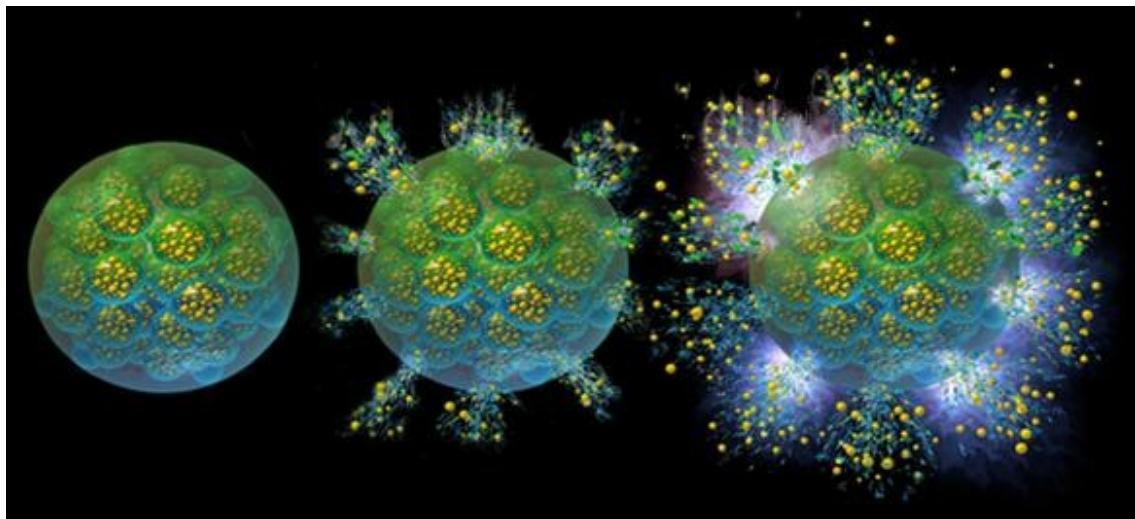


Convocatoria de septiembre de 2012



DEPARTAMENT DE MEDICINA

UNIVERSITAT
AUTÒNOMA DE
BARCELONA

**Modificación de la respuesta alérgica en
pacientes sometidos a trasplante autólogo de
progenitores hematopoyéticos**

Trabajo de Investigación | Adriana Izquierdo Domínguez

Director del Trabajo de Investigación: Cardona, Victòria; Vilardell,
Miquel.

Tutores del Trabajo de Investigación: Labrador, Moises; Sala
Anna.

ÍNDICE

1. Resumen
2. Introducción
3. Revisión y actualización bibliográfica
4. Hipótesis
5. Objetivo
6. Material y Métodos
7. Resultados
8. Discusión
9. Conclusiones
10. Documento Anexo I (Hoja informativa para el paciente) Anexo II (Consentimiento informado)
11. Bibliografía

MEMORIA

1. Resumen

Antecedentes: durante el procedimiento del autotrasplante de progenitores hematopoyéticos se produce en el organismo una modificación y reestructuración del sistema inmunitario. Este “reset” del sistema inmune se ha estudiado en diferentes enfermedades autoinmunes, pero no en enfermedades alérgicas. El objetivo de nuestro estudio es evaluar si los pacientes sometidos a autotrasplante pierden la sensibilización alérgica.

Métodos: estudio prospectivo observacional, donde se incluyeron 28 pacientes sometidos a autotrasplante de progenitores hematopoyéticos, evaluados por historia clínica, IgE total, ISAC, IgE específica, antes y de 4 a 6 meses después del autotrasplante.

Resultados: 6 pacientes resultaron alérgicos pre autotrasplante, en 5 (83%) de ellos la IgE específica junto con la sintomatología alérgica desaparecieron post autotrasplante. Cuando se comparó la IgE total pre autotrasplante de los pacientes alérgicos y los no alérgicos se encontraron diferencias significativas ($p=0.013$), no así cuando se comparó la IgE total post autotrasplante de ambas poblaciones.

Conclusiones: Según los datos preliminares parece haber una pérdida de la respuesta alérgica, tanto “*in vivo*” como “*in vitro*”. Sin embargo, serán necesarios estudios más amplios para obtener resultados con más potencia estadística.

2. Introducción

En la patogénesis de la enfermedad alérgica las células del sistema inmune (mastocitos, eosinófilos, células T y células B) juegan un papel fundamental. La exposición del sistema inmune a un alérgeno genera una respuesta específica contra él en ciertos individuos, sensibilizando células efectoras; tras una segunda exposición frente al mismo alérgeno en algunos pacientes puede producirse una respuesta inmune secundaria generada por las clonas de linfocitos que ya habían reconocido el alérgeno previamente. Esta segunda respuesta es más rápida, mayor y cualitativamente diferente que la primera respuesta debido a la memoria inmunológica. Esta memoria inmunológica es parcial, ya que frente a cada nuevo encuentro se expandirá, no solamente la misma clona de linfocitos específicos sino también se reclutarán nuevos linfocitos vírgenes los cuales pueden tener una vida media más larga al resto de linfocitos generados por expansión clonal, en respuesta al mismo alérgeno. Los linfocitos implicados en la respuesta secundaria se conocen como células de memoria. Las células de memoria pueden ser tanto del tipo B como T. Los alérgenos son absorbidos a través de las mucosas, presentados por las células presentadoras de antígeno a las células T CD4 y promoviendo la diferenciación de éstas a células Th2. Las células Th2 producen citocinas como la interleucina (IL) 4 y la IL-13, que inducen un cambio de clase de inmunoglobulina a IgE y posteriormente se desarrollan células de memoria T y B alérgeno-específicas. La respuesta alérgica se inicia con una fase de reacción inmediata que ocurre cuando el alérgeno (segundo contacto) se une a la IgE fijada al receptor de alta afinidad Fc en la superficie de los mastocitos y basófilos, liberándose mediadores inflamatorios, como la histamina, produciendo los síntomas típicos de la alergia como la rinitis, conjuntivitis o la anafilaxia.

3. Revisión y actualización bibliográfica

Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas

Consiste en la infusión de precursores hematopoyéticos a un receptor que ha sido previamente acondicionado para recibir el injerto y constituye una terapéutica útil, en ocasiones única, para una gran variedad de enfermedades hematológicas y no hematológicas.

La fuente clásica de los progenitores hematopoyéticos para el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) es la médula ósea (MO). Sin embargo, en la actualidad la fuente principal es la sangre periférica, por su mayor facilidad de obtención. En el caso del trasplante autólogo, la sangre periférica representa más del 90% de los trasplantes. También se emplean para este fin células progenitoras hematopoyéticas (CPH) de la sangre periférica (SP), del cordón umbilical (CU) o del hígado fetal. De ahí que el término trasplante de células progenitoras hematopoyéticas sea preferible al de trasplante de médula ósea.

La introducción de este proceder en la práctica clínica no ha sido una tarea simple. Los problemas relacionados con el acondicionamiento del receptor, los estudios de histocompatibilidad, las alteraciones inmunes que aparecen en el período post trasplante, la prevención y el tratamiento de la enfermedad de injerto contra huésped (EICH) y de las infecciones que pueden ocurrir después del trasplante, así como las medidas de aislamiento del enfermo, hacen del TCHP uno de los más complejos dentro del campo de la trasplantología moderna.

Los tipos de TCPH puede clasificarse como:

Alogénico: efectuado entre individuos de una misma especie. El procedimiento implica la infusión de CPH de un donante sano a un paciente que se ha sometido a un tratamiento de acondicionamiento, administrado previamente, con el fin de erradicar las células neoplásicas y la capacidad de respuesta inmune del receptor, para evitar un rechazo del injerto una vez infundido. La principal limitación para la realización de este tipo de trasplante es la disponibilidad de un donante HLA compatible (habitualmente familiar). Sin embargo, los avances obtenidos en la inmunología y la biología molecular, así como la creación de registros de donantes de médula y bancos de sangre

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

de cordón, han permitido ampliar las posibilidades de encontrar donantes histocompatibles no relacionados.

A pesar de que la pareja donante-receptor sea idéntica para los antígenos mayores del sistema HLA, existen otros antígenos de compatibilidad menores, lo que puede provocar que en este trasplante exista una doble barrera inmunológica, y puede ocurrir que:

- a. El receptor rechace las células infundidas (rechazo del injerto).
- b. Las células inmunocompetentes infundidas pueden reconocer como extrañas las células del receptor y reaccionar contra ellas, lo que se conoce como enfermedad injerto contra huésped (EICH).

