

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 exhaustivamente 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 alérgicas 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 $5,5 \mu\text{g}$ (total anual: $62,5 \mu\text{g}$).

Grupo 2 (G2) – um grupo de ITE com o mesmo extracto acima referido mas com doses mensais de $55 \mu\text{g}$ (total anual: $625 \mu\text{g}$).

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 (DEPIGOID®, 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 $5,5 \mu\text{g}$ do extracto modificado de *Dermatophagoides pteronyssinus*, enquanto que nos doentes do grupo 2 a dose foi de $55 \mu\text{g}$. A administração dos extractos alérgicos 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 efectuada 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

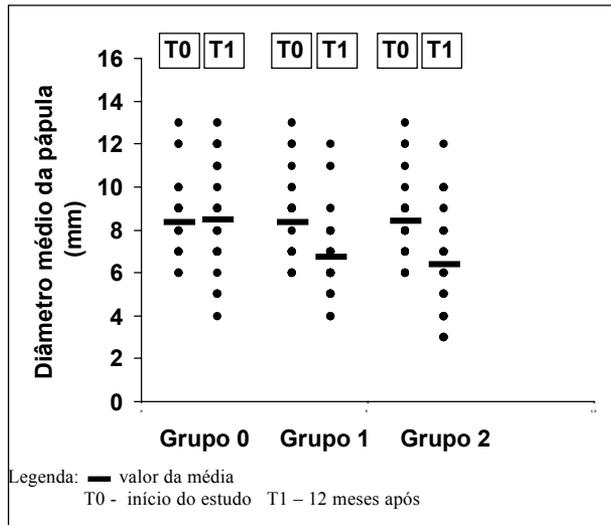


Figura 1 – Evolução dos testes cutâneos em picada

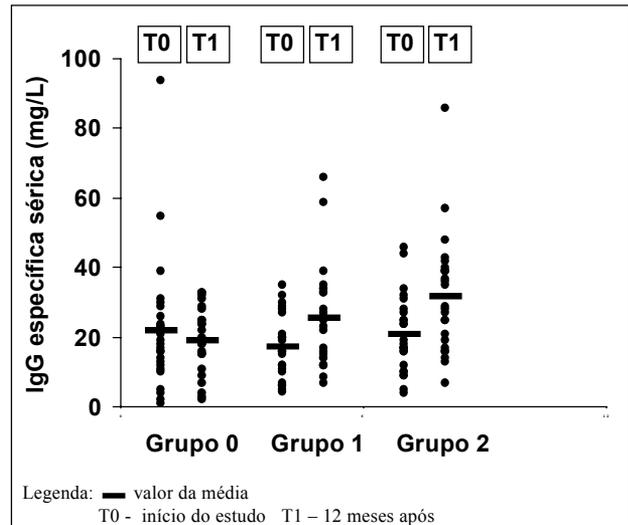


Figura 3 – Evolução dos valores de IgG específica sérica

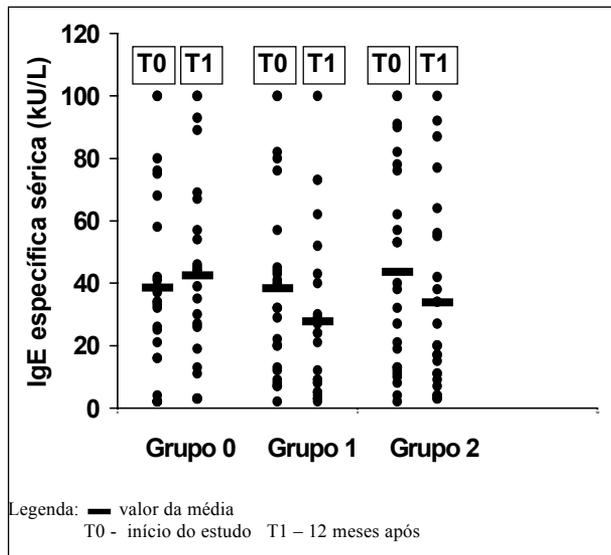


Figura 2 – Evolução dos valores de IgE específica sérica

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

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

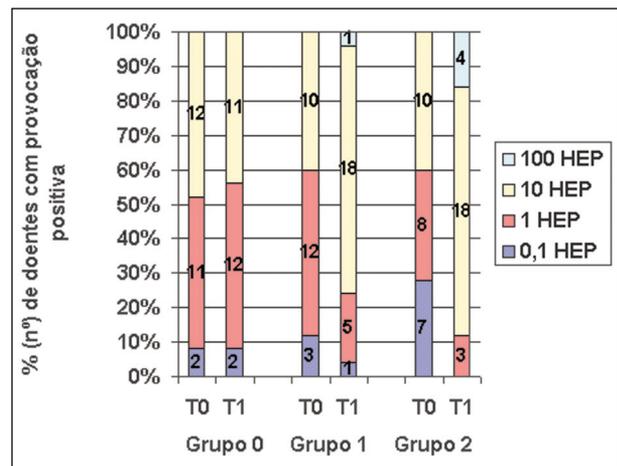


Figura 4 – Evolução dos limiares alérgicos de positividade da provocação nasal

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 positivities 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;104:425-32.
5. Leynadier F, Banoun L, Dollois B, Terrier P, Epstein M, Guinnepain 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, Orszyszyn 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 gama, 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.