probabilidad de que en los siguientes meses ocurra este fenómeno biológico<sup>80</sup>. IL-2 incrementó a los 3 meses en el grupo de VitD. Conocemos que IL-2 es crucial para mantener T reguladoras, diferenciación de células CD4+ hacia subclases de células T efectoras como resultado de un estímulo antigénico, en nuestro caso, los antígenos de la ITESC<sup>81</sup>. IL-17A induce citocinas y quimiocinas, recluta y activa neutrófilos<sup>85</sup>. Tiene efectos antiparasitarios, como parte de la respuesta inmune tipo 2<sup>86</sup>. Estos datos son consistentes con la propuesta de que IL-17 facilita la respuesta de tipo 2 en otras patologías como alergias<sup>87</sup>. La capacidad de IL-17 en inflamación de tipo 2 se ha convertido recientemente en un centro de atención para investigación de alergias<sup>88</sup>, aunque todavía falta muchos mecanismos por explicar ya que es una relación muy compleja. Se ha visto que algunas citocinas de los linfocitos Th2 suprimen IL-17A en el pulmón<sup>89</sup>. Nuestros resultados muestran que los niveles de IL-17A incrementan en el grupo de VitD a los 3 meses y luego disminuyen a los 6 meses, sucede lo mismo en el grupo placebo donde disminuyen a los 6 meses. En este estudio, los niveles de IL-13 incrementaron a los 3 meses en el grupo placebo, y no en el grupo de VitD, lo que concuerda con otros estudios<sup>90</sup> que han reportado que después de exponer células CD4+ hacia alérgenos, los niveles de IL-13 incrementan y al adicionar VitD, disminuye la producción de IL-13.

Observamos que IL-21 incrementa en los dos grupos. En el grupo placebo incrementa a los 3 y 6 meses. Sin embargo en el grupo de VitD no incrementan los valores a los 3 meses. Sospechamos que VitD retrasa este incremento, porque en otro estudio<sup>91</sup> se demostró que la deficiencia de vitamina D favorece la producción de células B productoras de IL-21; y en condiciones de suficiencia de vitamina D se facilita la diferenciación hacia células T y B reguladoras no productoras de IL-21. Los efectos de VitD en células productoras de IL-4, especialmente Th2 es controversial. Existen estudios que sugieren que VitD inhibe IL-4, así como hay otros que muestran incremento de esta citocina<sup>92, 93, 94,95</sup>. En nuestro estudio incrementaron los valores de IL-4 en los dos grupos a los 3 y 6 meses.

Se conoce que después de su activación, las células T-helper 1 (Th1) producen interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) e IL-2, pero no IL-4 ni IL-5<sup>65</sup>. Nosotros encontramos que a los 3 meses incrementa IFN- $\gamma$  en el grupo de VitD, pero a los 6 meses disminuye en los dos grupos.

IgA se considera que es un isotipo de anticuerpo anti inflamatorio. En los humanos puede tener a través de IgA Fc $\alpha$ RI un efecto doble y puede actuar en activación o Inhibición celular en mastocitos<sup>82</sup>. Los eosinófilos humanos también pueden ser activados por IgA<sup>83</sup> y el nivel de IgA específica de alérgeno se correlaciona con la proteína catiónica de eosinófilos en pacientes alérgicos sometidos al alérgeno<sup>84</sup>. Nuestros resultados revelaron que no se modificaron los niveles de IgA. Taher et al.<sup>84</sup> detectó un aumento de IgA en el suero de ratones tratados con alérgeno combinado con VD3 en comparación con placebo.

## Conclusión

Los niños/as con RA que recibieron 1600 UI de vitamina D como adyuvante a la ITESC mejoraron sus síntomas clínicos en menos tiempo (3 meses) comparado con los niños/as que recibieron ITESC mas placebo. Las variables clínicas y los biomarcadores fueron similares a los 6 meses. La mejoría clínica de los pacientes correlacionó con el incremento de IL-10, IL-17A, IFN- $\gamma$ , basófilos y eosinófilos, juegan un rol en la modulación inmunológica y clínica más temprana cuando se administra vitamina D los 3 primeros meses como adyuvante a ITESC.

Proponemos que cuando se inicie ITESC en niños con rinitis alérgica se administre como adyuvante 1600 UI de vitamina D los 3 primeros meses.

## Referencias

1. Dykewicz, M.S. Management of rhinitis: guidelines, evidence basis and systematic clinical approach for what we do. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2011;31:619-634.
2. Johansson SG, Bieber T, Dahl R, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113(5):832–6.
3. Meltzer, E.O., Gross, G.N., Katial, R., Storms, W.W. Allergic rhinitis substantially impacts patient quality of life: findings from the Nasal Allergy Survey Assessing Limitations. *J Fam Pract.* 2012;61:S5–S10.
4. Bousquet, J., Schunemann, H.J., Samolinski, M.D., Demoly, P., Baena-Cagnani, C.E., Bachert, C. et al, Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma (ARIA): achievements in 10 years and future needs. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;130:1049–1062.
5. Strachan D, Sibbald B, Weiland S, et al. Worldwide variations in prevalence of symptoms of allergic rhino-conjunctivitis in children: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Pediatr Allergy Immunol* 1997;8(4):161–76.
6. Rachelefsky G y Farrar JR. A Control Model to Evaluate Pharmacotherapy for Allergic Rhinitis in Children. *JAMA Pediatr.* 2013 Apr;167(4):380-6.

7. Mancilla-Hernández E, Medina-Ávalos MA, Barnica-Alvarado RH, Soto-Candia D y col. Prevalencia de rinitis alérgica en poblaciones de varios estados de México. *Revista Alergia México* 2015; 62:196-201.
8. Coombs RRA, Gell PGH. Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease (eds Gell PGH, Coombs RRA, LPJ. *Clinical Aspects of Immunology*. 3rd edn. Blackwell Scientific Publications: Oxford. 1975, pp 761–781.
9. Barnes PJ. Pathophysiology of allergic inflammation. *Immunol Rev.* 2011; 242:31–50.
10. Valent P. Mast cell activation syndromes: definition and classification. *Allergy* 2013; 68: 417–424.
11. Szebeni J. Complement activation-related pseudoallergy: a new class of drug induced acute immune toxicity. *Toxicology* 2005; 216: 106–121.
12. Holgate, S.T. Innate and adaptive immune responses in asthma. *Nat. Med.* 2012. 18, 673–683
13. Salo PM, Calatroni A, Gergen PJ, et al. Allergy-related outcomes in relation to serum IgE: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 127:1226–35
14. Hopper JL, Bui QM, Erbas B, et al. Does eczema in infancy cause hay fever, asthma, or both in childhood? Insights from a novel regression model of sibling data. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 130:1117–22
15. Sin B, Togias A. Pathophysiology of allergic and nonallergic rhinitis. *Proc Am Thorac Soc.* 2011; 8:106–14

