

Bem recentemente realizou-se na Madeira o Summer Course da EAACI (European Academy of Allergology and Clinical Immunology) em colaboração estreita com a S.P.A.I.C., cuja análise será feita nas páginas desta Revista e que felizmente resultou na obtenção plena de todos os objectivos propostos. Também durante a Reunião Anual da S.P.A.I.C. em Tomar haverá mais um encontro do Capítulo Latino Americano de Alergologia, seguindo-se em Novembro a Reunião Luso-Brasileira durante o Congresso Brasileiro de Alergologia em Belém do Pará e no início de Dezembro um Encontro das Sociedades Científicas de Alergologia do Sul da Europa (Portugal, Espanha e Itália) em Bilbao durante a Interasma.

Esta grande actividade internacional em que a S.P.A.I.C. está envolvida há vários anos com evidência para os seus especialistas na troca de conhecimentos científicos em plano de igualdade com os seus Colegas estrangeiros não pode no entanto escamotear as dificuldades e por vezes incompreensões ainda existentes acerca da importância técnica e social dos Alergologistas Portugueses e que nos últimos tempos se tem reflectido mais nas dificuldades com que os jovens se têm debatido para a sua colocação e integração em algumas comunidades hospitalares.

Tendo como é sabido as Doenças Alérgicas obtido no VI Framework da C.E. um lugar de grande importância com a captação de fundos comunitários para o desenvolvimento e investigação nesta área e estando Portugal representado na Rede Europeia que se criou (Ga2len) é natural que os Alergologistas Portugueses continuem a ser solicitados para uma participação activa e paritária com os seus homólogos europeus.

No entanto se estas oportunidades continuam a existir é bom não esquecer a “ameaça” que paira, como em outros ramos da nossa actividade, com a chegada recente à Comunidade Europeia dos novos Países que integram profissionais qualificados e demonstrando uma organização interna, capacidade de intervenção externa e ambição que poderá pôr em causa no futuro próximo o lugar que tão dificilmente foi conquistado. De resto a forma como se integraram os jovens vindos do Leste Europeu no Summer Course da

EAACI na Madeira, o nível das suas intervenções e das apresentações científicas são bem prova de que a distância que os separa dos seus Colegas Ocidentais é cada vez menor.

Compete-nos pois para estes desafios, e se não queremos voltar na nossa especialidade, na Medicina ou em outro ramo da actividade nacional, ao progressivo isolamento de tempos não muito longínquos, continuar a apostar seriamente na organização, na formação, no desempenho profissional e na melhoria da Qualidade em Serviço e paralelamente, obter o reconhecimento ao mérito e ao investimento pessoal efectuado por parte dos agentes avaliadores e responsáveis do nosso País.

J. Rosado Pinto

Flora Microbiana, Sistema Imunitário e Atopia

Anabela Mota Pinto, Ana Todo-Bom

Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra

Resumo

A microflora, particularmente a intestinal, pode representar (como se entende dos vários estudos realizados), um dos estímulos principais para uma maturação "normal" das funções imunológicas.

A atopia é considerada uma patologia do foro imunitário com um predomínio Th2. O aumento da produção de IgE associada a antígenos do meio ambiente pode conduzir ao aparecimento de manifestações clínicas.

Estudos recentes confirmam um aumento das doenças alérgicas (em que a resposta imunitária apresenta um domínio Th2) e das doenças auto imunes (em que a resposta imunitária apresenta um domínio Th1), sendo que, a ocorrência destas patologias é maior nos países industrializados.

A hipótese da higiene propõe que este rápido aumento da atopia esteja relacionado com uma redução da exposição a infecções cedo na vida. Esta hipótese assenta em trabalhos que demonstram que a resposta imunitária a antígenos de microrganismos se acompanha da expressão preferencial de citocinas tipo Th1, contrabalançando a produção de citocinas Th2 característica dos recém-nascidos. A polarização Th2 aumenta a produção de IgE, atopia e doenças alérgicas.

Por se saber que a estimulação microbiana primária, major, ocorre no ser humano com o estabelecimento da flora intestinal, tem-se sugerido que a exposição à microflora comensal possa representar uma chave moduladora do sistema imunitário contra a patologia atópica.

É esta interface, bactérias intestinais sistema imunitário das mucosas, que permite uma defesa dos microrganismos patogénicos e um estímulo para o sistema imunitário. Necessariamente, o sistema imunitário das mucosas precisa de estar em equilíbrio, sem o qual a maturação do sistema imunitário e a defesa do organismo poderão ser postas em causa.

A relação entre a redução da incidência de doenças infecciosas e o aumento da incidência de patologia alérgica, por um lado, e o aparente efeito protector das infecções em relação a estas patologias mediadas pela resposta imunitária, por outro lado, conduzem à necessidade de comprovar esta evidência epidemiológica e de aumentar os estudos em relação a possíveis meios terapêuticos nesta área.

Abstract

It is now clear from the literature that the principal stimuli of postnatal maturation of the immune functions in mammals are signals from the microbial environmental, particularly the commensal microflora of the gastrointestinal tract.

Atopy is considered an immune disorder associated to a dominant TH2 activity. The increased IgE production directed to environmental antigens, as house dust mites, moulds or pollen grains can be associated with many clinical manifestations.

Current evidence suggests an increase of both allergic diseases (in which the immune response is dominated by type 2 helper T cells) and autoimmune diseases (in which the immune response is dominated by type 1 helper T cells). The occurrence of these diseases is higher in industrialized countries. One theory proposed to explain this increase in allergic and in autoimmune diseases is that it results from a decrease in the prevalence of childhood infection.

Concerning allergic diseases the immunological explanation has been put into the context of the functional T cell subsets known as T helper 1 (TH1) and T helper 2 (TH2) that display polarized cytokine profiles. It has been argued that bacterial and viral infections including respiratory viruses, during early life direct the maturing immune system toward TH1, which counterbalance pro-allergic responses of TH2 cells. Neonates are born with the immune response skewed towards a Th2 profile, which is more pronounced in children with a family history of atopy. A reduction in the overall microbial exposure will result in weak TH1 response and unrestrained TH2 reaction that allow an increase in allergy. The 'hygiene hypothesis' proposes that the relatively sterile environment present in industrialized western countries has contributed to the recent epidemic of asthma and atopy.

Whether specific infections are of greater or lesser protective value is an important question if strategies are to be derived to mimic the beneficial effects of childhood infection whilst avoiding morbidity and potential mortality of the natural pathogens. On other works infectious processes in the respiratory tract are associated with increased risk in latter life suggesting that viral infection may promote allergic sensitization.

A more accurate analysis showed that the relationship between infection and subsequent development of asthma is strongly influenced by host factors determining the response of the host to that infection. Disturbance of the respiratory mucosal surface during viral infection may allow allergens to access to epithelial layer and interact with antigen presenting cells and other inflammatory cells and leading to allergic sensitization.

The exact mechanisms by which microbial flora may affect atopic disease remain speculative. However, there is rapidly increasing evidence that specific input from the faecal flora to the innate immune system is essential for the establishment and maintenance of mucosal immune tolerance.

A população microbiana que coloniza o corpo humano é numerosa e diversa e o “habitat” destes microrganismos inclui o aparelho respiratório, o aparelho gastrointestinal, a pele e o aparelho genitourinário.

As funções da flora microbiana normal são várias podendo destacar-se a sua interferência no metabolismo do hospedeiro e nos produtos alimentares, desenvolvimento do epitélio intesti-

nal, fornecimento de factores de crescimento, estimulação da resposta imunitária, alimentação de células por produtos metabólicos de bactérias, possibilitando ainda, a defesa contra potenciais microrganismos patogénicos mas impedindo a resposta imunitária contra bactérias comensais residentes e não patogénicas, tornando-se necessário que a imunidade das mucosas esteja em equilíbrio.^{16, 20}

Na ausência destes organismos a vida tal como a conhecemos seria impossível.

A informação bibliográfica nesta área aponta para que o principal estímulo pós-natal de maturação do sistema imunitário se encontra no meio ambiente microbiano, particularmente no trato gastrointestinal.

Na altura do nascimento, a mucosa gastrointestinal é estéril, mas nos primeiros meses e anos de vida verifica-se uma colonização sequencial através da mãe e do meio ambiente, até que uma microflora se estabeleça. Concomitantemente ocorre o desenvolvimento a nível intestinal do GALT “Gut-associated Lymphoid Tissue”, considerado um dos órgãos importantes do sistema imunitário, requerendo a sua maturação um estímulo microbiano procedente da microflora intestinal. Vários estudos experimentais têm demonstrado que a falta ou um estímulo inadequado resulta numa área superficial intestinal diminuída, padrão enzimático da mucosa alterado, resposta inflamatória diminuída, diminuição do sistema imunitário secretor das mucosas (IgA), e rotura da tolerância a antigénios não patogénicos previamente situados na superfície da mucosa⁶.

A microflora do organismo humano, embora de base estável, mantém ao longo da vida de um indivíduo, um contínuo fluxo determinado por uma variedade de factores (idade, dieta, alterações hormonais, saúde e higiene pessoal), que contribuem para alterar quantitativamente e qualitativamente a microflora¹⁶.

A prevalência de doenças atópicas tem vindo a aumentar nos países ocidentais. A hipótese da higiene propõe que este rápido aumento da atopia esteja relacionado com uma redução da exposição a infecções cedo na vida⁶. Esta hipótese assenta em trabalhos que demonstram que a resposta imunitária a antigénios de microrganismos se acompanha da expressão preferencial de citocinas Th1, contrabalançando a produção de citocinas Th2 característica dos recém-nascidos. A

polarização Th2 aumenta a produção de IgE, atopia e doenças alérgicas.

Por se saber que a estimulação microbiana primária, maior, ocorre no ser humano com o estabelecimento da flora intestinal, tem-se sugerido que a exposição à microflora comensal possa representar uma chave moduladora do sistema imunitário contra a atopia e doenças alérgicas.

As variações geográficas no que diz respeito à flora intestinal foram recentemente sumariadas¹⁸, e deste estudo os autores verificaram que nos países ocidentais a flora intestinal tem mais bactérias anaeróbias (bifidobactérias, bacterioides) e significativamente menos estreptococos, enterococos e lactobacilos do que a flora intestinal no Uganda, Japão e Índia oriental.

Estas diferenças podem estar associadas a modificações da dieta (maior consumo de carne *versus* maior consumo de vegetais) e a diferentes padrões culturais relacionados com a localização geográfica do indivíduo¹.

Os recém-nascidos alimentados por leite materno colonizam com um número maior de bifidobactérias, lactobacilos e estafilococos enquanto que aqueles que são alimentados com leite artificial apresentam maior número de clostrídios, enterococos e enterobactéria¹⁹.

As diferenças na composição das microfloras intestinais começaram por ser comparativamente estudadas em crianças de países diferentes no processo de industrialização e desenvolvimento sócio-económico e só recentemente foram avaliadas entre países europeus, nomeadamente, geograficamente vizinhos.

É o caso do trabalho de Bengt Björkstén e colaboradores¹⁹ que compara a microflora de crianças da Estónia e da Suécia, com uma semana e um mês de vida, depois de os mesmos autores terem feito um estudo semelhante em crianças com um ano de idade.

A razão destes trabalhos prende-se com as

diferenças importantes nas condições de vida entre os dois países, geograficamente vizinhos, podendo esperar-se que o tipo e intensidade da colonização intestinal tenham influências na estimulação do sistema imunitário.

Assim, nas crianças com uma semana de idade, a prevalência de colonização intestinal por aeróbios totais era de 100%, quer na Estónia, quer na Suécia (Fig. 1-A). Ao mês de vida, as crianças mantinham-se todas colonizadas (100%), independentemente do país. No entanto, dentro dos aeróbios, os lactobacilos estavam presentes em 20% das crianças Estonianas com uma semana e em apenas 5% das crianças Suecas. Uma diferença ainda mais evidente e estatisticamente significativa existia ao mês de vida (80% nas crianças Estonianas contra 30% nas Suecas) (Fig. 1-B).

É, portanto, evidente que a prevalência da colonização intestinal por lactobacilos é progressiva nos dois países (aumenta entre a semana e o mês de vida), mas muito mais abrangente na Estónia do que na Suécia.

Quanto ao total de anaeróbios, apenas ao mês de idade se verificava 100% de prevalência de colonização, igual nos dois países, com valores de 80 e 90%, respectivamente na Estónia e na Suécia, nas crianças com uma semana (Fig. 1-C). Dentro dos anaeróbios, as bifidobactérias estavam presentes em 45% das crianças Estonianas com uma semana e em 40% das Suecas, e em 65% e 50%, respectivamente, ao mês de idade (Fig. 1-D).

Embora esta prevalência de bifidobactérias seja em parte semelhante ao anteriormente referido para os lactobacilos (aumento da prevalência com a idade e maior prevalência de colonização nas crianças Estonianas) ela contrasta com o observado para o total de anaeróbios, no qual as crianças Suecas com uma semana se apresentavam mais colonizadas do que as Estonianas.

A leitura destes dados sugere que, em relação aos anaeróbios, as crianças Suecas tinham mais oportunidades de colonizarem, de forma mais precoce, o tubo digestivo, apesar de não ser por bifidobactérias, ou por clostrídios. No entanto, se apreciarmos a mediana das unidades formadoras de colónias (counts-log CFU/g) verificamos que, quer à semana quer ao mês de vida, nas crianças Suecas ela era sempre inferior à das Estonianas, parecendo não ser relevante a informação prestada pela prevalência de colonização por total de anaeróbios.

No caso das microfloras intestinais serem analisadas ainda na Estónia e na Suécia, mas em crianças com dois anos de idade, alérgicas e não alérgicas, Bjorksten e col. demonstraram que as crianças alérgicas estavam menos frequentemente colonizadas por lactobacilos e bifidobactérias, de forma significativa, apenas nos primeiros em qualquer dos países. Pelo contrário, as crianças alérgicas apresentavam, nalguns casos, contagens mais elevadas de aeróbios (Fig. 2).

Apesar da exiguidade da amostra, nota-se que os desvios entre crianças alérgicas e não alérgicas são muito semelhantes na Estónia e na Suécia, apesar das diferenças já apontadas nas condições de vida entre os dois países. Pelo contrário, as baixas contagens de lactobacilos encontradas na Suécia contrastam com as altas contagens em crianças de países em desenvolvimento, como a Etiópia².

A redução da colonização por aeróbios, especialmente bifidobactérias e clostrídios, parece associar-se à alergia, embora sem relação com o tratamento por antibióticos (frequência e tipo de antibiótico). Mas, por outro lado, os lactobacilos (aeróbios), que se encontravam reduzidos nas alergias podem por diminuição da produção de IFN γ , levar a uma globalização Th2 mais eficaz e, consequentemente, à alergia. No entanto (Fig. 2) a análise por países (Estónia e Suécia) não apresenta diferenças de grande significado.

Microflora Intestinal de Crianças da Estónia e Suécia

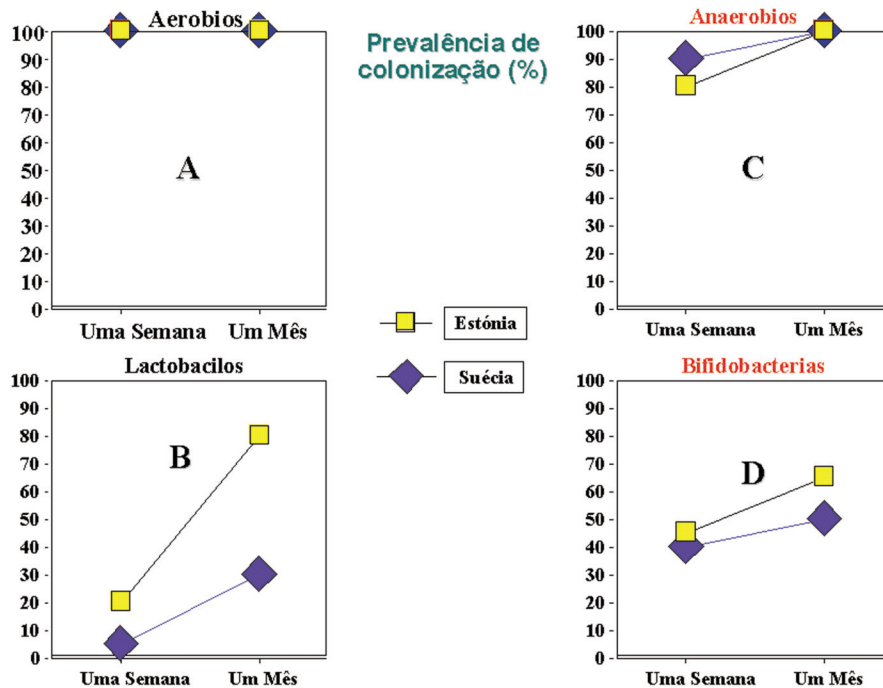


Fig. 1

Trabalhos anteriores baseiam-se em amostras biológicas colhidas num único momento da vida da criança, ou em intervalos relativamente curtos (uma semana, um mês), enquanto que o de Bergt Björkstén³ desenvolve um estudo ao longo de doze meses com determinações analíticas à primeira semana, ao primeiro mês, aos três, seis e doze meses de vida, em crianças alérgicas e não alérgicas da Estónia e da Suécia.

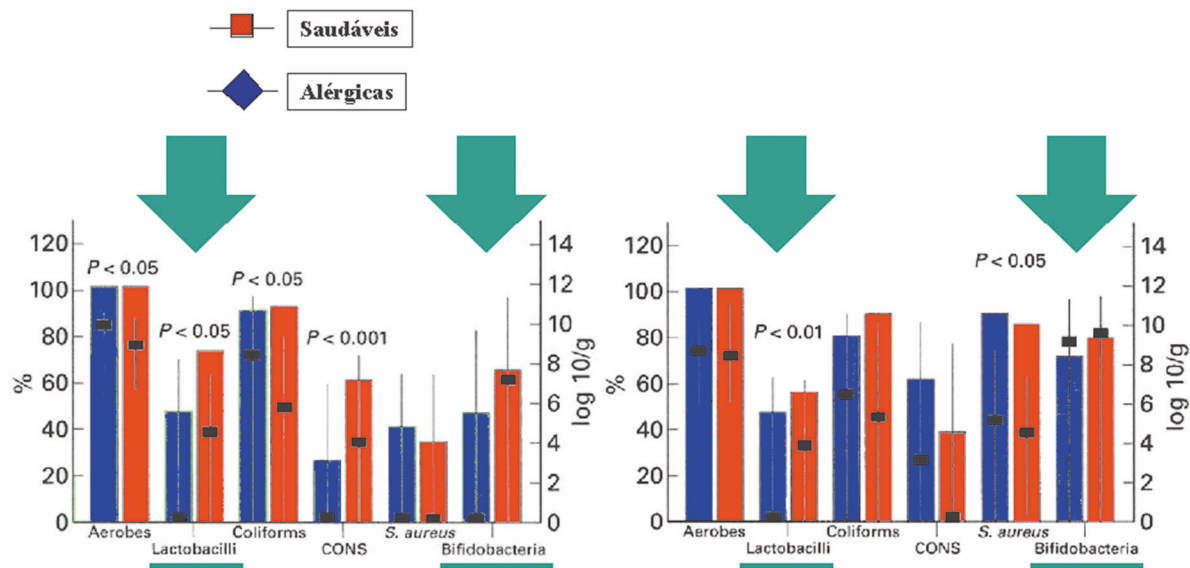
Os resultados expressos nas figuras 3 para alguns componentes da microflora intestinal, revelam uma diferença de informação, consoante se utilize a prevalência de colonização (%), ou a intensidade de colonização (contagens em CPU log/g). Na verdade, há uma maior prevalência de crianças alérgicas colonizadas pelos lactobacilos,

mais notória à primeira semana e que se esbate ao sexto e décimo segundo mês. Mas se utilizarmos a informação obtida por contagens, as alérgicas têm menos lactobacilos à primeira semana, mais ao primeiro e ao terceiro mês, semelhante ao sexto e muito mais ao décimo segundo mês.

Quanto às bifidobactérias, a prevalência da colonização é muito inferior nos alérgicos, para todas as idades estudadas (salvo ao sexto mês em que é mais próxima), em contraste com as contagens, sempre muito semelhantes, mas também sempre superiores nos alérgicos.

Da mesma forma, quanto aos clostrídios, é evidente a discrepância de resultados, por exemplo, à primeira semana (nos alérgicos maior

Microflora Intestinal de Crianças da Estónia e Suécia



De BJÖRKSTÉN, B. et al. - Clin Exp Allergy 1999; 29:342-346.

Os resultados estão apresentados por média de colonização (%; colunas) e contagens (log CFU/g, média e mediana).

Fig. 2

prevalência e menor contagem), aos três meses (menor prevalência e maior contagem) e aos doze meses (maior prevalência e menor contagem).

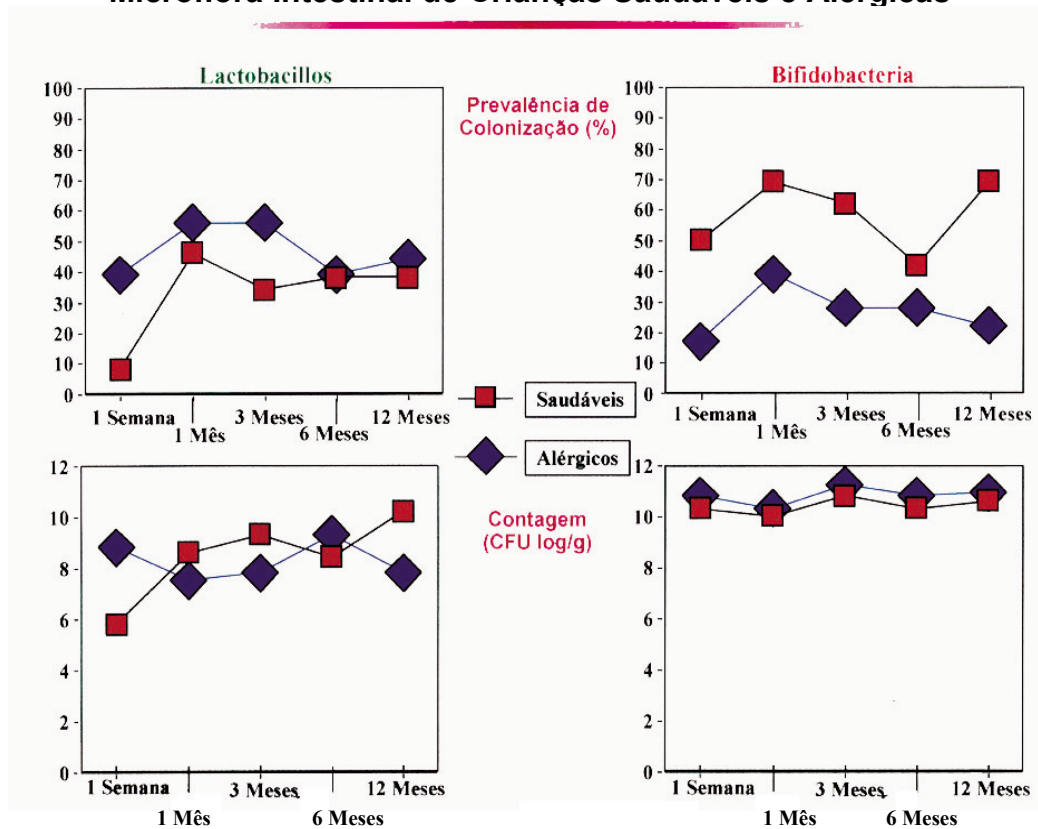
Como interpretar esta diversidade de informação?

Podemos pensar que, por exemplo, aos três meses, os alérgicos associam-se à menor oportunidade de serem colonizados por clostrídios, embora as crianças colonizadas tenham uma alta contagem destes microrganismos. Sendo assim, é mais importante estimular a oportunidade de colonização, ou a quantidade de colónias presentes individualmente?

Tratando-se de um grupo misto (Estónia e Suécia), não poderão ser as diferenças geográficas que tenham ditado a diferença na prevalência (por exemplo, terem sido colonizadas as crianças Estonianas e não as Suecas?)

Dos vários estudos realizados nesta área e considerando os distintos padrões de microflora intestinal encontrados em recém-nascidos, com atopia e sem atopia, um grupo de autores concluiu que os métodos de cultura bacteriológicos provaram ser insensíveis no estudo das modificações da microflora, sendo por isso, novas metodologias necessárias para aumentar o

Microflora Intestinal de Crianças Saudáveis e Alérgicas



Adaptado de BJÖRKSTÉN, B. et al J Allergy Clin Immunol 2001; 108 (4): 516-520

Fig. 3

conhecimento sobre a diversidade microbiana a nível do intestino⁶.

Os ácidos gordos celulares, por exemplo, representam componentes estruturais das membranas celulares bacterianas, e quando analisada uma amostra fecal, por cromatografia de gás líquido é avaliado o perfil de todas as bactérias presentes na amostra permitindo uma comparação sensível entre as diferentes amostras. Este tipo de avaliação permitiu, a alguns autores verificarem que recém-nascidos (com 3 semanas) atópicos e não-atópicos, apresentam diferenças estatisticamente significativas no perfil de ácidos

gordos, o que não foi detectado pelo método clássico de cultura de bactérias. Para detectar a bactéria responsável por esta discrepância foi aplicado outro método recente, quantitativo, designado por FISH ("Fluorescente in situ Hybridization"), verificando os autores que o relação bifidobacteria/clostridia se encontrava reduzida nos indivíduos atópicos quando comparados com os não atópicos. Esta diferença era à custa de uma baixa contagem de bifidobactérias e maior número de clostrídios⁶.

Este estudo demonstrou o possível papel da microflora intestinal na regulação e desenvol-

vimento dos mecanismos protectores da atopia. Em relação à hipótese da higiene é possível considerar que os comensais presentes no recém-nascido proporcionam o despoletar dos primeiros sinais de defesa relativamente ao estabelecimento de atopia, sendo estes, mais tarde, fortalecidos pelo estímulo dos microrganismos do ambiente com os quais se contacta ao longo da vida. Este mecanismo promove uma resposta imunitária polarizada para Th1, diminuindo as respostas Th2. Este tipo de desvio poderá ser mediado parcialmente por duas estruturas das bactérias, os lipopolissacarídeos e o motivo CpG do DNA bacteriano⁶, que promovem uma resposta predominantemente Th1. Paralelamente, o papel protector das infecções no desenvolvimento de alergias surge pelos efeitos de restrição das células Th2, através das citocinas sintetizadas durante a resposta à infecção³.

A microflora, particularmente a intestinal, pode representar (como se entende dos vários estudos realizados), uma das principais forças para uma maturação “normal” das funções imunológicas¹⁹. É assim necessário que se realizem estudos nesta área para se clarificar, por exemplo, a idade em que ocorre a colonização intestinal e a prevalência das infecções intestinais. No entanto a contribuição dos factores genéticos e da dieta, podem condicionar a activação da mucosa intestinal e no caso concreto dos indivíduos alérgicos aumentar ou pelo contrário restringir a atopia¹³.

Como é que a mucosa intestinal se torna tão importante na correcta maturação do sistema imunitário?

Pelo contacto permanente com antígenos presentes na alimentação, por exemplo, e também com a microflora intestinal. Estes antígenos estimulam o sistema imunitário através de células especializadas presentes no epitélio intestinal, as células M. As células M, transportam os antígenos do lúmen intestinal para o interior da mucosa e apresentam, na sua estrutura, uma

invaginação profunda, ou bolso, que se encontra preenchido por células do sistema imunoinflamatório com as quais os antígenos entram em contacto: Linfócitos T (LT), Linfócitos B (LB) e Macrófagos. Assim, o tecido linfóide presente ao longo do trato intestinal contacta com os microrganismos que se encontram neste compartimento, não só pelos LT e LB mas também através das células dendríticas, que produzem em resposta à flora microbiana IL-23, que por sua vez tem um papel importante na defesa do hospedeiro contra bactérias invasivas, pela sua capacidade de manter uma resposta por células Th1 de memória, actuando directamente nos linfócitos CD4+ de memória.

Para além do balanço Th1/Th2, outros mecanismos têm sido responsabilizados por este efeito. É o caso das células CD4+ que expressam a cadeia α do receptor da IL-2 (CD25). O mecanismo pelo qual actuam parece envolver a produção de TGF- β , que à semelhança da produção da IL-10 sintetizada por células reguladoras, monócitos e macrófagos, diminui a progressão de patologia alérgica em modelos experimentais. A produção destas citocinas aumenta nas doenças infecciosas e possivelmente contribuem para diminuir as complicações destas infecções. Em suma, os resultados sugerem que os agentes infecciosos estimulam a produção de células reguladoras, cujos efeitos se estendem para além da resposta aos microrganismos, regulando a resposta Th1/Th2¹.

Outro mecanismo com relevância na influência da infecção na alergia é a competição antigénica, em que a resposta imunitária em relação a um antígeno diminui por uma resposta imunitária concomitante contra um outro antígeno não relacionado com a primeira resposta. A competição antigénica pode afectar a produção de anticorpos (incluindo a IgE) e as respostas imunes mediadas por células¹.

Finalmente, ainda um outro mecanismo

possível neste binómio infecção/alergia está relacionado com os TLRs ("Toll-like Receptors"), que são receptores para vários componentes bacterianos, entre os quais o motivo CpG do DNA bacteriano. Quando os TLRs se ligam aos ligandos bacterianos estimulam as células mononucleares a produzir citocinas da vertente Th1, através de um processo dependente do factor nuclear- κ B (NF- κ B) o que pode diminuir a resposta alérgica^{15, 21}.

É esta interface, bactérias intestinais sistema imunitário das mucosas, que permite uma defesa dos microrganismos patogénicos e um estímulo para o sistema imunitário. Necessariamente, o sistema imunitário das mucosas precisa de estar em equilíbrio, sem o que a maturação do sistema imunitário e a defesa do organismo poderão ser postas em causa²⁰.

A relação entre a redução da incidência de doenças infecciosas e o aumento da incidência de patologia alérgica, por um lado, e o aparente efeito protector das infecções em relação a estas patologias mediadas pela resposta imunitária, por outro lado, conduzem à necessidade de comprovar esta evidência epidemiológica e de aumentar os estudos em relação a possíveis meios terapêuticos nesta área.

O ecossistema intestinal pode ser modulado não só por antibióticos mas também por extractos bacterianos, e particularmente por probióticos (microrganismos ingeridos vivos e capazes de influenciar a fisiologia do hospedeiro)^{11, 12}, assim como por derivados moleculares de micobactérias e lipopolissacarídeos. Os probióticos podem ser tomados em formulações farmacêuticas ou na própria alimentação, e os dados dos diferentes trabalhos realizados fortalecem a promessa de uma aproximação terapêutica, que deve no entanto ainda ser considerada numa base experimental.

O mecanismo exacto pelo qual actuam os probióticos mantém-se em especulação. Parece

provável que os probióticos actuem na prevenção primária da atopia pela sua capacidade de inverterem o aumento da permeabilidade intestinal que as crianças atópicas apresentam, aumentando também a resposta específica por IgA, habitualmente diminuída na atopia. Os probióticos reestruturam ainda a microecologia do intestino normal, assim como aumentam a síntese de TGF β (Transforming Growth Factor β) e de IL-10 *in vivo*. Estas citocinas anti-inflamatórias têm um papel crucial na prevenção do aparecimento de patologia atópica e no tratamento da doença estabelecida, sendo que as modificações induzidas pelas estirpes específicas presentes nos probióticos modificam a fisiologia e a imunologia do hospedeiro⁷.

O segredo da imunoterapia pode estar no tempo de administração¹⁵, mas nem todos os organismos probióticos têm efeitos similares e nem todas as alergias partilham a mesma patogenia. Outras perguntas que precisam de resposta são a dose e a duração dos tratamentos e, ainda, se um único ou diversos microrganismos, darão a melhor resposta.

A importância da microflora na maturação do sistema imunitário, o potencial efeito benéfico da microflora em particular da intestinal no controlo da atopia, têm conduzido à necessidade de tentar reproduzir as doenças infecciosas contra as quais temos vindo a lutar eficazmente nas últimas décadas.

BIBLIOGRAFIA

1. Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med*. 2002; 347(12):911-31.
2. Björkstén B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp Allergy*. 1999; 29(3):342-6.
3. Björkstén B, Sepp E, Julge K, Voor T, Mikelsaar M. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108:516-20.
4. Holgate ST, Arshad SH, editors. *The Year in Allergy* – 2003. Ox-

- ford: Clinical Publishing Services; 2003.
5. Holt PG, Jones CA. The development of the immune system during pregnancy and early life. *Allergy*. 2000;55:688-97.
 6. Kalliomäki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salminen S, Isolauri E. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107:129-34.
 7. Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2001; 357:1076-79.
 8. Linneberg A, Nielsen NH, Madsen F, Frølund L, Dirksen A, Jørgensen T. Pets in the home and the development of pet allergy in adulthood. The Copenhagen Allergy Study. *Allergy* 2003;58:21-6.
 9. Liu AH, Murphy JR. Hygiene hypothesis: Fact or fiction? *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111:471-8.
 10. Mallia P, Johnston SL. Respiratory Viruses: do they protect from or induce asthma? *Allergy*. 2002;57:1118-29.
 11. Marteau P. Role of the intestinal flora in gastrointestinal diseases. *Lancet*. 356(Suppl 1).
 12. Matricardi PM, Björkstén B, Bonini S, Bousquet J, Djukanovic R, Dreborg S, et al. Microbial products in allergy prevention and therapy. *Allergy*. 2003;58:461-71.
 13. Matricardi PM, Rosmini F, Riondino S, Fortini M, Ferrigno L, Rapicetta M, Bonini S. Exposure to foodborne and orofecal microbes versus airborne viruses in relation to atopy and allergic asthma: epidemiological study. *Br Med J*. 2000; 320:412-7.
 14. Maziak W. Endotoxin and Asthma. *N Engl J Med*. 2003; 348(2):171-2.
 15. Murch SH. Toll of allergy reduced by probiotics. *Lancet*. 2001; 357:1057-9.
 16. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA, editors. *Medical Microbiology*. 4th ed. St. Louis, Missouri: Mosby; 2002. p. 78-81.
 17. Perzanowski MS. Endotoxin and Asthma. *N Engl J Med*. 2003; 348(2):172.
 18. Sepp E, Julge K, Vasar M, Naaber P, Björkstén B, Mikelsaar M. Intestinal microflora of Estonian and Swedish infants. *Acta Paediatr*. 1997;88:956-61.
 19. Sepp E, Naaber P, Voor T, Mikelsaar M, Björkstén B. Development of intestinal microflora during the first month of life in Estonian and Swedish infants. *Microbial Ecol Health Dis*. 2000;12:22-6.
 20. Uhlig HH, Powrie F. Dendritic cells and the intestinal bacterial flora: a role for localized mucosal immune responses. *J Clin Invest*. 2003;112:648-51.
 21. Zasloff M. Antimicrobial peptides in health and disease. *N Engl J Med*. 2002; 347(15):1199-200.

