

GRASS POLLEN IMMUNOTHERAPY: IL-10 INDUCTION AND SUPPRESSION OF LATE RESPONSES PRECEDES IgG4 INHIBITORY ANTIBODY ACTIVITY

Francis JN, James LK, Paraskevopoulos G, Wong C,
Calderon MA, Durham SR, et al.

J Allergy Clin Immunol. 2008;121:1120-5.

Introdução – A imunoterapia (IT) com pólenes de gramíneas é um tratamento eficaz na rinite alérgica sazonal, induzindo mecanismos imunológicos reguladores celulares (IL-10 e células CD4+ e CD25+) e humorais (anticorpos IgG4 específicos). A evolução da resposta imunológica à IT e a sua relação com os marcadores clínicos de dessensibilização ao alérgeno nunca foi avaliada. Os autores colocam a hipótese de a produção de IL 10 ser um evento inicial induzindo respostas IgG4 inibitórias específicas do alérgeno.

Material e métodos – Dezoito doentes com rinite alérgica ao pólen de *Phleum*, com mau controlo sintomático, apesar da terapêutica farmacológica instituída, foram randomizados de forma duplamente cega (2:1) para receber IT subcutânea (ALK-Abelló®) com pólen de *Phleum* ou placebo. Foram realizadas: colheita sanguínea e injeção intradérmica de alérgeno para avaliação de resposta cutânea imediata e tardia, quinzenalmente, durante a fase de indução, e mensalmente, durante a fase de manutenção (10 meses), prova de provocação conjuntival e avaliação global de score de sintomas no final, determinação de citocinas no sobrenadante de cultura de células mononucleares pe-

riféricas, IgE, IgA e IgG4 específicas, teste de libertação de histamina e ensaio de ligação do complexo IgE-alérgeno aos linfócitos B por citometria de fluxo.

Resultados – Após um ano de tratamento, o grupo activo apresentou um melhoria do score global de sintomas ($p < 0,05$), concentrações significativamente maiores de alérgeno de *Phleum* para obter uma prova de provocação conjuntival positiva, redução de 33% na resposta tardia à administração intradérmica do alérgeno logo após 2 sem de tratamento, sendo que a redução de resposta imediata ocorreu mais tarde (semana 12). Detectou-se, também, aumento significativo de IgG4 específica na semana 12 (padrão semelhante para a IgA), inibição da libertação de histamina dos basófilos e da ligação dos complexos IgE-alérgeno aos linfócitos B na semana 6 e aumento da produção de IL-10 na semana 4. No grupo placebo verificou-se redução de 53% da resposta cutânea tardia às 6 semanas, aumento de IgG4 com uma ordem de grandeza 10 vezes menor relativamente ao grupo de IT e aumento progressivo da inibição da ligação aos linfócitos B que atingiu significado na semana 30. Não se verificaram diferenças no valor de IgE em ambos os grupos.

Discussão – A supressão precoce da resposta cutânea tardia e a indução de IL-10 na IT convencional, não sendo suficientes *per se* para justificar uma dessensibilização clínica, reflectem o efeito indirecto da IL-10 nos mecanismos celulares. Os resultados do teste de libertação de histamina e o ensaio de ligação do complexo IgE-alérgeno demonstraram que a IT pode induzir a actividade de anticorpos inibitórios. O facto de estes eventos precederem a redução da resposta cutânea imediata sugere um papel dos anticorpos bloqueantes na resposta mediada por IgE. Parece existir uma rela-

ção causal entre a IL-10 e a produção de IgG4, consistente com a sequência temporal de eventos. As alterações registadas nos testes de provocação e resposta imunológica no grupo placebo poderão ser explicadas pela exposição a administrações intra-dérmicas repetidas de alérgeno.

Conclusão – A indução rápida de IL-10 em resposta à imunoterapia com doses baixas de pólen de gramíneas precede a protecção clínica e a produção de anticorpos inibitórios. A IL-10 pode contribuir para este processo através da formação de células B de memória IgG4. Estes dados podem ser úteis para monitorizar a resposta ao tratamento ou prever a eficácia durante fases precoces da IT.

Comentário – Este artigo descreve pela primeira vez, num estudo randomizado e controlado com placebo, a sequência de eventos imunológicos que ocorrem no decurso da imunoterapia específica. A relação que estabelece com alguns marcadores clínicos de dessensibilização reforça a plausibilidade imunológica desta forma de tratamento.

Cristina Lopes Abreu

ASTHMA EXACERBATIONS DURING THE FIRST TRIMESTER OF PREGNANCY AND THE RISK OF CONGENITAL MALFORMATIONS AMONG ASTHMATIC WOMEN

Blais L, Forget A

J Allergy Clin Immunol 2008; 121: 1379-84.

Introdução – A asma é uma doença crónica que afecta frequentemente a gravidez. O objectivo da terapêutica da asma é manter o controlo da doença, prevenindo as exacerbações. Estas não são eventos raros durante a gravidez. Tem sido colocada a hipótese de a asma materna, se não controlada neste período, causar malformações congénitas do feto.

