



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

“Presencia de anticuerpos anti-filagrina y anti-desmogleína, mediante el ensayo de Inmunofluorescencia indirecta en pacientes con alergia al ácaro del polvo casero (*Dermatophagoides pteronyssinus* y *farinae*)”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA

PRESENTAN

CRISTIAN ALEXIS ACOSTA IGARI
SEBASTIÁN SANDOVAL LOBO

ASESOR: DR. EN C. VÍCTOR MANUEL ZENDEJAS BUITRÓN

CO-ASESORA: DRA. MARÍA ISABEL ROJO GUTIÉRREZ

CO-ASESOR: Q.C. ISRAEL PARRA ORTEGA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Trabajo de Tesis

Presencia de anticuerpos anti-flagrina y anti-desmogleina, mediante el ensayo de inmunofluorescencia indirecta en pacientes con alergia al ácaro de polvo casero (*Dermatophagoides pteronyssinus* y *farinae*)

Que presenta el pasante: Cristian Alexis Acosta Igarí
Con número de cuenta: 308161146 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 22 de Mayo de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>Dra. Susana Elisa Mendoza Elvira</u>	
VOCAL	<u>Dr. Víctor Manuel Zendejas Buitrón</u>	
SECRETARIO	<u>QFB. René Damián Santos</u>	
1er. SUPLENTE	<u>M. en C. Raquel María del Refugio Tapia Romero</u>	
2do. SUPLENTE	<u>M. en C. Paola Edith Briseño Lugo</u>	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Presencia de anticuerpos anti-filagrina y anti-desmogleína, mediante el ensayo de inmunofluorescencia indirecta en pacientes con alergia al ácaro de polvo casero (Dermatophagoides pteronyssinus y farinae)

Que presenta el pasante: **Sebastián Sandoval Lobo**

Con número de cuenta: 308119738 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica

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

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 22 de Mayo de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Susana Elisa Mendoza Elvira	
VOCAL	Dr. Víctor Manuel Zendejas Buitrón	
SECRETARIO	QFB. René Damián Santos	
1er. SUPLENTE	M. en C. Raquel María del Refugio Tapia Romero	
2do. SUPLENTE	M. en C. Paola Edith Briseño Lugo	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

Agradecimientos de Alexis y Sebastián

Como parte de este trabajo en conjunto que hemos realizado, no nos queda más que agradecer a todas aquellas personas e instituciones que fueron importantes para ambos y que sin su apoyo no hubiera sido posible la realización de nuestro proyecto de Tesis.

En primer lugar queremos agradecer a la UNAM, por ser la institución que desde nuestro bachillerato fue parte esencial para estar donde nos encontramos el día de hoy. A la FES Cuautitlán por darnos las herramientas necesarias en nuestra licenciatura y ser el lugar donde vivimos muchas experiencias que nos ayudaron a formarnos como profesionistas y sobre todo como personas.

A nuestro Asesor el Dr. Víctor Zendejas, por el tiempo y la dedicación que nos dio durante este tiempo, que gracias a él vivimos experiencias académicas que nos enseñaron muchas cosas como fueron los congresos, entre otros. Por su apoyo, su consejo y amistad, pues no solo nos permitió conocerlo como gran profesor, sino también a la excelente persona que es.

Al Servicio de Alergia del Hospital Juárez de México, en especial a nuestra Co-asesora la Dra. María Isabel Rojo por brindarnos todo su apoyo desde el primer día en que nos presentamos para realizar nuestro proyecto de Tesis, al Dr. Jaime Mellado, la Dra. Gloria Castillo, por su consejo y siempre recibirnos de la mejor manera.

Al Hospital Infantil de México "Federico Gómez", por supuesto a nuestro Co-asesor el Q.C Israel Parra por el compromiso que tuvo hacia el proyecto y hacia nosotros. A la Bióloga Angelina Benavides por toda la ayuda y atención que nos brindó.

También queremos dedicar este trabajo a nuestros amigos de la Facultad, Mike, Sergio, Paty, César, Moy, Joaquín, Juan, Claudia, Alma, Rox; pues todos pasamos grandes momentos dentro y fuera de las aulas y serán parte de esta etapa de nuestras vidas.

A todas las personas que hemos mencionado y a las que nos falta por hacerlo, agradecemos todo lo que han hecho por nosotros y nuestro trabajo final de Tesis.

De Alexis

Para mí Papá

Antes de nada, quiero agradecerte por todo lo que me has brindado durante estos 25 años en los que has entregado lo mejor de tu existencia a nuestra familia. En primer lugar, quiero agradecer el cariño que me has dado, las noches de desvelo que me has concedido, el infinito tiempo dedicado, los cientos de consejos, pero sobre todo las grandes enseñanzas que nunca olvidaré. Gracias por ser ese ejemplo de perseverancia, constancia, entrega y total dedicación. Eres el ser que más respeto y al mismo tiempo admiro, gracias por el apoyo incondicional en todos mis proyectos, decisiones, actividades, pero sobre todo en mi educación, sin ti nada de esto podría ser posible. Por eso y mucho más este trabajo va dedicado a ti. En otras palabras, gracias por ser el mejor padre que pueda tener un hijo.

Para mí Mamá

En primer lugar, te doy las gracias por darme la oportunidad de disfrutar la bella experiencia de vivir, por dar tu vida y tu alma día a día sin descanso, calmar mis dolores y consolar mi llanto. En segundo lugar, gracias por todo el amor, ternura y comprensión brindada en aquellas noches de desvelo, por ser ese ejemplo de fuerza, resistencia, valor y tenacidad. Quiero agradecerte mamá por todo el tiempo y cuidados dedicados a mi persona desde que era un niño hasta el día de hoy. También por ser esa persona que me ha llenado de consejos y me enseñó a ganarme las cosas por mí mismo y hacerme una persona de bien. Gracias por ser una excelente madre... este trabajo también es para ti.

Por último, quiero agradecer a mis hermanas Iliana y Diana que han sido dos grandes ejemplos para mí y de la misma manera espero ser un ejemplo para ellas. A mi sobrina Joana que apenas inicia su etapa como estudiante de esta gran casa de estudios; espero y esto la aliente a seguir persiguiendo sus sueños y nunca darse por vencida. Finalmente, quiero agradecer a Gabby por todo su apoyo y cariño incondicional durante todo este tiempo, el cual ha demostrado incontables veces de un sinfín de maneras.

De Sebastián

Para mí Madre

Este trabajo que presento el día de hoy es un pequeño resultado de todo el amor, esfuerzo y dedicación que has tenido siempre hacia mí. No hay palabras que puedan expresar lo agradecido que estoy por todo lo que me has brindado, y espero poder algún día recompensar toda una vida de trabajo que has llevado para poder ver finalmente a tu hijo como un profesionalista; por todo el sacrificio que has realizado, no me queda más que agradecer a la mujer más importante en mi vida, pues todo lo que soy y hasta donde he llegado hasta ahora te lo debo solo a ti. Gracias Mamá.

Para mí hermana

Porque siempre has sido un ejemplo para mí de perseverancia, dedicación y trabajo, gracias hermana porque sin tu esfuerzo diario no habría podido llegar hasta este punto, sabes que estaré para ti siempre que me necesites.

A mis sobrinos

Para Emmanuel y Valeria, por darle alegría a mi vida y ser mi fuente de inspiración para llegar a ser una mejor persona, pues sé que soy ejemplo para ustedes, y siempre cuidaré de ustedes.

A mis amigos del CCH, Erika, Alfredo y Jhonatan por su amistad que ha durado hasta ahora, y por el tiempo que falta, por compartir y pasar tantas experiencias, esto también va por cada uno.

A todas aquellas personas que han sido parte de mi formación académica y como persona, que siguen en mi vida o ya no, sea familia, amigos, profesores o a quien me haya dejado algo por aprender ya sea bueno o malo. Gracias

INDICE	Página
Índice general.....	7
Índice de Figuras.....	9
Índice de cuadros.....	11
Lista de abreviaturas.....	13
Resumen.....	14
1. Introducción.....	15
1.1 Hipersensibilidad.....	15
1.1.1 Hipersensibilidad Tipo I o Alergia.....	17
1.1.2 Mecanismo de la Hipersensibilidad Tipo I.....	17
1.1.3 Atopia.....	20
1.1.4 Dermatitis atópica.....	21
1.1.5 Rinitis Alérgica.....	22
1.1.6 Asma.....	23
1.1.7 El diagnóstico de la enfermedad alérgica.....	25
1.2 Alérgenos.....	25
1.2.1 Ácaros de polvo.....	26
1.3 Autoinmunidad.....	28
1.3.1 Autoantígenos.....	28
1.3.2 Autoalérgenos.....	28
1.4 Piel.....	29

1.4.1 Epidermis.....	29
1.4.2 Desmosomas.....	30
1.5 Filagrina.....	31
1.5.1 Filagrina en Artritis Reumatoide.....	33
1.6 Desmogleínas.....	35
1.7 Inmunofluorescencia.....	37
2. Planteamiento del problema.....	40
3. Justificación.....	40
4. Objetivos.....	40
5. Hipótesis.....	41
6. Materiales y Métodos.....	41
7. Resultados.....	49
8. Discusión.....	74
9. Conclusiones.....	82
10.Perspectivas.....	83
11.Referencias.....	84
12.Anexos.....	91

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reacción de hipersensibilidad tipo I.....	20
Figura 2. Capas que conforman la epidermis.....	30
Figura 3. Estructura de los desmosomas.....	30
Figura 4. Consecuencias de la deficiencia de filagrina.....	32
Figura 5. Transformación de la arginina en citrulina por la enzima PAD...	34
Figura 6. Esquema de las desmogleínas.....	35
Figura 7. Deficiencia de las desmogleínas en el pénfigo.....	36
Figura 8. Fundamento de la Inmunofluorescencia Indirecta.....	38
Figura 9. Esquema metodológico de la técnica de IFI.....	46
Figura 10. Distribución de la población alérgica al ácaro del polvo casero por grupo etario.....	49
Figura 11. Distribución de la población de pacientes alérgicos con base en su diagnóstico.....	50
Figura 12. Distribución de los pacientes por género.....	50
Figura 13. Testigos positivos y negativos de FLG (IFI).....	51
Figura 14. Ejemplos de pacientes positivos fuerte a FLG (IFI).....	52

Figura 15. Ejemplos de pacientes positivos débil a FLG (IFI).....	52
Figura 16. Ejemplos de pacientes negativos a FLG (IFI).....	53
Figura 17. Resultado en porcentaje de pacientes alérgicos al ácaro en la detección de anticuerpos anti-filagrina.....	54
Figura 18. Resultado en porcentaje de pacientes negativos a pruebas cutáneas en la detección de anticuerpos anti-filagrina.....	54
Figura 19. Resultado en porcentaje de pacientes no relacionados en la detección de anticuerpos anti-filagrina.....	55
Figura 20. Distribución de la frecuencia de número de pacientes con presencia o ausencia de anticuerpos anti-filagrina durante las diferentes décadas de la vida.....	56
Figura 21. Pacientes alérgicos al ácaro del polvo casero con resultado positivo en la búsqueda de Ac anti-filagrina según el género y grupo etario.....	57
Figura 22. Pacientes positivos a filagrina según su diagnóstico.....	59
Figura 23. Testigos positivos para Dsmg (IFI).....	65
Figura 24. Resultados para Dsmg (IFI).....	66
Figura 25. Pacientes positivos a desmogleína I según el género.....	67
Figura 26. Asociación entre la presencia de Ac anti-desmogleína y manifestación alérgica.....	68

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Mecanismos del daño inmunológico.....	15
Cuadro 2. Células que participan en la hipersensibilidad tipo I.....	18
Cuadro 3. Casos por entidad federativa de enfermedades no transmisibles hasta la semana epidemiológica 48 del 2016.....	23
Cuadro 4. Principales causas de mortalidad por residencia habitual y sexo del fallecido	24
Cuadro 5. Alérgenos de ácaros domésticos: perteneciente a un grupo, nombre, pesos moleculares e identidad bioquímica.....	27
Cuadro 6. Resultados en número y porcentaje de la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta de los tres grupos estudiados para el anticuerpo anti-filagrina.....	53
Cuadro 7. Asociación entre la presencia de Ac anti- <i>FLG</i> y género.....	57
Cuadro 8. Asociación entre la presencia de Ac anti- <i>FLG</i> y diagnóstico...	58
Cuadro 9. Correlación de Pearson para filagrina.....	60
Cuadro 10. Cuadro de contingencia	61
Cuadro 11. Cuadro de contingencia para <i>FLG</i>	61
Cuadro 12. Fuerza de asociación entre el factor de riesgo y la enfermedad	64

Cuadro 13. Asociación entre la presencia de Ac anti-Desmogleína y género	66
Cuadro 14. Asociación entre la presencia de Ac anti-desmogleína y manifestación alérgica.....	68
Cuadro 15. Resultados en número y porcentaje de la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta de los tres grupos estudiados para el anticuerpo anti-desmogleína.....	69
Cuadro 16. Correlación de Pearson para desmogleína.....	70
Cuadro 17. Cuadro de contingencia para Dsmg.....	70
Cuadro 18. Comparación en la presencia de anticuerpos anti-filagrina y anti-desmogleína entre los tres grupos de pacientes.....	73

Lista de abreviaturas

Ac: Anticuerpo.

AFA: Anti-filagrina citrulinada.

AFP: Antifactor perinuclear.

Ag: Antígeno.

AKA: Antiqueratina.

APC: Células presentadoras de antígeno.

AR: Artritis Reumatoide.

As: *Acarus siro*.

AuAb: Auto-anticuerpos.

BCR: Receptor en los linfocitos B.

Bt: *Blomia tropicalis*.

CysLT: Ccistenil-leucotrienos.

DA: Dermatitis atópica.

Df: *Dermatophagoides farinae*.

Dm: *Dermatophagoides microcera*.

Dp: *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Ds: *Dermatophagoides sibonei*.

Dsmg: Desmogleína.

EA: Enfermedades autoinmunitarias.

FcεR: Receptores de la porción Fc de la IgE.

FLG: Filagrina.

IFI: Inmunofluorescencia Indirecta.

kDa: kilodaltons.

Ld: *Lepidoglyphus destructor*.

MPT: Modificación Postraduccional.

MW: peso molecular (molecular weight).

NK: Natural Killer.

nm: nanómetros.

OR: Odds Ratio.

PAD: Peptidil arginina deiminasa.

PAF: Factor de agregación plaquetaria.

RA: Rinitis alérgica.

SNM: Sobre el nivel del mar.

Tp: *Tryphagus putrescentiae*.

VPN: Valor Predictivo Negativo.

VPP: Valor Predictivo Positivo.

RESUMEN

En trabajos previos (Zendejas, 1987), (Vilchis, 2012), (García, 2015), y (Solís, 2016) se encontró que los pacientes alérgicos a los ácaros del polvo presentaron una respuesta de anticuerpos IgG1 e IgE hacia proteínas de un extracto de escamas humanas. Con el propósito de profundizar en la identificación de las moléculas responsables de dicho auto reconocimiento, se eligió determinar si las proteínas filagrina y/o desmogleína podrían ser reconocidas con anticuerpos de la clase IgG por los pacientes alérgicos a los ácaros.

Se estudiaron tres poblaciones. El grupo problema (n=60), de pacientes alérgicos a los ácaros (*D. pteronysinnus* y *farinae*) con prueba de pinchazo positiva con más de tres cruces. El grupo testigo negativo (n=20), sin respuesta dérmica a cualquier tipo de alérgeno. Un grupo testigo, llamado pacientes alérgicos no relacionados (n=20) que podían presentar una respuesta dérmica hacia otros alérgenos pero no a los ácaros. Se utilizó un equipo comercial para la detección de anticuerpos anti-filagrina y anti-desmogleína por IFI (EUROIMMUN).

Nuestros resultados indicaron que el 70% de los pacientes alérgicos a los ácaros presentaron los anticuerpos anti-filagrina. Mientras que solo el 8.3% presentaron los anticuerpos anti-desmogleína. La prueba de correlación de Pearson demostró que la relación entre los pacientes positivos a filagrina y positivos al ácaro fue altamente significativa. ($p < 0.005$). No se encontró correlación significativa con la desmogleína ($p < 0.233$) Con base en nuestros resultados la especificidad encontrada fue del 65% y la sensibilidad del 70%. La relevancia del trabajo radica en la propuesta de asociación entre la hipersensibilidad tipo I hacia los alérgenos del polvo casero (*Dermatophagoides pteronysinnus* y *farinae*) y el fenómeno de auto-reactividad hacia filagrina y su posible implicación en la patología de ambas enfermedades. Hacen falta más estudios para comprender si la auto-reactividad participa en la cronicidad y/o severidad de las enfermedades alérgicas.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Hipersensibilidad

El término hipersensibilidad se utiliza para describir signos y síntomas clínicos que son reproducibles e iniciados por la exposición a un estímulo definido, a dosis que son toleradas por personas normales (Cardona y Serrano, 2010). En 1963 los profesores Philip George Houthem y Gelly Robbin Coombs clasificaron estas reacciones de hipersensibilidad en cuatro categorías (Tipos I-IV), de acuerdo con los elementos característicos de la respuesta inmunológica que generan el daño inflamatorio y/o con la velocidad con la que aparece el daño orgánico (Pavón *et al*, 2016).

Cuadro 1. Mecanismos del daño inmunológico. Gell y Coombs, modificada (Bellanti, 2016).

Tipo	Órgano blanco	Manifestaciones clínicas	Mecanismos
I. Alérgica o Anafiláctica (IgE)	Reacciones localizadas, v.g., piel, vías respiratorias y gastrointestinales. Reacciones sistémicas	Alergias, asma, rinitis, urticaria, dermatitis atópica (fase temprana), alergia gastrointestinal, anafilaxia	IgE unida al mastocito/basófilo y liberación del mediadores después de reaccionar con el alérgeno
II. Citotoxicidad mediada por anticuerpos (IgG, IgM)	A. Citolítica (Citotóxica) Células sanguíneas (eritrocitos, glóbulos blancos y plaquetas); proteínas de las membranas basales	Anemia hemolítica, leucopenia, trombocitopenia, enfermedad hemolítica del recién nacido, Síndrome de Goodpasture	Citólisis por complemento activado por IgG, IgM, Opsonización en fagocitos mediada por IgG y C3b. Reacciones ADCC (células NK)

	B. Neutralizante	Células del músculo esquelético	Miastenia grave	Bloqueo de receptores celulares por IgG
	C. Estimulante	Células endócrinas y de la piel	Enfermedad de Graves Urticaria Autoinmune	Sobre-estimulación de receptores celulares con excesiva producción de hormonas o de mediadores
III. Mediado por complejos antígeno-anticuerpo (IgG, IgM)	A. Local	Vasos sanguíneos de la dermis	Reacción de Arthus, neumonitis causada por hipersensibilidad	Complejos antígeno anticuerpo (IgG)-complemento (Ag-Ab-C). Activación del complemento. Reclutamiento de neutrófilos
	B. Sistémico	Vasos sanguíneos de la piel, articulaciones, riñones y pulmones	Enfermedad del suero, lupus eritematoso sistémico, glomerulonefritis pos estreptocócica, vasculitis	Complejos antígeno anticuerpo (IgG)-complemento (Ag-Ab-C). Activación del complemento. Reclutamiento de neutrófilos
IV. Mediado por Células T (hipersensibilidad celular)	A. Mediado por células Th1 CD4+	Piel, pulmones, vías gastrointestinales	Dermatitis por contacto, tuberculosis, enfermedad celiaca	IFN- γ , TNF- α , IL-2 macrófagos, células NK
	B. Mediado por células Th2 CD4+	Piel, pulmones, vías gastrointestinales	Dermatitis atópica crónica (fase tardía), alteraciones esofágicas y gastrointestinales	IL-4, IL-5, IL-13 eosinófilos, células B
	C. Mediado por células Th17 CD4+	Piel, pulmones, vías gastrointestinales	Psoriasis, enfermedad de Crohn	IL-17, IL21, IL-22, neutrófilos, fibroblastos, queratinocitos
	D. Mediado por células T citotóxicas CD8+	Piel, sistémico	Dermatitis por contacto,; enfermedad celiaca	Linfocitos CD8+

1.1.1 Hipersensibilidad Tipo I o Alergia

La Organización Mundial de Alergia, desde el año 2003 estableció su posición acerca de la nomenclatura clínica sobre los términos hipersensibilidad, atopia y alergia. Se considera como alergia una reacción de hipersensibilidad provocada por mecanismos inmunológicos específicos, y puede ser mediada por anticuerpos o por células. En la mayoría de los pacientes, los síntomas alérgicos son mediados por anticuerpos del isotipo IgE específicos para un alérgeno siendo catalogada como alergia mediada por IgE; sin embargo, es posible que la alergia mediada por IgE tenga una evolución crónica, en la cual la reacción inflamatoria que causa los síntomas esté denominada por linfocitos específicos del alérgeno. (Pavón *et al*, 2016; Cardona y Serrano, 2010).

Alérgenos: Alérgenos son antígenos que causan alergia. Los alérgenos normalmente son de origen proteínico. (WAO, 2017).

1.1.2 Mecanismo de la Hipersensibilidad Tipo I

Los alérgenos ingresan al organismo por las mucosas respiratorias, digestivas, oculares, entre otras, o bien, puede tener lugar el ingreso de alérgenos por la piel y/o por la vía parenteral. Para que se produzca sensibilización contra el alérgeno, éste ha de ser absorbido en cantidad suficiente. (Cardona y Serrano, 2010).

Cuando los alérgenos son transportados hacia las barreras epiteliales las células presentadoras de antígeno (APC) por sus siglas en inglés “Antigens Presenting Cells” que reconocen y endocitan a estos agentes, los procesan vía endosomal y los presentan a principalmente a los linfocitos Th2 mediante en receptor de antígenos de las células T llamados TCR por sus siglas en inglés (T Cells Receptor), el antígeno procesado se expresa sobre las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad de clase II MHC II (por sus siglas en inglés “Major

Histocompatibility Complex”. La producción de citocinas del perfil Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13) inducen que los linfocitos B se diferencien a células plasmáticas.

La colaboración entre los linfocitos Th2 y linfocitos B se establece a través de moléculas estimuladoras en la membrana; como CD40-CD40L favoreciendo su activación y posterior cambio de isotipo a IgE. (Pavón *et al*, 2016; Cardona y Serrano, 2010).

La IgE son anticuerpos que inicialmente se liberan al plasma por las células plasmáticas, son posteriormente unidos a las membranas de otras células mediante los receptores de la porción Fc de la IgE (FcεR), sobre los mastocitos, basófilos y eosinófilos, lo que origina células sensibilizadas. (Pavón *et al*, 2016).

Cuadro 2. Células que participan en la hipersensibilidad tipo I

Célula	Funciones	Mediadores químicos
Basófilos	Se encuentran en el torrente sanguíneo. Cuenta con receptores de superficie para IgE y se desgranulan cuando un antígeno enlaza a las moléculas de IgE que se ubican en su superficie	Histamina Leucotrienos (C,D,E) PAF Factores quimiotácticos para eosinófilos Citocinas (TNF- α , IL-4)
Eosinófilos	Asociados a: Reacciones alérgicas. Reacciones inflamatorias asociadas a parásitos. Inflamación crónica. Modula las reacciones mediadas por mastocitos	Leucotrienos, C4. Factor activador de plaquetas y eotaxinas. Proteína básica mayor (MBP). Proteína catiónica eosinofílica (ECP). Neurotoxina derivada de eosinófilos

		(EDN). Peroxidasa eosinófila. Citocinas (IL-4 e IL-13, IFN- γ , TGF- β)
Células cebadas (Mastocitos)	Se encuentran en tejidos. Cuenta con receptores de superficie para IgE y se degranulan cuando un antígeno enlaza a las moléculas de IgE que se ubican en su superficie	Histamina Metaloproteinasas (MMP-2, MMP-9). Proteinasas de serina de dos tipos: triptasa y quimasa

La segunda parte de la hipersensibilidad tipo I es conocida como fase efectora, ya que todos los elementos que se desarrollaron en la fase de sensibilización están dispuestos para ejecutar mecanismos biológicos de forma directa. Cuando existe reexposición con el mismo antígeno, la síntesis de IgE se realiza con mayor rapidez. (Pavón *et al*, 2016). La fase inicial ocurre mediante la unión del alérgeno a la IgE previamente acoplada al receptor de alta afinidad en la membrana de las células cebadas y basófilos (células sensibilizadas). La unión del antígeno constituye el estímulo que induce la degranulación de las células y la liberación de mediadores preformados, como la histamina, que es la responsable de los síntomas de aparición temprana. La fase tardía se caracteriza por la acción de los eosinófilos, que inicialmente son estimulados por mediadores sintetizados de *novo* por los basófilos y las células cebadas: los cisteinil-leucotrienos (CysLT). Los eosinófilos producen sustancias quimiotácticas, para aumentar la migración de células, como la eotaxina. Las células inflamatorias que se activan durante esta fase y liberan sus mediadores, promueven el edema y daño tisular local, y perpetúa el proceso inflamatorio en forma general. (Pavón *et al*, 2016; Cardona y Serrano, 2010).

El mecanismo de hipersensibilidad tipo I antes descrito se presenta a continuación en la **Figura 1**.

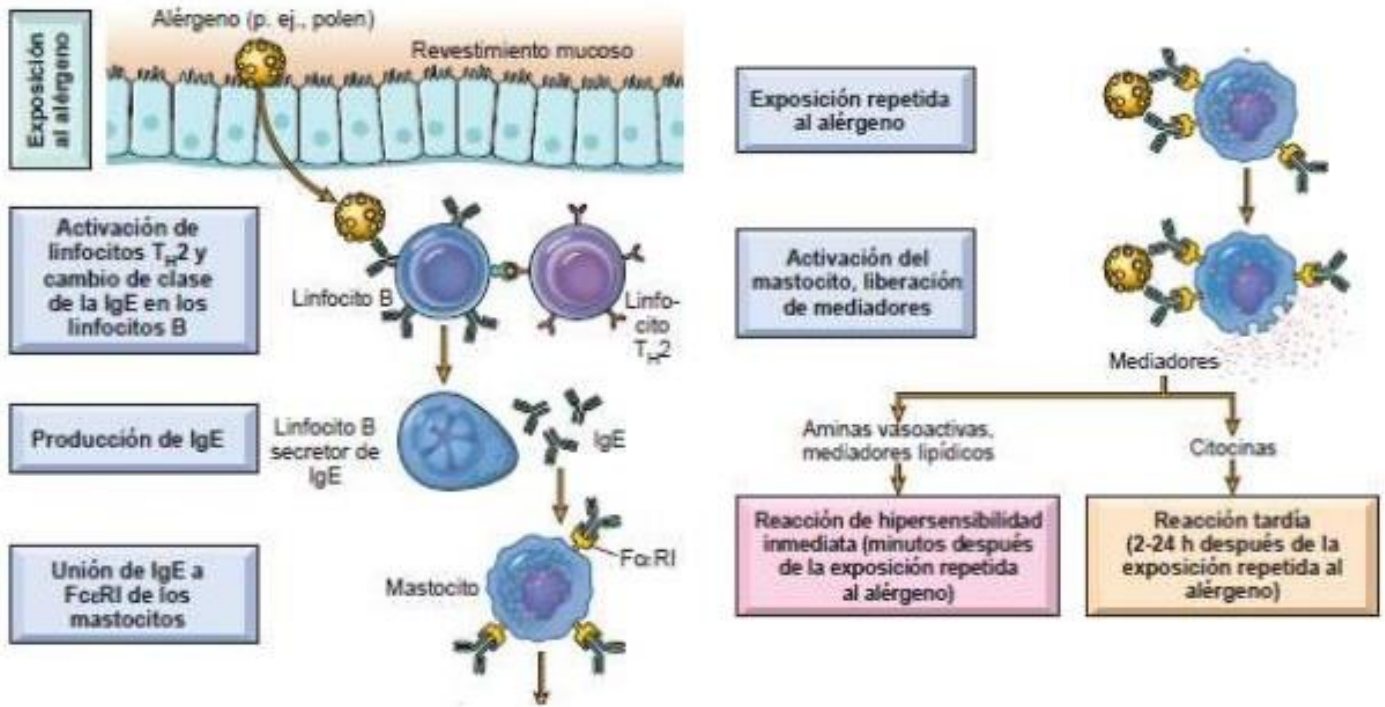


Figura 1. Reacción de hipersensibilidad tipo I (Kumar *et al*, 2010).

1.1.3 Atopia

Atopia: Atopia es la tendencia genética a sensibilizarse y producir IgE como resultado de la exposición a alérgenos comunes, generalmente proteínas. (WAO, 2017).

La atopia es una predisposición genética que puede ser de tipo familiar o personal, y que puede presentarse en etapas tempranas como la niñez o la adolescencia y se manifiesta por la tendencia a sensibilizarse y producir anticuerpos del tipo IgE, en respuesta por la exposición a alérgenos comunes no patógenos. La atopia es heredable, así el riesgo de desarrollar alergia mediada por IgE para un niño está

entre 60% y 70% cuando ambos padres son atópicos, mientras que es de un 5% a 10% si ninguno de ellos lo es. (Cardona y Serrano, 2010).

A pesar de la naturaleza hereditaria de la atopía, esta no obedece a un patrón simple de herencia, pues están involucrados múltiples factores, como es el caso de diversos genes, los cuales participan en su patogenia e interactúan con factores ambientales, lo que condiciona una presentación incompleta de la enfermedad atópica. (González, 2006).

Las manifestaciones clínicas de los fenómenos alérgicos se dan en diferentes órganos de choque como la nariz (Rinitis alérgica), bronquios (asma), piel (dermatitis atópica, urticaria o alergia de contacto) digestivo (alergia alimentaria), entre otras.

