



Prática de imunoterapia e candidatos biomarcadores: visita à resposta cutânea tardia e à IgG4 específica

Practice of immunotherapy and biomarker candidates: a visit to the late cutaneous response and specific IgG4

Francisco Machado Vieira¹

RESUMO

O sucesso da imunoterapia específica (ITE) com alérgenos está marcado pela diminuição dos sintomas quando da exposição aos mesmos. Significantes aumentos de IgG4 específica têm sido verificados em múltiplos estudos com pacientes recebendo ITE de manutenção por via subcutânea (30-40 vezes). Foi selecionado um grupo de 36 pacientes com idade média de 24 anos (mediana de 22 anos), sendo a maioria do sexo masculino (58%). A característica desses pacientes, com rinite e/ou rinoconjuntivite alérgica, era de estarem em uso na fase de manutenção (mais de 10 meses), ou haviam finalizado a ITE subcutânea nos últimos dois anos, após um período de três a cinco anos consecutivos. Procurou-se verificar as respostas cutâneas imediatas (20 min) e a tardia (de 6h a 8h), após injeção intradérmica (TID) na superfície volar do antebraço de 0,02 mL de extrato alergênico contendo 1AU (unidade de alergia), associada a um grupo controle com rinoconjuntivite sem uso de ITE. Foi analisada a dimensão das pápulas na leitura imediata, observando-se uma semelhança entre os grupos de ITE e de controle ($9,1 \pm 3,3/10,8 \pm 2,1$ mm; $p = 0,124$). Na leitura tardia, nota-se uma dimensão significativamente menor no grupo de ITE ($2,6 \pm 2,6/6,0 \pm 1,6$ mm; $p < 0,001$) em relação ao de controle. Admite-se, portanto, ter havido um elevado aumento da IgG4 específica bloqueadora, influenciando na resposta cutânea do TID. A supressão da resposta cutânea tardia correlaciona-se com o aumento da IgG4, sendo considerados ambos os parâmetros candidatos biomarcadores para ITE.

Descritores: Rinite, alergia e imunologia, imunoterapia, biomarcadores.

ABSTRACT

The success of allergen-specific immunotherapy (SIT) is marked by a decrease in symptoms after exposure to an allergen. Significant increases in specific IgG4 have been seen in multiple studies of patients receiving maintenance SIT subcutaneously (30- to 40-fold). A group of 36 patients was selected; their mean age was 24 years (median age of 22 years), and most were male (58%). These patients had rhinitis and/or allergic rhinoconjunctivitis and were in the maintenance phase (more than 10 months) or had had subcutaneous SIT in the past 2 years, after a period of 3 to 5 consecutive years. Immediate (20 minutes) and late (6 hours to 8 hours) cutaneous responses were examined after intra-dermal injection (IDI) on the volar surface of the forearm of 0.02-mL allergen extract containing 1 AU (allergy unit). A group with rhinoconjunctivitis and not on SIT was used as control. Wheal size in the immediate response was assessed, showing a similarity between the SIT and control groups ($9.1 \pm 3.3/10.8 \pm 2.1$ mm; $p = 0.124$). In the late response, a significantly smaller dimension was observed in the SIT group ($2.6 \pm 2.6/6.0 \pm 1.6$ mm; $p < 0.001$) compared to the control group. Thus, there was a high increase in the specific blocking IgG4, influencing the cutaneous response to the IDI. The suppression of the late cutaneous response correlates with the increase in IgG4, both of which are considered biomarker candidates for SIT.

Keywords: Rhinitis, allergy and immunology, immunotherapy, biomarkers.

Introdução

O sucesso da imunoterapia específica (ITE) com alérgenos está marcado pela diminuição dos sintomas quando da exposição aos mesmos. Associa-se a essa

uma redução do uso da medicação com antialérgicos e uma melhora na qualidade de vida. Esses benefícios persistem, por muitos anos seguidos, após a descon-

1. Clínica de Alergia e Imunologia - Caxias do Sul, RS, Brasil. Membro do Departamento Científico de Alérgenos da ASBAI.

Submetido em: 18/04/2019, aceito em: 03/06/2019.

Arq Asma Alerg Imunol. 2019;3(2):195-8.

tinuação da ITE, que reflete as tolerâncias clínica e imunológica¹.

A ITE está frequentemente associada a um aumento da IgG4 específica e a uma modesta redução de títulos de IgE, embora nem sempre se correlacionem com melhora clínica².

Biomarcadores são parâmetros biológicos que podem medir ou prever, associando-se sua monitoração à severidade da doença ou à eficácia do tratamento³.

A indução de anticorpos IgG com atividade bloqueadora de antígeno ou a competição pelo receptor da IgE manifesta-se na inibição de mediadores da resposta inflamatória em mastócitos e basófilos².

Sugere-se que o sucesso da ITE está associado a mudanças quantitativo-qualitativas da resposta para anticorpos IgG específico. Significativos aumentos de IgG4 específica têm sido verificados em múltiplos estudos com pacientes recebendo imunoterapia de manutenção por via subcutânea (30-40 vezes), comparada com a sublingual (3-4 vezes)⁴. Nesta, existiria maior atividade funcional, embora em concentrações menores, representada por equivalente atividade biológica.