Ventajas de este tipo de trasplante:

- Se trasplantan CPH sanas.
- Efecto injerto contra tumor.

Desventajas:

- Restringido a una minoría (posibilidad de donante, grupos étnicos, edad, estado general).
- Posibilidad de EICH.
- Mayor rechazo.
- Necesidad de inmunosupresión más agresiva.

Este tipo de trasplante comprende las siguientes variantes:

- *Hermanos HLA-idénticos:* la mayoría de los trasplantes alogénicos se hacen con este tipo de donante.¹
- *Familiares parcialmente compatibles:* para los pacientes que no cuentan con un familiar HLA idéntico, el trasplante haploidéntico de un familiar es una opción.²

La mayor desventaja es el aumento del riesgo y gravedad de la EICH aguda y crónica, aunque la depleción de linfocitos T puede disminuir esta complicación.

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

- *No familiares, total o parcialmente compatibles:* más del 25% de los trasplantes alogénicos son de este tipo. A pesar de la cantidad de donantes disponibles en el registro internacional, es difícil encontrar uno para muchos pacientes, particularmente para las minorías étnicas y raciales.³
- *Sangre de cordón umbilical*

Singénico o isogénico: En este caso, el donante y el receptor son gemelos homocigotos y, por lo tanto, no existen entre ellos diferencias genéticas ni inmunológicas.

Ventajas:

- Poca o ninguna posibilidad de EICH.
- No necesita inmunosupresión.

Desventajas:

- No-efecto injerto contra tumor.
- Mayor posibilidad de recaídas.

Autólogo o autotrasplante: La experiencia acumulada con el trasplante alogénico, permitió comprobar *in vivo* el efecto curativo sobre algunas neoplasias hematológicas del uso de altas dosis de quimioterapia. Sin embargo, el aumento de la dosis se encuentra limitado por la aparición de toxicidades graves. De esta forma, la necesidad de garantizar una función hematopoyética correcta tras un tratamiento quimioradioterápico en dosis elevadas, junto con las limitaciones del trasplante alogénico, ha sido lo que llevó al desarrollo del autotrasplante en los últimos años. Este tipo de trasplante consiste en obtener células progenitoras hematopoyéticas del propio paciente, conservarlas y reinfundirlas, después de administrar dosis de quimioterapia y/o radioterapia ablativa. Aunque su uso comenzó más tarde, en la actualidad es el tipo de trasplante más utilizado.¹

El régimen de acondicionamiento y la extracción de la médula se realizan de forma similar al trasplante alogénico, pero la inmunosupresión post trasplante no es necesaria lo que disminuye las complicaciones. Es importante la criopreservación de las células en este tipo de trasplante.⁴

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

En la actualidad, la fuente más utilizada para el autotrasplante son las células obtenidas de la SP por medio de procedimientos de aféresis.

Ventajas de este tipo de trasplante:

- No requiere la búsqueda de un donante.
- Menor toxicidad relacionada con el proceder.
- Se puede realizar a pacientes de mayor edad (60 - 65 años).
- No existen las complicaciones indeseables de EICH.
- Permite la realización de consolidación en los tumores sólidos, en el momento en que la masa tumoral es menor.
- Se necesita un número menor de células para la reconstrucción medular que en el trasplante alogénico.
- Es una opción en pacientes que por diferentes causas no pueden recibir un trasplante alogénico.

Desventajas:

- Las células recolectadas pueden tener una calidad deficiente.
- Existe el riesgo de contaminación con células tumorales, aunque es menor con el uso de SP.
- Mayor frecuencia de fallo en la recuperación medular debido a defectos en el microambiente medular, influido por la enfermedad de base y/o los tratamientos previos.
- Aumento del porcentaje de recaída por enfermedad mínima residual y no existencia de efecto injerto contra leucemia.

Fuentes de células hematopoyéticas:

Médula ósea: Al donante (o al paciente en el caso de un autotrasplante), se le practican entre 100 y 200 punciones aspirativas en las crestas ilíacas, con las que se obtienen sangre medular. A medida que se extrae la médula se deposita en un medio heparinizado para al final, pasarla a través de filtros de 200 a 300 nm de luz. De esta forma, los grumos medulares se convierten en suspensiones celulares y se eliminan las esquirlas óseas. En el TMO alogénico esta sangre medular se infunde 24 horas después

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

de finalizado el régimen de acondicionamiento por vía intravenosa.

Sangre periférica: Las células pueden ser recolectadas después de la utilización de varios métodos como el uso de quimioterapia, de factor estimulador de colonias (FEC) o de ambos. Después del cuarto o quinto día de la movilización, las células se recolectan por aféresis, con la que se obtienen las células mononucleares, y se reinfunden al donante los otros componentes de la sangre. Para este proceder se requieren 2 accesos venosos.

La movilización inducida por quimioterapia, que se emplea en los trasplantes autólogos, se puede lograr con el uso de varios regímenes mieloablativos, siendo uno de los más utilizados la Ciclofosfamida (CFM). Se ha utilizado el *stem cell factor* (SCF) recombinante en pacientes que no responden a la movilización para trasplantes de SP con FEC o a la combinación de este con quimioterapia.⁵

Ventajas de esta fuente de CPH:

- No hay necesidad de empleo del quirófano y se evitan todos los riesgos que esto conlleva.
- Obtención de un mayor número de células hematopoyéticas.
- Rápida recuperación hematológica después del implante.
- Menor posibilidad de obtención de células malignas.
- Disminución del riesgo de infección del material recolectado.
- Se pueden obtener células hematopoyéticas en situaciones en las que se dificulta su extracción de la médula ósea (mielofibrosis, irradiación pélvica, etc.)

Desventajas:

- Mayor posibilidad de desarrollar EICH dado el mayor contenido de células T.
- Necesidad del uso de factores estimuladores hematopoyéticos en personas sanas.

Cordón umbilical: es la tercera fuente de células para trasplante en adultos y la segunda en niños. Se ha empleado en enfermedades genéticas y malignas y se ha utilizado en pacientes con compatibilidad total o parcial, familiares y no familiares.

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

Para la obtención de estas células se necesitan: mujeres sin historia obstétrica patológica, controles serológicos negativos durante la gestación, ausencia de antecedentes médicos maternos o paternos que supongan un riesgo de trasmisión de enfermedades infecciosas o genéticas a través de la sangre del cordón, desarrollo normal del parto y consentimiento informado firmado por la madre. Se deben excluir partos antes de las 32 semanas, fiebre en el momento del parto mayor a 38° C, inmunización feto-materna y signos de sufrimiento fetal.

Los resultados serológicos, junto con el volumen, celularidad, estudio HLA y grupo sanguíneo, se guardan en un registro confidencial autorizando el uso terapéutico de la donación.

Mecanismo de acción del Autotrasplante sobre enfermedades autoinmunes

Durante los últimos 10 años más de 1000 pacientes con enfermedades autoinmunes recibieron trasplante autólogo de células hematopoyéticas. Este nuevo tratamiento se ha utilizado en esclerosis sistémica, artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico,⁶ con el objetivo de la búsqueda del desarrollo de tolerancia.⁷ Tolerancia es la incapacidad del sistema inmune para generar una respuesta frente a antígenos, ya sean propios o extraños.⁸ La posibilidad de usar el trasplante autólogo como tratamiento de enfermedades autoinmunes se originó en los hallazgos de remisiones de enfermedades autoinmunes coexistentes, en pacientes que eran trasplantados por enfermedades oncológicas.

El mecanismo de generación de tolerancia del sistema inmune específico o adaptativo frente a los antígenos propios, se ha estudiado ampliamente y todavía es objeto de investigación⁷. La rotura de esta tolerancia es el mecanismo patogénico común de la mayoría de las enfermedades autoinmunes, en las que existe producción de anticuerpos contra antígenos propios del paciente. Hasta ahora se aceptan dos mecanismos principales para la diferenciación de los antígenos propios de los ajenos por parte del sistema inmune. El primer mecanismo es la eliminación de aquellos timocitos (linfocitos T inmaduros) que reconocen antígenos propios en el timo (Tolerancia central). El segundo es la inactivación periférica de los linfocitos autorreactivos (Tolerancia periférica).⁹

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

Una vez que se ha roto la tolerancia frente a antígenos propios y el sistema inmune ha iniciado una reacción contra un antígeno propio, no se requiere de la persistencia del estímulo que lo inicio⁹, por eso aunque la infección o lesión que desencadenó el proceso autoinmune haya desaparecido, la enfermedad continua.