Prevalência e factores de risco para síndrome látex-frutos em doentes com alergia ao látex

Prevalence and Risk Factors for Latex-Fruit Syndrome in patients with Latex Allergy

Ângela Gaspar¹, Graça Pires¹, Vitória Matos², Virgínia Loureiro², Mário Morais de Almeida³, José Rosado Pinto⁴

Serviço de Imunoalergologia, Hospital de Dona Estefânia, Lisboa

¹ Assistente Hospitalar de Imunoalergologia do Hospital de Dona Estefânia

² Assistente Hospitalar Graduada de Patologia Clínica do Hospital de Dona Estefânia

³ Consultor do Serviço de Imunoalergologia do Hospital de Dona Estefânia

⁴ Director do Serviço de Imunoalergologia do Hospital de Dona Estefânia

Resumo

A associação de alergia ao látex e alergia alimentar a frutos e outros vegetais com reactividade cruzada com látex é denominada síndrome látex-frutos (SLF). Não existem estudos que avaliem factores de risco para SLF em doentes alérgicos ao látex, nomeadamente incluindo diferentes grupos populacionais de risco. **Objectivo:** Investigar a prevalência e factores de risco para SLF. **Material e Métodos:** Foram estudados 61 doentes alérgicos ao látex, com média etária de 25.9 (± 16.6) anos e relação sexo M/F de 0.3/1, pertencendo a diferentes grupos de risco: 15 com espinha bífida (EB), 13 submetidos a múltiplas cirurgias sem EB e 33 profissionais de saúde (PS). A todos os doentes foram efectuados questionário, testes cutâneos por *prick* (TC) com aeroalergénios comuns e látex (extractos comerciais) e alimentos com reactividade cruzada descrita com látex (extractos comerciais e alimentos em natureza), IgE total sérica (AlaSTAT®, DPC) e IgE específica para látex (UniCAP®, Pharmacia Diagnostics). Definiu-se SLF se história clínica e TC para o alimento positivos. **Resultados:** A prevalência de SLF nos doentes alérgicos ao látex foi 28% (17). Os alimentos implicados foram castanha-71% (12), banana-47% (8), pêssego-29% (5), abacate e kiwi-24% (4), ananás, maracujá, papaia e espinafre-18% (3), ameixa, manga, melão, tomate e mandioca-12% (2), alperce, figo, uva e pimentão doce-6% (1). Os sintomas clínicos foram anafilaxia-65% (11),

urticária-24% (4) e síndrome de alergia oral-12% (2). Os doentes com SLF eram na quase totalidade PS. A prevalência de SLF neste grupo foi 45% (15). Comparando PS com SLF (15) e sem SLF (18), encontrou-se relação entre SLF e níveis mais elevados de IgE específica para látex (mediana: 19.4 vs. 0.6kU/l; $p=0.006$). Os PS com CAP-classe ≥ 3 tinham SLF em 74%, para 26% nos PS com CAP-classe <3 ($p<0.001$). Idade, sexo, antecedentes pessoais e familiares de alergia, número de cirurgias, tempo de profissão, atopia e IgE total não foram identificados como factores de risco. **Conclusões:** A SLF afecta essencialmente os PS alérgicos ao látex, sendo frequente neste grupo; a explicação reside nos diferentes perfis de sensibilização alérgica, relacionados com a via de exposição. A sensibilização ao látex com CAP-classe ≥ 3 foi identificada como factor de risco para SLF nos PS. A SLF revelou-se na maioria dos casos por anafilaxia, realçando a importância desta síndrome potencialmente fatal.

Palavras-chave: alergia ao látex; alergia alimentar; reactividade cruzada; síndrome látex-frutos; prevalência; factores de risco.

Abstract

*The association of latex allergy and allergy to plant-derived foods is called latex-fruit syndrome (LFS). There are no studies concerning risk factors for LFS in latex allergic populations including different risk groups. **Purpose:** To investigate the prevalence and risk factors for LFS in patients with latex allergy. **Material and Methods:** We studied 61 latex-allergic patients, mean age of 25.9 (± 16.6) years and male/female ratio of 0.3/1, belonging to different risk groups: 15 with spina bifida (SB), 13 submitted to multiple surgeries without SB and 33 health care workers (HCW). All patients performed: questionnaire; skin prick tests (SPT) with common aeroallergens and latex (commercial extracts) and foods with known cross-reactivity with latex (commercial extracts and fresh foods); serum total IgE (AlaSTAT®, DPC); latex specific IgE (UniCAP®, Pharmacia Diagnostics). LFS was defined if both positive clinical history and positive food SPT. **Results:** The prevalence of LFS in latex-allergic patients was 28% (17). The foods implicated were: chestnut-71% (12), banana-47% (8), peach-29% (5), avocado and kiwi-24% (4), passion fruit, papaya, pineapple and spinach-18% (3), mango, melon, plum, tomato and manioc-12% (2), apricot, fig, grape and sweet pepper-6% (1). The LFS clinical symptoms were: anaphylaxis-65% (11), urticaria-24% (4) and oral allergy syndrome-12% (2). Almost all the patients with LFS were HCW. The prevalence of LFS in HCW achieved 45% (15). Comparing HCW with LFS (15) and HCW without LFS (18), we found a relation between LFS and higher levels of latex specific IgE (median: 19.4 vs. 0.6kU/l; $p=0.006$). HCW with CAP-class ≥ 3 had LFS in 74%, against 26% in HCW with CAP class <3 ($p<0.001$). Age, sex, personal and familial allergic history, number of surgical interventions, years of occupational exposure, atopy and total IgE were not associated with LFS. **Conclusions:** LFS concerns essentially the latex allergic HCW, being very frequent in this group. This finding is consistent with literature reports, and is supported by the different latex allergen sensitisation patterns related with route of exposure. Latex sensitisation with CAP-class ≥ 3 is a risk factor for LFS in HCW group. LFS was revealed in most cases by anaphylaxis, emphasizing the importance of diagnosing this potentially life-threatening syndrome.*

Key-words: latex allergy; food allergy; cross-reactivity; latex-fruit syndrome; prevalence; risk factors.

INTRODUÇÃO

A alergia ao látex representa um importante problema de saúde em grupos populacionais seleccionados, denominados de risco, englobando indivíduos submetidos a múltiplas intervenções cirúrgicas, particularmente crianças com espinha bífida e outras patologias malformativas congénitas, urológicas e gastrintestinais, e indivíduos sujeitos a exposição ocupacional, nomeadamente profissionais de saúde, operários da indústria de látex e trabalhadores de plantações da árvore-da-borracha (*Hevea brasiliensis*).

O principal grupo de risco para sensibilização ao látex é constituído pelas crianças com espinha bífida, com valores de prevalência de 18 a 73%.¹⁻³ Esta susceptibilidade parece relacionar-se com o elevado número de cirurgias, a idade precoce em que ocorre o contacto e o tipo de intervenção cirúrgica a que estas crianças são submetidas, para correcção de anomalias neurológicas, urológicas e ortopédicas. Em trabalho prévio, efectuado por este grupo em 1997, englobando 57 crianças com espinha bífida, observadas no Núcleo de Espinha Bífida do Hospital de Dona Estefânia, encontrou-se uma prevalência de sensibilização ao látex de 30%.³ As crianças com malformações urológicas graves representam também um importante grupo de risco, com uma prevalência de sensibilização de cerca de 22%.⁴

No âmbito da exposição ocupacional a este potente alergénio, os profissionais de saúde representam o principal grupo de risco, com uma prevalência de sensibilização de 3 a 17%,^{5,6} sendo particularmente afectados os que trabalham em blocos operatórios e laboratórios de análises clínicas. Esta prevalência varia de acordo com o tempo diário de uso de luvas e com a concentração dos alergénios de látex no ar ambiente, sendo a concentração em áreas cirúrgicas cerca de 10 a 100 vezes superior à de áreas hospitalares não cirúrgicas. A atopia e a existência de eczema das

mãos parecem também predispor para a sensibilização.

As manifestações clínicas da alergia ao látex são reacções de hipersensibilidade de tipo imediato, IgE mediadas, habitualmente variáveis consoante a via e a concentração de alergénios a que o indivíduo foi exposto. O contacto directo com os alergénios do látex por exposição cutânea, oral, vaginal ou rectal, pode provocar quadros de urticária e angioedema, podendo também originar reacções sistémicas graves. A inalação de partículas de látex aerossolizadas no ar ambiente, pode originar quadros de rinite, conjuntivite ou asma. Os casos de anafilaxia descritos ocorrem principalmente durante a realização de intervenções cirúrgicas e durante actos médicos tais como colocação de cateteres, exames ginecológicos e tratamentos dentários.

A possibilidade de reactividade cruzada entre alergénios de espécies filogeneticamente distantes, nomeadamente entre alergénios inalados e alimentares, com consequentes implicações clínicas, tem sido amplamente estudada nos últimos anos, sendo exemplos clássicos a síndrome ácaros-mariscos e as síndromes pólen-frutos. A reactividade cruzada é um conceito imunológico que pressupõe a existência de dois alergénios que são reconhecidos pelo mesmo anticorpo; a explicação reside na homologia estrutural entre os alergénios, com presença de epítomos comuns, e a demonstração *in vitro* pode ser realizada por estudos de inibição. A gravidade das manifestações clínicas de alergia alimentar depende de quais os panalergénios implicados nestas síndromes. No caso dos doentes alérgicos aos pólenes, os panalergénios implicados são habitualmente as profilinas, pelo que as reacções tendem a não ser graves, sendo a alergia oral a forma típica de apresentação clínica.⁷

A associação de alergia ao látex e alergia alimentar a frutos e outros vegetais com reactividade cruzada com látex é denominada síndrome

látex-frutos. A primeira descrição desta síndrome foi efectuada em 1991 por Lotfi M'Raihi, que apresentou um caso clínico de uma enfermeira, de nacionalidade francesa, com alergia ao látex e à banana, tendo demonstrado a existência de reactividade cruzada por técnicas de inibição de RAST.⁸ No entanto, a proposta da designação deste termo seria apenas efectuada em 1994 por Carlos Blanco ao constatar a existência de uma elevada frequência de alergia alimentar a frutos num grupo de 25 doentes alérgicos ao látex. Neste estudo, realizado em Espanha, 52% dos doentes, na quase totalidade com exposição profissional, apresentavam concomitantemente alergia a frutos, maioritariamente abacate, castanha e banana, para os quais o autor realizou estudos de inibição comprovando a existência de reactividade cruzada com o látex.⁹ Desde então, esta entidade clínica tem sido cada vez mais referida, bem como tem aumentado o número de alimentos associados e que apresentam reactividade cruzada descrita com látex, incluindo vários frutos, particularmente frutos exóticos, e outros vegetais que se encontram referidos na Tabela 1.⁹⁻²⁰ Os alimentos mais frequentemente implicados nesta síndrome são abacate, castanha, banana e kiwi. As formas de apresentação podem variar desde síndrome de alergia oral até reacções sistémicas graves, potencialmente fatais, sendo a anafilaxia com frequência descrita como a primeira manifestação clínica desta síndrome. A prevalência estimada para a ocorrência da síndrome látex-frutos, da revisão efectuada dos estudos disponíveis na literatura, varia entre valores de 20 a 60%.^{9,11,21-24} Não existem, no entanto, trabalhos que avaliem esta entidade englobando doentes pertencentes aos diferentes grupos de risco, e de igual modo escasseiam estudos que avaliem factores de risco para a ocorrência desta síndrome.

Pretendeu-se com este trabalho determinar a prevalência da síndrome látex-frutos nos doentes alérgicos ao látex observados na Consulta de

Imunoalergologia do Hospital de Dona Estefânia, pertencentes a vários grupos de risco. Foi ainda objectivo do trabalho avaliar a existência de eventuais factores de risco para o aparecimento da alergia alimentar por reactividade cruzada nos doentes alérgicos ao látex.

MATERIAL E MÉTODOS

I. População

Foram estudados 61 doentes alérgicos ao látex, pertencendo a diferentes grupos de risco: 15 com espinha bífida, 13 submetidos a múltiplas cirurgias sem espinha bífida e 33 profissionais de saúde. Foi definida **alergia ao látex**, pela existência de sintomas clínicos desencadeados pela exposição ao látex e pela evidência de sensibilização ao látex documentada pelos testes cutâneos.

A todos os doentes foram efectuados questionário clínico, testes cutâneos por *prick*, com látex, aeroalergénios comuns e alimentos com reactividade cruzada descrita com látex, e determinação sérica de IgE total e IgE específica para látex.

II. Questionário

Foi efectuada, por um médico especialista de Imunoalergologia treinado na sua aplicação, um questionário para detecção de patologia alérgica, avaliando os seguintes parâmetros:

- dados demográficos;
- antecedentes pessoais e familiares de patologia alérgica;
- história de exposição ao látex (número e tipo de intervenções cirúrgicas; número de anos de trabalho com exposição

Tabela 1 - Lista de alimentos com reactividade cruzada com látex⁹⁻²⁰

Alimentos com Reactividade Cruzada com Látex	
Frutos	castanha (<i>Castanea sativa</i>) banana (<i>Musa paridasiaca</i>) abacate (<i>Persea americana</i>) kiwi (<i>Actinidia deliciosa</i>) papaia (<i>Carica papaya</i>) manga (<i>Mangifera indica</i>) maracujá (<i>Passiflora edulis</i>) pêssego (<i>Prunus persica</i>) * ananás (<i>Ananas comosus</i>) figo (<i>Ficus carica</i>) melão (<i>Cucumis melo</i>) alperce (<i>Prunus armeniaca</i>) * ameixa (<i>Prunus domestica</i>) * uva (<i>Vitis vinifera</i>) lichia (<i>Litchi chinensis</i>) anona (<i>Annona cherimola</i>) acerola (<i>Malpighia glabra</i>) jujuba (<i>Ziziphus jujuba</i>)
Outros Vegetais	tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) ** batata (<i>Solanum tuberosum</i>) ** mandioca (<i>Manihot esculenta</i>) espinafre (<i>Spinacia oleracea</i>) pimentão doce (<i>Capsicum annuum</i>) ** trigo-mourisco (<i>Fagopyrum esculentum</i>)

* família *Rosaceae*; ** família *Solanaceae*

ocupacional ao látex para os profissionais de saúde);

- sintomatologia com contacto com material contendo látex;
- sintomatologia após ingestão de alimentos com reactividade cruzada descrita com látex.

III. Testes cutâneos por *prick*

Os testes cutâneos foram efectuados respeitando os períodos de evicção recomendados para

os medicamentos relevantes e utilizando sempre a mesma metodologia.²⁵ Foram realizados na face anterior do antebraço, respeitando uma distância mínima de 2cm entre cada extracto alergénico e utilizando lancetas metálicas de aplicação perpendicular na pele com 1mm de penetração (Prick Lancetter®, Hollister-Stier Laboratories, Spokane, EUA). Como referência positiva foi utilizado o cloridrato de histamina a 10mg/ml²⁶ e como referência negativa uma solução de fenol a 0.5%, não se encontrando qualquer positividade com esta referência. A leitura dos resultados foi efectuada aos 15 minutos, avaliando-se a área das pápulas e considerando como *cut-off* de positividade a existência de um diâmetro médio da pápula ≥ 3 mm.²⁷

Em todos os doentes foram utilizados os seguintes extractos alergénicos:

- látex (três extractos comerciais: *ALK-Abelló*, Hørsholm, Dinamarca; *CBF Leti*, Madrid, Espanha; *Stallergènes Group*, Antony Cedex, França);
- aeroalergénios comuns (extractos comerciais *CBF Leti*, Madrid, Espanha): ácaros do pó (*Dermatophagoides pteronyssinus* e *farinae*), mistura de pólenes de gramíneas, herbáceas e árvores, mistura de fungos, cão e gato.
- alergénios alimentares (extractos comerciais: *CBF Leti*, Madrid, Espanha; *Stallergènes Group*, Antony Cedex, França): castanha, banana, abacate, kiwi, pêsssego, ananás, maracujá, manga, alperce, figo, melão, ameixa, uva, tomate, batata, espinafre e pimentão doce. Nos doentes com história clínica sugestiva de reacção alérgica a um dos alimentos com reactividade cruzada descrita com látex para os quais o extracto comercial tenha sido negativo, ou não esteja disponível, foram realizados testes cutâneos com o alimento em natureza.

Considerou-se como critério de *atopia* a existência de pelo menos um teste cutâneo positivo para aeroalergénios comuns, excluindo látex.

O diagnóstico de *síndrome látex-frutos* foi efectuado quando na presença de uma história clínica compatível (sintomas alérgicos após a ingestão do alimento) e teste cutâneo positivo para o alimento implicado. Em caso de dúvida foram efectuadas provas de provocação orais, na ausência de contra-indicação à sua realização.

IV. IgE Total

Foi efectuada determinação sérica de IgE total por método de radioimunoensaio em microplacas - AlaSTAT® (*Diagnostic Products Corporation*, Los Angeles, EUA). Os resultados foram expressos em kU/l.

V. IgE específica para látex

Realizou-se o doseamento de IgE específica para látex por fase sólida - UniCAP® (*Pharmacia Diagnostics*, Uppsala, Suécia). Os resultados foram expressos de forma quantitativa em kU/l, considerando-se como *cut-off* de positividade a existência de valores de IgE específica ≥ 0.35 kU/l, e de forma semi-quantitativa em classes, sendo a correspondência feita da seguinte forma: classe 0 (<0.35); classe 1 (0.35-0.70); classe 2 (0.71-3.50); classe 3 (3.51-17.50); classe 4 (17.51-50.0); classe 5 (50.01-100); classe 6 (>100).

VI. Análise estatística

Foi feita uma análise descritiva de todas as variáveis através de tabelas de frequências para as variáveis categorizadas e através de medianas para as variáveis quantitativas. Foi utilizado o

Teste do Qui-quadrado para avaliar as frequências relativas das várias características estudadas, numa tabela de contingência de 2 entradas; foi efectuada correcção de Yates quando dentro da tabela de contingência uma frequência relativa fosse $<5\%$; considerou-se significativo um $p < 0.05$. O *Teste t de Student* foi utilizado para amostras independentes, para avaliar a distribuição dos valores; considerou-se significativo um $p < 0.05$.

RESULTADOS

Foram estudados 61 doentes com clínica de alergia ao látex, 9 dos quais com anafilaxia após contacto com material contendo látex (três no decurso de intervenção cirúrgica, dois após algaliação, uma após exame ginecológico, duas após contacto da mucosa oral com balão e uma após contacto cutâneo com luvas). Os doentes apresentavam uma média de idade ($\pm$ DP) de 25.9 (± 16.6) anos, com mediana de 29 anos, idade mínima de 2 anos e idade máxima de 54 anos. A relação sexo masculino / feminino foi de 0.3/1.

Todos os doentes apresentavam teste cutâneo por *prick* com extracto comercial de látex positivo: extracto ALK-Abelló - 100%, Leti - 97%, Stallergènes - 92%. Não ocorreu nenhuma reacção adversa com a realização dos testes cutâneos. A maioria dos doentes eram atópicos (64%). Tinham sido submetidos a mais de uma intervenção cirúrgica em 69% dos casos, sendo a mediana do número de cirurgias de 2.5 (mínimo de 0 e máximo de 26). Relativamente à determinação sérica de IgE total, a mediana foi de 182 kU/l, com valores compreendidos entre 7.9 e 4583 kU/l. Relativamente à determinação sérica de IgE específica para látex, a média de classe ($\pm$ DP) foi de 2.5 (± 1.4), com mínimo de classe 0 e máximo de classe 6; a mediana de valores foi 6.2 kU/l. A

determinação de IgE específica foi positiva em 53 doentes (87%).

A prevalência de síndrome látex-frutos encontrada no total dos doentes alérgicos ao látex foi de 28% (n=17). Avaliando a frequência de aparecimento desta síndrome em cada um dos grupos de risco estudados, constatámos que a alergia alimentar foi diagnosticada em 15 dos 33 profissionais de saúde alérgicos ao látex, atingindo neste grupo uma prevalência de 45%. Os não profissionais de saúde afectados correspondiam a 1 doente com espinha bífida e 1 doente adulta com múltiplas cirurgias sem espinha bífida. A salientar que a doente com espinha bífida referida, uma adolescente de 16 anos de idade, estava sensibilizada e manifestava síndrome de alergia oral após ingestão de castanha.

Relativamente aos sintomas clínicos da síndrome látex-frutos, em 11 destes doentes a forma de apresentação clínica foi anafilaxia (65%). Nos restantes 6 doentes, 4 tiveram sintomas mucocutâneos (urticária e/ou angioedema) e 2 síndrome de alergia oral (Figura 1).

Os alimentos implicados na síndrome látex-frutos encontram-se discriminados na Tabela 2. Destes destacam-se pela sua maior frequência,

castanha em 12 doentes (71%), banana em 8 doentes (47%), pêssago em 5 doentes (29%), abacate e kiwi em 4 doentes (24%). Salienta-se ainda que três doentes alérgicos ao látex apresentavam urticária de contacto com batata crua, mas toleravam a ingestão do alimento cozinhado. Os alimentos responsáveis por reacções de anafilaxia encontram-se discriminados na Tabela 3. A castanha é claramente o fruto mais associado a anafilaxia, sendo referido por 9 doentes. A banana é responsável pelo desencadear de reacção anafiláctica em 5 doentes. Com menor frequência, são referidos outros frutos, abacate (2), manga (2), papaia (2), pêssago (2), ananás (1), figo (1), kiwi (1), maracujá (1) e melão (1), e legumes, espinafre (2), mandioca (2), tomate (1) e pimentão doce (1). Nenhuma destas reacções foi fatal, tendo regredido com a terapêutica instituída.

Os doentes com síndrome látex-frutos eram na sua quase totalidade profissionais de saúde alérgicos ao látex. Na procura de eventuais factores de risco para o aparecimento desta síndrome, o grupo dos profissionais de saúde foi dividido em dois subgrupos: com síndrome látex-frutos (n=15) e sem síndrome látex-frutos (n=18).

Encontrou-se relação entre o aparecimento desta síndrome e a existência de valores mais elevados de IgE específica para látex, conforme documentado na Figura 2. Os profissionais de saúde com síndrome látex-frutos tinham valores significativamente mais elevados, com uma mediana de 19.4kU/l, para 0.6kU/l nos profissionais de saúde sem a síndrome ($p=0.006$).

Os profissionais de saúde com síndrome látex-frutos tinham, em média, uma classe de IgE específica para látex de 3.6 (± 0.9), com mínimo de classe 2 e máximo de classe 6. Os profissionais de saúde sem síndrome látex-frutos tinham, em média, uma classe de IgE específica para látex de 1.8 (± 1.2), com mínimo de classe 0 e máximo de classe 4. Esta diferença foi significativa ($p<0.0001$). A existência de uma IgE específica

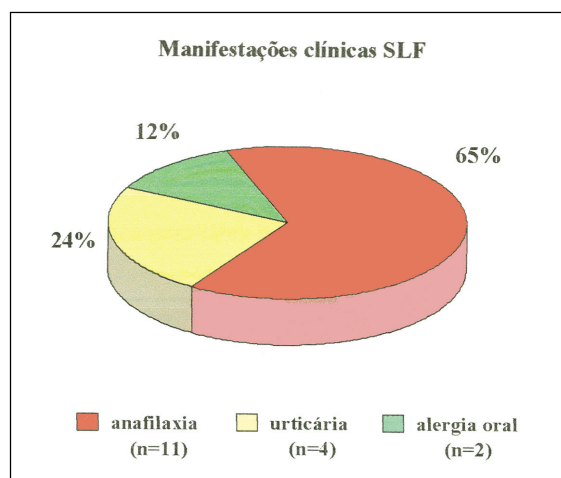


Figura 1 - Manifestações clínicas da síndrome látex-frutos (n=17)

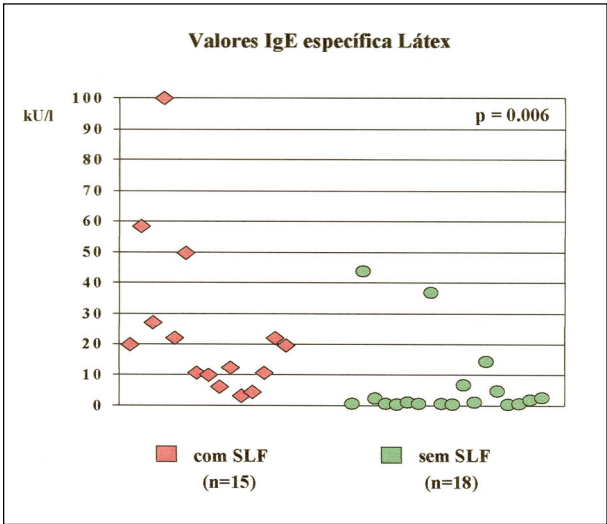


Figura 2 - Valores de IgE específica para látex nos profissionais de saúde alérgicos ao látex (n=33), com e sem síndrome látex-frutos

CAP-classe ≥ 3 para látex foi identificada como factor de risco para o aparecimento da síndrome látex-frutos (Tabela 4). Os profissionais de saúde com IgE específica para látex CAP-classe ≥ 3 tinham esta síndrome em 74% dos casos, para 26% nos profissionais de saúde com CAP-classe <3 ($p<0.001$).

As outras variáveis estudadas, idade, sexo, antecedentes pessoais e familiares de alergia, número de cirurgias, tempo de profissão, atopia e doseamento sérico de IgE total não foram identificadas como factores de risco ($p>0.05$).

DISCUSSÃO

A síndrome látex-frutos é uma manifestação clínica característica e muito temida da alergia ao látex, que afecta essencialmente o grupo de risco dos profissionais de saúde. Neste grupo, esta forma de alergia alimentar por reactividade cruzada revelou-se muito frequente atingindo uma prevalência de 45%, manifestando-se na maioria

dos casos por anafilaxia. Pelo contrário, nos doentes com espinha bífida esta síndrome é rara e quando ocorre raramente é causa de reacções alérgicas graves. Na população estudada apenas uma adolescente com espinha bífida manifestou a síndrome, caracterizada por sintomas de alergia oral após ingestão de castanha crua.

A comparação entre os nossos resultados e os estudos disponíveis sobre prevalência da síndrome látex-frutos (Tabela 5),^{9,11,21-24} efectuados em outros países, permite-nos concluir que a

Tabela 2 - Alimentos implicados na síndrome látex-frutos (n=17)

Alimento	n (doentes)	%
castanha	12	71%
banana	8	47%
pêssego	5	29%
abacate	4	24%
kiwi		
ananás	3	18%
espinafre		
maracujá		
papaia		
ameixa	2	12%
mandioca		
manga		
melão		
tomate		
alperce	1	6%
figo		
pimentão doce		
uva		

Tabela 3 - Alimentos implicados em reacções anafiláticas (n=11)

Alimento	n (doentes)	%
castanha	9	82%
banana	5	46%
abacate	2	18%
espinafre		
mandioca		
manga		
papaia		
pêssego		
ananás	1	9%
figo		
kiwi		
maracujá		
melão		
pimentão doce		
tomate		

variabilidade observada na frequência desta síndrome pode ser explicada pelo critério utilizado para o diagnóstico de alergia alimentar, bem como pelas características das populações estudadas,

desde o tipo de exposição ao látex até aos hábitos dietéticos da região geográfica. Os estudos que se encontram disponíveis na literatura indexada foram efectuados em populações na quase totalidade com exposição ocupacional ao látex. Desta forma, as prevalências por nós encontradas neste grupo de risco revelaram-se semelhantes às obtidas nos estudos efectuados em Espanha e França, com hábitos dietéticos semelhantes e em que foram utilizados os mesmos critérios de diagnóstico. Os valores de prevalência mais baixos encontrados por outros autores, poderão justificar-se pela metodologia distinta, nomeadamente critério de sensibilização por IgE específica, e por hábitos alimentares diferentes.¹¹

As diferenças entre os hábitos dietéticos dos vários países têm uma influência decisiva. Um exemplo bem explicativo é a alergia à castanha, alimento mais frequentemente implicado no nosso estudo, bem como no estudo efectuado em Espanha,⁹ sendo pelo contrário pouco frequente no estudo efectuado na Alemanha.¹¹ De igual modo, esta parece ser a explicação para as diferenças encontradas em termos da proporção de reacções anafiláticas, que varia entre os estudos mencionados desde 77%⁹ a menos de 10%.¹¹

Em alguns estudos ocorre uma sobrevalorização do diagnóstico da síndrome látex-frutos, devido a utilização de critérios de definição não

Tabela 4 - Classe de IgE específica para látex nos profissionais de saúde alérgicos ao látex, com e sem síndrome látex-frutos

IgE específica Látex	n	Com SLF	Sem SLF	p
CAP-classe ≥ 3	19	14 (74%)	5 (26%)	<0.001
CAP-classe < 3	14	1 (7%)	13 (93%)	
Total	33	15 (45%)	18 (55%)	

Tabela 5 - Estudos de prevalência de síndrome látex-frutos

Referência	País	Nº de doentes alérgicos ao látex	Método diagnóstico	Prevalência de SLF
Blanco et al (1994) ⁹	Espanha	25	clínica + TC	52%
Makinen-Kiljunen et al (1994) ²¹	Finlândia	31	clínica TC	52% 35%
Lavaud et al (1995) ²²	França	17	clínica + TC	59%
Beezhold et al (1996) ²³	Canadá	47	clínica + TC TC	36% 70%
Brehler et al (1997) ¹¹	Alemanha	136	clínica + IgE específica clínica IgE específica	32% 43% 69%
Kim et al (1999) ²⁴	EUA	137	clínica	21%
Presente estudo	Portugal	61	clínica + TC	28%

correctos. Tal como na alergia alimentar de um modo geral, este diagnóstico não pode ser efectuado apenas por base na presença de sensibilização ao alimento, pois muitas destas sensibilizações são assintomáticas, o que se encontra totalmente em consonância com o observado na nossa prática clínica.

A explicação para as diferenças encontradas entre os principais grupos de risco, quer quanto à prevalência quer quanto à gravidade da alergia alimentar, parece residir nos diferentes perfis de sensibilização alérgica, variando consoante a via de exposição ao látex.²⁸ Segundo o Comité Internacional de Nomenclatura de Alergénios da IUIS (*International Union of Immunological Societies*), estão actualmente identificados e caracterizados 13 alérgenos do látex, que foram denominados de *Hev b 1* a *Hev b 13* (Tabela 6).

Nos doentes com espinha bífida (exposição por múltiplas cirurgias, efectuadas em idade precoce), os alérgenos *major* do látex são o *Hev b 1* ou factor de alongamento da borracha e o *Hev b 3*. Nos profissionais de saúde (exposição ocupacional, com contacto mantido por via cutânea e inalatória) os alérgenos *major* do látex são o *Hev b 6*, correspondendo à proheveína ou *Hev b 6.01* e ao seu domínio N-terminal conhecido como heveína ou *Hev b 6.02*, o *Hev b 5* ou proteína ácida do látex, o *Hev b 2* ou β -1,3-glucanase e o recentemente identificado *Hev b 13* ou esterase do látex.²⁹⁻³²

A existência de reactividade cruzada entre o látex e vários alimentos de origem vegetal tem fascinado vários autores e tem sido alvo de múltiplos trabalhos de investigação. Os panalérgenos identificados como responsáveis pela síndrome

Tabela 6 - Alergénios do látex⁽²⁹⁻³²⁾

Nomenclatura	Nome	Peso molecular	Significado	Reactividade cruzada
<i>Hev b 1</i>	REF (factor de alongamento da borracha)	14.6 kDa	alergénio major (EB)	
<i>Hev b 2</i>	β-1,3-glucanase	35.1 kDa	alergénio major (PS)	com glucanase da banana e tomate
<i>Hev b 3</i>	REF-like	23-27 kDa	alergénio major (EB)	
<i>Hev b 4</i>	Componente da microhélix	50-57 kDa	alergénio major	
<i>Hev b 5</i>	Proteína ácida do látex	16 kDa	alergénio major (PS)	com proteína ácida do kiwi
<i>Hev b 6</i>	Proheveína (<i>Hev b 6.01</i>)	20 kDa	alergénio major (PS)	com quitinases da classe I do abacate, castanha e banana
	Heveína (<i>Hev b 6.02</i>) (domínio N-terminal da proheveína)	4.7 kDa		
<i>Hev b 7</i>	Patatina-like	42.9 kDa	alergénio minor	com patatina da batata e tomate
<i>Hev b 8</i>	Profilina do látex	13.9-15.7 kDa	alergénio minor	com profilina da banana e pólen (ambrósia, gramíneas e bétula)
<i>Hev b 9</i>	Enolase do látex	47.7 kDa	alergénio minor	com enolase do tomate e fungos (<i>Cladosporium</i>)
<i>Hev b 10</i>	Superóxido dismutase	22.9 kDa	alergénio minor	com fungos (<i>Aspergillus fumigatus</i>)
<i>Hev b 11</i>	Quitinase da classe I	33 kDa	alergénio minor	com quitinases da classe I do abacate, castanha e banana
<i>Hev b 12</i>	LTP do látex	9.3 kDa	alergénio minor	com LTPs de frutos da família <i>Rosaceae</i>
<i>Hev b 13</i>	Esterase do látex	43 kDa	alergénio major (PS)	
PS = profissionais de saúde; EB = indivíduos com espinha bífida				

látex-frutos são proteínas PR (*pathogenesis-related proteins*), o que justifica o espectro de gravidade clínica associado.^{33,34} As denominadas

PR, proteínas-de-defesa presentes em várias plantas não relacionadas taxonomicamente, responsáveis pela protecção contra várias agres-

sões, nomeadamente infecções e agentes ambientais físicos e químicos, têm sido implicadas como responsáveis pelas manifestações clínicas de reactividade cruzada. Na síndrome látex-frutos, a família das quitinases de classe I, proteínas do tipo PR-3, tem um papel preponderante. Foi demonstrado por estudos de inibição que quitinases de classe I identificadas como alergénios *major* de frutos como abacate (*Prs a 1*), castanha (*Cas s 5*) e banana (*Mus a 1*) possuem um domínio N-terminal semelhante ao da heveína (*Hev b 6*), alergénio *major* do látex nos profissionais de saúde.³⁵ Recentemente foi também identificado um alergénio do látex que corresponde a uma quitinase de classe I, o *Hev b 11*.³⁶ Outras PR presentes no látex têm também sido associadas a esta síndrome, nomeadamente a β -1,3-glucanase (*Hev b 2*), pertencente ao grupo das PR-2, e a LTP (proteína de transporte de lípidos) presente no látex (*Hev b 12*), pertencente ao grupo das PR-14, com reactividade descrita com frutos da família *Rosaceae*.³⁰ No caso da patatina do látex (*Hev b 7*), apesar de estar claramente demonstrada a existência de homologia estrutural com a patatina da batata (*Sol t 1*), a reactividade cruzada não tem habitualmente implicações clínicas pois esta proteína é inactivada pelo calor,³⁷ justificando a ausência de sintomatologia após a ingestão do alimento cozido, apesar da sensibilização à batata ser descrita com relativa frequência nos doentes alérgicos ao látex.