A supressão da resposta cutânea tardia, usando-se antígenos da ITE através de teste intradérmico (TID), correlaciona-se significativamente à dose do extrato usado e à IgG1 e à IgG4 específicas, e à melhora da sintomatologia. A supressão da resposta cutânea tardia pode ser um parâmetro clínico para seguir o monitoramento da ITE⁵. Essa suprime com maior intensidade o resultado, quando comparada à resposta cutânea imediata⁶.

Em pacientes (n = 33) com polinose e sintomáticos da área de Caxias do Sul/RS, foram determinados os níveis de anticorpos IgE, IgG1 e IgG4 específicos para *Lolium multiflorum* (Lm), havendo positividade de 100% a Lm e de 79% a IgG1 e IgG4 respectivamente, considerando-se o índice ELISA (IE = 1,2), $p < 0,01$ ⁷. Estes resultados sugerem que anticorpos específicos IgG4 estariam refletindo uma resposta imunoprotetora natural, porém não suficiente para bloquear os sintomas.

Admite-se que a determinação de IgG4 específica no soro de pacientes poderia ser realizada antes do início da imunoterapia, durante seu transcurso (3-6 meses), e no período de manutenção. Assim, teríamos a dosagem de IgG4 para os principais componentes alergênicos dos ácaros do pó domiciliar (Der p1, Der p2) e do pólen de gramíneas (Phl

p1 e Phl p5). Existe uma restrição, que nem sempre os índices de IgG4 correlacionam-se com a melhora dos sintomas e sua atividade funcional⁸. Propõe-se, entretanto, que seja um candidato biomarcador para a *compliance*. Está associada à monitoração de pacientes, incluindo, portanto, a aderência ao tratamento, afora, provavelmente, a dose e a potência dos extratos empregados⁸⁻¹⁰.

O mecanismo das reações da fase tardia é distinto da fase imediata produzida por mastócitos. A fase tardia está associada ao aumento da hiper-reatividade brônquico-nasal, depreendendo-se que a ITE, quanto ao aspecto clínico, depende de seus efeitos¹¹.

Método

Foi selecionado um grupo de 36 pacientes com idade média de 24 anos (mediana de 22 anos), sendo a maioria do sexo masculino (58%). A característica desses pacientes com rinite e/ou rinoconjuntivite alérgica era de estarem na fase de manutenção, em um período de mais de 10 meses do início, ou haviam finalizado a ITE subcutânea nos últimos 2 anos, após um período de 3 a 5 anos consecutivos com elevadas concentrações, embora com padronização distinta dos alérgenos. Os extratos alergênicos específicos usados adsorvidos de hidróxido de alumínio (DEPOT) eram: *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Blomia tropicalis* e/ou pólen de gramíneas (*Lolium*, *Phleum pratense*, *Cynodon dactylon*), simples ou associados a ácaros. Os extratos alergênicos foram obtidos de distintos laboratórios.

A característica clínica principal dos pacientes era a ausência de sintomas e/ou a necessidade de eventual medicação de resgate, incluindo o período da primavera (polinose), melhor qualidade de vida, considerados em conjunto o padrão-ouro da efetividade da ITE.

Aqueles com alergia perene receberam profilaxia ambiental rigorosa, incluindo o revestimento com capas antiácaros de colchão e travesseiros.

Procurou-se verificar as respostas cutâneas imediata (20 min) e a tardia de 6h a 8h, após injeção intradérmica na superfície volar do antebraço de extrato alergênico contendo 1 AU (unidade alergênica), ou seja, 0,02 mL da solução contendo 50 AU/mL. Considera-se que uma elevada concentração está associada a resultados falso-positivos. Para manter a uniformidade das pápulas, usou-se seringa BD (0,3 mL ou 0,5 mL), permitindo melhor visualização

do volume na escala numérica, colocando o bisel da agulha direcionado para cima. Associou-se um controle negativo (diluyente aquoso) em igual volume. Os pacientes ou seus cuidadores foram informados acerca da natureza do procedimento e de seus objetivos.

A dimensão das pápulas foi obtida através de uma caneta marcadora com ponta fina, e a dimensão média das duas maiores linhas vertical e horizontal. Serviu como controle um grupo de $n = 10$ pacientes com rinoconjuntivite alérgica sem uso de ITE específica, com teste de punctura (pápula ≥ 5 mm), em relação ao controle negativo, sensibilizados aos ácaros *Dermatophagoides*, *Blomia tropicalis* associados ou não a pólen de gramíneas tais como *Lolium multiflorum*, *Cynodon dactylon* e *Paspalum notatum*. Foram diagnosticados com o uso de extratos de alérgenos (FDA Allergenic®), tendo como controles a solução salina diluidora e a histamina (10 mg/mL). Todos os pacientes do estudo não estavam em uso de medicação que pudessem alterar os resultados dos testes.