Cuando se ha iniciado la destrucción de antígenos propios, los restos pueden ser transportados por fagocitos a órganos linfoideos secundarios donde son procesados por los linfocitos B, estos internalizan los nuevos antígenos, los procesan y presentan a linfocitos T, que si reciben señales coestimuladoras adecuadas pueden activar al linfocito B para que produzca anticuerpos contra estos nuevos antígenos de origen propio: Autoanticuerpos. La continua destrucción del órgano diana perpetua el estímulo para la producción de antígenos y la variabilidad en la producción de los linfocitos B incrementa la especificidad y respuesta.

El trasplante de células hematopoyéticas permitiría reiniciar el proceso y detener el daño celular y con esto parar el ciclo de producción de autoanticuerpos.¹⁰ Al detenerse la función inmune por completo de forma transitoria, habría tiempo para la reparación tisular y volver a “ocultar” los antígenos propios y generar nueva tolerancia a antígenos propios en el sistema inmune regenerado.

Con este procedimiento se espera reiniciar el sistema inmune y colocarlo en un estado inactivo a partir del cual se recupere la tolerancia hacia los antígenos propios.

Es una opción curativa para estas enfermedades autoinmunes, aunque su utilidad está condicionada por la alta toxicidad de la terapia de acondicionamiento como principal problema, reservándola para paciente con peor pronóstico y precisando una evaluación precisa del balance riesgo/beneficio así como la selección adecuada de los pacientes.

Alergia mediada por IgE, una enfermedad de las células B y T

Las personas atópicas presentan una predisposición innata a desarrollar alergia.¹¹ La sensibilización alérgica (respuesta primaria) ocurre probablemente en los primeros años de vida de las personas.¹² Los alérgenos solubles se relacionan con pequeñas cantidades de partículas alergénicas (ej. pólenes) que son absorbidas a través de la

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

mucosa respiratoria o gastrointestinal, promoviendo la diferenciación de las células T CD4 a células Th2. Las Th2 producen citocinas que inducen cambio de clase de distintas inmunoglobulinas a inmunoglobulina E (IgE) y posteriormente se desarrollan células de memoria T y B alérgeno-específicas. Mientras en las fases inmediatas predominan los síntomas mediados por la IgE, las reacciones tardías son principalmente mediadas por las células T.¹³

La prevalencia de alergia en los países industrializados ha superado el 20%, con más de 700 millones de personas afectadas en todo el mundo. Sin embargo la mortalidad causada por las enfermedades alérgicas es relativamente baja, la calidad de vida es significativamente afectada por el asma, la rinitis y los eccemas.¹⁴ La presentación clínica de la alergia más dramática es la anafilaxia, que amenaza la vida, afectando a pacientes pediátricos y adultos (0.05%-25)¹⁵. Estudios familiares multigeneracionales indican claramente un fuerte componente genético de enfermedades atópicas, uno de los estudios reveló que el 51% de niños con historia familiar de atopía desarrollaron enfermedades alérgicas durante los primeros 5 años de vida.¹⁶ Por lo tanto, los niños en los cuales ambos padres padecen graves enfermedades alérgicas como a alimentos o himenópteros tienen un riesgo sustancial a desarrollar reacciones alérgicas graves.¹⁷ Para tales personas son beneficiosas las estrategias de prevención alérgeno-específicas.¹⁸

En individuos susceptibles, la respuesta alérgica del sistema inmune tiene un amplio rango de enfermedades, desde la rinitis alérgica hasta la anafilaxia. El distintivo de la reacción alérgica tipo I es la formación de inmunoglobulina E, anticuerpos contra proteínas del entorno inocuas para pacientes no atópicos, conocidas como alérgenos. La característica mayor del sistema inmune es que es autotolerante.¹⁹ La autotolerancia es mediada por mecanismos que ayudan en la expresión de autoantígenos por varias subpoblaciones de células hematopoyéticas.

Implicaciones terapéuticas dirigidas contra la alergia

a. Intervenciones específicas

Inmunoterapia

Hasta la fecha, el único tratamiento causal de la alergia mediada por IgE es la inmunoterapia específica. La inmunoterapia está en uso desde hace más de 100 años,

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

incluso antes de la identificación de alérgenos. En estos métodos, los extractos contienen alérgenos sintetizados y se administran en dosis crecientes, en la presencia de adyuvantes. Se describen numerosos mecanismos inmunológicos para modular el sistema inmune durante la inmunoterapia.¹⁸ La inducción de anticuerpos bloqueantes IgG específicos es uno de los eventos moduladores más característico, como también es el cambio de respuesta de Th2 a Th1.²⁰ Recientemente se ha sugerido el rol que cumplen las células T reguladoras dependientes de IL-10 y TGF-B.²¹

Los extractos utilizados para la inmunoterapia específica contienen alérgenos adicionales y materiales no alergénicos. Por lo que la efectividad es en algunos casos limitada y se asocia a riesgos sustanciales, como reacciones anafilácticas o inducción de sensibilización a alérgenos adicionales.²² La alternativa son los alérgenos recombinantes. En los últimos 20 años se han aislado y recombinado las secuencias genéticas del DNA de los alérgenos más comunes, de este modo se pueden reproducir con alta pureza.²³ Los alérgenos recombinantes no contienen componentes desconocidos y pueden ser realizados con precisión al perfil de sensibilización de cada individuo.²⁴ Además muchas de las modificaciones de alérgenos recombinantes han sido realizadas con la finalidad de mejorar sus propiedades. Alérgenos hipoalergénicos derivados de alérgenos modificados con alergenicidad reducida, llevaron a una reducción de efectos IgE mediados, pero preservaron la inmunogenicidad mediada por células T.²⁵ Estos recombinantes y alérgenos hipoalergénicos son los candidatos más atractivos para la inmunoterapia, pero aun no están disponibles para la práctica clínica diaria.

Terapia con anticuerpo anti IgE: Omalizumab

Es un tratamiento indicado para el asma, basado en disminuir los niveles de IgE circulante. Es un anticuerpo monoclonal humanizado contra la porción Fc del receptor de la molécula de IgE. Es altamente efectiva en disminuir los niveles de IgE en sangre. Sin embargo, su uso está limitado por el alto coste y el requerimiento permanente de su aplicación. La administración es mediante inyección subcutánea.²⁶

b. Estrategias de intervención alérgeno e IgE independiente.

Terapia inmunosupresora antiproliferativa

Las células plasmáticas de memoria secretan anticuerpos IgE específicos y son de tipo humoral. Representan un desafío terapéutico no satisfecho, porque son

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

resistentes a los tratamientos convencionales, en particular a los medicamentos inmunosupresores y antiinflamatorios. Una vez en su lugar de supervivencia las células plasmáticas secretan anticuerpos resistentes a las amenazas ambientales y a los tratamientos inmunosupresores. Como se ha demostrado en modelos murinos con lupus eritematoso sistémico, tratados con ciclofosfamida en donde no mostraron reducción en la vida media ni en el número de células plasmáticas autorreactivas, inclusive a altas dosis de tratamientos continuaron generando anticuerpos.²⁷

Cura de la alergia por destrucción de la memoria de los alérgenos. Tratamiento con Rituximab-AntiCD20

El CD20 es una proteína expresada en la superficie de las células B. Este es el objetivo del anticuerpo monoclonal Rituximab. La terapia de deplección de las células B en humanos se ha cumplido con éxito en el tratamiento de enfermedades autoinmunes y enfermedades malignas de las células B. sin embargo, este tratamiento elimina las células B CD27+ hasta los 6 meses. Estas células expresan CD20. Las células plasmáticas de la medula ósea casi no expresan CD20. En consecuencia, Rituximab puede inducir un descenso de todas las inmunoglobulinas incluyendo la IgE en el suero de los pacientes. Los anticuerpos autorreactivos y protectores se reducen a diferentes grados, indicando que algunas células secretan anticuerpos patológicos generados antes del inicio clínico de la enfermedad, mientras otras son secretadas por nuevas generaciones, probablemente células plasmáticas de vida media más corta.²⁸

Quimerismos moleculares en alergia

Dada la evidencia que el quimerismo molecular es capaz de inducir tolerancia en trasplante y autoinmunidad, recientemente se ha investigado si esta estrategia puede ser usada para establecer una tolerancia genuina en alergia IgE mediada.