Objectivo – Investigar se as grávidas asmáticas que apresentam exacerbações no primeiro trimestre de gravidez têm maior risco de ter um filho com malformação congénita.

Métodos – Através da interligação de três bases de dados administrativas da província canadiana do Quebec, as autoras reconstruíram uma coorte de 4344 gravidezes de asmáticas. As bases de dados utilizadas foram: 1. RAMQ (*Régie de l'assurance-maladie du Québec*): fornece informação dos serviços médicos prestados a todos os residentes do Quebec e dos fármacos prescritos dispensados nas farmácias aos residentes com este seguro; 2. MED-ECHO: contém informação sobre todas as hospitalizações ocorridas na província; 3. ISQ (*Institut de la Statistique du Québec*): fornece informação sobre todos os nascimentos. Constituíram critérios de inclusão: 1) Gravidez que resulta num parto, entre 1990 e 2000; 2) Ter entre 13 e 45 anos na altura da concepção; 3) Apresentar diagnóstico de asma (ICD9) e pelo menos uma prescrição para a asma nos 2 anos prévios ou na gravidez; 4) Estar coberta pelo plano de seguro RAMQ pelo menos 1 ano antes e durante toda a gravidez. Apenas foram consideradas as duas primeiras gravidezes, para cada mulher. As asmáticas que tomaram cronicamente corticosteróides (CTC) orais no ano prévio à gravidez foram excluídas. Foram pesquisadas as exacerbações de asma no primeiro trimestre de gravidez, sendo definidas como: prescrição de CTC oral, recurso a serviço de urgência ou hospitalização por asma. As malformações congénitas foram verificadas ao nascimento e durante o primeiro ano de vida das crianças, utilizando os diagnósticos registados na base de dados (ICD9). A lista de malformações congénitas foi verificada por geneticista que as classificou em *major* e *minor*. Foram consideradas variáveis potencialmente causadoras de confusão: características sociodemográficas maternas (idade na concepção, apoio da assistência social, área de residência e nível de educação), condições crónicas maternas (diabetes *mellitus*, epilepsia e medicação teratogénica no primeiro trimestre), variáveis relacionadas com a gravidez (paridade e gemelaridade) e variáveis relacionada com a asma (gravidade prévia e terapêutica na gravidez). A associação entre as exacerbações de asma materna e o risco de malformações congénitas foi investigada com dois modelos GEE (*generalized estimating equation*). Dois modelos de regressão logística foram utilizados para avaliar

as mesmas associações nas asmáticas que não tomaram CTC na gravidez. Esta análise foi efectuada com o objectivo de separar o efeito da medicação do das exacerbações.

Resultados – Foram identificados 398 (9,2%) RN com pelo menos uma malformação e 261 (6%) com uma malformação *major*. As prevalências de malformações foram de 12,8% e de 8,9%, respectivamente, para grávidas asmáticas que tiveram e que não tiveram exacerbações. O *odds ratio* ajustado para todas as malformações foi de 1,48 (IC 95%, 1,04-2,09) quando comparadas grávidas que apresentaram e que não apresentaram exacerbações, e de 1,32 (IC 95%, 0,86-2,04) para as malformações *major*.

Da análise da subcoorte de grávidas que não tomaram CTC orais, verificou-se que o risco de malformações *major* foi ainda maior (2 vezes) nas mulheres com exacerbações da asma no primeiro trimestre (OR, 1,95; IC 95%, 1,03-3,72). As malformações mais frequentes foram músculo-esqueléticas (19%), seguidas das cardíacas (17,6%).

Conclusão – As autoras concluem que as exacerbações de asma durante o 1.º trimestre de gravidez aumentaram significativamente o risco de malformação congénita.

Comentários – Diversos estudos têm investigado a associação entre as agudizações da asma na gravidez e o risco de malformações congénitas. Esses estudos avaliam as exacerbações que ocorrem em qualquer altura da gravidez, sem atenção especial ao primeiro trimestre, reconhecido como um período da embriogénese no qual as malformações congénitas se desenvolvem. A asma materna não controlada e as exacerbações são potencialmente perigosas para o feto, dado poderem provocar hipoxia materna e alcalose respiratória, diminuindo o fluxo sanguíneo placentário. A diminuição do oxigénio sanguíneo fetal resulta em crescimento e desenvolvimento anormal do feto. Assim, e apesar de o primeiro trimestre e último mês da gravidez serem os períodos com menor índice de agudizações da asma, como têm evidenciado vários estudos, as agudizações que ocorrem no primeiro trimestre podem ser cruciais.