1.1.4 Dermatitis atópica

La dermatitis atópica (DA) es una enfermedad inflamatoria cutánea crónica, con una alta predisposición genética y de predominio en la infancia. La DA presenta, brotes intermitentes siendo de evolución crónica. Es una patología que se manifiesta fundamentalmente en los primeros años de vida. Durante el primer año de vida aparecen cerca del 60% de los casos, en los primeros cinco años el 80-90%, y sólo el 2% de los cuadros debutan después de los veinte años. Sin embargo, cabe destacar que los pacientes que inician en la edad adulta suelen ser más severos. (Herrero y Moreno, 2010; Bellanti, 2016).

La DA se manifiesta en forma de placas eritematosas (rosadas, rojizas) distribuyéndose por el cuerpo en diferentes topografías de acuerdo a la edad. En bebés y lactantes, suele afectar el cuello, las mejillas, y superficies de extensión (cara externa de brazos). En niños mayores de un año, la distribución cambia y pasa a ser la típica de la DA: afectación de superficies de flexión (cara anterior de codos y posterior de rodillas). (Herrero y Moreno, 2010).

Cualquiera que sea el caso, la patología cursa con un prurito importante. Como consecuencia, los pacientes presentan en su mayoría signos de rascado (escoriaciones) y, en algunos casos, sobreinfección de las lesiones lo que se conoce habitualmente con el nombre de impétigo; las placas exudan y se forman costras amarillentas que se adhieren a la piel, generalmente por *Staphylococcus* y *Streptococcus*. (Herrero y Moreno, 2010).

1.1.5 Rinitis alérgica

La rinitis es una enfermedad crónica inflamatoria de la mucosa nasal, caracterizada por la típica tétrada nasal constituida por cuatro síntomas principales que son; prurito nasal, estornudos en salvas, con rinorrea hialina y obstrucción nasal, la cual es en balanza o alternante. Frecuentemente se asocia a enrojecimiento ocular, prurito, lagrimeo y edema palpebral. Otros síntomas como prurito ótico o palatino pueden aparecer y cuando hay complicaciones sinusiales encontraremos cefalea, astenia, fatigabilidad, irritabilidad fiebre e insomnio. (Rodríguez, 2000; Larenas, 2014).

Hasta un 20% de pacientes llegan a desarrollar síntomas de asma. Aparece a cualquier edad, aunque es más frecuente en niños y adultos jóvenes, en los que la incidencia llega a ser del 20 % en algunas series, que se estiman infravaloradas por ser únicamente de pacientes que acuden a tratamiento. La curación espontánea de la enfermedad, es rara aunque frecuentemente los síntomas disminuyen con la edad. Existen diversas clasificaciones de la rinitis según su duración, etiología o patogenia.

En las RA cabe distinguir entre:

- Rinitis intermitente, aparece en el período de polinización de las plantas, que solía ser llamada primaveral. Sin embargo considerando que las estaciones son diferentes en cada población la tendencia actual es llamarla intermitente cuando hay síntomas menos de 4 días por semana por menos de 4 semanas.

- Rinitis persistente, los síntomas son más de 4 veces a la semana por periodos mayores a 4 semanas. No se presentan en alguna estación del año específica y son debidas, en general, a alérgenos del hogar como ácaros del polvo, animales domésticos, entre otros (Larenas, 2014).

1.1.6 Asma

El asma es una enfermedad heterogénea, caracterizada por Inflamación crónica de la vía aérea que manifiesta historia de síntomas respiratorios: sibilancias, tos, dificultad respiratoria y opresión torácica con variabilidad en intensidad en el tiempo asociada normalmente a Limitación variable del flujo aéreo espiratorio (GINA, 2016). El asma se define como una enfermedad inflamatoria crónica de las vías aéreas en la que participan diversas células y mediadores químicos; se acompaña de una mayor reactividad traqueobronquial (hiperreactividad de las vías aéreas) principalmente en la noche. Estos episodios se asocian generalmente a una obstrucción extensa y variable del flujo aéreo que a menudo es reversible de forma espontánea o como respuesta al tratamiento (Secretaría de Salud, 2017) El asma es la enfermedad crónica más frecuente en la infancia y adolescencia, llegando a afectar la calidad de vida de la persona que la padece y resulta en elevados costos sanitarios. (Secretaría de Salud, 2017). La trascendencia de esta patología se destaca en su alta incidencia y prevalencia (Ver **Cuadro 3 y 4**) por los altos costos que deriva de esta enfermedad; su prevalencia oscila entre 8% y 20%.

Cuadro 3. Casos por entidad federativa de enfermedades no transmisibles hasta la semana epidemiológica 48 del 2016 (Boletín Epidemiológico, 2016)

ENTIDAD FEDERATIVA	Insuficiencia Venosa Periférica CIE-10ª REV. I87.2			Asma CIE-10ª REV. J45, J46			Gingivitis y Enfermedad Periodontal CIE-10ª REV. K05					
	2016		2015	2016		2015	2016		2015			
	Sem.	Acum.		Acum.	Sem.	Acum.		Acum.	Sem.	Acum.		
		M	F			M	F			M	F	
TOTAL	3 045	44 131	129 801	182 917	5 778	109 019	127 944	247 642	19 494	380 832	654 968	1 085 755

FUENTE: SINAVE/DGE/Salud 2016. Información preliminar, incluye casos probables.

Cuadro 4. Principales causas de mortalidad por residencia habitual, grupos de edad y sexo del fallecido (INEGI, 2016).

Entidad federativa : Estados Unidos Mexicanos

Orden de Importancia	Causas	Clave Lista Mexicana	Defunciones
	Total	01-E59	655,688 ^b
1	Enfermedades del corazón ^c	26-29	128,731
	Enfermedades isquémicas del corazón	28	88,144
2	Diabetes mellitus	20D	98,521
3	Tumores malignos	08-15	79,514
4	Accidentes	E49-E53, E57-E58	37,184
	De tráfico de vehículos de motor	E49B	16,035
5	Enfermedades del hígado	35L-35M	35,718
	Enfermedad alcohólica del hígado	35L	11,863
6	Enfermedades cerebrovasculares	30	34,106
7	Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas	33G	21,057
8	Agresiones	E55	20,762
9	Influenza y neumonía	33B-33C	18,889
10	Insuficiencia renal	38C	13,300
11	Ciertas afecciones originadas en el período perinatal ^d	46	12,992
12	Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas	47	9,364
13	Desnutrición y otras deficiencias nutricionales	21	7,076
14	Lesiones autoinfluidas intencionalmente	E54	6,425
15	Bronquitis crónica y la no especificada, enfisema y asma	33D-33E	4,940

Los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de asma incluyen la exposición a alérgenos (ácaros en el polvo casero, pólenes, hongos, animales, cucarachas, alimentos y otras moléculas como irritantes ocupacionales), fumado, infecciones respiratorias virales, también se asocia a ejercicio, estados de ánimo, irritantes químicos y medicamentos (tales como aspirina y beta bloqueadores). (Vega, 2013).

No existe duda que el asma está determinada genéticamente, pero los factores que determinan que en algunos pacientes se desarrolle en una edad temprana y los que se relacionan con la severidad de la enfermedad están siendo estudiados. Las líneas de investigación epidemiológicas actuales son: la búsqueda de los genes que determinan el asma y la valoración de los factores de riesgo que determinan cuándo y de qué manera se desarrolla el asma. (Lezana y Arancibia, 2006).

1.1.7 El diagnóstico de la enfermedad alérgica

El diagnóstico del paciente alérgico comienza con un examen clínico de sus antecedentes y físico, incluyendo la identificación de factores de riesgo, el reconocimiento de las manifestaciones clínicas, así como la realización de pruebas *in vivo* e *in vitro* para identificar los alérgenos causantes. (Bellanti, 2016).

Las pruebas cutáneas son el método estándar utilizado para valorar la sensibilización a alérgenos mediada por una respuesta dependiente de IgE; es una prueba rápida, reproducible, segura y posee un valor predictivo positivo de 90% y negativo de 87%. Consiste en la aplicación de alérgenos modificados en forma química llamados alergoides, para uso en humanos con una lanceta o con escarificadores que colocan una pequeña gota del extracto alérgico a evaluar y después penetran pequeñas cantidades. Poniendo de manifiesto las reacciones de hipersensibilidad inmediata. (Cardona y Serrano, 2010).

1.2 Alérgenos

Un alérgeno es un antígeno, generalmente sustancias proteínicas no patógenas para la mayoría de la población pero que estimula una reacción de hipersensibilidad por mecanismos inmunológicos en personas sensibles (Cardona y Serrano, 2010). Las principales rutas de exposición a alérgenos son por inhalación, contacto cutáneo o de mucosas, consumo de alimentos, administración intravenosa, sublingualmente, o inyección.

Por el momento no se sabe cómo es que una proteína inocua para un portador normal es capaz de producir anticuerpos IgE en un sujeto susceptible. No obstante, suele aceptarse que ciertas propiedades estructurales, funcionales o biológicas del alérgeno, así como factores genéticos del portador influyen en las respuestas que se producen (Bellanti, 2016).

1.2.1 Ácaros de polvo

El polvo de casa es la principal fuente de alérgenos del interior de las viviendas, y es un ecosistema complejo compuesto por una mezcla de materia inorgánica y orgánica, que incluye escamas de piel humana, fibras, pólenes, insectos, derivados dérmicos de animales esporas de hongos, bacterias, virus, restos de alimentos, plantas de interior y ácaros. (Zubeldia *et al*, 2012).

El elemento orgánico más abundante en el polvo de las casas son los ácaros. Estos organismos forman parte de la familia de los arácnidos y constituyen una fuente importante de alérgenos, y por tanto son el principal factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades alérgicas. En Latinoamérica hay ciudades como México y Bogotá, con 2400 metros SNM en las que abundan las especies *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp) y *Dermatophagoides farinae* (Df), y donde entre 75 y 90% de los niños con síntomas perennes de asma o rinitis, tienen pruebas cutáneas positivas a estos ácaros. (Fernández *et al*, 2013).

La principal vía de exposición a los ácaros domésticos es a través de la inhalación de macropartículas que pueden derivarse del cuerpo o las heces de estos artópodos y se depositan preferentemente en telas y colchones. La temperatura influye, principalmente en la duración de cada estadio de desarrollo siendo preferentemente entre 25° y 30° C, el tamaño de la población de ácaros depende directamente de la humedad relativa la cual presenta un valor óptimo del 80%. (Cardona y Serrano, 2010).

Los ácaros domésticos se alimentan, principalmente de escamas humanas, liberadas por un adulto en una cantidad cercana entre 0,5 g a 1 g por día. La actividad enzimática de algunos extractos de ácaros domésticos contienen diversas proteínas de funciones hidrolíticas, como glucosidasas y lipasas. (Cardona y Serrano, 2010). En el **Cuadro 5** que se presenta a continuación se describen los principales alérgenos de los ácaros del polvo casero.

Cuadro 5. Alérgenos de ácaros domésticos: perteneciente a un grupo, nombre, pesos moleculares e identidad bioquímica (Cardona y Serrano, 2010).

Grupo	Alérgenos	MW (kDa)	Identidad bioquímica
Grupo 1	Bt, Dp, Dm, Em	25	Cisteína proteasas
Grupo 2	Bt, Dp, Df, Ds, Em, Ld, Tp, Gd, As	14	Unión a lípidos
Grupo 3	Bt, Dp, Df	24-31	Tripsina
Grupo 4	Bt, Dp, Dm, Em	57	α -Amilasa
Grupo 5	Bt, Dp, Ld	14-17	Desconocida
Grupo 6	Bt, Dp, Df	25	Quimiotripsina
Grupo 7	Dp, Df, Ld	24-31	Desconocida
Grupo 8	Ld, Gd, Bt, Dp	26	Glutación-S-transferasa
Grupo 9	Dp, Bt	30	Serina proteasa
Grupo 10	Bt, Dp, Df, Ld, Tp	33-37	Tropomiosina
Grupo 11	Bt, Dp, Df	98-110	Paramiosina
Grupo 12	Bt, Ld	14	Unión a quitina
Grupo 13	Bt, Ld, Gd, Tp, As	14-15	Unión a ácidos grasos
Grupo 14	Dp, Df, Em	117	Vitelogenina
Grupo 15	Df, Dp,	62,5,98,105	Quitinasa
Grupo 16	Df	55	Gelsolina
Grupo 17	Df	33	Proteínas de unión a calcio
Grupo 18	Df, Bt	60	Quinasa
Grupo 19	Bt	7	Péptido antimicrobiano
Grupo 20	Dp		Arginina quinasa
Grupo 21	Dp, Bt	13,2	Desconocida
Grupo 22	Dp		Desconocida

Nota: abreviaturas usadas: As: *Acarus siro*; Bt: *Blomia tropicalis*; Dp: *Dermatophagoides pteronyssinus*; Df: *Dermatophagoides farinae*; Ds: *Dermatophagoides sibonei*; Dm: *Dermatophagoides microcera*; Em: *Euroglyphus maynei*; Ld: *Lepidoglyphus destructor*; Tp: *Trypoglyphus putrescentiae*; MW: peso molecular (molecular weight); kDa: kilodaltons

1.3 Autoinmunidad

Las respuestas autoinmunitarias forman parte de la respuesta inmunológica normal para la depuración de antígenos propios derivados de la muerte y destrucción de células propias. Estas respuestas sobre todo las de auto-anticuerpos (AuAb), por sus siglas en inglés auto antibodies, tienen efectos reguladores y están diseñadas como un mecanismo de protección. (Pavón *et al*, 2016).

Las enfermedades autoinmunes se caracterizan por la destrucción de tejidos del huésped y la pérdida de la función de una respuesta inmunológica que está dirigida contra órganos específicos. En esta disfunción de la respuesta inmunológica participan elementos humorales y celulares del sistema inmunológico, citocinas y otros factores internos y externos (Pavón *et al*, 2016).

1.3.1 Autoantígenos

Se denomina autoantígeno a un constituyente normal del organismo contra el que el sistema inmunológico produce auto-anticuerpos (AuAb). Los autoantígenos son presentados en timo y a través de la selección positiva y negativa se seleccionan las clonas de manera que aquellas peligrosas sean eliminadas, también llamado mecanismo de tolerancia central, y en la periferia se les sigue reconociendo como propios gracias al mecanismo de tolerancia periférica. Los autoantígenos pueden definir la expresión de la EA como enfermedad órgano específica o sistémica, de acuerdo con la producción de AuAb contra ellos. Es probable que el autoantígeno sea el que dirija el proceso inflamatorio en las EA, ya que su persistencia produce el reclutamiento del repertorio autorreactivo. (Pavón *et al*, 2016; Cardona y Serrano, 2010).

1.3.2 Autoalérgenos

Son proteínas intracelulares, liberadas al exterior de la célula tras el daño tisular inducido por la inflamación. Entre estos destacan *Hom s 1*, es el más frecuente y se expresa en la epidermis; *Hom s 2*, muestra secuencias similares con antígenos presentes en plantas, animales, bacterias y levaduras; *Hom s 5*, es la citoqueratina

del tipo II. Con la información que se tiene se sugiere que la auto-reactividad es iniciada o al menos precedida por una sensibilización frente a alérgenos ambientales siendo aquella al daño tisular. La IgE dirigida contra autoalérgenos aumenta durante las exacerbaciones, a diferencia de la IgE contra alérgenos exógenos que aumenta después de la exposición. (Pelta y Gandolfo, 2001).

1.4 Piel

La piel está compuesta por diferentes tipos de capas protectoras. Incluye una barrera física, el estrato córneo; la barrera bioquímica o antimicrobiana del sistema inmunológico innato, compuesta por lípidos, ácidos grasos, lisozimas y péptidos antimicrobianos y la barrera inmunológica que comprende el sistema inmunitario humoral (inmunoglobulinas) y celular (linfocitos, células dendríticas, macrófagos). (Busi, 2008).

1.4.1 Epidermis

El conjunto de capas celulares que se extienden desde la membrana basal a la superficie constituyen la epidermis, de aproximadamente 0,2 mm de espesor. Es un auténtico epitelio malpighiano o pavimentoso, estratificado y cornificado, en la **Figura 2** se muestran las capas que la conforman. La epidermis se encuentra formada por múltiples capas de células aplanadas, llamadas queratinocitos, por su capacidad para sintetizar queratina, con uniones intercelulares especializadas, llamadas desmosomas. (Olmos, 2001).

El estrato córneo, la capa más externa de la epidermis, es una barrera protectora que impide la invasión de microorganismos y partículas antigénicas. Su formación resulta del proceso de proliferación y diferenciación de los queratinocitos, que inicia en la capa basal, y se caracteriza por una alteración en la expresión de proteínas, que depende de la localización de la célula en la epidermis y el sitio anatómico de la piel. (Busi, 2008)

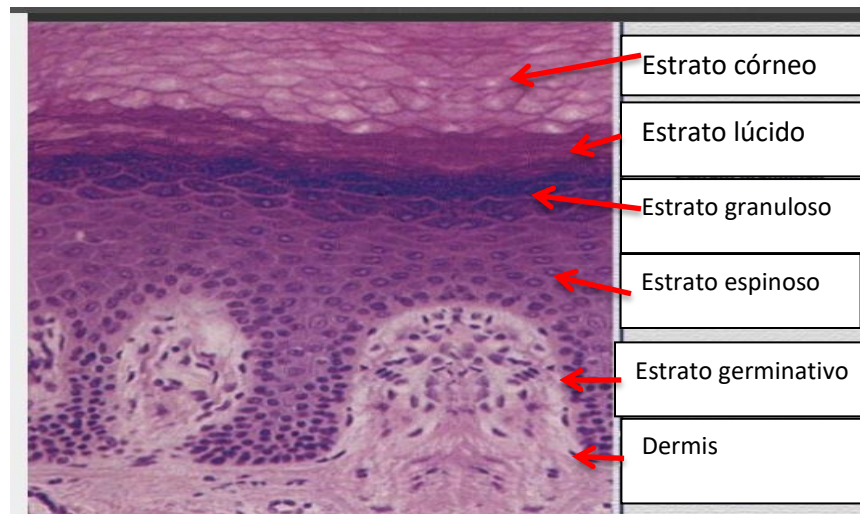


Figura 2. Capas que conforman la epidermis (Modificado de Espino, 2013)

1.4.2 Desmosomas

Los desmosomas son sistemas de unión intercelular, compuestos por tres familias de proteínas: 1) las plaquinas, 2) la familia de las proteínas del armadillo, 3) la familia de las cadherinas, formada por desmocollinas y desmogleínas que se unen a sus homólogas en las células vecinas. Ver **Figura 3** (Valencia y Velásquez, 2011).

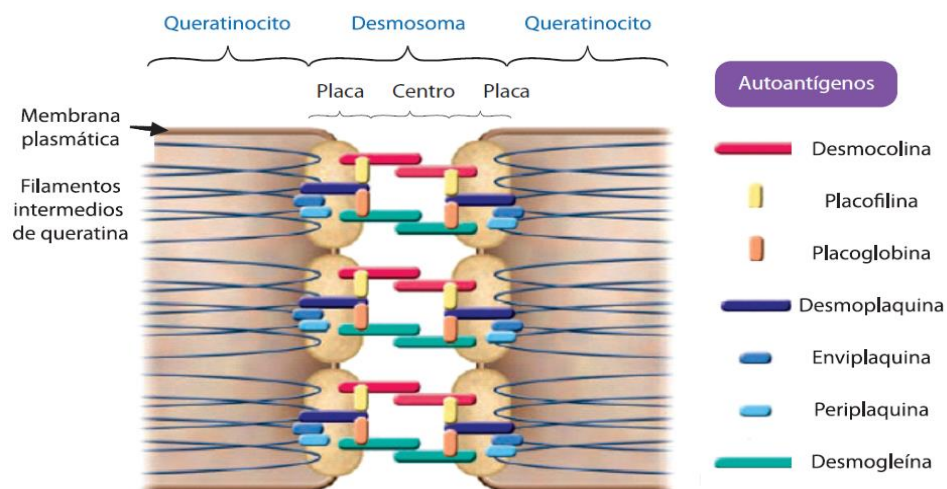


Figura 3. Estructura de los desmosomas (Valencia y Velásquez, 2011).

1.5 Filagrina

La filagrina es una proteína clave en la diferenciación de la epidermis y en la formación del estrato córneo de la piel. Es una proteína de 324 aminoácidos y 37 kDa de masa molecular y corresponde al 6% del contenido proteínico del estrato córneo de la epidermis. (Cubero, 2013).

La filagrina inicialmente agrega los filamentos de queratina en fibrillas de queratina (de ahí su nombre, filaggrin: filament aggregation protein), y su proteólisis durante la descamación origina ácidos grasos aminados: ácido transurocánico (trans-UCA) y pirrolidón carboxílico (PCA). Estos metabolitos actúan como osmolitos, atrayendo agua a los corneocitos y aportando así a su hidratación (Busi, 2008).

Los prominentes gránulos queratohialinos que se ven con microscopia óptica en las capas granulosas de la epidermis externa están formados predominantemente por la poliproteína profilagrina, de 400 kDa. Esta proteína se encuentra notablemente fosforilada y está constituida por diversas repeticiones de filagrina separadas por un péptido de unión de 7-10 aminoácidos (273). Después de la diferenciación terminal de los queratinocitos para formar las escamas, la profilagrina es desfosforilada y escindida en 10-12 copias de filagrina (Cubero, 2013). La caspasa 14, prostatina, calicreína 5 y elastasa-2, son enzimas proteolíticas que efectúan el proceso de profilagrina a filagrina *in vivo* y por eso son indispensables en la maduración de la epidermis y la formación del estrato córneo. (Maeve et al, 2013).

La profilagrina está codificada por el gen *FLG*, localizado en el complejo de diferenciación epidérmica del cromosoma 1 (locus 1q21), un clúster de genes que codifican proteínas implicadas en la diferenciación epidérmica²³. El gen *FLG* consta de 3 exones y 2 intrones. Las mutaciones identificadas en el gen *FLG* son la R501X y la 2282del4 cuyos portadores de estas en el gen de filagrina tienen un riesgo aumentado de padecer complejos que incluyen Ictiosis Vulgar, Dermatitis Atópica y sus complicaciones, tales como infección recurrente por *Staphylococcus aureus*, Dermatitis de contacto, Asma, Rinitis alérgica y alergia al cacahuate tal y como se muestra en la **Figura 4**. (Cabanillas y Sánchez, 2013).

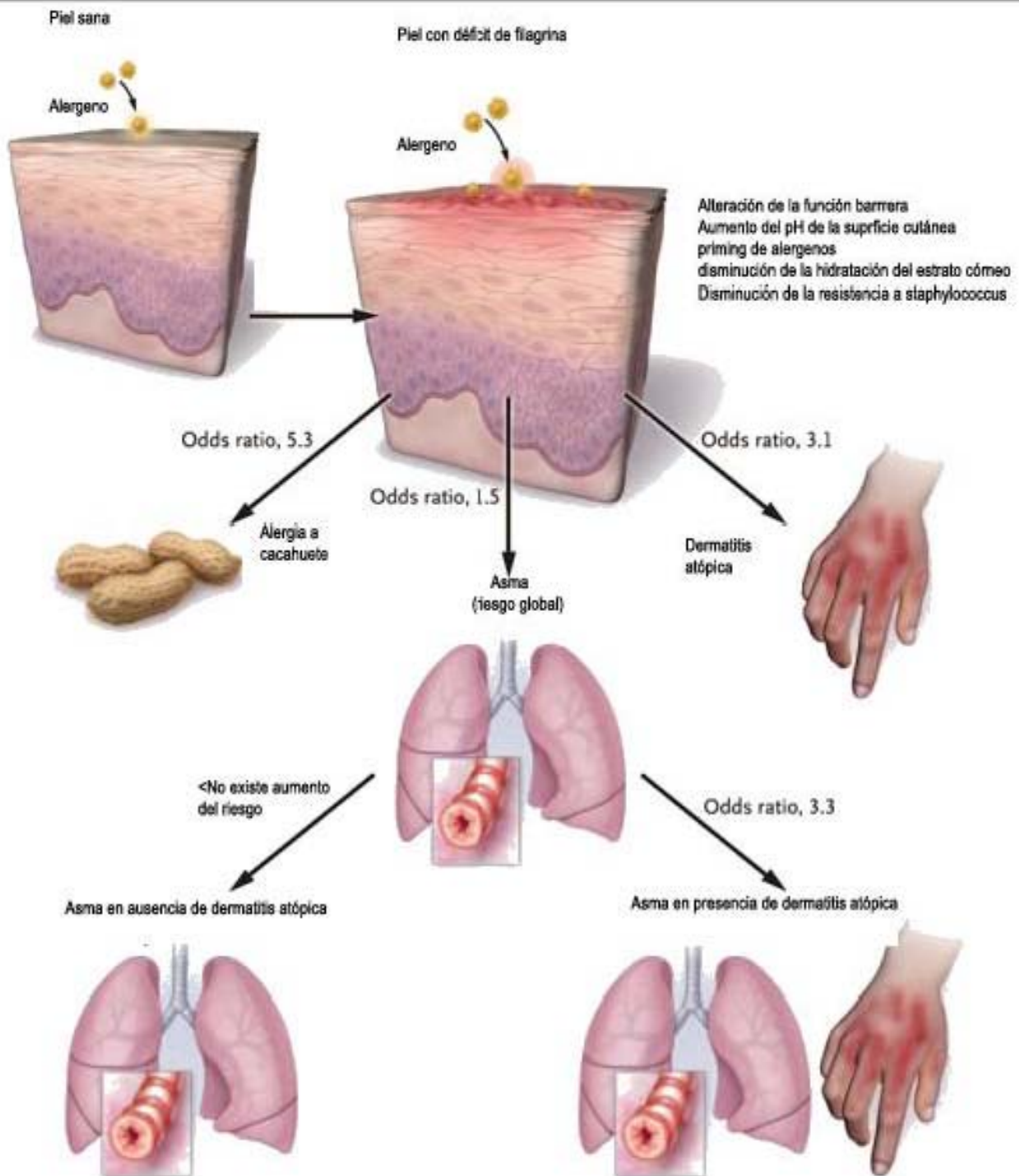


Figura 4. Consecuencias de la deficiencia de filagrina (Modificado de Irvine *et al*, 2011).

1.5.1 Filagrina en Artritis Reumatoide.

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune de tipo inflamatoria crónica sistémica, degenerativa y progresiva que conduce a una lesión estructural articular, al deterioro funcional y a la disminución de la calidad de vida en la mayoría de los pacientes. Es de las enfermedades autoinmunes más frecuentes, con una prevalencia en la población adulta del 0.5 al 0.8%, afectando principalmente mujeres, en una proporción de 2 a 3 por cada varón. Puede presentarse a cualquier edad, con una máxima incidencia entre los 30 y 55 años de edad. La prevalencia en Latinoamérica es del 23%; en México, 1.6% de los adultos la padecen. (Witalison *et al*, 2015), lo que supone muy elevados costos de tratamiento anual, además de ser incapacitante.

Se han identificado factores predisponentes de la enfermedad tales como ambientales, genéticos, e inmunológicos que propician una pérdida de la tolerancia inmunológica, así como un incremento de la producción de auto-anticuerpos como el factor reumatoide (FR) y anticuerpos antipéptidos citrulinados cíclicos (anti-CCP). Los anticuerpos que más se han asociado a esta enfermedad son: los anticuerpos antifactor perinuclear (AFP) y antiqueratina (AKA), ambos dirigidos contra filagrina citrulinada (AFA). (Witalison *et al*, 2015).

La citrulinación (conversión del residuo arginina a citrulina), es una modificación postraducciona (MPT) la cual es catalizada por la enzima peptidil arginina deiminasa (PAD) Ver **Figura 5**, de la que se han identificado 5 isoformas de la PAD con expresión diferencial en tejidos y órganos (Olivares *et al*, 2011).

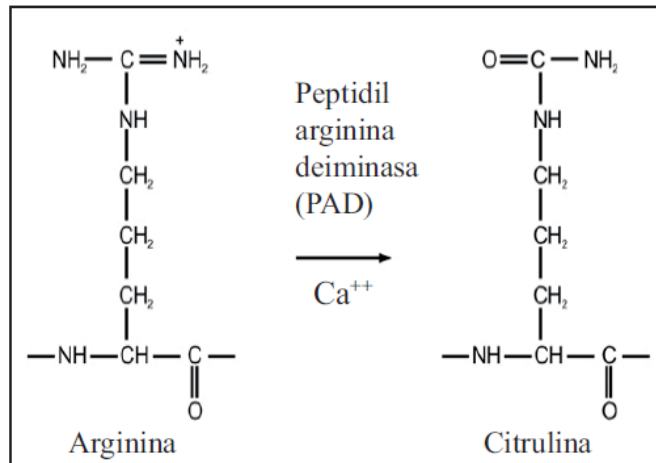


Figura 5. Transformación de la arginina en citrulina por la enzima PAD (Olivares *et al*, 2011).

Las proteínas citrulinadas se han relacionado con la progresión de la enfermedad en AR, La conversión de arginina en citrulina es capaz de activar la respuesta inmuológica. Dicha conversión da como resultado un cambio en la carga del aminoácido. A nivel proteínico, la reacción provoca una reducción en la masa molecular de aproximadamente 1,0 kDa, por cada arginina modificada. La carga positiva se pierde, por lo que el punto isoeléctrico (pI) también se ve modificado y las interacciones con otras proteínas también pueden verse afectadas. Esta modificación parece ser la especificidad antigénica, de manera que estos epítopes son reconocidos por el suero de pacientes con AR. (Olivares *et al*, 2011).

1.6 Desmogleínas

Son moléculas de adhesión transmembranales que poseen un dominio citoplasmático unido a las desmoplaquinas y placoglobinas, una porción que atraviesa la membrana celular y un dominio con cuatro regiones repetidas, de 110 aminoácidos cada una, seis sitios para ligar iones Ca^{++} esenciales para ejercer su función de adhesión y varios epítopes antigénicos (**Ver Figura 6**). Las desmogleínas forman uniones hemofílicas con las de la célula opuesta, cuyo resultado es una distribución homogénea y de distensión a toda la epidermis asegurando su función integral. En el desmosoma hay un espacio intercelular de 30 nm de diámetro llamado desmoglea correspondiente al dominio extracelular de las cadherinas. (Rodríguez, 2004).