El grupo de Ulrike Baranyi y colaboradores desarrolló un protocolo experimental para la generación de tolerancia de la alergia IgE mediada²⁹. Se utilizó el polen de gramíneas, dada la relevancia clínica, de *Phleum pratense* (Phl p5) que es altamente inmunogénico por vía subcutánea con adyuvante (hidróxido de aluminio) en un modelo murino de ratones BALB/c. Fusionando la proteína completa Phl p5 a un péptido marcado y un péptido transmembrana, generando la expresión de Phl p5 unido a membranas de células hematopoyéticas. La mieloablación del receptor se reconstruyó

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

con transducción de la médula ósea, dando como resultado un quimerismo molecular multiestirpe estable a largo tiempo. La persistencia del quimerismo multiestirpe para este tiempo es indicativo de éxito en la transducción del verdadero HSC. El cual es confirmado por la presencia del quimerismo secundario del trasplante de medula ósea.

La completa ausencia de respuesta frente a isotipos de alta afinidad de Phl p5 se observó en todos los quimerismos, a pesar de repetidas inmunizaciones post trasplante de médula ósea con Phl p5 y se confirmó que era específica generando respuesta frente a un alérgeno no relacionado del polen de abedul: Bet v1. Los quimerismos Phl p5 mostraron una normal efectiva inmunidad celular y humoral contra alérgeno Bet v1, demostrando la especificidad de la tolerancia. La tolerancia de la célula efectora se mostro in vitro en ensayos con basófilos y con prick test in vivo³⁰.

Deplección del sistema inmunológico de memoria seguido de trasplante de células hematopoyéticas.

La terapia experimental emergente es la quimioterapia inmunoablativa seguido del trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos, para pacientes gravemente afectados logrando un tratamiento libre de enfermedad y remisión del 50% de los pacientes refractarios al tratamiento convencional. Alexander et al, reportaron una reconstitución a largo término de las células B y T y, cambios serológicos en 7 pacientes con LES durante un máximo de 8 años después del tratamiento. Ellos observaron que la inmunoablación a altas dosis de quimioterapia, metilprednisolona y globulina anti-timocito fue eficiente y las células T y B, la vida media de las células plasmáticas, incluyendo células autorreactivas.³¹

Se han publicado 3 casos de remisión de enfermedades alérgicas después de trasplante alogénico de células hematopoyéticas de donadores sanos. El primer reporte (Wahn et al³²) fue de un paciente que recibió un trasplante alogénico de su hermana HLA idéntico por anemia de Fanconi. Antes del trasplante el paciente desarrolló anafilaxia durante un acto quirúrgico debido a alergia al látex, presentando IgE específica a látex elevada (>100 KU/L) así como frente a múltiples aeroalérgenos. Después del trasplante los niveles de IgE específica a látex y aeroalérgenos fueron indetectables a los 14 meses y se mantuvieron indetectables a los 20 meses post trasplante.

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

El segundo reporte (Koharazawa et al³³) un paciente con leucemia mieloide crónica y 20 años de historia de eccemas, luego del trasplante de donador sano HLA similar desaparecieron los eccemas a los 70 días del trasplante y sigue sano 4 años post trasplante. Desafortunadamente no reportan los niveles de IgE específica, o total.

El tercer reporte (Hourihane et al³⁴) describe un paciente con inmunodeficiencia no clasificada de células T y B, con asma, eccema leve y episodios de angioedema en relación a la ingesta de cacahuete. Con niveles elevados de IgE específica en suero para cacahuete (23 KU/L). Después del trasplante alogénico de donante no relacionado, el paciente no presenta manifestaciones clínicas y, sus niveles en suero de IgE total que eran muy elevados (2533 IU/ml) luego del trasplante fueron normales (100 IU/ml) hasta 17 meses después. Se repitieron los test cutáneos que fueron negativos y se realizó test de provocación oral con 8gr de cacahuetes que toleró sin incidencias. El paciente continúa consumiendo cacahuetes y mantequilla de cacahuetes sin problemas hasta 24 meses post trasplante.

Hasta la fecha no se han publicado los efectos de trasplante autólogo de células hematopoyéticas en reacciones alérgicas IgE mediadas.

4. Hipótesis

La hipótesis del trabajo es que en el trasplante autólogo de células hematopoyéticas se someten las células a modificaciones permanentes en las poblaciones linfocitarias (“reset”), pudiendo hacer que se pierdan las clonas específicas contra alérgenos, y que por lo tanto, desaparezca la IgE específica y la reactividad del individuo.

5. Objetivos

Objetivo principal

Valorar si los pacientes sometidos a autotrasplante de progenitores hematopoyéticos pierden la sensibilización alérgica específica.

Objetivos secundarios

Describir las características clínicas alergológicas de los pacientes sometidos a autotrasplante pre y post intervención.

Correlacionar los niveles de IgE total pre y post autotrasplante en los pacientes alérgicos y no alérgicos.

Determinar la IgE específica para cada alérgeno pre y post autotrasplante.

Describir los datos demográficos de los pacientes estudiados.

6. Materiales y Métodos

Se han estudiado pacientes programados para autotrasplante de progenitores hematopoyéticos. Se ha realizado una historia clínica dirigida y medición de IgE específica y total en suero, previos al procedimiento y 6 meses después de haberse realizado el autotrasplante.

Diseño: Estudio piloto transversal prospectivo observacional.

Tamaño de la muestra: Dado el número reducido de pacientes sometidos a autotrasplante de progenitores hematopoyéticos, se incluyeron todos los pacientes adultos programados para autotrasplante desde mayo de 2010 hasta marzo de 2012 en el Hospital Vall d'Hebron.

El proyecto se realizó en el Servicio de Alergología conjuntamente con el Servicio de Hematología de nuestro Hospital. Se utilizaron las instalaciones del Instituto de Investigación y el laboratorio de Inmunología.

Procedimientos: El trabajo de investigación fue aprobado por comité ético de investigación clínica del Hospital. Los pacientes firmaron consentimiento informado para ser incluidos en el estudio y se les otorgó un documento de información explicativo sobre el estudio y en el que se informaba sobre la obtención de una muestra adicional de sangre.

Se realizó inicialmente una historia clínica dirigida, mediante un cuestionario donde se obtuvieron datos demográficos (sexo, edad, antecedentes familiares de atopía, antecedentes laborales, comorbilidades) y características clínicas relacionados con síntomas alérgicos (rinoconjuntivitis, asma, alergia alimentaria) de todos los pacientes, y se explicó el procedimiento. Se procedió a la extracción de 5 ml de sangre en tiempo 0 y posteriormente nueva extracción de 5 ml de sangre en tiempo 1 (coincidiendo con otra analítica programada de control al cabo de 4 o 6 meses). En el suero obtenido de dichas muestras se determinó la IgE específica frente a alérgenos moleculares, mediante técnica de micromatriz ImmunoISAC (*Phadia, Sweden, ahora ThermoFisher Scientific*). Posteriormente se realizó una segunda medición de IgE específica a aquellos alérgeno que resultaron positivos en el ISAC, mediante InmunoCAP (*Phadia, ahora Thermo Fisher Scientific, Uppsala, Suecia*) pre y post trasplante a los pacientes alérgicos para

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

compararlas en unidades cuantitativas de KU/L (se considero positivo superior a 0.1 KU/L³⁵).

Descripción de la técnica ISAC CAP

Las micromatrices de proteínas constituyen, básicamente, un inmunoanálisis multianalítico miniaturizado y suponen el complemento ideal a la tecnología de los alérgenos recombinantes. Sus bases se desarrollaron a partir de la aparición de la tecnología de las micromatrices (microarrays) de DNA.

El microarray de DNA es una tecnología basada en la hibridación molecular: en una matriz de vidrio, silicona, o nylon, se sitúan o “anclan” sondas (“spots”) de oligonucleótidos (fragmentos de DNA) conocidos, y en una ubicación precisa. Sobre ellos se sitúan o “hibridan” fragmentos de DNA desconocido, procedentes de tejidos o muestras de pacientes. Las bases complementarias se reconocen y se visualiza su hibridación mediante el uso de sustancias fluorescentes, aunque también se puede utilizar quimioluminiscencia o radiactividad. La miniaturización permite el anclaje, en unos pocos centímetros, de cientos de “spots” de oligonucleótidos, alineados en filas y columnas, cada uno de los cuales se corresponde a una secuencia específica del DNA.

De ésta reacción se obtiene un *puzzle* en el que la lectura de los puntos marcados permite identificar la presencia o ausencia de los diferentes fragmentos, y componer un cuadro genómico, o huella genética, para la muestra problema.

