

Efeito da Imunoterapia Pré e Co-Estacional para Pólenes de Gramíneas no Recrutamento Nasal de Eosinófilos e Níveis Séricos de IgG e IgE Específicas

JOSEFINA RODRIGUES****, LUÍS DELGADO***, J P MOREIRA DA SILVA****, LEONOR CUNHA*, ISABEL PORTELA**, JOÃO CARDOSO**, MARIANELA VAZ*****

RESUMO

Avaliamos em 32 doentes (17M e 15F; idade média de 31 anos) com história clínica de rinite sazonal, o efeito da imunoterapia no recrutamento de eosinófilos das secreções nasais e nos níveis de IgE e IgG sérica específica para *Phleum Pratensis*. Todos tinham testes cutâneos "prick" positivos para *Phleum Pratensis* (F) e *Dactylis Glomerata* (D). Dez doentes (grupo C) foram exclusivamente tratados com Loratadina 10 mg em SOS, e 22 foram também submetidos a Imunoterapia pré e co-estacional (Grupo IT) com um extracto aquoso standardizado de F e D (Conjovac-Bayer/DHS). Os doentes foram avaliados antes, durante e 6 meses após a estação polínica. Efectuou-se contagem de eosinófilos nas secreções nasais em esfregaços de citocentrífuga, corados pelo Wright/Giemsa, doseamento de IgE específica pelo método Cap (Kabi, Pharmacia) e testes cutâneos a F e D. Dezoito doentes continuaram o estudo com o mesmo protocolo de avaliação no ano seguinte (9 IT e 9 C) tendo sido efectuado neste grupo doseamento de IgG específica para F pelo mesmo método em 2 anos consecutivos. Ambos os grupos (IT e C) evidenciaram um aumento dos

eosinófilos nas secreções nasais, particularmente evidente no grupo IT (antes da estação -AE- C=0,13±0,1; IT=0,27±0,1; p=ns; durante a estação-DE- C=6,6±2; IT=16,1±0,7; p< 0,04). Os doentes que continuaram o estudo no ano seguinte, mantiveram a subida dos eosinófilos nas secreções nasais durante a estação polínica, embora o aumento observado no 1.º ano quando se comparou o grupo IT com o C (p=0,04), se tivesse esbatido no 2.º ano de observação (p=ns). (1.º ano AE - C= 0,14±0,13; DE C= 6,9±7,3; p= 0,02, AE - IT=0,33±0,31; DE - IT =19,3±18,5; p= 0,007) (2.º ano AE - C=0,31±0,63; DE C= 7,5±15,7; p=0,05, AE - IT=0,2±0,3; DE - IT=11,6±16; p=0,03). Nos 22 doentes (12 IT e 10 C) em que doseamos a IgE específica para F, observamos um aumento não significativo da IgE em todos os doentes, que se acentua 6 meses após a Primavera sendo este aumento estatisticamente significativo no grupo C (p<0,01). Os níveis de IgG específica para F não variaram no grupo C em todo o estudo. Nos doentes submetidos a IT os níveis de IgG subiram significativamente durante a estação polínica nos 2 anos de tratamento (p=0,01). Encontramos correlações estatisticamente significativas entre a IgG específica e os eosinófilos das secreções nasais (R=0,41; p<0,05) e a IgG/IgE específica (R=0,44; p<0,01). Em conclusão verificamos que a IT a pólenes de gramíneas aumenta o recrutamento de eosinófilos nas secreções nasais durante a exposição natural ao alergénio, particularmente no primeiro ano de tratamento e bloqueia a subida de IgE durante a estação polínica aumentando os níveis de IgG específica apenas no período de imunização activa.

* Interno do Internato Complementar de Imunoalergologia do H.S. João.

** Assistente Hospitalar de Patologia Clínica.

*** Assistente Hospitalar de Imunologia do Serviço de Imunologia do Hospital de S. João e Assistente da Faculdade de Medicina Porto.

**** Assistente Hospitalar de Imunoalergologia
Unidade de Imunoalergologia - H.S. João.

***** Chefe de Serviço de Imunoalergologia.
Directora da Unidade de Imunoalergologia - H. S. João.

A este trabalho foi atribuído o 2.º lugar do prémio SPAIC-UCB/Stallergenes 1994.

In 32 patients with grass pollen allergy (17M, 15F, 31 years old) all with seasonal rhinitis, we studied the effect of immunotherapy on nasal eosinophils recruitment during pollen season and changes in specific IgE and IgG levels. All had positive skin prick tests to Phleum Pratensis (Php) and Dactylis Glomerata (Dg). Ten patients (control group - C) were exclusively treated with Loratadine 10 mg prn and 22 also received pre and co-seasonal immunotherapy (immunotherapy group - IT) with a standardized aqueous extract of both allergens (Conjuvac® - Bayer/DHS). Patients were evaluated before (bs) during (ds) and 6 months after season (as): eosinophils counts (EC) in nasal secretions (cytospins, Wright-Giemsa stain), specific IgE and IgG levels to Php (Cap System® - Kabi Pharmacia) and skin reactivity to Php and Dg. Both groups showed a significant rise in EC ds, specially evident in IT (bs - C= 0,13±0,1; IT=0,27±0,1: p=ns, ds - C= 6,6±2; IT= 16,1±0,7: p<0,04). Patients that continued the study in the following year, maintained the increase in the EC ds, although this was not so evident on the 2nd year of treatment (IT vs C; p=ns) (1st year bs - C=0,14±0,13; ds C=6,9±7,3: p=0,02, bs - IT=0,33±0,31; ds - IT= 19,3±18,5: p=0,007) (2nd year bs - C= 0,31±0,63; ds - C=7,5±15,7: p=0,05, bs - IT=0,2±0,3; ds - IT=11,6±16: p=0,03). A significant increase in specific IgE levels, was only seen 6 months after spring, in C group (p<0.01) when the 22 patients were studied. Specific IgG levels to Php showed no significant differences in C. In IT, specific IgG levels showed a significant rise during pollen season in the two years of treatment (p=0,01). We also found significant correlations between specific IgG levels and EC in nasal secretions (R=0,41; p<0,05) and between specific IgG/IgE (R=0,44; p<0,01). In conclusion: grass pollen immunotherapy increases eosinophil recruitment in nasal secretions during natural pollen exposure, specially in the first year of treatment, blunts the rise in specific IgE levels during pollen season and increases specific IgG levels in the IT period.