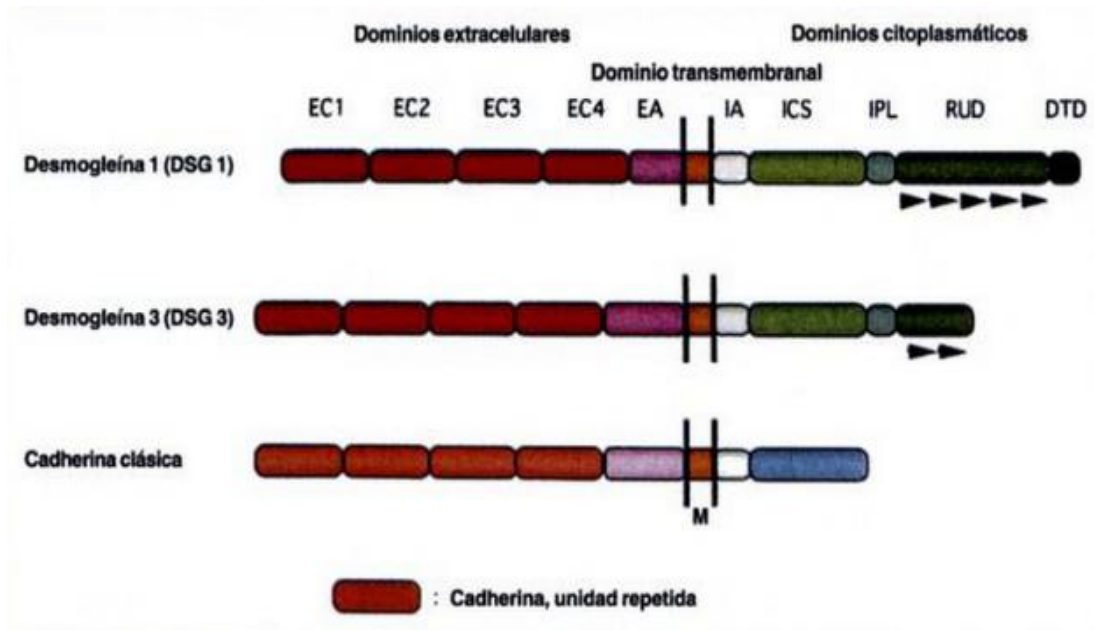


Figura 6. Esquema de las desmogleínas. (Rodríguez, 2004)

Los auto-anticuerpos contra determinados epítopes de las desmogleínas de los desmosomas originan acantolisis o pérdida de las uniones intercelulares que conduce a la formación de vesículas y ampollas, éste es el mecanismo patogénico de enfermedades ampollosas graves, denominadas “pénfigos”. Aunque existen cuatro tipos de desmogleínas, únicamente la desmogleína 1 (160 kD) presente en toda la epidermis, con mayor expresión en las capas superficiales especialmente en la granulosa; y la desmogleína 3 (130 kD) en mayor cantidad en la capa basal y suprabasal actúan como autoantígenos de estas enfermedades. (Valencia y Velásquez, 2011; Rodríguez, 2004).

En el pénfigo vulgar que afecta con ampollas y erosiones la boca y diferentes áreas de la piel debido a la acantolisis suprabasal, se presentan auto-anticuerpos contra la desmogleína 1 y 3, mientras que el pénfigo foliáceo solo afecta la piel ocasionada por la acantolisis subcorneana generada por autoanticuepos contra la desmogleína 1. (**Ver Figura 7**) (Valencia y Velásquez, 2011; Calebotta, 2009).

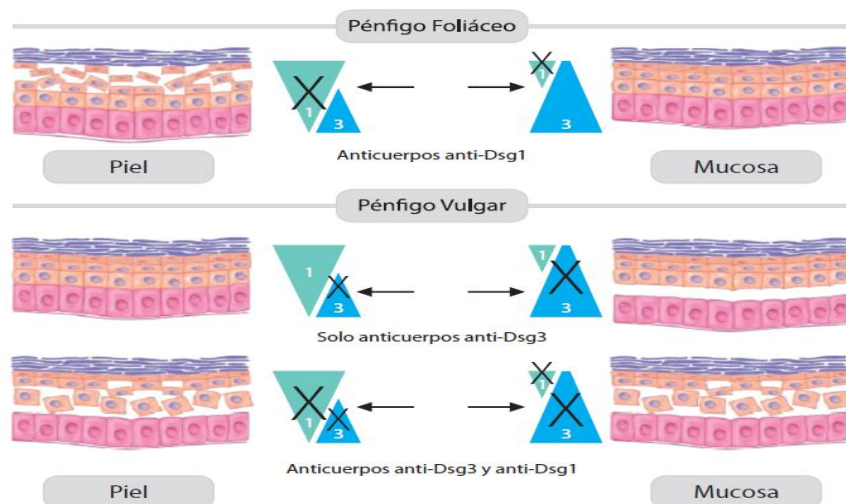


Figura 7. Deficiencia de las desmogleínas en el pénfigo (Valencia y Velásquez, 2011).

1.7 Inmunofluorescencia

La fluorescencia es una propiedad de ciertas moléculas que, al ser irradiadas con energía electromagnética de longitud de onda adecuada, emiten radiación de longitud de onda característica permitiendo su cuantificación. Las moléculas de un colorante fluorescente absorben luz en una longitud de onda y convierten la luz absorbida de alta energía (longitud de onda más corta) en luz de menor energía (longitud de onda más larga). Cada fluorocromo tiene un espectro de emisión y excitación característicos; si se utilizan dos con el mismo espectro de excitación pero distinto espectro de emisión, se pueden medir dos características al mismo tiempo (fluorescencia de dos colores). (IPK, 2013)

La Inmunofluorescencia se utiliza esencialmente en la detección de auto-anticuerpos y anticuerpos contra antígenos de superficie de células y tejidos. Las moléculas proteínicas de los anticuerpos se unen al marcador fluorescente (fluorocromo) por medio de firmes enlaces químicos. Como la actividad inmunológica de estos anticuerpos no se altera, la capacidad de los mismos de unirse a los antígenos homólogos permanece íntegra. (IPK, 2013)

Debido a la alta especificidad de la reacción Ag-Ac, la IF se ha convertido en un método muy útil para el diagnóstico. Otra de sus ventajas, es el tiempo relativamente corto que se requiere para el procesamiento de la muestra hasta llegar al resultado final. La IF es aplicable a cualquier sustancia antigénica que se localice dentro o fuera de las células, sean antígenos protozoarios, bacterias, rickettsias, virus, hormonas, enzimas, antígenos tisulares y otros. (Calderón, 2007).

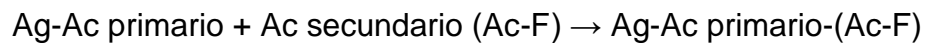
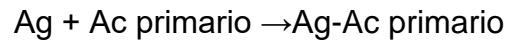
Método Directo: El material se tiñe directamente con el correspondiente anticuerpo marcado.



Este es el método más simple y específico aunque es menos sensible que el indirecto. Tiene la desventaja de que para cada antígeno específico se requiere de

un anticuerpo homólogo marcado con el fluorocromo, lo cual no resulta económico ni práctico.

Método Indirecto: El anticuerpo primario (no marcado) se añade sobre la muestra y el anticuerpo secundario (marcado) se combina con el complejo Ag-Ac primario. Si la fluorescencia es específica, se puede identificar el antígeno cuando se conoce el anticuerpo primario o viceversa.



Este método, en comparación con el directo, presenta 3 ventajas fundamentales: es más sensible, sirve para detectar tanto Ag como Ac y se puede trabajar una amplia variedad de Ag-Ac siempre que se utilicen sueros de la misma especie. A continuación se presenta en la **Figura 8** el esquema del fundamento antes mencionado.

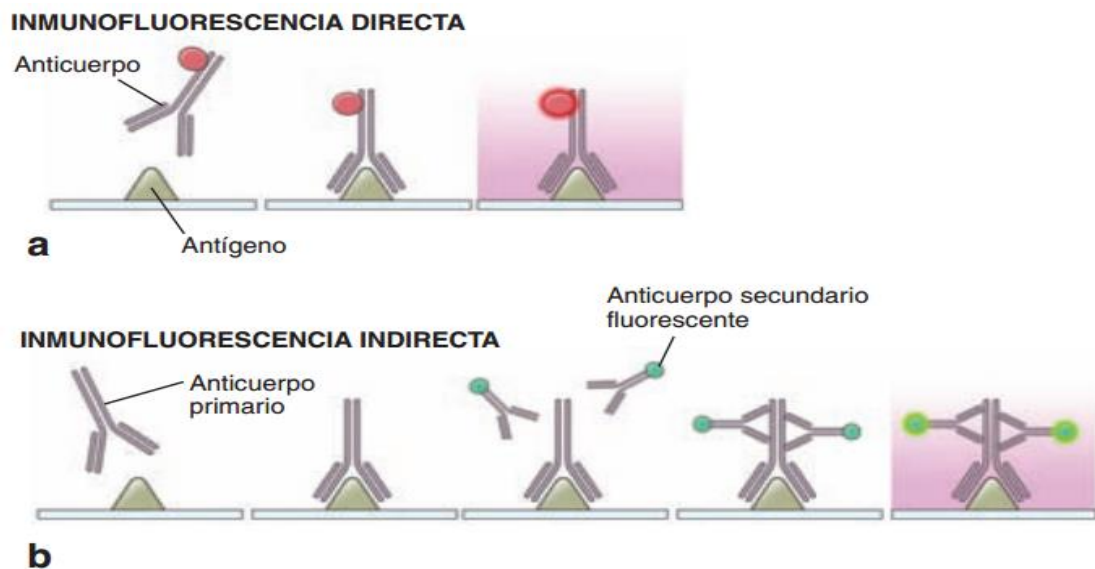


Figura 8. Fundamento de la Inmunofluorescencia. (Ross y Pawlina, 2012).

En estudios previos realizados por nuestro grupo de investigación, hemos demostrado que pueden existir anticuerpos anti-escamas de la piel. Lo anterior fue el resultado de estudiar los alérgenos provenientes del polvo de casas de pacientes alérgicos a los ácaros, así como de cultivo de los ácaros a los cuales se les agregó escamas de piel humana, levaduras, cabellos y uñas provenientes de humano. Además se utilizó un testigo el cual contenía escamas de piel humana, levaduras, uñas y cabello. El cual también dio positivo al reconocimiento por parte de los anticuerpos de los pacientes alérgicos a los ácaros. Al estudiar por separado se encontró que el componente del medio de cultivo al que iban dirigidos estos anticuerpos fueron las escamas de la piel humana. Lo anterior fue comprobado al utilizar queratinocitos cultivados *in vitro* (Zendejas, 1987).

Estos hallazgos generaron una nueva línea de investigación, la cual hizo evidente que los pacientes alérgicos a los ácaros de polvo también presentan anticuerpos contra las escamas de piel humana, debido posiblemente a que las excretas de los ácaros además de contener las enzimas alergénicas provenientes de los mismos están mezcladas con proteínas de la epidermis humana. La consecuencia es que estos pacientes desarrollan además de la respuesta de hipersensibilidad a los alérgenos de los ácaros, una auto-reactividad hacia proteínas de la piel humana. En estudios complementarios ha sido evidente la presencia de estos anticuerpos por medio de técnicas como ELISA (Zendejas, 1987), Inmuno-electro-transferencia (Vilchis, 2012), proliferación de linfocitos (García, 2015), y degranulación de basófilos (Solis, 2016). Dichos anticuerpos auto-reactivos se han encontrado no sólo en pacientes con dermatitis, sino también en pacientes con asma bronquial y rinitis alérgica.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Partiendo de la pregunta de investigación: ¿Existen anticuerpos anti-filagrina y anti-desmogleína, en pacientes con alergia al acaro del polvo doméstico (*Dermatophagoides pteronyssinus* y *farinae*)? Tratamos de resolver este problema realizando estudios de ensayo de Inmunofluorescencia indirecta en busca de estos auto-anticuerpos en pacientes sanos, en pacientes alérgicos al acaro y en pacientes alérgicos a otros alérgenos. Posteriormente se comprobará mediante un análisis estadístico descriptivo y pruebas de correlación si se confirma o no nuestra hipótesis de trabajo.

3. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

El presente estudio pretende determinar si los anticuerpos identificados en pacientes con alergia van dirigidos contra las proteínas filagrina y desmogleína involucradas en la patología de las enfermedades autoinmunes. Encontrar auto-anticuerpos en estos pacientes puede tener un papel en la patología de la hipersensibilidad tipo I. Por lo tanto buscar anticuerpos contra otros blancos moleculares podría ser un inicio para explicar la cronicidad y agravamiento de la enfermedad alérgica.

4. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la presencia de anticuerpos anti-filagrina y anti-desmogleína, en pacientes con alergia al ácaro del polvo (*Dermatophagoides pteronyssinus* y *farinae*) mediante el ensayo de Inmunofluorescencia indirecta.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Selección de los pacientes con base en el diagnóstico de alergia al polvo casero mediante prueba cutánea.
- Obtención de muestra sanguínea, fraccionamiento del suero y almacenamiento en congelación.
- Obtención de la información clínica y antecedentes heredo familiares
- Realización del ensayo de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) para la búsqueda de anticuerpos en el suero de los pacientes alérgicos con reconocimiento hacia filagrina y desmogleína.
- Análisis estadístico de resultados mediante pruebas no paramétricas.

5. HIPÓTESIS

Si los pacientes que tienen alergia a los ácaros del polvo (*Dermatophagoides pteronyssinus* y *farinae*).presentan otros desórdenes inmunológicos tales como auto-reactividad, entonces estarán presentes los auto-anticuerpos anti-filagrina y anti-desmogleína.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

a) Diseño del estudio

El presente trabajo fue de tipo observacional, descriptivo, propsectivo y transversal

El estudio es observacional ya que solo se detecta la presencia de ciertos analitos (anticuerpos anti-filagrina y anti-desmogleína)

Es de tipo descriptivo ya que se presentan características de las manifestaciones clínicas así como ensayos de laboratorio.

El diseño del estudio es de tipo transversal debido a que se estudiaron a los pacientes en un solo momento determinado de su enfermedad.

Es de tipo prospectivo ya que se va a estudiar el comportamiento a futuro de la respuesta inmunológica de los pacientes.

b) Selección de pacientes

Se estudiaron 100 pacientes a los que se les practicaron pruebas cutáneas, para demostrar reactividad alérgica contra algún alérgeno por parte del personal médico adscrito al servicio de alergia del Hospital Juárez de México SS.

A estos pacientes se les hizo entrega de una carta de Consentimiento/Asentimiento informado en la que en caso de estar de acuerdo a participar en este proyecto firmaron de conformidad.

Grupo Problema.

1. Alérgicos al ácaro: Se estudiaron 60 pacientes

Criterios de inclusión:

- Diagnóstico de atopia por parte del Servicio de Alergia del Hospital Juárez de México
- Resultado de prueba cutánea positiva (mayor a tres cruces) hacia el ácaro del polvo casero (*Dermatophagoides pteronyssinus* y/o *farinae*).

Criterios de exclusión:

- Haber presentado prueba cutánea negativa menor a tres cruces hacia el alérgeno del ácaro de polvo casero.
- Prueba cutánea positiva a *Blatella germánica* y/o *Periplaneta americana*

Grupo Testigo

2. El grupo Alérgicos no relacionados conformado por 20 sujetos

Criterios de inclusión:

- Haber presentado pruebas dérmicas positivas (mayor a tres cruces) hacia otros alérgenos.

Criterios de exclusión:

- Prueba cutánea positiva hacia uno o ambos tipos de ácaros del polvo casero (*Dermatophagoides pteronyssinus* y *farinae*).
- Prueba cutánea positiva a *Blatella germánica* y/o *Periplaneta americana*

Grupo Testigo Negativo

3. El grupo testigo llamado Negativos a pruebas cutáneas de 20 sujetos

Criterios de inclusión:

- Que presentaron prueba dérmica negativa hacia cualquier alérgeno
- Sin manifestaciones clínicas de alergia.

Criterios de exclusión:

- Haber presentado alguna manifestación clínica de alergia
- Prueba cutánea positiva hacia cualquier tipo de alérgeno

c) *Obtención de la muestras*

La técnica de Venopunción por sistema al vacío que se utilizó en los 100 pacientes se describe de la siguiente manera:

- El paciente se mantuvo sentado apoyando bien el brazo en una superficie plana.

- Se preparó el material. (En presencia del paciente se rompió el sello de seguridad de la aguja “doble filo” sin quitar el protector de la misma y se colocó en el adaptador).
- Se localizó la vena con el dedo índice y/o medio.
- Posteriormente se limpió la zona a puncionar con una torunda con alcohol isopropílico al 70% de manera circular del centro hacia afuera y se dejó secar al aire.
- Se colocó la ligadura (torniquete) aproximadamente 7 cm arriba del hueco del codo.
- Se sujetó la parte posterior del brazo del paciente a nivel del codo para jalar ligeramente la piel sobre la vena.
- El ángulo de punción que se efectuó fue de aproximadamente 45 grados, insertando primero la aguja con el bisel hacia arriba colocándola paralela al trayecto de la vena y posteriormente insertando un tubo al vacío tapón amarillo, se retiró la ligadura (torniquete)
- Se dejó llenar el tubo hasta el volumen preestablecido.
- Cuando finalizó la recolección, primero se retiró el tubo y posteriormente la aguja.
- Finalmente se presionó el sitio de la venopunción con una torunda con alcohol isopropílico al 70% y se colocó un apósito adhesivo elástico.

Fraccionamiento del suero a partir de la muestra sanguínea.

Se obtuvo la muestra de sangre con un tubo al vacío tapón amarillo, y posterior centrifugación a 560 g/10 min. Se separó el suero vaciándolo en tubos Eppendorf (previamente identificados con los datos del paciente).

El suero fue almacenado en congelación a -20°C hasta el momento de su uso en las instalaciones del Hospital Juárez de México.

Posteriormente los sueros fueron trasladados en un sistema de enfriamiento al área de Inmunología del laboratorio central del Hospital Infantil de México “Federico Gómez” para procesar las muestras.

c) Técnica de Inmunofluorescencia Indirecta

Se utilizaron equipos comerciales EUROIMMUN* para la detección de anticuerpos anti-filagrina y anti-desmogleína mediante IFI. (Ver anexo del inserto)

A las muestras de suero de los pacientes se les realizó una dilución 1:10 con PBS como indica el inserto del equipo comercial. Se colocaron 30 µl de cada dilución en los pozos de la placa, impregnados con cortes histológicos de esófago de rata en el caso de la filagrina y células transfectadas EU90 para la desmogleína.

La placa se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente con el propósito de que los anticuerpos, en el caso de estar presentes en el suero de los pacientes, se unieran al antígeno filagrina/desmogleína presentes en el sustrato según sea el caso.

Posteriormente, fueron realizados 2 lavados, los cuales consistieron de una agitación durante 5 minutos en PBS-Tween con agitador de placa. Lo anterior fue con el propósito de retirar lo que no se une de manera específica.

Para hacer visible la reacción, se llevó a cabo el revelado que consistió en adicionar 25 µl del anticuerpo con la marca fluorescente (fluoresceína), que reconoce específicamente la región Fc de la IgG humana. Posteriormente se incubó la placa durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Se realizaron 2 lavados, como se mencionó anteriormente, para retirar el exceso de reactivo. Se colocó un cubre objetos con una gota de glicerol para fijarlos en la placa y se dejó secar unos minutos.

*EUROIMMUN es una empresa productora de sistemas de prueba para el diagnóstico de laboratorio médico de enfermedades autoinmunes e infecciosas, alergias, y para los análisis de genes.

La lectura fue realizada al microscopio de fluorescencia con un objetivo de 40x por tres analistas para un posterior consenso en emitir un resultado denominado positivo fuerte, positivo débil y negativo en el caso de la filagrina, si la fluorescencia se presentó en el estrato corneo del corte histológico de esófago de rata, o positivo y negativo en el caso de la desmogleína si las células transfectadas emitieron fluorescencia. En la **Figura 9** se muestra el esquema de la técnica empleada proveniente del inserto del equipo de diagnóstico empleado.

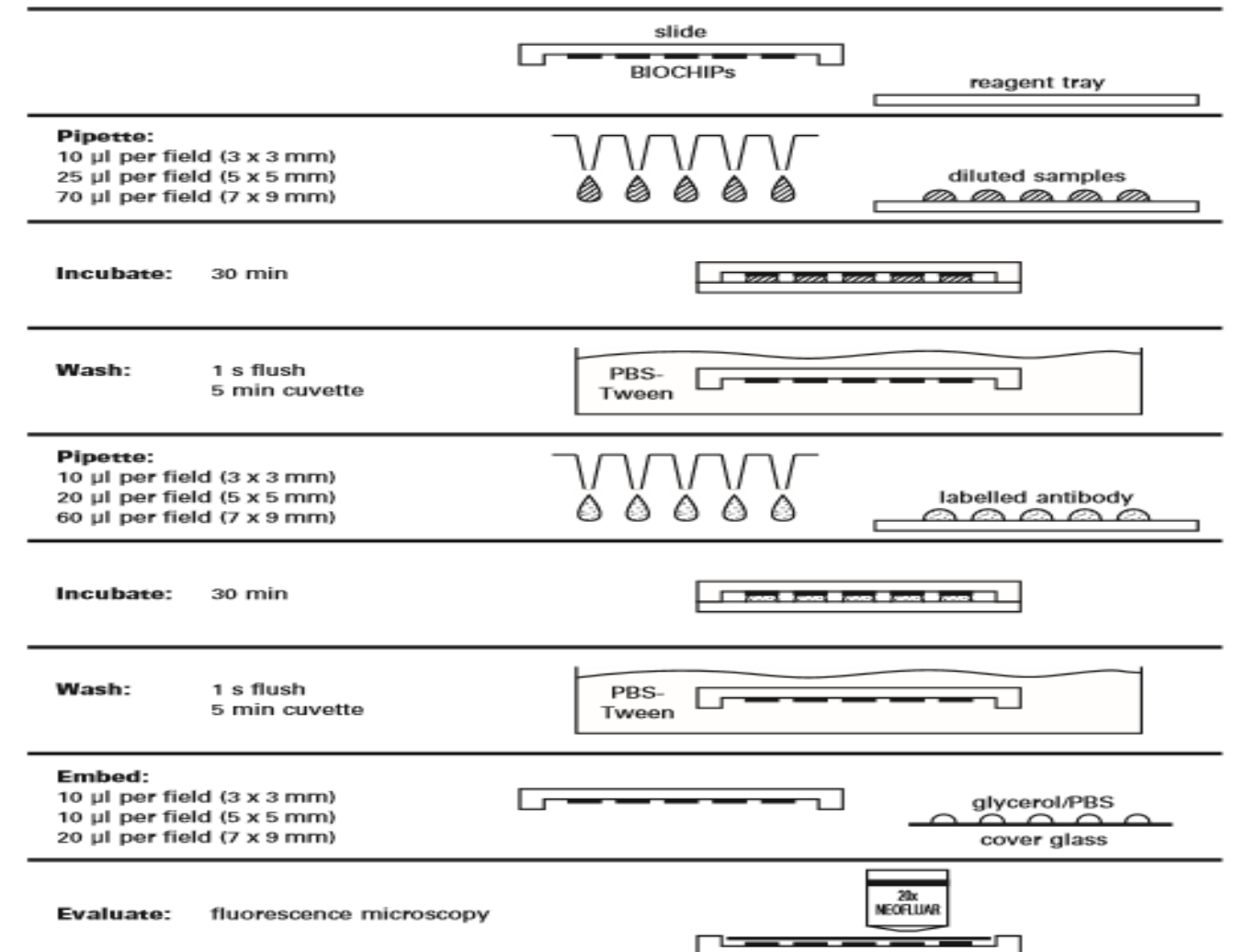


Figura 9. Esquema metodológico de la técnica de IFI proveniente del inserto EUROIMMUN utilizado.

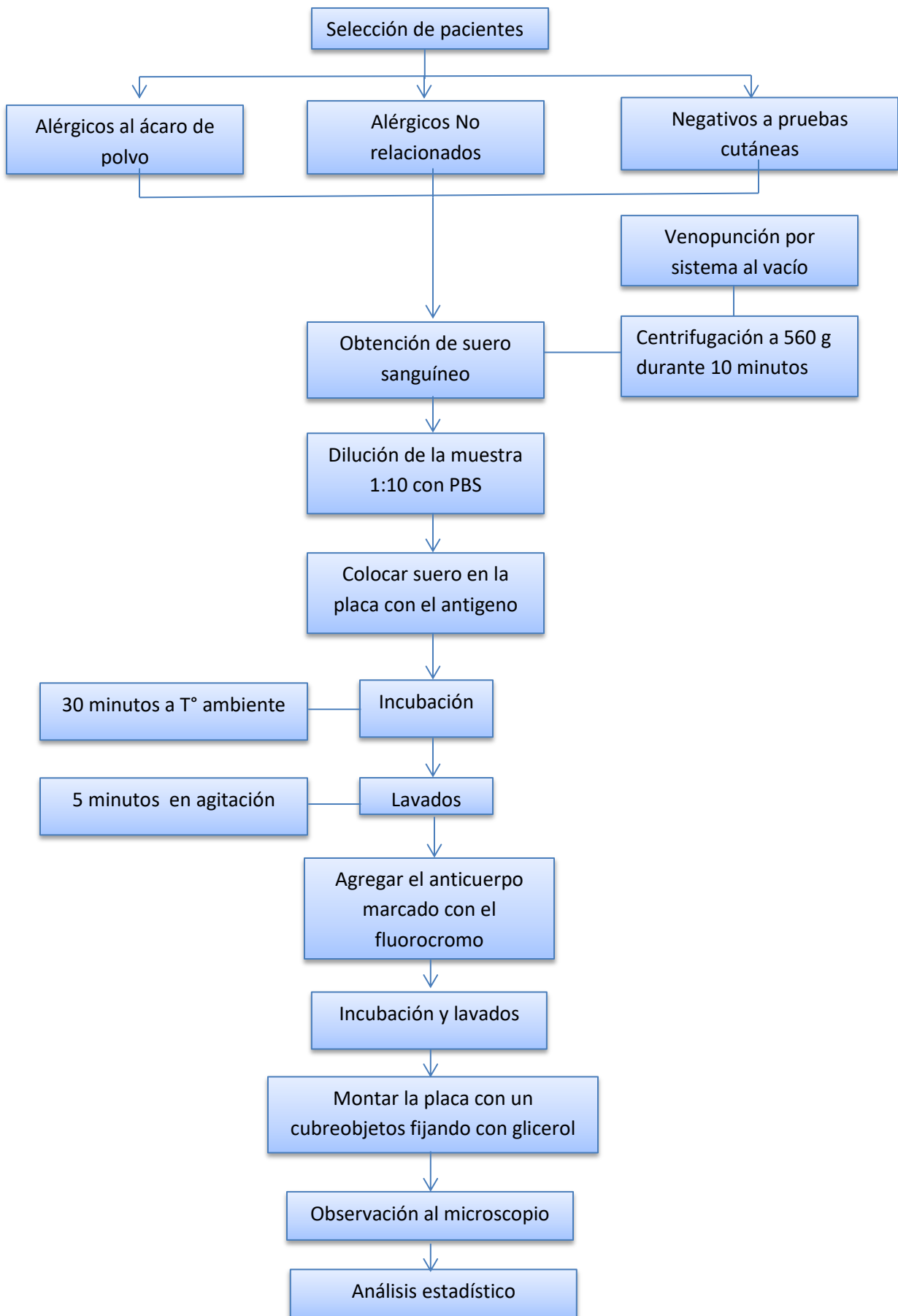
d) Análisis estadístico de los resultados

Se realizaron cálculos de frecuencia simples y de asociación de diversos parámetros. Para el análisis de datos se utilizó el software estadístico IBM SPSS Statistics, que permitió la elaboración de gráficos, cuadros y correlaciones de los resultados.

Por otro lado, se calcularon la sensibilidad y especificidad de la prueba, así como el Odds Ratio (OR) que es una medida de efecto comúnmente utilizada para comunicar los resultados de una investigación en salud, siendo una forma alternativa de expresar la posibilidad de ocurrencia de un evento de interés o de presencia de una exposición (Cerdeira *et al.*, 2013).

Se calculó el Valor Predictivo Positivo (VPP) y Valor Predictivo Negativo (VPN) para estimar la probabilidad de que la prueba diagnóstica entregue el diagnóstico correcto, si esta resulta positiva o negativa (Bravo y Cruz., 2015).