Una variante de la técnica es la aplicada al diagnóstico de la alergia frente a los tradicionales métodos inmunoquímicos. En la micromatriz “*Biochip Immuno CAP ISAC*” las proteínas alergénicas, en su forma biológica activa, están solidamente ancladas a la superficie del chip y se enfrentan a muestras de plasma o suero problema, en un método de una sola etapa. Del análisis de las imágenes obtenidas se obtiene un informe sobre 103 alérgenos (actualmente 112). Se busca una reacción antígeno-anticuerpo sobre un soporte o matriz, utilizando pequeñísimas cantidades de alérgeno y suero problema (solo 20µl), con tiempo de incubación que no supera los 120 minutos.

Criterios inclusión:

- Pacientes sometidos a trasplante autólogo de células hematopoyéticas.
- Pacientes que firman el consentimiento informado.

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

- Pacientes adultos (mayores de 18 años).

Criterios exclusión:

- Pacientes que no hayan firmado el consentimiento informado.

Análisis de datos: se utilizó el programa SPSS versión 15.0 (SPSS Inc, Chicago Il, USA) y el programa Prism 5 (GraphPad Software, la Jolla, Calif, USA). Las variables cuantitativas se describieron como media \pm DS (desviación estándar); y para las variables cualitativas en términos de número de observaciones y porcentajes relativos para cada categoría. Los niveles de IgE total y específica se describen en mediana y rango intercuartílico (RIC). Para comparar los niveles de IgE pre y post trasplante total y la IgE específica de los pacientes se utilizó el test no paramétrico de los rangos de Wilcoxon para datos apareados. Para comparar las variables categóricas con las variables cuantitativas no apareadas se usó el test U-Mann-Whitney. Un valor de P de 0,05 o inferior bilateral fue considerado significativamente estadístico.

7. Resultados

Se incluyeron un total de 28 pacientes sometidos a autotrasplante de progenitores hematopoyéticos.

El 50% eran hombres, con una edad media de 60,5 años (rango 20-70 años), todos recibieron acondicionamiento y ciclos previos de quimioterapia. Todos los trasplantes autólogos se realizaron por extracción de sangre periférica (no medula ósea).

En la tabla 1 se describen los datos demográficos y las características clínicas de los pacientes incluidos. En la tabla 2 se describen las características hematológicas de todos los pacientes estudiados, 15 pacientes presentaron comorbilidades asociadas como diabetes, hipertensión arterial o dislipemia, 10 pacientes se encontraron en remisión completa de su enfermedad en el momento del autotrasplante.

Tabla 1.- Datos demográficos y características clínicas

Paciente	Sexo	Edad	Antecedentes familiares de atopía	Animales	Clínica Alérgica pre TASP	IgE total pre TASP
1	mujer	62	No	Gato	RAM	2
2	mujer	60	No	No	RC	2
3	mujer	55	No	Pájaro	RC	3.83
4	mujer	60	Si	Perro	RC	85
5	hombre	41	No	Perro	RC	22,2
6	hombre	38	No	Cobaya	No	2
7	hombre	58	No	No	ASMA	2
8	mujer	61	No	Perro	RC	11.7
9	hombre	20	Si	Perro	RC/ASMA/AA	130
10	hombre	66	No	Pájaro	No	15.6
11	mujer	68	No	No	RC	2
12	hombre	68	No	Gallina	No	330
13	mujer	34	Si	Perro	DA	24
14	hombre	70	Si	No	RC/ASMA	23,2
15	hombre	57	Si	No	RC/ASMA	12,5
16	hombre	70	No	Perro	No	2
17	hombre	65	Si	Perro	RC	2
18	hombre	63	No	No	No	14.7
19	mujer	63	No	No	Himenópteros	850
20	mujer	46	Si	No	No	67
21	hombre	64	Si	Gato	No	32
22	hombre	48	No	No	RC	2
23	mujer	54	si	Pájaro	No	12
24	mujer	24	Si	No	No	11.8
25	hombre	68	No	No	RAM	35
26	mujer	47	No	No	RC	2
27	mujer	66	No	Pájaro	No	23.4
28	mujer	63	No	Gato	RC/AA	1

Abreviaturas: *RC* rinoconjuntivitis, *AA* alergia alimentaria, *RAM* reacción adversa a medicamentos, *DA* dermatitis atópica, *TASP* trasplante autólogo sangre periférica, *IgE* inmunoglobulina E.

Tabla 2.- Características hematológicas

Paciente	Comorbilidades asociadas	Motivo TASP	Remisión
1	si	Linfoma cerebral primario	Parcial
2	no	mieloma múltiple	Completa
3	si	linfoma B difuso células grandes	Completa
4	si	linfoma folicular	Parcial
5	no	leucemia aguda mieloblástica	Completa
6	no	linfoma B difuso células grandes	Completa
7	si	Linfoma cerebral primario	Parcial
8	si	mieloma múltiple	Parcial
9	si	linfoma Hodking	Completa
10	si	mieloma múltiple	Parcial
11	Si	linfoma B difuso células grandes	Completa
12	Si	linfoma T	Completa
13	No	linfoma Hodking	Parcial
14	Si	mieloma múltiple	parcial
15	Si	mieloma múltiple	parcial
16	Si	linfoma células del manto	parcial
17	Si	linfoma Hodking	parcial
18	Si	linfoma B difuso células grandes	completa
19	Si	linfoma células del manto	completa
20	No	linfoma B difuso células grandes	parcial
21	No	linfoma B difuso células grandes	completa
22	No	linfoma células del manto	completa
23	No	linfoma Hodking	completa
24	No	Meduloblastoma	completa
25	No	linfoma células del manto	completa
26	No	mieloma múltiple	completa
27	No	linfoma B difuso células grandes	completa
28	Si	mieloma múltiple	parcial

Abreviatura: *TASP* trasplante autólogo sangre periférica

Los resultados de la IgE total en las muestras pre autotrasplante mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.013$) entre los valores de IgE total de los pacientes alérgicos (mediana 68,10; RIC 12,5-850 KU/L) versus los valores IgE total de los pacientes no alérgicos (mediana 2,91; RIC: 2-85 KU/L) pre trasplante, tal y como se muestra en la figura 1A.

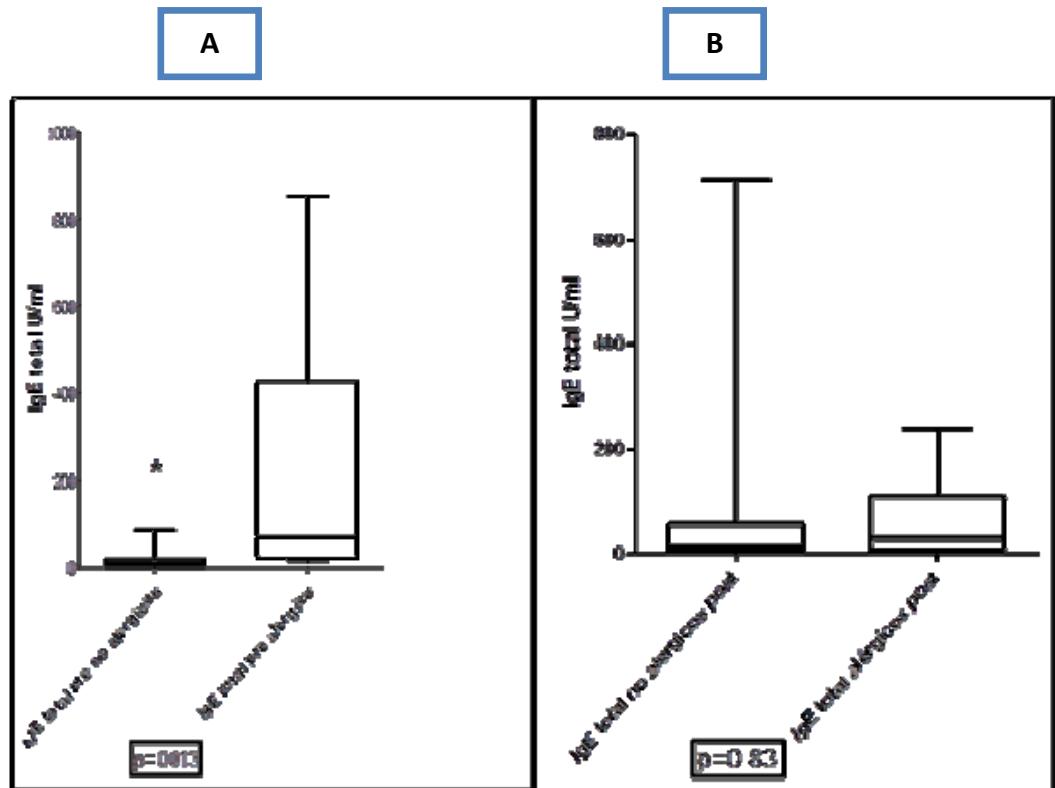


Figura 1. A IgE total pre trasplante en pacientes alérgicos y no alérgicos. Figura1.B IgE total post trasplante en pacientes alérgicos y no alérgicos.