16. Wenzel, S. E. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nature Med.* 2012. 18, 716–725
17. Allen, J. E. & Sutherland, T. E. Host protective roles of type 2 immunity: parasite killing and tissue repair, flip sides of the same coin. *Semin. Immunol.* 2014. 26, 329–340.
18. Lawren C. W y Ali A. Zarrin. The production and regulation of IgE by the immune system. *Nature Reviews Immunology.* 2014.14, 247–259
19. Murakami, M. et al. Recent progress in phospholipase A2 research: From cells to animals to humans. *Prog. Lipid Res.* 50, 152–192 2011.
20. Galli, S.J. & Tsai, M. IgE and mast cells in allergic disease. *Nat. Med.* 2012. 18, 693–704.
21. Besnard, A. G. et al. Dual role of IL-22 in allergic airway inflammation and its cross-talk with IL-17A. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011. 183, 1153–1163
22. Schmidt-Weber CB. Th17 and treg cells innovate the TH1/TH2 concept and allergy research. *Chem Immunol Allergy* 2008; 94:1-7.
23. Ohnmacht, C. et al. The microbiota regulates type 2 immunity through ROR $\gamma$ <sup>+</sup> T cells. *Science.* 2015. 349, 989–993.
24. Albano GD, Di Sano C, Bonanno A, Riccobono L, Gagliardo R, Chanez P, et al. Th17 immunity in children with allergic asthma and rhinitis: a pharmacological approach. *PLoS ONE* 2013; 8(4):e58892.
25. Huang X, Chen Y, Zhang F, Yang Q, Zhang G. Peripheral Th17/Treg cell-mediated immunity imbalance in allergic rhinitis patients. *Braz J Otorhinolaryngol* 2014; 80(2):152-5.

26. Mubeccel Akdis, Alar Aab, Can Altunbulakli, et al. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor b, and TNF-a: Receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138:984-1010
27. Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens WJ, Togias A, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy* 2008; 63(suppl 86):8-160.
28. Lisa M. Wheatley, M.D., M.P.H., and Alkis Togias, M.D. Allergic Rhinitis. *N Engl J Med* 2015; 372:456-463
29. Shahnaz Fatteh, Donna J Rekkerth. Skin prick/puncture testing in North America: a call for standards and consistency. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2014; 10(1): 44.
30. Wallace D, Mark Dykewicz, et al. The diagnosis and management of rhinitis: An updated practice parameter. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122:S1-84.
31. Seidman MD, Gurgel RK, Lin SY. Clinical practice guideline: Allergic rhinitis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2015 Feb; 152(1 Suppl):S1-43
32. Jutel Agache, Bonini S, Burks AW, et al. International Consensus On (ICON) Allergy Immunotherapy (AIT). *J Allergy Clin Immunol.* 2015 Sep;136(3): 556-68.
33. Wesley Burks, Moises Calderon, Thomas Casale. Update on allergy immunotherapy: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology/European Academy of Allergy and Clinical Immunology/PRACTALL consensus Report. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 131:1288-96.

34. Ring J, Gutermuth J. 100 years of hyposensitization: history of allergen-specific immunotherapy (ASIT). *Allergy* 2011; 66: 713–724.
35. Mark Larché, Cezmi A. Akdis, Rudolf Valenta. Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*. 2006. 6, 761-771.
36. Passalacqua G1, Baiardini I, Senna G, Canonica GW. Adherence to pharmacological treatment and specific immunotherapy in allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy*. 2013 Jan;43(1):22-8.
37. Hooman Mirzakhani, Amal Al-Garawi, Scott T. Weiss. Vitamin D and the development of allergic disease: how important is it? *Clin Exp Allergy*. 2015 January ; 45(1): 114–125
38. Y. Arnson, H. Amital, Y. Shoenfeld. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations *Ann Rheum Dis.*, 66 2007, pp. 1137-1142
39. Y. Schoindre, B. Terrier, J.E. Kahn, D. Saadoun, J.C. Souberbielle, O. Benveniste. Vitamin D and autoimmunity. Second part: Clinical aspects *Rev Med Interne.*, 33 2012, pp. 87-93
40. S. Bozzetto, S. Carraro, G. Giordano, A. Boner, E. Baraldi. Asthma, allergy and respiratory infections: the vitamin D hypothesis, *Allergy* 67 (1) 2012 10
41. H. Korf, M. Wenes, B. Stijlemans, T. Takiishi, S. Robert, M. Miani. 1,25 Dihydroxyvitamin D3 curtails the inflammatory and T cell stimulatory capacity of macrophages through an IL-10-dependent mechanism *Immunobiology.*, 217 2012, pp. 1292-1300

42. F. Baeke, T. Takiishi, H. Korf, C. Gysemans, C. Mathieu Vitamin D: modulator of the immune system *Curr Opin Pharmacol.*, 10 2010, pp. 482-496
43. B. Prietl, G. Treiber, T.R. Pieber, K. Amrein Vitamin D and immune function *Nutrients.*, 5 2013, pp. 2502-2521
44. A. Antico, M. Tampoia, R. Tozzoli, N. Bizzaro Can supplementation with vitamin D reduce the risk or modify the course of autoimmune diseases?. A systematic review of the literature *Autoimmun Rev.*, 12 2012, pp. 127-136
45. M. Barragan, M. Good, J.K. Kolls Regulation of Dendritic Cell Function by Vitamin D *Nutrients.*, 7 2015, pp. 8127-8151
46. S. Chen, G.P. Sims, X.X. Chen, Y.Y. Gu, S. Chen, P.E. Lipsky Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation *J Immunol.*, 179 2007, pp. 1634-1647
47. L1 Handunnetthi, S.V. Ramagopalan, G.C. Ebers Multiple sclerosis, vitamin D, and HLA-DRB1\*15 *Neurology.*, 74 2010, pp. 1905-1910
48. T.K. Wobke, B.L. Sorg, D. Steinhilber Vitamin D in inflammatory diseases *Front Physiol.*, 5 2014, pp. 244
49. E.M. Colin, P.S. Asmawidjaja, J.P. van Hamburg, A.M. Mus, M. van Driel, J.M. Hazes 1,25-dihydroxyvitamin D3 modulates Th17 polarization and interleukin-22 expression by memory T cells from patients with early rheumatoid arthritis *Arthritis Rheum.*, 62 2010, pp. 132-142S.
50. Gorman, M.A. Judge, P.H. Hart Gene regulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3 in CD4+CD25+ cells is enabled by IL-2 *J Invest Dermatol.*, 130 2010, pp. 2368-2376