DIAGRAMA DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA



7. RESULTADOS

7.1 Resultados a la prueba de filagrina

A continuación se presentan en Figuras las características del grupo problema de pacientes alérgicos a los ácaros de polvo con relación al grupo etario. (Ver **Figura 10**)

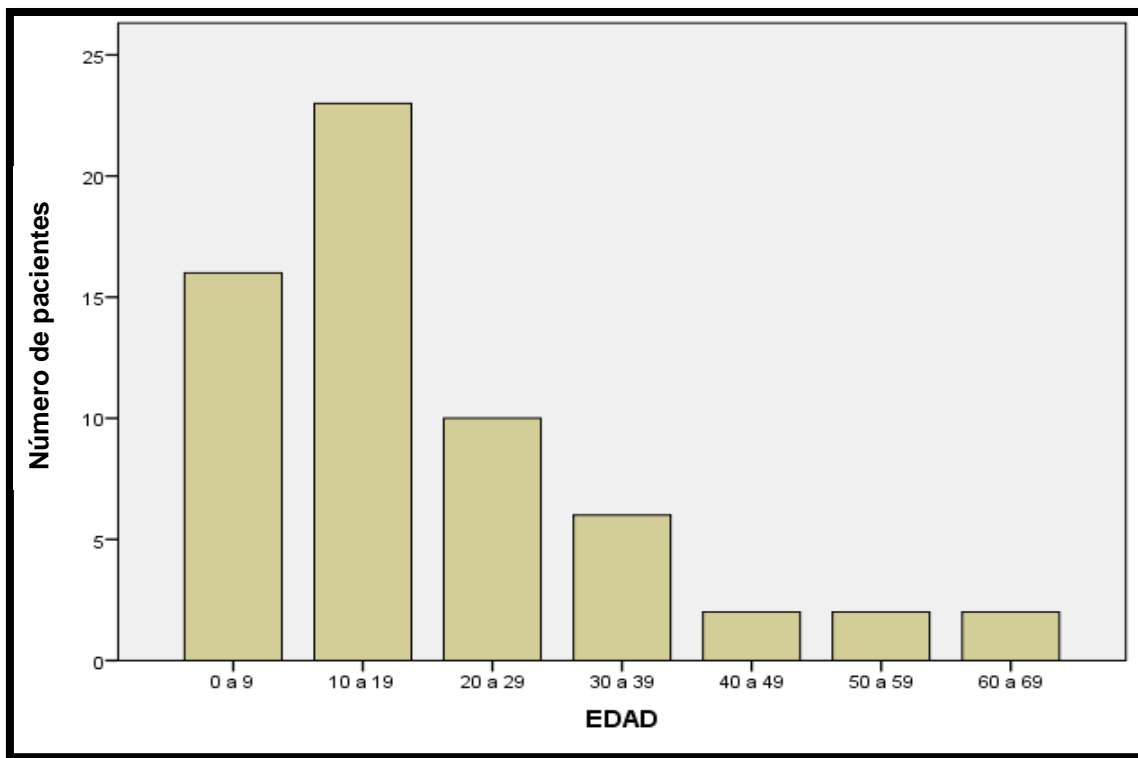


Figura 10. Distribución de la población alérgica al ácaro del polvo casero por grupo etario. Se aprecia que en el grupo de 10 a 19 años existen un mayor número de casos que presentan alergia al ácaro del polvo casero con 23 pacientes.

En la **Figura 11** se describe cual es la frecuencia con la que se presentan las manifestaciones clínicas de alergia del grupo problema. En la **Figura 12** se presenta la distribución de la población estudiada según el género al que pertenecen.

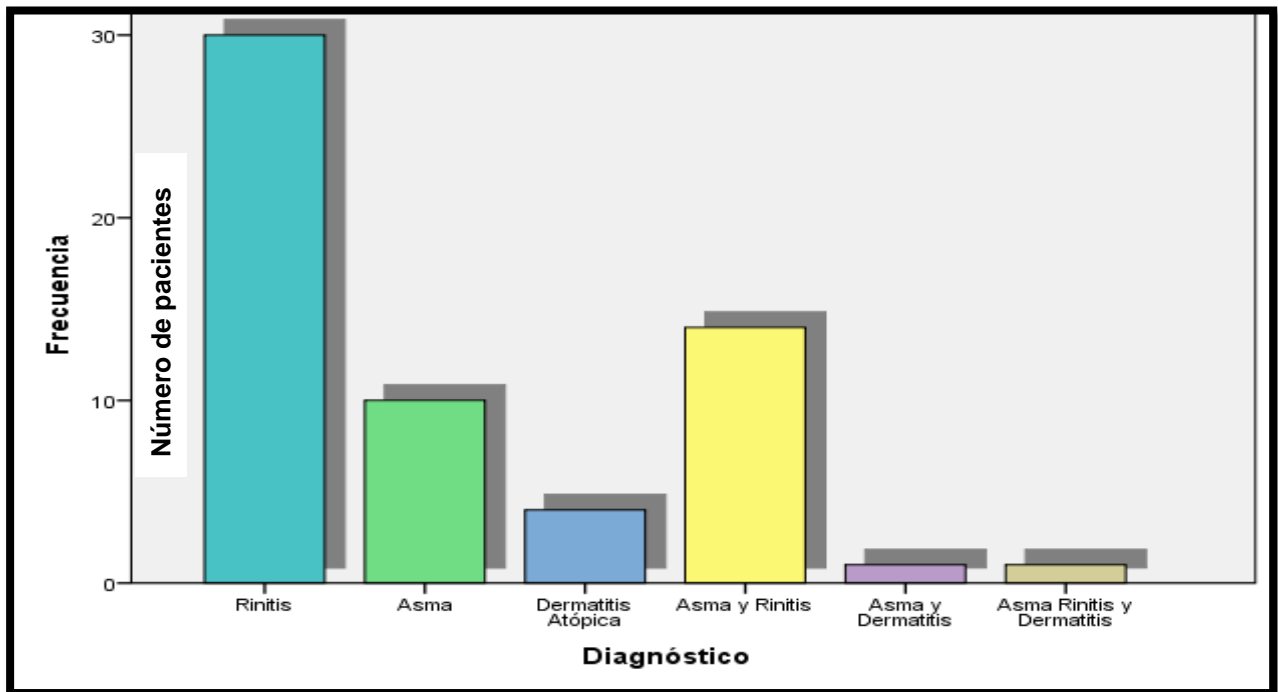


Figura 11. Distribución de la población de pacientes alérgicos con base en su diagnóstico. Se observa que la Rinitis alérgica es la patología que más se presenta en la población de alérgicos

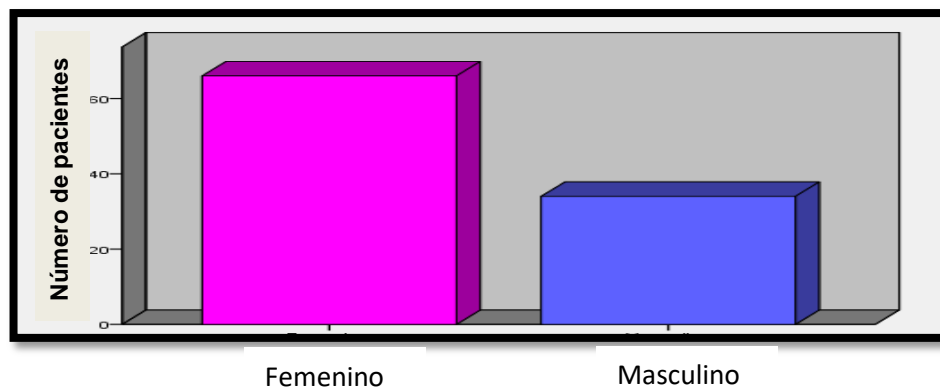
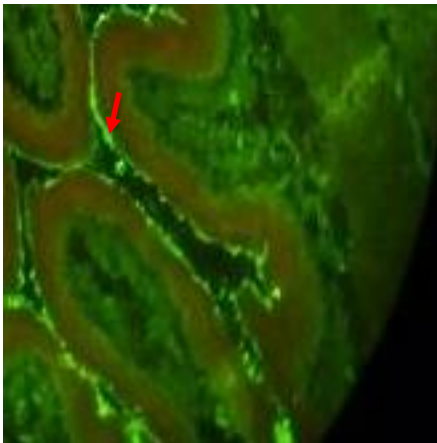


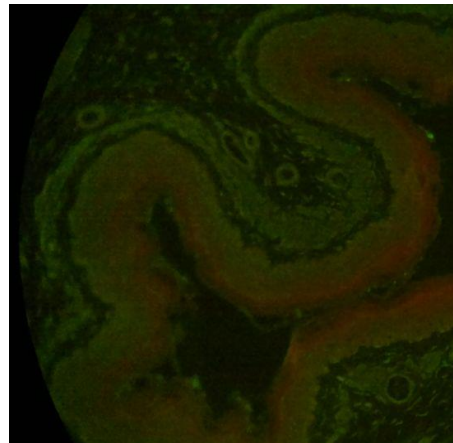
Figura 12. Distribución de los pacientes en cuanto al género. El 66% de la población fueron mujeres. Por el contrario el 33% restante fueron pacientes masculinos.

1.1 Resultados a la prueba de filagrina

Lo que se muestra a continuación son ejemplos de cómo se observan los testigos positivo y negativo (Ver **Figura 13**).



TESTIGO POSITIVO



TESTIGO NEGATIVO

Figura 13. Imágenes en donde se muestra la tinción de los testigos positivo y negativo respectivamente. En el caso del testigo positivo es evidente la fluorescencia en donde se une el anticuerpo anti-filagrina localizado a lo largo del estrato córneo del epitelio de esófago de rata (flecha). En el caso del testigo negativo no se observa dicha tinción en el estrato córneo.

Con el propósito de establecer una diferencia en las muestras positivas por la técnica de Inmunofluorescencia se decidió separarlas en dos grupos, con base en grado de reactividad detectada. Se catalogó a una muestra como positiva fuerte (Ver **Figura 14**), en donde se presentó una línea continua de fluorescencia localizada a lo largo de todo el estrato córneo en el corte histológico de esófago de rata como en el caso del testigo positivo (Ver **Figura 13**). En el segundo caso se catalogó a una muestra positiva débil (Ver **Figura 15**), es cuando la fluorescencia solo se presentó en ciertas regiones del estrato córneo.

En el caso de los negativos (Ver **Figura 16**), no se observó la presencia de fluorescencia pero si se observó la silueta corte histológico como en el testigo negativo (Ver **Figura 13**).



Figura 14. Imágenes a 40X provenientes del equipo de diagnóstico para la detección de anticuerpos anti-filagrina en el suero de tres pacientes que presentaron un reconocimiento fuerte usando como sistema de detección cortes histológicos de esófago de rata. En donde se observa una línea continua de la marca fluorescente (flecha) en el estrato córneo del epitelio.

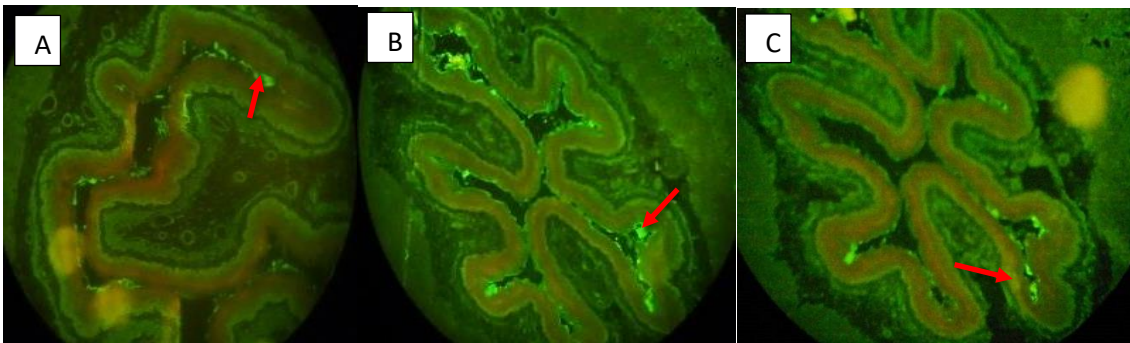


Figura 15. Imágenes 40X provenientes del equipo de diagnóstico para la detección de anticuerpos anti-filagrina en el suero de tres pacientes que presentaron un reconocimiento débil usando como sistema de detección cortes histológicos de esófago de rata. En donde se observan zonas de la marca fluorescente (flecha) en el estrato córneo del epitelio.

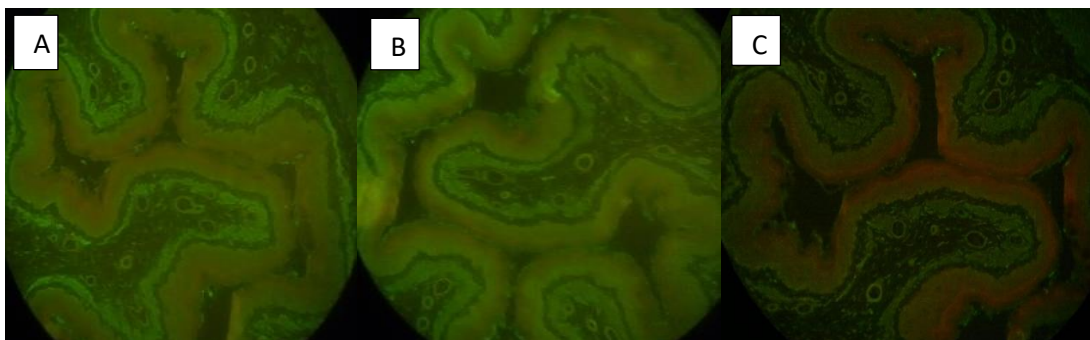


Figura 16. Imágenes 40X provenientes del equipo de diagnóstico para la detección de anticuerpos anti-filaggrina en el suero de tres pacientes que no presentaron reconocimiento. Usando como sistema de detección cortes histológicos de esófago de rata. En donde se observa el estrato córneo pero no hay presencia de fluorescencia.

En el **Cuadro 6** se presenta el resultado por grupo de la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta para la detección de anticuerpos anti-filaggrina

Cuadro 6. Resultados en número y porcentaje de la técnica IFI de los tres grupos estudiados para el anticuerpo anti-filaggrina

Resultado\grupo	Pacientes negativos a pruebas cutáneas	Pacientes alérgicos al ácaro	Pacientes no relacionados
Negativos	13	18	11
Positivo débil	6	33	5
Positivo fuerte	1	9	4
Total de pacientes	20	60	20
Porcentaje			
Negativos	65%	30%	55%
Positivo débil	30%	55%	25%
Positivo fuerte	5%	15%	20%
Total	100%	100%	100%

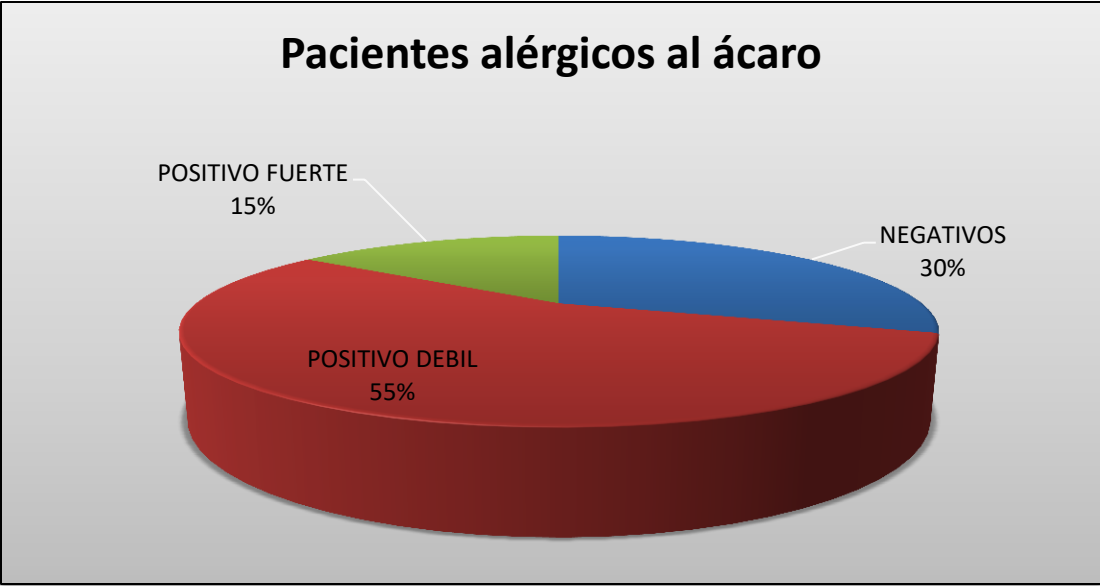


Figura 17. Porcentaje de pacientes "alérgicos al ácaro del polvo casero mediante pruebas cutáneas (mayor a tres cruces)" que presentan anticuerpos anti-filagrina (grupo positivo), mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta. Se observa que el resultado con mayor frecuencia el es positivo débil con 55% de los casos.

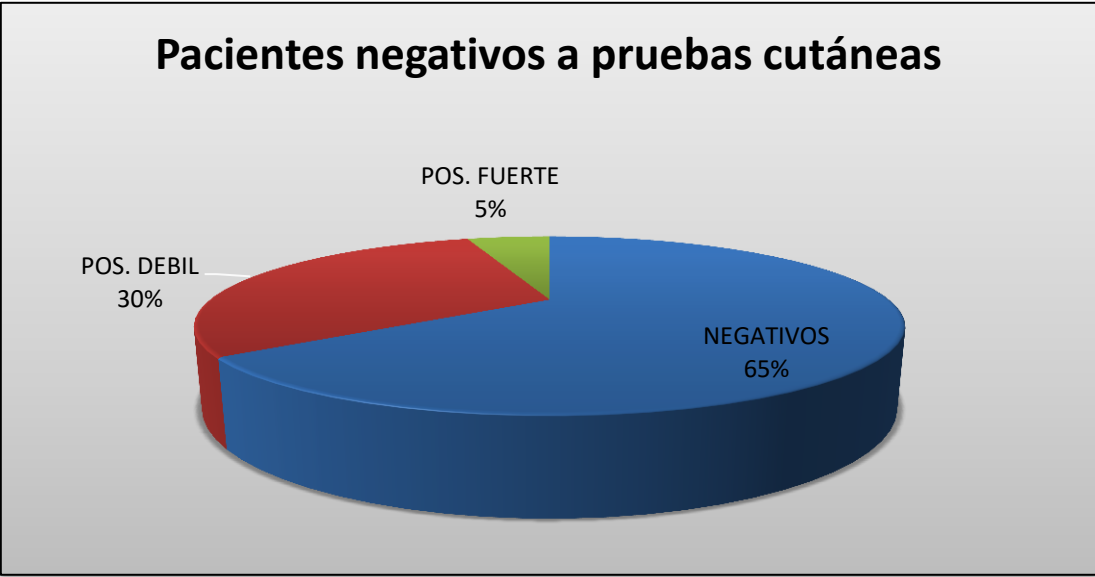


Figura 18. Porcentaje de pacientes "negativos a pruebas cutáneas" que presentan anticuerpos anti-filagrina (grupo negativo), mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta. El resultado negativo se encuentra en mayor porcentaje con el 65%, seguido del resultado positivo débil y por último, sólo el 5% de los casos presenta un resultado positivo fuerte.

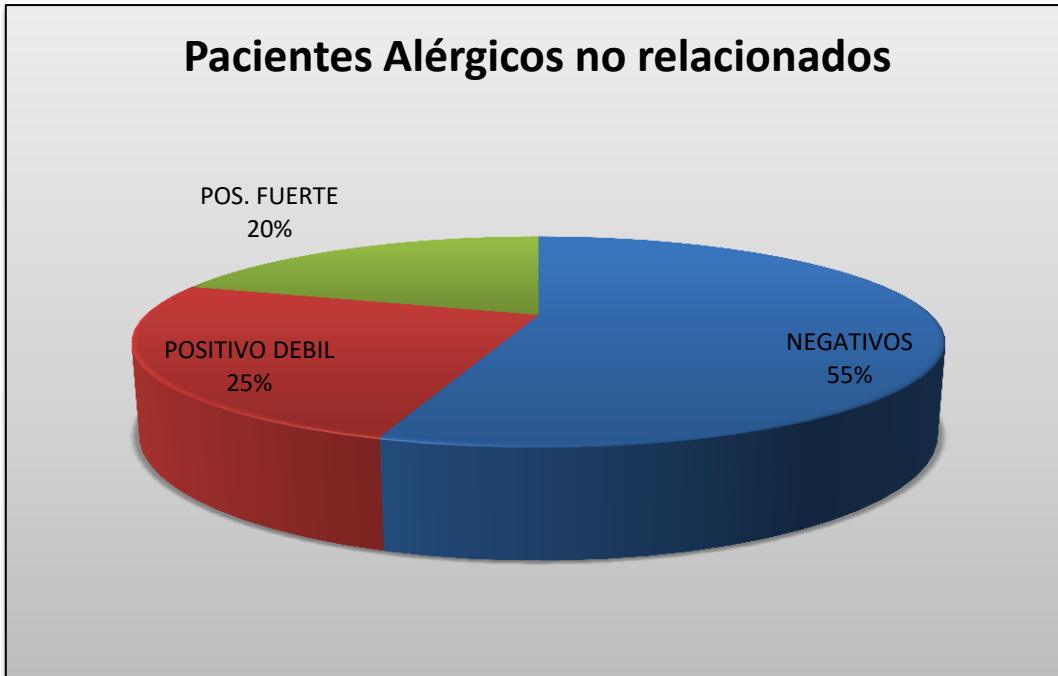


Figura 19. Porcentaje de pacientes “alérgicos no relacionados” (sin alergia al ácaro del polvo casero, pero con otras alergias) que presentan anticuerpos anti-filaggrina, mediante la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta. Se observa que el resultado con más casos que se encuentra en este grupo es el negativo con 55% de los casos.

En la **Figura 20** se presenta la relación entre auto-reactividad y la hipersensibilidad planteando que ambos son fenómenos que se encuentran asociados en su forma de presentación conforme a la edad.

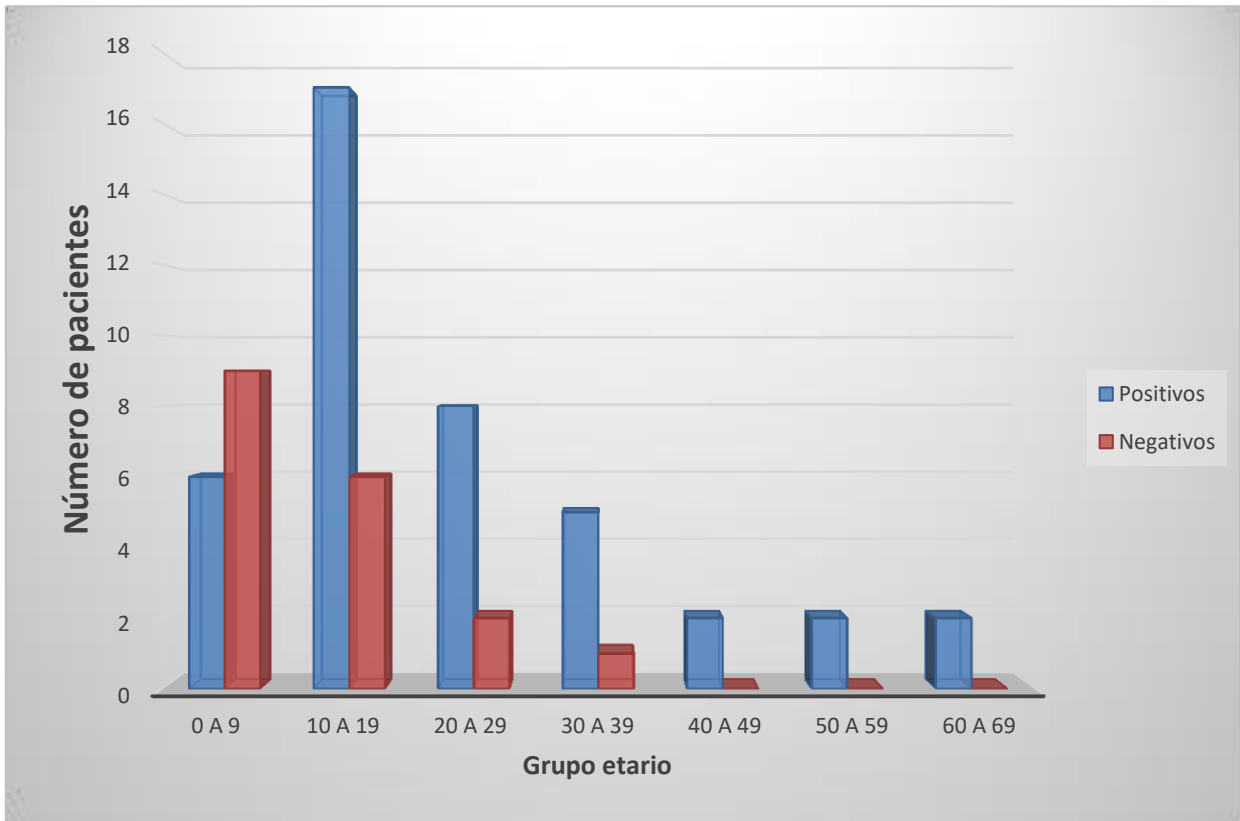


Figura 20. Distribución de la frecuencia de número de pacientes con presencia o ausencia de anticuerpos anti-filagrina durante las diferentes décadas de la vida. Se observa que en la segunda década de vida existe una mayor auto-reactividad y ésta va disminuyendo conforme a la edad.

En el **Cuadro 7** se presenta el resultado a la prueba de Ac ani-filagrina en base a su género. Señalando en el caso particular de los pacientes que resultaron positivos cuántos fueron hombres y mujeres respectivamente. En la **Figura 21** se observan los resultados en cuanto al grupo etario de pacientes alérgicos al ácido de polvo con resultado positivo a filagrina, separando el número de pacientes masculinos y femeninos.

Cuadro 7. Asociación entre la presencia de Ac anti-FLG y género.

		Género		Total
		Femenino	Masculino	
Resultado a Filagrina	Negativo	31%	11%	42%
	Positivo	35% (60.34%)	23% (39.6%)	58% (100%)
Total		66%	34%	100%

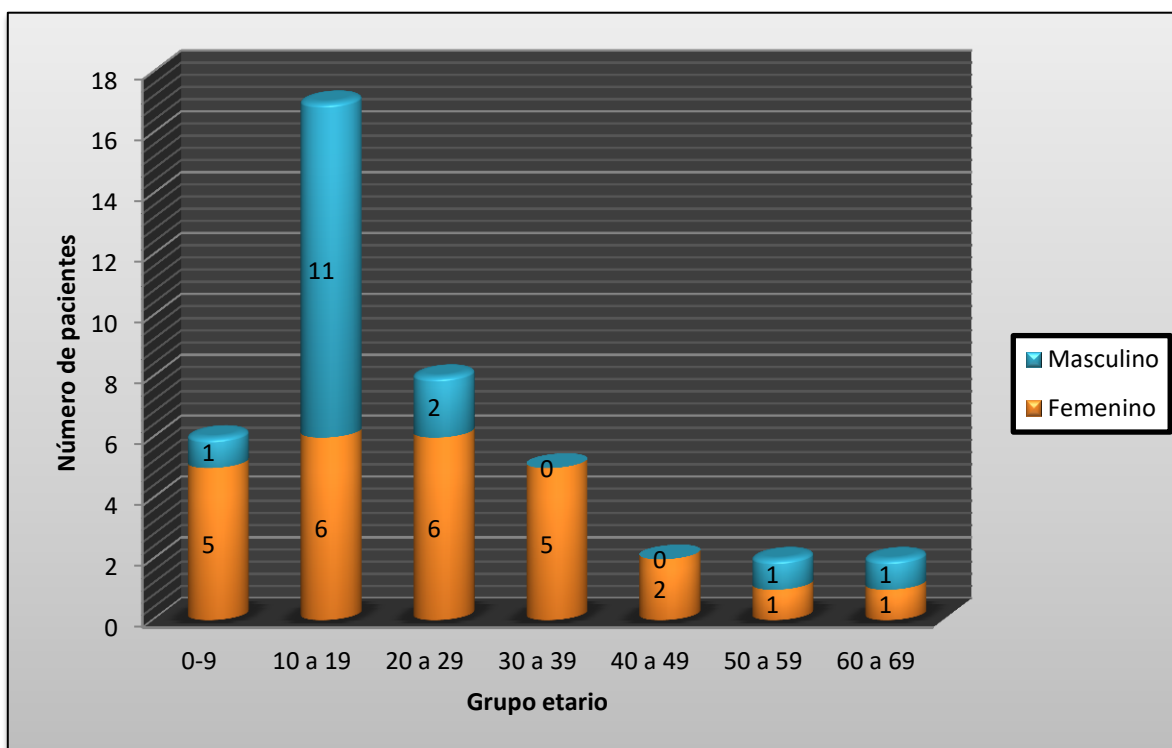


Figura 21. Pacientes alérgicos al ácaro del polvo casero con resultado positivo en la búsqueda de Ac anti-filagrina según el género y grupo etario. Se exhiben que de 42 pacientes totales que resultaron positivos a Ac anti-filagrina 23 de ellos se encuentran entre las dos primeras décadas de vida, lo que equivale al 54.7% de los casos.

Cuando se buscó conocer si la presencia contra los anticuerpos anti-filagrina estuvo relacionada con el tipo de diagnóstico (Ver **Cuadro 8** y **Figura 22**) se encontró que la mayor frecuencia fue con la Rinitis (36%) positivos y (13.3%) negativos, seguido de pacientes con la asociación Asma y Rinitis (15%) positivos y (8.3%) negativos, posteriormente los pacientes con Asma (13.3%) positivos y (3.3%) negativos. Finalmente los pacientes con Dermatitis Atópica (5%) positivos y (1.6%) negativos. En el caso de los pacientes con la asociación Asma-Dermatitis y Asma Rinitis y Dermatitis tuvieron resultado negativo (3.3%).

Realizando una comparación entre porcentaje de positividad para cada una de las manifestaciones alérgicas se encontró que la mayor asociación se presentó con el Asma en un 80% de los casos; seguido de DA con 75%; posteriormente RA con 73%. Finalmente de Asma y Rinitis con 64% de los casos.