A profilina do látex (*Hev b 8*) pertence a outra família de panalergénios, e apresenta homologia com profilinas de outras plantas, nomeadamente da banana e de pólenes de ambrósia, gramíneas e bétula; no entanto, apesar de responsável por reactividade cruzada imunológica, não apresenta implicações clínicas.³⁴

Atendendo ao perfil de sensibilização alérgica associado à sensibilização ao látex que ocorre por via ocupacional, facilmente se compreende que a ocorrência da síndrome látex-frutos seja um

problema que atinge essencialmente o grupo de risco dos profissionais de saúde. Neste estudo, este pressuposto foi confirmado, e pertencer a este grupo de risco foi claramente o principal factor de risco identificado para o aparecimento da síndrome látex-frutos. Da análise comparativa de vários parâmetros nestes doentes, concluiu-se que a intensidade da sensibilização ao látex é importante. A existência de uma IgE específica CAP-classe ≥ 3 foi identificada neste grupo como factor de risco para a ocorrência de alergia alimentar associada. Especificamente, a presença de uma resposta IgE específica positiva para determinados alergénios recombinantes, nomeadamente para a proheveína (*rHev b 6.01*) poderá revelar-se indicadora de um risco acrescido para ocorrência desta síndrome.³⁸

O diagnóstico da alergia alimentar associada a alergia ao látex baseia-se na história clínica de ocorrência de reacções adversas, imediatas, sugestivas de serem mediadas por IgE, e é confirmado pela evidência de sensibilização documentada por teste cutâneo positivo para o alimento implicado. O doseamento sérico de IgE específica para estes alimentos, frutos e legumes, tem uma baixa sensibilidade diagnóstica não devendo ser utilizado na prática clínica. A realização do teste cutâneo com o alimento em natureza é muitas vezes imprescindível, quer pela sua maior sensibilidade diagnóstica comparativamente ao extracto comercial, quer porque para alguns dos alimentos implicados nesta síndrome não existem disponíveis extractos comerciais.

A terapêutica da síndrome látex-frutos consiste essencialmente na evicção. Neste caso, para além das medidas rigorosas de evicção de material contendo látex, nas actividades profissionais e domésticas dos doentes, é também imprescindível a evicção dos alimentos implicados. Estes doentes deverão ter disponível um kit para auto-administração de adrenalina em caso de ingestão accidental, particularmente quando há história de



Figura 3 - Síndrome látex-frutos: alergia alimentar a frutos e outros alimentos de origem vegetal por reactividade cruzada em doentes alérgicos ao látex

reações graves. Em casos duvidosos os doentes sensibilizados deverão fazer uma prova de provocação oral, sempre com as medidas de precaução adequadas, nomeadamente em meio hospitalar e desde que não haja contra-indicação à sua realização. Quando se diagnostica uma sensibilização assintomática a um alimento não consumido regularmente ou cuja tolerância se desconhece é prudente aconselhar-se a evicção. Esta realidade é distinta nas crianças com espinha bífida em que a sensibilização assintomática é a regra.

A possibilidade da imunoterapia específica para o látex, instituída em profissionais de saúde, poder reduzir a sensibilização a alimentos foi sugerida por alguns autores,³⁹ no entanto são necessários mais estudos para esclarecer este ponto, englobando um número mais alargado de doentes e com *follow-up* de maior duração.

Consensual é a necessidade de uma actuação em termos de prevenção primária. A instituição de medidas rigorosas, globais, incluindo obrigatoriedade de uso exclusivo a nível hospitalar de luvas sem pó lubrificante, de baixo teor alergénico, já conseguida a uma escala nacional em países como a Alemanha, demonstrou uma redução muito significativa quer da incidência quer da morbilidade da alergia ao látex, prevenindo assim também o aparecimento desta forma de alergia alimentar por reactividade cruzada.^{40,41}

CONCLUSÕES

O reconhecimento da existência da síndrome látex-frutos reveste-se de enorme importância clínica, dada a possibilidade de reacções alérgicas graves. No presente estudo, a anafilaxia foi a

forma de apresentação clínica em 65% dos casos, pelo que em todos os doentes sensibilizados ao látex devem ser investigadas reacções adversas a frutos e outros alimentos de origem vegetal com reactividade cruzada descrita com látex (Tabela 1 e Figura 3). Igualmente, em todos os indivíduos com existência prévia de manifestações com qualquer um destes alimentos deve ser investigada a alergia ao látex.⁴² A realização de testes cutâneos por *prick* para estes alimentos deve constar da abordagem diagnóstica dos doentes com sensibilização ao látex. No caso do extracto comercial ser negativo e persistir a suspeita clínica, ou no caso de este não estar disponível, os testes cutâneos deverão ser realizados com o alimento em natureza. A todos os doentes com alergia ao látex deve ser fornecida uma lista que inclua todos os alimentos implicados na síndrome látex-frutos. Na nossa população, a castanha e a banana parecem estar relacionadas com uma maior propensão para se associarem a esta síndrome e à ocorrência de reacções sistémicas graves. A frequência dos alimentos implicados nesta síndrome varia consoante os estudos, reflectindo os hábitos dietéticos da região geográfica.

Contacto:

Ângela Gaspar
Serviço de Imunoalergologia
Hospital de Dona Estefânia
Rua Jacinta Marto
1169-045 Lisboa
E-mail: angela.gaspar@sapo.pt

BIBLIOGRAFIA

- Bernardini R, Novembre E, Lombardi E, et al. Prevalence of and risk factors for latex sensitization in patients with spina bifida. *J Urol*. 1998;160:1775-8.
- Niggemann B, Buck D, Michael T, et al. Latex provocation tests in patients with spina bifida: who is at risk of becoming symptomatic? *J Allergy Clin Immunol*. 1998;102:665-70.
- Pires G, Morais de Almeida M, Gaspar A, et al. Risk factors for latex sensitization in children with spina bifida. *Allergol Immunopathol*. 2002;30:5-13.
- Sparta G, Kemper MJ, Gerber AC, Goetschel P, Neuhaus TJ. Latex allergy in children with urological malformation and chronic renal failure. *J Urol*. 2004;171:1647-9.
- Turjanmaa K. Incidence of immediate allergy to latex gloves in hospital personnel. *Contact Dermatitis*. 1987;17:270-5.
- Yassin MS, Lierl MB, Fischer TJ, O'Brien K, Cross J, Steinmetz C. Latex allergy in hospital employees. *Ann Allergy*. 1994;72:245-9.
- Sicherer SH. Clinical implications of cross-reactive food allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108:881-90.
- M'Raihi L, Charpin D, Pons A, Bougrand P, Vervloet D. Cross-reactivity between latex and banana. *J Allergy Clin Immunol*. 1991;87:129-30.
- Blanco C, Carrillo T, Castillo R, Quirarte J, Cuevas M. Latex allergy: clinical features and cross-reactivity with fruits. *Ann Allergy*. 1994;73:309-14.
- Weiss SJ, Halsey JF. A nurse with anaphylaxis to stone fruits and latex sensitivity: potential diagnostic difficulties to consider. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1996;77:504-8.
- Brehler R, Theissen U, Mohr C, Luger T. "Latex-fruit syndrome": frequency of cross-reacting IgE antibodies. *Allergy*. 1997;52:404-10.
- Gallo R, Roncarolo D, Mistrello G. Cross-reactivity between latex and sweet pepper due to prohevein. *Allergy*. 1998;53:1007-8.
- Sanchez-Guerrero IM, Escudero AI, Tortosa JA, Lombardero M. Anaphylaxis to cherimoya. *Allergy*. 2000;55:976-7.
- Maillard H, Machet L, Meurisse Y, et al. Cross-allergy to latex and spinach. *Acta Derm Venereol*. 2000;80:51.
- Schiffner R, Przybilla B, Burgdorff T, Landthaler M, Stolz W. Anaphylaxis to buckwheat. *Allergy*. 2001;56:1020-1.
- Schmidt MH, Raulf-Heimsoth M, Posch A. Evaluation of patatin as a major cross reactive allergen in latex-induced potato allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2002;89:613-8.
- Niggemann B, Reibel S, Hipler C, Wahn U. Anaphylactic reaction to lychee in a 12-year-old girl: cross-reactivity to latex? *Pediatr Allergy Immunol*. 2002;13:64-7.
- Raulf-Heimsoth M, Stark R, Sander I, et al. Anaphylactic reaction to apple juice containing acerola: cross-reactivity to latex due to prohevein. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;109:715-6.
- Alvarado MI, Moneo I, Gonzalo MA, Alvarez-Eire M, Diaz-Perales A. Allergy to azufaifa fruit and latex. *Allergy*. 2002;57:460-1.
- Gaspar A, Neto-Braga C, Pires G, Murta R, Morais-Almeida M, Rosado-Pinto J. Anaphylactic reaction to manioc: cross-reactivity to latex. *Allergy*. 2003;58:683-4.
- Makinen-Kiljunen S. Banana allergy in patients with immediate-type hypersensitivity to natural rubber latex: characterization of cross-reacting antibodies and allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 1994;93:990-6.
- Lavaud F, Prevost A, Cossart C, Guerin L, Bernard J, Kochman S. Allergy to latex, avocado pear, and banana: evidence for a 30

- kd antigen in immunoblotting. *J Allergy Clin Immunol.* 1995; 95:557-64.
23. Beezhold DH, Sussman GL, Liss GM, Chang NS. Latex allergy can induce clinical reactions to specific foods. *Clin Exp Allergy.* 1996;26:416-22.
 24. Kim KT, Hussain H. Prevalence of food allergy in 137 latex-allergic patients. *Allergy Asthma Proc.* 1999;20:95-7.
 25. Morais de Almeida M, Pires G, Prates S, et al. Testes cutâneos por *prick* - Normalização e aplicações. *Rev Port Imunoalergol.* 1997;4:201-28.
 26. Position paper: Allergen standardization and skin tests. The European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy.* 1993;48:48-82.
 27. Bernstein IL, Storms WW. Practice parameters for allergy diagnostic testing. Joint Task Force on Practice Parameters for the Diagnosis and Treatment of Asthma. The American Academy of Allergy, Asthma and Immunology and the American College of Allergy, Asthma and Immunology. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1995;75:543-625.
 28. Woolhiser MR, Munson AE, Meade BJ. Immunological responses of mice following administration of natural rubber latex proteins by different routes of exposure. *Toxicol Sci.* 2000;55:343-51.
 29. Sussman GL, Beezhold DH, Kurup VP. Allergens and natural rubber proteins. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;110:33-9.
 30. Beezhold DH, Hickey VL, Kostyal DA, et al. Lipid transfer protein from *Hevea brasiliensis* (Hev b 12), a cross-reactive latex protein. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003;90:439-45.
 31. Bernstein DI, Biagini RE, Karnani R, et al. In vivo sensitization to purified *Hevea brasiliensis* proteins in health care workers sensitized to natural rubber latex. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111:610-6.
 32. Yeang HY. Natural rubber latex allergens: new developments. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2004; 4:99-104.
 33. Breiteneder H, Ebner C. Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;106:27-36.
 34. Salcedo G, Diaz-Perales A, Sanchez-Monge R. The role of plant panallergens in sensitization to natural rubber latex. *Opin Allergy Clin Immunol.* 2001;1:177-83.
 35. Blanco C, Diaz-Perales A, Collada C, et al. Class I chitinases as potential panallergens involved in the latex-fruit syndrome. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103:507-13.
 36. O'Riordain G, Radauer C, Hoffmann-Sommergruber K, et al. Cloning and molecular characterization of the *Hevea brasiliensis* allergen Hev b 11, a class I chitinase. *Clin Exp Allergy.* 2002;32:455-62.
 37. Reche M, Pascual CY, Vicente J, et al. Tomato allergy in children and young adults: cross-reactivity with latex and potato. *Allergy.* 2001;56:1197-201.
 38. Gaspar A, Raulf-Heimsoth M, Pires G, et al. Latex Allergen Sensitization Patterns in Different Risk Groups and Latex-Fruit Syndrome Patients from Portugal. Presented at the XXIII EAACI Congress, Reunião Anual da Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica. 12 June 2004, Amsterdam.
 39. Pereira C, Pedro E, Tavares B, et al. Specific immunotherapy for severe latex allergy. *Allerg Immunol (Paris).* 2003;35:217-25.
 40. Allmers H, Schmengler J, Skudlik C. Primary prevention of natural rubber latex allergy in the German health care system through education and intervention. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;110:318-23.
 41. Allmers H, Schmengler J, John SM. Decreasing incidence of occupational contact urticaria caused by natural rubber latex allergy in German health care workers. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;114:347-51.
 42. Garcia Ortiz JC, Moyano JC, Alvarez M, Bellido J. Latex allergy in fruit-allergic patients. *Allergy.* 1998;53:532-6.

Padrão de resposta à prova de provocação nasal específica em doentes alérgicos submetidos a imunoterapia específica

Graça Loureiro¹, Carlos Loureiro¹, Vera Alves², Fátima Garção², Manuel Santos Rosa², Celso Chieira¹

¹Serviço de Imunoalergologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra

²Centro de Imunologia, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Resumo

A monitorização da eficácia da imunoterapia (IT) incluirá idealmente a prova de provocação nasal específica (PPNE) para avaliação objectiva da reactividade específica. No entanto a reprodutibilidade da resposta à PPNE permanece por definir. Neste estudo pretendeu-se analisar o padrão de resposta à PPNE, com avaliação de parâmetros clínicos e imunológicos, em doentes submetidos a IT comparativamente a doentes alérgicos não submetidos a IT. Incluíram-se 17 doentes com rinite alérgica a *Parietaria judaica*, divididos em dois grupos: o grupo I constituído por 9 doentes submetidos a imunoterapia específica e o grupo II constituído por 8 doentes sem qualquer terapêutica, no período do estudo. Todos os doentes foram submetidos a PPNE, fora do período polínico. Antes, 30 minutos e 6 horas após a PPNE foram efectuados lavados nasais para contagens celulares e doseamento de mediadores inflamatórios. Procedeu-se à monitorização da PPNE através de score de sintomas (pré-PPNE, 1º minuto, 30º minuto e hora-a-hora até às 6 horas). A PPNE foi positiva em todos os doentes. O grupo I apresentou, comparativamente ao grupo II, valores inferiores no score de sintomas (excepto à 6ª hora) e também no doseamento de ECP e RANTES. A triptase foi quantificável apenas em três amostras obtidas aos 30 minutos, enquanto que a eotaxina não foi quantificável em nenhuma das amostras. Verificou-se aumento das células CD3 e CD8 e descida de CD19 em ambos os grupos, após PPNE. O grupo II apresentou um aumento de CD4 e diminuição de CD125, enquanto que no grupo I estes tipos celulares não sofreram alterações. O padrão de resposta clínica à PPNE foi diferente nos dois grupos, admitindo-se a influência da terapêutica subjacente. As diferenças observadas nos resultados imunológicos obtidos na avaliação pré-PPNE também parecem reflectir a terapêutica específica subjacente ao grupo I. Quanto às alterações dinâmicas após a PPNE, os resultados obtidos não se enquadram no reconhecido tráfego celular decorrente da reacção alérgica. Tal poderá ser interpretado como uma discrepância do tempo de colheita de amostras celulares e a dinâmica celular de resposta à prova de provocação.

Summary

*The specific nasal challenge test (SNCT) has been described as a method to monitoring specific immunotherapy (IT) efficacy, but the parameters to assess the allergic reaction are not defined. The aim of this study was to assess the parameters of response to SNCT in allergic patients treated with IT. We included 17 patients with allergic rhinitis to *Parietaria judaica*. Group I included 9 patients with specific IT and group II included 8 patients without medication. A SNCT was performed out of the pollen season. The SNCT was monitored by symptom (nasal and extra-nasal) scores: before, at 0, 1st, 30th minutes and on every hours till the 6th hour of SNCT. At 0 and the 6th hours after the SNCT, nasal lavages were performed to assess the inflammatory mediators and the cellular phenotypes. In this study the SNCT reproduced the clinical reactivity to the allergen. The symptom score and the measurement of ECP and RANTES were higher in the group II compared with group I. Tryptase was found in just three patients (30 minutes). Eotaxin was not found in any nasal lavage. The clinical response was different in group I and II, what could be explained by the different therapy in each group. It also could explain the immunological differences observed, before SNCT. The dynamic changes after SNCT were not the expected and this finding could be related to an early sampling before cellular trafficking occurred.*

INTRODUÇÃO

A imunoterapia específica (IT)¹ tem sido uma das metodologias utilizadas para o tratamento das doenças alérgicas. Apesar de ter sido introduzida por Leonard Noon em 1911, permanece até hoje por esclarecer o seu mecanismo de acção. Reconhecem-se, no entanto, várias respostas clínicas a esta terapêutica, como a diminuição da reactividade do órgão, com redução da reactividade específica imediata e tardia, cutânea e das mucosas, e redução de reactividade à histamina. São também reconhecidas as respostas imunológicas ao tratamento de hipossensibilização específica, quer nos parâmetros humorais, com declínio da IgE específica e aumento da IgG específica, quer nos parâmetros celulares, nomeadamente a perda inespecífica de hiperactividade dos basófilos e diminuição da proliferação dos linfócitos e células mononucleares periféricas, verificando-se a diminuição do IL-2R sérico, a produção de células supressoras específicas, a percentagem aumentada de linfócitos T CD8⁺, a produção de linfócitos T

CD8⁺ específicos, a produção de linfócitos T CD4⁺ com perfil Th1 e diminuição dos linfócitos T CD4⁺ com perfil Th2, a diminuição de RceII/CD23 nos linfócitos B, a diminuição de várias citocinas (MIF, TNF, *Histamine releasing factors*, PAF, IL-4) e o aumento do RNAm de IL-2 e IFN- γ .

No âmbito da prática clínica, a monitorização da IT, tem-se baseado na avaliação clínica. No entanto esta metodologia é insatisfatória devido à sua subjectividade inerente. Dentre os vários métodos para monitorização da IT, a prova de provocação nasal específica (PPNE) constitui o método de eleição para a reprodutibilidade da reacção alérgica²⁻⁵. A cavidade nasal constitui o segmento das vias aéreas respiratórias de directo acesso, permitindo uma fácil aplicação do extracto alergénico, bem como a monitorização da reacção alérgica subsequente³ que é clinicamente avaliada duma forma directa e simples, quer através da utilização de *scores* de sintomas, quer através da avaliação funcional da obstrução nasal, seja por rinomanometria ou *peak flow* nasal. A análise dos parâmetros imunológicos também tem sido utilizada para a avaliação quantitativa de

mediadores e células inflamatórias²⁻⁴. A reacção alérgica⁶ engloba uma fase imediata e uma fase tardia, compreendendo um complexo intercâmbio entre células e mediadores inflamatórios. Na fase imediata ocorre activação dos mastócitos, com consequente desgranulação e libertação de histamina, triptase (reconhecida como o marcador da fase imediata⁷⁻⁹), quimase e derivados araquidónicos sintetizados de novo. Os mastócitos, e outras células efectoras da reacção alérgica (basófilos, linfócitos, células epiteliais), também libertam citocinas multifuncionais que regulam a duração e a intensidade da resposta imune, promovendo a expressão de moléculas de adesão e recrutando células inflamatórias. Particularmente relevante para os eosinófilos é conhecida a influência da IL-5 e quimiocinas como a Eotaxina e RANTES¹⁰. A Eotaxina é uma quimiocina da família CC, produzida por vários tipos celulares, designadamente células endoteliais, fibroblastos, macrófagos, células epiteliais brônquicas, células do músculo liso e eosinófilos¹¹. A quimiocina denominada RANTES também pertence à família CC. É produzida pelas células T, células epiteliais das vias aéreas, fibroblastos, células endoteliais e eosinófilos, sendo reconhecida a sua importância na quimiotaxia dos monócitos, células T e eosinófilos^{12,13}. Tem sido demonstrado que ambas exercem uma potente e selectiva acção de quimiotaxia sobre os eosinófilos, nomeadamente durante a inflamação alérgica. O infiltrado celular decorrente, caracteriza a fase tardia da reacção alérgica e é a marca da inflamação alérgica, distinguindo-a de outros processos inflamatórios. Outros mediadores inflamatórios são formados contribuindo para a perpetuação da reacção alérgica. Nesta fase tardia destaca-se a ECP como marcador da actividade dos eosinófilos^{7,8}.

Apesar de actualmente a triptase ser reconhecida como o marcador de activação dos mastócitos, característico da fase imediata, e a

ECP ser o marcador da actividade dos eosinófilos, células características da fase tardia da reacção alérgica, não estão padronizados os parâmetros de resposta à PPNE, quer clínicos quer imunológicos, além de não estar definida a sua reprodutibilidade, e eventual correlação com as alterações imunológicas subjacentes. À medida que se vão esclarecendo os eventos imunopatológicos e o complexo intercâmbio entre células e mediadores inflamatórios intervenientes na reacção alérgica, melhor se definem os parâmetros clínicos e imunológicos na caracterização da reacção alérgica e consequentemente na monitorização de tratamentos específicos da doença alérgica.

Concretamente, a monitorização da eficácia da IT, incluirá idealmente a PPNE antes, durante e após o tratamento, com avaliação da reactividade específica. Devido à diversidade inter e intraindividual, e à ausência de padronização dos parâmetros de resposta à PPNE, a reprodutibilidade da resposta à PPNE permanece por definir.

Neste estudo pretendeu-se analisar o padrão de resposta à PPNE, com avaliação de parâmetros clínicos e imunológicos, em doentes submetidos a IT comparativamente a doentes alérgicos não submetidos a IT.

METODOLOGIA

1. Doentes

Após consentimento informado, foram englobados 17 doentes com o diagnóstico de Rinite alérgica a parietaria, documentado por *prick* teste (pápula ≥ 3 mm) e IgE específica (classe ≥ 2). De ambos os sexos, com idade compreendida entre os 15 e os 52 anos, foram distribuídos por dois grupos. O Grupo I era constituído por 9 doentes submetidos a terapêutica de hipossensibilização a *Parietaria judaica* e o Grupo II era constituído

por 8 doentes sem qualquer terapêutica, no período do estudo. Foram factores de não inclusão neste estudo a existência de agudização de rinite alérgica e/ou asma brônquica, outra patologia nasal nomeadamente infecciosa, gravidez, ou terapêutica com anti-histamínicos/corticóides, tópicos ou sistémicos ou bloqueadores β , nas 3 semanas prévias ao estudo.

2. Métodos

O estudo foi realizado fora do período polínico. Todos os doentes foram submetidos a prova de provocação nasal específica (PPNE). Antes, 30 minutos e 6 horas após a PPNE foram efectuados lavados nasais. A figura 1 ilustra a abordagem utilizada.

2.1 Prova de provocação nasal específica A PPNE com extractos comerciais de *Parietaria judaica* para prova de provocação nasal (Leti), realizou-se de acordo com os consensos da Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica².

2.2 Técnica dos lavados nasais Antes, 30 minutos e 6 horas após a PPNE foram efectuados lavados nasais. Foi utilizada uma modificação do método desenvolvido por Naclerio¹⁴. Com o doente sentado e flexão do pescoço a 60°¹⁵, foram introduzidos 10 ml de solução salina (NaCl a 0,9%) pré aquecida a 30° C. Recolheu-se o líquido de lavado nasal em recipiente de plástico, registando-se o volume assim obtido. De seguida,

esta amostra foi centrifugada a 400g durante 10 minutos, sendo o sobrenadante obtido armazenado a -80° C, para posterior doseamento de mediadores inflamatórios. As células obtidas após centrifugação foram quantificadas por citometria de fluxo.

2.3 Monitorização da PPNE⁴ A resposta à PPNE foi monitorizada através de *score* de sintomas nasais (prurido nasal, estertores, rinorreia aquosa, obstrução nasal) e extranasais (prurido ocular, lacrimejo, prurido orofaríngeo, dispneia, sibilância, outros). O *score* de sintomas foi obtido por auto-registo de acordo com a sua gravidade (0 – nenhum; 1 – ligeiro; 2 – moderado; 3 – grave), antes e nos 1°, 5°, 10°, 15°, 30° e 60° minutos e depois a cada hora até às 6 horas após a PPNE.

A PPNE foi considerada positiva se *score* de sintomas ≥ 3 .

2.4 Contagem celular As células obtidas após centrifugação dos lavados nasais obtidos antes e 6 horas após a PPNE, foram submetidas a contagem por citometria de fluxo (CD3, CD4, CD8, CD19, CD125).

2.5 Doseamento de mediadores inflamatórios No sobrenadante dos lavados nasais, obtidos antes, aos 30 minutos e às 6 horas após a PPNE, procedeu-se ao doseamento de mediadores inflamatórios, os quais foram quantificados, por método ELISA (Análise imunológica por ligação enzimática). A triptase foi determinada segundo os procedimentos do kit UniCAP (Pharmacia). A ECP foi determinada segundo os procedimentos

Valores basais			LN	PD	Valores Controlo			PA	Valores de resposta					LN	Valores de resposta						
0'	5'	10'			0'	5'	10'		1'	5'	10'	20'	30'		45'	60'	2h	3h	4h	5h	6h
LN = Lavado nasal; PD = Provocação com diluente; PA = Provocação com alérgénio																					

Figura 1 – Metodologia de provocação específica, monitorização e lavados nasais.

do Kit AlaSTAT Microplate ECP (DPC – Diagnostic Procedures Corporation, USA). As quimiocinas Eotaxina e RANTES foram determinadas segundo os procedimentos dos Kits QuantiKine®, human Eotaxin Immunoassay e human RANTES Immunoassay, respectivamente (R&D Systems, USA).

2.6 Análise estatística De acordo com as variáveis existentes foram realizadas as seguintes análises estatísticas: distribuição de frequências, cálculo da média geométrica e aritmética, bem como a variância/desvio-padrão, teste *t* de Student, análise do intervalo de confiança para a diferença entre a média dos dois grupos. Foi considerado o nível de significância a 95% para a rejeição da hipótese nula. Para analisar as tendências temporais foi realizada uma ANOVA para medidas repetidas e um factor (grupo), ajustada para o sexo e idade.

RESULTADOS

Dados demográficos Os dados demográficos e respeitantes às características da doença, nos

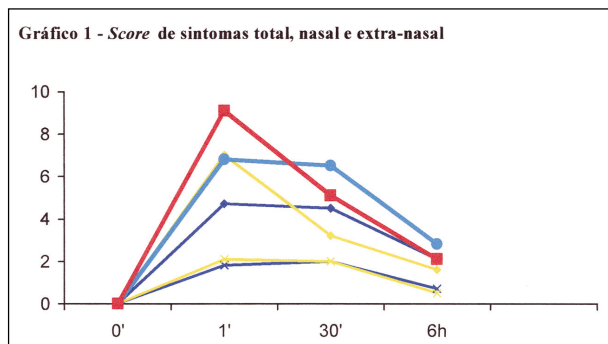
dois grupos de doentes são apresentados no Quadro I.

Score de sintomas A prova de provocação específica com parietaria foi positiva em todos os doentes, como avaliado por *score* de sintomas. Quanto à resposta clínica, os dois grupos apresentaram um padrão de resposta diferente. No 1º minuto, o grupo I apresentou um *score* total de sintomas inferior ao grupo II, respectivamente $6,8 \pm 4,1$ e $9,1 \pm 2,8$ (gráfico 1). Registou-se para o grupo I e II um *score* de sintomas nasais de $4,7 \pm 2,7$ e $7 \pm 1,8$, respectivamente, enquanto que o *score* de sintomas extra-nasais para o grupo I e II foi respectivamente $1,8 \pm 1,9$ e $2 \pm 1,5$. Aos 30 minutos o *score* de sintomas foi superior no grupo I comparativamente ao grupo II, respectivamente: *score* total $6,5 \pm 5,3$ e $5,1 \pm 3,9$; *score* nasal $4,5 \pm 3,5$ e $3,1 \pm 2,5$; *score* extra-nasal $2 \pm 2,4$ e $2 \pm 1,5$. Também à 6ª hora, o *score* de sintomas foi superior no grupo I comparativamente ao grupo II, respectivamente: *score* total $2,8 \pm 4,1$ e $2,1 \pm 2,2$; *score* nasal $2,1 \pm 3,4$ e $1,6 \pm 1,3$; *score* extra-nasal $0,7 \pm 1,3$ e $2,1 \pm 2,2$.

Quanto aos sintomas predominantes, em cada um dos tempos avaliados e em cada um dos

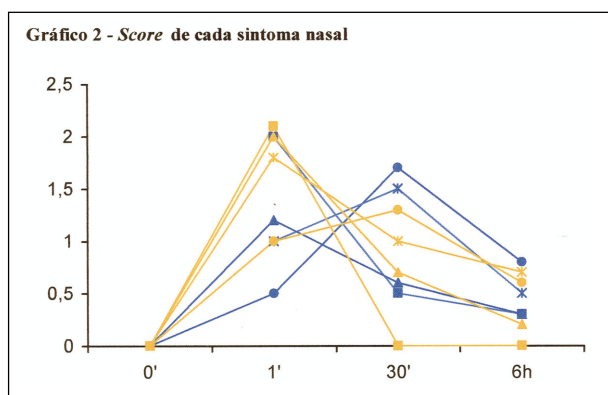
Quadro I – Dados demográficos e características da doença

		Grupo I	Grupo II
M:F		6:3	5:3
Idade	(média $\pm$ ds)	$40 \pm 7,9$ anos	$32,3 \pm 13,4$ anos
Tempo de evolução da doença	(média $\pm$ ds)	11 ± 3 anos	$5,4 \pm 2,8$ anos
IgE total	(média $\pm$ ds)	$301 \pm 150,2$ UI/L	$129,8 \pm 109,6$ UI/L
IgE específica a parietaria	(média $\pm$ ds)	$65,8 \pm 26,2$ KU/L	$36,5 \pm 31,8$ KU/L
TC - Ø pápula	(média $\pm$ ds)	$7,8 \pm 1,9$ mm	$7,8 \pm 1,9$ mm
Duração da IT	(média $\pm$ ds)	$3,9 \pm 1,6$ anos	Ø

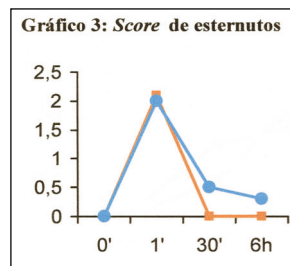


Legenda do gráfico 1: Score de sintomas - total, nasal e extra-nasal: grupo I versus grupo II (● score total do grupo I; ● score total do grupo II; ■ score nasal do grupo I; x score extra-nasal do grupo I; ● score nasal do grupo II; x score extra-nasal do grupo II).

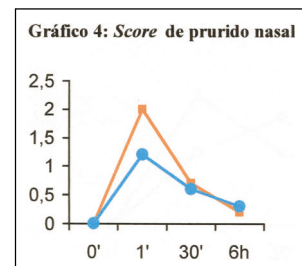
grupos, estão esquematizados no gráfico 2. Em ambos os grupos, verificou-se que os estertores foram o sintoma predominante no 1º minuto, enquanto que a obstrução nasal, seguida da rinorreia, foram os sintomas predominantes no 30º minuto. Na avaliação à 6ª hora, o padrão de resposta clínica foi diferente nos dois grupos, verificando-se que no grupo I a obstrução nasal foi o sintoma predominante, enquanto que no grupo II se verificou o predomínio da rinorreia.



Legenda do gráfico 2: Score de cada sintoma nasal: grupo I versus grupo II (● obstrução do grupo I; x rinorreia do grupo I; ■ estertores do grupo I; ▲ prurido do grupo I; ● obstrução do grupo II; x rinorreia do grupo II; ■ estertores do grupo II; ▲ prurido do grupo II).

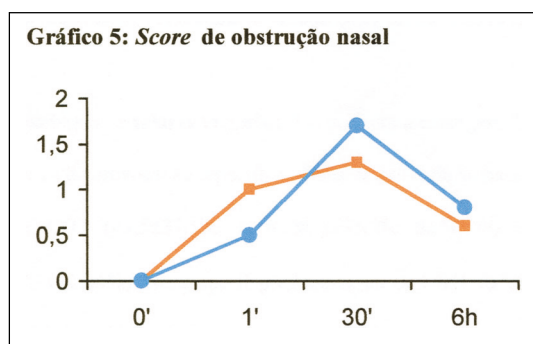


Legenda do gráfico 3: Score de estertores: grupo I versus grupo II (● score do grupo I; ■ score do grupo II).



Legenda do gráfico 4: Score de prurido nasal: grupo I versus grupo II (● score do grupo I; ■ score do grupo II).

A análise da evolução temporal de cada um dos sintomas nasais também apresentou algumas diferenças no padrão de resposta, nos dois grupos. Quanto aos estertores (gráfico 3), a evolução temporal deste sintoma caracterizou-se em ambos os grupos por um pico ao 1º minuto, com *scores* muito semelhantes (ainda que superior no grupo II), seguido de um acentuado decréscimo até ao 30º minuto, com posteriores diferenças entre os dois grupos. O grupo II apresentou um *score* nulo no 30º minuto que se manteve até a 6ª hora, enquanto que o grupo I manteve este sintoma até à 6ª hora, ainda que em decrescendo. Quanto ao prurido nasal (gráfico 4) e obstrução nasal (gráfico 5), as suas evoluções temporais foram semelhantes ao longo das seis horas, comparando os dois grupos entre si, apresentando apenas

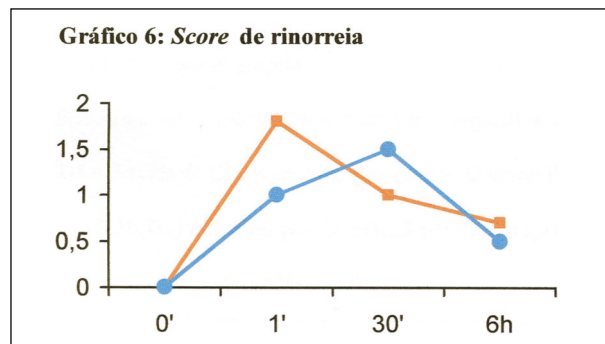


Legenda do gráfico 5: Score de obstrução nasal: grupo I versus grupo II (● score do grupo I; ■ score do grupo II).

diferenças no *score* em cada avaliação. Verificou-se, para o prurido nasal, que em ambos os grupos, o *score* apresentou um pico ao 1º minuto (embora mais elevado no grupo II), seguido de um decréscimo progressivo até à 6ª hora em ambos os grupos, com *scores* muito aproximados nas avaliações dos 30 minutos e das 6 horas, ainda que sendo discretamente superior no grupo I. Quanto à evolução temporal do *score* da obstrução nasal verificou-se, em ambos os grupos, um discreto *score* no 1º minuto (superior no grupo II) com um progressivo aumento até atingir o pico aos 30 minutos (nesta avaliação o *score* foi superior no grupo I). Observou-se posteriormente um discreto decréscimo, paralelo em ambos os grupos. Quanto à rinorreia (gráfico 6), tratou-se do sintoma com evolução temporal mais discrepante, comparando os dois grupos. Assim, o pico do *score* da rinorreia ocorreu em tempos diferentes em cada um dos grupos, designadamente, ao 1º minuto no grupo II e ao 30º minuto no grupo I. O posterior decréscimo do *score* até à 6ª hora verificou-se em ambos os grupos com valores discretamente superiores no grupo II.