Cuando se analizaron los datos post trasplante no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de IgE total entre las dos poblaciones de pacientes alérgicos y no alérgicos post trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos. Los resultados se muestran en la figura 1B.

De los 28 pacientes incluidos, 6 presentaron IgE específica positiva frente a alérgenos moleculares en el diagnóstico por componentes (ISAC). Como se muestra en la tabla 3

Tabla 3.- Resultados ISAC con niveles positivos en 6 pacientes.

Paciente	ISAC
Paciente 5	Phl p1 0.8 ISUs Phl p2 0.7 ISUs
Paciente 9	Ani s1 5 ISUs
Paciente 12	Phl p1 1 ISUs Pla a2 1.2 ISUs Cup a1 0.8 ISUs
Paciente 14	Cyn d1 32 ISUs Phl p1 45 ISUs Phlp2 17 ISUs Phl p5 10 ISUs
Paciente 15	Der f2 0.7 ISUs Der p2 0.8 ISUs Ves v5 0.8 ISUs
Paciente 19	Pol d5 1 ISUs Ves v5 0.6 ISUs

ISUs (unidades estandarizadas para ISAC)

De los 6 pacientes alérgicos pre trasplante el 83,3% fueron hombres, con una edad media de 53,1 años (rango 20-70 años). La mitad tenía antecedentes familiares de atopía y convivía con animales domésticos. Se describen las características demográficas en la tabla 4.

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

Tabla 4.- Características demográficas de los pacientes alérgicos.

Paciente	Sexo	Edad	A.F.	Antecedentes	Animales	Motivo	Remisión	Ciclo
				Atopia	Laborales	domésticos	TASP	previo
								QT
5	Hombre	41	-	Comercial	Perro	LAM	Completa	Si
9	Hombre	20	+	Estudiante	Perro	Hodking	Completa	Si
12	Hombre	68	-	Administrativo	Gallinas	Linfoma T	Completa	Si
14	Hombre	70	+	Metalúrgico	No	MM	Parcial	Si
15	Hombre	57	+	Pintor	No	MM	Parcial	Si
19	Mujer	63	-	Administrativa	No	LC Manto	Completa	Si

Abreviaturas: *QT* quimioterapia, *TASP* trasplante autólogo sangre periférica, *A.F.* antecedentes familiares, *LAM* leucemia aguda mieloide, *MM* mieloma múltiple, *LC Manto* leucemia células del manto.

Después de 4 o 6 meses del autotrasplante se procedió a la realización de medición de las IgE específicas por InmunoCAP pre trasplante y post trasplante de forma simultánea para cada alérgeno al que habían resultado positivos inicialmente mediante diagnóstico por componentes antes del trasplante (tabla 3). En la tabla 5 se muestran los resultados de los niveles cuantitativos de IgE específica mediante InmunoCAP, pre y post trasplante.

Tabla 5.- Cuantificación de IgE específica pre y post TASP

Paciente	Alérgeno	IgE específica pre TASP (KU/l)	IgE específica post TASP (KU/l)
5	Phleum	0.03	0
	Apis	0.38	0.04
9	Anisakis	1.78	0.11
12	Phleum	0.23	0.69
14	Platanus	0.24	0.71
	Ciprés	0.21	0.53
15	Phleum	3.8	0.13
19	D pteronyssinus	0.2	0
	Vespula	0.03	0
	Apis	0.2	0

Abreviaturas: IgE inmunoglobulina E, pre TASP pre trasplante autólogo sangre periférica, post TASP post trasplante autólogo sangre periférica, KU/L Kilo Unidades/Litro

No se encontraron diferencias significativas entre la IgE específica de los pacientes alérgicos pre y pos autotrasplante ($p=0.16$), a pesar que se observa un descenso en la cuantificación de la IgE específica en 5 de los 6 pacientes, tal y como se muestran en la figura 2.

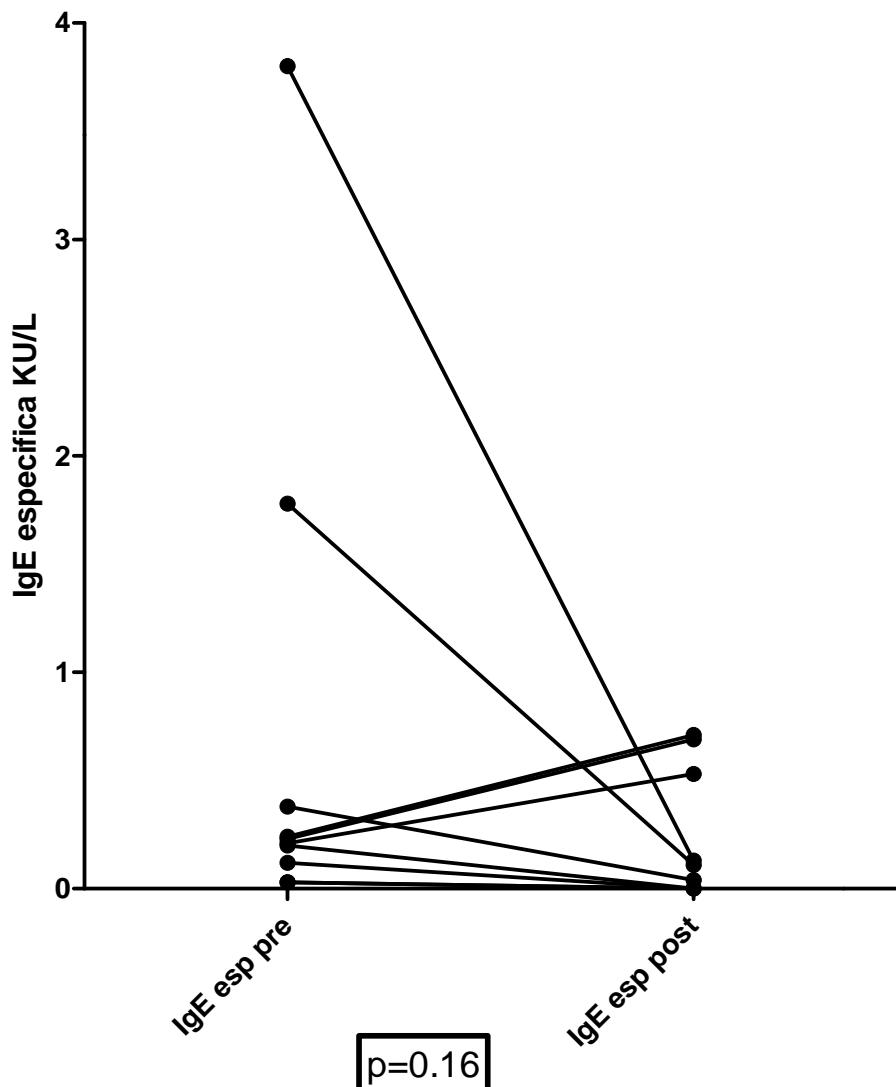


Figura 2.- IgE específica en pacientes alérgicos pre y post autotrasplante

Pero al analizar los datos excluyendo al paciente 12 en quien aumentan los niveles de IgE específica, observamos que existen diferencias estadísticamente significativas ($p=0,02$), entre los niveles de IgE específica pre (mediana de 0,2; RIC 0,03-3,8 KU/L) y los post trasplante (mediana de 0,0; RIC 0,00-0,13 KU/L) de los pacientes alérgicos, tal y como se muestra en la figura 3.