Cuadro 8. Asociación entre la presencia de Ac anti-*FLG* y diagnóstico

		Diagnóstico							Total
		Grupo de pacientes sin alergia al ácaro ni a otro alérgeno	RA	Asma	DA	Asma y RA	Asma y DA	Asma, RA, y DA	
Resultado Ac anti-filagrina	Negativo	24	8	2	1	5	1	1	42
	Positivo	16	22	8	3	9	0	0	58
Total		40	30	10	4	14	1	1	100

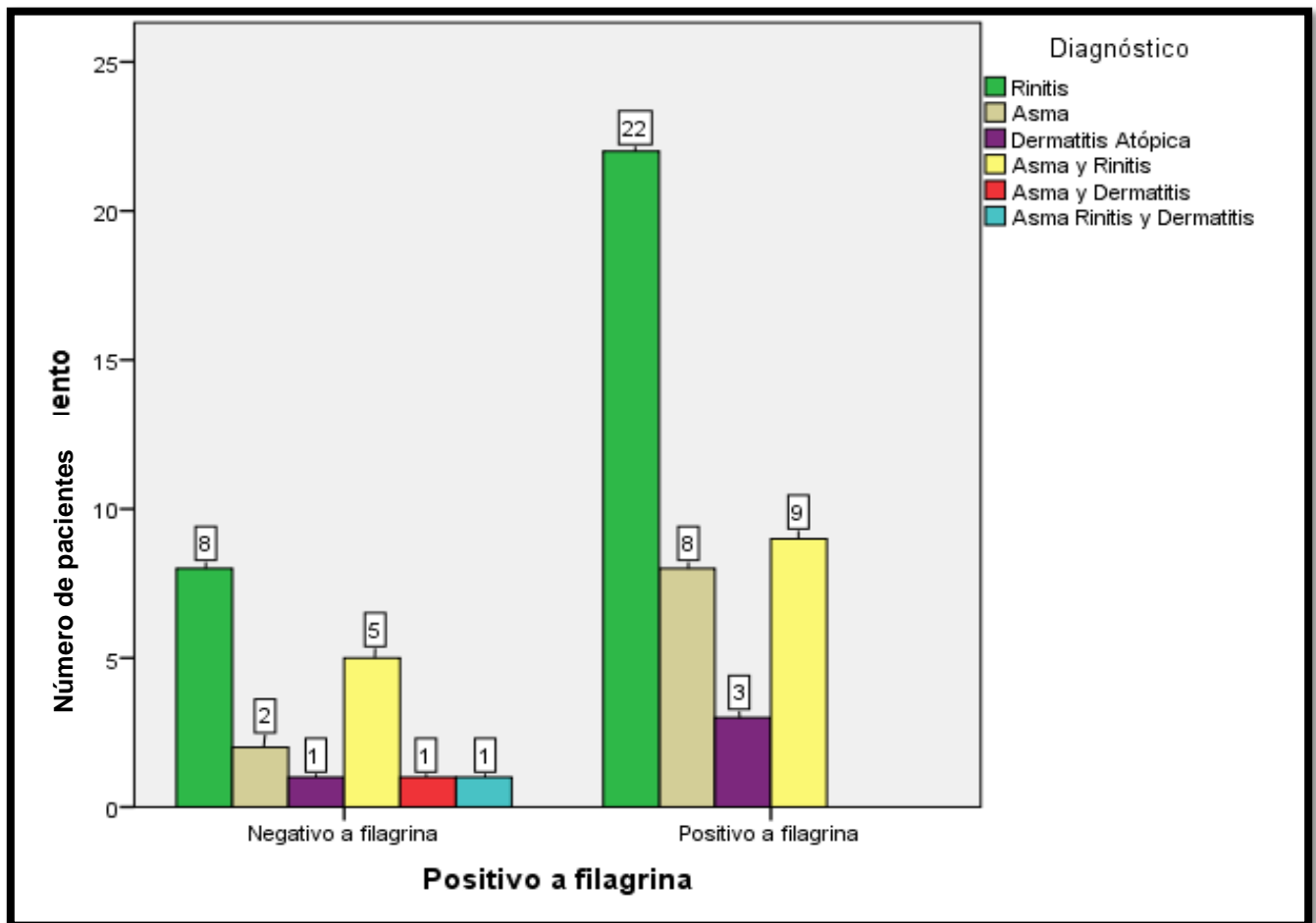


Figura 22. Pacientes positivos a filagrina según su diagnóstico. El número que aparece arriba de cada columna corresponde al número de casos. Así como el color de cada barra corresponde al diagnóstico.

Para la prueba estadística de correlación de Pearson se demostró que la relación entre los pacientes positivos a filagrina y positivos al ácaro fue significativa. ($p < 0.005$). (Ver **Cuadro 9**). Se dice que es significativo cuando el valor p está por debajo del 5% y es altamente significativo cuando está por debajo del 1% (0.01).

Cuadro 9. Correlación de Pearson para filagrina.

		Positivo a FLG	Positivos al ácaro
Positivo a FLG	Correlación De Pearson	1	.280**
	Sig. (Bilateral)		.005
	N	100	100
Positivo al ácaro	Correlación De Pearson	.280**	1
	Sig. (Bilateral)	.005	
	N	100	100
**. La Correlación Es Significativa En El Nivel 0,01 (2 Colas).			

Sensibilidad y Especificidad. Valor Predictivo Positivo (VPP) Y Valor Predictivo Negativo (VPN)

Con el propósito de conocer las dos variables más importantes para evaluar una prueba diagnóstica, se calculó la sensibilidad y la especificidad. De igual manera se obtuvo el VPP y el VPN organizando los datos en un cuadro de contingencia como se muestra a continuación empleando sus respectivas fórmulas. (Ver **Cuadro 10 y Cuadro 11**).

Cuadro 10. Cuadro de contingencia.

Estatus de la condición (resultado del estándar de oro)			
Resultado de la prueba diagnóstica	Presente/Positivo	Ausente/Negativo	Totales marginales
Test positivo	A (Verdadero positivo)	B (Falso positivo)	A + B
Test negativo	C (Falso negativo)	D (Verdadero negativo)	C + D
Totales Marginales	A + C (Pacientes con la enfermedad)	B + D (Pacientes sin la enfermedad)	

Parámetro y fórmulas para calcular de acuerdo al cuadro de contingencia

$$Sensibilidad = \frac{A}{(A+C)} \quad Especificidad = \frac{D}{(B+D)}$$

$$Valor\ Predictivo\ Positivo = \frac{A}{(A+B)} \quad Valor\ Predictivo\ Negativo = \frac{D}{(C+D)}$$

Cuadro 11. Cuadro de contingencia para *FLG*.

	PACIENTES ALERGICOS AL ÁCARO	PACIENTES NEGATIVOS A PRUEBAS CUTANEAS	TOTAL
PACIENTES POSITIVOS A FILAGRINA	42	7	49
PACIENTES NEGATIVOS A FILAGRINA	18	13	31
TOTAL	60	20	

Sensibilidad para FLG

$$\text{Sensibilidad} = \frac{A}{(A + C)} = \frac{42}{60} = 0.7 \times 100 = 70\%$$

Especificidad para FLG

$$\text{Especificidad} = \frac{D}{(B + D)} = \frac{13}{20} = 0.65 \times 100 = 65\%$$

Valor predictivo positivo para FLG (VPP).

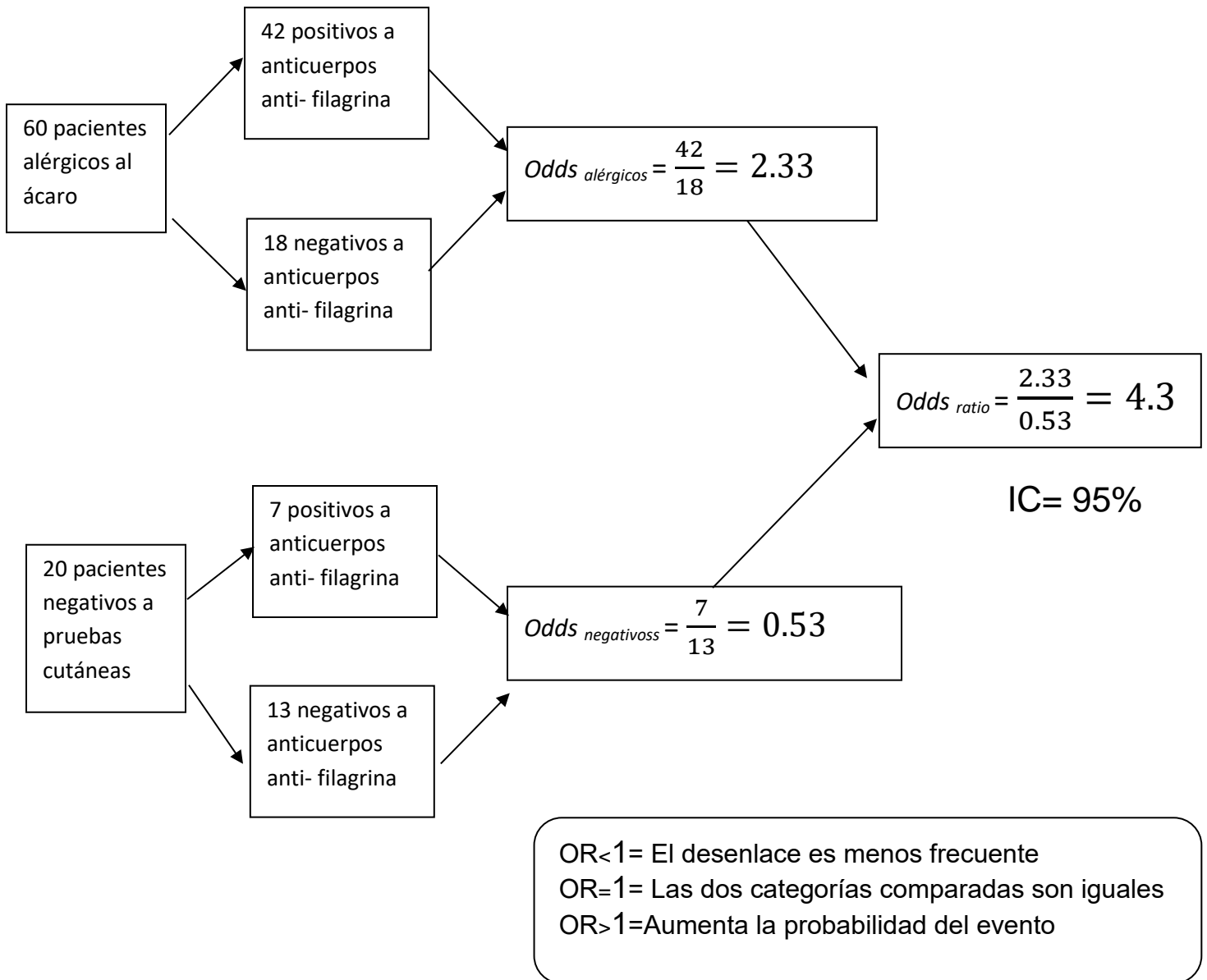
$$\text{VPP} = \frac{A}{(A + B)} = \frac{42}{49} = 0.85 \times 100 = 85\%$$

Valor predictivo negativo para FLG (VPN).

$$\text{VPN} = \frac{D}{(C + D)} = \frac{13}{31} = 0.41 \times 100 = 41\%$$

OR (Odds Ratio)

Es una medida que expresa la probabilidad de que los pacientes que tienen contacto con los alérgenos de los ácaros y generen auto-anticuerpos. Se encontró un valor alto en el caso de los anticuerpos anti-filagrina (4.3). A continuación se describe como se realizó dicho cálculo.



A continuación se presenta el **Cuadro 12** con los resultados obtenidos calculados como el ejemplo anterior, comparando con diversas variables entre el grupo problema y el grupo testigo alérgicos no relacionados, así como las manifestaciones clínicas del grupo de pacientes con alergia al acaro.

Cuadro 12. Fuerza de asociación entre el factor de riesgo y la enfermedad

Asociación	Valor de OR	Resultado
Alergia al ácaro (Grupo problema) vs ac- anti-Filagrina	4.3	Significativo
Alérgicos no relacionados (Grupo Testigo) vs ac anti-Filagrina	1.5	Significativo
Rinitis vs ac anti-Filagrina	3.32	Significativo
Asma vs ac anti-Filagrina	2.83	Significativo
Dermatitis vs ac anti-Filagrina	1.51	Significativo

Como se observa, existe probabilidad de encontrar anticuerpos anti- filagrina en el grupo problema y en el grupo testigo, ya que el resultado de OR de éste último indica que existe 1.5 veces más de probabilidad de presentar auto-reactividad en pacientes que tienen algún tipo de alergia. Sin embargo en el grupo problema se estima que hay 4.3 veces más de posibilidad de que se presente dicha auto-reactividad si se presenta alergia contra los ácaros del polvo casero. (Ver **Cuadro 12**). De igual manera se muestra que la asociación que exhibe una mayor probabilidad de tener anticuerpos anti-filagrina si se es alérgico a los ácaros es la RA, seguido de Asma y finalmente Dermatitis atópica.

Resultados a la prueba de desmogleína

El equipo comercial para la búsqueda de anticuerpos anti-desmogleína utiliza células transfectadas EU90 que expresan este antígeno, el cual si en el suero del paciente están presentes los auto-anticuerpos se van a unir a la laminilla y serán detectados al adicionarles posteriormente un anticuerpo contra IgG humana marcados con fluoresceína. Lo que se muestra a continuación son ejemplos de cómo se observan los testigos positivo y negativo (Ver **Figura 23**), así como ejemplos de algunas muestras provenientes de pacientes alérgicos en los cuales se busca la presencia de dichos auto-anticuerpos (Ver **Figura 24**).

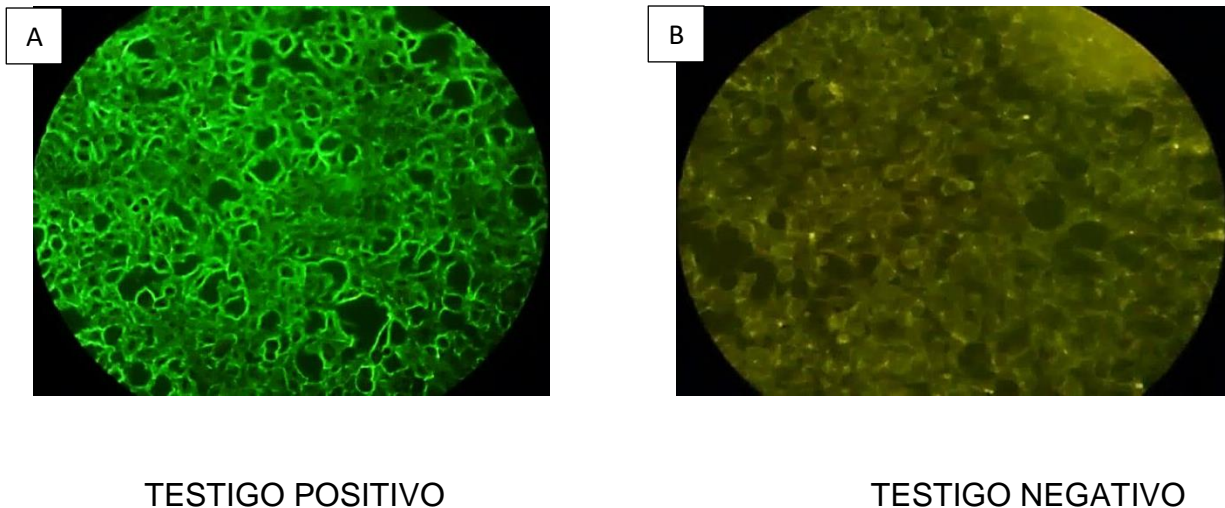


Figura 23. Imágenes en donde se muestra la tinción de los testigos positivo (A) y negativo (B) respectivamente. En el caso del testigo positivo es evidente la fluorescencia en donde se une el anticuerpo anti-desmogleína localizado sobre las células transfectadas EU90. En el caso del testigo negativo no se observa dicha fluorescencia.

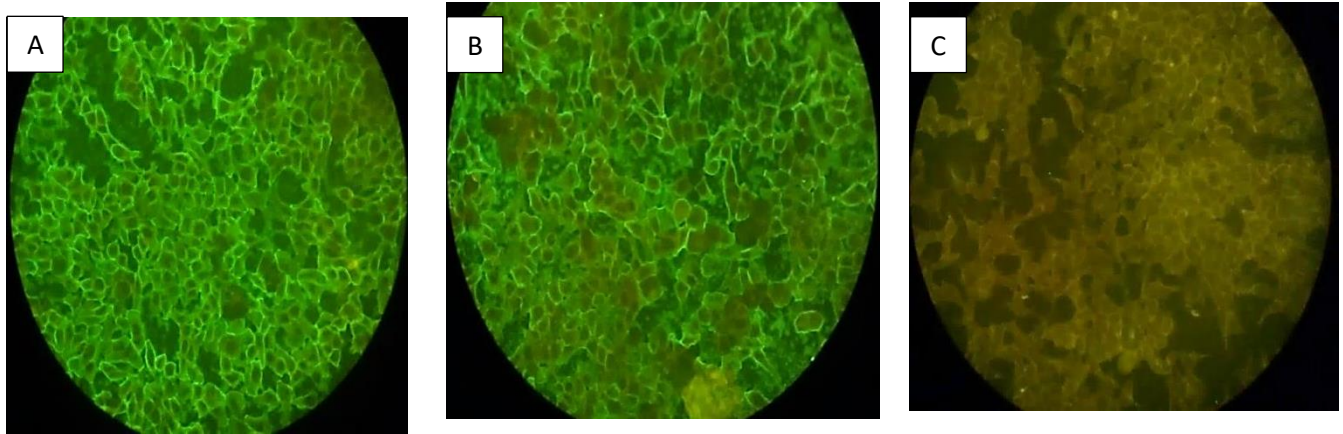


Figura 24. Imágenes 40X provenientes del equipo de diagnóstico para la detección de anticuerpos anti-desmogleína en el suero de dos pacientes (A y B) que presentaron un reconocimiento sobre las células transfectadas EU 90 observándose fluorescencia. Además una muestra que no presentó reconocimiento sobre las células con ausencia de fluorescencia (C).

Con el propósito de conocer si existe alguna relación de la presencia de dichos auto-anticuerpos en relación con el género se calculó el porcentaje de distribución (Ver **Cuadro 13** y **Figura 25**).

Cuadro 13. Asociación entre la presencia de Ac anti-Desmogleína I y género

		Género		Total
		Femenino	Masculino	
Resultado a Desmogleína	Negativo	63%	31%	94%
	Positivo	3% (50%)	3% (50%)	6% (100%)
Total		66%	34%	100%

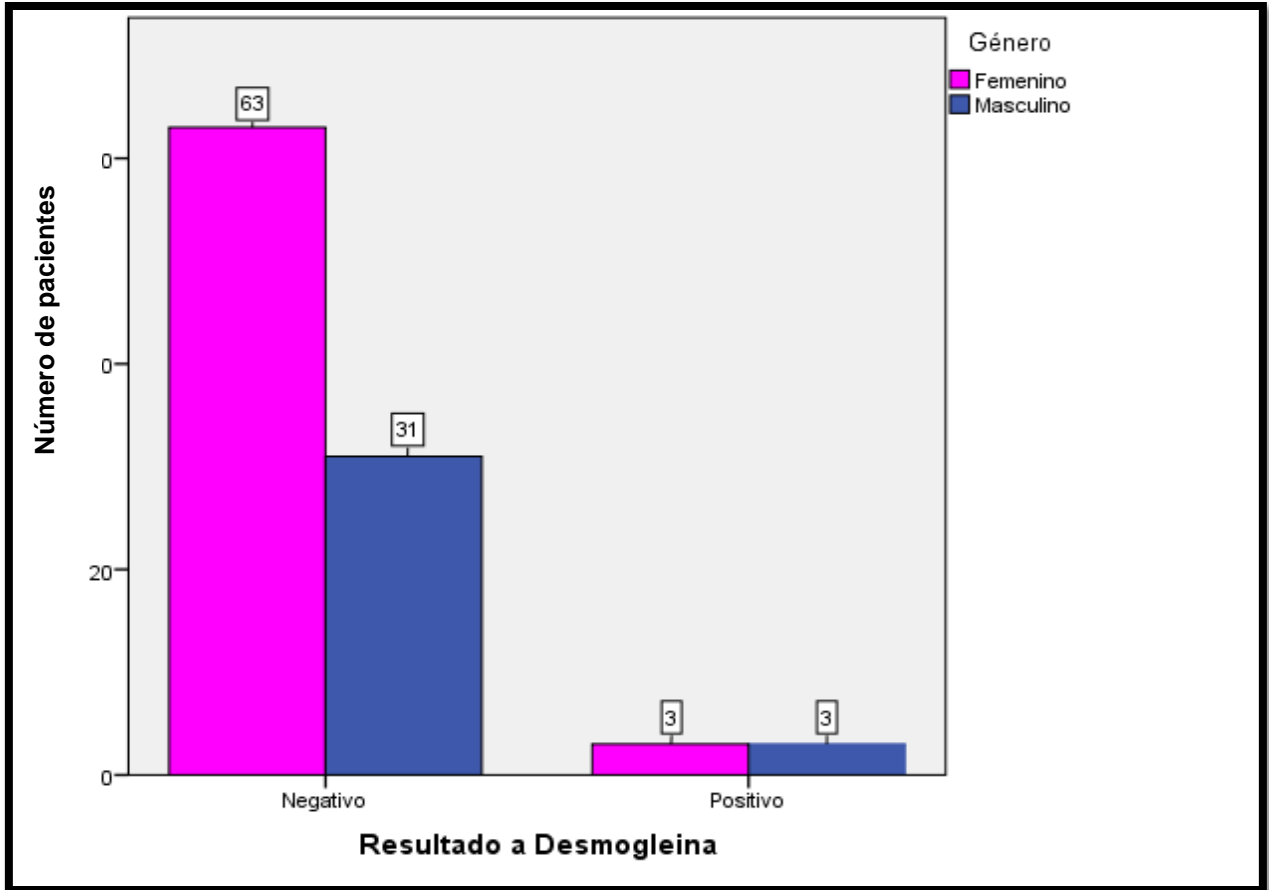


Figura 25. Pacientes positivos a desmogleína I según el género. Se observa que no existe diferencia en cuánto al resultado positivo a la prueba y el género al que pertenecían los pacientes

Quando se buscó conocer si la presencia contra los anticuerpos anti-desmogleína estuvo relacionada con un tipo de manifestación clínica en particular se encontró que la mayor asociación fue con la Rinitis (66.6%; 4/6). Seguido de los pacientes con Asma (16.6%; 1/6) y los pacientes sin alergia al ácaro ni a otros alérgenos (16.6%; 1/6). (Ver **Cuadro 14** y **Figura 26**).

Cuadro 14. Asociación entre la presencia de Ac anti-desmogleína I y manifestación alérgica.

		Diagnóstico							Total
		Grupo de pacientes sin alergia al ácido ni a otro alérgeno	RA	Asma	DA	Asma y RA	Asma y DA	Asma, RA, y DA	
Resultado Ac anti-dsmg	Negativo	39	26	9	4	14	1	1	94
	Positivo	1	4	1	0	0	0	0	6
Total		40	30	10	4	14	1	1	100

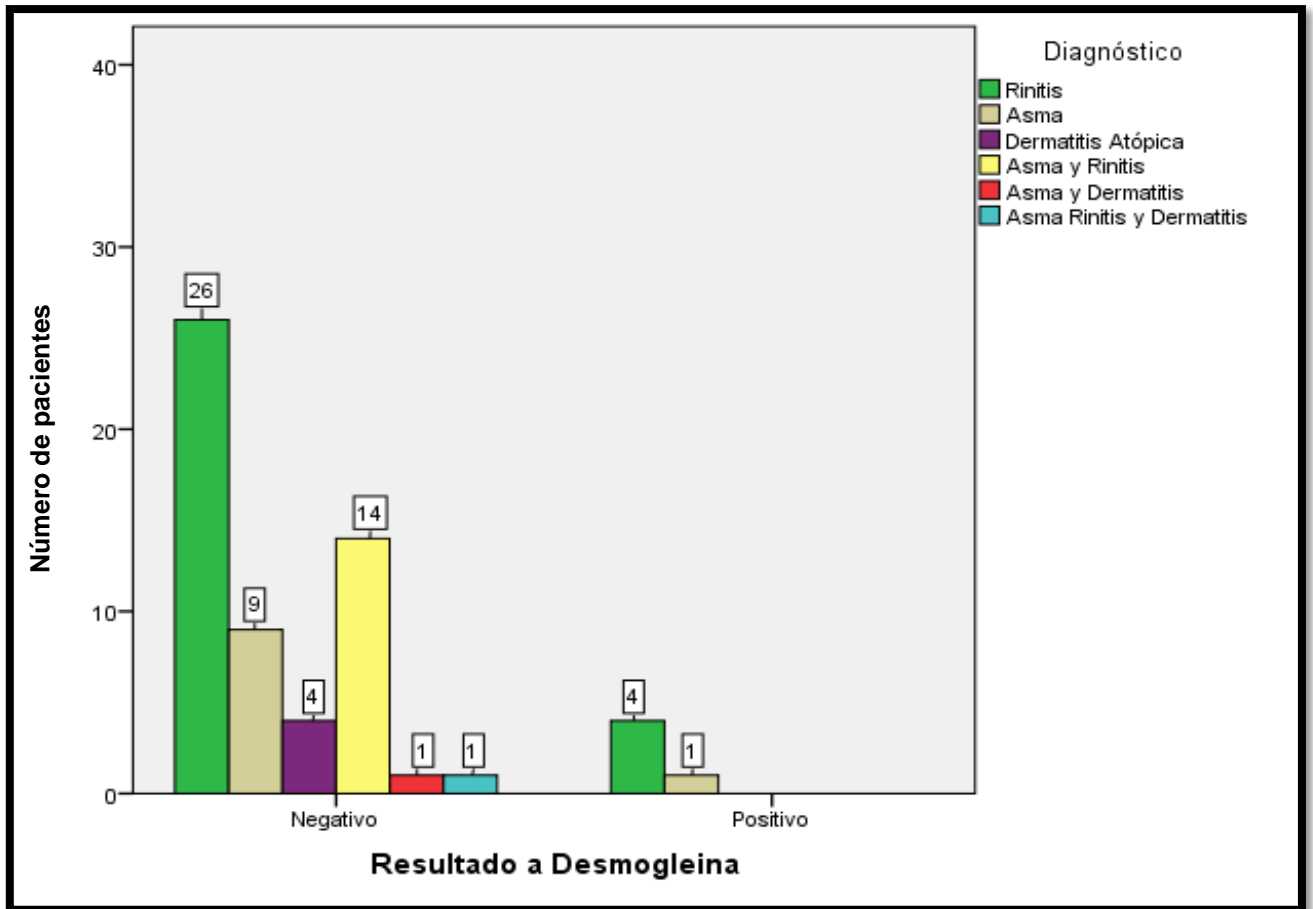


Figura 26. Asociación entre la presencia de Ac anti-desmogleína y manifestación alérgica.

Los resultados finales tanto del número de pacientes y porcentaje en relación con la presencia de los anticuerpos anti-desmogleína. (Ver **Cuadro 15**)

Cuadro 15. Resultados en número y porcentaje de la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta de los tres grupos estudiados para el anticuerpo anti-desmogleína.

Resultado\grupo	Pacientes negativos a pruebas cutáneas	Pacientes alérgicos al ácaro	Pacientes alérgicos no relacionados
Negativos	20	55	19
Positivos	0	5	1
Total de pacientes	20	60	20
Porcentaje			
Negativos	100%	91.7%	95%
Positivos	0%	8.3%	5%
Total	100%	100%	100%

La prueba de correlación de Pearson demostró que la relación entre los pacientes positivos a desmogleína y positivos al ácaro no es significativa. ($p < 0.005$). (Ver **Cuadro 16**). Se establece que un valor de p es significativo cuando está por debajo del 5% y es altamente significativo cuando está por debajo del 1% (0.01).

Cuadro 16. Correlación de Pearson para desmogleína.

		Positivo a desmogleína	Positivo al ácaro
Positivo a desmogleína	Correlación de Pearson	1	0.120
	Sig. (bilateral)		0.233
	N	100	100
Positivo al ácaro	Correlación de Pearson	0.120	1
	Sig. (bilateral)	0.233	
	N	100	100

Con el propósito de conocer las dos variables más importantes para evaluar una prueba diagnóstica, se calculó la sensibilidad y la especificidad. De igual manera se obtuvo el VPP y el VPN organizando los datos en un cuadro de contingencia como se muestra a continuación. (Ver **Cuadros 10 y 17**).

Cuadro 17. Cuadro de contingencia para Desmogleína

	Pacientes alérgicos al ácaro	Pacientes negativos a pruebas cutáneas	Total
Pacientes positivos a desmogleína i	5	0	5
Pacientes negativos a desmogleína I	55	20	75
Total	60	20	

Sensibilidad para desmogleína

$$\text{Sensibilidad} = \frac{A}{(A + C)} = \frac{5}{60} = 0.083 \times 100 = 8.3\%$$

Especificidad para desmogleína

$$\text{Especificidad} = \frac{D}{(B + D)} = \frac{20}{20} = 1 \times 100 = 100\%$$

Valor predictivo positivo para desmogleína (VPP).