Lavados nasais A recolha de lavado nasal foi de $70 \pm 5\%$ em ambos os grupos.

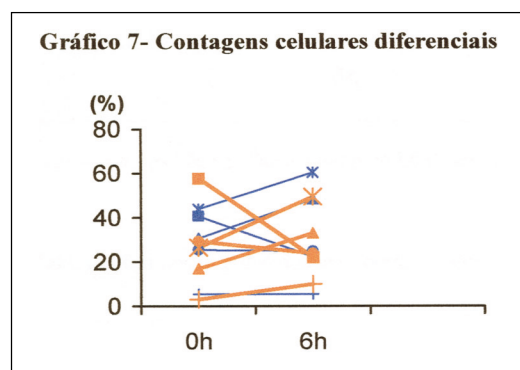
Contagens celulares O gráfico 7 representa a contagem diferencial de células antes (0h) e 6 horas após a prova de provocação específica. Antes da provocação nasal, observou-se no grupo I, o predomínio celular de CD3 ($43,5 \pm 37,1\%$, com $30,3 \pm 35,3\%$ de CD8) e CD19 ($40,3 \pm 29,5\%$), seguido de CD125 ($25,1 \pm 12,4\%$). No grupo II predominaram os CD19 ($57,6 \pm 27,2\%$) e CD125 ($29,1 \pm 11,5\%$), seguido dos CD3 ($26,3 \pm 26\%$ com $16,6 \pm 17,8\%$ de CD8). Após a prova de provocação (6 horas), ambos os grupos apresentaram um predomínio celular de CD3 ($60,3 \pm 28,6\%$ no grupo I e $49,2 \pm 26,8\%$ no grupo II) e CD8 ($48,2 \pm 36,3\%$ no grupo I e $32,8 \pm 29,7\%$ no grupo II). Em ambos os grupos e nos dois tempos avaliados, a contagem de CD4 revelou os valores



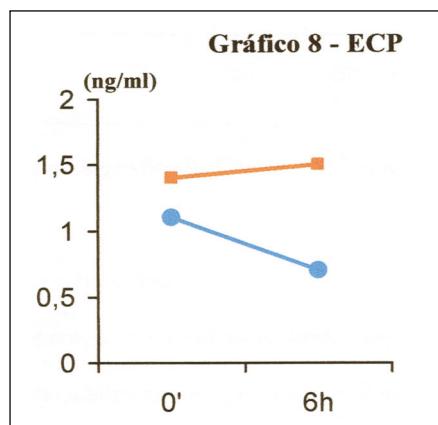
Legenda do gráfico 6: Score de rinorreia: grupo I versus grupo II (● score do grupo I; ■ score do grupo II).

mais baixos. Nomeadamente, antes da PPNE, o grupo I apresentou $5,1 \pm 4,2\%$ e o grupo II $2,8 \pm 2,1\%$ de CD4, enquanto que 6 horas após a PPNE o doseamento foi de $5,1 \pm 9\%$ e $9,8 \pm 10,7\%$, respectivamente.

A dinâmica celular, após prova de provocação específica, caracterizou-se por um aumento de células CD3 e CD8 e descida de CD19 em ambos os grupos. O grupo II apresentou um aumento de CD4 (de $2,8 \pm 2,1\%$ para $9,8 \pm 10,7\%$) e diminuição de CD125 (de $29,1 \pm 11,5\%$ para $23,6 \pm 14,3\%$), enquanto que no grupo I estes tipos celulares não sofreram alterações.



Legenda do gráfico 7: Contagens celulares diferenciais: grupo I versus grupo II (x CD3 do grupo I; + CD4 do grupo I; ▲ CD8 do grupo I; ■ CD19 do grupo I; ● CD125 do grupo I; x CD3 do grupo II; + CD4 do grupo II; ▲ CD8 do grupo II; ■ CD19 do grupo II; ● CD125 do grupo II).



Legenda do gráfico 8: Doseamento de ECP: grupo I *versus* grupo II (● grupo I; ■ grupo II).

Doseamento de mediadores inflamatórios

Triptase O doseamento deste mediador inflamatório só foi quantificável em três doentes, no lavado nasal dos 30 minutos: em dois doentes do grupo I (4,5 e 1,9 $\mu\text{g/ml}$) e num doente do grupo II (1,7 $\mu\text{g/ml}$). Nos restantes, os valores não atingiram o valor de doseamento ($<1\mu\text{g/ml}$). Em todas os lavados nasais, obtidos antes e 6 horas após a PPNE, apresentaram valores $<1\text{pg/ml}$, como esperado.

ECP O gráfico 8 apresenta os valores de ECP obtidos nos lavados dos dois grupos de doentes. Verificou-se que estes valores foram inferiores no grupo I comparativamente ao grupo II, nos lavados nasais obtidos antes e 6 horas após PPNE. Analisando a evolução temporal após a PPNE, verificou-se ainda que a ECP nos lavados do grupo I sofreu um progressivo decréscimo, de $1,1\pm 1,5\text{ng/ml}$ para $0,7\pm 0,8\text{ng/ml}$. No grupo II, verificou-se um discretíssimo aumento, de $1,4\pm 1,4\text{ng/ml}$ para $1,5\pm 2\text{ng/ml}$.

Eotaxina Em nenhum dos doentes foram obtidos valores mensuráveis de eotaxina.

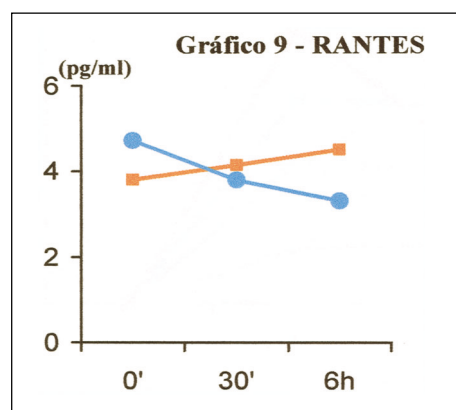
RANTES No gráfico 9 apresentam-se os doseamentos de RANTES. Nos lavados nasais

basais registaram-se níveis superiores no grupo I comparativamente ao grupo II, nomeadamente $4,7\pm 2,7\text{pg/ml}$ e $3,8\pm 1,1\text{pg/ml}$. Nos lavados nasais após a PPNE, os valores foram inferiores no grupo I comparativamente ao grupo II. Assim, aos 30 minutos, no grupo I os valores de RANTES foram de $3,8\pm 0,9\text{pg/ml}$ enquanto que no grupo II foram de $4,1\pm 1,1\text{pg/ml}$. Os doseamentos à 6ª hora após PPNE foram de $3,4\pm 0,7\text{pg/ml}$ no grupo I e $4,5\pm 0,9\text{pg/ml}$ no grupo II.

Quanto à análise da evolução temporal dos níveis de RANTES observou-se um padrão de resposta inverso comparando os grupos I e II. Ou seja, no grupo I os doseamentos aos 30 minutos e às 6 horas registaram valores em decréscimo, enquanto que no grupo II, se registaram valores crescentes.

Análise estatística

A comparação dos resultados obtidos em cada grupo pelo teste *t* revelou que as diferenças observadas não foram estatisticamente significativas, nomeadamente o *score* de sintomas, as contagens celulares e a ECP. Apenas a comparação entre o



Legenda do gráfico 9: Doseamento de RANTES: grupo I *versus* grupo II (● grupo I; ■ grupo II).

resultado do RANTES às 6 horas, nos dois grupos foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

A análise do intervalo de confiança para a diferença entre a média dos dois grupos, revelou que as diferenças observadas no *score* nasal, bem como no *score* total de sintomas são significativas. Também, utilizando a mesma análise comparativa, entre os dois grupos, as diferenças nas contagens celulares foram significativas, excepto os resultados do CD19 e CD125 dos dois grupos às 6 horas.

Quanto à análise das tendências temporais, nem os factores considerados, nem as suas interações, nem o efeito temporal foram significativos.

DISCUSSÃO

Os grupos I e II apresentaram características similares, tanto demográficas como respeitantes à doença alérgica (quadro I). Distinguem-se pelo facto de o grupo I cumprir IT, enquanto que o grupo II, durante o período do estudo interrompeu a terapêutica com corticóide e/ou antihistamínicos que cumpria previamente.

Verificou-se ainda que ambos os grupos se encontravam assintomáticos antes da PPNE. Na avaliação basal (pré-PPNE), o doseamento de triptase e de eotaxina não foram mensuráveis, em ambos os grupos. Sendo reconhecido que a triptase é um marcador da actividade dos mastócitos era esperado que não fosse mensurável, o que se verificou. Quanto à eotaxina, seria de esperar que fossem encontrados níveis desta quimiocina, ainda que baixos, uma vez que é reconhecido o seu papel na manutenção do infiltrado inflamatório eosinofílico, o qual persiste em muitos doentes mesmo fora do período polínico. Neste mesmo contexto, justifica-se a mensuração de RANTES, outra quimiocina cujo efeito de quimiotaxia sobre células T, monócitos e eosinófilos, contribui para o infiltrado inflamatório alérgico.

Menos esperado foi que o doseamento basal de RANTES fosse superior no grupo I, comparativamente ao grupo II, designadamente $4,7 \pm 2,6$ e $3,8 \pm 1,1$, atendendo à terapêutica subjacente ao grupo I. Akoum *et al*¹⁶ demonstraram que a expressão de RANTES diminui durante a IT. Apesar de neste estudo não terem sido obtidas amostras pré-IT, de modo a analisar a eventual dinâmica decrescente do RANTES ao longo da IT nestes doentes, seria de esperar que o grupo I apresentasse valores inferiores comparativamente ao grupo II, pois os outros parâmetros imunológicos estudados (ECP e populações celulares) apresentaram esse padrão. Realmente, como esperado, o doseamento de ECP foi inferior no grupo I, na avaliação basal. Quanto à análise das populações celulares na mucosa nasal, observámos que foram diferentes nos dois grupos. O grupo I apresentou um predomínio de CD3 e CD19, enquanto que no grupo II predominaram as células CD19 e CD125. Para cada tipo celular quantificado, o grupo I comparativamente ao grupo II, apresentou maior número de CD3, CD8 e CD4, e menor número de CD19 e CD125. Apesar de estes resultados não terem significado estatístico, admite-se que estas diferenças na composição celular basal nos dois grupos serão reflexo da terapêutica subjacente ao grupo I. Ou seja, o predomínio de CD19 e CD125 no grupo II é característico do infiltrado celular alérgico, enquanto que o predomínio de CD3, CD19 e CD8 e menor quantidade de CD125 poderão corresponder às alterações que a imunoterapia induz no infiltrado celular¹.

O estudo foi realizado fora do período polínico e verificou-se que a PPNE foi positiva em todos os doentes de ambos os grupos, como documentado pelo *score* de sintomas. Monitorizámos a PPNE com avaliação clínica, designadamente com *score* de sintoma. A monitorização funcional do compromisso nasal, através de rinometria acústica ou rinomanometria, não foi utilizada

porque apenas quantifica a obstrução nasal¹⁷. Observou-se que a resposta clínica imediata à PPNE foi diferente nos dois grupos. Apesar de em ambos os grupos se ter observado o *score* máximo ao 1º minuto, verificaram-se algumas diferenças nos dois grupos, definindo padrões de resposta à PPNE diferentes. Enquanto que o grupo I apresentou uma evolução temporal do *score* de sintomas, que descreveu um patamar desse *score* nos 1º e 30º minutos, com posterior diminuição até à 6ª hora, o grupo II apresentou um acentuado pico no *score* de sintomas no 1º minuto com rápido decréscimo do *score* aos 30º minuto e 6ª hora. É classicamente reconhecido, que a fase imediata da reacção alérgica nasal se caracteriza clinicamente por esternutos, prurido nasal, rinorreia aquosa e obstrução nasal, que evoluem nos primeiros 30 minutos após a exposição alergénica, com um pico de sintomatologia a ocorrer aos 15-20 minutos¹⁸. Miadonna *et al*¹⁹, utilizando a PPNE, descrevem que nestas condições, o pico de sintomatologia nasal ocorre imediatamente após a PPNE com progressivo decréscimo até aos 30 minutos, excepto a evolução da obstrução nasal que descreve um aumento progressivo a partir dos 10-20 minutos. No presente estudo, verificámos que, no grupo II, a evolução temporal da sintomatologia nasal característica da fase imediata correspondeu ao descrito por esses autores. A evolução temporal do *score* de sintomas do grupo I, não correspondeu a este padrão de resposta à PPNE. Observámos que, além de o *score* de sintomas ter sido inferior ao do grupo II, não se observou um pico no 1º minuto, mas um patamar no *score* de sintomas que se manteve até aos 30 minutos. Atribuímos estas diferenças no padrão de resposta imediata à PPNE, como resultado da IT a que o grupo I estava submetido. Tem sido descrito que um dos efeitos da IT é a diminuição da reactividade específica da mucosa nasal, documentada concretamente em estudos

sequenciais comparando intra-individualmente a reactividade ao longo do tratamento. No nosso estudo, admitimos que o menor *score* de sintomas total da fase imediata, no grupo I, seja resultado da IT a que este grupo estava submetido. Admitimos também, que a diminuição da reactividade específica decorrente da IT, se traduza adicionalmente por uma modificação do padrão de resposta temporal ao alergénio, uma vez que observámos que, no grupo I, o *score* foi mais baixo mas foi prolongado nos 30 minutos.

A sintomatologia nasal acompanhou o padrão do *score* total de sintomas, observado em cada um dos grupos respectivamente. Quanto aos sintomas extra-nasais, registou-se um *score* inferior aos sintomas nasais, e ainda descrevendo uma evolução temporal semelhante em ambos os grupos. Atendendo a estes achados admitimos que quanto à resposta clínica à PPNE, em cada grupo o padrão de resposta clínica total reflecte o padrão de resposta clínica nasal, enquanto que a sintomatologia extra-nasal descreveu um padrão muito semelhante nos dois grupos. Deste, na análise do efeito de terapêutica específica na resposta clínica à PPNE o *score* de sintomas nasal será suficiente.

Analisando cada um dos sintomas da fase imediata, em ambos os grupos, verificámos que os esternutos foram o sintoma predominante no 1º minuto, enquanto que ao 30º minuto foi a obstrução nasal. Quanto à evolução temporal, de cada um dos sintomas nasais, verificámos algumas diferenças nos dois grupos. Assim, o *score* dos esternutos apresentou um pico acentuado ao 1º minuto, em ambos os grupos com um *score* muito semelhante, tornando-se nulo aos 30 minutos, no grupo I. O pico do *score* do prurido nasal também ocorreu ao 1º minuto, nos dois grupos, mas menos acentuado no grupo I. Quanto à rinorreia, os dois grupos apresentaram um padrão evolutivo diferente, ou seja o grupo I descreveu um pico aos 30 minutos, enquanto que o grupo II

apresentou o pico do *score* ao 1º minuto. A obstrução nasal apresentou *scores* crescentes até ao 30º minuto, em ambos os grupos, como esperado. A análise comparativa destes dados, coloca a hipótese de que a IT poderá justificar as diferenças encontradas, nomeadamente a diminuição da reactividade específica traduzida pela inferioridade do *score* do prurido, rinorreia e obstrução nasal, no grupo I, ao 1º minuto. Avaliando os esternutos, nesse tempo, não parece haver diferenças entre os dois grupos, pelo que este será um parâmetro clínico de resposta à PPNE, com menor interesse na avaliação da fase imediata.

É reconhecido que a expressão clínica da reacção alérgica, característica da fase imediata, traduz eventos imunológicos que se caracterizam pela activação dos mastócitos, resultante da ligação do alérgénio à IgE específica que reveste a superfície destas células, e culminando na sua desgranulação com libertação de mediadores inflamatórios. A triptase é reconhecida como o marcador da activação dos mastócitos, logo o mediador imunológico característico da fase imediata. No presente estudo, este mediador apenas foi doseável em três doentes, nos lavados nasais obtidos aos 30 minutos, não correspondendo ao esperado. Estes resultados poderão justificar-se por uma cinética diferente do que tem sido descrito, nomeadamente apresentando um pico aos 30 minutos⁹. De facto, outros autores⁷ admitem que o pico do doseamento de triptase poderá ocorrer aos 10-15 minutos. Outro factor a ter em conta corresponde a diferentes diluições do lavado nasal adequadas ao doseamento de triptase. No estudo de Raulf-Heimsoth *et al*²⁰ foi utilizada a mesma técnica laboratorial do nosso estudo (UniCAP), mas os autores concentraram as amostras 5 vezes, e ainda assim apenas obtiveram determinações de triptase em 7 das 15 amostras.

No presente estudo, além de não se reconhecer

eventuais diferentes padrões de resposta imunológica à PPNE, fica por esclarecer uma eventual correlação entre este parâmetro imunológico e os achados clínicos.

A fase tardia da reacção alérgica^{18,21} ocorre 4 a 5 horas após a fase imediata, com um máximo entre as 6 e as 12 horas. Clinicamente é caracterizada predominantemente por obstrução nasal e ainda por rinorreia e esternutos.

Neste estudo, a fase tardia foi estudada com a avaliação às 6 horas após a PPNE. Verificámos que os dois grupos apresentaram um padrão de resposta clínica à PPNE diferente, caracterizada por um *score* de sintomas superior no grupo I comparativamente ao grupo II. Observámos ainda, que a resposta clínica à PPNE, no grupo II, correspondeu ao descrito por outros autores, designadamente o predomínio da obstrução nasal. Quanto ao grupo I, predominou a rinorreia ainda que com um *score* muito semelhante à obstrução nasal. Outra diferença importante é que o grupo II ainda apresentou esternutos 6 horas após a PPNE, enquanto que o grupo I apresentou um *score* nulo logo aos 30 minutos que mantém ao longo da observação até à 6ª hora.

Os eventos imunológicos subjacentes à fase tardia⁶ são decorrentes da libertação de mediadores inflamatórios por células efectoras da reacção alérgica (mastócitos, basófilos, linfócitos, células epiteliais), nomeadamente citocinas multifuncionais que regulam a duração e a intensidade da resposta imune, promovendo a expressão de moléculas de adesão e recrutamento de células inflamatórias. O infiltrado celular decorrente, composto predominantemente por eosinófilos, é responsável pela libertação de mediadores inflamatórios característicos da fase tardia da reacção alérgica, destacando-se a ECP como marcador da actividade dos eosinófilos.

As alterações observadas e decorrentes da dinâmica celular, em resposta à PPNE, revelaram um aumento de CD3 e CD8 e diminuição de

CD19 em ambos os grupos. Quanto às células CD4 o grupo II apresentou um aumento enquanto que o grupo I demonstrou uma discreta diminuição. As células CD125 sofreram uma diminuição no grupo II e mantiveram-se inalteradas no grupo I. Este padrão da dinâmica da celularidade em resposta à PPNE não se enquadra no reconhecido tráfego celular decorrente da reacção alérgica. Neste estudo, tal poderá ser analisado como uma discrepância do tempo de colheita de amostras celulares e a dinâmica celular de resposta à prova de provocação. Como referido anteriormente, a fase tardia da reacção alérgica tem início às 4-5 horas após exposição alergénica, com pico máximo às 6-12 horas. Realmente outros autores descrevem outros tempos de infiltrado máximo de eosinófilos, nomeadamente às 2-4 horas (Kuna *et al*¹²), às 8 horas (Hanazawa *et al*²²), às 10 horas (Terada *et al*²³), enquanto que Miadonna *et al*¹⁹ verificaram um aumento significativo de eosinófilos 6 horas após PPNE, mas com aumento crescente até às 24 horas. Admitimos ainda, que a avaliação das 6 horas, neste estudo, não corresponde ao pico da fase tardia, atendendo à observação da evolução do *score* de sintomas. Especificamente, qualquer um dos *scores* analisados, quer total, quer de cada sintoma *per se*, à 6ª hora além de serem inferiores ao *scores* registados ao 30º minuto, evoluíram em decrescendo, pelo que a avaliação à 6ª hora, nestes doentes, não corresponderá ao 2º pico, característico da fase tardia, o qual se manifestaria com certeza mais tardiamente. Um aspecto adicional que poderá justificar os resultados celulares deste estudo, será o facto de a metodologia de colheita utilizada para caracterização celular não se adequar, ainda que vários autores utilizem o lavado nasal para colheita de células nasais, mesmo em crianças¹⁵. Lim *et al*²⁴ concluíram que este método é comparável à biópsia nasal quanto à obtenção de eosinófilos.

Quanto à análise da ECP, marcador da

actividade dos eosinófilos e principal mediador inflamatório da fase tardia, verificou-se que o grupo I revelou valores de ECP inferiores ao grupo II, tanto basais como 6 horas após a PPNE. Apesar de esta diferença não ter significado estatístico, estes resultados reflectirão o efeito da IT. A evolução dos doseamentos de ECP no tempo foi diferente em cada grupo, com um discreto aumento no grupo II e um decréscimo no grupo I. Os resultados do grupo II parecem esboçar a activação de eosinófilos após PPNE. No entanto, seria de esperar que esse aumento fosse mais acentuado. Como é reconhecido que a ECP se correlaciona com os eosinófilos, as hipóteses colocadas para justificar a não correlação entre os achados celulares e a dinâmica celular que era esperada após a PPNE, justificarão de igual modo os eventos evolutivos da ECP observados neste estudo. Adicionalmente, a cinética da ECP não está definida, dificultando o esclarecimento dos resultados de ECP observados. Por outro lado, permanece por definir a importância do ECP e/ou eosinófilos como parâmetro de resposta imunológica à PPNE. Em alguns estudos, o aumento da ECP após PPNE, em lavados nasais, correlacionou-se com a magnitude da reacção alérgica. No entanto, Terada *et al*²³ demonstraram que a contagem de eosinófilos não se correlaciona com a sintomatologia. Outros autores²⁰ embora complementassem o estudo da reacção alérgica nasal com lavado nasal para doseamento de ECP e escovado nasal para quantificação de eosinófilos, não encontraram correlação entre estes parâmetros justificando-o com o facto de terem sido obtidos por métodos de colheita diferentes. Também DiLorenzo *et al*⁸ obtiveram eosinófilos por escovado nasal e ECP no lavado nasal, e verificaram que o ECP mas não os eosinófilos, se correlacionaram com o *score* de sintomas.

Neste contexto de resultados discrepantes, o doseamento de quimiocinas neste estudo

enquadra-se na tentativa de esclarecimento de outros mediadores inflamatórios envolvidos na reacção alérgica, a considerar na avaliação da resposta à PPNE. Concretamente, as quimiocinas Eotaxina e RANTES, sendo mediadores responsáveis por uma potente e selectiva quimiotaxia de eosinófilos, é de relevante interesse o seu exacto envolvimento na reacção alérgica, nomeadamente a sua eventual correlação com a clínica ou com o infiltrado celular, particularmente como parâmetro imunológico de resposta à PPNE.

No entanto, o doseamento de eotaxina neste estudo não demonstrou valores mensuráveis em nenhuma das amostras obtidas. Estes resultados poderão ser justificados pela técnica de colheita utilizada. Alam²⁵ descreve um método específico para a colheita de citocinas. No entanto, esta técnica é exclusiva para o doseamento de citocinas, não permitindo a obtenção de amostras para contagem celular, cuja metodologia poderá implicar excessivas diluições, e contribuindo para o esclarecimento dos baixos níveis de quimiocinas encontrados. Outro aspecto que poderá justificar a ausência de níveis mensuráveis de Eotaxina poderá relacionar-se com tempos de colheita não coincidentes com a cinética da Eotaxina. Terada *et al*²³ demonstraram que o doseamento de Eotaxina em lavados nasais após PPNE apresenta uma resposta bifásica, com um pico na 1ª hora (23 ± 5 pg/ml) e níveis crescentes após a 6ª hora (11 ± 1 pg/ml) até a 10ª hora (17 ± 2 pg/ml) de monitorização do estudo. Parece-nos que a esta 2ª hipótese poderá justificar melhor os resultados encontrados, uma vez que o doseamento de RANTES demonstrou níveis mensuráveis desta quimiocina, ainda que em valores inferiores aos encontrados por outros autores. No presente estudo, observámos que o padrão de resposta da quimiocina RANTES foi diferente nos dois grupos. Nos lavados nasais basais o doseamento de RANTES foi superior no grupo I, compara-

tivamente ao grupo II. Como referido anteriormente, seria esperado que os valores fossem inferiores, admitindo que a IT diminui o infiltrado celular basal e mediadores, podendo também admitir-se, como referido previamente, que os valores pré-IT fossem superiores aos actuais valores basais. Também a dinâmica do RANTES ao longo do estudo, foi diferente nos dois grupos. No grupo I verificou-se uma descida progressiva desses valores, ao longo da avaliação temporal após PPNE, enquanto que no grupo II se verificou um aumento. A diferença entre os resultados às 6 horas dos dois grupos foi estatisticamente significativa. O aumento progressivo do RANTES após a PPNE, observado no grupo II, foi concordante com o esperado, ainda que este aumento crescente não auxilie no esclarecimento da cinética do RANTES, a qual não é conhecida. Alguns autores¹³ caracterizam a cinética do RANTES com um pico 3h após PPNE, enquanto outros²⁶ descrevem que o pico de RANTES varia entre as 1 e 5 h após PPNE. No estudo de Sim *et al*¹³ os níveis de RANTES correlacionaram-se com o *score* da fase tardia.

A análise conjunta dos resultados observados na avaliação das 6 horas apontará para a precocidade desta avaliação em relação à fase tardia, nomeadamente ao grupo de doentes alérgicos submetidos a IT. Ou seja, se analisarmos clinicamente a sua evolução temporal, estes doentes apresentaram um *score* de sintomas nasal, que apesar do predomínio da obstrução, mais característica da fase tardia, apresentavam também rinorreia, prurido e esternutos, que são sintomas mais característicos da fase imediata. Associadamente verificou-se que estes doentes apresentaram um decréscimo de RANTES, ECP e não se observou alteração nas contagens de CD125. Admitimos que neste grupo de doentes, esta discrepância entre os resultados obtidos e esperados, bem como comparados com o grupo II, sejam resultado da terapêutica subjacente ao

grupo I. A diminuição da reactividade específica condicionada pela IT, poderá traduzir-se a nível da fase tardia, não só pela diminuição dos parâmetros avaliados, mas também pelo seu aparecimento mais tardio.

CONCLUSÕES

Neste estudo foram estudados dois grupos de doentes alérgicos, um dos quais submetido a IT. Apesar de se tratarem de dois grupos com características homogêneas, apresentaram algumas diferenças na avaliação basal, nomeadamente o infiltrado celular descrito, o que poderá corresponder ao esperado para cada um dos grupos relativamente ao seu *status* alérgico, com e sem IT.

Apesar de não se tratar de um estudo prospectivo, com realização de PPNE sequenciais no tempo, de modo a averiguar a evolução da reactividade específica nos dois grupos de doentes, as diferenças encontradas poderão contribuir para o esclarecimento da padronização da monitorização da resposta à PPNE, tanto clínica como imunológica.

A PPNE foi monitorizada com avaliação clínica, enquanto que os lavados nasais foram utilizados para caracterização da resposta imunológica à PPNE. Verificou-se, relativamente a alguns parâmetros analisados, que os dois grupos apresentaram um padrão de resposta à PPNE diferente. Particularmente relevante, e de acordo com o esperado, foi o padrão de resposta clínica à PPNE, em doentes submetidos a IT ser diferente, comparativamente aos doentes alérgicos não submetidos a essa terapêutica. Na monitorização da fase imediata, de acordo com os nossos resultados, a avaliação clínica apresenta-se mais relevante. Quanto à caracterização da fase tardia, quer clínica quer imunológica, na nossa opinião a avaliação às 6 horas após PPNE não parece útil, pela sua precocidade, particularmente no grupo

dos doentes alérgicos submetidos a IT. A diferença estatisticamente significativa do doseamento de RANTES observada às 6 horas, parece fundamentar a necessidade de avaliações posteriores para a caracterização da fase tardia, pois tem sido descrito que a cinética do RANTES apresenta um pico prévio aos eventos imunológicos da fase tardia.

À medida que se vão esclarecendo os eventos imunopatológicos e o complexo intercâmbio entre células e mediadores inflamatórios que caracterizam a reacção alérgica, tanto na sua fase imediata como tardia, melhor se definem os parâmetros de resposta, clínicos e imunológicos, à PPNE com reflexos importantes na monitorização de tratamentos específicos da doença alérgica.

BIBLIOGRAFIA

1. Nelson HS. *Immunotherapy for inhalants allergens*. In: Allergy Principles & Practice, Middleton E, Reed C *et al.* Eds. St Louis, CV Mosby, 5th edition, 1998: 1050-62.
2. Mellilo G. *Provocation tests with allergens*. Allergy. 1997; 52 (Suppl 35): 5-35.
3. Naclerio RM, Norman PS. *In vivo methods for the study of allergic rhinitis*. In: Allergy Principles & Practice, Middleton E, Reed C *et al.* Eds. St Louis, CV Mosby, 5th edition, 1998: 440-53.
4. Litvyakova LI, Baraniuk JN. *Nasal provocation testing: a review*. Annals of Allergy, Asthma & Immunology. 2001; 86(4): 355-65.
5. Loureiro G. *Provocação nasal específica no controlo da imunoterapia*. Rev Port Imunoalergol. 2001; 9: 123-5.
6. Barnes P. *Pathophysiology of Allergic Inflammation*. In: Allergy Principles & Practice, Middleton E, Reed C *et al.* Eds. St Louis, CV Mosby, 5th edition, 1998: 356-65.
7. Palma-Carlos AG, Palma-Carlos ML, Branco-Ferreira M, Spinola A, Santos MC, Lopes-Pregal A. *Nasal allergen challenge and immunotherapy control*. Allergie et Immunologie, Paris, 1998, 30(5): 153-6.
8. DiLorenzo G, Mansueto P, Melluso M *et al.* *Allergic rhinitis to grass pollen: measurement of inflammatory mediators of mast cell and eosinophils in native nasal fluid lavage and in serum out and during pollen season*. J Allergy Clin Immunol. 1997; 100: 832-7.
9. Jacobi HH, Skov PS, Kampen GT *et al.* *Histamine and tryptase in nasal lavage fluid following challenge with methacoline and allergen*. Clin Exp Allergy. 1998; 28: 83-91.

10. Gleich GJ. *Mechanisms of eosinophil-associated inflammation*. J Allergy Clin Immunol. 2000; 105: 651-63.
11. Nickel R, Beck LA, Stellato C, Schleimer RP. *Chemokines and allergic diseases*. J Allergy Clin Immunol. 1999; 104: 723-42.
12. Kuna P, Alam R, Ruta U, Gorski P. *RANTES induces nasal mucosal inflammation rich in eosinophils, basophils and lymphocytes in vivo*. Am J Respir Crit Care Med. 1998; 157: 873-9.
13. Sim TC, Reece LM, Hilsmeier KA, Grant A, Alam R. *Secretion of chemokines and others cytokines in allergen-induced nasal responses: inhibition by topical steroid treatment*. Am J Respir Crit Care Med. 1995; 152: 927-33.
14. Naclerio RM, Meier HL, Kagey-Sobotka A *et al*. *Mediator release after nasal airway challenge with allergen*. Am Rev Respir Dis. 1983; 128: 597-602.
15. Nikasinovic-Fournier L, Just J, Seta N, Callais F, Sahraoui F, Grimfeld A, Momas I. *Nasal lavage as a tool for the assessment of upper airway inflammation in adults and children*. J lab Clin Med. 2002; 139: 173-80.
16. Akoum H, Duez C, Vorng H *et al*. *Early modifications of chemokine production and mRNA expression during rush venos immunotherapy*. Cytokine. 1998; 10 (9): 706-12.
17. Pirilä T and Nuutinen J. *Acoustic rhinometry, rhinomanometry and the amount of nasal secretion in the clinical monitoring of the nasal provocation test*. Clinical and Experimental Allergy. 1998; 28: 468-77.
18. Bousquet and the ARIA workshop group. *Allergic rhinitis and its impact on asthma*. J Allergy Clin Immunol. 2001; 108: S147-S333.
19. Miadonna A, Milazzo N, Gibelli S, Salmaso C, Lorini M, Tedeschi A. *Nasal response to a single antigen challenge in patients with allergic rhinitis – inflammatory cell recruitment persists up to 48 hours*. Clin Exp Allergy. 1999; 29: 941-9.
20. Raulf-Heimsoth M *et al*. *Nasal lavage mediator profile and cellular composition of nasal brushing material during latex challenge tests*. Clinical and Experimental Allergy. 2000; 30: 110-21.
21. Naclerio RM, Proud D, Togias AG *et al*. *Inflammatory mediators in late antigen-induced rhinitis*. N Engl J Med. 1985; 313: 65-70.
22. Hanazawa T, Antuni JD, Kraritonov SA, Barnes PJ. *Intranasal administration of eotaxin increases nasal eosinophils and nitric oxide in patients with allergic rhinitis*. J Allergy Clin Immunol. 2000; 105 (1 Pt 1): 58-64.
23. Terada N, Hamano N, Kim WJ *et al*. *The kinetics of allergen-induced eotaxin level in nasal lavage fluid. Its key role in eosinophil recruitment in nasal mucosa*. Am J Respir Crit Care Med. 2001; 164(4): 575-9.
24. Lim MC, Taylor RM, Naclerio RM. *The histology of allergic rhinitis and its comparison to cellular changes in nasal lavage*. Am J Respir Crit Care Med. 1995; 151: 136-44.
25. Alam R, Sim TC, Hilsmeier K, Grant AJ. *Development of a new technique for recovery of cytokines from inflammatory sites in situ*. J Immunol Methods. 1992; 155: 25-9.
26. RajaKulasingam K, Hamid Q, O'Brien F *et al*. *RANTES in human allergen-induced rhinitis. Cellular source and relation to tissue eosinophilia*. Am J Respir Crit Care Med. 1997; 155: 696-703.