51. E. Toubi, Y. Shoenfeld The role of vitamin D in regulating immune responses  
Isr Med Assoc J., 12 2010, pp. 174-175
52. C.F. Pelajo, J.M. Lopez-Benitez, L.C. Miller Vitamin D and autoimmune  
rheumatologic disorders Autoimmun Rev., 9 (2010), pp. 507-510
53. Wu AC, Tantisira K, Li L, et al. Effect of vitamin D and inhaled corticosteroid  
treatment on lung function in children. Am J Respir Crit Care Med.  
2012;186(6):508-513
54. Sutherland ER, Goleva E, Jackson LP, Stevens AD, Leung DY. Vitamin D  
levels, lung function, and steroid response in adult asthma. Am J Respir Crit  
Care Med. 2010;181(7):699-704
55. Castro, M., King, T.S., Kunselman, S.J., Cabana, M.D., Denlinger, L.,  
Holguin, F. et al, Effect of vitamin D3 on asthma treatment failures in adults  
with symptomatic asthma and lower vitamin D levels: the VIDA randomized  
clinical trial. JAMA. 2014;311:2083–2091.
56. E. Mekov, Y. Slavova, A. Tsakova, M. Genova, D. Kostadinov, D. Minchev,  
et al, Vitamin D deficiency and insufficiency in hospitalized COPD patients,  
PLoS ONE 10 (6) 2015
57. von Essen MR, Kongsbak M, Schjerling P, Olgaard K, Odum N, Geisler C  
Vitamin D controls T cell antigen receptor signaling and activation of human  
T cells. Nat Immunol 2011, 11: 344-349
58. Weeres MA, Robien K, Ahn YO, Neulen ML, Bergerson R, Miller JS,  
Vemeris MR. The effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on in vitro human NK  
cell development from hematopoietic stem cells. J Immunol 2014. 193:  
3456-3462.

59. Martineau AR, Timms PM, Bothamley GH, Hanifa Y, Islam K, Claxton AP, Packe GE, Moore-Gillon JC, Darmalingam M, Davidson RN, Milburn HJ, Baker LV, Barker RD, Woodward NJ, Venton TR, Barnes KE, Mullett CJ, Coussens AK, Rutterford CM, Mein CA, Davies GR, Wilkinson RJ, Nikolayevskyy V, Drobniewski FA, Eldridge SM, Griffiths CJ. High-dose vitamin D(3) during intensive-phase antimicrobial treatment of pulmonary tuberculosis: a double-blind randomised controlled trial. *Lancet* 377: 242
60. Presenta el INSP resultados de estudio sobre deficiencia de vitamina D en México. Boletín de prensa del INSP. Disponible en <http://www.insp.mx/noticias/boletines-de-prensa/2067-presenta-el-insp-resultados-de-estudio-sobre-deficiencia-de-vitamina-d.html>
61. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
62. Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc* 2006;81(3):353-373.
63. Oláiz G, Rivera J, Shamah T, Rojas R, Villalpando S, Hernández-Ávila M, Sepúlveda J. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2006.
64. Elizondo-Montemayor L, Ugalde-Casas PA, Serrano-González M, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentration, life factors and obesity in Mexican children. *Obesity* 2010;18:1805-1811.
65. Baris S, Kiykim A, Ozen A, Tulunay A, Karakoc-Aydiner E, Barlan IB. Vitamin D as an adjunct to subcutaneous allergen immunotherapy in asthmatic children sensitized to house dust mite. *Allergy* 2014; 69: 246–253

66. Toniato, E. et al. Immunomodulatory effects of vitamin D on skin inflammation. *J Biol Regul Homeost Agents* 2015 29, 563–567
67. Ota, K. et al. 1,25-Dihydroxy-vitamin D3 regulates NK-cell cytotoxicity, cytokine secretion, and degranulation in women with recurrent pregnancy losses. *Eur J Immunol* 2015 45, 3188–3199
68. Taher YA, van Esch BC, Hofman GA, Henricks PA, van Oosterhout AJ. 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 potentiates the beneficial effects of allergen immunotherapy in a mouse model of allergic asthma: role for IL-10 and TGF-beta. *J Immunol* 2008;180:5211–5221
69. Jeffery, L. E. et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and IL-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T cells expressing CTLA-4 and FoxP3. *Journal of immunology* 2009 183, 5458–5467
70. Paola Di Filippo, Alessandra Scaparrotta, Daniele Rapino, et al. Vitamin D Supplementation Modulates the Immune System and Improves Atopic Dermatitis in Children. *Int Arch Allergy Immunol* 2015;166:91–96
71. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(7):1911–30
72. Gallo S, Comeau K, Vanstone C, Agellon S, Sharma A, Jones G, L'Abbé M, Khamessan A, Rodd C, Weiler H. Effect of different dosages of oral vitamin D supplementation on vitamin D status in healthy, breastfed infants: a randomized trial. *JAMA.* 2013 May 1;309(17):1785-92

73. Del Río-Navarro BE, Ito-Tsuchiya FM, Zepeda-Ortega B. Rinitis, sinusitis y alergia. *Rev Alerg Mex* 2009;56(6):204-16
74. Senna, Gianenrico; Ridolo, Erminia; Calderon, Moises; Lombardi, Carlo; Canonica, Giorgio W; Passalacqua, Giovanni. Evidence of adherence to allergen-specific immunotherapy. *Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology*. December 2009 - Volume 9 - Issue 6 - p 544–548
75. Martineau AR, MacLaughlin BD, Hooper RL, Barnes NC, Jolliffe DA, Greiller CL, Kilpin K, McLaughlin D, Fletcher G, Mein CA, et al. Double-blind randomised placebo-controlled trial of bolus-dose vitamin D3 supplementation in adults with asthma (ViDiAs). *Thorax* 2015;70:451–457
76. Committee for medicinal products for human use (chmp) Guideline on Adjuvants in Vaccines for Human Use" (PDF). The European Medicines Agency. Retrieved 8 May 2013.
77. Elias Mir, Chandramani Panjabi, Ashok Shah. Impact of allergic rhinitis in school going children. *Asia Pac Allergy* 2012;2:93-100
78. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG, Canonica GW, Carlsen KH, Cox L, Haahtela T, Lodrup Carlsen KC, Price D, Samolinski B, Simons FER, Wickman M, Annesi-Maesano I, Baena-Cagnani CE, Bergmann KC, Bindslev-Jensen C, Casale TB, Chiriac A, Cruz AA, Dubakiene R, Durham SR, Fokkens WJ, Gerth-van-Wijk R, Kalayci O, Kowalski ML, Mari A, Mullol J, Nazamova-Baranova L, O'Hehir RE, Ohta K, Panzner P, Passalacqua G, Ring J, Rogala B, Romano A, Ryan D, Schmid-Grendelmeier P, Todo-Bom A, Valenta R, Woehrl S, Yusuf

- OM, Zuberbier T, Demoly P. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy* 2012; 67: 18–24.
79. Fernandez de Cordova-Aguirre J. et al. Relationship between serum 25-hydroxyvitamin D3 levels and allergic diseases in children of Mexico. *Allergy* 2016; 71, supplement 102, AB 1407.
80. Margarida Saraiva, Anne O'Garra. The regulation of IL-10 production by immune cells *Nature Rev. Immunol.* 2010. 10, 170.
81. Onur Boyman, Jonathan Sprent. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nature Reviews Immunology.* 2012. 12, 180-190.
82. Pasquier B, Launay P, Kanamaru Y, Moura IC, Pfirsch S, Ruffie C, Henin D, Benhamou M, Pretolani M, Blank U, Monteiro RC: Identification of Fc $\alpha$ RI as an inhibitory receptor that controls inflammation: dual role of FcR $\gamma$  ITAM. *Immunity* 2005;22:31–42
83. Tomassini M, Tsicopoulos A, Tai PC, Gruart V, Tonnel AB, Prin L, Capron A, Capron M: Release of granule proteins by eosinophils from allergic and nonallergic patients with eosinophilia on immunoglobulin-dependent activation. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:365–375
84. Taher YA, van Esch BC, Hofman GA, Henricks PA, van Oosterhout A: J, 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 potentiates the beneficial effects of allergen immunotherapy in a mouse model of allergic asthma: role for IL-10 and TGF- $\beta$ . *J Immunol* 2008;180:5211–5221.