INTRODUÇÃO

A rinite alérgica sazonal é uma patologia muito comum na população geral e uma causa importante de morbidade. Nos últimos trinta anos tem havido um aumento crescente desta doença em quase todos os países industrializados do mundo¹. A sua causa mais comum é a alergia a pólenes de gramíneas mediada por uma reacção de hipersensibilidade tipo I.

A resposta nasal, traduzida clinicamente por espirros, prurido, obstrução nasal e rinorreia, associa-se

por vezes a conjuntivite com ou sem prurido ocular, e caracteriza-se, histopatologicamente, por inflamação da mucosa nasal. O mastócito, com IgE localizada à superfície da célula, tem o papel inicial no desencadear do processo inflamatório². O envolvimento destas células tem sido comprovado em estudos de biópsias nasais efectuadas após provocação experimental e após exposição natural ao antigénio^{3,4,5}. A sua activação inicia uma cascata de reacções, com aumento local de mediadores químicos de hipersensibilidade, como a histamina, TAME esterase, prostaglandina D2^{6,7} e chamada de células inflamatórias, nas quais predominam os eosinófilos³.

O granulócito eosinófilo é uma célula derivada da medula óssea e o seu envolvimento na inflamação alérgica é conhecida há pelo menos um século (cit in 38). O verdadeiro papel desta célula na inflamação alérgica é ainda hoje algo enigmático, havendo no entanto alguns estudos que claramente estabelecem uma relação entre a sua actividade e a gravidade da doença alérgica^{8,9,10}.

Na rinite alérgica, por exemplo, estas células aumentam durante exposição natural ou após a provocação nasal com o antigénio¹¹. A infiltração, activação e desgranulação dos eosinófilos tem uma função primordial na sintomatologia alérgica do nariz, particularmente nas reacções de fase tardia associadas ao edema e hiperreactividade da mucosa nasal^{3,5}. As primeiras descrições da associação entre o influxo nasal de eosinófilos e a rinite alérgica sazonal datam de 1927 por Eyer mann¹² e posteriormente por Lindsay e cols¹³ que referiram a ausência de eosinófilos nas secreções nasais em períodos assintomáticos e a inexistência de relação entre os eosinófilos nasais e os periféricos.

A imunoterapia (IT) tem sido utilizada para o tratamento de doentes com polinose há mais de 7 décadas, desde que foi pela primeira vez descrita nos Estados Unidos por Freeman e Noon^{14,15}. Nos últimos 40 anos vários trabalhos têm tentado demonstrar a sua eficácia e apoiam a sua utilização na clínica¹⁶ estando os efeitos terapêuticos dependentes das doses e esquemas de aplicação^{17,18,19}. A eficácia da IT nas polinoses tem sido claramente demonstrada em ensaios duplamente cegos com placebo¹⁶ sendo esta uma das indicações claras para este tipo de tratamento²⁰.

Embora não se conheçam os mecanismos exactos de actuação da IT, ela tem seguramente efeitos de imunomodulação na resposta IgE e/ou na ampliação inflamatória desta resposta. Alguns desses efeitos têm sido demonstrados pela formação de anticorpos IgG após IT²¹, pela redução dos níveis de IgE específica²¹, aumento dos níveis de IgA e IgG nas secreções nasais destes doentes²² e, mais recentemente, na modificação da resposta de linfócitos T (estimulação de linfócitos de tipo TH1)²³.

O objectivo do presente estudo foi o de avaliar, em doentes com rinite alérgica a pólenes de gramíneas, os efeitos da imunoterapia pré e coestacional na inflamação alérgica local. Assim, analisamos o recrutamento local de eosinófilos e acompanhamos as oscilações nos níveis de IgE e IgG específica na circulação com a exposição natural ao antigénio.

DOENTES, MATERIAL E MÉTODOS

Foram seleccionados trinta e dois doentes, (17 do sexo masculino e 15 do feminino com idade média de 31 anos, compreendidas entre os 16 e os 61 anos), com base numa história clínica de rinite sazonal. Todos tinham testes cutâneos "prick" positivos para as gramíneas *Pheum Pratensis* e *Dactylis Glomerata* (Bayer/DHS, numa concentração de 1/20 PV) e IgE específica positiva para aqueles alergénios (RAST \geq classe 2). Foram excluídos os doentes que apresentassem história de rinite perannual e/ou tivessem sido submetidos a qualquer tipo de imunoterapia prévia, os fumadores e os que tivessem feiro corticosteroides tópicos ou sistémicos no mês que antecedeu o início do estudo.

Todos os doentes foram observados em três ocasiões diferentes: imediatamente antes da estação polínica, no pico da estação e cerca de seis meses após aquela data, alturas em que foi aplicado o mesmo protocolo de avaliação: contagem de eosinófilos nas secreções nasais, doseamento de IgE específica, testes cutâneos prick, avaliação do registo de sintomas e medicação nos 15 dias que antecederam cada visita.

Em 22 doentes foi aplicada imunoterapia pré e co-estacional (grupo de imunoterapia - IT) com um extracto estandardizado, aquoso, de *Phleum Pratensis* e *Dactylis Glomerata*, quimicamente conjugado com o alginato de sodio (Conjuvac® - Bayer/DHS), constituindo os restantes dez doentes o grupo controlo - C). A todos, foi permitido apenas a utilização de terapêutica sintomática - Loratadina 10 mg, sempre que necessário e com registo das doses utilizadas.