Testes cutâneos *versus* imunoglobulinas específicas séricas para *Dermatophagoides pteronyssinus*: avaliação comparativa da eficácia da imunoterapia específica

Skin tests versus serum specific immunoglobulins to *Dermatophagoides pteronyssinus*. Comparative evaluation of specific immunotherapy's efficacy

M Branco Ferreira¹, MC Pereira Santos², ML Palma Carlos³, MA Pereira Barbosa⁴, AG Palma Carlos⁵

*Unidade de Imunoalergologia do Hospital de Santa Maria
Faculdade de Medicina de Lisboa*

¹ Professor Auxiliar da F.M.L. Assistente Hospitalar de Imuno-Alergologia do H.S.M.

² Professora Auxiliar da FML. Investigadora Principal de Ciências Médicas da Universidade de Lisboa

³ Investigadora-Coordenadora de Ciências Médicas da Universidade de Lisboa

⁴ Professor Agregado da FML. Chefe de Serviço e Director da Unidade de Imuno-Alergologia do HSM

⁵ Professor Catedrático de Medicina, Imunologia e Imunoalergologia da F.M.L. (jubilado); Ex-Director de Serviço de Medicina do HSM

Resumo

Introdução: A eficácia imunológica da imunoterapia específica (ITE) é frequentemente avaliada pela evolução dos valores de testes cutâneos ou de IgE específicas para os respectivos alérgenos. Adicionalmente o doseamento das IgG específicas é também muitas vezes empregue para esse fim. Contudo, não existem muitos trabalhos que comparem directamente a evolução destes três parâmetros nos mesmos doentes.

Objectivo: Comparar a evolução destes 3 parâmetros imunológicos, após um ano de ITE e verificar a sua correlação com a tolerância alérgica avaliada pela determinação do limiar de positividade alérgica na provocação nasal.

Material e Métodos: 75 doentes com rinite alérgica monossensibilizados a ácaros do género *Dermatophagoides*, dos quais 50 efectuaram ITE com extracto polimerizado e despigmentado de

D. pteronyssinus. Estes 50 doentes foram adicionalmente divididos em dois grupos: um que recebeu doses mais baixas do extracto alergénico (Grupo 1) e outro que recebeu doses elevadas (Grupo 2). Todos os doentes efectuaram provocação nasal específica, testes cutâneos em picada e doseamentos de IgE e IgG específicas séricas para *D. pteronyssinus* antes do início da ITE e após um ano.

Resultados: Nos 25 doentes não tratados com ITE (grupo controlo) não se verificaram variações significativas em qualquer dos 4 parâmetros. Nos 50 doentes que efectuaram ITE observaram-se reduções dos valores médios dos diâmetros das pápulas dos testes cutâneos e dos valores de IgE específicas, bem como aumento dos níveis de IgG específica e dos limiares de provocação alergénica, todas com $p < 0,05$ quando comparamos as evoluções dentro de cada um dos grupos sob ITE. As alterações foram normalmente mais pronunciadas nos doentes que efectuaram ITE com concentrações mais elevadas (Grupo 2), embora a comparação entre os dois grupos de ITE nunca revele diferenças estatisticamente significativas. Na comparação entre grupos é na evolução dos testes cutâneos que se objectivam diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos sob ITE e o grupo controlo. A avaliação de IgG específicas séricas também permitiu evidenciar significado estatístico na comparação entre os doentes do grupo controlo e os do grupo 2, enquanto na avaliação da IgE específica, as diferenças verificadas não têm significado estatístico. Os testes cutâneos são também o único dos 3 parâmetros cuja evolução se correlaciona com a evolução dos limiares alergénicos de provocação nasal.

Conclusão: A avaliação da evolução do resultado dos testes cutâneos permite evidenciar a melhoria de parâmetros imunológicos induzida pela ITE, mais precocemente que a avaliação das IgE ou IgG específicas e com correlação significativa com a evolução dos limiares alergénicos de provocação nasal.

Palavras-Chave: Imunoterapia Específica, IgE específica, IgG específica, Testes cutâneos

Summary

Background: Evaluation of the efficacy of specific immunotherapy (SIT) is usually assessed by the evolution of skin prick tests (SPT) or serum specific IgE values. Additionally, specific IgG values can also be used for that purpose. However there are only a small number of studies looking at direct comparisons of these three parameters in the same patients and the influence of SIT.

Objective: To compare the evolution of these three parameters, after one year of SIT and assess their correlation with allergenic thresholds in specific nasal provocation.

Material and Methods: 75 allergic rhinitis patients, monosensitized to house dust mites (*Dermatophagoides*) were included in this study. 50 patients were treated with SIT with a depigmented and polymerised extract of *D. pteronyssinus*. These patients were further divided in two treatment groups: one receiving a high dose of the allergenic extract (Group 2) and other receiving a lower dose (Group 1).

All patients performed specific nasal provocation tests, SPT and measurement of serum specific IgE and IgG values, before and after one year of SIT.

Results: In the 25 patients of the control group (without SIT), there were no significant variations of any of the parameters evaluated. In the 50 SIT-treated patients we have observed statistically significant reductions in SPT results as well as in serum specific IgE levels, when we compare within each group the values before and after SIT. Serum IgG specific levels and allergenic thresholds in nasal provocation had also significant increases in each of the two groups. However when we compare the SIT-treated groups with the control group it is in SPT evaluation that we can observe significant differences between the control group and any of the SIT-treated groups, while in serum specific IgE we didn't find any significant differences. In serum specific IgG values there were significant differences but only between the control group and group 2. The comparison between the two SIT-treated groups never yielded any significant differences. SPT are also the only one of the three parameters that presented a statistically significant corre-

lation between its evolution and the evolution of the allergenic dose necessary to obtain a positive nasal provocation, before and after one year of SIT.

Conclusions: Evaluation of SPT evolution allows to demonstrate earlier than serological evaluation of specific IgE or IgG, the immunologic benefits of SIT. Additionally SPT evolution has the advantage of a significant correlation with the evolution of nasal provocation allergenic thresholds.

Key-Words: Specific IgE, Specific IgG, Specific immunotherapy, Skin prick tests

INTRODUÇÃO

A diminuição da intensidade de sensibilização a um determinado alérgeno é o objectivo da imunoterapia específica com alérgenos (ITE), podendo-se traduzir pela diminuição das dimensões da reacção observada nos testes cutâneos, ou pela diminuição das IgE específicas séricas. No entanto, nenhum destes dois métodos reflecte obrigatoriamente o que se passa no órgão-alvo, nem o doseamento de IgE específicas para um dado alérgeno reflecte exaustivamente a complexidade das respostas celulares mediadas pela IgE. Por exemplo, uma estimulação da produção policlonal de IgE pode, sem reduzir os doseamentos de IgE específicas para um dado alérgeno, contribuir para diminuir a densidade dessas IgE específicas à superfície das células mediadoras e, por consequência, a probabilidade ou intensidade da activação celular após contacto com o alérgeno.

Também o aumento das IgG específicas para um dado alérgeno pode interferir no processo alérgico pela formação de complexos imunes IgG-alérgeno que indisponibilizam este último para se ligar às IgE fixadas à superfície de células mediadoras e, consequentemente, o tornam incapaz de induzir a activação celular e causar o aparecimento de sintomatologia^{1,2}. Em trabalhos avaliando a ITE, verificou-se maior correlação entre a melhoria clínica e a subida dos valores de

IgG específica do que com a descida dos valores de IgE específica³⁻⁵. Mas mesmo a subida de IgG específica não é, por si só, capaz de prever uma boa evolução clínica dos doentes, havendo habitualmente uma grande disparidade de valores individuais.

Relativamente à questão da relação temporal entre a instituição da ITE e o aparecimento de alterações imunológicas relevantes, embora classicamente esteja descrito que, numa primeira fase da ITE se observa em geral um aumento dos níveis de IgE específicas, seguido de um ulterior decréscimo, cada vez maior número de trabalhos tem vindo a documentar diminuições significativas da IgE específica ao fim de um ano de ITE, ou até mais precocemente⁶⁻⁸. Em outros trabalhos, apesar de não se encontrarem diminuições precoces da IgE específica, são referidos aumentos precoces da IgG ou IgG4 específica³⁻⁵. Outros autores referem ainda diminuições dos diâmetros dos testes cutâneos mas não das IgE específicas após períodos de ITE de duração semelhantes aos do presente estudo^{3,9,10}. Pretendeu-se com este estudo verificar qual o parâmetro que apresentava maior discriminação entre a evolução dos doentes do grupo controlo e dos grupos submetidos a ITE, bem como se algum desses parâmetros se correlacionaria com a evolução de um marcador objectivo da tolerância alérgica, como é o caso dos limiares alérgicos de provocação nasal. Pretendeu-se ainda analisar o impacto das duas

dosagens alergénicas efectuadas em cada um dos grupos tratados com ITE, verificando se haveria evoluções significativamente diferentes de qualquer um dos parâmetros, ao fim de um ano de ITE.

MATERIAL E MÉTODOS

População

Seleccionaram-se 75 doentes com rinite alérgica persistente moderada a grave, com evidência de sensibilização a ácaros do género *Dermatophagoides*, confirmada pela anamnese, testes cutâneos em picada e doseamentos de IgE específicas, com indicação para efectuarem ITE. Estes doentes, de ambos os sexos e com idades compreendidas entre 15 e 55 anos (média $23,6 \pm 8,14$ anos), seguidos na Consulta de Imunoalergologia da Unidade de Imunoalergologia do Hospital de Santa Maria, foram distribuídos aleatoriamente por três grupos de 25 doentes cada:

Grupo 0 (G0) – grupo controlo, sem ITE.

Grupo 1 (G1) – grupo de ITE com extracto estandardizado modificado de *Dermatophagoides pteronyssinus*, com doses mensais de 5,5 µg (total anual: 62,5 µg).

Grupo 2 (G2) – um grupo de ITE com o mesmo extracto acima referido mas com doses mensais de 55 µg (total anual: 625 µg).

Todos os doentes podiam efectuar terapêutica com antihistamínicos orais e/ou corticosteróides tópicos nasais em períodos de agravamento.

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e os doentes que participaram no estudo assinaram um consentimento informado.

Imunoterapia específica

Foi efectuada com extracto de *Dermatophagoides pteronyssinus*, despigmentado, polimerizado com gluteraldeído (DEPIGROID®, Laboratórios LETI, Espanha).

Cada doente dos grupos 1 e 2 foi submetido a uma fase de indução de vacina, com administração de 5 doses crescentes semanais e depois a uma fase de manutenção durante o resto do período do estudo, com a administração de 11 doses mensais de concentração constante. A dose máxima administrada em cada injeção, nos doentes do grupo 1 foi de 5,5 µg do extracto modificado de *Dermatophagoides pteronyssinus*, enquanto que nos doentes do grupo 2 a dose foi de 55 µg. A administração dos extractos alergénicos foi efectuada sempre na Consulta de Imunoalergologia, de acordo com as normas preconizadas pela Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica¹¹.

Testes cutâneos e doseamentos séricos de imunoglobulinas específicas

Foram efectuados testes cutâneos por picada na face anterior de ambos os antebraços, de acordo com as normas da Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica¹², tendo-se registado o diâmetro médio da pápula originada pela solução de *Dermatophagoides pteronyssinus* (100 HEP/ml) (CBF LETI, Espanha).

Os doseamentos séricos de IgE e IgG específicas para *Dermatophagoides pteronyssinus* foram efectuados por método imunoenzimático UniCAP-FEIA (PharmaciaDiagnostics), sendo os resultados da IgE específica expressos em kU/L e os da IgG em mg/L.

Nos três grupos, os testes e doseamentos séricos foram efectuados no início do estudo (T0), tendo sido repetidos após um ano (T1).

Provocação nasal específica

Foi efectuada com solução alergénica de *Dermatophagoides pteronyssinus* dos Laboratórios CBF LETI, Espanha. Esta solução alergénica apresenta-se liofilizada, a fim de manter a sua integral potência, sendo reconstituída com 1 ml de solução diluente adequada, cerca de 30 minutos antes da provocação. Com esta reconstituição obtém-se uma solução alergénica com potência de 100 Unidades HEP (*Histamine Equivalent Potency*), a qual é sucessivamente diluída a 1:10, a fim de se obterem soluções com as concentrações de 10 HEP, 1 HEP, 0,1 HEP e 0,01 HEP. Não se utilizaram quaisquer fármacos com actividade vasoconstritora antes da provocação nasal.

Nas duas semanas anteriores à provocação os doentes não efectuariam qualquer corticoterapia tópica e suspenderiam antihistamínicos nas 48 horas precedentes.

A provocação foi sempre efectuada pelo mesmo médico e numa mesma sala, iniciando-se com a nebulização de 0,05 ml da solução diluente como controlo negativo, seguindo-se, a intervalos de 15 minutos, as nebulizações das soluções alergénicas (0,05 ml/nebulização) com concentrações crescentes. A provocação era interrompida quando o score clínico pós-provocação, composto pela avaliação de quatro sintomas, valorizados numa escala de 0 a 3, fosse superior ou igual a 6 (num máximo de 12). A última dose alergénica administrada correspondia ao limiar de positividade.

Análise estatística

Relativamente aos doseamentos de imunoglobulinas e diâmetros das pápulas dos testes cutâneos, a comparação entre os três grupos foi efectuada por análise de variância (ANOVA) e

quando esta avaliação revelou diferenças estatisticamente significativas efectuou-se uma análise subsequente, comparando dois a dois os grupos controlo, grupo 1 e grupo 2, pelo procedimento de comparação múltipla – teste de Bonferroni (post-hoc Bonferroni). Na avaliação dos limiares de provocação nasal utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis na comparação entre os três grupos e o teste de Mann-Whitney na análise subsequente, comparando dois a dois os grupos controlo, grupo 1 e grupo 2.

Para a comparação dos mesmos parâmetros, efectuados nos mesmos doentes no início e fim do estudo, a avaliação estatística foi efectuada pelo teste *t* emparelhado (*paired t-test*) ou pelo teste de Wilcoxon no caso dos limiares de provocação nasal (*Wilcoxon-signed-rank*).

As correlações entre testes cutâneos e imunoglobulinas séricas foram efectuadas pelo teste *r* de Pearson, e as correlações com os limiares de provocação alergénica nasal pelo teste *rho* de Spearman.

RESULTADOS

Os resultados individuais dos três parâmetros imunológicos dos 75 doentes estão indicados nas Figuras 1 a 3, podendo-se observar nos dois grupos sob ITE reduções dos valores médios dos testes cutâneos e das IgE específicas e aumento dos valores médios das IgG específicas, variações estas que se não observaram no grupo controlo. No entanto é de referir a importante variabilidade individual que existe nestas avaliações; em particular nos doseamentos de IgE observaram-se desvios padrões muito elevados, registando-se menor dispersão de valores nos doseamentos de IgG específicas e menos ainda na avaliação dos diâmetros das pápulas dos testes cutâneos. As doses alergénicas necessárias para se obter uma provocação positiva nos diferentes grupos e nos

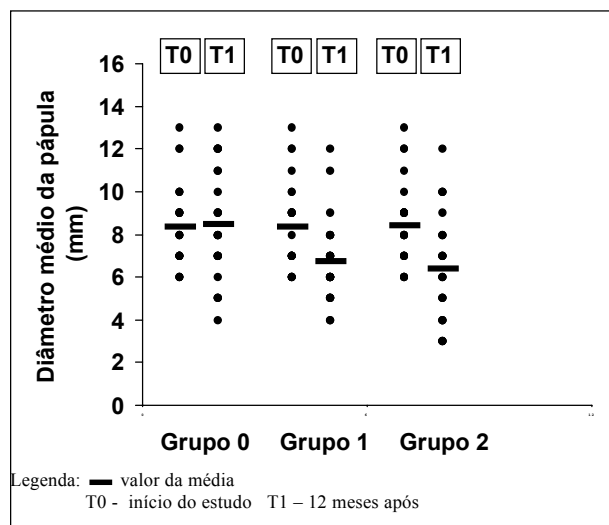


Figura 1 – Evolução dos testes cutâneos em picada

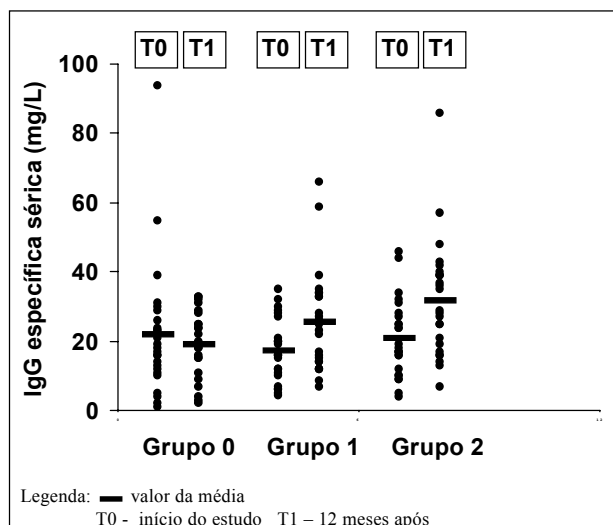


Figura 3 – Evolução dos valores de IgG específica sérica

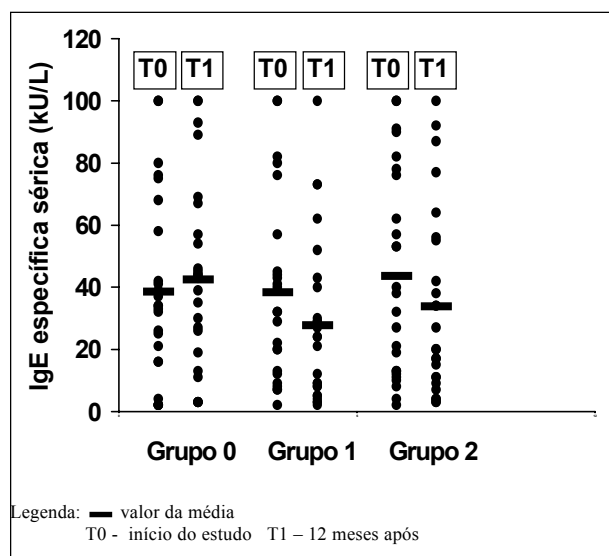


Figura 2 – Evolução dos valores de IgE específica sérica

dois tempos estão representadas na Figura 4.

Na evolução dos testes cutâneos (Figura 1) verificou-se que no grupo controlo é igual o número de doentes que aumenta ou que diminui de forma relevante (> 20%) o diâmetro médio da

pápula dos testes cutâneos, facto que reflecte a não existência de tratamento etiológico de fundo, que interfira com a sensibilização ou com a intensidade dos fenómenos IgE. Por outro lado, nos grupos sob ITE, é claramente maior o número de doentes com diminuição relevante dos resultados dos testes cutâneos (40% e 64% nos

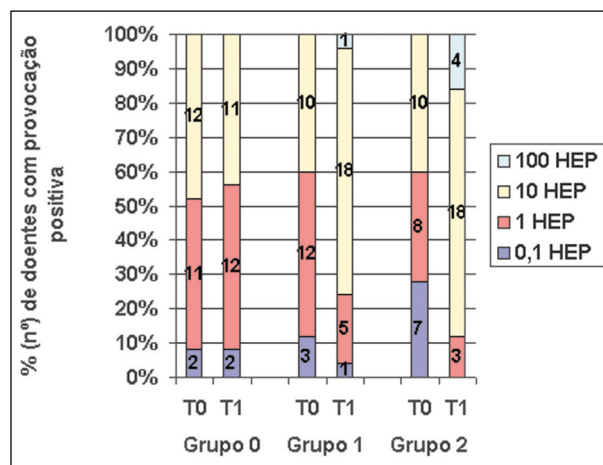


Figura 4 – Evolução dos limiares alérgénicos de positividade da provocação nasal

grupos 1 e 2, respectivamente) do que o número de doentes com agravamento da sensibilização alérgica (8% e 4% nos grupos 1 e 2, respectivamente), avaliada por este método. Em termos médios verificou-se uma redução dos diâmetros das pápulas de 24% no grupo 2 *versus* 19% no grupo 1, enquanto o grupo controlo apresenta um aumento de 1%, relativamente aos diâmetros das pápulas dos testes cutâneos iniciais.

Relativamente à IgE específica para *Dermatophagoides pteronyssinus* (Figura 2) verificaram-se diminuições médias de 27 e de 22% nos grupos 1 e 2, respectivamente, enquanto o grupo controlo apresentou um aumento médio de cerca de 10%. Considerando relevante uma variação superior a 20% em relação aos valores iniciais verificou-se que no grupo controlo ocorreram diminuições relevantes em 28% dos doentes mas 56% apresentaram um aumento superior a 20% dos seus níveis basais de IgE específica sérica. Ao contrário nos grupos sob ITE verificou-se uma clara preponderância do número de doentes que reduziram de forma relevante os níveis de IgE sérica (72% e 64% nos grupos 1 e 2, respectivamente) em relação aos que apresentaram incremento relevante desses valores (12 e 24% nos grupos 1 e 2, respectivamente).

Em relação à IgG específica para *Dermatophagoides pteronyssinus* (Figura 3) verificaram-se aumentos médios de 47% e de 54% nos grupos 1 e 2, respectivamente, enquanto o grupo controlo apresentou uma diminuição média de 13%. Considerando relevante uma variação superior a 20% em relação aos valores iniciais, 28% dos doentes do grupo controlo tiveram aumentos relevantes mas 24% apresentaram reduções relevantes dos seus níveis de IgG específica sérica. Ao contrário, nos grupos sob ITE verificou-se predomínio do número de doentes com aumentos relevantes dos níveis de IgG específica sérica (60% e 68% nos grupos 1 e 2, respectivamente) em relação ao número de doentes com

reduções relevantes desses valores (20 e 16% nos grupos 1 e 2, respectivamente).

No que diz respeito às doses alérgicas necessárias para se obter uma provocação nasal (Figura 4), verificou-se que no grupo controlo não existiu praticamente nenhuma variação nos limiares alérgicos de provocação, enquanto nos grupos 1 e 2 houve um nítido aumento do número de doentes que tolerou concentrações alérgicas mais elevadas. Em particular no grupo 2, registou-se o completo desaparecimento das positividade nas concentrações alérgicas mais baixas (0,1 HEP/ml), aparecendo 4 doentes com positividade apenas nas concentrações alérgicas máximas (100 HEP/ml).

Nas Tabelas I e II apresentam-se os resultados da avaliação estatística comparativa entre os diversos grupos e diversos parâmetros, no início e fim do estudo, estando representados a negrito os valores de $p < 0,01$. Na Tabela III estão as correlações entre as evoluções dos três parâmetros avaliados e a evolução das doses alérgicas necessárias para se obter uma provocação nasal positiva. Verifica-se a existência de boa correlação entre os valores de testes cutâneos e IgE específicas séricas, no entanto é apenas a evolução de testes cutâneos que se correlaciona com significado estatístico ($p < 0,001$) com a evolução dos limiares alérgicos de provocação nasal.

DISCUSSÃO

É interessante que apesar de existir, no presente estudo, uma boa correlação entre os resultados dos testes cutâneos e os doseamentos séricos de IgE específica ($r=0,689$ com $p < 0,001$), é só na avaliação efectuada por testes cutâneos que se registaram reduções significativas dos valores médios dos diâmetros das pápulas, quando se comparam os doentes do grupo controlo com os submetidos a ITE ($p=0,04$ na comparação entre

TABELA I – Avaliação estatística inter-grupos						
	INÍCIO DO ESTUDO			APÓS 12 MESES		
	G0 vs G1	G0 vs G2	G1 vs G2	G0 vs G1	G0 vs G2	G1 vs G2
Testes Cutâneos	NS	NS	NS	p=0,04	p=0,008	NS
IgG específica	NS	NS	NS	NS	p=0,006	NS
IgE específica	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Limiar alérgico	NS	NS	NS	p=0,02	p<0,001	NS
Legenda: NS – não significativo (p> 0,05)						

TABELA II – Avaliação estatística intra-grupos			
	Grupo 0	Grupo 1	Grupo 2
	T0 vs T1	T0 vs T1	T0 vs T1
Testes Cutâneos	NS	p<0,001	p<0,001
IgG específica	NS	p=0,033	p=0,007
IgE específica	NS	p=0,027	p=0,014
Limiar alérgico	NS	p=0,013	p=0,005
Legenda: NS – não significativo (p> 0,05)			

grupo controlo e grupo 1; $p=0,008$ na comparação entre grupo controlo e grupo 2). Esta maior sensibilidade dos testes, relativamente à IgE específica (cuja comparação intergrupos não revelou diferenças significativas), na avaliação de doentes alérgicos e da sua evolução sob ITE, tem

também sido advogada por outros autores¹³⁻¹⁶.

As reduções dos diâmetros das pápulas dos testes cutâneos e dos níveis séricos de IgE específica têm significado estatístico quando se comparam, dentro de cada grupo, os valores iniciais com os valores de um ano. No entanto, se

TABELA III – Correlações entre as evoluções dos diferentes parâmetros (*r* de Pearson e *rho* de Spearman)

	Testes cutâneos	IgE específica	IgG específica	Limiares provocação
Testes cutâneos	<i>r</i> = 1,0	<i>r</i> = 0,689	<i>r</i> = -0,206	<i>rho</i> = 0,369
IgE específica		<i>r</i> =1,0	<i>r</i> = -0,213	<i>rho</i> = 0,198
IgG específica			<i>r</i> = 1,0	<i>rho</i> = -0,194
Limiares provocação				<i>rho</i> = 1,0

considerarmos $p < 0,01$ como limite de significância, é só nos testes cutâneos que encontramos este nível de significância estatística. Por outro lado, e como foi referido, não existem nas IgE específicas diferenças significativas quando se efectua a comparação entre os grupos activos e o grupo controlo, ainda que se tenha verificado no grupo controlo uma ligeira subida (cerca de 10%) dos valores médios de IgE específica para *Dermatophagoides pteronyssinus*. Assim, podemos concluir que após 12 meses de ITE, e mesmo com um esquema de progressão rápida de doses, as diferenças nos doseamentos de IgE específica sérica só são significativas na comparação dentro de cada um dos grupos terapêuticos e usando métodos estatísticos para medições repetidas, não sendo possível documentar diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controlo. Aliás, alguns estudos recentes com ITE de curta duração com pólenes^{5,17}, fungos¹⁸ ou ácaros⁹ demonstraram igualmente uma significativa redução da sensibilidade alérgica avaliada por testes cutâneos, sem qualquer redução significativa dos níveis de IgE específica sérica.

Relativamente às IgG específicas encontramos uma situação intermédia. Dentro de cada grupo,

as diferenças entre o início e fim do estudo foram significativas nos dois grupos sob ITE, à semelhança do que se verificou com a IgE específica. Contudo, na avaliação da IgG específica para *Dermatophagoides pteronyssinus* foi possível encontrar, aos 12 meses, diferenças significativas entre grupo controlo e grupo 2 ($p=0,006$). Em vários estudos já anteriormente referidos^{3-5,9,10,17,18}, também são referidas variações significativas da IgG ou IgG4 específicas após períodos curtos de ITE, sendo a IgG4, para alguns autores, o parâmetro mais válido para a monitorização *in vitro* da eficácia deste tipo de tratamento¹⁹.

No nosso trabalho foi apenas na avaliação da evolução dos testes cutâneos que se encontrou correlação significativa com a evolução dos limiares de provocação alérgica nasal, muito embora essa correlação não seja muito forte ($\rho = -0,369$).

A diferente intensidade da acção imunológica da ITE sobre os testes cutâneos e sobre a IgE específica que encontrámos no nosso estudo pode traduzir uma interferência mais precoce com mecanismos que contribuam para a estabilização da membrana mastocitária do que a interferência com linfócitos T no sentido de diminuir a síntese

de IL-4 ou IL-13 e assim diminuir a síntese de IgE específica. A este respeito são extremamente interessantes alguns trabalhos que mostram a possibilidade da ITE interferir com vários aspectos da doença alérgica, não directamente relacionados com a IgE ou sua síntese, como a apoptose celular de linfócitos Th2 no contacto com o alergénio *in vitro*²⁰ ou trabalhos em que as melhorias clínicas induzidas pela ITE se correlacionaram com a diminuição dos níveis de IL-5 e não com a diminuição dos níveis de IL-4²¹.

Relativamente aos limiares alergénicos de positividade na provocação nasal, a redução da reactividade nasal específica após provocação é um parâmetro objectivo que é frequentemente utilizado em estudos de avaliação de eficácia da ITE. Em vários estudos utilizando extractos de ácaros administrados sob a forma de vacinas aquosas ou vacinas adsorvidas com hidróxido de alumínio ou com outros materiais demonstrou-se um decréscimo significativo da reactividade nasal específica, quer por as mesmas doses alergénicas originarem menos alterações, quer por serem necessárias maiores doses alergénicas para induzir alterações definidas como positivas^{5,22-27}. Em alguns desses estudos, para além das diferenças significativas verificadas nos doentes sob ITE, demonstraram-se também diferenças significativas em relação a doentes que integravam os grupos placebo. De forma semelhante, no presente trabalho documentou-se claramente, após 12 meses de ITE, o aparecimento de diferenças entre grupos, que não existiam no início do estudo. No entanto, só no grupo sob doses mais elevadas (grupo 2) é que se verificam, em relação ao grupo controlo, diferenças muito significativas ($p < 0,001$), uma vez que, aos 12 meses, a diferença entre grupo controlo e grupo 1, embora significativa, tem um valor de $p = 0,02$.

Na comparação entre a administração de doses mais elevadas ou menos elevadas de alergénio, os resultados que obtivemos relativamente aos três

parâmetros analisados mostram-nos alguns resultados interessantes e que nos devem servir de alerta contra interpretações abusivas. É verdade que em ambos os grupos 1 e 2 se observam variações estatisticamente significativas quando comparados os valores iniciais e finais dentro de cada grupo, não havendo quaisquer diferenças significativas na evolução dos doentes do grupo controlo. É também verdade que os resultados mostram não existirem diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos nas várias avaliações. Daqui poder-se-ia aparentemente concluir que ambos os tratamentos são igualmente eficazes e claramente diferentes em relação ao grupo controlo, que não apresentou quaisquer indicadores de eficácia imunológica. No entanto, é também verdade que se utilizarmos um limite de significância estatístico de $p < 0,01$, é apenas entre o grupo 2 e o grupo controlo que existem diferenças significativas nos testes cutâneos, IgG específica e na avaliação dos limiares alergénicos de provocação nasal. Tais resultados devem assim alertar-nos para a necessidade de exercer sempre um juízo crítico atento, relativamente às variações imunológicas após determinadas intervenções, não analisando apenas as evoluções dentro de cada grupo de tratamento, mas efectuando sempre análise estatística comparativa entre valores individuais obtidos nos doentes dos grupos controlo e grupos terapêuticos, no início e no final do estudo.

De forma semelhante, um trabalho recente em 28 doentes submetidos a ITE com extracto alergénico de gato em três dosagens diferentes²² mostrou diferenças na evolução de testes cutâneos e de IgG4 específica, reforçando-se o benefício imunológico da utilização de doses alergénicas mais elevadas já que nesse trabalho só as doses mais elevadas é que apresentaram diferenças estatisticamente significativas (considerando significativo um valor de $p < 0,01$) relativamente ao placebo.

CONCLUSÃO

Numa fase precoce da ITE (1 ano) com extracto alergénico de *Dermatophagoides pteronyssinus*, verificou-se que a avaliação por testes cutâneos permite evidenciar diferenças significativas entre os grupos tratados com ITE e os doentes do grupo controlo, ao contrário do que sucede com os doseamentos de IgE específica, revelando-se assim os testes cutâneos como um marcador mais precoce do que a IgE específica, relativamente ao benefício da imunomodulação da ITE. Além dessa maior precocidade, é apenas na evolução dos testes cutâneos que se encontra correlação estatisticamente significativa com a evolução dos limiares de provocação alergénicos. A IgG específica só apresenta diferenças entre o grupo controlo e o grupo que efectuou ITE em doses elevadas, apresentando nesta comparação elevada significância estatística, o que reforça o benefício da utilização de doses alergénicas elevadas na ITE.