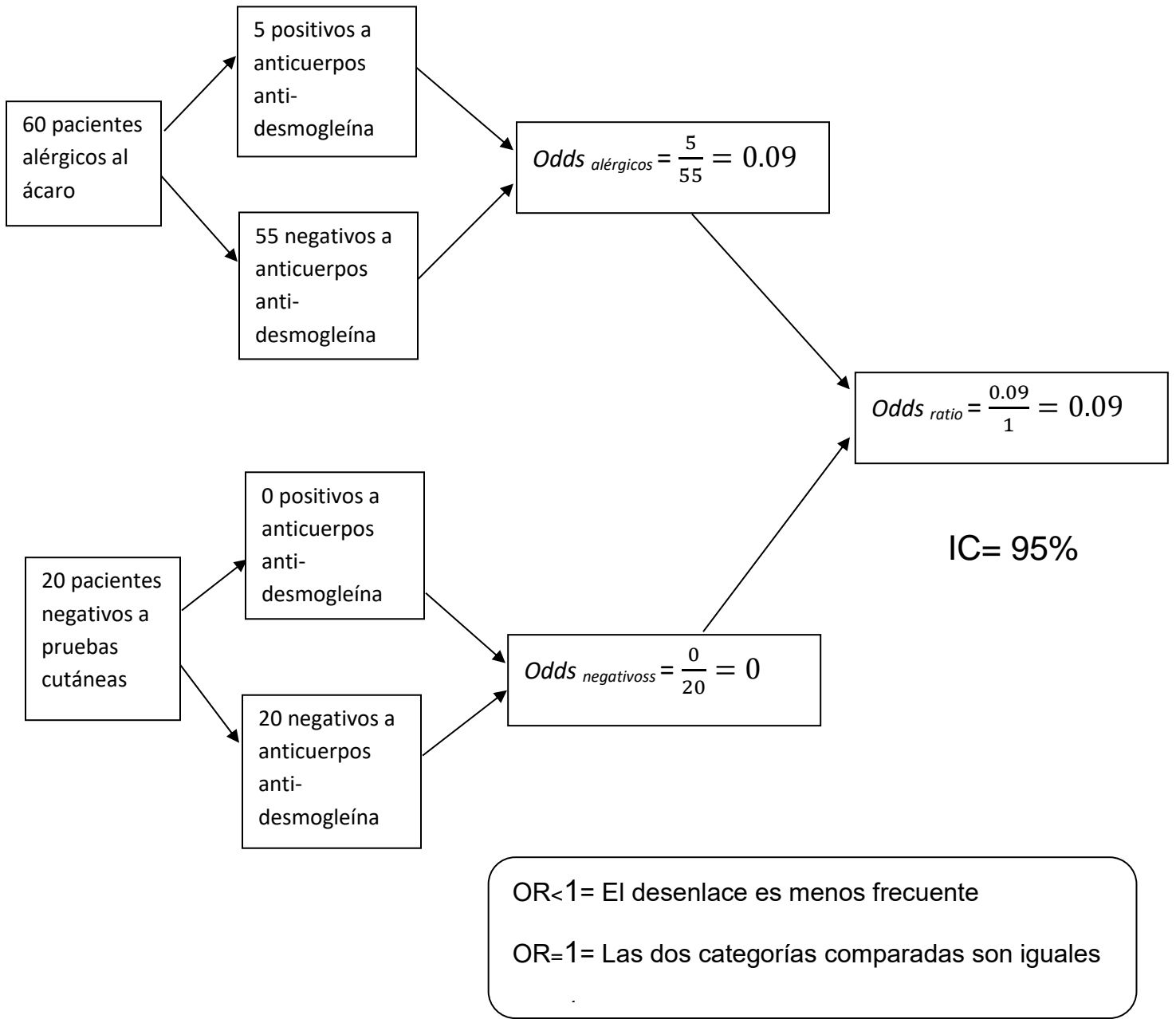
$$\text{VPP} = \frac{A}{(A + B)} = \frac{5}{5} = 1 \times 100 = 100\%$$

Valor predictivo negativo para desmogleína (VPN).

$$\text{VPN} = \frac{D}{(C + D)} = \frac{20}{75} = 0.26 \times 100 = 26\%$$

OR (Odds Ratio)

Es una medida que expresa la posibilidad de que los pacientes que tienen contacto con los alérgenos de los ácaros y generen auto-anticuerpos. Se encontró un valor muy bajo en el caso de los anticuerpos anti-desmogleína (0.09). A continuación se describe como se realizó dicho cálculo.



La alergia a los ácaros induce mayores problemas de auto-reactividad hacia filagrina (70%) que otras alergias (45%) en comparación con los no alérgicos (35%). Los pacientes que presentaron simultáneamente anticuerpos anti-filagrina y anti-desmogleína fueron en mayor proporción en el grupo de alérgicos a los ácaros (8.33%) seguido del grupo de alérgicos no relacionados (5%). A diferencia del grupo testigo negativo de individuos que no presentaban alergias, en donde no se encontró ningún caso de presencia de anticuerpos anti-desmogleína (Ver **Cuadro 18**).

Cuadro 18. Comparación en la presencia de anticuerpos anti-filagrina y anti-desmogleína entre pacientes alérgicos a los ácaros, alérgicos no relacionados y no alérgicos.

	Resultado positivo a filagrina	Resultado negativo a filagrina	Resultado positivo a filagrina y desmogleína
Pacientes alérgicos a los ácaros	70%	30%	8.33%
Pacientes alérgicos no relacionados	45%	55%	5%
Pacientes negativos a pruebas cutáneas	35%	65%	0%

8. DISCUSION

En trabajos previos del grupo de investigación al cual pertenecemos, al estudiar la respuesta de auto-reactividad hacia proteínas de la piel humana, se encontraron respuestas inmunitarias contra las proteínas de un extracto de escamas humanas por parte de los pacientes alérgicos a los ácaros de polvo. Lo cual fue medido en ensayos tales como ELISA (Zendejas, 1987), Inmuno-electro-transferencia (Vilchis, 2012), proliferación de linfocitos (García, 2015), y degranulación de basófilos (Solis, 2016).

En el presente trabajo se determinó si los anticuerpos identificados en pacientes con alergia van dirigidos contra las proteínas filagrina y desmogleína involucradas en la patología de otras enfermedades autoinmunes relacionadas con la epidermis humana.

La población de estudio seleccionada se dividió en tres poblaciones. La primera corresponde al grupo problema (n=60) la cual incluye sujetos de un amplio rango de edades y que fueron positivos a la prueba dérmica hacia los ácaros del polvo. Debido a que queremos conocer la presencia de los auto-anticuerpos independientemente del grupo de edad al que también fue abierta la inclusión de los pacientes de manera independiente al género al que pertenezcan.

La segunda población corresponde al grupo testigo negativo (n=20) y fueron seleccionados en base a presentar una respuesta dérmica negativa, menor de tres cruces a cualquier tipo de alérgeno. Este grupo es importante para la comparación con el grupo problema debido a que será el referente para determinar la especificidad de la respuesta ya que no presentaron ningún tipo de sensibilización alérgica.

La tercera población es la del llamado grupo de Pacientes alérgicos no relacionados (n=20), los cuales presentaron una respuesta dérmica hacia otros alérgenos pero no hacia el alérgeno en estudio que son los ácaros del polvo casero así como a otros alérgenos de reactividad cruzada. La comparación de este grupo

con el grupo problema es para saber si el fenómeno que vamos a observar de la presencia de los auto-anticuerpos está circunscrito a la alergia al polvo casero o por el contrario si se presenta con otros alérgenos.

Con el propósito de conocer en qué etapa de la vida se presenta con más frecuencia las alergias a los ácaros del polvo, a los pacientes del grupo problema los agrupamos por décadas de vida (Ver **Figura 10**). La mayor frecuencia de presentación de la alergia al polvo casero se presentó en la segunda, primera, tercera y cuarta década en orden decreciente. A partir de la quinta década de vida se presenta una baja frecuencia de alergias, dicha distribución corresponde con la maduración del sistema inmunitario, ya que como se ha descrito los problemas de hipersensibilidad son más frecuentes cuando mejor funciona el sistema inmunológico. En cambio al declinar esta respuesta en el adulto mayor también se reporta que disminuye la reactividad hacia los alérgenos (Bellanti, 2016).

Con la finalidad de establecer la distribución de las manifestaciones alérgicas que presentan los pacientes del grupo problema (Ver **Figura 11**) se realizó un conteo del número de pacientes en base a su diagnóstico para establecer la frecuencia. Se encontró que el diagnóstico más frecuente fue el de Rinitis Alérgica (RA). En segundo lugar estuvieron los pacientes que presentaron una combinación de Asma y RA. En tercer lugar los pacientes con Asma, seguido de pacientes que padecen Dermatitis Atópica siendo las asociaciones menos frecuentes las de combinaciones de Asma con Dermatitis y por último las tres enfermedades presentadas al mismo tiempo (Asma, RA y DA). Cabe decir que la distribución de las manifestaciones clínicas encontradas en el grupo problema fueron coincidentes con las reportadas en la literatura (González, 2006).

En relación a la distribución del género en el grupo de estudio, (Ver **Figura 12**) se encontró que la población predominante fue el género femenino con un 62% y la población masculina del 38%. Esta distribución concuerda con la información reportada en diversas partes del mundo, en donde se ha observado un predominio del género femenino atribuible al papel desempeñado por los estrógenos en

favorecer respuestas de hipersensibilidad más fuertes y prolongadas (González, 2006).

El objetivo principal en nuestro estudio fue el determinar si los pacientes alérgicos a los ácaros presentaban una respuesta de auto-anticuerpos contra proteínas de la piel, tales como anticuerpos anti-queratina (anti-filagrina) y anti-desmogleína. La técnica utilizada para la detección de estos anticuerpos de la clase IgG fue la de Inmunofluorescencia indirecta. Dicha prueba fue seleccionada por presentar tanto una buena sensibilidad (92%) y una buena especificidad (97%).

Se utilizó un equipo comercial para diagnosticar AR por medio de la detección de anticuerpos anti-filagrina. Como es bien conocido los auto-anticuerpos que participan en reacciones de autoinmunidad pertenecen a las subclases de IgG1 e IgG3. Por tal motivo el equipo de diagnóstico está diseñado para detectar IgG totales en el suero de los pacientes.

Para poder entender el significado de las subclases de la IgG en las enfermedades alérgicas es necesario mencionar que no todo en la respuesta tipo Th2 es sinónimo de alergia. Existe múltiple evidencia que indica que los anticuerpos que participan en la patogenicidad de las enfermedades alérgicas son los IgE y las IgG1, en cambio los llamados anticuerpos bloqueadores o anti-inflamatorios serían los de tipo IgA e IgG2. Se ha señalado la dualidad de que la respuesta de IgG4 puede ser potencialmente dañina, así como protectora (Arce y Villaescusa, 2004).

En cuanto a la relación de las subclases de IgG y la presencia de enfermedades alérgicas se ha encontrado que existe una preponderancia de IgG1 e IgG4, hacia los alérgenos, mientras que la respuesta a IgG2 e IgG3 es pobre. Concentraciones elevadas de IgG4 se observaron frecuentemente en pacientes con eczema y dermatitis atópica, probablemente como resultado de una prolongada estimulación antigénica. En las reacciones alérgicas a diferentes alérgenos, los anticuerpos de la clase IgG, alérgeno-específicos, son predominantemente de la subclase IgG4 y sus niveles se incrementan durante la terapia de desensibilización (Arce y Villaescusa, 2004).

Pacientes con artritis reumatoide tienen niveles de IgG1 significativamente elevados, en asociación con niveles disminuidos de IgG2 e IgG4. Dicho perfil concuerda con lo encontrado con los pacientes con hipersensibilidad tipo I, los cuales padecen de infecciones frecuentes en las vías respiratorias causadas por infecciones por virus y bacterias capsuladas (Arce y Villaescusa, 2004).

Cuando existe una desregulación de la respuesta inmunológica puede traer consigo otros tipos de alteraciones. Como opinión del grupo de investigación es muy posible que el inicio de la patología sean las enfermedades por inmunodeficiencia, debido a que se presentan desde la infancia temprana. Tal es el caso de la deficiencia de IgG2 e IgA, (Oxelius *et al*, 1981) asociadas tanto a un mayor índice de infecciones así como una mayor incidencia de alergia. Dando origen a un aumento de los anticuerpos pro-inflamatorios, induciendo una mayor incidencia de hipersensibilidades.

Los resultados del presente estudio sugieren que existe una estrecha relación entre la presencia de la hipersensibilidad tipo 1 en relación con auto-reactividad hacia la proteína filagrina, la cual es característica de la enfermedad autoinmune conocida como AR. Nuestros resultados indicaron que el 75% de los pacientes alérgicos a los ácaros están presentes los anticuerpos anti-filagrina. Por lo que en estudios posteriores en esta línea de investigación se sugiere incluir más datos clínicos de antecedentes de enfermedades reumatoides en los pacientes alérgicos a los ácaros. En base a nuestros resultados la especificidad de la prueba encontrada fue del 65%, dicho valor es elevado tomando en cuenta que la prueba está diseñada para el diagnóstico de AR. La sensibilidad del 70% encontrada nos habla acerca de una estrecha relación entre la enfermedad autoinmune (AR) y la alergia a los ácaros del polvo.

Los equipos comerciales utilizados (EUROIMMUN) permitieron detectar la presencia de estos auto-anticuerpos y la diferencia entre los testigos positivo y negativo del propio equipo de diagnóstico comparado con las muestras problema

fue bastante clara y no se presentaron dificultades para distinguir entre sujetos reactivos y no reactivos. (Ver **Figura 13**).

El grado de reactividad catalogado como positividad fuerte, es indicativo de una alta cantidad de anticuerpos presentes en el suero del paciente que hizo visible la fluorescencia a lo largo del estrato córneo de esófago de rata. (Ver **Figura 14**)

Por otro lado cuando la positividad es denominada débil hace referencia a que la cantidad de anticuerpos presentes en el suero del paciente es menor y esto se aprecia por una línea fluorescente discontinua en esta región del epitelio. (Ver **Figura 15**).

Se sugiere la detección de dichos anticuerpos por medio de una técnica de tipo cuantitativo, tal como una ELISA para precisar la cantidad de dichos auto-anticuerpos.

En el caso de los pacientes que no presentaron auto-reactividad se observó la silueta del corte histológico como en el testigo negativo sin fluorescencia, indicando que no hay anticuerpos anti-filagrina en el suero del paciente. (Ver **Figura 16**)

El grupo de pacientes alérgicos a los ácaros manifestaron una positividad fuerte de 15%, un reconocimiento débil del 55% y sin reconocimiento en el 30% de los casos. (Ver **Figura 17** y **Cuadro 4**).

En los pacientes del grupo testigo negativo se observó un reconocimiento fuerte solo del 5%, débil en 30% y finalmente sin reconocimiento en el 65% de los casos. (Ver **Figura 18** y **Cuadro 4**). Lo anterior se debe posiblemente a que en la población mexicana están presentes los genes de artritis en una gran parte de nuestra población. (Rodríguez, et al, 2016)

En el grupo de pacientes no relacionados se encontró una positividad fuerte en el 20%, positivo débil en 25% y sin reconocimiento en el 55% de los casos. (Ver **Figura 21** y **Cuadro 4**). Lo anterior puede sugerir que la relación entre auto-reactividad y alergia no solo se puede presentar con los alérgenos de los ácaros

del polvo, sino también con otros alérgenos. Aunque parece ser más frecuente la auto-reactividad en la población de alérgicos a los ácaros.

Cuando se hace una comparación de respuesta anti-filagrina en los tres grupos de estudio se encontró que fue mayor la respuesta en el género femenino (60.34%) en comparación con el género masculino (39.6%) lo que nos arroja una diferencia del 20.74% (Ver **Figura 22**).

En trabajos previos estudiando la auto-reactividad a escamas humanas se había observado que el grupo de pacientes con Asma bronquial es el que presenta una mayor respuesta en el ensayo de degranulación de basófilos en comparación con la RA y DA (Solis, 2016). En el presente estudio se corroboró que la auto-reactividad medida en la respuesta de anticuerpos anti-filagrina estuvo en mayor proporción en el grupo de pacientes asmáticos con un 80% en comparación con la DA con 75% y la RA con 73%. Hace falta conocer la explicación a dicho fenómeno.

La prueba de correlación de Pearson demostró que la relación entre los pacientes positivos a filagrina y positivos al ácaro fue significativa. ($p < 0.005$). (Ver **Cuadro 9**). El valor de p calculado fue de 0.005, un valor muy por debajo del 1% por lo tanto podemos rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna la cual fue hacer evidente la presencia de anticuerpos anti-filagrina en los pacientes alérgicos al ácaro del polvo casero.

Por otro lado el VPP calculado indica que el 85% de pacientes con resultado positivo a anticuerpos anti-filagrina efectivamente tienen la condición, mientras que el VPN muestra que el 41% de pacientes no presentaron auto-anticuerpos dado que la prueba resultó negativa. Una posible explicación para estos resultados es que en la población mexicana existe una alta proporción de individuos con fondo genético de AR y por lo tanto ese alto valor de positividad en el grupo de los sujetos no alérgicos pueda deberse a que son susceptibles a desarrollar AR. Por lo que una de las aportaciones del presente trabajo es sugerir que en los próximos estudios se haga una valoración en la historia clínica de antecedentes de AR y la prueba de Factor Reumatoide (FR).

Sin embargo el Or calculado es de 4.3 lo que significa que existe 4 veces más la probabilidad de encontrar auto-anticuerpos contra filagrina en pacientes alérgicos al ácaro del polvo casero en comparación con sujetos no alérgicos. Lo anterior es indicativo de que Hipersensibilidad y Autoinmunidad están estrechamente involucradas.

Los resultados obtenidos para el caso de la búsqueda de anticuerpos anti-desmogleína en estos mismos pacientes, utilizando la técnica para la detección de dichos anticuerpos de la clase IgG fue la de Inmunofluorescencia indirecta. Dicha prueba fue seleccionada por presentar tanto una buena sensibilidad (92%) y una buena especificidad (97%). Estos datos corresponden para el grupo de estudio al que fue diseñada la prueba que es el de pacientes con pénfigo vulgaris.

Los equipos comerciales utilizados (EUROIMMUN) permitieron detectar la presencia de estos auto-anticuerpos y la diferencia entre testigos y problemas fue bastante clara observando al microscopio la presencia de fluorescencia sobre células transfectadas EU90, en caso de ser positivo.

Al hacer una comparación de respuesta anti-desmogleína en los tres grupos de estudio se puede observar que no existe una diferencia significativa entre ambos géneros, teniendo tres pacientes positivos del género femenino así como tres pacientes positivos del género masculino por lo tanto la presencia de este auto-anticuerpo no es predominante de algún género. (Ver **Figura 25**)

La frecuencia con la que se presenta los anticuerpos anti-desmogleína en el grupo problema de alérgicos a los ácaros fue de 8.3% (5/60). En cambio en la población de alérgicos no relacionados fue de 5% (1/20). A diferencia del grupo testigo negativo en donde no se detectaron dichos anticuerpos (0/20). Lo que convierte a dicho ensayo en uno muy específico. (Ver **Cuadro 15**)

En este ensayo reportamos un sensibilidad fue del 8.3% y la especificidad del 100%. Lo anterior concuerda con el VPP calculado de 100%, lo anterior se traduce en que los pacientes que no tengan alergia al ácaro de polvo, no tendrán

anticuerpos anti-desmogleína. Mientras que el VPN calculado fue de 26% de pacientes no presentaron auto-anticuerpos dado que la prueba resultó negativa lo cual significa que la presencia de los anticuerpos anti-desmogleína no están presentes en el 74% de los pacientes alérgicos a los ácaros del polvo casero.

El valor p calculado fue de 0.233, un valor por encima del 5% (**Ver Cuadro 16**), por lo tanto podemos aceptar la hipótesis nula y rechazar la hipótesis alterna la cual fue hacer evidente que la presencia de anticuerpos anti-desmogleína en los pacientes alérgicos al ácaro del polvo casero fue baja comparado con el ensayo de filagrina.

El valor encontrado de Or es de 0.09 lo que significa que por ser menor de 1, la probabilidad de encontrar auto-anticuerpos contra desmogleína es muy baja en pacientes alérgicos al ácaro del polvo casero.

Llevando a cabo una comparación entre el Or obtenido para filagrina (4.3) y desmogleína (0.09) resulta un cociente de 47.7 lo cual significa que es casi 50 veces más probable encontrar el rasgo de auto-reactividad si se buscan los anticuerpos anti-filagrina en comparación con la búsqueda de anticuerpos anti-desmogleína.

La medición de varios anticuerpos de manera simultánea ayudaría a poder diferenciar mejor la condición de auto-reactividad para aumentar la especificidad del ensayo. Debido a que se encontró que en el grupo testigo negativo hubo presencia de anticuerpos anti-filagrina en un 35%. Sin embargo, en el mismo grupo evaluando la presencia de los dos auto-anticuerpos no se encontró ningún individuo que los presentara (**Ver Cuadro 18**).

9. Conclusiones

La búsqueda de anticuerpos anti-filagrina es una prueba que es recomendable realizar en adición a las pruebas cutáneas, debido a que se encontró entre ambas pruebas existe buena correlación ($p < 0.005$). Lo anterior tiene implicaciones importantes que apoyan la idea de que cuando existe un problema de hipersensibilidad tipo 1 hacia los alérgenos del polvo casero también existe una probabilidad alta de encontrar el fenómeno de auto-reactividad hacia la proteína de piel denominada filagrina con anticuerpos de la clase IgG.

En cambio en el caso de los auto-anticuerpos anti-desmogleína la probabilidad de encontrarlos en pacientes alérgicos a los ácaros es baja ($p < 0.233$). Siendo el valor de significancia para la correlación de Pearson de $p < 0.01$.

En el 70% de los pacientes alérgicos a los ácaros del polvo casero están presentes los anticuerpos anti-filagrina. Mientras que el 8.3% de los pacientes con alergia a los ácaros del polvo presentan auto-reactividad hacia la desmogleína.

El fenómeno de auto-reactividad hacia la filagrina encontrado en los pacientes alérgicos a los ácaros estuvo en mayor proporción en la población de pacientes con Asma (80%) en comparación con los pacientes de DA (75%) y RA (73%).

En el caso de la desmogleína la mayor asociación de auto-reactividad fue en los pacientes con RA seguido de Asma.

La presencia de anticuerpos anti-filagrina es mayor en el género femenino (60%) en comparación con el género masculino (40%).

En los anticuerpos anti-desmogleína no se encontraron diferencias en el género.

Se encontró que en la segunda década de vida hay mayor auto-reactividad (40.4%) de los pacientes positivos a anticuerpos anti-filagrina y que predomina en el género masculino (64.7%). En las décadas posteriores el género femenino predomina.

Se encontró que en el grupo testigo de pacientes no relacionados también existe asociación significativa para la estimación de encontrar anticuerpos anti-filagrina (Or=1.51), sin embargo la probabilidad de encontrar estos anticuerpos es mayor en pacientes con alergia a los ácaros (Or=4.3)

10.PERSPECTIVAS

Como sugerencia para trabajos posteriores sería interesante conocer si los pacientes alérgicos a los ácaros del polvo presentan auto-anticuerpos hacia la filagrina de la clase IgG de manera cuantitativa y de IgE. Dados los resultados obtenidos nos lleva a proponer que para realizar una medición complementaria de la auto-reactividad se utilicen ensayos donde se midan dos o más auto-anticuerpos.

Lo anterior requiere del desarrollo de nuevas pruebas diagnósticas debido a que no existen pruebas comerciales que detecten la presencia de estos auto-anticuerpos. Sin embargo la búsqueda de auto-anticuerpos IgE y de las subclases de IgG puede arrojar más información referente a la patología de las enfermedades alérgicas tanto en la DA, RA y el Asma bronquial.

Establecer el valor de los anticuerpos IgG 1 como del tipo inflamatorio semejante a los IgE como ha sido sugerido en otros estudios. A diferencia de los llamados anticuerpos anti-inflamatorios, tales como IgA e IgG 2 a los cuales se les ha propuesto una función anti-inflamatoria como en el caso de la inmunoterapia.

11. REFERENCIAS

- Acosta, A., Magallares, B., Moga, E., y Rodríguez, A. (2014). Rheumatoid Factor and Anti Citrulinated Peptide. Relation with Remission and Progression in Rheumatoid Arthritis with Biologic Agent Therapy, during a One-Year Follow-Up, *Open Journal of Rheumatology and Autoimmune Diseases* 4, 34-38.
- Aedo, S., Pavlov, S., y Clavero, F. (2010). Riesgo relativo y Odds ratio ¿Qué son y cómo se interpretan?, *Rev. Obstet. Ginecol. - hosp. Santiago oriente* 5 (1), 51-54.
- Arce, A., y Villaescusa, R. (2004). Subclases de IgG en enfermedades: significado clínico, *Revista Cubana Hematología* 20 (3), Recuperado de http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol20_3_04/hih02304.htm
- Armengot, M., Hernández, A., y Torrelo, A. (2015). Filagrina: papel en la barrera cutánea y en el desarrollo de patología, *Actas Dermo-Sifiliográficas* 106 (2), 86-95.
- Bagazgoitia, L., Gutiérrez, M., García, C., Hernández, A., y Torrelo, A. (2009). Aspectos epidemiológicos, patogénicos, clínicos y diagnósticos de la dermatitis atópica. ¿Es posible la prevención?, *Rev Pediatr Aten Primaria* 11 (15), 31-47.
- Baumann, L., Amini, S., y Weiss, E. (2005). Nueva clasificación de los tipos de piel y sus implicaciones en Dermatología Cosmética, *Dermatología Venezolana* 43 (4), 4-7.
- Bellantini, J. (2016). Inmunología IV. Aplicaciones Clínicas en Salud y enfermedad. *I Care Press*. pp: 15-65
- Benedetto, A., Kubo, A., y Beck, L. (2012). Skin Barrier Disruption: A Requirement for Allergen Sensitization?, *The Journal of Investigative Dermatology* 132, 949-963.
- Boletín Epidemiológico, (2016). Recuperado de <http://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/direccion-general-de-epidemiologia-boletin-epidemiologico>
- Bravo, S., y Cruz, J. (2015). Estudios de exactitud diagnóstica: Herramientas para su Interpretación, *Revista Chilena de Radiología* 21 (4), 158-164.
- Brown, S., y McLean I. (2012). One remarkable molecule: Filaggrin, *The Journal Invest Dermatol* 132 (3 Pt 2), 751-762.

Busi, F. (2008). Barrera epidérmica en dermatitis atópica, *Rev Asoc Col Dermatol* 16 (4), 293-301.

Cabanillas, J., y Sánchez L. (2013). Dermatitis atópica, *Dermatol Perú* 22 (3), 176-186.

Calderón, R. (2007). Curso de Métodos Físicoquímicos en Biotecnología Inmunoquímica. Instituto de Biotecnología, UMAN. Recuperado de <http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/inmunoquimica.pdf>

Calebotta, A. (2009). Pénfigo: una visión a través del tiempo, *Gac Méd Caracas* 117 (1), 12-17.

Cantillo, J., y Puerta, L. (2010). Nuevos esquemas de inmunoterapia específicas con alérgenos, *Biomédica* 30, 440-453.

Cardona, R., y Serrano, C. (2010). Alergia. Abordaje clínico, diagnóstico y tratamiento. *Médico Panamericana*. pp:10-46

Carretero, M, (2009). Rinitis alérgica, *Actualidad científica avances farmacológicos* 28 (5), 116-118.

Casillas, F *et al.* (2015). Anticuerpos antipeptido citrulinado cíclico (anti-CCP) en artritis reumatoide, *Revista el Residente* 10 (1), 12-17.

Cerda, J., Vera, C., y Rada, G. (2013). *Odds ratio*: aspectos teóricos y prácticos, *Rev Med Chile* 141, 1329-1335.

Cipriani, F *et al.* (2014). Autoimmunity in atopic dermatitis: Biomarker or simply epiphenomenon?, *The Journal of Dermatology* 41, 569-576.

Ćosićkić, A., Skokić, F., Čolić-Hadžić, B., y Mladina, N. (2011). The Severity of Atopic Dermatitis in Children and the Role of Hypersensitivity to Food Allergens in its Occurrence, *Acta Medica Saliniana* 40 (2), 69-75.

Cubero, J. (2013). Estudio de las mutaciones en el gen de la filagrina y su relación con diversos fenotipos de asma. (Tesis doctoral). Universidad de Salamanca, Salamanca, España.

Cuevas, H., y Cuevas, J. (2012). Alergia e hipersensibilidad: conceptos básicos para el pediatra, *Revista Mexicana de Pediatría* 79 (4), 192-200.

Del Rio, B., Hidalgo, E., y Sierna, J. (2009) Asma, *Bol Med Hosp Infant Mex* 66, 3-33.

Del Rio, D., y Velásquez M. (2011). Inmunidad innata en la piel, *Rev Asoc Colomb Dermatol* 19, 307-318.

Espino, W. (2013). Histología de la piel. Recuperado de <https://es.slideshare.net/BrendaAuroraTafurHoyos/histologia-de-la-piel-17554964>

Fernández, B *et al.* (2013). Identificación de la fauna de ácaros del polvo doméstico en colchones de pacientes alérgicos de seis estados mexicanos, *Revista Alergia México* 60 (3), 87-92.

Furue, M *et al.* (2016). Atopic dermatitis: immune deviation, barrier dysfunction, IgE autoreactivity and new therapies, *Allergology International*, 1-6.

García, I. (2015). Proliferación de linfocitos totales en presencia de escamas humanas en pacientes alérgicos al ácaro de polvo. (Tesis de pregrado). FES Cuautitlán UNAM, Cuautitlán Izcalli, México.

Garnica, P., Zúñiga C., y Huerta J. (2015). Actualidades en el tratamiento sistémico de la dermatitis atópica en el paciente pediátrico, *Alergia Asma e Inmunología Pediátricas* 24 (1), 18-28.

GINA, (2016). Guía de bolsillo para el manejo y la prevención del asma. Recuperado de <http://ginasthma.org/wp-content/uploads/2016/10/WMS-Spanish-Pocket-Guide-GINA-2016-v1.1.pdf>.

González, L. (2014). Alergias y el sistema inmune: una revisión desde el aula, *Revista Facultad de Ciencias de la Salud UDES* 1 (1), 43-51.

González, P. (2006). La marcha atópica. *Neumología Pediátrica*. 21(33), 124-128.

Hammers, C., y Stanley J. (2013). Desmoglein-1, differentiation, and disease, *The Journal of Clinical Investigation* 123 (4), 1419-1422.

Haye, M *et al.* (2013). Anticuerpo anticitrulina y manifestaciones extra articulares en artritis reumatoidea, *MEDICINA* 73 (1), 21-25.