A IT consistiu na administração de injeções semanais do alergénio iniciando-se com doses de 10 PNU que se duplicaram semanalmente durante um período de cerca de três meses, até ser atingida a dose de manutenção de 800 PNU ou a máxima dose tolerada pelo doente. Após atingida a dose de manutenção, as injeções foram aplicadas com intervalo de 2 semanas durante a estação polínica, até fim de Maio. Em, 18 doentes foi possível aplicar o mesmo protocolo de estudo, no ano seguinte, após novo período de imunoterapia, em 9 deles.

Fornecemos a todos os doentes um cartão para registo diário de sintomas e da dose de antihistamínicos

utilizados. Aos sintomas de rinorreia, espirros, obstrução nasal e prurido ocular e nasal foi atribuído uma pontuação de 0 (sem sintomas) a 3 (sintomatologia marcada)²⁴, tendo sido calculado tanto a pontuação média para cada sintoma assim como as doses de antihistamínicos, em cada período de registo.

A colheita de secreções nasais foi realizada utilizando zaragatoas de transporte, colocadas entre o septo nasal e o corneto inferior, em ambas as narinas, tendo a contagem diferencial de células (eosinófilos, neutrófilos e células epiteliais) sido feita por microscopia óptica, em esfregaços de citocentrífuga (Haeraus) corados por Wright-Giemsa, e sempre efectuada pelo mesmo observador.

O doseamento da IgE e IgG específica foi feita por fluoro-enzimo-imunoensaio (CAP® RAST FEIA, *Kabi Pharmacia*), seguindo as instruções do fabricante. Para a IgE específica os resultados são dados em kU/L por referência a uma curva padrão de IgE total (0,35-100 KU/L diluindo-se as amostras superiores a 100 kU/L. Para a IgG específica os resultados são expressos como percentagem de uma referência (%T) - uma mistura de soros contendo IgG específica para o vidoeiro (*Bétula verrucosa*), obtidos de indivíduos submetidos a imunoterapia com extractos desse pólen.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística foi utilizada a prova de Wilcoxon para amostras emparelhadas, a prova de Man Witney para amostras não emparelhadas e a prova de Spearman para correlações lineares. São apresentadas as médias dos valores por comodidade na exposição.

RESULTADOS

Contagem de eosinófilos nas secreções nasais - o número relativo de eosinófilos nas secreções nasais aumentou durante a estação polínica em 30 dos 32 doentes estudados ($p < 0,0001$, prova não paramétrica de Wilcoxon). Essa elevação foi particularmente evidente nos 22 doentes submetidos a imunoterapia (Fig. 1) que apresentaram, apenas neste período, níveis médios de eosinófilos superiores aos controlos ($16,1 \pm 4,1$ vs $6,6 \pm 2,0$; $p < 0,04$). Em ambos os grupos se verificou uma redução significativa dos eosinófilos nas secreções nasais após a estação polínica (Fig.1-A e B).

Nos doentes que pudemos seguir no segundo ano de imunoterapia verificamos que, embora se mantivesse o aumento significativo do número de eosinófilos nasais durante a estação polínica em cada grupo (Quadro I) nesse período estes não diferem significativamente quando o grupo IT é comparado com o grupo C ($p = 0,3$), em contraste com o observado no primeiro ano.

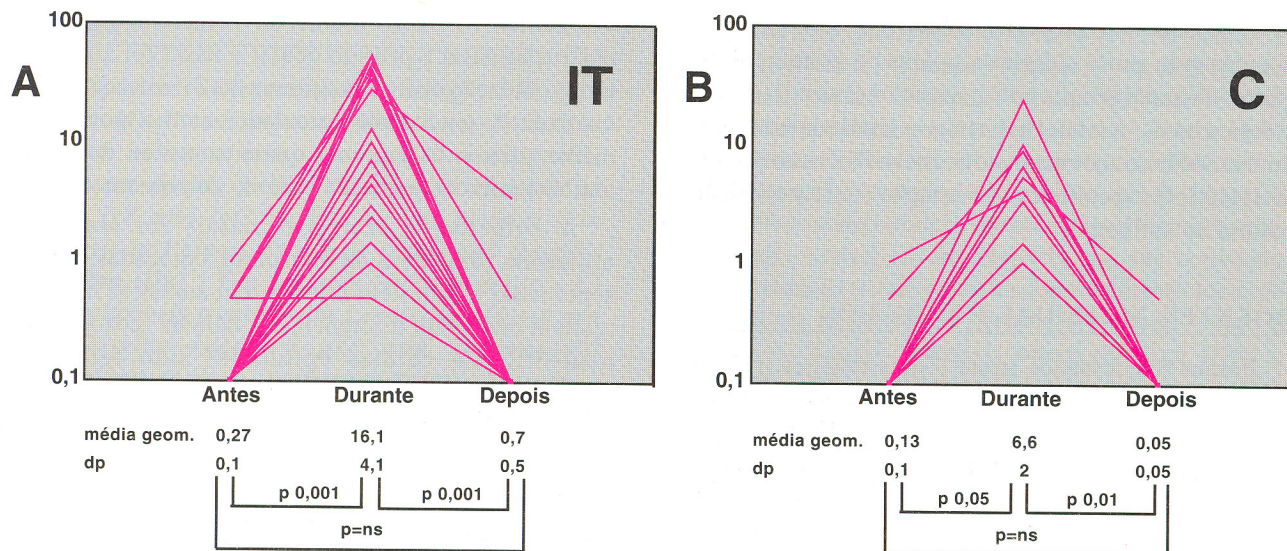


Fig. 1 - Evolução do número relativo de eosinófilos nas secreções nasais em doentes a fazer imunoterapia (IT, esq) e controles (C, dir). Verifica-se uma subida significativa do número de eosinófilos durante a estação polínica particularmente marcada nos doentes do grupo IT.