BIBLIOGRAFIA

1. Van-der-Zee JS, Aalberse RC. The role of IgG in immediate-type hypersensitivity. *Eur Respir J Suppl.* 1991;13:91-6.
2. Platts-Mills T, Vaughan J, Squillace S, Woodfolk J, Sporik R. Sensitisation, asthma and a modified Th2 response in children exposed to cat allergen: a population based cross-sectional study. *Lancet.* 2001;357(9258):752-6.
3. Mungan D, Misirligil Z, Gurbuz L. Comparison of subcutaneous and sublingual immunotherapy in mite-sensitive patients with rhinitis and asthma – a placebo controlled study. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1999;82:485-90.
4. La Rosa M, Ranno C, André C, Carat F, Tosca MA, Canonica GW. Double-blind placebo-controlled evaluation of sublingual-swallow immunotherapy with standardized *Parietaria judaica* extract in children with allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;104:425-29.
5. Leynadier F, Banoun L, Dollois B, Terrier P, Epstein M, Guinnee MT, Firon D, Traube C, Fadel R, Andre C. Immunotherapy with a calcium phosphate adsorbed five grass pollen extract in seasonal rhinoconjunctivitis: a double blind placebo controlled study. *Clin Exp Allergy.* 2001; 31:988-96.
6. Muro MD, Tabar AI, Lizaso MT, Quirce S, Polo F, Garcia BE. Cluster versus conventional immunotherapy in patients allergic to *Dermatophagoides pteronyssinus*: a controlled study of in vivo and in vitro parameters. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 1999;9:146-54.
7. Wuthrich B, Gumowski PL, Fah J, Hurlimann A, Deluze C, Andre C, Fadel R, Carat F. Safety and efficacy of specific immunotherapy with standardized allergenic extracts adsorbed on aluminium hydroxide. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2001;11:149-56.
8. Ariano R, Kroon AM, Augeri G, Canonica GW, Passalacqua G. Long-term treatment with allergoid immunotherapy with *Parietaria*. Clinical and immunologic effects in a randomised, controlled trial. *Allergy.* 1999;54:313-9.
9. Basomba A, Tabar AI, de Rojas DH, Garcia BE, Alamar R, Olaguibel JM, del prado JM, Martin S, Rico P. Allergen vaccination with a liposome-encapsulated extract of *Dermatophagoides pteronyssinus*: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;109:943-8.
10. Olsen OT, Larsen KR, Jacobsen L, Svendsen UG. A 1-year, placebo-controlled, double-blind house-dust-mite immunotherapy study in asthmatic adults. *Allergy.* 1997;52:853-9.
11. Malling HJ, Weeke B. EAACI Position paper: Immunotherapy. *Allergy.* 1993;48 (suppl 14):7-35.
12. Dreborg S, Frew AJ. EAACI Position Paper: Allergen standardization and skin tests. *Allergy.* 1993; 48(suppl. 14):48-82.
13. Bahceciler NN, Isik U, Barlan IB, Basaran MM. Efficacy of sublingual immunotherapy in children with asthma and rhinitis: a double-blind, placebo-controlled study. *Pediatr Pulmonol.* 2001;32:49-55.
14. Baldacci S, Omenaas E, Oryszczyn MP. Allergy markers in respiratory epidemiology. *Eur Respir J.* 2001; 17 :773-90.
15. Drachenberg KJ, Wheeler AW, Stuebner P, Horak F. A well tolerated grass pollen specific allergy vaccine containing a novel adjuvant, monophosphoryl lipid A, reduces allergic symptoms after only four preseasonal injections. *Allergy.* 2001;56:498-505.
16. Niederberger V, Stubner P, Spitzauer S, Kraft D, Valenta R, Ehrenberger K, Horak F. Skin test results but not serology reflect immediate type respiratory sensitivity: a study performed with recombinant allergen molecules. *J Invest Dermatol.* 2001;117:848-51.
17. Drachenberg KJ, Heinzkill M, Urban E, Woroniecki SR. Efficacy and tolerability of short-term specific immunotherapy with pollen allergoids adjuvanted by monophosphoryl lipid A (MPL) for children and adolescents. *Allergol Immunopathol (Madrid).* 2003; 31:270-7.
18. Criado Molina A, Guerra Pasadas F, Daza Munoz JC et al. Immunotherapy with an oral *Alternaria* extract in childhood asthma. Clinical safety and efficacy and effects on in vivo and in vitro parameters. *Allergol Immunopathol (Madrid).* 2002;30:319-30.
19. Oehling AK, Sanz ML, Resano A. Importance of IgG4 determination in in vitro immunotherapy follow-up of inhalant allergens. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 1998;8:333-9.
20. Guerra F, Carracedo J, Solana-Lara R, Sanchez-Guijo P, Ramirez R. Th2 lymphocytes from atopic patients treated with immunotherapy undergo rapid apoptosis after culture with specific aller-

- gens. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107:647-53.
21. Kakinoki Y, Ohashi Y, Nakai Y, Washio Y, Nasako Y, Tanaka A, Nakai Y. Allergen induced mRNA expression of interleukin-5, but not of interleukin 4 and interferon gamma, in peripheral blood mononuclear cells obtained before the pollen season predicts the clinical efficacy of immunotherapy for seasonal allergic rhinitis. *Scand J Immunol*. 2000;51:202-8.
 22. Saraclar Y, Sekerel BE, Kalayci O, Adalioglu G, Tucer A. The effect of house dust mite specific immunotherapy on cisteinyl leukotriene production by blood leukocytes in subjects with perennial allergic rhinitis and asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 1998;8:98-104.
 23. Marcucci F, Sensi LG, Caffarelli C, Cavagni G, Bernardini R, Tiri A, Riva G, Novembre E. Low-dose local nasal immunotherapy in children with perennial allergic rhinitis due to *Dermatophagoides*. *Allergy*. 2002;57:23-8.
 24. McHugh SM, Lavelle B, Kemeny DM, Patel S, Ewan PW. A placebo-controlled trial of immunotherapy with two extracts of *Dermatophagoides pteronyssinus* in allergic rhinitis, comparing clinical outcome with changes in antigen-specific IgE, IgG and IgG subclasses. *J Allergy Clin Immunol*. 1990;86:521-31.
 25. Ewan PW, Alexander MM, Snape C, Ind PW, Agrell B, Dreborg S. Effective hyposensitization in allergic rhinitis using a potent partially purified extract of house dust mite. *Clin Allergy*. 1988;18:501-8.
 26. Corrado OJ, Pastorello E, Ollier S, Cresswell L, Zanussi C, Ortolani C, Incorvaia A, Fugazza A, Lovely JR, Harris RI. A double-blind study of hyposensitization with an alginate conjugated extract of *D. pteronyssinus* (Conjuvac) in patients with perennial rhinitis. *Allergy*. 1989; 44:108-15.
 27. Blainey A, Philips M, Ollier S, Davies R. Hyposensitization with a tyrosine adsorbed extract of *Dermatophagoides pteronyssinus* in adults with perennial allergic rhinitis. *Allergy*. 1984;39:521-8.
 28. Ewbank PA, Murray J, Sanders K, Curran-Everett D, Dreskin S, Nelson HS. A double-blind, placebo-controlled immunotherapy dose-response study with standardized cat extract. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111:155-61.

Tratamento de Imunodeficiências Primárias por Deficiência predominante de Anticorpos – Protocolo de seguimento

Treatment of Predominantly Antibody Primary Immunodeficiency Diseases

Emilia Faria^{1*}, Susana Silva^{2*}, Teresa Español³

¹ *Assistente de Imunoalergologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra e Consultor de Imunodeficiências Primárias no Hospital Pediátrico de Coimbra*

² *Interna de Imunoalergologia da Unidade de Imunoalergologia - Hospital de Santa Maria.*

³ *Pediatra - Chefe da Unidade de Imunologia - Hospital de Vall d'Hebron - Barcelona*

* *Protocolo realizado na sequência do estágio efectuado nas Unidade de Imunologia e nas Consultas Imunodeficiências do Hospital de Vall d'Hebron.*

Resumo

As imunodeficiências primárias (IDP) por défice predominante de anticorpos são as IDP mais frequentes.

Apresentam fenótipos muito diversos, com espectro de manifestações clínicas muito variável que pode atrasar o diagnóstico.

O seguimento destes doentes implica na maioria dos casos, a instituição a longo prazo de terapêutica substitutiva com gamaglobulina intravenosa ou subcutânea. A dose terapêutica com gamaglobulina deve ser ajustada a cada doente com o objectivo de manter os níveis de IgG superiores a 500mg/dl.

Apresenta-se um protocolo, elaborado a partir da experiência partilhada no estágio efectuado no Hospital de Vall d'Hebron. Inclui-se as doses, forma de administração de GGIV, reacções adversas e medidas de avaliação clínica e laboratorial da sua eficácia e eventual iatrogenia.

São referidas as principais complicações associadas a este tipo de IDP: infecciosa, envolvendo diversos sistemas e outras menos frequentes como doenças autoimunes, neoplásicas e linfoproliferativas.

O diagnóstico precoce e instituição terapêutica adequada são factores determinantes na evolução clínica, qualidade de vida e prognóstico destes doentes.

Palavras-chave: **Imunodeficiências primárias, Terapêutica com Gamaglobulina, Complicações da Deficiência Primária de anticorpos, Protocolo de Seguimento, Sobrevida.**

Summary

Primary Immunodeficiency Diseases (PID) with predominant antibody deficiency are the most frequent PID's.

Diagnosis may be delayed by the great diversity of clinical and immunological phenotypes that have been described in association with PID's.

The most frequent management of these patients is based on long term substitution therapy with intravenous or subcutaneous gammaglobulin. The dose required for adequate gammaglobulina substitution therapy should be adapted to the needs of the individual patient with the objective to maintaining the IgG level higher than 500mg/dl.

The authors present a guideline proposal, carried out after the training in Vall d'Hebron Immunodeficiency Unit Hospital. The gammaglobulin monitoring, mode of administration, adverse reactions were evaluated. The efficacy and iatrogenic effect were evaluated by clinical and immunological parameters.

Pulmonary and intestinal infections are the most frequent complications in these patients. Others less frequent such as autoimmune, neoplastic and linfoproliferative complications are also discussed.

Early diagnosis and adequate therapy are the most important factors regarding clinical evolution, quality of life and prognosis of these patients.

Key-words: **Primary immunodeficiency diseases, Gammaglobulin treatments, Primary antibody deficiency complications, Guideline proposal, Follow-up, Survival.**

1-INTRODUÇÃO

As Imunodeficiências Primárias (IDP) com deficiência predominante de anticorpos são as mais frequentes. A classificação e diagnóstico das IDP é actualizada regularmente pelo comissão científica de IDP da OMS¹⁻³. A classificação e as principais características das IDP com deficiência predominante de anticorpos estão referidas no quadro I.

Assiste-se nos últimos anos à identificação de distintos fenótipos e das diferentes mutações genéticas neste grupo de IDP nomeadamente na

Imunodeficiência Comum Variável (IDCV), no Síndrome de Hiper-IgM e Agamaglobulinémia⁴⁻⁸.

2 - TERAPÊUTICA SUBSTITUTIVA COM GAMAGLOBULINA

2.1. Indicações

A administração regular de gamaglobulina intravenosa (GGIV) ou subcutânea (GGSC) é a base do tratamento das IDP com predomínio de deficiência de anticorpos.

Quadro I – Principais características das Imunodeficiências primárias com deficiência predominante de anticorpos				
	Igs séricas (IgG, IgA, IgM)	n °de Linf. B	Hereditariedade	Patologia associada
Hipogamaglobulinémia transitória da infância	Diminuição IgG e IgA	Normal	Defeito da diferenciação: atraso da maturação da função helper	<i>Alguns casos:</i> Infecções ORL e/ou pulmonares nos primeiros anos de vida
Deficiência selectiva de IgA	Ausência ou acentuada diminuição da IgA1 e IgA2	Normal	Indeterminada	<i>Alguns casos:</i> Doenças alérgicas Doenças autoimunes Infecções ORL e/ou pulmonares
Deficiência de subclasse IgG	Diminuição de um ou mais isotipos IgG	Normal	Defeitos na diferenciação do isotipo IgG	<i>Alguns casos:</i> Infecções ORL e/ou pulmonares
Imunodeficiência Comum Variável	Diminuição de IgG e IgA com IgM normal ou diminuída	Normal ou diminuído	Indeterminada	Diferentes fenótipos incluem doenças distintas (Infecções recorrentes moderadas a graves)
Agamaglobulinémia: Ligada X ou Autossómica recessiva	Diminuição todas as Igs	0 ou muito baixo	Mutação btk Mutação genes cadeias α ou β de Igs ou outras	Infecções bacterianas graves
<i>Outras mais raras:</i> - Deficiência de Anti-corpos com Igs normais - Deficiência de AID “activation induced cytidine deaminase” (variante da Síndrome de Hiper-IgM)				

Deve ser ponderada em todos os casos de IDP com comprovada deficiência de anticorpos associada ou não a alterações funcionais da imunidade celular T^{1,4,9}. Está contra-indicada na deficiência selectiva de IgA.

Os casos de deficiência de IgA, hipogamaglobulinémia transitória da infância ou deficiência de subclasses IgG não têm indicação para

gamaglobulina, excepto nos doentes com infecções recorrentes e comprovada deficiência de anticorpos⁹. Deve efectuar-se o tratamento durante pelo menos 6 meses e, 3 meses após da sua suspensão, reavaliar a resposta na produção de anticorpos após vacinação¹⁰.

Esta terapêutica está ainda indicada em alguns casos de imunodeficiência secundária grave⁹.

Os métodos de purificação e inactivação viral actualmente utilizados na preparação das diferentes formas de gamaglobulina, permite minimizar o risco de transmissão de doenças infecto-contagiosas, nomeadamente hepatite B, C e HIV ¹¹. Tem sido recentemente discutida a possibilidade de transmissão transfusional de pirões humanos ¹².

2.2. Dose, frequência e velocidade de administração de GGIV

A dose e frequência de administração devem ser ajustadas em cada caso, com o objectivo de atingir níveis basais de IgG superiores a 500 mg/dL e, deste modo, diminuir a frequência e gravidade das infecções, o número de hospitalizações e retardar o agravamento da função pulmonar ^{9, 13}. Vários estudos têm comprovado o benefício clínico acrescido de altas doses de GGIV (adultos 600mg/kg/4 semanas, crianças 800mg/kg/4 semanas) comparativamente a doses normalmente recomendadas (adultos 300 mg/kg/4 semanas, crianças 400mg/kg/4 semanas) sem agravamento dos efeitos secundários ¹⁴. Demonstrou-se que é necessário doses mais elevadas para prevenir a colonização bacteriana das bronquiectasias e o aparecimento de infecções não bacterianas, particularmente por enterovirus. Em doentes com agamaglobulinémia demonstrou-se o efeito protector na recorrência das infecções com níveis basais de IgG sérica superiores a 800 mg ¹³.

Não há consenso em relação à velocidade de perfusão. Em geral recomenda-se uma velocidade de perfusão mais baixa nos primeiros 30 minutos de cada tratamento (0,5mg/kg/min) e aumento progressivamente da velocidade de perfusão até ao máximo de 4 ml/minuto ¹⁵.

2.3. Reacções adversas

As reacções adversas durante o tratamento com GGIV são raras, sendo mais frequentes as reacções ligeiras comparativamente às anafiláticas. Nas séries publicadas encontra-se uma incidência de reacções adversas ligeiras entre 0,8 a 15%. Esta incidência diminui quando são excluídos factores de risco como: infecção concomitante, tratamento inicial, intervalo de tempo decorrido desde a última infusão superior a 6 semanas, infusão demasiado rápida, presença de anticorpos anti-IgA e preparado de GGIV a temperaturas baixas no momento da perfusão ^{9, 15}.

São referidas por ordem decrescente de frequência: febre, tremores, cefaleias, tonturas, reacção vasomotora, rash, prurido, náuseas, vómitos, mialgias e dor torácica. Estão descritos casos raros de reacções graves como: meningite asséptica, trombose cerebral, insuficiência renal e pulmonar ou anemia hemolítica, com doses muito superiores das recomendadas normalmente na IDP ⁹.

2.4. Gamaglobulina subcutânea (GGSC)

A administração de GGSC no domicílio é prescrita com frequência nos países Escandinavos e Reino Unido desde os anos 80. A dose recomendada é de 100mg/kg/semana, injectada na parede abdominal ou coxa, através de uma bomba infusora, a uma velocidade de 0,05-0,2 ml/kg/hora ou 1-3ml/hora. Apresenta vantagens, relativamente à forma intravenosa, pela maior comodidade para o doente e diminuição dos efeitos adversos sistémicos ¹⁶. A eficácia e segurança são sobreponíveis em relação à administração intravenosa com a vantagem de se conseguir manutenção de níveis séricos de IgG mais constantes ^{9, 17}.

Recomenda-se esta forma terapêutica nos

doentes que vivem longe de um centro hospitalar, com acesso venoso é difícil ou com antecedentes de reacções graves com GGIV ⁹.

3- Eventuais complicações em doentes com IDP com predominante deficiência de anticorpos

O tratamento adequado com gamaglobulina permite diminuir a gravidade e frequência das infecções e a incidência de complicações.

O tipo e a gravidade das complicações estão relacionados com a IDP em causa e a presença de lesões irreversíveis na altura do diagnóstico. A grande maioria dos casos de deficiência selectiva de IgA é assintomática, necessitando apenas de vigilância de eventual patologia alérgica ou autoimune e de doseamento esporádico de imunoglobulinas pois, poderá raramente, evoluir para IDCV.

As infecções recorrentes, nomeadamente sinopulmonares e gastrointestinais, são as complicações mais frequentes. De realçar que a ausência de serologia positiva (IgM e IgG) não exclui infecção activa, pelo grave compromisso na produção de anticorpos que caracteriza estas doenças.

Tem sido atribuído um risco aumentado de patologia linfoproliferativa ¹⁸, neoplásica ¹⁹, autoimune ^{20, 21} e neurológica ^{22, 23} comparativamente à população geral. Estas complicações devem ser investigadas na presença de sinais de alerta, pois a sua evolução é importante na sobrevida dos doentes. A infecção pulmonar crónica, linfoma e carcinoma são as principais causas de morte nas IDCV, parecendo existir uma maior incidência de linfomas no sexo feminino e de carcinoma gástrico no sexo masculino ⁷.

3.1. Patologia respiratória

As infecções sinopulmonares recorrentes, bronquiectasias e deterioração progressiva da função pulmonar são as principais complicações pulmonares encontradas na IDCV, tanto em idade pediátrica ²⁴ como em adultos ²⁵.

Os agentes infecciosos identificados, por ordem decrescente de frequência, são: *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Mycoplasma*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Aspergillus fumigatus* ⁵.

Têm-se demonstrado na IDCV diminuição significativa da incidência de pneumonia nos doentes sob terapêutica regular com GGIV (N1). A terapêutica antimicrobiana deve ser prescrita o mais precocemente possível e orientada pela sensibilidade aos antibióticos da cultura de expectoração.

Na presença de doença pulmonar crónica medidas de drenagem postural, incluindo cinesioterapia respiratória, use de flutter e ainda terapêutica broncodilatadora, deve ser efectuada regularmente ⁹.

A administração profiláctica de antibióticos tem mostrado vantagens a longo prazo, na diminuição das infecções graves, na necessidade de hospitalização e na deterioração da função pulmonar ^{9, 26}. Não há, no entanto, consenso em relação às indicações de antibioterapia profiláctica, pela inexistência de estudos prospectivos controlados com placebo nas imunodeficiências primárias ²⁵. A profilaxia para pneumonia por *Pneumocystis carini* é recomendada em doentes com compromisso da função celular T como no caso, do Síndrome de Hiper IgM ⁹.

3.2. Patologia gastrointestinal

Encontra-se uma incidência elevada de queixas gastrointestinais na IDCV e deficiência selectiva

de IgA. Entre as principais causas de diarreias crónicas salienta-se causas infecciosas por *Giardia lamblia*, *Campylobacter pilory*, *Cryptosporium*, doença celíaca e doença inflamatória intestinal crónica nomeadamente doença de Crohn ou colite ulcerosa. A hiperplasia nodular linfoide ou a gastrite atrófica, frequentes na IDCV, poderão justificar quadros de mal absorção ⁷.

3.3. Doenças linfoproliferativas

As doenças linfoproliferativas mais frequentes nos doentes com agamaglobulinémia e IDGV são: linfomas não-Hodgkin de células B, seguido de linfomas Hodgkin ¹⁸. A suspeita clínica obriga à realização de biopsia ganglionar ou medular. O diagnóstico histológico exige a observação atenta por um anatomopatologista com experiência em IDP. A infecção crónica induz estimulação linfática, hiperplasia linfoide atípica e alterações da estrutura ganglionar que associada a hipoplasia ou ausência dos centros germinativos torna difícil o diagnóstico diferencial com linfomas ^{7, 18}.

3.4. Neoplasias sólidas

O carcinoma do estômago é a neoplasia mais frequente nos doentes com IDCV. Com menor frequência encontram-se casos de carcinoma do cólon, sobretudo na agamaglobulinémia, carcinoma do útero, ovário ou próstata ¹⁹. É discutível o interesse do doseamento regular de anticorpos antitumorais no rastreio do cancro.

3.5. Doenças autoimunes

Várias doenças autoimunes são descritas em mais de 25% dos doentes com deficiência selectiva de IgA, IDCV ou Hiper IgM ^{20,21}. Encon-

tramos com maior frequência: Doença celíaca, Citopénias, Anemia e trombopenia associada - Síndrome de Evans ²⁷ e, em casos mais raros, Artrite reumatóide e Lúpus eritematoso sistémico, Síndrome de Sjögren, Cirrose biliar primária, Anemia perniciosa e Hipertiroidismo ^{20, 21}.

3.6. Outras complicações raras

Estão descritos casos de patologia neurológica na agamaglobulinémia e com menor frequência em doentes com IDCV ^{22,23}. A meningoencefalite cónica é a complicação neurológica a mais grave. Estão referidos na literatura casos de mielopatia progressiva, retinopatia, perda auditiva neurosensorial, dermatomiosite, poliomiosite e atrofia cerebral. A infecção a enterovirus (mais frequentemente ecovírus) é provavelmente a principal causa de patologia no sistema nervoso central nestes doentes ^{22,23}. Outros vírus têm sido identificados pelo que, na presença de forte suspeita clínica, se recomende a pesquisa por PCR de herpes tipo 1 e 6, CMV, EBV, HTLV, parvovirus, varicela e micoplasma.

A doença granulomatosa sistémica pode ocorrer com frequência associada a esplenomegalia e adenomegalias. Os doentes apresentam-se em geral assintomáticos, não exigindo tratamento específico. A esplenomegalia pode condicionar o aparecimento de citopenias por sequestro. A detecção de granulomas não caseosos no pulmão, baço, pele ou fígado pode sugerir o diagnóstico de sarcoidose e retardar o diagnóstico de IDP ²⁸.

Estão descritos casos raros de infiltrados sistémicos linfocitárias de células T com grave compromisso da função pulmonar e/ou digestiva ²⁹.

4 - PROTOCOLO DE SEGUIMENTO DE DOENTES COM DEFICIÊNCIA PREDOMINANTE DE ANTICORPOS

Não está publicado um protocolo consensual no seguimento das crianças ou adultos com IDP por deficiência de anticorpos. É a experiência clínica que permite uma actuação terapêutica mais eficaz e o diagnóstico precoce de eventuais complicações. A avaliação das complicações exige, logicamente, a colaboração de uma equipa multidisciplinar.

O contacto com os clínicos do Hospital de Vall d'Hebron, com experiência em IDP há mais de 20 anos, a troca de experiências e a observação dos procedimentos diagnósticos e de seguimento, permitiu a elaboração deste protocolo que assenta nos seguintes pontos:

a) Diagnóstico correcto:

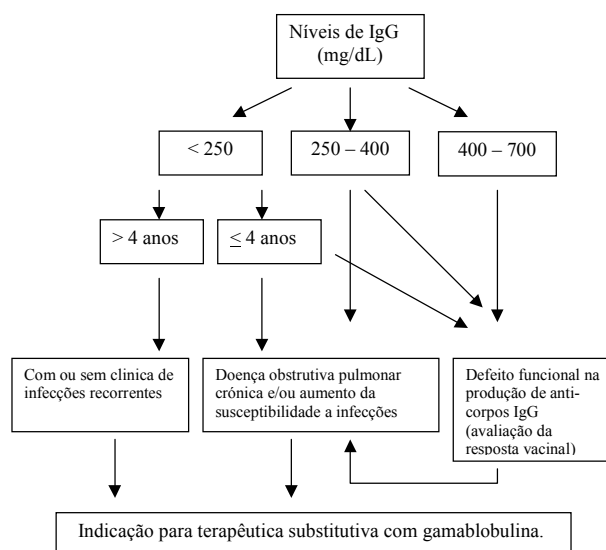
Efectuado com base na caracterização clínica e imunológica, em que se demonstra uma Imunodeficiência Primária com compromisso da produção de anticorpos. As variações dos níveis séricos de IgG total são os indicadores mais importantes para terapêutica substitutiva com gamaglobulina (Quadro II).

b) Avaliação pré tratamento com GGIV:

- Avaliação clínica e exame objectivo (incluindo peso e altura).
- Avaliação laboratorial: hemograma com fórmula leucocitária, bioquímica completa, doseamento de imunoglobulinas, velocidade de sedimentação e anticorpos antinucleares.
- Ag para hepatite B e HIV1 e PCR para vírus da hepatite C.
- Pesquisa de ovos, quistos e parasitas nas fezes.
- Estudo Funcional Ventilatório
- Estudo imagiológico: TAC torácica de alta resolução e TAC abdominal.

Quadro II – Indicações para terapêutica substitutiva com gamaglobulina em relação à gravidade da hipogamaglobulinémia e níveis séricos de IgG.

(Adaptado de Wolf H.M. ESID Educational Symposium 2002)



c) Dose a administrar:

Primeira administração de GGIV: 300 mg a 400mg/kg repetida nas 2 semanas subseqüentes e seguida de doseamento de IgG, 21 dias após o 3º tratamento. Se atingiu uma concentração de IgG superior a 600mg, efectuar novo tratamento 3 semanas depois.

No caso de lactente com infecção activa preconiza-se na primeira administração 150mg/kg/semana, devendo o intervalo de administração ser ajustado em relação com a gravidade do quadro clínico e níveis de IgG obtidos pré-tratamento.

Administrações seguintes: ajustar a dose ao caso clínico, com o objectivo de manter uma dose basal de IgG sérica superior a 500mg/dl, podendo a dose de GGIV variar entre 200-600mg/kg em cada 3 ou 4 semanas.

Deve ser dada particular atenção aos casos mais graves: agamaglobulinémia, doença pulmonar crónica, diarreia crónica, doença neurológica

ou autoimune, pela eventual necessidade do aumento da dose e/ou frequência de GGIV.

Programar eventuais procedimentos cirúrgicos ou dentários na semana seguinte ao tratamento com GGIV.

É importante que em cada administração se proceda ao registo do nome e lote da GGIV administrada.

d) Velocidade de perfusão

No hospital de Vall d'Hebron administra-se GGIV a uma velocidade de perfusão de 0,5 mg/kg/minuto nos primeiros 30 minutos e, na ausência de reacções adversas, aumenta-se para 1 mg/kg/minuto até 2 mg/kg/minuto. Em geral, a infusão de imunoglobulinas decorre durante 2 a 4 horas.

e) Reacções adversas

Reacção anafiláctica: suspender de imediato a perfusão e administrar terapêutica com anti-histamínicos, corticoides e eventualmente adrenalina. A perfusão deve ser reiniciada uma semana depois e se possível optar por fórmulas de gamaglobulina com menor concentração de IgA. Efectuar-se 30 minutos antes do novo tratamento um bólus de corticoides EV (0,5mg/kg) e anti-histamínico. Recomenda-se, nos primeiros 30 minutos, uma velocidade de perfusão inferior a 0,5mg/kg/hora.

Reacções adversas ligeiras: desaparecem minutos após a suspensão da GGIV, podendo necessitar da terapêutica sintomática. Pode ser ponderada a alteração da fórmula de GGIV e eventualmente a administração profiláctica de paracetamol, ácido acetilsalicílico oral, anti-histamínico ou hidrocortisona 30 minutos antes da retomar a perfusão.

f) Avaliação clínica e analítica antes de cada perfusão com GGIV:

Clínica: Tipo e frequência de infecções, recurso a antibioterapia, alteração do estado geral, investigação de alteração da sintomatologia respiratória, digestiva, articular, pre-

sença de alterações neurológicas, adenomegalias ou organomegalias.

Laboratorial: Hemograma com fórmula leucocitária, transaminases e doseamento de imunoglobulinas. Se aumento das transaminases deve ser efectuado o doseamento de antigénio da hepatite B e PCR para vírus da hepatite C.

g) Realizar anualmente:

- TAC torácica, Ecografia abdominal.
- Pesquisa de ovos, quistos e parasitas. Coproculturas.
- Mamografia bilateral (mulheres com idade superior a 35 anos)
- Ecografia prostática (homens com idade superior 60 anos)
- Estudo funcional ventilatório, incluindo difusão alveolo-capilar.

h) Na presença de sintomatologia sugestiva de patologia associada, deve ser efectuada investigação complementar:

- Alterações do sistema nervoso central como alterações do comportamento, cefaleias, encefalopatia, convulsões, alterações sensoriais, sensitivas ou motoras. Deve efectuar-se TAC crânio-encefálica, EEG, punção lombar com identificação por PCR de echovirus, citomegalovirus, herpes, varicela e adenovirus.

Nestes casos proceder ao tratamento antiviral adequado e aumentar a dose GGIV para manter os níveis de IgG superiores a 800mg/dL. Estão descritos casos onde se conseguiu a erradicação do echovirus com a administração intratecal de gamaglobulina.

- Infecção respiratória baixa:

Colheita de expectoração e cultura com antibiograma e com pesquisa de bactérias, vírus, fungos, BK e *Aspergillus*.

No caso de colonização bacteriana (mais frequentemente *Haemophilus influenza*) ou por *Pseudomonas aeruginosas* tentar

irradiação com antibioterapia profiláctica de acordo com o antibiograma.

Nos casos de colonização de bronquiectasias por *Haemophilus* efectua-se, no Hospital de Vall d'Hebron, tratamento profiláctico com azitromicina 250 a 500mg/dia durante 3 dias/semana, em semanas alternadas e depois uma vez por mês, até se conseguir a irradiação bacteriana.

- Diarreia crónica:

Avaliação de malabsorção (teste de xilose, gorduras nas fezes), coproculturas (pesquisa de *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Aeromonas*, *Candida*, *Vibrio*, *Yersinia*, *Cryptosporidium*, *Rotavirus*, *E. Coli*).

Pesquisa de ovos, quistos e parasitas, trânsito gastrointestinal e biopsia intestinal (de preferência com imunohistoquímica).

Deve ser excluída doença celíaca e outras doenças inflamatórias intestinais crónicas.

- Doenças linfoproliferativas:

No caso de alterações do estado geral, perda de peso, adenomegalias, hepatoesplenomegalia e anemia, proceder a avaliação clínica e laboratorial completa com doseamento de $\beta 2$ microglobulina e timidina quinase, mielograma, TAC torácica e abdominal e biopsia ganglionar e/ou biopsia óssea.

- Na suspeita de carcinomas do tubo digestivo ou de outra localização a investigação deve ser dirigida em função do quadro clínico.

- No caso de sintomatologia sugestiva de patologia autoimune a investigação deve ser orientada pela clínica. De referir que a ausência de autoanticorpos não exclui a possibilidade de doença autoimune, pelo que uma avaliação periódica e exclusão de causa infecciosa deve ser efectuada antes do início do tratamento. A terapêutica imunossupressora pode ser efectuada sendo recomendado nestes casos o aumento das

doses de IGIV para manter os níveis de IgG acima dos 800 mg/dl.

i) Outras recomendações:

Recomendam-se cuidados gerais de higiene corporal e de evicção do contacto com indivíduos infectados.

A vacinação com organismos vivos atenuados (varicela, polio oral, sarampo, rubéola, tosse convulsa e BCG) está contra-indicada nos casos de IDP grave como na IDCv, Agamaglobulinémia e todos os casos com deficiência completa da resposta humoral. Não há consenso em relação às vacinas de organismos inactivados ou toxoides. Alguns autores recomendam o cumprimento do calendário vacinal nos casos em que a função imunológica celular T está intacta enquanto outros clínicos, como acontece no Hospital de Vall d'Hebron não efectuam qualquer tipo de vacinas nestes doentes.

A terapêutica substitutiva com GG permite o aumento da sobrevivência, da melhoria da qualidade de vida destes doentes e minimiza as restrições associadas a eventuais complicações. O aumento da sobrevivência vai, no entanto, aumentar o risco de patologias associadas pelo que a vigilância periódica é fundamental. As formas de IDP de transmissão genética identificadas beneficiam de aconselhamento genético e eventual diagnóstico pré-natal.

Agradecimentos

Ao Dr. JM Bertrán da Unidade de Imunologia Infantil, Serviço de Pediatria e Dr. A Alvarez e Dr. X De Gracia da Consulta de Imunodeficiências Primárias, Serviço de Pneumologia do Hospital Geral de Val'Hebron, Barcelona, pela oportunidade que lhes proporcionaram de assistir regularmente às consultas e pela frutuosa discussão de casos clínicos.

BIBLIOGRAFIA

1. Primary Immunodeficiency Diseases. Report of IUIS PID Group. *Clin Exp Immunol.* 1999; 118 (Suppl. 1): 1-28.
2. Chapel H, Geha R, Rosen F for the IUIS PID Classification Committee. Primary immunodeficiency diseases: an update. *Clin Exp Immunol.* 2003; 132: 9-15.
3. www.esid.org
4. Ballou M. Primary immunodeficiency disorders: Antibody deficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 109: 581-91.
5. Bonilla F, Geha RS. Primary immunodeficiency diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 111: S571- S81.
6. Ochs HD, Smith CIE, Puck JM. Primary Immunodeficiency diseases. A molecular and genetic approach. Oxford U. Press 1999.
7. Cunningham-Rundles C, Bodian Carol. Common Variable Immunodeficiency: Clinical and Immunological Features of 248 patients. *Clin Immunol.* 1999; 92: 34-48.
8. Warnatz K, Denz A, Dräger R et al. Severe deficiency of switched memory B cells (CD27+IgM-IgD-) in subgroups of patients with common variable immunodeficiency: a new approach to classify a heterogeneous disease. *Blood.* 2002; 99: 1544-51.
9. Stiehm ER. Conventional Therapy of Primary Immunodeficiency Diseases In Ochs HD, Smith CIE, Puck JM ed. Primary Immunodeficiency Diseases. A Molecular and Genetic Approach. Oxford U. Press 1999: 448-58.
10. Rodrigo MJ, Vendrell M, Cruz MJ, Miravittles et al. Utility of the Antibody Response to a Conjugated Haemophilus influenza Typeb B Vaccine for Diagnosis of Primary Humoral Immunodeficiency. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 162: 1462-5.
11. Chapel HM. Safety and availability of immunoglobulin replacement therapy in relation to potentially transmissible agents. *Clin Exp Immunol.* 1999; 118: 29-34.
12. Llewelyn CA, Hewitt PE, Knight RSG et al. Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion. *Lancet.* 2004; 363: 417-21.
13. Quartier P, Debré M, De Blic J. et al. Early and prolonged intravenous immunoglobulin replacement therapy in childhood agammaglobulinemia: A retrospective survey of 31 patients. *J Pediatr.* 1999; 134: 589-96.
14. Eijkhout HW, van der Meer JWM, Kallenberg CGM et al. The effect of two different dosages of intravenous immunoglobulin on the incidence of recurrent infections in patients with Primary Hypogammaglobulinemia. *Ann Intern Med.* 2001; 135: 165-74.
15. Brennan VM, Salomé-Bentley NJ, Chapel HM. Prospective audit of adverse reactions occurring in 459 primary antibody-deficient patients receiving intravenous immunoglobulin. *Clin Exp Immunol.* 2003; 133: 247-51.
16. Hansen S, Gustafson R, Smith CI, Gardulf A. Express subcutaneous IgG infusions: decreased time of delivery with maintained safety. *Clin Immunol.* 2002; 104: 237-41.
17. Chapel HM, Spickett GP, Ericson D, Engl W, Eibl MM, Björkander J. The comparison of the efficacy and safety of intravenous versus subcutaneous immunoglobulin replacement therapy. *J Clin Immunol.* 2000; 20: 94-100.
18. Gompels MM, Hodges E, Lock RJ et al. Lymphoproliferative disease in antibody deficiency: a multi-centre study. *Clin Exp Immunol.* 2003; 134: 314-20.
19. Møllekjær L, Hammarström L, Andersen V et al. Cancer risk among patients with IgA deficiency or common variable immunodeficiency and their relatives: a combined Danish and Swedish study. *Clin Exp Immunol.* 2002; 130: 495-500.
20. Cunningham-Rundles C. Hematologic complications of primary immune deficiencies. *Blood Rev.* 2002; 16: 61-4.
21. Arkwright PD, Abinun M, Cant AJ. Autoimmunity in human primary immunodeficiency diseases. *Blood.* 2002; 99: 2694-702.
22. Ziegner UHM, Kobayashi RH, Cunningham-Rundles C, Español T et al. Progressive Neurodegeneration in Patients with Primary Immunodeficiency Disease on IVIG Treatment. *Clin Immunology.* 2002; 102: 19-24.
23. Rudge P, Webster ADB, Revesz T, Warner T, Español T, Cunningham-Rundles C and Hyman N. Encephalomyelitis in primary hypogammaglobulinaemia. *Brain.* 1996; 119: 1-15.
24. Llobet MP, Bertrán JM, Español T. Inmunodeficiencia común variable en la edad pediátrica. *Allergol et Immunopathol.* 2002; 30 (1): 42-6.
25. Busse PJ, Razvi S, Cunningham-Rundles C. Efficacy of intravenous immunoglobulin in the prevention of pneumonia in patients with Common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 109: 1001-4.
26. Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and Management of Pulmonary Infections in Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 168: 918-51.
27. Seve P, Pavic M, Malcus C, Le Scannff J, Gomard E, Broussolle C. Common variable immunodeficiency and Evans's syndrome. *Rev Med Interne.* 2004; 25: 96-7.
28. Spickett GP. Current perspectives on common variable immunodeficiency (CVID). *Clin Exp Allergy.* 2001; 31: 536-42.
29. Katial RK, Lieberman MM, Muehlbauer SL, Lust JA, Hamilos DL. Gama delta T lymphocytosis associated with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol.* 1997; 17: 34-42.