- 85.S. Joshi, L.-C. Pantalena, X.K. Liu, S.L. Gaffen, H. Liu, C. Rohowsky Kochan, et al., 1, 25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> ameliorates Th17 autoimmunity via transcriptional modulation of interleukin-17A, *Mol. Cell. Biol.* 2011. 31. 3653–3669.
- 86.S. Zhu, Y. Qian, IL-17/IL-17 receptor system in autoimmune disease: mechanisms and therapeutic potential, *Clin. Sci.* 122 2012 487–511.
- 87.Singh, B., Schwartz, J.A., Sandrock, C., Bellemore, S.M., Nikoopour, E., 2013. Modulation of autoimmune diseases by interleukin (IL)-17 producing regulatory T helper (Th17) cells. *Indian J. Med. Res.* 138, 591–594.
- 88.Smolders, J., Muris, A.H., Damoiseaux, J., 2016. Immunomodulation by vitamin D in multiple sclerosis: more than IL-17. *J. Neuroimmunol.* 292, 79
- 89.Hamzaoui, A., Berraïes, A., Hamdi, B., Kaabachi, W., Ammar, J., Hamzaoui, K. Vitamin D reduces the differentiation and expansion of Th17 cells in young asthmatic children *Immunobiology* 2014. 219, 873–879.
- 90.Hui Zhong, Xiao-Jian Zhou, and Jian-Guo Hong. The Effects of Vitamin D on Allergen-Induced Expression of Interleukin-13 and Interleukin-17 in Cord Blood CD4<sup>+</sup>T Cells. *Iran J Allergy Asthma Immunol* April 2014; 13(2):93-97.
- 91.Louisa E. Jeffery, Karim Raza, Martin Hewison. Vitamin D in rheumatoid arthritis—towards clinical application. *Nature Reviews Rheumatology.* 2016. 12, 201–210
- 92.Boonstra A., Barrat F.J., Crain C., Heath V.L., Savelkoul H.F., O’Garra A. 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin d<sub>3</sub> has a direct effect on naive cd4(+) t cells to enhance the development of th2 cells. *J. Immunol.* 2001;167:4974–4980.

93. Mahon B.D., Wittke A., Weaver V., Cantorna M.T. The targets of vitamin d depend on the differentiation and activation status of cd4 positive t cells. *J. Cell. Biochem.* 2003;89:922–932.
94. Pichler J., Gerstmayr M., Szepfalusi Z., Urbanek R., Peterlik M., Willheim M. 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> inhibits not only th1 but also th2 differentiation in human cord blood t cells. *Pediatr. Res.* 2002;52:12–18
95. Staeva-Vieira T.P., Freedman L.P. 1,25-dihydroxyvitamin d<sub>3</sub> inhibits ifn- $\gamma$  and il-4 levels during in vitro polarization of primary murine cd4+ t cells. *J. Immunol.* 2002;168:1181–1189.
96. Saintonge S, Band H, Gerber LM. Implications of a new definition of vitamin D deficiency in a multiracial US adolescent population: The National health and nutrition examination survey III. *Pediatrics.* 2009;123:797–803
97. Reis JP, von Muhlen D, Miller ER, III, Michos ED, Appel LJ. Vitamin D status and cardiometabolic risk factors in the United States adolescent population. *Pediatrics.* 2009:124
98. Borrego L, Almeida J. Development process and cognitive testing of CARATkids - Control of Allergic Rhinitis and Asthma Test for children. *BMC Pediatrics* 2014. 14:34

# ANEXOS

## Anexo N.- 1. Cuestionario CaratKids



Debido a las alergias ha presentado:

1. Nariz tapada SI  NO

2. Estornudos SI  NO

3. Comezón de la nariz SI  NO

4. Rinorrea hialina SI  NO

5. Molestias en la garganta SI  NO

6. Comezón y congestión en los ojos SI  NO

7. Falta de aire SI  NO

8. Dolor u opresión del pecho SI  NO

9. Tos SI  NO

10.- Malestar, tos, falta de aire, cuando hace ejercicio SI  NO



Debido a las alergias tiene:

11.- Debido a las alergias tiene limitación, cansancio o dificultad para hacer actividades diarias SI  NO

12.- Se despierta por las noches por sus alergias SI  NO

13.- Tiene síntomas de alergias al amanecer cuando te levantas SI  NO

En las dos últimas semanas:

14.- Has tenido que faltar a clases por tus alergias SI  NO

15.- Necesitaste mas medicinas de lo que usas habitualmente SI  NO

16.- Necesidad de acudir a un médico de urgencia SI  NO

17.- Necesidad de hospitalización de urgencias por las alergias SI  NO

## Anexo N.- 2. Hojas y cartas de consentimientos y asentimientos.

### HOJA DE ASENTIMIENTO PARA NIÑOS DE 3 A 12 AÑOS

Título del protocolo: "Vitamina D como adyuvante a la inmunoterapia específica subcutánea en pacientes con rinitis alérgica"

Investigador principal: Dr. Guillermo Velázquez Sámano

Sede donde se realizará el estudio: Hospital General de México, O.D. Servicio de Alergia e Inmunología Clínica y Unidad de Medicina Experimental HIPAM

El proyecto de investigación corresponde a: Investigación con riesgo mayor al mínimo

Nombre del Paciente: \_\_\_\_\_

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica y biomédica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como asentimiento. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que ponga su huella digital en esta forma de asentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

#### 1. Justificación y objetivos del estudio

La rinitis alérgica es una enfermedad en la que se inflama la mucosa de la nariz por lo tanto el tratamiento que los médicos recomendamos en general son medicinas antiinflamatorias, antialérgicos (o también llamados antihistamínicos) y vacunas (o también llamada inmunoterapia). Esto tiene que mantener a los enfermos sin síntomas y tener una vida normal. Sin embargo algunos enfermos continúan con problemas de su salud en los primeros meses, mejoran poco o no mejoran. Entonces nos gustaría averiguar si las vacunas funcionan más rápido y mejor tomando una medicina llamada vitamina D (colecalfiferol vitamina D3) 1 tableta de 1600 UI al día. Cuando administramos este medicamento a esta dosis baja es muy seguro y no se ha visto ningún efecto secundario en otros estudios, entonces pensamos que tampoco en este estudio se presentarán efectos secundarios. Es importante mencionar que tiene toda la libertad para retirarse del estudio cuando usted guste. Las alternativas de este tratamiento son que pueden tomar la medicina o una tableta sin el medicamento. Le invitamos a participar en este estudio de investigación que tiene como objetivo determinar la eficacia de una medicina llamada vitamina D (colecalfiferol vitamina D3) 1 tableta de 1600 UI al día para mejorar el tiempo de acción de las vacunas de alergias en niños y niñas con rinitis alérgica.