		1992		1993	
		Imunoterapia n = 9	Controlos n = 9	Imunoterapia n = 9	Controlos n = 9
% eosinófilos nas secreções nasais (média ± dp)	Antes	0,33±0,31	0,14±0,13	0,2±0,3	0,31±0,63
	Durante	19,3±18,5	6,9±7,3	11,6±16	7,5±15,7
	P C/IT	p = 0,007	p = 0,02	p = 0,03	p = 0,05

Quadro 1 - Número relativo de eosinófilos nas secreções nasais durante a estação polínica. Os doentes submetidos a imunoterapia apresentavam níveis médios significativamente mais elevados que os controlos apenas no 1.º ano de Imunoterapia (1992) *p=0,04; 1993 **p = 0,3.

Níveis de IgE específica - Em 22 doentes (12 IT e 10C), determinamos a IgE específica para dois alérgenos (*Dactylis Glomerata* e *Phleum Pratensis*). Nas colheitas de sangue efectuadas antes da estação polínica, as concentrações de IgE para *Phleum Pratensis* não diferiram significativamente nos dois grupos (IT e C), com valores de 34,4 kU/l e 36kU/L respectivamente (p<0,4). Durante a estação polínica houve um aumento não significativo dos níveis de IgE para aquele alérgeno em todos os doentes, que se acentua 6 meses após a Primavera, sendo este aumento estatisticamente significativo apenas no grupo controle (p<0,01). Os valores de IgE foram comparados utilizando a prova de Wilcoxon para amostras emparelhadas (Fig. 2).

Nestes doentes, as concentrações de IgE específica para *Dactylis Glomerata* variaram numa forma quase paralela à IgE para o *Phleum Pratensis* (Fig. 2).

Não se encontrou qualquer correlação significativa, quer no grupo IT quer no C, entre os níveis de IgE e a contagem nasal de eosinófilos em qualquer dos períodos de observação.

Nos doentes que pudemos seguir durante dois anos, verificamos que, embora sem significado estatístico, os níveis de IgE foram mais elevados antes da estação polínica, no segundo ano de observação e que esta elevação se mantinha durante a estação polínica. Não se observaram quaisquer variações nos valores da IgE para o grupo controle (Fig. 3).

NÍVEIS DE IgG ESPECÍFICA

Em catorze doentes (8 IT e 6C) em que foi possível dosar a IgG específica para o *Phleum Pratensis* durante dois períodos consecutivos de IT, verificamos que durante todo o estudo não houve variações nos níveis de IgG no grupo controle. Em contraste, nos doentes submetidos a IT, os níveis de IgG aumentaram significativamente durante a estação polínica nos dois anos de tratamento, quando estes valores são comparados com os níveis basais (p=0,01). (Fig. 3)

Quando se analisaram as oscilações na contagem de eosinófilos, IgG específica e IgE específica, nos quatro períodos (antes e durante a estação polínica de 1992 e nos mesmos períodos de 1993), nos doentes submetidos

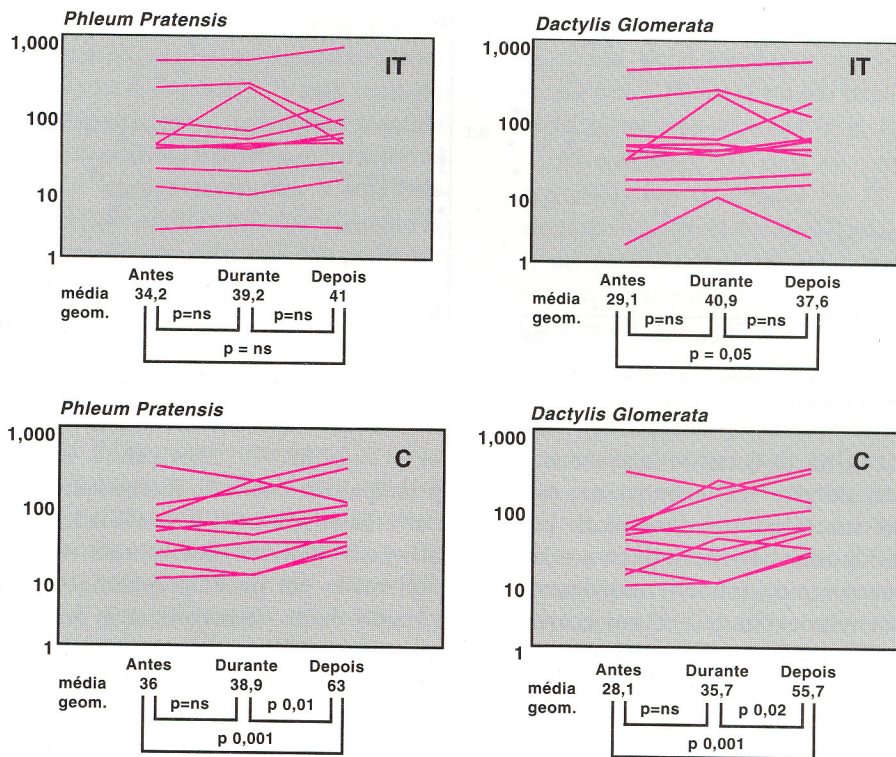


Fig. 2 - Evolução dos níveis de IgE específica para *Phleum Pratensis* (esq.) e *Dactylis Glomerata* (dir.) nos doentes submetidos a Imunoterapia (IT em cima) e Controlos (C em baixo). Apenas nos doentes do grupo C se observa um aumento significativo da IgE específica após a estação polínica.