Herrero, J., y Moreno, F. (2010). Protocolo de Dermatitis atópica, *farmacéuticos comunitarios* 2 (3), 116-121.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), (2016). Recuperado de <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/registros/vitales/mortalidad/tabulados/ConsultaMortalidad.asp>

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). (2013). Técnicas De Laboratorio Para El Diagnóstico Y La Caracterización De Los Virus Del Dengue. *Centro Colaborador de la OPS/OMS para el Estudio del Dengue y su Vector*. 28-33

Irvine, A., McLean I., y Leung D. (2011). Filaggrin Mutations Associated with Skin and Allergic Diseases, *The New England Journal of Medicine* 365 (14), 1315-1327.

James, L., y Till, S. (2016). Potential Mechanisms for IgG4 Inhibition of Immediate Hypersensitivity Reactions, *Curr Allergy Asthma Rep* 16 (23), 1-7.

Kim, M., y Park, H. (2012). Highly Cytokinergic IgE Antibodies and Autoimmune Mechanisms, *Allergy Asthma Immunol Research* 4 (6), 311-312.

Kokuina, E. (2001). De la autoinmunidad a las enfermedades autoinmunes, *Revista Cubana Med* 40 (1), 36-44.

Kumar, V., Abbas, A., Fausto, N., y Aster, J. (2010). Enfermedades del sistema inmunitario. (8ª ed.), Patología estructural y funcional (pp 197-213) Elsevier.

Larenas, D. (2014). ARIA México 2014 Adaptación de la Guía de Práctica Clínica ARIA 2010 para México. Metodología ADAPTE, *Revista Alergia México* 61(1), S3-116.

Lezana, V. y Arancibia, J. (2006). Consideraciones epidemiológicas del asma en Latinoamérica. *Neumología Pediátrica*. 1(2), 45-48

McAleer, M., y Irvine, A. (2013). The multifunctional role of filaggrin in allergic skin disease, *The Journal Allergy Clinical Immunol* 131 (2), 280-291.

Ningning, D., Xiaoli, M., Xianguang M., Liguó A., y Shuguang P. (2016). Dysregulated function of normal human epidermal keratinocytes in the absence of *filaggrin*, *MOLECULAR MEDICINE REPORTS* 14, 2566-2572.

Nyoman, D. (2014). Disfungsi sawar epidermis dan strategi penanganan dermatitis atopik, *TINJAUAN PUSTAKA* 41 (4), 254-259.

Olivares, E., Hernández D., Núñez, C., y Cabiedes J. (2011). Proteínas citrulinadas en artritis reumatoide, *Reumatología Clínica* 7 (1), 68-71.

Olmos, L. (2001). Anatomía macro y microscópica general de la piel humana. Dermocosmos. Recuperado de http://www.dermocosmos.com/espanol/articulos/anatomia_piel_4.htm

Ortiz, I., Arévalo, M., y Rosales, D. (2010). Artritis reumatoide: algunos aspectos inmunológicos, *Revista Médica de la Extensión Portuguesa* 4 (2), 41-56.

Oxelius, V., Laurell, A., Lindquist, B., Golebiowska, H., Axelsson, U., Björkander, J., y Hanson, L. (1981). IgG Subclasses in Selective IgA Deficiency - Importance of IgG2-IgA Deficiency. *The New England Journal of Medicine* 2 (304), 1476-1477

Pascual, J., y Oterino A. (2010). IgG-mediated allergy: A new mechanism for migraine attacks?, *Cephalalgia an International Journal of Headache* 30 (7), 777-779.

Pavón, L., Jiménez, M., y Garcés, M. (2016). Inmunología molecular, celular y traslacional. *Wolteves kluwer. pp 336-345.*

Pelta, R. y Gandolfo, M. (2001). Guía de Alergia para Residentes y Atención Primaria. *Diaz de Santos. p:101*

Platts-Mills, T., Schuyler, A., Erwin E., Commins S., y Woodfolk, J. (2016). IgE in the diagnosis and treatment of allergic disease, *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 137 (6), 1662-1670.

Prieto, A., Barbarroja, J., Haro, S., y Monserrat, J. (2017). Respuesta inmune adaptativa y sus implicaciones fisiopatológicas, *Medicine* 12 (24), 1398-1407.

Rodríguez, M. (2000). Rinitis alérgica, *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud* 24 (1), 1-8.

Rodríguez, G. (2004). Glosario ilustrado de dermatología y dermatopatología. *Universidad Nacional de Colombia. pp: 93-97*

Rojas, R., y Quezada, A. (2013). Relación entre dermatitis atópica y alergia alimentaria, *Revista Chilena de Pediatría* 84 (4), 438-450.

Romero, J., Pereira, Q., Atilio, R., y Canteros, G. (2007). Reacciones de hipersensibilidad, *Revista de Posgrado de la Vla Cátedra de Medicina* 167, 11-16.

Romero, M *et al.* (2006). Nuevos marcadores en el diagnóstico de la artritis reumatoide, *Revista Cubana Invest Biomed* 25 (1).

Rosales, D., Arévalo, M., y Ortiz, L. (2009). Artritis reumatoide: importancia de los antígenos citrulinados en el diagnóstico del padecimiento, *Revista Médica de la Extensión Portuguesa* 4 (3), 125-130.

- Ross, H. y Pawlina, W. (2012). Histología. Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular. Editorial Médica Panamericana. 6ª Edición. 1-25
- Sabine, A. (2008). Serum IgE Autoantibodies target keratinocytes in patients with Atopic Dermatitis, *Journal of investigative Dermatology* 43(4), 161-167.
- Sánchez, J., y Caraballo, L. (2015). Repercusión de la contaminación del aire en la aparición de asma, *Revista Alergia México* 62 (4), 287-301.
- Sánchez, S *et al.* (2004). El fenómeno de autoinmunidad: enfermedades y antígenos relacionados, *Revista Biomédica* 15 (1), 49-55.
- Secretaria de salud, (2017). Recuperado de <http://www.gob.mx/salud>
- Shakes, D. (2012). Immunofluorescence microscopy, *Cell Biology and Physiology* 2, 36-66.
- Solis, G. (2016). Búsqueda de la autoreactividad de escamas humanas en pacientes alérgicos al polvo casero y ácaros del polvo (*Dermatophagoides pteronysinnus* y *farinae*) utilizando la técnica in vitro de degranulación de basófilos. (Tesis de pregrado). FES Cuautitlán UNAM, Cuautitlán Izcalli, México.
- Torres, S., y Martínez, Z. (2011). Factores genéticos, inmunológicos y ambientales asociados a la autoinmunidad, *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* 30 (4), 501-510.
- Valencia, O. y Velásquez, M. (2011). Inmunopatogenia del pénfigo vulgar y el pénfigo foliáceo, *latreia* 24 (3), 272-286.
- Vega, D. (2013). Características familiares y nivel de conocimientos de los padres de niños sobre el control del asma (Tesis de grado). Instituto Mexicano del Seguro Social, Poza Rica, Veracruz.
- Vilchis, V. (2012). Reactividad cruzada entre anticuerpos IgE e IgG, de pacientes alérgicos al ácaro del polvo doméstico (*Dermatophagoides pteronysinnus* y *farinae*) y proteínas de escamas humanas o alérgenos de perro y/o gato. (Tesis de pregrado). FES Cuautitlán UNAM, Cuautitlán Izcalli, México.
- Witalison, E., Thompson, P., y Hofseth, L. (2015). Protein Arginine Deiminases and Associated Citrullination: Physiological Functions and Diseases Associated with Dysregulation, *Curr Drug Targets* 16 (7), 700-710.
- Wollenberg A., y Feichtner K. (2013). Atopic dermatitis and skin allergies update and outlook, *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 68, 1509-1519.

World Allergy Organization (WAO), (2017). Recuperado de <http://www.worldallergy.org/>.

Yong, A *et al.* (2015). Perfil de sensibilización a alérgenos en niños con dermatitis atópica atendidos en el Servicio de Alergología del Hospital Universitario de la Universidad Autónoma de Nuevo León, México, *Revista Alergia México* 62 (2), 98-106.

Zendejas, V. (1987). Reconocimiento de antígenos de un ácaro del polvo casero (*Dermatophagoides pteronysinnus*) por parte de sueros de pacientes alérgicos y sus convivientes. (Tesis doctoral). IPN, México, D.F.

Zheng, T., Yu, Jinho., Hee, M., y Zhu, Z. (2011). The Atopic March: Progression from Atopic Dermatitis to Allergic Rhinitis and Asthma, *Allergy Asthma Immunol Research* 3 (2), 67-73.

Zubeldia, J *et al.* (2012). Libro de las enfermedades alérgicas de la fundación BBVA. Bilbao, España: Nerea.

12. Anexos

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




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

NOMBRE _____ EDAD _____
 SEXO _____ DX _____ EXPEDIENTE _____ FECHA _____

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

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

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

Nombre y Firma del paciente o tutor _____
 Testigo _____ Testigo _____
 ELABORÓ: _____

Anexo 2. Carta de Consentimiento Informado

HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPANTES DE INVESTIGACIÓN (MAYORES DE EDAD)

“Presencia de anticuerpos anti-filagrina y anti-desmogleína, mediante el ensayo de Inmunofluorescencia indirecta en pacientes con alergia al ácaro del polvo (*Dermatophagoides pteronysinnus* y *farinae*).”

El propósito de esta ficha de consentimiento es proveer a los participantes en esta investigación con una explicación clara acerca de la naturaleza de la misma. Así como de su función en ella como participantes.

La presente investigación es conducida por la Dra. María Isabel Rojo Gutiérrez, Jefa del Servicio de Alergia del Hospital Juárez de México. Esta investigación tiene como objetivo el determinar la presencia de auto-reactividad en pacientes alérgicos al ácaro del polvo casero, la cual se realizará mediante el ensayo de Inmuno-fluorescencia Indirecta. El procedimiento implica extraer 5 mL de sangre del paciente por punción venosa, será separada y almacenado el suero en congelación hasta el momento de reunir todas las muestras en las instalaciones del Hospital Juárez de México. La muestra obtenida será procesada en el laboratorio de Inmunología del Hospital Infantil de México “Federico Gómez”. Los resultados experimentales serán utilizados en el proyecto de tesis para la titulación de los p. BQD Alexis Acosta Igari, así como el p. BQD Sebastián Sandoval Lobo, de la FES Cuautitlán, UNAM. La participación del paciente en este estudio es estrictamente voluntaria y los datos personales que se obtengan serán confidenciales. De la misma manera quedarán registrados en el expediente clínico del Hospital Juárez por lo que podrán ser revisados por el personal médico.

Este estudio permitirá que en un futuro otros pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido debido a que dicha prueba diagnóstica sea contemplada en el futuro para explicar mejor la enfermedad del paciente para un diagnóstico más oportuno y un tratamiento más eficaz.

Entiendo que el estudio no tiene costo adicional para mí y que la atención medica que se me proporciona no se verá afectada por mi participación en el estudio. Los tesisas p. BQD Alexis Acosta Igari, así como el p. BQD Sebastián Sandoval Lobo me han ofrecido aclarar cualquier duda o contestar cualquier pregunta que al momento de firmar la presente no hubiese expresado, o que surja durante el desarrollo de la investigación.

En caso de que la prueba sea positiva la Dra. María Isabel Rojo Gutiérrez, la Dra. Gloria Castillo Narváez, o el Dr. Jaime Mellado Abrego del Servicio de Alergia del Hospital Juárez de México, me informarán referente a la interpretación de la misma. Se me ha garantizado que puedo retirar mi consentimiento en cualquier momento, sin que ello signifique que la atención médica que se me proporcione se vea afectada por este hecho.

Usted también tiene acceso a los Comités de Investigación y Ética en Investigación del Hospital Juárez de México a través del Dr. José Moreno Rodríguez, en el edificio de Investigación del Hospital Juárez de México.

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

Nombre _____ Firma _____

Testigo (Nombre y firma)

Testigo (Nombre y firma)

He explicado al Sr(a). _____ 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 investigación con seres humanos y me apegó a ella.

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

Firma del investigador

Fecha

Anexo 3. Carta de asentimiento Informado

HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

CARTA DE ASENTIMIENTO INFORMADO PARA MENORES DE EDAD

“Presencia de anticuerpos anti-filagrina y anti-desmogleína, mediante el ensayo de Inmunofluorescencia indirecta en pacientes con alergia al ácaro del polvo (*Dermatophagoides pteronyssinus* y *farinae*).

El propósito de esta ficha de asentimiento es proveer de información al padre y/o tutor de los participantes en esta investigación, con una explicación clara acerca de la naturaleza de la misma. Así como de su función en ella como participantes.

La presente investigación es conducida por la Dra. María Isabel Rojo Gutiérrez, Jefa del Servicio de Alergia del Hospital Juárez de México. Esta investigación tiene como objetivo el determinar la presencia de auto-reactividad en pacientes alérgicos al ácaro del polvo casero, la cual se realizará mediante el ensayo de Inmuno-fluorescencia Indirecta. El procedimiento implica extraer 5 mL de sangre del paciente por punción venosa, será separada y almacenado el suero en congelación hasta el momento de reunir todas las muestras en las instalaciones del Hospital Juárez de México. La muestra obtenida será procesada en el laboratorio de Inmunología del Hospital Infantil de México “Federico Gómez”. Los resultados experimentales serán utilizados en el proyecto de tesis para la titulación de los p. BQD Alexis Acosta Igari, así como el p. BQD Sebastián Sandoval Lobo, de la FES Cuautitlán, UNAM. La participación del paciente en este estudio es estrictamente voluntaria y los datos personales que se obtengan serán confidenciales. De la misma manera quedarán registrados en el expediente clínico del Hospital Juárez por lo que podrán ser revisados por el personal médico.

Este estudio permitirá que en un futuro otros pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido debido a que dicha prueba diagnóstica sea contemplada en el futuro para explicar mejor la enfermedad del paciente para un diagnóstico más oportuno y un tratamiento más eficaz.

Entiendo que el estudio no tiene costo adicional y que la atención medica que se le proporciona al paciente no se verá afectada por la participación en el estudio. Los tesisas p. BQD Alexis Acosta Igari, así como el p. BQD Sebastián Sandoval Lobo me han ofrecido aclarar cualquier duda o contestar cualquier pregunta que al momento de firmar la presente no hubiese expresado, o que surja durante el desarrollo de la investigación.

En caso de que la prueba sea positiva la Dra. María Isabel Rojo Gutiérrez, la Dra. Gloria Castillo Narváez, o el Dr. Jaime Mellado Abrego del Servicio de Alergia del Hospital Juárez de México, me informarán referente a la interpretación de la misma. Se me ha garantizado que puedo

retirar mi asentimiento en cualquier momento, sin que ello signifique que la atención médica que se le proporcione se vea afectada por este hecho.

Usted también tiene acceso a los Comités de Investigación y Ética en Investigación del Hospital Juárez de México a través del Dr. José Moreno Rodríguez, en el edificio de Investigación del Hospital Juárez de México.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Asentimiento Informado que forma parte de este documento.

Yo _____, responsable directo del Niño(a) _____
_____ de _____ años de edad, el día de hoy ____ de _____ de 20____, 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.

_____	_____
Firma del padre o tutor	Fecha
_____	_____
Testigo 1	Fecha
_____	_____
Testigo 2	Fecha

He explicado al Sr(a). _____ 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 investigación con seres humanos y me apegó a ella.

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

Firma del investigador

Fecha



Clinical significance

In cases of rheumatoid arthritis (RA), various circulating antibodies can be detected. The serological investigation usually consists only of the determination of antibodies against rheumatoid factors (RF). An association of so-called anti-keratin antibodies with this disease has been known for some time. Antibodies against profilaggrin have also been found in RA patients.

Biochemical and molecular biology investigations have shown that these "RA Keratin" specific antibodies are directed against the human target antigen filaggrin of the skin. In the stratum granulosum, the polyprotein profilaggrin is synthesized as a phosphorylated precursor from at least 10 tandem filaggrin units in the keratinocytes and stored in the keratohyaline granula. In the further course of differentiation from granular to keratinised cells, profilaggrin is converted into filaggrin molecules. The filaggrin proteins have a functional participation in the aggregation of cytokeratin filaments to form macrofibrils.

Antibodies against filaggrin can be detected in about 50% of all patients with rheumatoid arthritis (sensitivity 36 - 69%). These antibodies can already be detected in the early stage of the disease. Approximately 30% of RF-negative patients are positive for anti-filaggrin antibodies. Of relevance for assessment are antibodies of the immunoglobulin class IgG, whereby the subclasses mainly represented are IgG1 and IgG4.

Various studies have shown that the determination of antibodies against filaggrin in the early phase of RA is an indicator for the progressive development of the clinical course of the disease. The antibody titer correlates with the activity of the disease, high titers seem to be pathognomonic for rheumatoid arthritis. Investigation into anti-filaggrin antibodies increases the sensitivity of serological testing of patients with suspected RA and takes on a prognostic significance in the early phase of the disease.

In the case of RA patients, it is possible to find antinuclear antibodies (histones, U1-nRNP, ssDNA) and antibodies against smooth muscle in addition. Sporadically, antibodies against filaggrin can also be detected in other rheumatoid diseases, such as systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis and ankylosing spondylitis.

Reference list

- Kühne, S.A.M., Seidel, W., Häntzschel, H.: **Diagnostische Relevanz von Antikeratin-Antikörpern.** Zeitschrift für Rheumatologie, 57 (Suppl I): 42 (1998).
- Salvador, G., Gomez, A., Vinas, O., Ercilla, G., Canete, J.D., Munoz-Gomez, J., Sanmarti, R.: **Prevalence and clinical significance of anti-cyclic citrullinated peptide and antikeratin antibodies in palindromic rheumatism. An abortive form of rheumatoid arthritis?** Rheumatology 42: 972-975 (2003).
- Serre, G., Vincent, C.: **Filaggrin (Keratin) Autoantibodies.** In: Peter, J.B., Shoenfeld, Y. Autoantibodies. Elsevier, Amsterdam: 271-276 (1996).
- Youinou, P., Le Goff, P., Maran, R.: **Perinuclear Factor (Profilaggrin) Autoantibodies.** In: Peter, J.B., Shoenfeld, Y. Autoantibodies. Elsevier, Amsterdam: 618-623 (1996).



**Oesophagus (Rat)
Instructions for the indirect immunofluorescence test**

ORDER NO.	ANTIBODIES AGAINST	SUBSTRATE	SPECIES	FORMAT SLIDES x FIELDS
FA 1503-1003	keratin („RA keratin“, filaggrin)	oesophagus	rat	10 x 03 (030)
FA 1503-1005				10 x 05 (050)
FA 1503-1010				10 x 10 (100)
FA 1503-2005				20 x 05 (100)
FA 1503-2010				20 x 10 (200)

Indication: Rheumatoid arthritis (RA).

Test principle: This test kit is designed exclusively for the in vitro determination of human antibodies in serum or plasma. The determination can be performed qualitatively or quantitatively.

Frozen sections of rat oesophagus are incubated with diluted patient sample. If the reaction is positive, specific antibodies of classes IgA, IgG and IgM attach to oesophagus antigens. In a second step, the attached antibodies are stained with fluorescein-labelled anti-human antibodies and made visible with the fluorescence microscope.

Contents of a test system for 50 determinations: FA 1503-1005 (IgG)

Description	Format	Symbol
1. Slides, each containing 5 BIOCHIPS coated with frozen sections of rat oesophagus	10 slides	<input type="checkbox"/> SLIDE
2. Fluorescein-labelled anti-human IgG (goat), ready for use	1 x 1.5 ml	<input type="checkbox"/> CONJUGATE
3. Positive control: autoantibodies against keratin, human, ready for use	1 x 0.1 ml	<input type="checkbox"/> POS CONTROL
4. Negative control: autoantibody negative, human, ready for use	1 x 0.1 ml	<input type="checkbox"/> NEG CONTROL
5. Salt for PBS pH 7.2	2 packs	<input type="checkbox"/> PBS
6. Tween 20	2 x 2.0 ml	<input type="checkbox"/> TWEEN 20
7. Embedding medium, ready for use	1 x 3.0 ml	<input type="checkbox"/> GLYCEROL
8. Cover glasses (62 mm x 23 mm)	12 pieces	<input type="checkbox"/> COVERGLASS
9. Instruction booklet	1 booklet	—
<input type="checkbox"/> LOT Lot description	<input type="checkbox"/> Storage temperature	
<input type="checkbox"/> IVD In vitro diagnostics	<input type="checkbox"/> Unopened usable until	

Single slides (e.g., EUROIMMUN order no. FB 1503-1005) are provided together with cover glasses. Additional positive control (e.g., order no. CA 1508-0101) and negative control (e.g., order no. CA 1000-0101) can be ordered.

Performance of the test requires reagent trays TRAY, which are not provided in the test kits. They are available from EUROIMMUN under the following order no.:

- ZZ 9999-0110 Reagent trays for slides containing up to 10 fields

Storage and stability: The slides and the reagents should be stored at a temperature between +2°C and +8°C. Stability is guaranteed for 18 months after the date of manufacture if stored properly.

Waste disposal: Patient samples, controls and slides are to be handled as potentially infectious materials. All reagents are to be disposed of in accordance with official disposal regulations.



Performing the test (reaction fields 5 x 5 mm)

The **TITERPLANE Technique** was developed by EUROIMMUN in order to standardize immunological analyses: Samples or labelled antibodies are applied to the reaction fields of a reagent tray. The BIOCHIP Slides are then placed into the recesses of the reagent tray, where all BIOCHIPS of the slide come into contact with the fluids, and the individual reactions commence simultaneously. Position and height of the droplets are exactly defined by the geometry of the system. As the fluids are confined to a closed space, there is no need to use a conventional humidity chamber*. It is possible to incubate any number of samples next to each other and simultaneously under identical conditions.

Preparation: The preparation of the reagents and of the serum and plasma samples is described on **page 4** of this test instruction.

Pipette: Apply **30 µl of diluted sample** to each reaction field of the reagent tray, avoiding air bubbles. Transfer all samples to be tested before starting the incubation (up to 200 droplets). Use a polystyrene pipetting template.

Incubate: Start reactions by fitting the BIOCHIP Slides into the corresponding recesses of the reagent tray. Ensure that each sample makes contact with its BIOCHIP and that the individual samples do not come into contact with each other. Incubate for **30 min** at room temperature (+18°C to +25°C).

Wash: Rinse the BIOCHIP Slides with a flush of PBS-Tween using a beaker and immerse them immediately afterwards in a cuvette containing PBS-Tween for at least **5 min**. Shake with a rotary shaker if available. Wash max. 16 slides then replace PBS-Tween with new buffer.

Pipette: Apply **25 µl of fluorescein labelled anti-human globulin** to each reaction field of a clean reagent tray. Add all droplets before continuing incubation. Use a stepper pipette. The labelled anti-human serum should be mixed before use. To save time, conjugate can be pipetted onto separate reagent trays during the incubation with the diluted sample.

Incubate: Remove one BIOCHIP Slide from cuvette. Within five seconds blot only the back and the long sides with a paper towel and immediately put the BIOCHIP Slide into the recesses of the reagent tray. Do not dry the areas between the reaction fields. Check for correct contact between the BIOCHIPS and liquids. Then continue with the next BIOCHIP Slide. From now on, protect the slides from direct sunlight. Incubate for **30 min** at room temperature (+18°C to +25°C).

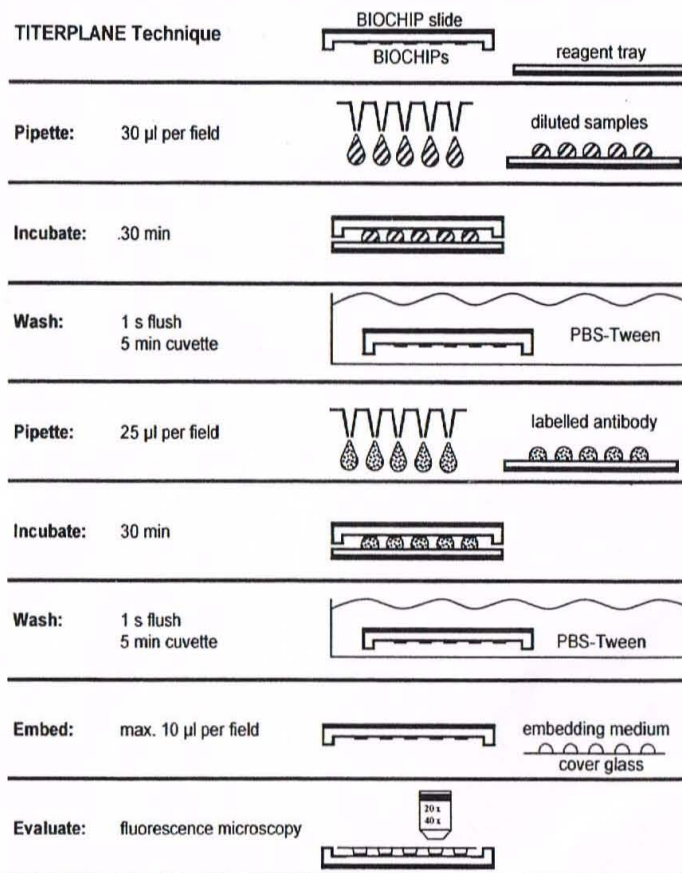
Wash: Fill cuvette with new PBS-Tween. Rinse the BIOCHIP Slides with a flush of PBS-Tween using a beaker and put them into the cuvette filled with the new PBS-Tween for at least **5 min**. Shake with a rotary shaker if available. 10 drops of Evans Blue for each 150 ml phosphate buffer can be added for counterstaining. Wash max. 16 slides then replace PBS-Tween with new buffer.

Embed: Place embedding medium onto a cover glass - drops of **max. 10 µl per reaction field**. Use a polystyrene embedding template. Remove one BIOCHIP Slide from PBS Tween and dry the back, all four sides, as well as the surface around, but not between the reaction fields with a paper towel. Put the BIOCHIP Slide, with the BIOCHIPS facing downwards, onto the prepared cover glass. Check immediately that the cover glass is properly fitted into the recesses of the slide. Correct the position if necessary.

Evaluate: Read the fluorescence with the microscope.
General recommendation: Objective 20x (tissue sections, infected and transfected cells), 40x (cell substrates).
Excitation filter: 488 nm, color separator: 510 nm, blocking filter: 520 nm.
Light source: mercury vapor lamp, 100 W, EUROIMMUN LED, EUROStar BlueLight.



TITERPLANE Technique





Preparation and stability of reagents

Note: The individual reagents of one lot are matched with one another and should not generally be swapped with reagents of another lot. After initial opening, the reagents are stable until the expiry date when stored between +2°C and 8°C and protected from contamination, unless stated otherwise below.

Slides: Ready for use. Remove the protective cover only when the slides have reached room temperature (condensed water can damage the substrate). Mark with a felt-tip pen. Do not touch the BIOCHIPs. After the protective cover has been opened, the slide should be incubated within 15 minutes. If the protective cover is damaged, the slide must not be used for diagnostics.

Fluorescein-labelled secondary antibody (FITC): Ready for use. Before using for the first time, mix thoroughly. The conjugate is sensitive to light. Protect from sunlight ☀.

Positive and negative controls: Ready for use. Before using for the first time, mix thoroughly.

PBS-Tween: 1 pack of "Salt for PBS" should be dissolved in 1 liter of distilled water (optimal: aqua pro infusione, aqua ad injectabilia) and mixed with 2 ml of Tween 20 (stir for 20 min until homogeneous). The prepared PBS-Tween can be stored at +2°C to +8°C, generally for 1 week. PBS-Tween should not be used if the solution becomes cloudy or contamination appears.

Embedding medium: Ready for use.

Reagent trays: Reaction fields of the reagent tray must be hydrophilic and surrounding area hydrophobic. If necessary, wipe with Extran MA 01 (Merck) and rinse generously with water. To disinfect: Immerse in Sekusept Extra (Henkel) (3% in water) for 1 hour. After disinfection rinse generously with water and dry with absorbent paper.

Warning: Neither HBsAg nor antibodies against HIV-1, HIV-2, and HCV could be detected in the control sera using appropriate ELISA or indirect immunofluorescence tests. **Nevertheless, all test system components should be handled as potentially infectious materials.** Some of the reagents also contain the toxic agent sodium azide. Avoid skin contact.



Preparation and stability of serum and plasma samples

Samples: Human sera or EDTA, heparin or citrate plasma.

Stability: The patient samples to be investigated can generally be stored up to 14 days at a temperature between +2°C and 8°C. Diluted samples must be incubated within one working day.

Recommended sample dilution for qualitative evaluation: The sample to be investigated is diluted 1:10 in PBS-Tween. For example, dilute 11.1 µl sample in 100 µl PBS-Tween and mix thoroughly, e.g., vortex for 4 seconds.

Recommended Serum dilution for quantitative evaluation: The dilution of samples to be investigated is performed using PBS-Tween. For each add 100 µl of PBS-Tween to the tube and mix with 11.1 µl of the next highest concentration, e.g., vortex for 2 seconds. EUROIMMUN recommends incubating samples from a dilution of 1:10.

Dilution	Dilution scheme	
1:10	100 µl PBS-Tween + 11.1 µl undiluted sample	
1:100	100 µl PBS-Tween + 11.1 µl 1:10 diluted sample	
1:1000	100 µl PBS-Tween + 11.1 µl 1:100 diluted sample	
⋮	⋮	



Dermatology Mosaics
Instructions for the indirect immunofluorescence test

ORDER NO.	ANTIBODIES AGAINST	SUBSTRATE	SPECIES	FORMAT SLIDES x FIELDS
FA 1495-1	spine cell desmosomes	oesophagus, tongue	monkey	
FA 1501	epidermal basement membrane	oesophagus, tongue	monkey	
FA 1501-1	desmoglein 1	transfected cells	EU 90	
FA 1501-7	desmoglein 3	transfected cells	EU 90	
FA 1501-11	BP180-NC16A-4X	BP180-NC16A-4X EUROPLUS	---	10 x 03 (030)
FA 1501-20	BP230gC	transfected cells	EU 90	10 x 05 (050)
FA 1502	pemphigoid antigens	salt-split skin	monkey	10 x 10 (100)
FA 1502-1	collagen type VII NC1	transfected cells	EU 90	20 x 05 (100)
FA 1507	transitional epithelia	urinary bladder	rat	
FA 150b	gliadin (GAF-3X)	Gliadin (GAF-3X) EUROPLUS	---	
FA 1947-50	endomysium	liver	monkey	
(see p. 19/20)	cell nuclei (ANA)	HEp-2 cells	human	

Indication: This test kit is designed for the qualitative or semiquantitative in vitro determination of human antibodies of immunoglobulin classes IgA or IgG in patient samples for the diagnosis of autoimmune bullous dermatoses.