A relevância deste estudo assenta, por conseguinte, na incidência nesse período da gravidez, apresentando um tamanho de amostra considerável, tendo por base registos

de dados efectuados na data e marcadores objectivos das exacerbações da asma. Poderão, contudo, ser apontadas algumas limitações, como referem as autoras, nomeadamente: 1) O uso da medicação é inferido pela medicação obtida na farmácia (não há garantia de toma efectiva); 2) Grande proporção das malformações congénitas são de origem desconhecida, não podendo, portanto, ser descartada a possibilidade de existência de variáveis geradoras de confusão residual; 3) A coorte não representa mulheres de estatuto socioeconómico alto; 4) Não foi estratificada amostra por nível de gravidade da asma (maioria persistente ligeira).

Termino com a mensagem final das autoras: “Os profissionais de saúde devem encorajar as mulheres asmáticas grávidas a manter a sua terapêutica de controlo, de forma a manter a doença controlada, evitando as exacerbações, o uso de CTC orais e reduzindo o risco de malformações congénitas.”

Eunice Dias de Castro

COMPARISON OF TWO BASOPHIL ACTIVATION MARKERS CD63 AND CD203C IN THE DIAGNOSIS OF AMOXICILLIN ALLERGY

Abuaf N, Rostane H, Rajoely B, Gaouar H, Autergarden JE, Leynadier F, *et al.*

Clin Exp Allergy 2008; 38: 921-8.

Introdução – O teste de activação dos basófilos (TAB) por citometria de fluxo baseada na expressão de CD63 está descrito para o uso no diagnóstico de alergia aos beta-lactâmicos. O CD203c é um marcador de activação basofílica mais recente. Actualmente, não existe consenso quanto ao marcador com maior sensibilidade no diagnóstico de alergia aos beta-lactâmicos.

Objectivo – O objectivo do estudo foi comparar o uso de CD203c e CD63 e determinar qual possui maior sensibilidade no diagnóstico de alergia à amoxicilina.

Métodos – Vinte e sete doentes com testes cutâneos positivos imediatos à amoxicilina (20 com anafilaxia e 7 com urticária e/ou angioedema após a toma de amoxicilina) foram comparados com 14 controlos sem alergia aos beta-lactâmicos e 6 doentes com testes cutâneos positivos tardiamente à amoxicilina.

Resultados – No grupo da anafilaxia, a amoxicilina associou-se a um aumento de expressão de CD203c nos basófilos de 12 dos 20 doentes (60%) e a um aumento de CD63 em apenas 4 doentes (20%) ($P < 0,02$). Dois dos sete doentes com urticária ou angioedema tiveram resultados positivos com CD203c e CD63. Nos doentes com anafilaxia (nem todos puderam ser testados com ampicilina), a ampicilina conseguiu induzir um aumento da expressão de CD203c em 8 de 12 (67%) doentes testados e aumento de CD63 em 4 dos 12 testados (33%). Resultados falsos positivos foram observados com o CD203c, assim como com o CD63; em 10 doentes foram confirmados por prova de provocação negativa. Os diferentes resultados obtidos com os dois marcadores resultam de dificuldades técnicas na selecção dos basófilos por contaminação por monócitos, usando uma marcação anti-IgE. Contrastando com o CD63, o CD203c é um marcador de activação com um baixo nível de expressão basal nos basófilos. A dupla marcação dos basófilos com anti-IgE e CD203c evita a contaminação com monócitos.

Conclusão – O CD203c parece ser um marcador de activação mais sensível do que o CD63 no diagnóstico de alergia à amoxicilina.

Comentário – Este estudo é fundamental no âmbito da investigação *in vitro* da alergia aos beta-lactâmicos. Os autores

procuram aperfeiçoar uma metodologia diagnóstica, o TAB, para responder à necessidade emergente de um diagnóstico biológico correcto de alergia aos beta-lactâmicos. A maioria dos doentes com suspeição de alergia aos beta-lactâmicos consegue tolerar estes antibióticos. Um falso diagnóstico de alergia à penicilina associa-se à diminuição da utilização de um antibiótico potente, com consequências graves para a saúde pública. Nos EUA, a causa mais frequente para o aparecimento de resistências bacterianas à vancomicina é o seu uso em doentes que referem alergia aos beta-lactâmicos.

A sensibilidade dos testes *in vitro* actuais na alergia aos beta-lactâmicos, como o doseamento das IgE específicas, é baixa. Os testes cutâneos são considerados *gold standard* no diagnóstico de alergia aos beta-lactâmicos, mas podem associar-se a anafilaxia em <1%.

Consequentemente, novos testes diagnósticos têm vindo a ser desenvolvidos. O uso do TAB poderá aumentar a sensibilidade diagnóstica, paralelamente a um aumento na segurança da investigação, evitando os testes cutâneos e provas de provocação, particularmente em doentes com história de anafilaxia. Um terço dos doentes com testes cutâneos negativos só são diagnosticados como alérgicos a amoxicilina após provocação medicamentosa, com todos os riscos inerentes a esta.

Este estudo é importante porque demonstra diferentes resultados em termos de sensibilidade, consoante o uso de diferentes marcadores de activação e outras particularidades da técnica, reflectindo sobre a necessidade de validação deste teste.

Anabela Lopes