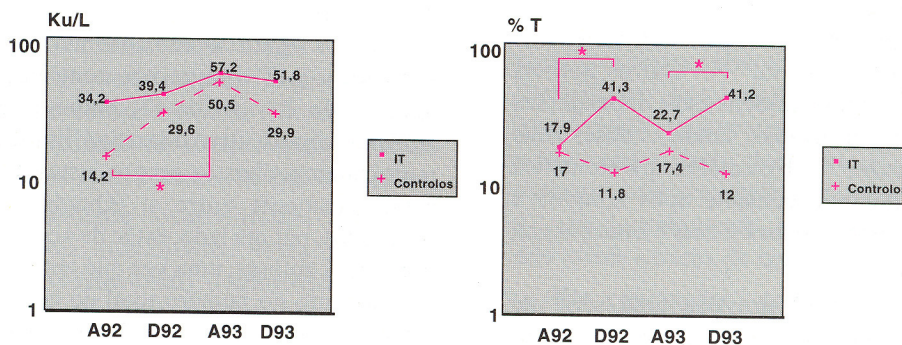


Fig. 3 - Evolução dos níveis de IgE específica (esq.) e IgGespecífica (dir.) no grupo submetido a IT e C. Apenas no grupo C se observa um aumento significativo da IgE na estação polínica (*p=0,01). O aumento da IgG verifica-se apenas no grupo IT durante a estação polínica nos 2 anos de tratamento (*p=0,01).

a imunoterapia durante dois anos consecutivos, encontramos uma correlação estatisticamente significativa entre os valores de IgG e IgE ($r=0,44$) $p<0,01$) (correlação linear de Spearman), que se manteve quando os dois anos foram analisados separadamente. Observamos também uma correlação estatisticamente significativa entre os níveis de IgG sérica e os eosinófilos das secreções nasais ($r=0,41$ $p<0,05$) (Fig. 4). Esta correlação, encontrada no conjunto de quatro observações, parece dever-se principalmente às elevações encontradas no primeiro ano de IT para os eosinófilos e IgG ($r=0,58$ $p<0,001$), uma vez que deixa de ser aparente no 2.º ano de tratamento IT.

Não se encontrou qualquer relação entre os níveis basais de IgE (antes da estação polínica) e o recrutamento de eosinófilos nas secreções nasais observado durante a estação polínica, tanto no grupo IT como no C.

DISCUSSÃO

A Imunoterapia com pólenes de gramíneas foi introduzida em 1991 por Freeman¹⁴ e Noon¹⁵ que julgavam ser aquela patologia provocada por uma reacção idiosincrásica a uma toxina solúvel com origem nos pólenes, e, partiram do princípio que a simples inoculação de extractos de pólenes pudesse originar

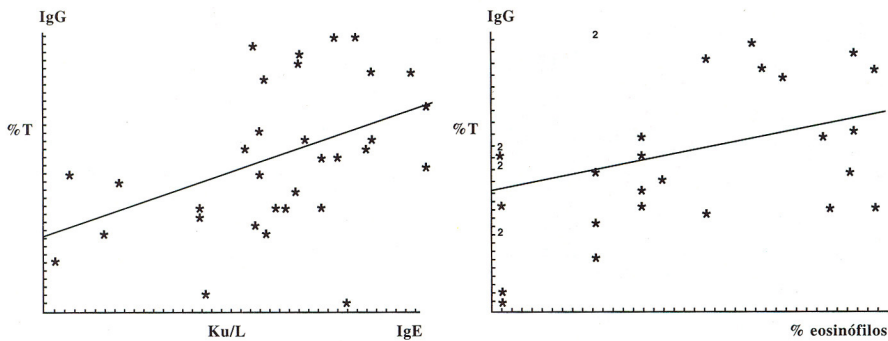


Fig. 4 - Correlações positivas entre os níveis de IgE e IgG específica e os níveis de IgE e os eosinófilos das secreções nasais.

uma resposta antitoxina. Quando a natureza imunológica da rinite alérgica foi reconhecida, este tipo de terapêutica inicialmente designada por dessensibilização ou hipossensibilização passou a ser conhecida como Imunoterapia. Embora amplamente usada desde 1920, somente por volta de 1955 começaram a surgir os primeiros estudos controlados que avaliam a eficácia desta forma de terapêutica. Alguns destes estudos mostraram ser a Imunoterapia uma forma de tratamento eficaz em reacções anafiláticas secundárias a picadas de himenópteros²⁵ e na asma e rinoconjuntivite por pólen^{26,27,28,29}. Esta doença, é aliás uma das indicações mais precisas para a instituição desta forma de terapêutica²⁰. O alívio sintomático que se obtém nesta situação é altamente específico para o alérgeno em causa e não altera os sintomas para antígenos não relacionados imunologicamente^{30,31}. Outros autores têm sugerido que os efeitos podem estar dependentes das doses de alérgeno utilizadas, sendo as doses mais elevadas as mais eficazes^{32,33}. Esta melhoria sintomática foi encontrada muito precocemente após atingida a dose de manutenção por *Urbanek e cols* e *Bousquet* na rinite polínica^{34,35}.

Imunologicamente, a IT provoca uma série de modificações no sangue periférico e na mucosa nasal, que se pensa serem em parte responsáveis pelo alívio dos sintomas. No soro, há um aumento gradual e progressivo dos níveis de IgG^{21,34,36}, um aumento inicial dos níveis de IgE, e bloqueio da elevação da IgE observada durante a estação polínica³³, com redução posterior, gradual e progressiva, ao longo de vários anos, podendo no entanto nunca atingir a normalidade³⁶. A amplitude destas variações parece ter uma fraca associação com o alívio sintomático³⁶.