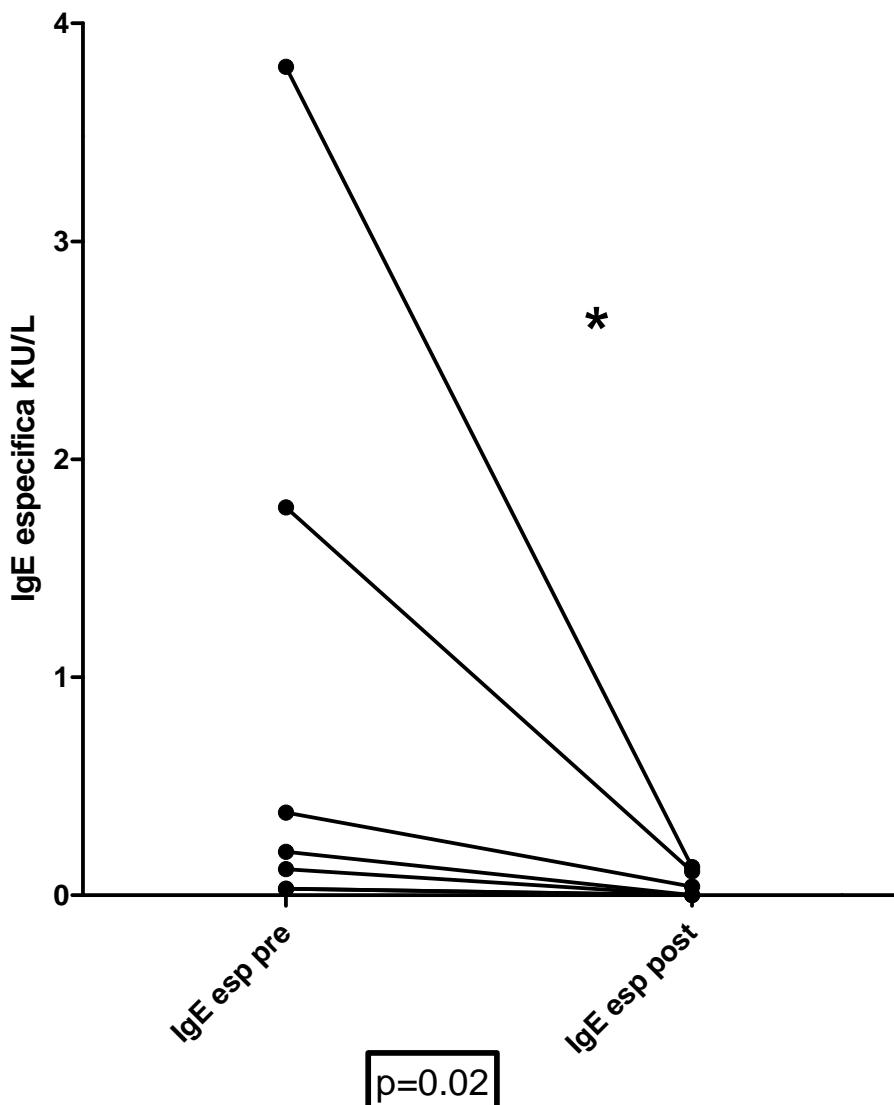


Figura 3.- IgE específica en pacientes alérgicos pre y post autotrasplante en 5 pacientes

Dada la muestra actual de pacientes solo se puede realizar análisis descriptivo de las características de estos pacientes ya que los resultados obtenidos de comparaciones estadísticas podrían darnos una información sesgada.

El paciente número 5, sensibilizado previamente al trasplante a polen de gramíneas con clínica de rinoconjuntivitis intermitente leve, que no requería tratamiento específico. Refiere actualmente persistir asintomático.

El paciente número 9, con antecedentes personales de atopía para ácaros del polvo con clínica de asma bronquial controlada y epigastralgia, fue estudiado en Digestivo con resultados positivos de IgE específica en sangre a *Anisakis simplex*.

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

Clínica post trasplante, dos años después 6h después de comer “paella” presentó urticaria generalizada y angioedema que persistió durante 3 días, que en urgencias se atribuyó a su sensibilización a Anisakis, pero por el tiempo de evolución no parece haber sido la causa. Niega clínica respiratoria actualmente.

El paciente número 12, sensibilizado a polen de gramíneas, platano de sombra y ciprés sin clínica previa a trasplante ni posterior al trasplante.

El paciente número 14, con antecedentes personales de atopia, refería estudio alergológico a los 35 años de edad, con positividad cutánea a polen de gramíneas con clínica de asma bronquial persistente moderado, predominio estacional entre mayo y junio, que requirió inmunoterapia específica durante 2 años para polen de gramíneas con mejoría parcial. Refiere actualmente estar asintomático post autotrasplante. En la figura 4 y 5 se muestra el resultado de la determinación de IgE específica por ISAC antes y después del trasplante.

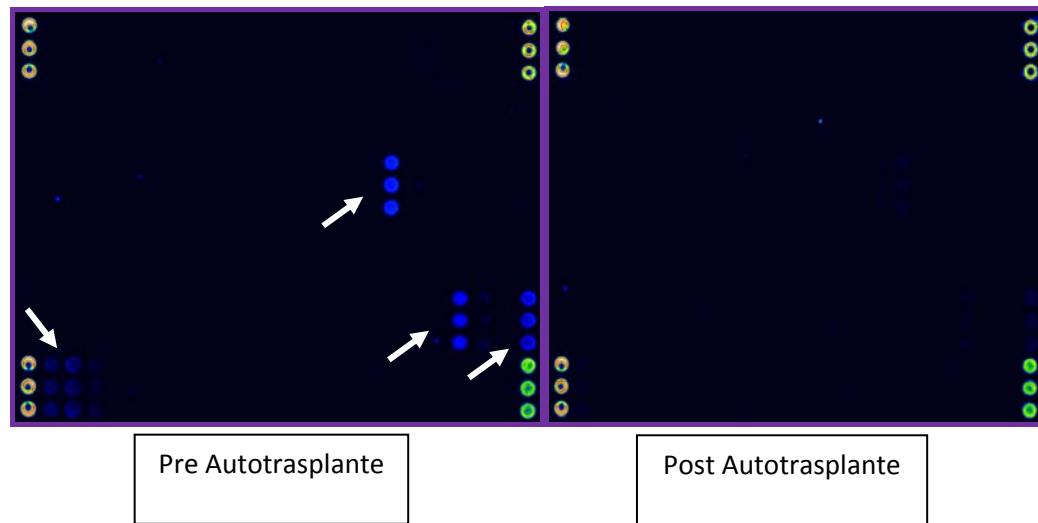
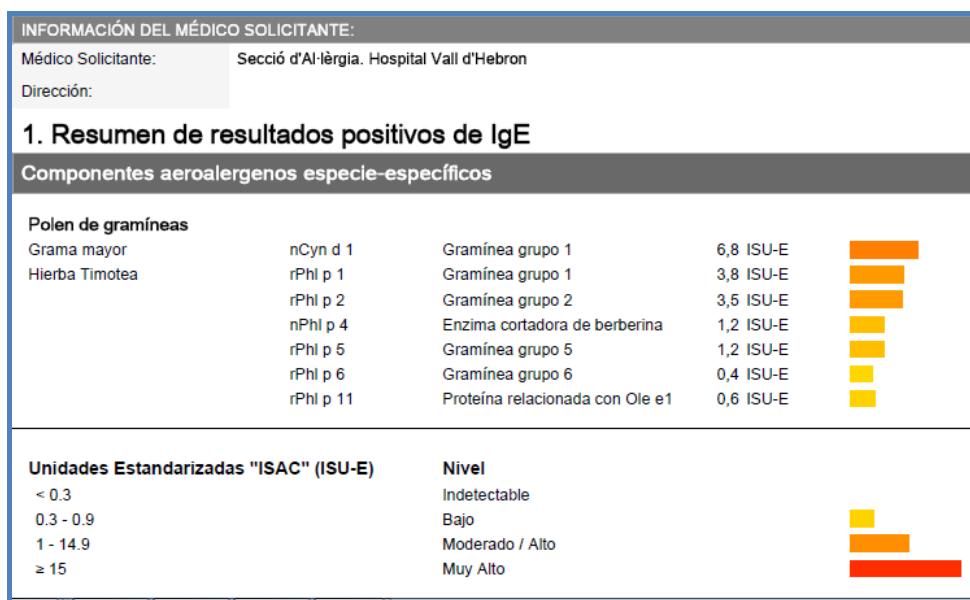