#### 2. Procedimientos

En caso de que acepte participar en el estudio, se le realizarán algunas preguntas sobre sus hábitos y sus antecedentes médicos, y realizaremos las pruebas que convencionalmente se utilizan para determinar su diagnóstico de rinitis alérgica.

Se llenará una entrevista sobre el control de la enfermedad. Se obtendrá una muestra de sangre del brazo 5 ml en un tubo para medir algunas células y moléculas que se incrementan en su enfermedad. Se analizará también unas moléculas llamadas ARN mensajero. Se realizaran pruebas de alergia en la piel. Estos procedimientos los realizaremos en 3 ocasiones la primera vez en la primera cita la segunda vez a los 3 meses y la última vez a los 6 meses. Una vez que se realice la historia clínica en la primera cita se le colocará en uno de dos grupos posibles; el primer grupo recibirá las tabletas con el medicamento que será gratuito y el segundo grupo recibirá tabletas iguales pero sin medicamento. Esta asignación será por sorteo al azar.

#### 3. Riesgos esperados

Ninguno

#### 4. Beneficios del estudio

Con este estudio se conocerá de manera más clara si tomando esta medicina llamada vitamina D (colecalfiferol vitamina D3) 1 tableta de 1600 UI al día junto con sus vacunas de alergias mejoran los síntomas de la enfermedad más rápido. Este estudio permitirá que en un futuro otros pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido.

#### 5. Procedimientos alternativos

Tenemos planificado 2 alternativas que los pacientes reciban la medicina llamada vitamina D (colecalfiferol vitamina D3) 1 tableta de 1600 UI al día o que reciban una tableta igual sin medicamento. A todos los participantes se les realizará los procedimientos antes descritos.

#### 6. Garantía de recibir respuestas y aclaraciones

En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo al investigador responsable. Todas sus preguntas e inquietudes serán contestadas en el momento en que usted las solicite. Es importante mencionar que tienen toda la libertad para retirarse del estudio cuando usted guste.

#### 7. Libertad de retirar su asentimiento

Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria y usted puede retirarse del mismo en el momento que lo desee informando las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad y sin que esto afecte su atención subsecuente en este servicio.

#### 8. Privacidad

La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores. Se utilizará un código alfanumérico para identificar las muestras y esta información será accesible únicamente por el equipo de investigación.

#### 9. Información actualizada

El equipo de investigadores se compromete a que en caso de obtener información actualizada con respecto al estudio, ésta se le proporcionará, aunque esta pudiera afectar su voluntad para continuar participando en el mismo.

#### 10. Gastos adicionales

En caso de existir gastos adicionales, estos serán absorbidos por el presupuesto de la investigación.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, poner su huella digital en la Carta de Asentimiento anexa a este documento.

## CARTA DE ASENTIMIENTO PARA NIÑOS Y NIÑAS DE 5 A 13 AÑOS DE EDAD

A mí, \_\_\_\_\_ me han leído, me han explicado y he comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de asentimiento.

\_\_\_\_\_  
Firma o huella digital del participante

\_\_\_\_\_  
Dirección del participante

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Firma del testigo

\_\_\_\_\_  
Relación con el participante

\_\_\_\_\_  
Dirección del testigo

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Firma del testigo

\_\_\_\_\_  
Relación con el participante

\_\_\_\_\_  
Dirección del testigo

\_\_\_\_\_  
Fecha

Investigador: Esta parte debe ser completada por el investigador (o representante):  
He explicado al participante

\_\_\_\_\_  
la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar estudios con seres humanos y me apegó a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuesta, se procedió a firmar el presente documento.

\_\_\_\_\_  
Firma del Investigador

\_\_\_\_\_  
Fecha

En caso de dudas o de requerir información adicional en relación con el proyecto de investigación, usted puede contactar al Dr. Guillermo Velázquez Sámano Jefe de Servicio de Alergia e Inmunología Clínica en el número de teléfono 0445536513913; o bien a la Dra. Estela García Elvira Presidenta de la Comisión de Ética del Hospital General de México al teléfono 2789-2000 extensión 1330.

## HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PADRE Y MADRE Y/O REPRESENTANTE LEGAL DEL PARTICIPANTE

Título del protocolo: "Vitamina D como adyuvante a la inmunoterapia específica subcutánea en pacientes con rinitis alérgica"  
Investigador principal: Dr. Guillermo Velázquez Sámano  
Sede donde se realizará el estudio: Hospital General de México, O.D. Servicio de Alergia e Inmunología Clínica y Unidad de Medicina Experimental HIPAM  
El proyecto de investigación corresponde a: Investigación con riesgo mayor al mínimo  
Nombre del Paciente: \_\_\_\_\_

A ustedes se les está invitando a que su hijo/hija y/o representado legal participe en este estudio de investigación médica y biomédica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea que su hijo/hija o representado participe, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento informado, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

### 1. Justificación y objetivos del estudio

La rinitis alérgica es una enfermedad en la que se inflama la mucosa de la nariz por lo tanto el tratamiento que los médicos recomendamos en general son medicinas antiinflamatorias, antialérgicos (o también llamados antihistamínicos) y vacunas (o también llamada inmunoterapia). Esto tiene que mantener a los enfermos sin síntomas y tener una vida normal. Sin embargo algunos enfermos continúan con problemas de su salud en los primeros meses, mejoran poco o no mejoran. Entonces nos gustaría averiguar si las vacunas funcionan más rápido y mejor tomando una medicina llamada vitamina D (colecalfierol vitamina D3) 1 tableta de 1600 UI al día. Cuando administramos este medicamento a esta dosis baja es muy seguro y no se ha visto ningún efecto secundario en otros estudios, entonces pensamos que tampoco en este estudio se presentarán efectos secundarios. Es importante mencionar que tienen toda la libertad para retirarse del estudio cuando ustedes gusten. Las alternativas de este tratamiento son que pueden tomar la medicina o una tableta sin el medicamento.

Le invitamos a que su hijo/hija o representado participe en un estudio de investigación que tiene como objetivo determinar la eficacia de una medicina llamada vitamina D (colecalfierol vitamina D3) 1 tableta de 1600 UI al día para mejorar el tiempo de acción de las vacunas de alergias en niños y niñas con rinitis alérgica.

### 2. Procedimientos

En caso de que acepte participar en el estudio, a su hijo/hija o representado se le realizarán algunas preguntas sobre sus hábitos y sus antecedentes médicos, y realizaremos las pruebas que convencionalmente se utilizan para determinar su

diagnóstico de rinitis alérgica. Se llenará una entrevista sobre el control de la enfermedad. Se obtendrá una muestra de sangre del brazo 5 ml en un tubo para medir algunas células y moléculas que se incrementan en su enfermedad. Se analizará también unas moléculas llamadas ARN mensajero. Se realizaran pruebas de alergia en la piel. Estos procedimientos los realizaremos en 3 ocasiones la primera vez en la primera cita la segunda vez a los 3 meses y la última vez a los 6 meses. Una vez que se realice la historia clínica en la primera cita se le colocará en uno de dos grupos posibles; el primer grupo recibirá las tabletas con el medicamento que será gratuito y el segundo grupo recibirá tabletas iguales pero sin medicamento. Esta asignación será por sorteo al azar.