Vários estudos, utilizando líquido de lavagem nasal, e material de biópsias da mucosa nasal colhidos durante a exposição natural ou provocação experimental com o alérgeno, têm tentado esclarecer os mecanismos fisiopatológicos subjacentes à rinite alérgica. Caracteristicamente, a reacção alérgica nasal, envolve a libertação de mediadores de hipersensibilidade e um infiltrado de células inflamatórias no qual predominam

os eosinófilos^{3,37}. Esta célula, considerada como o principal marcador da inflamação alérgica³⁸ tem sido correlacionada com a gravidade clínica da doença alérgica^{8,9,10} uma vez que para ela tem sido classicamente reclamado um papel prejudicial ao organismo. No entanto, dados de investigação mais recentes indicam que o eosinófilo pode ter outras funções: interferir na proliferação do linfócito T, na produção de anticorpos pela célula B tendo sido mesmo actualmente sugerido que possa interferir na actividade dos fibroblastos e na síntese e catabolismo de proteoglicanos^{39,40,41}.

Os resultados do nosso estudo evidenciam claramente, um recrutamento de eosinófilos nas secreções nasais durante a estação polínica em todos os doentes ($p < 0,0001$), sendo no entanto os níveis de eosinófilos significativamente mais elevados no grupo submetido a IT do que nos controles ($p < 0,04$). No decurso do 2.º ano de IT, embora se mantivesse o aumento significativo de eosinófilos durante a estação polínica em ambos os grupos, estes deixam de diferir estatisticamente entre si (Quadro I). Os nossos resultados, por um lado, estão de acordo com o referido por outros autores, uma vez que tem sido demonstrado um aumento no número total de eosinófilos e do seu estado de activação na submucosa e epitélio nasal durante a estação polínica^{32,42}. Esta elevação, que ocorre durante a exposição natural, é semelhante à que surge poucos minutos após a provocação local com o antígeno⁴². *Durham e cols*,⁴² encontraram eosinofilia tecidulares em ambas as circunstâncias que resultariam do facto da exposição natural ao alérgeno originar um recrutamento local de eosinófilos e a sua activação, com consequente libertação de mediadores de inflamação. Por outro lado, *Naclério e cols*³² evidenciaram o papel que a IT pode ter na redução do recrutamento eosinofílico no nariz, durante a estação polínica e, a importância que as doses e os esquemas de administração da IT podem ter sobre este recrutamento^{32,42}.

Os nossos resultados, ao contrário do encontrado por *Naclério e cols*³², são consistentes com a hipótese de que, para este esquema de IT (pré-e co-estacional) a

dose de manutenção atingida (800 PNU), o recrutamento eosinófilo observado possa estar dependente não só da exposição natural ao alérgeno^{5,32,42} mas também associado à estimulação antigénica sustentada e mantida pela própria IT. A favor desta hipótese, é o facto, de que aos doentes foi apenas permitida a toma de medicação de recurso, que embora influencie, segundo alguns autores a migração eosinofílica⁴³ não podia ser responsável por aquela discrepância uma vez não existirem diferenças significativas no consumo médio de medicação entre os dois grupos (IT e C). O facto de *Naclério e cols* terem encontrado reduções significativas na percentagem de eosinófilos, logo após o pico da estação polínica, ($p < 0,04$), apenas no grupo submetido às maiores doses de manutenção de IT (24 mcg), sugere que este efeito pode ter sido influenciado pelas doses de manutenção utilizadas, além de que, este efeito foi apenas estudado, neste grupo, ao fim de três anos de IT. Não foi registado o que se passou no início do tratamento, podendo nessa altura, este autor, ter encontrado outros níveis no recrutamento de eosinófilos no nariz, à semelhança do que parece acontecer no nosso estudo quando os doentes são avaliados no 1.º e 2.º ano de imunoterapia, uma vez que a elevação dos eosinófilos encontrada no 1.º ano de IT se esbate já no 2.º ano.

Não encontramos nenhuma relação entre os níveis de IgE e o número de eosinófilos, em qualquer dos períodos, e particularmente entre a IgE basal e os eosinófilos durante a estação polínica, sugerindo que o recrutamento destas células no nariz não tem relação directa com a intensidade de sensibilização, quando esta é avaliada pelos níveis séricos de IgE específica.

Assim, o recrutamento dos eosinófilos na mucosa nasal poderia estar aumentado, nesta forma de tratamento (pré e co-estacional), à semelhança do que se passa para as variações dos níveis de IgE durante os primeiros anos de IT^{33,36}, e em relação ao efeito desta, sobre a hiperreactividade brônquica inespecífica, que não sendo modificada, segundo alguns autores^{44,45,46}, pode até ser agravada nas fases iniciais do tratamento⁴⁷, e à reduzida melhoria clínica, observada por outros⁴⁸.

As oscilações encontradas nos níveis de IgE nos dois anos de tratamento (Fig. 2 e 3) estão de acordo com o observado por outros autores na mesma situação³⁶. Assim, apesar de *Sherman e cols*⁴⁹ terem demonstrado em 1940 que alguns doentes com alergia a pólenes de gramineas tinham reduções acentuadas nos níveis de IgE, tem sido classicamente descrita a subida de IgE específica nos primeiros meses após início do tratamento, antes da redução daqueles valores ser observado, algumas vezes, apenas alguns anos depois.

No nosso grupo de doentes, as elevações mais marcadas dos níveis de IgE foram observadas no grupo

controle, após a estação polínica ($p < 0,001$), tendo-se registado uma atenuação deste aumento no grupo submetido a IT, com subida posterior, antes do início de IT na estação seguinte (Fig. 3).