Application: Autoantibodies against many different structural proteins of the skin are indicative in the diagnosis of autoimmune bullous dermatoses. The combination of different IFT substrates (tissue, transfected cells and EUROPLUS) allows for simultaneous antibody detection and enables differentiation of various dermatoses in one step.

Test principle: Combinations of different substrates are incubated with diluted patient sample. If a positive reaction is obtained, specific antibodies of classes IgA, IgG and IgM attach to the antigens. In a second step, the attached antibodies are stained with fluorescein-labelled anti-human antibodies and made visible with a fluorescence microscope.

Contents of a test system for 50 determinations (e.g. FA 1501-1005-1):

Description	Format	Symbol
1. Slides, with a mosaic of BIOCHIPs (specifications: see page 19/20)	10 slides	SLIDE
2. Fluorescein-labelled anti-human IgG (goat), ready for use	1 x 1.5 ml	CONJUGATE
3. Positive control: autoantibodies against spine cell desmosomes, human, ready for use	1 x 0.1 ml	POS CONTROL
4. Positive control: autoantibodies against epidermis: epidermal basement membrane, human, ready for use	1 x 0.1 ml	POS CONTROL
5. Negative control: autoantibody-negative, human, ready for use	1 x 0.1 ml	NEG CONTROL
6. Salt for PBS pH 7.2	2 packs	PBS
7. Tween 20	2 x 2.0 ml	TWEEN 20
8. Mounting medium, ready for use	1 x 3.0 ml	GLYCEROL
9. Cover glasses (62 mm x 23 mm)	12 pieces	COVERGLASS
10. Instruction booklet	1 booklet	---
LOT Lot description	CE	Storage temperature
IVD In vitro diagnostic medical device		Unopened usable until

Single slides (e.g., EUROIMMUN order no. FB 1501-1005-1) are provided together with cover glasses. Additional positive control (e.g., order no. CA 1501-0101, CA 1502-0101) and negative control (e.g., order no. CA 1000-0101) can be ordered.

Performance of the test requires reagent trays **TRAY**, which are not provided in the test kits. They are available from EUROIMMUN under the following order no.:

- ZZ 9999-0105 Reagent trays for slides containing up to 5 fields (9 x 7 mm)
- ZZ 9999-0110 Reagent trays for slides containing up to 10 fields (5 x 5 mm)

Performing the test

The **TITERPLANE Technique** was developed by EUROIMMUN in order to standardise immunological analyses: Samples or labelled antibodies are applied to the reaction fields of a reagent tray. The BIOCHIP slides are then placed into the recesses of the reagent tray, where all BIOCHIPs of the slide come into contact with the fluids, and the individual reactions commence simultaneously. Position and height of the droplets are exactly defined by the geometry of the system. As the fluids are confined to a closed space, there is no need to use a conventional "humidity chamber". It is possible to incubate any number of samples next to each other and simultaneously under identical conditions.

Prepare: The preparation of the reagents and of the serum and plasma samples is described on page 4 of this test instruction.

Pipette: Apply a defined volume (see scheme next page) of diluted sample to each reaction field of the reagent tray, avoiding air bubbles. Transfer all samples to be tested before starting the incubation (up to 200 droplets). Use a polystyrene pipetting template.

Incubate: Start reactions by fitting the BIOCHIP slides into the corresponding recesses of the reagent tray. Ensure that each sample makes contact with its BIOCHIP and that the individual samples do not come into contact with each other. Incubate for **30 min** at room temperature (+18°C to +25°C).

Wash: Rinse the BIOCHIP slides with a flush of PBS-Tween using a beaker and immerse them immediately afterwards in a cuvette containing PBS-Tween for at least **5 min**. Shake with a rotary shaker if available. Wash max. 16 slides, then replace PBS-Tween with new buffer.

Pipette: Apply a defined volume (see scheme next page) of fluorescein-labelled anti-human globulin to each reaction field of a clean reagent tray. Add all droplets before continuing incubation. Use a stepper pipette. The labelled anti-human serum should be mixed thoroughly before use. To save time, conjugate can be pipetted onto separate reagent trays during the incubation with the diluted sample.

Incubate: Remove one BIOCHIP slide from cuvette. Within five seconds blot only the back and the long sides with a paper towel and immediately put the BIOCHIP slide into the recesses of the reagent tray. Do not dry the areas between the reaction fields. Check for correct contact between the BIOCHIPs and liquids. Then continue with the next BIOCHIP slide. From now on, protect the slides from direct sunlight. Incubate for **30 min** at room temperature (+18°C to +25°C).

Wash: Fill cuvette with new PBS-Tween. Rinse the BIOCHIP slides with a flush of PBS-Tween using a beaker and put them into the cuvette filled with the new PBS-Tween for at least **5 min**. Shake with a rotary shaker if available. Wash max. 16 slides, then replace PBS-Tween with new buffer.

Mount: Place mounting medium onto a cover glass – volume per reaction field see scheme next page. Use a polystyrene mounting tray. Remove one BIOCHIP slide from PBS-Tween and dry the back and all four sides with a paper towel. Put the BIOCHIP slide, with the BIOCHIPs facing downwards, onto the prepared cover glass. Check immediately that the cover glass is properly fitted into the recesses of the slide. Correct the position if necessary.

Evaluate: Read the fluorescence with the microscope.
General recommendation: objective 20x (tissue sections, infected and transfected cells), 40x (cell substrates).
Excitation filter: 450-490 nm, colour separator: 510 nm, blocking filter: 515 nm.
Light source: mercury vapour lamp, 100 W, EUROIMMUN LED, EUROStar BlueLight.



Preparation and stability of reagents

Note: After initial opening, the reagents are stable until the expiry date when stored between +2°C and +8°C and protected from contamination, unless stated otherwise below.

- **Slides:** Ready for use. Remove the protective cover only when the slides have reached room temperature (+18°C up to +25°C, condensed water can damage the substrate). Do not touch the BIOCHIPs. If the protective cover is damaged, the slide must not be used for diagnostics.
- **Fluorescein-labelled secondary antibody (FITC):** Ready for use. Before using for the first time, mix thoroughly. The conjugate is sensitive to light. Protect from sunlight.
- **Positive and negative controls:** Ready for use. Before using for the first time, mix thoroughly.
- **PBS-Tween:** 1 pack of "Salt for PBS" should be dissolved in 1 liter of distilled water (optimal: aqua pro infusione, aqua ad injectabilia) and mixed with 2 ml of Tween 20 (stir for 20 min until homogeneous). The prepared PBS-Tween can be stored at +2°C to +8°C, generally for 1 week. PBS-Tween should not be used if the solution becomes cloudy or contamination appears.
- **Mounting medium:** Ready for use.
- **Reagent trays:** Reaction fields of the reagent tray must be hydrophilic and surrounding area hydrophobic. If necessary, leave in 2% Deconex 11 universal (EUROIMMUN order number: ZZ 9912-0101) for 12 hours. Afterwards rinse generously with water and dry. Cleaning: Rub reagent trays with 5% Extran MA 01 (EUROIMMUN order number: ZZ 9911-0130) and rinse generously with water. To disinfect: Spray reagent trays generously with Mikrozid AF (EUROIMMUN order number: ZZ 9921-0125), turn over and leave for 5 minutes. Afterwards, rinse generously with water and dry.

Storage and stability: The slides should be stored at a temperature of -20°C to +8°C and the other reagents at +2°C to +8°C. Unopened, all test kit components are stable until the indicated expiry date.

Waste disposal: Patient samples, controls and slides are to be handled as potentially infectious materials. All reagents are to be disposed of in accordance with official disposal regulations.

Warning: The BIOCHIPs coated with antigen substrates have been treated with a disinfecting fixing agent. Neither HBsAg nor antibodies against HIV-1, HIV-2, and HCV could be detected in the control sera using appropriate ELISA or indirect immunofluorescence tests. **Nevertheless, all test system components should be handled as potentially infectious materials.** Some of the reagents also contain the agent sodium azide in a non-declarable concentration. Avoid skin contact.

Preparation and stability of serum and plasma samples

Samples: Human sera or EDTA, heparin or citrate plasma.

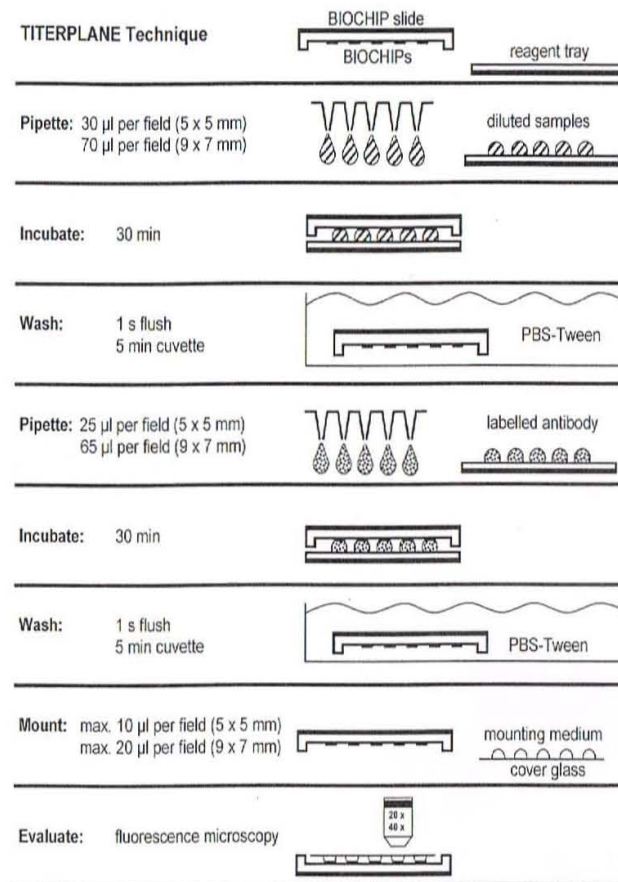
Stability: The patient samples to be investigated can generally be stored up to 14 days at a temperature between +2°C and +8°C. Diluted samples must be incubated within one working day.

Recommended sample dilution for qualitative evaluation: The sample to be investigated is diluted 1:10 in PBS-Tween. For example, dilute 11.1 µl sample in 100 µl PBS-Tween and mix thoroughly, e.g., vortex for 4 seconds.

Recommended sample dilution for semiquantitative evaluation: The dilution of samples to be investigated is performed using PBS-Tween. Add 100 µl of PBS-Tween to each tube and mix with 11.1 µl of the next highest concentration, e.g. vortex for 2 seconds. EUROIMMUN recommends incubating samples from a dilution of 1:10.



TITERPLANE Technique



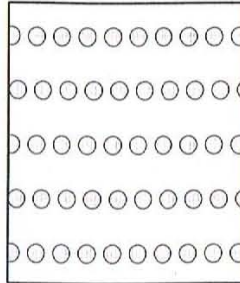
Automated Incubation: The test kit can be incubated by using automated devices, e.g. IF Sprinter, Sprinter XL, EUROLabLiquidHandler or others. The incubation and washing conditions programmed should be the same as described in the manual procedure. The test settings for EUROIMMUN devices are validated in combination with the kit. Any other combination has to be validated by the user. For details please refer to the device manual.



Autoantibodies against **endomysium** can be investigated using several different primate tissues. However, tissue sections of primate liver are best suited for this purpose. The antibodies react with the filamentous lining of the intralobular sinusoids.

The **gliadin (GAF-3X)** was applied to the BIOCHIPS in the form of microscopically fine droplets. If gliadin (GAF-3X)-specific antibodies are present in the serum, then green circular areas will fluoresce against a dark background.

In the case of a negative reaction, the entire gliadin (GAF-3X) BIOCHIP will remain dark, the green circular areas described are not or hardly recognisable. To obtain a clear differentiation between a negative and a positive reaction, the results from the negative control serum and several normal sera must be examined and compared with the positive control.



BIOCHIP coated with Gliadin (GAF-3X)

If the cell nuclei or the cytoplasm of all cells are stained, antinuclear antibodies or antibodies against mitochondria and other antigens are present in this sample.

If the positive control shows no specific fluorescence pattern or the negative control shows a clear specific fluorescence, the results are not to be used and the test is to be repeated.

A large range of fluorescence images can be found on the EUROIMMUN website (www.euroimmun.com)

Recommended qualitative evaluation:

Epidermal reactivity	Evaluation
No reaction at 1:10	Negative. No antibodies against epidermal antigens detected in the patient samples.
Positive reaction at 1:10	Positive. Spine cell desmosomes. Indication of pemphigus vulgaris, pemphigus foliaceus, rarely paraneoplastic pemphigus. Epidermal basement membrane: indication of pemphigoid, pemphigoid gestationes and others.

Reactivity of basement membrane structures (salt-split skin)	Evaluation
No reaction at 1:10	Negative. No antibodies against structures of the basement membrane detected in the patient samples.
Positive reaction at 1:10	Positive. Epidermal side: Indication of pemphigoid, pemphigoid gestationes and others. Dermal side: indication of epidermolysis bullosa acquisita.

Transitional epithelia (urinary bladder) reactivity	Evaluation
No reaction at 1:10	Negative. No antibodies against transitional epithelia detected in the patient samples.
Positive reaction at 1:10	Positive. Suspected paraneoplastic pemphigus.

Desmoglein 1 and 3 reactivity	Evaluation
No reaction at 1:10	Negative. No antibodies against desmoglein 1 (dsg1) and desmoglein 3 (dsg3) detected in the patient samples.
Positive reaction at 1:10	Positive. Indication of pemphigus foliaceus (dsg1) and pemphigus vulgaris (dsg3 and dsg1/dsg3), less frequently paraneoplastic pemphigus (dsg3 and plakins).

101



Dilution	Dilution scheme	
1:10	100 µl PBS-Tween + 11.1 µl undiluted sample	
1:100	100 µl PBS-Tween + 11.1 µl 1:10 diluted sample	
1:1000	100 µl PBS-Tween + 11.1 µl 1:100 diluted sample	
⋮	⋮	

Evaluation

Fluorescence pattern (positive reaction): Antibodies against **spine cell desmosomes** react with the surface antigens of keratinocytes.

Tissue sections of oesophagus and tongue show a characteristic, honeycomb-like, smooth fine-granular fluorescence of the intercellular substance, which is mainly spread over the entire stratum spinosum.

Autoantibodies against **epidermal basement membrane** show a fine-linear staining between the stratum basale and the connective tissue.

Antibodies against plakins react with the **transitional epithelium** (basement membrane and desmosomes) of rat urinary bladder. Antibodies against epidermal basement membrane cause a fine linear staining between the stratum basale and the connective tissue. Additionally, a reaction of the intercellular substance of the transitional epithelium can be visible (antibodies against desmosomes).

Antibodies against basement membrane structures react with salt-split skin. **Anti-BP180, anti-BP230 and anti-LAD97** cause a staining of the epidermal side, while antibodies against **laminin 5, collagen VII** and other antigens stain the dermal side of salt-split skin.

Antibodies against **BP230gC, collagen VII, desmoglein 1 and desmoglein 3** show a smooth to fine-granular cytoplasmic fluorescence, partly with fluorescence of the cell membrane (desmoglein 1 and 3), on transfected cells of the corresponding test substrate. The cell nuclei are generally not stained or fluoresce only slightly.

The **BP180-NC16A-4X** BIOCHIPS are prepared by first applying highly purified antigen. Then, some of the coating is removed. If BP180-specific antibodies are present in the serum, diamond-shaped green fields fluoresce in front of a dark background.

In case of a negative reaction the entire BIOCHIP coated with BP180-NC16A-4X is dark, with the diamond-shaped fields being distinctly recognisable. For a secure differentiation between positive and negative results the positive and negative control sera and, if necessary, several normal sera should be compared with the patient samples.



BIOCHIP coated with BP180-NC16A-4X



Panel	n	Primate oesophagus	Recombinant substrates	
		Anti-epidermal spine cell desmosomes	Anti-desmoglein 1	Anti-desmoglein 3
Pemphigus foliaceus	50	49	45	3
Pemphigus vulgaris	65	65	34	64
Sensitivity for pemphigus foliaceus	50	98.0%	90.0%	6.0%
Sensitivity for pemphigus vulgaris	65	100%	52.3%	98.5%
Pemphigoid	42	12	0	1
Linear IgA dermatosis	18	7	0	0
Non-inflammatory skin diseases	97	9	0	0
Healthy blood donors	100	0	0	0
Specificity	257	89.1%	100%	99.6%

Source: Scientific presentation at the 14th International Congress of Immunology, Kobe, Japan, August 2010

Clinical significance

Autoimmune bullous dermatoses belong to the organ-specific autoimmune diseases. They are characterised by the formation of autoantibodies against structural proteins of the skin. These structural proteins establish the cell-to-cell contact in keratinocytes within the epidermis and the adhesion of the epidermis to the dermis. Autoimmune bullous dermatoses are divided into 4 main groups based on their target antigens and the localisation of the blisters: pemphigoid diseases, including epidermolysis bullosa acquisita, dermatitis herpetiformis, pemphigus diseases and paraneoplastic pemphigus. In pemphigus diseases the blisters form intraepidermally, whereas in autoimmune bullous dermatoses they occur subepidermally.

Table: Target antigens of blister-forming autoimmune dermatoses

Disease	Target antigen
Pemphigoid disease	
- Bullous pemphigoid	BP180, BP230
- Pemphigoid gestationis	BP180, BP230
- Linear IgA dermatosis	BP180, BP230
- Mucosal pemphigoid	BP180, laminin 332 (laminin 5), $\alpha 6\beta 4$ integrin, laminin 311, BP230
- Lichen planus pemphigoides	BP180, BP230
- Anti-laminin $\gamma 1/p200$ pemphigoid	laminin $\gamma 1$ chain (p200 protein)
- Epidermolysis bullosa acquisita	Collagen type VII (anchoring fibrils)
Dermatitis herpetiformis	Endomysium (epidermal/tissue transglutaminase)
Pemphigus diseases	
- Pemphigus foliaceus	Dsg1
- Pemphigus vulgaris	Dsg3
- IgA pemphigus	Dsg1 or Dsg3 and desmocollin 1
Paraneoplastic pemphigus	Desmoplakin 1 and 2, BP230, envoplakin, perioplakin, plectin, Dsg1, Dsg3, unknown antigen of 170kD

Main target antigens are printed in bold.



Substrate	Ig class	Reference (number and origin of samples)	Specificity	Sensitivity
Desmoglein 1 and 3	IgG	Clinical control cohorts: autoimmune and non-immune skin diseases (n = 257, Germany)	100%	60% (dsg3) 20% (dsg1)
		Clinical cohort: paraneoplastic pemphigus (n = 20, Germany)		
Liver (monkey): Anti-Endomysium	IgA	Clinical specificity (n = 574, Germany/Austria) Clinical sensitivity (n = 298, Germany/Austria)	97.2%	95.3%
	IgG	Clinical specificity (n = 574, Germany/Austria) Clinical sensitivity (n = 298, Germany/Austria)	96.3%	62.8%
Glialin (GAF-3X)	IgA	Healthy blood donors (n = 200, Germany) Anti-Glialin (GAF-3X) ELISA (n = 122 samples precharacterised as positive, Germany)	99%	95%
Glialin (GAF-3X)	IgG	Healthy blood donors (n = 200, Germany) Anti-Glialin (GAF-3X) ELISA (n = 114 samples precharacterised as positive, Germany)	100%	100%

* The data was taken from the following literature: Wolf J, Jahnke A, Fachner K, Richter T, Laass MW, Hauer A, Stern M, De Lafolie J, Flemming G, Mothes T. Primate liver tissue as an alternative substrate for endomysium antibody immunofluorescence testing in diagnostics of paediatric coeliac disease. Clin Chim Acta. 460 (2016) 72-77.

Panel	n	Primate oesophagus	Recombinant substrates	
		Anti-epidermal basement membrane	Anti-BP180-NC16A	Anti-BP230gC
Pemphigoid	42	41	42	23
Sensitivity for pemphigoid	42	97.6%	100%	54.8%
Pemphigus foliaceus	50	0	0	0
Pemphigus vulgaris	65	0	0	0
Linear IgA dermatosis	18	0	0	0
Non-inflammatory skin diseases	97	2	5	0
Healthy blood donors	100	2	1	0
Specificity	330	98.8%	98.2%	100%

Source: Scientific presentation at the 14th International Congress of Immunology, Kobe, Japan, August 2010



In addition to severe dermatitis, paraneoplastic pemphigus is characterised by an occult or manifest tumour, in most cases haematological neoplasia (non-Hodgkin's lymphoma, lymphatic leukaemia, Castleman tumour). It can be associated with autoantibodies against various desmosomal and hemidesmosomal proteins: desmoplakin 1 and 2, BP230, envoplakin, periplakin, plectin, Dsg1, Dsg3 and against an unknown 170kD antigen.

Detection of tissue-bound autoantibodies using direct immunofluorescence is required to make a conclusive diagnosis of autoimmune blister-forming dermatoses. In pemphigoid disease and epidermolysis bullosa acquisita deposits of IgG/IgA/C3 are found in perilesional sample biopsies. Further differentiation is achieved in indirect immunofluorescence on human split skin.

The complete substrate combination consists of

- oesophagus
- salt-split skin
- blister mucosa
- GAF-3X
- Dsg1 expressing cells
- Dsg3 expressing cells
- BP230 expressing cells
- BP180 (recombinant purified BP180-NC16A)

Summary: Diagnosis of autoimmune bullous dermatoses is based on a combination of the clinical picture and the determination of autoantibodies against structural proteins of the skin or against recombinant, biochemically purified antigens using IIFT (Dermatology Mosaic providing the complete substrate combination) and monospecific ELISA or immunoblot analysis. Using these tests/test combinations, pemphigoid and pemphigus diseases, epidermolysis bullosa acquisita and Duhring's dermatitis herpetiformis can be diagnosed with an unrivalled autoantibody specificity of almost 100% and a sensitivity of 96% to 100%. Furthermore, duration and activity of the disease, for example before or during therapy, can be determined on the basis of the measured titer levels and suspected cases of paraneoplastic pemphigus (even in early stages) can be verified.

Literature references

1. Barnadas MA, Rubiales MV, Gonzalez MJ, Puig L, Pilar G, Baselga E, Pujol R, Alomar A, Gelpi C. **Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and indirect immunofluorescence testing in a bullous pemphigoid and pemphigoid gestationis.** International Journal of Dermatology 47(2008) 1245-1249.
2. Bertram F, Bröcker EB, Zillikens D, Schmidt E. **Prospective analysis of the incidence of autoimmune bullous disorders in Lower Franconia, Germany.** J Dtsch Dermatol Ges 7 (2009) 434-440.
3. Blöcker JM, Dähnrich* C, Probst* C, Komorowski* L, Saschenbrecker* S, Schlumberger* W, Stöcker* W, Zillikens D, Schmidt E. (*EUROIMMUN AG). **Epitope mapping of BP230 leading to a novel enzyme-linked immunosorbent assay for autoantibodies in bullous pemphigoid.** Br J Dermatol 166 (2012) 964-970.
4. Cunha PR, Barraviera SR. **Autoimmune bullous dermatoses.** [Article in English, Portuguese] An Bras Dermatol 84 (2009) 111-124.
5. Dähnrich* C, Rosemann* A, Probst* C, Komorowski* L, Schlumberger* W, Stöcker* W, Recke A, Rose C, Zillikens D, Schmidt E. (*EUROIMMUN AG). **ELISA using ectodomains of desmoglein 1 and 3 expressed in HEK293 for sensitive and specific detection of pemphigus autoantibodies.** In: Conrad K et al. (Hrsg.). From Pathogenesis to Therapy of Autoimmune diseases: Autoantigens, Autoantibodies, Autoimmunity. Pabst Science Publishers (2009) 498-499.
6. Damoiseaux J, van Rijnsing M, Warnemünde* N, Dähnrich* C, Fechner* K, Cohen Tervaert JW. (*EUROIMMUN AG). **Autoantibody detection in bullous pemphigoid: Clinical evaluation of the EUROPLUS™ Dermatology Mosaic.** J Immunol Methods 382 (2012) 76-80.



Pemphigoid diseases - characterised by subepidermal blister formation near the basement membrane - include bullous pemphigoid, pemphigoid gestationis, linear IgA dermatosis, mucosal pemphigoid, lichen planus pemphigoides, anti-laminin γ 1/p200 pemphigoid and epidermolysis bullosa acquisita.

With an incidence of 1.3 to 4.2 new cases per year per 100,000 inhabitants, bullous pemphigoid (BP) is the most frequent subepidermal autoimmune blister-forming dermatosis in central Europe and north America. The disease mainly affects elderly people. The manifestation of BP is bulging blisters at the integument. However, BP may proceed without blisters for weeks or months. Therefore, all elderly patients with irritating skin disorders persisting for long periods should be tested for BP in differential diagnosis.

Autoantibodies in BP are directed against the hemidesmosomal proteins BP180 (type XVII collagen) and BP230.

BP180 ("BPAG2") is a transmembrane glycoprotein with an intracellularly localised C-terminal domain and an extracellular N-terminus. The ectodomain consists of 15 collagenous and 16 non-collagenous domains. Of these, NC16A (extracellular) directly flanks the keratinocyte membrane. It is the major immunogenic epitope of autoantibodies in bullous pemphigoid. BP180NC16A is also the immunodominant region in patients with pemphigoid gestationis and lichen planus pemphigoides and is the target in around half of patients with mucosal pemphigoid and antibodies against BP180. The Anti-BP180 EUROPLUS (IIFT) and Anti-BP180 ELISA (Anti-BP180-4X ELISA) use recombinant purified BP180-NC16A as the antigen.

BP230, the first target antigen in bullous pemphigoid to be identified and therefore named "BPAG1", contributes to the anchoring of the keratin filament system via its C-terminal domain. The N-terminal end of BP230 is important for its integration into the hemidesmosomes and interacts with BP180 and the β 4-subunit of α 6 β 4-integrin. Anti-BP230 develop with a time lag compared to anti-BP180. The Dermatology Mosaic (IIFT) uses mammalian cell substrates comprised of BP230-expressing cells, while the Anti-BP230 ELISA (Anti-BP230 CF ELISA) is based on a recombinant, biochemically purified antigen.

In dermatitis herpetiformis (DH) - dermal blister formation - antibodies against gliadin and autoantibodies against epidermal transglutaminase or tissue transglutaminase/endomysium are of main importance. DH holds a special position in autoimmune bullous dermatoses since the blisters are formed in deeper layers of the skin. DH is the cutaneous manifestation of coeliac disease (sprue, gluten intolerance). Sprue is found in all DH patients (but not every sprue patient has DH). Life-long gluten-free diet is one of the main pillars of DH therapy.

In pemphigus diseases (blisters are formed intraepidermally by acantholysis) the autoimmune system targets primarily the calcium-dependent adhesion molecules (cadherins) desmoglein 1 and 3 (Dsg1 and Dsg3) of the prickle cell desmosomes, which connect the keratinocytes with each other. Dsg1 is expressed more frequently on the epidermal and mucosal surfaces than in the stratum basale. For Dsg3 this is vice versa. Furthermore, Dsg3 dominates the whole length of the mucosal epithelium, while in the epidermis it is only found near basal cells.

- Pemphigus foliaceus is associated with autoantibodies against Dsg1. This means that only the upper layers of the epidermis are affected. The mucosa is not involved since it contains enough Dsg3 (which is not targeted by the autoimmune response). A gap forms in the stratum granulosum, with thin flaccid blisters. The incidence is estimated to be 0.1 cases per 100,000 persons per year.

- Pemphigus vulgaris is caused by an autoimmune response to Dsg3. The disease manifests as two variants: If only autoantibodies against Dsg3 are present, the mucosa is primarily affected. The cells of the epidermis are still anchored by Dsg1, which is not affected. If, however, the patient also develops autoantibodies against Dsg1, the epidermis is also involved in addition to the mucosa. In contrast to pemphigus foliaceus, the acantholysis takes place in the lower layers of the epidermis. The blisters are therefore slightly tenser. The incidence of pemphigus vulgaris is 0.7 to 1.6 cases per 100,000 persons per year.

- IgA pemphigus is characterised by autoantibodies of immunoglobulin class IgA (NV). The target antigens are Dsg1 or Dsg3 and desmocollin 1.

The pemphigus group also includes: pemphigus vegetans, herpetiformis, erythematosis and drug-induced pemphigus.



COLEGIO MEXICANO DE INMUNOLOGÍA CLÍNICA Y ALERGI A.C.



OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

A

Acosta Igarí Cristian Alexis, Sandoval Lobo Sebastián, Mellado Abrego Jaime, Castillo Narváez Gloria, Benavidez Badillo María Angelina Parra Ortega Israel, López Martínez Briceida, María Isabel Rojo Gutierrez, Zendejas Buitrón Víctor

Por la presentación de su trabajo de investigación titulado:

Presencia de anticuerpos antiflagrina en pacientes alérgicos al acaro del polvo

En modalidad de cartel.

PREMIADO COMO 2DO LUGAR EN LA CATEGORIA DE INMUNOLOGIA BÁSICA


Dra. Doris Nereida López Lizarraga
Presidente CMICA 2016-2017


Dr. Javier Gómez Vera
Vice-Presidente CMICA 2016-2017


Dr. Fernando Iduñate Palacios
Secretario CMICA 2016-2017

18 AL 21 DE MAYO 2016
PUERTO VALLARTA, HOTEL SHERATON BUGANVILIAS