Dermatite endógena induzida pela ingestão de níquel. A propósito de dois casos clínicos

Nickel induced endogenous dermatitis. Two cases report

Isabel Carrapatoso ¹, Graça Loureiro ², Carlos Loureiro ³, Emília Faria ¹,
Ana Todo-Bom ³, Celso Chieira ⁴.

Serviço de Imunoalergologia. Hospitais Universidade de Coimbra.

¹ *Assistente de Imunoalergologia*

² *Interna de Especialidade de Imunoalergologia*

³ *Assistente Graduado de Imunoalergologia*

⁴ *Director de Serviço de Imunoalergologia*

Resumo

A sensibilização ao níquel representa uma das principais causas de dermatite de contacto alérgica. Um número significativo de doentes apresenta lesões cutâneas, em locais que não estão em contacto directo com este metal. Nos últimos anos a influência do conteúdo em níquel da dieta na evolução da dermatite ao níquel tem merecido particular atenção.

Descrevem-se os casos de duas doentes com dermatite de contacto ao níquel em que, apesar da evicção total do contacto com este metal, persistiam lesões de dermatite eczematosa, predominando nas zonas de maior sudação. Com a exclusão da dieta de alimentos com alto teor em níquel observou-se uma redução progressiva da intensidade do eczema, conducente ao desaparecimento total das lesões. As doentes foram, então, submetidas a prova de provocação oral com sulfato de níquel. Na primeira doente estudada observou-se aparecimento de eritema, prurido e reacção eczematosa, generalizados, doze horas após a ingestão de 20 mg de sulfato de níquel. Concomitantemente verificou-se a ocorrência de eritema pruriginoso e pequenas vesículas, no local de aplicação do *patch* teste ao níquel. No segundo caso a reactivação da dermatite ocorreu seis horas após a ingestão de 10 mg de sulfato de níquel. A manutenção de dieta restritiva em alimentos com alto teor em níquel permitiu o desaparecimento total da dermatite e estabilização clínica que se mantém desde há 6 meses.

O diagnóstico de dermatite endógena induzida pela ingestão de níquel foi demonstrado através da realização de prova de provocação oral. A excreção de níquel através do suor parece

ser relevante. A redução da ingestão diária de níquel, permitindo a menor concentração deste elemento no suor poderá explicar a melhoria da dermatite, particularmente, nas zonas cutâneas de maior sudação.

Palavras-chave: Dermatite endógena, níquel, prova de provocação oral.

Abstract

Nickel is one of the most common causes of allergic contact dermatitis. A considerable number of nickel sensitive patients have dermatitis at sites that are not in direct contact with nickel. In recent years, particular attention has been paid to the influence of dietary nickel on the clinical course of nickel-induced dermatitis.

We report the cases of two adult females with nickel contact dermatitis and positive patch tests to nickel sulphate that have eczema lesions in sweating areas in spite of totally avoiding any contact with nickel. After a restrictive diet of foods with high content of nickel the eczema gradually decreased in intensity and the skin lesions finally disappeared.

In order to investigate the diagnosis of endogenous nickel induced dermatitis, these patients underwent an oral challenge test to nickel sulphate. After the intake of either 10 mg or 20 mg of nickel sulphate the patients had a relapse of the eczema with widespread itching. In the first patient tested, the reaction occurred twelve hours after ingestion of 20 mg and we also observed a reactivation of eczema at nickel patch test site. In the second patient the reaction occurred six hours after the intake of 10 mg. With a nickel restrictive diet the eczema cleared up and no more flare-ups occurred for a period of 6 months.

The diagnosis of nickel induced endogenous dermatitis was confirmed by oral challenge test. Nickel concentration in sweat is high. Sweating may provide an important route for the excretion of nickel. Reduction of daily intake of nickel could be related to less excretion, which may explain the clearing-up of the eczema in sweating areas after a restrictive diet.

Key words: Endogenous dermatitis, nickel, oral challenge test.

INTRODUÇÃO

A sensibilização ao níquel representa uma das principais causas de dermatite de contacto alérgica com taxas de prevalência que variam de 7 a 10%¹. A vasta utilização deste metal na composição de numerosos objectos de uso quotidiano, tais como utensílios de cozinha, botões, fechos metálicos, óculos e pulseiras de relógio, contribui para uma sensibilização significativa². A alergia ao níquel é mais comum no sexo feminino, com uma prevalência aproximada de 15-20%. Esta maior

prevalência está, provavelmente, relacionada com a utilização frequente de brincos e outras peças de adorno que permite um contacto íntimo e continuado do níquel com a pele^{2,3}. O início da dermatite de contacto ao níquel ocorre, com maior frequência, na segunda década de vida⁴.

Em 1975, Christensen et al. descreveram a existência de um número considerável de doentes com dermatite de contacto ao níquel que apresentavam lesões cutâneas, em zonas sem contacto directo com este metal. Consideraram este tipo de eczema como secundário, admitindo

Tabela 1 - Dados relativos à anamnese e exame objectivo das doentes estudadas.

	Idade	Sexo	Profissão	Distribuição e caracterização das lesões	Factores desencadeantes/agravantes	Antecedentes pessoais de atopia
Doente 1	32	F	Secretária	Eritema, prurido e/ou lesões eczematosas ao nível das pálpebras, axilas, região periumbilical, mãos, face interna das coxas e flexuras dos joelhos.	Ocorrência de episódios agudos com a ingestão de atum, sardinha, vinagre, tomate e enlatados. Agravamento após refeições ricas em leguminosas e sementes e frutos secos.	Não
Doente 2	22	F	Chefe de cozinha	Eritema, prurido e/ou lesões eczematosas ao nível do pescoço, flexuras do antebraço, mãos, região periumbilical, flancos e face interna das coxas.	Ocorrência de episódios agudos com a ingestão de tomate, crustáceos e frutos secos. Agravamento após ingestão de sumos de frutas ácidas e leguminosas.	Sim Dermatite atópica

que a ingestão de níquel poderia ser responsável pela sua ocorrência ⁵. Vários estudos publicados por outros autores têm corroborado esta observação. Nas diversas descrições, as lesões eczematosas apresentam caracteristicamente uma distribuição simétrica surgindo, com maior frequência, nas pálpebras, no pescoço, nas regiões flexoras dos braços e antebraços, nas regiões interdigitais, nas palmas das mãos, nas virilhas e face interna das coxas, nas fossas poplíteas e plantas dos pés. Esta dermatite foi designada por alguns autores como Pseudoatopia de Shannon ¹. A distribuição simétrica, e frequentemente extensa, do eczema foi relacionada com a introdução sistémica do níquel no organismo. Este metal é absorvido através da pele, por inalação, por via parentérica e por ingestão ^{1,3}.

Outros quadros clínicos, tais como dermatite papulovesicular eritematosa crónica e urticária, foram posteriormente relacionados com a presença do níquel nos alimentos⁶.

DOENTES, MÉTODOS E RESULTADOS

Foram estudadas duas doentes de 32 e 22 anos, com o diagnóstico prévio de dermatite de contacto ao níquel. Apesar de cumprirem evicção total do contacto com este metal apresentavam, persistentemente, lesões de eczema generalizado, com distribuição simétrica e predominando em zonas de maior sudação. Na tabela 1 representam-se os dados relativos à anamnese e ao exame objectivo das duas doentes. A doente 2 apresentava antecedentes de dermatite atópica com início da sintomatologia aos 12 anos de idade. Na tabela 2 indicam-se os resultados mais relevantes do estudo efectuado em consulta geral de Imunoalergologia. A bateria de aeroalergénios testada incluiu extractos de *Dermatophagoides pteronyssinus*, *farinae* e *microceras*, *Acarus siro*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, Gato, Cão, *Blatella germanica*, *Dactylis glomerata*, *Festuca pratensis*, *Lolium perene*, *Phleum pratensis*,

Tabela 2- Resultados dos testes cutâneos de alergia (*prick* e *patch*) e das determinações de IgE específica, efectuados nas doentes.

	Testes cutâneos por picada a aeroalergénios comuns- ALK-Abelló ® (pápula em mm)	IgE sérica específica Unicap Pharmacia® (KU/L)	Testes cutâneos de contacto*European Standard Serie Chemotechnique diagnostics ®
Doente 1	Histamina- 7 mm Aeroalergénios: negativos		Dicromato de potássio- + Tiuram mix- ++ Sulfato de níquel- ++
Doente 2	Histamina- 8 mm Aeroalergénios: <i>Dermatophagoides pteronyssinus (Dp)</i> - 8 mm <i>Dermatophagoides farinae(Df)</i> - 8 mm <i>Dermatophagoides microceras</i> - 8 mm <i>Acarus siro</i> - 5 mm	<i>Dp</i> > 100 (classe 6) <i>Df</i> - 70.0 (classe 5)	Dicromato de potássio- + Sulfato de níquel- +++
* Testes cutâneos de contacto. Leitura às 72 horas: +- Reacção de eritema e edema ++- Reacção exuberante de eritema, edema, pápulas e vesículas de pequeno diâmetro +++- Reacção extrema com eritema, edema, pápulas e vesículas de grandes dimensões (reacção bolhosa)			

Secale cereale, Triticum sativum, Poa pratensis, Parietaria judaica, Artemisia vulgaris, Plantago lanceolata, Chaenopodium album, Olea europea, Corylus avelana, Robinia pseudoacacia, Tilia cordata, Betula pubescens, Quercus robur, Pinus radiata e látex. Como controlo positivo foi utilizado cloridrato de histamina (10 mg/ml) e como controlo negativo, uma solução glicero-salina.

Foram realizados testes cutâneos de contacto, utilizando a bateria *standard* da série europeia ². Procedeu-se a leitura às 48 e 72 horas (tabela 2), com graduação dos resultados de acordo com os critérios definidos pelo Grupo Internacional de Estudo das Dermatites de Contacto ⁷. As duas doentes apresentaram sensibilização ao níquel (figura 1).

A ocorrência de episódios de exacerbação da dermatite, desencadeados após as refeições, conduziu a orientação para consulta diferenciada de alergia alimentar. Foram efectuados testes cutâneos de alergia a bateria extensa de alergénios

alimentares (Leti ®) e doseamentos de IgE sérica específica a alimentos suspeitos de precipitarem agravamento das lesões (tabela 3). A bateria de alergénios alimentares incluiu peixes e mariscos (pescada, salmonete, linguado, sardinha, peixe galo, tamboril, atum, besugo, bacalhau, lula, camarão, gamba, caranguejo, lagosta, mexilhão, amêijoia, ostra), verduras diversas e leguminosas (alface, couve, alho, cebola, pimento, tomate, feijão verde, nabo, grão, soja, ervilha, louro, pimenta), frutos (laranja, limão, ananás, kiwi, pêra, morango, pêssego, maçã, ameixa, cereja, melão, melancia, manga, banana) e sementes/ frutos secos (avelã, pinhão, amendoim, amêndoa, semente de girassol, castanha, noz, pistachio). Os resultados dos testes a alimentos foram negativos (tabela 3).

A existência de dermatite de contacto ao níquel, a distribuição das lesões de dermatite com carácter simétrico predominando nas zonas de maior sudação e a relação com a ingestão de alimentos contendo níquel (tabela 4) levou a

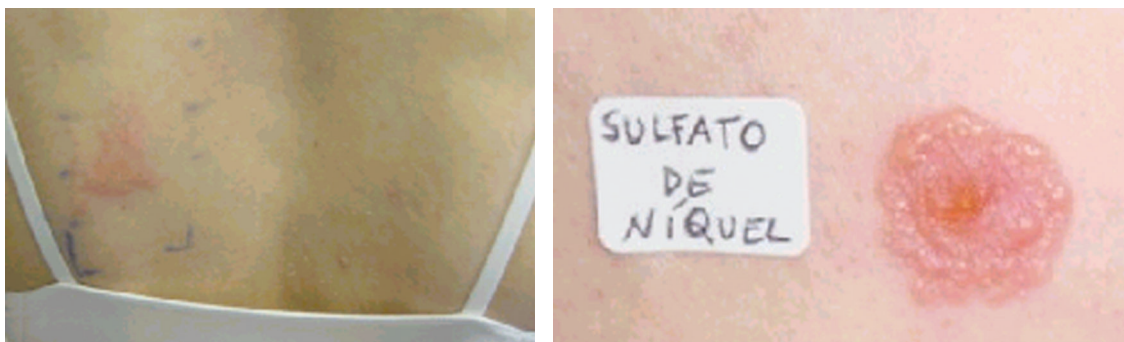


Figura 1. Testes cutâneos de contacto ao sulfato de níquel correspondentes às doentes 1 e 2



Figura 2. Eritema pruriginoso desencadeado na *doente 1*, 12 horas após ingestão de cápsula de 20 mg de sulfato de níquel.

admitir como provável a existência de dermatite induzida pela ingestão deste metal.

Foi aconselhada a realização de uma dieta restritiva em alimentos com alto teor em níquel, tendo sido fornecida às doentes uma lista de alimentos a evitar. Programaram-se duas reavaliações respectivamente após um período de quatro e seis semanas.

Com a exclusão da dieta de alimentos com alto

teor em níquel observou-se uma redução progressiva da intensidade do eczema, conducente ao desaparecimento total das lesões. Foi proposta, então, a realização de prova de provocação oral com sulfato de níquel. Após preenchimento de consentimento informado as doentes foram submetidas, em regime de internamento, a prova de provocação com ocultação simples e controlada por placebo. Utilizaram-se cápsulas comercializadas de sulfato de níquel nas concentrações de 10 e 20 mg (Test dose Lofarma®).

Na primeira doente observou-se a ocorrência de eritema ao nível da região periumbilical, com prurido intenso, 12 horas após ingestão de cápsula de 20 mg sulfato de níquel (figura 2). Concomitantemente, surgiu reacção eritematosa, com prurido e vesículas, no local onde se tinha aplicado o *patch test* ao níquel, dois meses antes (figura 3).

Na segunda doente, a reactivação da dermatite surgiu ao nível do pescoço, flexuras dos punhos, regiões interdigitais, região periumbilical e flancos (figura 4). Esta reacção ocorreu 6 horas após a ingestão de 10 mg de sulfato de níquel.

A manutenção de dieta restritiva em alimentos com alto teor em níquel permitiu, nas duas doentes, o desaparecimento total da dermatite e estabilização clínica que se mantém desde há 6 meses.

Tabela 3 - Resultados dos testes cutâneos e doseamentos de IgE específica a alimentos		
	Testes cutâneos por picada a alimentos - Leti® (pápula em mm)	IgE sérica específica Unicap Pharmacia® (KU/L)
Doente 1	Histamina- 7 mm	Tomate < 0,35 (classe 0)
	Alergénios alimentares: negativos	Multi-alimentos:
		Fx1 < 0,35 (classe 0)
		Fx2 < 0,35 (classe 0)
		Fx13 < 0,35 (classe 0)
Doente 2	Histamina- 8 mm	Tomate < 0,35 (classe 0)
	Alergénios alimentares: negativos	Multi-alimentos:
		Fx1 < 0,35 (classe 0)
		Fx2 < 0,35 (classe 0)
		Fx13 < 0,35 (classe 0)
		Rfx21 < 0,35 (classe 0)
Fx1 -Amendoim, Avelã, Noz Brasil, Amêndoa, Côco; Fx2 -Atum, Bacalhau, Camarão, Mexilhão azul, Salmão; Fx13 - Batata, Cenoura, Ervilha, Feijão Branco; Rfx21 - Kiwi, Melão, Banana, Pêssego, Ananás.		



Figura 3. Doente 1: Eritema pruriginoso e pequenas vesículas desencadeados após prova de provocação oral, no local de aplicação do *patch* teste ao níquel (2 meses antes).

DISCUSSÃO

Lesões de dermatite distribuídas extensamente e relacionadas com a ingestão de níquel, em doentes com dermatite de contacto ao níquel, têm sido descritas na literatura desde a década de 70^{5,6,8,9}. Várias formas clínicas são possíveis, tais como dermatite papulovesicular eritematosa crónica, urticária, dermatite liquenóide e reactivação de lesões de dermatite de contacto, em zonas sem contacto directo com níquel. Caracteristicamente, as lesões apresentam uma distribuição simétrica, predominando nas pálpebras, no pescoço, nas regiões flexoras dos membros e na face interna das coxas¹.

As duas doentes estudadas apresentavam uma

Tabela 4 - Alimentos com alto teor em níquel ou que podem agravar a dermatite induzida pela ingestão de níquel.

Fruta fresca:

Peras, Cerejas, Pêssegos, Bananas

Todos os Frutos Secos e Passas de Fruta

Leguminosas:

Soja, Amendoim, Ervilhas, Feijões

Verduras/Hortícolas:

Espargo, Salsa, Cebola, Alface, Cogumelos, Couves, Espinafre, Tomate

Todos os Cereais

Produtos lácteos:

Soro lácteo, Queijos, Margarina

Peixes:

Arenque, Atum, Sardinha, Cavala

Crustáceos:

Lagosta, Camarão, Caranguejo, Ostras, Mexilhão

Molhos para saladas:

Ketchup, Vinagre, Soja

Bebidas:

Café, Chá, Cacau, Sumos de fruta (sobretudo frutos ácidos), Vinho, Cerveja

Outros alimentos:

Fermento em pó, Todos os alimentos enlatados, Vegetais conservados, Todos os alimentos cozinhados em utensílios de níquel



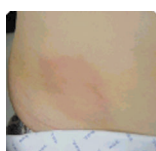
4 A



4 B



4 C



4 D



4 E



4 F

Figura 4. Doente 2: Reactivação da dermatite, 6 horas após a ingestão de 10 mg de sulfato de níquel.

4A- Pescoço: região antero-lateral; 4B- Região flexora do punho esquerdo; 4C- Mão esquerda; 4D- Flanco direito; 4E- Região periumbilical e flancos; 4F- Flanco esquerdo.

história anterior de dermatite de contacto ao níquel, sendo a sensibilização a este metal demonstrada através da realização de testes epicutâneos ao sulfato de níquel. A distribuição das lesões, simétricas e generalizadas, persistindo mesmo após a total evicção do contacto com níquel, levaram-nos a admitir, como provável, uma relação com a ingestão deste metal. Contudo, as doentes referiam prurido intenso acompanhado de eritema nos primeiros 60 minutos após a ingestão de alguns alimentos. Esta observação levou-nos, numa primeira abordagem, a efectuar testes cutâneos e determinações de IgE específica aos alimentos suspeitos, para exclusão de uma alergia alimentar, dependente de um mecanismo de hipersensibilidade imediata.

A regressão completa das lesões, ao fim de seis semanas, cumprindo dieta restritiva em alimentos com alto teor em níquel, apoiou a hipótese formulada inicialmente. Esta observação está de acordo com resultados descritos por outros autores ^{8,9,10,11}. Salienta-se, também, que os alimentos referidos pelas doentes como desencadeantes ou agravantes da dermatite estão identificados nesse grupo ou são responsabilizados pela exacerbação de dermatite dependente da ingestão de níquel ^{1,3,12,13}.

A quantidade de metal absorvida depende da capacidade individual de absorção e do conteúdo deste, nos alimentos ingeridos.

Foi demonstrado que os vegetais são a principal fonte de níquel na dieta ¹². Numa dieta convencional, os principais aportes são os cereais e as leguminosas, seguidos dos produtos lácteos e frutos ¹.

Nos alimentos de origem vegetal, o conteúdo em níquel é extremamente variável, resultando de uma grande diversidade da sua presença na composição dos diferentes solos. Alimentos com alto teor em níquel, independentemente dos solos onde são produzidos, incluem cereais, cacau, chá, soja, feijão vermelho, ervilhas, amendoim, avelã, semente de girassol e frutos secos. Os

vegetais são habitualmente tolerados quando cozinhados ^{3,13}.

A preparação quotidiana dos alimentos, na forma convencional, pode também conduzir a contaminação com níquel quando são utilizados utensílios que o contêm ¹⁴. Pelo mesmo motivo, o primeiro litro de água retirado pela manhã através de torneiras níqueladas não deve ser ingerido, nem utilizado na preparação dos alimentos ¹³. Estudos mais recentes parecem, contudo, negligenciar o papel da contaminação pelos utensílios utilizados na culinária já que as quantidades de níquel são muito inferiores às presentes nos alimentos ¹⁵. O perigo de contaminação durante o processamento industrial não foi ainda completamente investigado. Contudo, os alimentos enlatados e os vegetais conservados devem ser ingeridos com moderação ^{13,14}.

A prova de provocação oral com sulfato de níquel conduziu, nas duas doentes, a reactivação da dermatite, reproduzindo as lesões cutâneas nas anteriores localizações de eczema, embora de uma forma menos intensa e mais localizada. Estes resultados estão em concordância com os de outros autores ^{3,8,10,16}. A reactivação do eczema no local de aplicação do *patch* teste, observada na doente 1, após prova de provocação oral, foi também já descrita por Christensen et al. ¹⁷.

No homem, os níveis séricos de níquel variam entre 1,6 a 7 mg e os níveis urinários de 2 a 5 mg ¹. A ingestão diária, na espécie humana, é variável de país para país mas admite-se que o valor médio seja aproximadamente de 200 mg. Estima-se que a quantidade de níquel a ingerir diariamente, essencial a uma dieta equilibrada, seja de 50mg. Por outro lado, a concentração do níquel no suor é elevada, variando de 7 a 270 mg por litro. A sudção pode, assim, constituir uma importante via de eliminação deste elemento do organismo ³.

Menne et al. investigaram a excreção urinária de níquel em 4 doentes do sexo feminino, sensibilizadas a este alergénio e que apresentavam ec-

zema intermitente. Demonstraram que a excreção do níquel se encontrava mais elevada em associação com os episódios de exacerbação¹⁸. Foi, também, descrita a redução dos níveis séricos em doentes cumprindo dieta restritiva¹⁹. Estes resultados suportam a hipótese de que o eczema crónico pode ser mantido pela ingestão²⁰.

Nas doentes estudadas a redução da ingestão diária de níquel, permitindo a menor concentração deste elemento no suor poderá explicar a melhoria da dermatite, particularmente, nas zonas cutâneas de maior sudorese.

Abbeck et al descreveram em 1993, doentes em que os episódios recorrentes de urticária se relacionavam com a ingestão de níquel²¹. Adicionalmente, foi relatada a existência vasculite alérgica e eritema polimorfo crónicos dependentes de uma ingestão continuada deste metal²². Estes diferentes quadros clínicos são englobados genericamente na dermatite de contacto ao níquel de tipo sistémico.

Os mecanismos imunológicos potencialmente envolvidos nas reacções sistémicas ao níquel, em indivíduos com sensibilização prévia de contacto a este metal, têm merecido investigação pormenorizada. Christensen et al demonstraram o envolvimento de um mecanismo de hipersensibilidade de tipo IV responsável pela reactivação das lesões de eczema, no local de aplicação prévia do *patch* teste, após prova de provocação oral.¹⁷ Vein et al. detectaram a presença de anticorpos anti-níquel, após prova de provocação oral positiva, admitindo como provável a intervenção de um mecanismo de hipersensibilidade de tipo III²³. Uma reacção de hipersensibilidade imediata parece ser responsável pela ocorrência de urticária aguda¹. Contudo, as reacções cutâneas dependentes da ingestão de níquel podem não depender, exclusivamente, de reacções de hipersensibilidade. Reacções de intolerância aos sais deste metal são consideradas por vários autores e parecem resultar de efeitos celulares directos²⁴. Foi demonstrada

uma acção citotóxica sobre os macrófagos²⁵ e a desgranulação farmacológica de mastócitos e basófilos²⁶.

Mais recentemente, Di Gioacchino et al. efectuaram biópsias intestinais a doentes com dermatite endógena induzida pela ingestão de níquel, 48 h após prova de provocação oral com níquel²⁷. Encontraram um número mais elevado de linfócitos CD45RO+ na lâmina própria e epitélio e diminuição de linfócitos epiteliais CD8+, relativamente aos grupos controlo. Nas amostras de sangue, colhidas 24 h após o teste de provocação, observaram diminuição significativa de subpopulações de linfócitos CD4+, CD45RO+ e CD8+, relativamente aos grupos controlo. Concluíram que nestes doentes a ingestão de níquel estimula o sistema imune, induzindo a maturação de linfócitos T a células memória, com acumulação na mucosa intestinal. Admitiram, assim, que a dermatite endógena induzida pela ingestão de níquel poderá resultar de uma reacção de hipersensibilidade de tipo IV iniciada a nível intestinal. As células CD8+ parecem também estar envolvidas no processo, mas o seu papel está menos esclarecido.

Num futuro próximo, é provável que os mecanismos envolvidos nas reacções cutâneas ao níquel, dependentes da sua introdução sistémica no organismo humano, sejam completamente esclarecidos. No caso particular destas doentes ficou demonstrada uma relação de causa/efeito entre a ingestão de níquel e o aparecimento de lesões de dermatite. A dieta restritiva conduziu ao gradual desaparecimento do eczema. No tratamento da dermatite endógena induzida pela ingestão de níquel, a maioria dos autores recomenda o cumprimento de uma dieta restritiva, em alimentos contendo um alto teor deste metal, por um período nunca inferior a 6 meses.

BIBLIOGRAFIA

1. Purello-D'Ambrosio F, Bagnato G, Guarneri B et al. The role of nickel in foods exacerbating nickel contact dermatitis. *Allergy*. 1998; 53 (Suppl. 46): 143-5.
2. Mydlarski P, Katz A, Sauder D: Contact Dermatitis. In Middleton E, Reed C et al eds. *Allergy. Principles and Practice II*. St Louis, Mosby 5th ed, 1998; 1135-47.
3. Ricciardi L, Gangemi S, Isola S, Fogliani O, Saitta S, Purello-D'Ambrosio F. Nickel allergy, a model of food cellular hypersensitivity? *Allergy*. 2001; 56 (Suppl.67): 109-12.
4. Schollhammer M, Guillet M, Guillet G. Nickel and skin. *Ann Dermatol Venereol*. 1994; 121: 338-45.
5. Christensen O, Moller H. External and internal exposure to the antigen in the hand eczema of nickel allergy. *Contact Dermatitis*. 1975;1: 136-41.
6. Purello-D'Ambrosio F, Levanti C. Nichel e alimenti. In: *Atti del Meeting Annuale SIAIC*, Giardini Naxos, 1996; 208-16.
7. Devos SA, Van Der Valk PG. Epicutaneous patch testing. *Eur J Dermatol*. 2002; 12: 506-13.
8. Lombardi P, Campolmi P, Sertoli A. Lichenoid dermatitis caused by nickel salts? *Contact Dermatitis*. 1983; 9: 520-1.
9. Veien NK, Menne T. Nickel contact allergy and nickel-restricted diet. *Semin Dermatol*. 1990; 9: 197-205.
10. Kaaber K, Veien NK, Tjell JC. Low nickel diet in the treatment of patients with chronic nickel dermatitis. *Br J Dermatol*. 1978; 98: 197-201.
11. Pacor ML, Cortina P, Biasi D. Diet manipulations and nickel sulphate-induced contact dermatitis evaluated in 24 cases. *Recenti Prog Med*. 1992; 83: 643-5.
12. Tsoumbaris P, Tsoukali-Papadopoulou H. Heavy metals in common foodstuff: quantitative analysis. *Bull Environ Contam Toxicol*. 1994; 53: 61-6.
13. Veien NK, Andersen MR. Nickel in Danish Food. *Acta Derm Venereol*. 1986; 66:502-9.
14. Brun R. Nickel in food: the role of stainless-steel utensils. *Contact Dermatitis*. 1979; 5: 43-5.
15. Accominotti M, Bost M, Haudrechy P et al. Contribution to chromium and nickel enrichment during cooking of foods in stainless steel utensils. *Contact Dermatitis*. 1998; 38: 305-10.
16. Bezze G, Cassin E, Borghesan F, Fagiolo U. Nickel-induced allergic contact dermatitis: reactivation by oral administration of hapten. *G Ital Dermatol Venereol*. 1989;124: 351-4.
17. Christensen O, Beckstead J, Daniels T, Maibach H. Pathogenesis of orally induced flare-up reactions at old patch sites in nickel allergy. *Acta Derm Venereol*. 1985; 65:298-304.
18. Menne T, Thorboe A. Nickel dermatitis-nickel excretion. *Contact Dermatitis*. 1976; 2: 353-4.
19. Christensen JM, Kristiansen J, Nielsen NH, Menne T, Byrjalsen K. Nickel concentrations in serum and urine of patients with nickel eczema. *Toxicol Lett*. 1999;108:185-9.
20. Antico A, Soana R. Chronic allergic-like dermatopathies in nickel-sensitive patients. Results of dietary restrictions and challenge with nickel salts. *Allergy Asthma Proc*. 1999;20: 235-42.
21. Abeck D, Traenckner I, Steinkraus V, Vieluf D, Ring J. Chronic urticaria due to nickel intake. *Acta Derm Venereol*. 1993; 73: 438-9.
22. Veien NK, Krogdaki A. Is nickel vasculitis a clinical entity? In: Frosh PJ et al, editors. *Current topics in contact dermatitis*. Berlin: 1989: 172-7.
23. Veien NK, Svejgaard E, Mennè T. *In vitro* lymphocyte transformation to nickel: a study of nickel sensitive patients before and after epicutaneous and oral challenge with nickel. *Acta Derm Venereol*. 1979; 59: 447-51.
24. Antico A, Soana R, Baioni R, Livio L. Dermatopatie croniche generalizzate da intolleranza alimentare ai sali di nickel. *Minerva Gastroenterol Dietol*. 1990; 36: 165-70.
25. Gawrodger DJ, Shuttler IL, Delves HT. Nickel dermatitis and diet: clinical improvement and reduction in blood and urine nickel levels with a low nickel diet. *Acta Derm Venereol*. 1988; 68: 453-5.
26. Veien NK, Christiansen H, Svejgaard E, Kaaber K. Antibodies against nickel-albumin in rabbits and man. *Contact Dermatitis*. 1979; 5: 378-82.
27. A Di Gioacchino M, Boscolo P, Cavalluci E et al. Lymphocyte subset changes in blood and gastrointestinal mucosa after oral nickel challenge in nickel-sensitized women. *Contact Dermatitis*. 2000; 43: 206-11.

Angioedema hereditário. Atitude clínico-terapêutica

Hereditary angioedema: clinical trends and therapeutics

Ana Teresa Silva* Margarida Ferreira Trindade**

* *Interna do Internato Complementar de Imunoalergologia*

** *Chefe de Serviço de Imunoalergologia*

Unidade de Imunoalergologia, Serviço de Pneumologia Geral, Departamento de Pneumologia – Hospital de Pulido Valente

Resumo

O Angioedema Hereditário (AEH) é uma doença genética de transmissão autossómica dominante, que se manifesta pelo desenvolvimento recorrente de edema envolvendo qualquer parte do organismo, sendo potencialmente fatal.

O perfeito conhecimento da fisiopatologia desta entidade, das suas manifestações clínicas, dos métodos laboratoriais para confirmação diagnóstica, e da existência de terapêutica profilática eficaz é crucial para o acompanhamento destes doentes.

As autoras fazem uma revisão sobre o tema e ilustram-no com a exposição de dois casos clínicos.

Palavras-chave: Angioedema Hereditário, edema laríngeo, danazol.

Summary

Hereditary Angioedema is a genetically transmitted disease characterized by recurrent edema affecting any organ; it's potentially fatal.

The perfect knowledge of physiopathology, clinical manifestations and laboratorial studies supporting the diagnosis is crucial, so is the existence of an effective profilactic medication for the treatment of these patients.

The authors intend to review this scientific issue and show the experience with two families.

Key-words: Hereditary Angioedema, laryngeal edema, danazol.

INTRODUÇÃO

O Angioedema Hereditário (AEH) é uma doença genética de transmissão autossómica dominante que decorre da diminuição da actividade de C1 inibidor (C1 INH) e que se manifesta pelo desenvolvimento recorrente de edema envolvendo qualquer parte do organismo¹. A forma mais grave evolui até ao desenvolvimento de edema da glote, que é responsável por 25 % das mortes atribuíveis a esta doença.

CARACTERIZAÇÃO FISIOPATOLÓGICA

O mecanismo fisiopatológico subjacente ao desenvolvimento desta entidade clínica parece envolver simultaneamente os sistemas da quinina, complemento, coagulação e fibrinólise.

O complemento constitui uma parcela muito importante da fracção humoral do sistema imunitário e tem como principais funções: a lise de células, bactérias e vírus, a opsonização que promove a fagocitose de determinados antígenos; a ligação a receptores específicos presentes na membrana de células do sistema imunitário desencadeando a activação de respostas imunes como sejam a inflamação ou a regulação de respostas imunes específicas; e por fim o clearance imunitário pela remoção de complexos imunes da circulação com a sua deposição no baço e no fígado.

As proteínas e glicoproteínas que o compõem circulam habitualmente na sua forma inactivada, mas iniciado o processo de activação relacionam-se entre si de forma ordenada e em cascata.