Nos doentes em que foi possível dosar a IgG específica em dois anos de IT, observamos o seu aumento significativo durante a estação polínica, isto é, no período final de imunização, e de exposição natural ao alérgeno, tanto no 1.º como no 2.º ano de tratamento. Em contraste, no grupo controle não houve qualquer variação significativa daqueles níveis (Fig. 3). De facto, uma das alterações imunológicas mais consistentes que ocorre durante a imunoterapia é o aumento dos níveis de IgG específica⁵⁰, parâmetro que segundo *Rocklin*⁵¹ melhor se correlaciona com a sua eficácia clínica. Estes resultados sugerem que os efeitos de imunomodulação da IT que aplicamos aos nossos doentes se manifestam particularmente no período de imunização activa (i.e pré e co-estacional), uma vez que os níveis de IgG específica voltam a baixar para valores idênticos aos do início do tratamento, após a sua suspensão.

As correlações positivas encontradas, nos dois anos de estudo, entre os níveis de IgG e de IgE específica, (Fig. 4) estão de acordo com o descrito na literatura quanto aos aumentos iniciais observados para a IgE e a elevação esperada dos níveis de IgG.

A relação estatisticamente significativa encontrada entre os valores séricos de IgG e os eosinófilos nasais ($p < 0,05$) nos dois anos de IT, particularmente evidente no 1.º ano de tratamento ($p < 0,001$), tem provavelmente a ver com o facto daquelas células terem tido um aumento mais acentuado durante a estação polínica, no 1.º ano de tratamento, paralelamente com a elevação dos níveis séricos de IgG específica.

Em conclusão: este estudo evidencia que esta forma de IT, (pré e co-estacional), tem efeitos moduladores sobre o sistema imunológico, comprovados pelas alterações que provoca nas imunoglobulinas, em particular nos níveis de IgG específica, aumentando numa forma estatisticamente significativa os seus valores durante os períodos de imunização activa, e potenciando o recrutamento de eosinófilos nas secreções nasais, que ocorre durante a exposição natural ao antigénio. Embora fosse evidente o efeito da IT sobre os níveis de IgE, quando comparados com os controles, este, não será um bom parâmetro para avaliar os efeitos da IT. Assim, apesar de não serem ainda aparentes os mecanismos envolvidos na possível relação entre a subida de IgG observada e o recrutamento inicial de eosinófilos, estes, parecem ser parâmetros válidos para, em estudos longitudinais, se estudar e compreender os mecanismos envolvidos nesta forma de tratamento.

1. Norman PS. Allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 75:531-546.
2. Okuda M, Otsuda H, Kawabori S. Basophil leukocytes and mast cells in the nose. *Eur J Resp Dis* 1983; 64 (suppl 128): 7-14.
3. Bascom R, Pipkorn U, Lichtenstein LM, Naclerio RM. The influx of inflammatory cells into nasal washings during the late response to antigen challenge: effect of corticosteroid pretreatment. *Am Rev Resp Dis* 1988; 138:406-12.
4. Viegas M, Gomez E, Brooks J, Gatland D, Davies RJ. Effect of the pollen season on nasal mast cells. *Br Med J* 1987; 294:414.
5. Pipkorn U, Karlsson G, Enerback L. The cellular response of the human allergic mucosa to natural allergen exposure. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 82:1056-54.
6. Pipkorn U, Proud D, Lichtenstein LM, et al. Effect of short term systemic glucocorticoid treatment on human nasal mediator release after antigen challenge. *J Clin Invest* 1987; 80:957-61.
7. Naclerio RM, Meir HL, Kagey-Sobotka A, Adkinson NF, Meyers DA, Norman PS, Lichtenstein LM. Mediator release after nasal and challenge with allergen. *Am Rev Resp Dis* 1983; 128:597-602.
8. Venge P, Hakansson L. Current understanding of the role of the eosinophil granulocyte in asthma. *Clin Exp Allergy* 1991; 21 (supl. 3): 31-37.
9. Rak S, Bjornson A, Hakanson L et al. The effect of immunotherapy on eosinophil accumulation and production of chemotactic activity in the lung of subjects with asthma during natural pollen exposure. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88:878-888.
10. Linder A, Venge P, Deuschl H. Eosinophil cationic protein and mieloperoxidase in nasal secretions as markers of inflammation in allergic rhinitis. *Allergy* 1987; 42:583-590.
11. Bascom R, Pipkorn U, Lichtenstein LM, Naclerio RM. The influx of inflammatory cells into nasal washings during the late response to antigen challenge. *Am Rev Resp Dis* 1988; 138:406-412.
12. Eyer mann C. Nasal manifestations of allergy. *Ann Otol Rhin Laryng* 1927;36:808-15.
13. Lindsay Jr, Walsh TE. Nasal secretions - the value of cytologic examination to the rhinologist. *Arch Otol* 1933; 17:83-6.
14. Freeman J. Further observation to the treatment of hay fever by hipodermic inoculation of pollen vaccine. *Lancet* 1911;2:814.
15. Noon L. Prophylactic inoculation for hay fever. *Lancet* 1911; 1:1572.
16. Van Metre T, Adkinson NF jr. Immunotherapy for aeroallergen disease. Middleton E jr, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NF jr, Yunginger JW, eds. *Allergy: Principles and Practice*, vol 2. 3rd ed. St. Louis: CV Mosby, 1988; 1327-44.
17. Lowell FC, Franklin W. A double blind study of the effectiveness and specificity of injection therapy in ragweed hay fever. *N Engl J Med* 1975; 273:675.
18. Franklin W, Lowell FC. Comparison of two dosages of ragweed extract in the treatment of pollinosis. *Jama* 1967; 201:91.
19. Norman PS, Winkenwerder WL, Lichtenstein LM. Maintenance immunotherapy in ragweed hay fever: booster injections at six weeks intervals. *J Allergy* 1971; 47:273.
20. Weeke, Malling H-J, eds. Immunotherapy. Position Paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy* 1993; Suppl. 14:9-35.
21. Creticos PS, Van Metre TE, Mardiney MR, Rosenberg GL, Norman PS, Adkinson NF jr. Dose response of IgE and IgG antibodies during ragweed immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73-94-104.
22. Platts-Mills TAE, Von Maur PK, Ishisaka K, Norman PS, Lichtenstein LM. IgA and IgG anti-ragweed antibodies in nasal secretions. *J Clin Invest* 1976; 57:1041-50.
23. Durham SR. Allergic rhinitis: basic mechanism and influence of treatment. *Rev Port Imunoalerg* 1994; 2(2): 85-88.
24. Varney V, Gaga M, Frew AJ, Aber VR, Kay AB, Durham SR. Usefulness of immunotherapy in patients with severe summer hay fever uncontrolled by antiallergic drugs. *BMJ* 1991; 302:265-269.
25. Hunt KJ, Sobotka AK, Amodio FJ, Valentine M D, Benton AW, Lichtenstein LM. A controlled trial of immunotherapy in insect hypersensitivity. *N Eng J Med* 1978; 299-257-61.
26. Norman PS. An overview of immunotherapy: implications for the future. *J Allergy Clin Immunol* 1980; 65:87-96.
27. Lichtenstein LM, Norman PS, Winkerwerder WL. A single year of immunotherapy for ragweed hay fever: immunologic and clinical studies. *Ann Intern Med* 1971; 75:663-71.
28. Viander L, Koivikko A. The seasonal symptoms of hyposensitized and untreated hay fever patients in relation to birch pollen counts: correlations with nasal sensitivity, prick tests and RAST. *Clin Allergy* 1978;8:387-396.
29. Pence HL, Mitchell DQ, Greely RL, Selfridge HA. Immunotherapy for mountain cedar pollinosis: a double blind controlled study. *J Allergy Clin Immunol* 1976; 58:39-50.
30. Lowell FC, Franklin W. A "double blind" study of treatment with aqueous allergenic extracts in cases of allergic rhinitis. *J Allergy* 1963; 34:165.
31. Norman PS, Lichtenstein LM. The clinical and immunological specificity of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1978; 61:370.
32. Furin M, Norman PS, Creticos PS, Proud D, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM, Naclerio M. Immunotherapy decreases antigen induced eosinophil cell migration into the nasal cavity. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88(1): 27-32.
33. Rocklin RE. Clinical and immunologic aspects of allergen specific immunotherapy in patients with seasonal allergic rhinitis and/or allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 72(4): 323-334.
34. Urbanek R, Holgersson M, Dreborg. Changes in conjunctival provocation test (CPT) and skin prick test (SPT), specific IgE and IgG during immunotherapy (IT) with grass pollen preparations (PP). *Ann Allergy* 1985; 55; 259.
35. Bousquet J, Hejjaoui A, Skassa-Brociek W, et al. Double blind placebo controlled immunotherapy with mixed grass pollen allergoids. Rush immunotherapy with pollen allergoids and standardized orchard grass pollen. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 80: 391-398.
36. Lichtenstein LM, Ishizaka K, Norman PS, et al. IgE antibody measurements in ragweed hay fever: relationship to clinical severity and the results of immunotherapy. *J Clin Invest* 1973; 52:210.
37. Klemenstsson H. Eosinophils and the pathophysiology of allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 1992; 22:1058-64.
38. Venge P. The eosinophil granulocyte in allergic inflammation. *Pediatr Allergy Immunol* 1993;4(suppl): 19-24.
39. Peterson CG, Skoog V, Venge P. Human eosinophil cationic proteins (ECP and EPX) and their suppressive effects on lymphocyte proliferation. *Immunology* 1986; 171:1-13.