3. Riesgos esperados

Ninguno

4. Beneficios del estudio

Con este estudio se conocerá de manera más clara si tomando esta medicina llamada vitamina D (colecalfiferol vitamina D3) 1 tableta de 1600 UI al día junto con sus vacunas de alergias mejoran los síntomas de la enfermedad más rápido. Este estudio permitirá que en un futuro otros pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido.

5. Procedimientos alternativos

Tenemos planificado 2 alternativas que los pacientes reciban la medicina llamada vitamina D (colecalfiferol vitamina D3) 1 tableta de 1600 UI al día o que reciban una tableta igual sin medicamento. A todos los participantes se les realizará los procedimientos antes descritos.

6. Garantía de recibir respuestas y aclaraciones

En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo al investigador responsable. Todas sus preguntas e inquietudes serán contestadas en el momento en que usted las solicite. Es importante mencionar que tienen toda la libertad para retirarse del estudio cuando ustedes gusten.

7. Libertad de retirar su consentimiento

Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria y usted puede retirarse del mismo en el momento que lo desee informando las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad y sin que esto afecte su atención subsecuente en este servicio.

8. Privacidad

La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores. Se utilizará un código alfanumérico para identificar las muestras y esta información será accesible únicamente por el equipo de investigación.

9. Información actualizada

El equipo de investigadores se compromete a que en caso de obtener información actualizada con respecto al estudio, ésta se le proporcionará, aunque esta pudiera afectar su voluntad para continuar participando en el mismo.

10. Gastos adicionales

En caso de existir gastos adicionales, estos serán absorbidos por el presupuesto de la investigación.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de la participación de su hijo/hija o representado legal, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado anexa a este documento.

## CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PADRES

Yo, \_\_\_\_\_ PADRE DE \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Yo, \_\_\_\_\_ MADRE DE \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Yo, \_\_\_\_\_ REPRESENTANTE LEGAL DE \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

\_\_\_\_\_  
Firma o huella digital del padre del participante

\_\_\_\_\_  
Firma o huella digital de la madre del participante

\_\_\_\_\_  
Firma o huella digital del representante legal del participante

\_\_\_\_\_  
Dirección del participante

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Firma del testigo Relación con el participante

\_\_\_\_\_  
Dirección del testigo Fecha

\_\_\_\_\_  
Firma del testigo Relación con el participante

\_\_\_\_\_  
Dirección del testigo Fecha

Investigador: Esta parte debe ser completada por el investigador (o representante):

He explicado al señor

\_\_\_\_\_  
padre del participante; a la señora

\_\_\_\_\_  
madre del participante,

al Sr.(a) \_\_\_\_\_ representante legal del

participante, la naturaleza y los propósitos de la investigación; le

he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado su tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar estudios con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuesta, se procedió a firmar el presente documento.

\_\_\_\_\_  
Firma del Investigador

\_\_\_\_\_  
Fecha

En caso de dudas o de requerir información adicional en relación con el proyecto de investigación, usted puede contactar al Dr. Guillermo Velázquez Sámano Jefe de Servicio de Alergia e Inmunología Clínica en el número de teléfono 0445536513913; o bien a la Dra. Estela García Elvira Presidenta de la Comisión de Ética del Hospital General de México al teléfono 2789-2000 extensión 1330.

### Anexo N.- 3. Encuesta de recolección de datos.

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO "DR. EDUARDO LICEAGA"  
SERVICIO DE ALERGIA E INMUNOLOGIA CLINICA  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
PROGRAMA DE MAESTRIAS Y DOCTORADOS EN CIENCIAS MÉDICAS  
UNIDAD DE MEDICINA EXPERIMENTAL

#### ENCUESTA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

PROTOCOLO DE INVESTIGACION: "VITAMINA D COMO ADYUVANTE A LA INMUNOTERAPIA ESPECIFICA SUBCUTANEA EN PACIENTES CON RINITIS ALERGICA"

CLAVE DE REGISTRO: DI/15/309/04/042

Número de paciente: \_\_\_\_\_ ECU: \_\_\_\_\_ HC alergia: \_\_\_\_\_

Nombres: \_\_\_\_\_ Apellidos: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_ Ocupación: \_\_\_\_\_ Instrucción: \_\_\_\_\_

Género: Hombre: \_\_\_\_\_ Mujer: \_\_\_\_\_

Religión: \_\_\_\_\_ Lugar en donde nació: \_\_\_\_\_

Lugar en donde vive actualmente (domicilio): \_\_\_\_\_

Urbano: \_\_\_\_\_ Rural: \_\_\_\_\_ -

Teléfono: \_\_\_\_\_

Nombres y apellidos del papá: \_\_\_\_\_

Nombres y apellidos de la mamá: \_\_\_\_\_

Nombres y apellidos de/los representantes legales: \_\_\_\_\_

¿Algún medico lo ha diagnosticado antes de otra enfermedad alérgica que no sea rinitis alérgica? Si: \_\_\_\_\_ No: \_\_\_\_\_

Si la respuesta es "si" escriba la enfermedad: \_\_\_\_\_

¿Tiene conjuntivitis alérgica (ojo rojo, prurito ocular, epifora, fotofobia)? Si: \_\_\_\_\_ No: \_\_\_\_\_

¿Tiene asma (tos, falta de aire, sibilancias, opresión del pecho)? Si: \_\_\_\_\_ No: \_\_\_\_\_

¿Tiene alguna enfermedad alérgica de la piel (dermatitis atópica, dermatitis por contacto, urticaria)? Si: \_\_\_\_\_ No: \_\_\_\_\_

Si la respuesta es afirmativa diga que enfermedad: \_\_\_\_\_

¿Ha sido diagnosticado de alergia a algún medicamento previamente por un médico? Si: \_\_\_\_\_ No: \_\_\_\_\_ Cual: \_\_\_\_\_

¿Ha sido diagnosticado de alergia a algún alimento previamente por un médico? Si: \_\_\_\_\_ No: \_\_\_\_\_ Cual: \_\_\_\_\_

¿Tiene anafilaxia (alguna vez hospitalizado por alergias graves o requirió adrenalina)? Si: \_\_\_\_\_ No: \_\_\_\_\_

Si la respuesta es si, diga cuando: \_\_\_\_\_ cuál fue el diagnóstico: \_\_\_\_\_ causa: \_\_\_\_\_

¿Ha tomado en los últimos 6 meses Vitamina D? Si: \_\_\_\_\_ No: \_\_\_\_\_

¿Ha utilizado vacunas de alergias? Si: \_\_\_\_\_ No: \_\_\_\_\_

¿Tiene alergia o problemas con la vitamina D? Si: \_\_\_\_\_ No: \_\_\_\_\_

¿Alguien fuma en la casa? Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Leche materna:

Protector solar:

Valoraciones

Primera

Peso en kg: \_\_\_\_\_ talla en metros: \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_

Tanner: I II III IV V

Leucocitos: \_\_\_\_\_ Linfocitos absolutos: \_\_\_\_\_ % \_\_\_\_\_ neutrófilos absolutos: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ % \_\_\_\_\_ eosinófilos absolutos: \_\_\_\_\_ % \_\_\_\_\_ basófilos absolutos: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ % \_\_\_\_\_ monocitos absolutos: \_\_\_\_\_ % \_\_\_\_\_

Hg: \_\_\_\_\_ Hcto: \_\_\_\_\_ plaquetas: \_\_\_\_\_

Citología nasal: \_\_\_\_\_

Coproparasitoscópico: \_\_\_\_\_

Totales: IgE: \_\_\_\_\_ IgG: \_\_\_\_\_ IgA: \_\_\_\_\_ IgM: \_\_\_\_\_

Radiografía de senos paranasales: \_\_\_\_\_

Radiografía de tórax: \_\_\_\_\_

Pruebas cutáneas:

Positivas (diámetro mayor a 3 mm del control negativo): \_\_\_\_\_

¿Tiene animales en la casa? Si: \_\_\_\_\_ No: \_\_\_\_\_ Que animales: \_\_\_\_\_

Niveles de vitamina D en sangre periférica: \_\_\_\_\_

Control y clasificación de la rinitis alérgica

Seleccione una opción como se encuentra en este momento, la valoración comprende las últimas 4 semanas:

1.- Intermitente leve síntomas < de 4 días a la semana y < de 4 semanas, sin problemas al dormir, actividades diarias normales, actividad escolar normal, sin síntomas problemáticos que no generan molestias.

2.- Intermitente moderada/severa síntomas < de 4 días a la semana y < de 4 semanas pero con problemas al dormir que interfiere con el sueño, actividades diarias anormales que interfiere con actividades diarias, actividad escolar anormal, mal rendimiento escolar por los síntomas de la rinitis y con síntomas problemáticos que si generan molestias.

3.- Persistente leve síntomas > de 4 días a la semana y > de 4 semanas, sin problemas al dormir, actividades diarias normales, actividad escolar normal, sin síntomas problemáticos que no generan molestias.

4.- Persistente moderada/severa síntomas > de 4 días a la semana y > de 4 semanas pero con problemas al dormir que interfiere con el sueño, actividades diarias anormales que interfiere con actividades diarias, actividad escolar anormal, mal rendimiento escolar por los síntomas de la rinitis y con síntomas problemáticos que si generan molestias.

Control del asma

Señale una:

1. Asma bien controlada: sin síntomas diurnos, ni limitación de las actividades diarias, ni problemas en la noche o al dormir, ni necesidad de utilizar medicamento de rescate y tampoco exacerbaciones.

2. Asma parcialmente controlada: cuando se presenten síntomas diurnos, o limitación de las actividades diarias, o problemas en la noche o al dormir, o necesidad de utilizar medicamento de rescate o exacerbaciones varias veces a la semana pero no todos los días.

3. Asma no controlada: cuando se presenten síntomas diurnos, o limitación de las actividades diarias, o problemas en la noche o al dormir, o necesidad de utilizar medicamento de rescate o exacerbaciones varias veces a la semana pero si todos los días.

rTNSS

Seleccione:

Síntomas 0: ninguno 1: leve 2: moderado 3: severo

• Prurito nasal \_\_\_\_\_

• Rinorrea hialina \_\_\_\_\_

• Estornudos \_\_\_\_\_

• Obstrucción nasal \_\_\_\_\_

• Síntomas oculares \_\_\_\_\_

Definiciones:

Ninguno: sin síntomas

Leve: si hay síntomas pero esporádicos y sin ninguna molestia 1 a 4 veces por mes

Moderado: si hay síntomas, tolerables, pero que causan leves molestias 2 a 6 veces por semana

Grave: causan muchas molestias y problemas en el día y en la noche todos los días

Segunda

Peso en kg: \_\_\_\_\_ talla en metros: \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_  
Tanner: I                      II                      III                      IV                      V  
Leucocitos: \_\_\_\_\_ Linfocitos absolutos: \_\_\_\_\_ % \_\_\_\_\_ neutrófilos absolutos: \_\_\_\_\_  
% \_\_\_\_\_ eosinófilos absolutos: \_\_\_\_\_ % \_\_\_\_\_ basófilos absolutos: \_\_\_\_\_  
% \_\_\_\_\_ monocitos absolutos: \_\_\_\_\_ % \_\_\_\_\_  
Hg: \_\_\_\_\_ Hcto: \_\_\_\_\_ plaquetas: \_\_\_\_\_  
Citología nasal: \_\_\_\_\_  
Coproparasitoscópico: \_\_\_\_\_  
Totales: IgE: \_\_\_\_\_ IgG: \_\_\_\_\_ IgA: \_\_\_\_\_ IgM: \_\_\_\_\_  
Niveles de vitamina D en sangre periférica: \_\_\_\_\_

Control y clasificación de la rinitis alérgica

Seleccione una opción como se encuentra en este momento, la valoración comprende las últimas 4 semanas:

- 1.- Intermitente leve síntomas < de 4 días a la semana y < de 4 semanas, sin problemas al dormir, actividades diarias normales, actividad escolar normal, sin síntomas problemáticos que no generan molestias.
- 2.- Intermitente moderada/severa síntomas < de 4 días a la semana y < de 4 semanas pero con problemas al dormir que interfiere con el sueño, actividades diarias anormales que interfiere con actividades diarias, actividad escolar anormal, mal rendimiento escolar por los síntomas de la rinitis y con síntomas problemáticos que si generan molestias.
- 3.- Persistente leve síntomas > de 4 días a la semana y > de 4 semanas, sin problemas al dormir, actividades diarias normales, actividad escolar normal, sin síntomas problemáticos que no generan molestias.
- 4.- Persistente moderada/severa síntomas > de 4 días a la semana y > de 4 semanas pero con problemas al dormir que interfiere con el sueño, actividades diarias anormales que interfiere con actividades diarias, actividad escolar anormal, mal rendimiento escolar por los síntomas de la rinitis y con síntomas problemáticos que si generan molestias.