Resultados

Quando se analisou a dimensão das pápulas na leitura imediata, observou-se semelhança entre os grupos de ITE e de controle ($9,1 \pm 3,3 / 10,8 \pm 2,1$ mm; $p = 0,124$), não servindo, portanto, no caso presente, de preditor de resposta clínica. Todavia, na leitura tardia, nota-se uma significativa dimensão menor no grupo de ITE ($2,6 \pm 2,6 / 6,0 \pm 1,6$ mm; $p < 0,001$) em relação ao de controle. Admite-se, portanto, ter havido um elevado aumento da IgG4 específica bloqueadora influenciando na resposta cutânea tardia. Para análise estatística, foi utilizado o *software* IBM SPSS Statistics 25.0. Em relação às variáveis numéricas, o teste Kolmogorov-Smirnov foi aplicado a fim de verificar a parametricidade dos dados, e para a comparação entre os grupos, foi aplicado o teste *t* de Student.

Discussão

Os resultados obtidos nos testes permitem configurar a utilidade do TID como auxiliar na monitoração de imunoterapia específica. Na atualidade, não existe um biomarcador válido e aceito como preditivo ou indicativo de resposta clínica à ITE, embora existam vários candidatos, entre os quais, a IgG4/IgE (específica), a resposta cutânea tardia e a dosagem da IgG4 específica para a *compliance*⁹. Em particular nesse último caso, pode-se relacionar o seu emprego, especialmente à ITE sublingual, em franca expansão em nosso meio, cujas doses são administradas sem

a presença do médico, com exceção das iniciais ou eventualmente.

Uma das limitações do presente estudo é não ter determinado a IgG4 específica para os alérgenos inalantes, antes, durante e ao término da ITE, assim como o TID na fase inicial. Entretanto, os resultados obtidos com a inibição da resposta cutânea tardia através do TID, em período de manutenção e/ou em final da ITE, fornecem dados compatíveis com aqueles apresentados, através da significativa melhora clínica dos escores de sintomas de rinite e/ou rinoconjuntivite, ao uso de medicação e qualidade de vida.

Diferentemente do presente momento, a dosagem da referida IgG4 não estava, antes, disponível comercialmente em laboratórios no Brasil, afora em centros de pesquisa⁷.

A disponibilidade atual desses diferentes recursos, quando associados ao TID, poderá, em nosso meio, tornar a ITE um tratamento personalizado, com um alcance prático na clínica de alergistas, mesmo fora de centros de pesquisa.

Futuros estudos são necessários para complementar esses resultados.

Agradecimento

Agradecemos a Gustavo Lisbôa de Braga, MD, pela análise estatística.

Referências

1. Matsuoka T, Shamji MH, Durham SR. Allergen immunotherapy and tolerance. *Allergol Intern*. 2013;62:403-13.
2. Wachholz P, Durham SR. Mechanisms of immunotherapy: IgG revisited. *Current opinion in Allergy and Clin Immunol*. 2004;4:313-8.
3. Moingeon P. Biomarkers for allergen immunotherapy. *Immunol and Allergy Clin of North America*. 2016;36:161-79.
4. Lawrence MG, Steinke JW, Borish L. Basic science for the clinician: Mechanisms of sublingual and subcutaneous immunotherapy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2016;117(2):138-42.
5. Parker WA, Whisman BA, Apaliski SJ, Reid MJ. The relationship between late cutaneous responses and specific antibody responses with out come of immunotherapy for seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 1989;84:667-77.
6. Slovick A, Douiri A, Kelly J, Guerra A, Muir R, Tsioulus K, et al. Protocol for a double-blind randomized controlled trial of low dose intradermal grass pollen immunotherapy versus histamine control on symptoms and medication use in adults with seasonal allergic rhinitis (pollen LITE). *Clinical and Translational Allergy*. 2013;3:27.

7. Moreira PFS. Análise da resposta de anticorpos IgE, IgG1 e IgG4 específica a antígenos derivados de grãos de pólen de *Lolium multiflorum* por ELISA e immunoblotting e diagnóstico de alergia por microarray de alérgenos em pacientes com polinose [tese]. Uberlândia (MG): Universidade Federal de Uberlândia; 2010.
8. Shamji MH, Durham SR. Mechanisms of allergen immunotherapy for inhaled allergens and predictive biomarkers. *J Allergy and Clin Immunol*. 2017;140:1.485-98.
9. Shamji MH, Kappen JH, Akdis M, Jensen-Jarolim E, Knol EF, Kleine-Tebbe J, et al. Biomarkers for monitoring clinical efficacy of allergen immunotherapy for allergic rhinoconjunctivitis and allergic asthma: an EAACI Position Paper. *Allergy*. 2017;72:1156-73.
10. Lawrence MG, Steinke JW, Borish L. Basic science for the clinician: mechanisms of sublingual and subcutaneous immunotherapy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2016;117:138-42.
11. Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy: multiple suppressor factors at work in immune tolerance to allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133:621-31.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Correspondência:
Francisco Machado Vieira
E-mail: famvieira@hotmail.com