40. **Kimata Hiyoshida A, Ioshioka C et al.** Eosinophil cationic protein inhibits immunoglobulin production and proliferation in vitro in human plasma cells. *Cell Immunol* 1992; 141:422-432.
41. **Pincus SH, Ramesh KS, Wyler DJ.** Eosinophil stimulates fibroblasts DNA synthesis. *Blood* 1987; 70(2): 572-574.
42. **Bentley AM, Jacobson MR, Kay AB, Durham SR.** Immunohistology of the nasal mucosa in seasonal allergic rhinitis: Increases in activated eosinophils and epithelial mast cells. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89 (4): 877-883.
43. **Cuss F.** Eosinophilia in nasal and bronchial lavage is inhibited by loratadine. *Clin Exp Allergy* 1990; 1: abstract OP86.
44. **Warner JO, Soothill JF, Price JF, Hey EN.** Controlled trial of hyposensitization to Dermatophagoides Pteronyssinus in children with asthma. *Lancet* 1978; 2:912-15.
45. **British Thoracic Association.** A trial of house dust mite in bronchial asthma. *Br J Dis Chest* 1979; 73:260-70.
46. **Lichtenstein LM, Valentine M, Norman PS.** A reevaluation of immunotherapy for asthma. *Am Rev Resp Dis* 1984; 129:657-659.
47. **Murray AB, Ferguson AC, Morrisson BJ.** Non allergic hyperreactivity in asthmatic children decreases with age and increases with mite immunotherapy. *Ann Allergy* 1985; 54:541-544.
48. **Frankland AW.** Anaphylatic reaction to desensitization. *Br Med J* 1980; 281:1429.
49. **Sherman WB, Stull A, Cooke RA.** Serologic changes in hay fever cases treated over a period of years. *J Allergy* 1940; 11:225.
50. **Moss RB, Hsu Yao-Pi, Kwasnicki JM, Sullivan MM, Reid MJ.** Isotypic and antigenic restriction of the blocking antibody response to ryegrass pollen: Correlation of rye group I antigen specific IgG1 with clinical response. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 79(2): 387-397.
51. **Gurka G, Rocklin R.** Immunologic responses during allergen-specific immunotherapy for respiratory allergy. *Ann Allergy* 1988; 61:239-243.