Control del asma

Señale una:

1. Asma bien controlada: sin síntomas diurnos, ni limitación de las actividades diarias, ni problemas en la noche o al dormir, ni necesidad de utilizar medicamento de rescate y tampoco exacerbaciones.
2. Asma parcialmente controlada: cuando se presenten síntomas diurnos, o limitación de las actividades diarias, o problemas en la noche o al dormir, o necesidad de utilizar medicamento de rescate o exacerbaciones varias veces a la semana pero no todos los días.
3. Asma no controlada: cuando se presenten síntomas diurnos, o limitación de las actividades diarias, o problemas en la noche o al dormir, o necesidad de utilizar medicamento de rescate o exacerbaciones varias veces a la semana pero si todos los días.

rTNSS

Seleccione:

Síntomas                      0: ninguno                      1: leve                      2: moderado                      3: severo

- Prurito nasal \_\_\_\_\_
- Rinorrea hialina \_\_\_\_\_
- Estornudos \_\_\_\_\_
- Obstrucción nasal \_\_\_\_\_
- Síntomas oculares \_\_\_\_\_

Definiciones:

Ninguno: sin síntomas

Leve: si hay síntomas pero esporádicos y sin ninguna molestia 1 a 4 veces por mes

Moderado: si hay síntomas, tolerables, pero que causan leves molestias 2 a 6 veces por semana

Grave: causan muchas molestias y problemas en el día y en la noche todos los días

Tercera

Peso en kg: \_\_\_\_\_ talla en metros: \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_  
Tanner: I                      II                      III                      IV                      V  
Leucocitos: \_\_\_\_\_ Linfocitos absolutos: \_\_\_\_\_ % \_\_\_\_\_ neutrófilos absolutos: \_\_\_\_\_  
% \_\_\_\_\_ eosinófilos absolutos: \_\_\_\_\_ % \_\_\_\_\_ basófilos absolutos: \_\_\_\_\_  
% \_\_\_\_\_ monocitos absolutos: \_\_\_\_\_ % \_\_\_\_\_  
Hg: \_\_\_\_\_ Hcto: \_\_\_\_\_ plaquetas: \_\_\_\_\_  
Citología nasal: \_\_\_\_\_  
Coproparasitoscópico: \_\_\_\_\_  
Totales: IgE: \_\_\_\_\_ IgG: \_\_\_\_\_ IgA: \_\_\_\_\_ IgM: \_\_\_\_\_  
Niveles de vitamina D en sangre periférica: \_\_\_\_\_

## Control y clasificación de la rinitis alérgica

Seleccione una opción como se encuentra en este momento, la valoración comprende las últimas 4 semanas:

- 1.- Intermitente leve síntomas < de 4 días a la semana y < de 4 semanas, sin problemas al dormir, actividades diarias normales, actividad escolar normal, sin síntomas problemáticos que no generan molestias.
- 2.- Intermitente moderada/severa síntomas < de 4 días a la semana y < de 4 semanas pero con problemas al dormir que interfiere con el sueño, actividades diarias anormales que interfiere con actividades diarias, actividad escolar anormal, mal rendimiento escolar por los síntomas de la rinitis y con síntomas problemáticos que si generan molestias.
- 3.- Persistente leve síntomas > de 4 días a la semana y > de 4 semanas, sin problemas al dormir, actividades diarias normales, actividad escolar normal, sin síntomas problemáticos que no generan molestias.
- 4.- Persistente moderada/severa síntomas > de 4 días a la semana y > de 4 semanas pero con problemas al dormir que interfiere con el sueño, actividades diarias anormales que interfiere con actividades diarias, actividad escolar anormal, mal rendimiento escolar por los síntomas de la rinitis y con síntomas problemáticos que si generan molestias.

## Control del asma

Señale una:

1. Asma bien controlada: sin síntomas diurnos, ni limitación de las actividades diarias, ni problemas en la noche o al dormir, ni necesidad de utilizar medicamento de rescate y tampoco exacerbaciones.
2. Asma parcialmente controlada: cuando se presenten síntomas diurnos, o limitación de las actividades diarias, o problemas en la noche o al dormir, o necesidad de utilizar medicamento de rescate o exacerbaciones varias veces a la semana pero no todos los días.
3. Asma no controlada: cuando se presenten síntomas diurnos, o limitación de las actividades diarias, o problemas en la noche o al dormir, o necesidad de utilizar medicamento de rescate o exacerbaciones varias veces a la semana pero si todos los días.

## rTNSS

Seleccione:

Síntomas 0: ninguno 1: leve 2: moderado 3: severo

- Prurito nasal \_\_\_\_\_
- Rinorrea hialina \_\_\_\_\_
- Estornudos \_\_\_\_\_
- Obstrucción nasal \_\_\_\_\_
- Síntomas oculares \_\_\_\_\_

Definiciones:

Ninguno: sin síntomas

Leve: si hay síntomas pero esporádicos y sin ninguna molestia 1 a 4 veces por mes

Moderado: si hay síntomas, tolerables, pero que causan leves molestias 2 a 6 veces por semana

Grave: causan muchas molestias y problemas en el día y en la noche todos los días.

## Anexo N.-4. Suplementarios

### Suplementarios

Suplementario N.- 1. Resultados de las pruebas cutáneas en todos los pacientes.

Tabla de suplementarios N.- 1. Pruebas Cutáneas					
			Positivo n (%)	Pseudópodos n (%)	Total positivos n (%)
Pólenes	Árboles				
		Populus	5 (6.3)	2 (2.5)	7 (8.3)
		Quercus	11 (13.8)	1 (1.3)	12 (15.1)
		Alnus	9 (11.3)	2 (2.5)	11 (13.8)
		Schinus	11 (13.8)	3 (3.8)	15 (18.8)

		Prosopis	17 (21.3)	1 (1.3)	18 (22.6)
		Ligustrum	9 (11.3)	7 (8.8)	16 (20.1)
		Fresno	13 (16.3)	4 (5)	17 (21.3)
	Pastos				
		Phleum	10 (12.5)	0	10 (12.5)
		Capriola	6 (7.5)	1 (1.3)	7 (8.3)
		Lolium	6 (7.5)	0	6 (7.5)
	Malezas				
		Cosmos	4 (5)	0	4 (5)
		Artemisia	5 (6.3)	0	5 (6.3)
		Amarantus	12 (15)	1 (1.3)	13 (16.3)
		Maíz	8 (10)	0	8 (10)
		Ambrosia	7 (8.8)	0	7 (8.8)
		Atriplex	16 (20)	0	16 (20)
		Chenopodium	15 (18.8)	0	15 (18.8)
		Salsola	3 (3.8)	0	3 (3.8)
		Heliantus	5 (6.3)	0	5 (6.3)
		Rumex	2 (2.5)	0	2 (2.5)
	Intradomiciliarios				
		Derma	26 (32.5)	15 (18.8)	41 (51.3)
		Cucaracha	9 (11.3)	1 (1.3)	10 (12.5)
		Polvo	2 (2.5)	2 (2.5)	4 (5)
	Animales				
		Gato	14 (17.5)	0	14 (17.5)
		Perro	4 (5)	0	4 (5)
	Hongos				
		Mucor	2 (2.5)	0	2 (2.5)
		Holcus	4 (5)	0	4 (5)
		Alternaria	6 (7.5)	0	6 (7.5)
		Rizopus	2 (2.5)	0	2 (2.5)
		Helmintosporium	1 (1.3)	1 (1.3)	2 (2.5)
		Cefalosporium	3 (3.8)	0	3 (3.8)
		Candida	6 (7.5)	0	6 (7.5)
		Hormodemdrum	3 (3.8)	0	3 (3.8)
		Penicilium	6 (7.5)	0	6 (7.5)
		Aspergillus	7 (8.8)	0	7 (8.8)