Estão descritas três vias diferentes de activação do complemento: via clássica, via alterna e via da lectina, todas elas culminando na formação de um complexo de ataque às membranas (CAM), um complexo constituído por várias fracções

proteicas que se arranjam no espaço sob a forma de um poro, penetram a camada fosfolipídica da membrana celular e conduzem à destruição da célula (Figura 1).

O sistema do complemento inclui também proteínas reguladoras que permitem a inactivação de diferentes componentes, que em fase de equilíbrio se encontram inibidos. Inclui-se neste grupo a fracção inibidora do C1 (primeiro componente a ser activado, na via clássica, pelo contacto com complexos antígeno-anticorpo): C1 INH².

O factor de Hageman é um factor da coagulação, que se activa em presença de lesão endotelial; este factor tem um papel de pivot em relação aos sistemas da quinina, fibrinolítico, da coagulação, e do complemento já descrito. No seu conjunto estes sistemas interagem de forma a produzir moléculas mediadoras de inflamação, que promovem a quimiotaxia celular e provocam fenómenos de aumento da permeabilidade vascular. Neste fenómeno parece ter um papel de destaque a molécula de bradiquinina; por estímulos ainda não perfeitamente esclarecidos ocorre aumento localizado da concentração tecidual de bradiquinina que explica o facto do edema clinicamente manifesto se limitar a uma região circunscrita do organismo; para este fenómeno contribui também a diluição ocorrida no coração direito e o 'wash-out' realizado pelo pulmão, órgão muito rico em bradiquinase³.

O C1 INH inibe simultaneamente o Factor de Hageman, a Calicreína e a Plasmina (Figura 2).

ENQUADRAMENTO GENÉTICO

Mutações no gene responsável pela codificação da proteína C1 INH, localizado no cromossoma 11⁴, são a causa da ocorrência de AEH, sendo estes defeitos genéticos herdados de forma autossómica dominante. Até à data foram des-

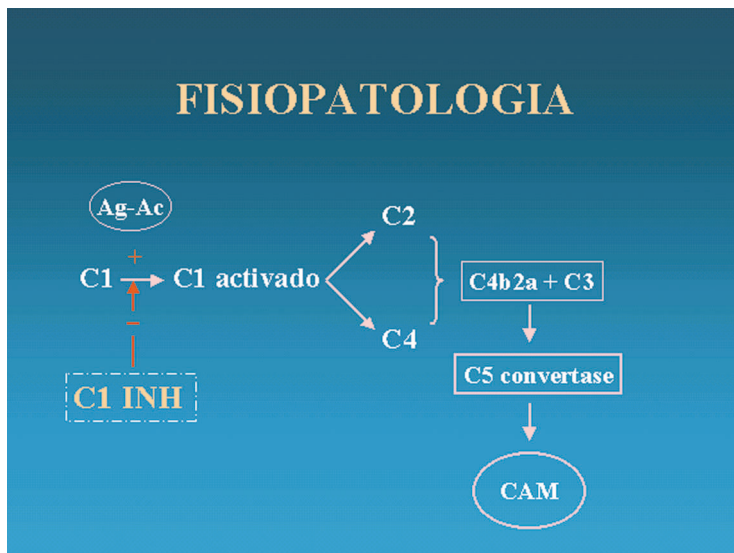


Figura 1: Inibição da via clássica do complemento

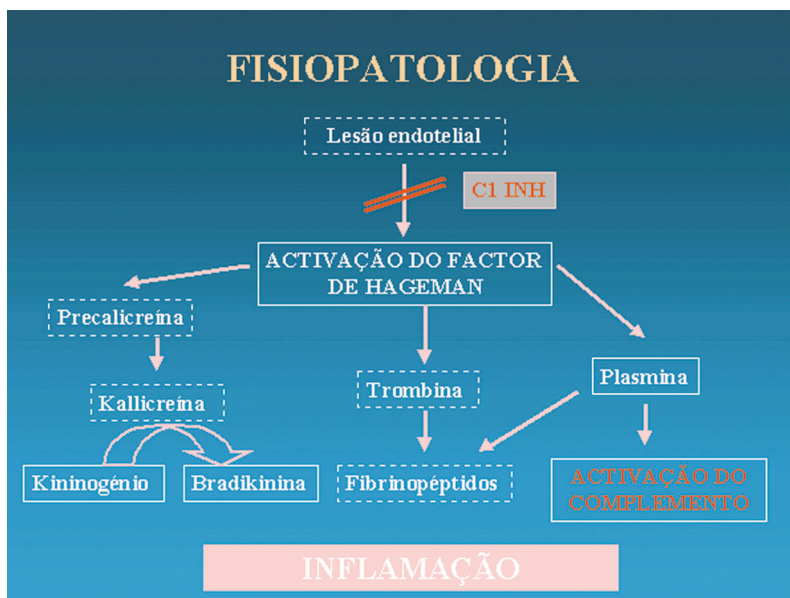


Figura 2: Sistemas do Complemento, Coagulação, Fibrinólise e Cininas.

critas 98 mutações distintas sendo possível classificá-las em dois grupos (5/6):

- 1- TIPO I: conduzem a diminuição dos níveis tituláveis de C1 INH e constituem 85% dos casos
- 2- TIPO II: o título de C1 INH produzido é normal, mas funcionalmente deficiente; ocorre nos restantes 15%

Aproximadamente 20% dos doentes, curiosamente, não apresentam história familiar da doença, pelo que esta poderá resultar de mutações recentes^{4,7}.

Pela análise dos casos de determinadas famílias há autores que sugerem a possibilidade da existência de um terceiro tipo de AEH, que se caracterizaria da seguinte forma: transmissão familiar ligada ao cromossoma X, sendo a expressão dependente do controlo hormonal; assim, surge exclusivamente em mulheres grávidas ou sob terapêutica contraceptiva com estrogénios, propondo estes investigadores a denominação alternativa de AEH estrogénio-sensível ou AEH estrogénio-dependente⁸.

Para além das formas geneticamente determinadas, também ocorrem casos de doença adquirida; uma das formas adquiridas da doença tem sido descrita em pacientes com linfoma de células B, com níveis séricos elevados de cadeias leves de IgM e reduzidos de C1 INH; nestes casos o perfil é de consumo de factores do complemento, com

níveis reduzidos de C1 e ausentes de C4, C2 e C3; o baixo título de C1 distingue esta entidade do AEH.

Também em indivíduos com doença do tecido conjuntivo (principalmente Lúpus Eritematoso Sistémico - LES) ou algum tipo de carcinoma pode-se verificar deficiência adquirida de C1 INH.

Por fim, uma última forma de défice de C1 INH tem sido descrita como resultado da síntese de auto-anticorpos (IgG) dirigidos ao C1 INH; o perfil molecular nesta condição revela níveis baixos de C4 e C1 INH e níveis de C1 dentro dos valores considerados normais⁹.

EPIDEMIOLOGIA

Há estimativas muito contraditórias quanto à prevalência destas doenças, umas indicando a existência de 1/50,000-1/150,000 (4) habitantes, outras adiantando valores na ordem de 1/1000², (ambas de fontes Norte Americanas – E.U.A.)

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Os doentes com AEH têm episódios de edema localizado, não pruriginoso, recorrente, afectando mais frequentemente regiões ricas em tecido conjuntivo laxo da face (ex: pálpebras e lábios) e das extremidades, e as mucosas do aparelho digestivo e respiratório. O envolvimento destes dois aparelhos pode resultar em eventos muito graves que condicionam obstrução da via aérea e asfixia, assim como o aparecimento de quadros de abdómen agudo por oclusão intestinal, que não raras vezes tem conduzido a laparotomia. Ocasionalmente ocorre ainda uma erupção macular eritematosa.

A elevada taxa de mortalidade associada ao AEH (cerca de 25%) deve-se exactamente à predisposição que alguns doentes e algumas famílias

têm para obstrução completa das vias aéreas por edema laríngeo^{9,10,11}.

Formas menos frequentes de apresentação incluem: retenção urinária, tosse por derrame pleural e pontada ligeira; o envolvimento do Sistema Nervoso Central por edema tecidular localizado pode-se manifestar por: cefaleias muito intensas, afasia, hemiplegia, e convulsões^{9,10}.

Estão descritos na literatura médica casos clínicos cujo modo de apresentação assumiu a forma de Síndrome de 'Distress' Respiratório do Adulto¹², ascite e dor abdominal⁴, assim como Pancreatite Aguda^{4,13}.

Um traumatismo pode desencadear uma crise – como a manipulação dentária, quedas, ou actividades tão usuais como passar a ferro ou dactilografar – assim como um stress emocional ou uma doença concomitante^{9,10,11,14}, mas nem sempre é evidente a presença de um factor desencadeante.¹

Independentemente da forma de apresentação, os primeiros episódios surgem habitualmente na infância ou nos primeiros anos da adolescência^{7,15}, podendo igualmente ocorrer pela primeira vez até à 6ª década de vida.^{15,16} (Figura 3)

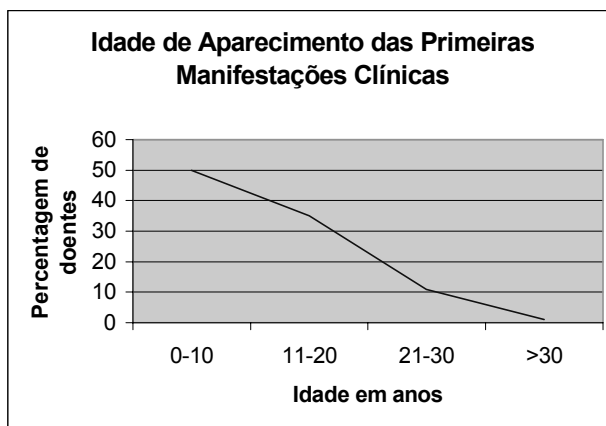


Figura 3: Idade de Aparecimento das Primeiras Manifestações Clínicas

A frequência das crises é muito variável, podendo encontrar-se doentes com episódios semanais e outros com intervalos de anos entre as suas agudizações; também não se encontram padrões que definam a localização preferencial para o desenvolvimento de angioedema: embora na maioria dos casos haja envolvimento preferencial das extremidades, face e orofaringe, há indivíduos que reportam exclusivamente sintomas abdominais¹⁰.

Habitualmente é esperado que um episódio resolva espontaneamente em 24-72 horas, mas este intervalo pode alargar-se de 4 horas – 1 semana.

Condições Associadas

Habitualmente no período menstrual do ciclo ovulatório há aumento do número de episódios de angioedema, ocorrendo o contrário durante os últimos meses de gravidez (incluindo muito curiosamente o período peri-parto), e após a menopausa.^{9,10,17}

Alguns artigos têm sido divulgados revelando um aumento da incidência de doenças autoimunes, especialmente LES, tiroidite, polimiosite e síndrome de Sjögren, entre os doentes com AEH¹⁸⁻²¹. A causa desta associação permanece um polo de debate.

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico precoce é fundamental.

O apoio laboratorial confirma as suspeitas clínicas através do estudo de fracções do complemento. Para fazer o diagnóstico de AEH, distinguir o tipo I do tipo II e das formas adquiridas é necessário o doseamento sérico de C1, C1 INH, C4 e realizar o estudo qualitativo do C1 INH (Tabela I).

- Se os títulos de C1 INH e C4 se encontram normais durante um episódio de angioedema, pode-se excluir a existência de AEH ou défice adquirido de C1 INH.
- Pelo contrário a presença, nestas condições, de um título de C4 baixo (que nas crises pode chegar a zero), na presença de C1 e C3 normais, faz o diagnóstico.
- A grande distinção entre as formas herdada e adquirida de défice de C1 INH faz-se, nos doentes com C4 e C1 INH baixos, pelo título de C1, que se encontra em níveis normais no AEH e reduzidos, por consumo, nas formas adquiridas.
- O AEH tipo II só poderá ser infirmado ou admitido após estudo qualitativo do C1 INH.

O AEH faz diagnóstico diferencial com outras situações de angioedema, com mecanismos fisiopatológicos subjacentes diferentes, de que se destacam:

1. alérgico (IgE mediado): alergénios inalantes, picada de insecto, fármacos e produtos derivados de sangue, alimentos e aditivos alimentares, infecções parasitárias
2. estímulos físicos: frio, pressão, etc.
3. substâncias libertadoras de histamina: morfina, codeína e produtos de contraste
4. idiopático
5. outros

TRATAMENTO

O tratamento do AEH pode-se dividir em três níveis: tratamento das agudizações, tratamento de manutenção e profilaxia a curto prazo.

A primeira atitude a ter perante episódios agudos de Angioedema deverá ser a utilização de medidas de suporte, com particular atenção

Tabela 1: anomalias bioquímicas do complemento no angioedema

	Nível C1	INH	Nível de	Complemento	
	Antigénico	Funcional	C4	C1	C3
AEH tipo I	↓↓	↓↓	↓↓	N	N
AEH tipo II	N	↓↓	↓↓	N	N
AE adquirido	↓	↓	↓↓	↓↓	N
AE Idiopático	N/↑	N/↑	N	N	N/↑

pela permeabilidade das vias aéreas superiores. Embora muitos centros sugiram a utilização de adrenalina, anti-histamínicos e corticóides para lidar com os episódios agudos, a realidade é que a maioria dos doentes não responde satisfatoriamente a este tratamento⁹, não estando mesmo provada a sua eficácia¹. Alguns doentes podem chegar a necessitar de ser admitidos numa Unidade de Cuidados Intensivos, para entubação orotraqueal ou traqueostomia.

À semelhança do que acontece com outras doenças por défice de proteínas séricas, também neste caso tem sido utilizada a terapêutica de substituição com plasma fresco congelado, com sucesso, no tratamento das crises agudas. Presentemente esta terapêutica está a ser substituída por concentrado purificado de C1 INH, sendo proposta a administração, em situações de risco de vida, de uma infusão de 500-1,000 U; o edema da mucosa habitualmente diminui 30 minutos a 2 horas mais tarde, resolvendo completamente no prazo de 24 horas. Em casos graves pode ser necessária a repetição da infusão. O armazenamento de C1 INH purificado e liofilizado, a 4°C mantém a sua validade por um período que ultrapassa um ano, recomendando-se por isso aos hospitais envolvidos no tratamento destes doentes que

disponham de stock suficiente para bem tratar esta situação⁹.

O tratamento de manutenção está recomendado para os doentes com uma história frequente de obstrução laríngea parcial, episódios de edema facial ou do pescoço ou ainda outras crises incapacitantes (de facto muitos doentes não terão indicação para fazer terapêutica a longo prazo). Com intuítos profiláticos têm sido utilizados vários grupos terapêuticos:

- a) Androgénios sintéticos atenuados
- b) Hemostáticos
- c) Concentrado purificado de C1 INH

a) Está demonstrada e confirmada a eficácia de androgénios sintéticos (danazol, e mais recentemente, o estanozolol) na profilaxia do AEH, conseguindo-se remissão clínica e correcção parcial do defeito bioquímico, manifestado pelo aumento dos níveis séricos de C4 e C1 INH⁹; parece não ser obrigatório a total normalização dos títulos destas proteínas para que se consiga atingir estabilidade clínica^{10,22,23,24}. Não está perfeitamente identificado o mecanismo através do qual estes derivados hormonais actuam, sendo presumida a hipótese de promoverem a síntese de C1 INH pelos hepatócitos⁹.

A dose mínima de danazol necessária para exercer efeitos profiláticos varia de doente para doente; alguns atingem o controle sintomático com 50mg/dia e outros só com 600mg/dia. Com o estanozolol são preconizadas doses de 2-4mg/dia.

Os efeitos adversos deste grupo terapêutico são considerados reduzidos e dose dependentes, e incluem aumento de peso, virilização, mialgias, cefaleias e atraso de crescimento nas crianças. Podem ainda ser responsabilizados por sintomas dispépticos e por disfunção hepática; há autores que recomendam a administração desta terapêutica de manutenção em dias alternados de forma a diminuir os efeitos adversos, garantindo a mesma eficácia clínica²⁵.

b) Dois fármacos anti-fibrinolíticos: Ácido ε-aminocapróico (AEAC) e o seu análogo – ácido tranexâmico têm sido utilizados no tratamento profilático do AEH pelo facto de terem capacidade de exercer controlo sobre as crises, não apresentando contudo efeito na diminuição da frequência das mesmas; o seu efeito terapêutico advém da capacidade para inibir o plasminogénio e eventualmente a activação de C1, mas o mecanismo molecular pelo qual actua não é conhecido.¹⁰

São utilizados desde 1968 com sucesso, sendo as descrições de então ainda hoje vistas como actuais.²⁶

Paralelamente ao seu sucesso terapêutico, o AEAC pode induzir efeitos adversos potencialmente graves como sejam: rabdomiólise e mionecrose, trombose vascular e hipotensão postural, especialmente quando utilizados em doses superiores a 20g por dia.

c) a terapêutica de substituição a longo prazo com C1 INH purificado tem sido sugerida pela sua segurança, sendo especialmente benéfica num grupo seleccionado de doentes que apresentem reacções adversas graves com a utilização de outras terapêuticas (exemplos incluem mulheres grávidas e crianças).

TRATAMENTO PREVENTIVO A CURTO PRAZO

Sempre que os doentes com AEH tenham programada uma manipulação dentária, broncofibroscopia, endoscopia digestiva alta²⁷ ou uma intervenção cirúrgica, especialmente envolvendo a cabeça, o pescoço ou as vias respiratórias, devem adoptar um regime profilático com danazol, 600mg/dia por cinco dias, devendo este prazo ser alargado para dez em todos os que não se encontram sob profilaxia²². Também nestas circunstâncias tem valor terapêutico a utilização de concentrado de C1 INH.^{28,29,30}

ATITUDE TERAPÊUTICA NAS CRIANÇAS

No cenário mais favorável os episódios de angioedema poderiam ser controlados com administração de C1 INH purificado; contudo, esta terapêutica mostra-se particularmente dispendiosa, e exige administração endovenosa a cada três dias pois a semi-vida deste concentrado é apenas de 72 horas.

Quando as crises são frequentes recomenda-se a realização de um tratamento de manutenção com AEAC ou danazol, a ser administrado na dose de 100mg a cada 2 ou 3 dias, não se esperando efeitos adversos clínicos significativos.^{1,32}

NOTIFICAÇÕES GRAVES RELACIONADAS COM A TOMA DE ANDROGÉNIOS

Desde 1976, altura em que se iniciou a utilização de danazol, surgiram na literatura, notificações pontuais de efeitos adversos graves atribuíveis à toma prolongada de androgénios atenuados³³⁻³⁵; para melhor esclarecimento *Marco*

Cicardi et al, publicaram em 1997 um estudo transversal³⁶ que avaliou a ocorrência de efeitos adversos por uso de terapêutica profiláctica de longo prazo com estes fármacos, utilizando exclusivamente indivíduos com o diagnóstico de AEH (n=70), divididos em dois grupos: o primeiro recebendo tratamento profiláctico (n=36) (duração média de tratamento 125.5 meses), servindo o segundo de grupo controlo (n=34).

Este trabalho permitiu chegar às seguintes conclusões:

- o estanozolol é ligeiramente mais eficaz do que o danazol provavelmente pelo facto de induzir menor número de efeitos adversos e, como tal, facilitar a aderência à terapêutica;
- a terapêutica a longo prazo com androgénios atenuados não interferiu nos parâmetros de função hepática, nem induziu o aparecimento de massas hepáticas, avaliado por estudo ecográfico;
- como resultado não esperado verificaram a ocorrência de HTA em 25% dos doentes sob terapêutica profiláctica, volume dependente, e por isso resolvendo preferencialmente terapêutica diurética; apresentaram ainda níveis de colesterol sérico mais elevado e índice de massa corporal também mais alto;
- estes últimos resultados levantaram a necessidade de se conhecer o risco aterogénico nestes doentes.

PERSPECTIVAS TERAPÊUTICAS FUTURAS

Começam a ser utilizados em humanos bloqueadores eficazes dos receptores da bradiquinina, que se vêem como muito promissores no tratamento das agudizações no AEH.³⁶

CASOS CLÍNICOS

Caso Clínico I

JLV, 35 anos, sexo feminino, raça negra, natural de Cabo Verde e residente em Portugal há dois anos.

A história da doença reporta aos seis meses de vida, altura em que iniciou episódios recorrentes e esporádicos de edema localizado aos tecidos moles de várias partes do organismo, nomeadamente na face, pescoço e membros superiores; caracteristicamente estas crises não se acompanhavam de prurido, e o único factor desencadeante identificável mas não constante foi a ocorrência de pequenos traumatismos, nomeadamente nas mãos.

Pelos 14 anos de idade ocorreu pela primeira vez episódio de edema do pescoço associado a disfonia e dispneia, tendo sido tratado em ambiente hospitalar, situação que se veio a repetir várias vezes ao longo da sua vida; todos os outros episódios eram autolimitados e não excediam dois dias de duração.

Residindo em Portugal desde Dezembro de 1999, foi neste país que se verificou a ocorrência do episódio de maior gravidade, com insuficiência respiratória por obstrução alta das vias aéreas, que motivou o seu internamento em Unidade de Cuidados Intensivos, com necessidade de entubação oro-traqueal e ventilação mecânica.

História familiar: (figura 4)

A história conhecida de familiares com manifestações clínicas semelhantes remonta à avó paterna que, segundo conta, “morreu inchada enquanto amamentava um filho”(sic); o pai, presentemente com 70 anos de idade, apresenta desde a infância, e exclusivamente, episódios de edema cutâneo; o seu irmão mais velho, com 44

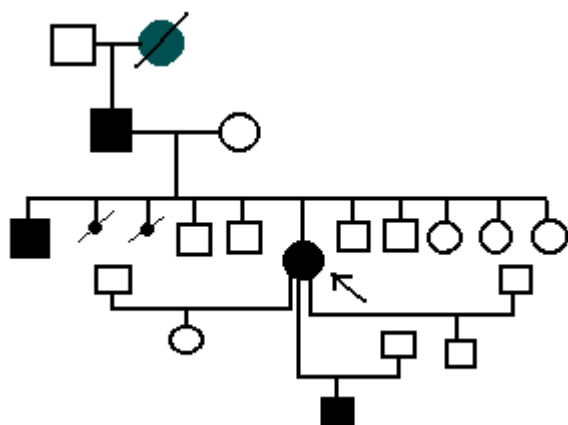


Figura 4: Esquema representação da família do caso clínico I

anos, conta crises de edema cutâneo alternando com episódios de disfonia, dispneia e aperto torácico, sempre tratados com sucesso em ambiente hospitalar, encontrando-se em fase de remissão clínica sem recurso a terapêutica profilática, há 15 anos.

Dois irmãos faleceram durante a primeira infância em circunstâncias não conhecidas.

O doente mais jovem da família é o seu 2º filho, com 14 anos que evidencia episódios recorrentes de edema cutâneo localizado.

O seu terceiro e último filho, com sete meses, encontra-se clinicamente assintomático.

Caso Clínico II

CS, 51 anos, sexo masculino, raça branca, natural e residente em Lisboa.

Desde os 23 anos de idade refere episódios de dor abdominal aguda, de agravamento progressivo, localizada à região peri-umbilical, sem irradiação, e associada a náuseas, vômitos e paragem de emissão de gases e fezes, sempre em apirexia.

Na sequência de uma destas crises, aos 30 anos, foi apendicectomizado.

Estes episódios ocorrem sensivelmente com frequência bianual, resolvendo espontaneamente em algumas horas.

Identifica como factor frequente de aparecimento das crises o stress emocional.

Até à data refere como ocorrência rara o desenvolvimento de edema das mãos, não pruriginoso, não simétrico e também com resolução espontânea.

História familiar: (figura 5)

A história conhecida desta família alarga-se ao pai do doente, que faleceu aos 49 anos aparentemente vítima de edema da glote; duas das suas irmãs também são doentes apresentando clínica de episódios de sub-oclusão intestinal. O seu filho mais velho, com 25 anos apresenta, desde os 5, episódios muito esporádicos de edema localizado aos membros; ao contrário, a sua filha evidencia desde o primeiro ano de vida episódios de dor abdominal recorrente; só recentemente lhe surgiu pela primeira vez edema localizado à face, sem compromisso das vias aéreas.

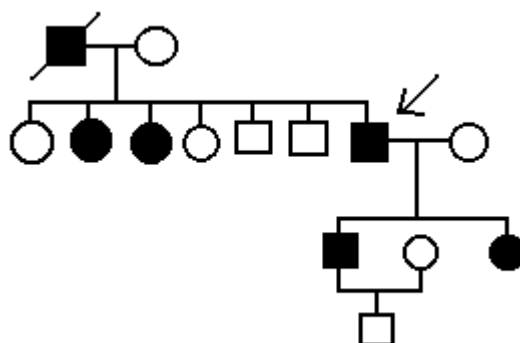


Figura 5: Esquema representação da família do caso clínico II

Tabela II: avaliação laboratorial. (* estudo realizado sob terapêutica profilática)

ID	C4(12-36mg/dl)	C1 INH(21-39mg/dl)	C1 INH%
JLV(I)	<10	42/79,7*	94%*
Irmão	20	81.3	64%
Filho	11.3	37.9	100%
CR(II)	9.7	63,6*	74%*
Filha	<5,5	63,5*	-
Neto	25	32.8	100%

(NOTA: C1 INH %-funcional: valor ref.> 68%, zona cinzenta 41-67%, anormal <40%)

De ambas as famílias destaca-se da avaliação laboratorial realizada (Tabela II).

DISCUSSÃO

Foram expostas as histórias clínicas de dois doentes; em ambos há evidência de manifestações cutâneas mas no primeiro há predomínio de envolvimento dos tecidos moles e das vias aéreas condicionando episódios graves de dificuldade respiratória, em oposição ao segundo que apresenta um padrão de predomínio de envolvimento do tubo digestivo.

A soma de manifestações clínicas sugestivas de doença com valores de C4 inferiores ao normal estabelece o diagnóstico de Angioedema Hereditário nos dois doentes estudados e na filha do doente CS (caso II).

Os dois casos clínicos podem ser considerados como angioedema hereditário de tipo II, uma vez que em ambos e também em todos os familiares estudados os níveis de C1 INH são normais.

Analizando os familiares da doente do caso I verifica-se que o irmão que se encontra assintomático há vários anos tem valores de C4 normais

mas o valor de C1 INH funcional situa-se na zona cinzenta.

O filho, muito embora apresente níveis funcionais de C1 INH de 100% com um método laboratorial de elevada confiança (ELISA), tem C4 ligeiramente inferior ao normal o que obriga a reavaliação laboratorial dentro de algum tempo.

Quanto ao caso II, a filha do doente tem doença confirmada laboratorialmente por C4 baixo. No neto, é possível excluir a doença por ausência de manifestações clínicas, C4 e C1 INH funcional normais.

Ao contrário do inicialmente esperado a avaliação funcional de C1 INH mostrou-se normal nos casos índice, pensando-se poder este facto relacionar-se com a influência exercida pela medicação no estímulo de síntese hepática de C1 INH.

Encontram-se sob terapêutica profilática com Danazol: JLV, CS e filha, sendo sujeitos a monitorização clínica e laboratorial no que respeita à doença de base e repercussões da terapêutica em Consulta de Imunoalergologia.

BIBLIOGRAFIA

1. Elliot Middleton, Jr., MD et al. Allergy, Principles & Practice, vol.II, cap.79. MOSBY 1998.
2. Goldsby, RA et al. Kuby Immunology, 4th Ed, W.H.Freeman and Company, 2000.
3. Jürg Nussberger, MD, Massimo Cugno, MD, Marco Cicardi, MD, Angelo Agostini, MD. Local bradykinin generation in hereditary angioedema. J Allergy Clin Immunol. 1999; 104: 1321-2.
4. Aurora Talavera, MD, José-Luis Larraona, MD, José Luis Ramos, MD et al. Hereditary Angioedema: An Infrequent Cause of Abdominal Pain with Ascites. Am J Gastroenterology. 1995; 90 (3): 471-4.
5. Barbara Bowen, Jamey Joe Hawk, Seth Sibunca, Stephen Hovick, John M. Weiler. A review of the reported defects in the human C1 esterase inhibitor gene producing hereditary angioedema including four new mutations. Clin Immunol. 2001; 98 (2): 157-63.
6. Eiji Sugiyama, Tetsuo Ozawa, Hirofumi Taki, et al. Hereditary angioedema with a de novo mutation of exon 8 in the C1 inhibitor gene showing recurrent edema of the hands around the peripheral joints. Arthritis & Rheumatism. 2001; 44 (4): 974-7.

7. Agostini A, Cicardi M. Hereditary and acquired C1-inhibitor deficiency: Biological and clinical characteristics in 235 patients. *Medicine*. 1992; 71: 206-15.
8. Binkley KE, Davis A III. Clinical, biochemical, and genetic characterization of a novel estrogen-dependent inherited form of angioedema. *JACI*. 2000; 106: 546-50.
9. Tommy C. Sim, M.D.J. Andrew Grant, M.D., Hereditary Angioedema: Its Diagnostic and Management Perspectives. *Am J Med*. 1990; 88: 656-64.
10. Frank MM, Gelfand JA, Atkinson JP. Hereditary Angioedema: the clinical syndrome and its management. *Ann Intern Med*. 1976; 84: 580-93.
11. Starr JC, Brashner GW. Erythema marginatum preceding hereditary angioedema (letter). *J Allergy Clin Immunol*. 1974; 53: 352-5.
12. José Torres da Costa, MD, José Moreira da Silva, MD, Leonor Cunha, MD, Maria Graça Castel-Branco, MD, Marianela Vaz Azevedo, MD. Hereditary Angioedema Presenting with Adult Respiratory Distress Syndrome. *Chest*. 1994; 105: 1898-9.
13. Cutler AF, Yousif EA, Blumenkehl ML. Hereditary Angioedema associated with pancreatitis. *South Med J*. 1992; 1149-50.
14. Frank MM. Complement in the pathophysiology of human disease. *N Engl J Med*. 1987; 316: 1525-30.
15. Frank MM, Gelfand JA, Atkinson JP. Hereditary Angioedema: The clinical syndrome and its management. *Ann Intern Med*. 1976; 84: 580-93.
16. Eck SL, Morse JH, Janssen DA, et al. Angioedema presenting as chronic gastrointestinal symptoms. *Am J Gastroenterol*. 1993; 88: 436-9.
17. Donaldson VH. Serum inhibitor of C1 esterase in health and disease. *J Lab Clin Med*. 1996; 68: 369-82.
18. Donaldson VH, Hesse EV, McAdams AJ. Lupus erythematosus-like disease in three unrelated women with hereditary angioneurotic edema (letter). *Ann Intern Med*. 1977; 86: 312.
19. Brickman CM, Tsokos GC, Balow JE, et al. Immunoregulatory disorders associated with hereditary angioedema; serologic and cellular abnormalities. *J Allergy Clin Immunol*. 1986; 77: 758-67.
20. Rosenfeld GB. Hereditary angioneurotic edema and systemic lupus erythematosus in one of identical twin girls (abstr). *J Allergy Clin Immunol*. 1974; 47: 68-9.
21. Tuffaneli DL. Discoid lupus erythematosus and the variant form of hereditary angioneurotic edema. *Arch Dermatol*. 1977; 113: 374-6.
22. Arreaza EE, Singh K, Grant JA. Hereditary angioedema: clinical and biochemical heterogeneity. *Ann Allergy*. 1988; 61: 69-74.
23. Gelfand JA, Sherins RJ, Alling DW, Frank MM. Treatment of hereditary angioedema with danazol: reversal of clinical and biochemical abnormalities. *N Engl J Med*. 1976; 295: 1444-8.
24. Sheffer AL, Fearon DT, Austen KF. Hereditary angioedema: a decade of management with stanozolol. *J Allergy Clin Immunol*. 1987; 80: 855-60.
25. Sheffer AL, Fearon DT, Austen KF. Hereditary Angioedema: a decade of management with stanozolol. *J Allergy Clin Immunol*. 1987; 80: 855-60.
26. Michael M.F., MD, John S. Sargent, MD, Michael A Kane, MD et al. Epsilon Aminocaproic Acid Therapy of Hereditary Angioneurotic Edema: A double-blind study. *N Engl J Med*. 1972; 286, 15: 808-12.
27. S W Hosea, M M Frank. Danazol in the treatment of Hereditary Angioedema. *Drugs*. 1980; 19: 370-2.
28. Bork K, Witzke G. Long term prophylaxis with C1 INH Concentrate in patients with recurrent angioedema caused by hereditary and acquired C1-inhibitor deficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 1989: 677-82.
29. Alsenz J, Lambris JD, Bork K. Acquired C1 inhibitor deficiency type II: replacement therapy with C1-INH and analysis of patients' C1-INH and anti-C1-INH autoantibodies. *J Clin Invest*. 1989; 83: 1794-9.
30. Bergamaschini L, Agostini A, Cicardi M, et al. C1 INH concentrate in the therapy of hereditary angioedema. *Allergy*. 1983; 38: 81-4.
31. Amin J Barakat, MD, Anthony J Cataldo, MPA. Hereditary Angioedema: Danazol therapy in a 5-year old child. *Am J Dis Child*. 1993; 147(9): 931-2.
32. Gelfand JÁ, Boss GR, Conley CL, et al. Acquired C1 esterase inhibitor deficiency and angioedema: a review. *Medicine*. 1979; 58: 321-8.
33. Marco Cicardi, MD, Luigi Bergamaschini, MD, Massimo Cunho, MD, et al. Long-term treatment of hereditary angioedema with attenuated androgens: A survey of a 13-year experience. *J Allergy Clin Immunol*. 1991; 87 (4): 768-73.
34. Konrad Bork, Michale Pitton, Pontus Harten, Petra Koch. Hepatocellular adenomas in patients taking danazol for Hereditary Angioedema. *Lancet*. 1999; 353: 1066-7.
35. William B Spaulding, MD. Myalgia and elevated Creatine Phosphokinase with Danazol in Hereditary Angioedema. *Annals Intern Med*. 1979; 90 (5): 854.
36. Marco Cicardi, MD, Roberto Castelli, MD, Lorenza C Zingale, MD, Angelo Agostini, MD. Side effects of long-term profilaxis with attenuated androgens in Hereditary Angioedema: Comparison of treated and untreated patients. *J Allergy Clin Immunol*. 1997; 99: 194-6.
37. José Costa Trindade, Margarida Ferreira Trindade. Angioedema Hereditário por Déficit Funcional de C1-Esterase. *Cadernos de Imuno-Alergologia Pediátrica*. 1987; 2 (4): 37-40.
38. Isabel Vasco de Almeida; Margarida Ferreira Trindade, José Costa Trindade. Angioedema Hereditário. *Cadernos de Imuno-alergologia Pediátrica*. 1988; 3 (3): 46-50.
39. Berinert P®. C1-esterase-inhibitor-concentrate for Hereditary Angioedema. (Aventis Behring Monography).