Figura 4. ISAC de paciente alérgico a polen de gramíneas *Cynodon* y *Phleum*

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

IgE Pre autotrasplante



IgE post autotrasplante

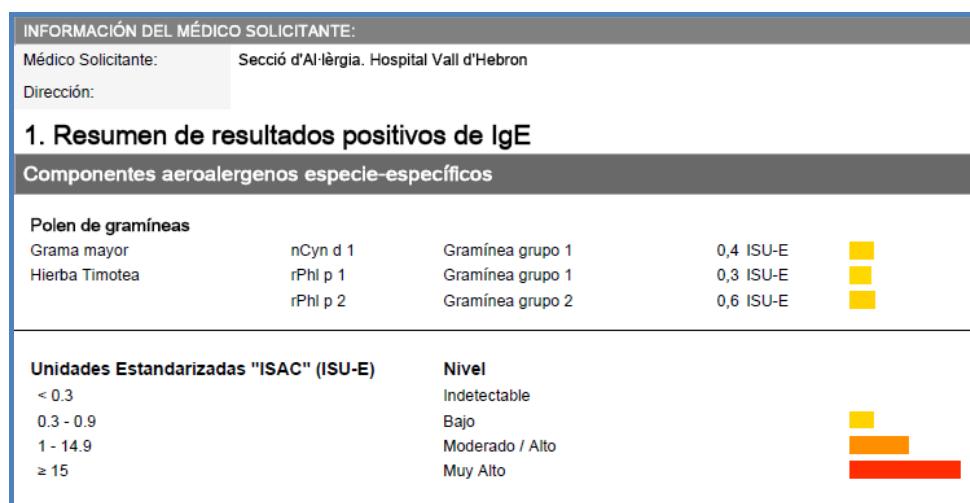


Figura 5.- Resumen de resultados de ISAC en unidades ISU para gramíneas.

El paciente número 15, sensibilizado a veneno de avispa, con clínica hace varios años de reacción exagerada local por picadura de avispa en la India, posteriormente no ha presentado nuevas picaduras. También sensibilizado a ácaros del polvo, presenta clínica de bronquitis de repetición que persisten actualmente post trasplante.

La paciente número 20, que refiere clínica de reacción exagerada local en la infancia por himenópteros, sin recordar si abeja o avispa y que posteriormente no ha presentado nuevas picaduras.

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

8. Discusión

Actualmente, no existen publicaciones que comparan la respuesta alérgica en pacientes antes y después de un autotrasplante de progenitores hematopoyéticos, por lo que no se pueden comparar los resultados obtenidos con otros estudios similares.

La prevalencia de atopía que se observa en la muestra es similar al de la población general que afecta entre un 20-25%³⁶, por lo que los pacientes con enfermedad linfoproliferativas no muestran mayor prevalencia de alergia. No obstante, si se halló una diferencia significativa en el sexo entre ambas poblaciones de “alérgicos” y “no alérgicos” de la muestra, 83% hombres contra 50% hombres, respectivamente, siendo más prevalente la atopía en hombres que en mujeres en pacientes alérgicos.

También se observa en la muestra total de pacientes (alérgicos y no alérgicos) una media de edad de 55.6 años, con respecto a la población general española que se sitúa en los 40.8 años según el Instituto Valenciano de Investigaciones Económicas (www.ivie.es), debido a la patología de base que ha condicionado la indicación del trasplante autólogo.

Como era de esperar hay diferencias significativas en los niveles de IgE total en las dos poblaciones “alérgicos y no alérgicos” pre trasplante de sangre periférica, pero no hay diferencias en los niveles de IgE total post trasplante de sangre periférica. Como se ha comentado anteriormente, el procedimiento terapéutico podría inducir un descenso de IgE total, debido al “reset” que se produce en el sistema inmunológico y la restructuración inmunitaria con la perdida de las células de memoria de tipo B y T, con descenso en la síntesis de inmunoglobulinas, como ya se ha estudiado en el caso de las enfermedades autoinmunes¹⁰.

Inicialmente se realizó un “screening” de la muestra mediante ISAC para detectar la población alérgica. La opción de realizar una técnica *in vitro* en lugar de unas pruebas *in vivo* se basó en la prioridad de causar las mínimas molestas al paciente, y aprovechar una extracción sanguínea y programada. Posteriormente con la población alérgica se realizaron las mediciones *in vitro* mediante InmunoCAP, para obtener resultados cuantitativos de la IgE específica de mayor utilidad en la comparación de las

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

muestras pre y post autotrasplante, debido a que mediante la técnica por componentes (ISAC) los resultados son semi cuantitativos y presentan gran variabilidad. Cabrera-Freitag P et al³⁷, estudiaron la variabilidad de la técnica diagnostica por microarrays (ISAC) y sugieren la existencia de un problema técnico de adhesión del alérgeno al porta resultando en una alta variabilidad en los resultados de los análisis individuales, destacan que es una técnica semi cuantitativa reproducible, pero no útil para el seguimiento de los pacientes, sino para valoración inicial. Por ello, recomiendan el uso de pruebas cuantitativas como la IgE específica para seguimiento de los pacientes.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de IgE específica en los 6 pacientes alérgicos antes y después del autotrasplante, a pesar de observar descenso o incluso desaparición de la IgE específica en 5 de ellos post autotrasplante. Esto puede ser debido a que en uno de ellos, en el paciente 12 los niveles de IgE específica post trasplante se vieron aumentados ligeramente con respecto a los niveles pre trasplante para pólen de platanus, gramíneas y ciprés. A pesar de que clínicamente dicho paciente no presento síntomas sugestivos de alergia antes ni después del autotrasplante.

Si se analizan los datos excluyendo este paciente, con los restantes 5 pacientes, existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de IgE específica pre y post autotrasplante. Una de las posibles causas del aumento de la IgE puede atribuirse al tratamiento coadyuvante administrado. Por ejemplo un estudio de Chalubinski M et al³⁸, describen la síntesis de la IgE en sangre periférica por células mononucleares inducida por glucocorticoïdes en pacientes atópicos y no atópicos. En este estudio el objetivo fue comparar el efecto de los corticoides (budesonida) en la interleucina (IL)-4 impulsada por la producción de IgE in vitro en los sujetos alérgicos y no alérgicos y evaluar la participación de los distintos mecanismos intracelulares. En dicho estudio se incluyeron 22 pacientes con asma alérgica y/o rinitis alérgica y 24 voluntarios sanos. Las células mononucleares se cultivaron durante 11 días con IL-4 y budesonida y las concentraciones de IgE en los sobrenadantes fueron evaluados por inmunoensayos. Los marcadores de células T y B se evaluaron por citometría de flujo. Vieron que la budesonida aumentó la síntesis de IgE en mayor medida en pacientes sanos que en los alérgicos (incremento medio de 16,5 versus 6,3 kU / L, p<.05 respectivamente) actuando a través del receptor de glucocorticoïdes. La budesonida

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

también aumentó significativamente el porcentaje de células linfoplasmocitarias. Y añadido a la IL-4, la budesonida disminuyó el porcentaje de las células T y CD40L (+), pero aumentó fuertemente el porcentaje de células B. El inhibidor de la proteína tirosin quinasa disminuyó, pero NF- κ B (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas) y los inhibidores de la proteína quinasa A (PKA) expresaron efectos moduladores sobre la síntesis de la IgE inducida por la budesonida. Ellos concluyen que la generación de IgE en células mononucleares inducida por budesonida difiere en magnitud y parece implicar diferentes mecanismos en sujetos atópicos y no atópicos.

Una limitación importante para estos resultados es que en general los niveles de IgE específica medidos en InmunoCAP presentan niveles más bajos en unidades de KU/L. Ello podría deberse a que no se analiza mediante InmunoCAP medimos IgE frente a un extracto alergénico completo y mediante ISAC a alérgenos individuales. Al utilizar el extracto completo de una fuente alergénica, este puede contener moléculas irrelevantes o representación baja de algunas moléculas importantes o puede haber variabilidad de la fuente biológica, en la estandarización o distintos lotes con concentración desconocida de alérgenos minoritarios. Haciendo que la reactividad antígeno-anticuerpo de la IgE con las proteínas alergénicas se una a múltiples proteínas y no a una sola proteína purificada o a un recombinante, dando como resultado valores más bajos de IgE específica a la fuente alergénica. Aunque también en la micromatriz ISAC la reducida cantidad de proteína recombinante para cada alérgeno y el hecho de analizarlas de forma conjunta, así como la posible interferencia de otros isotipos séricos no medidos (IgA, IgG4...) podría interferir en el resultado.

Otra limitación del estudio a destacar es el tamaño de muestra reducido de pacientes alérgicos antes del autotrasplante. Se realiza una media de 2 autotrasplantes al mes, equivalente a 24 autotrasplantes al año aproximadamente, en el Servicio de Hematología del Hospital Vall d'Hebron en adultos. Si la prevalencia de atopía en la población general es entre 20-25% los datos concuerdan con la muestra obtenida. Se debe seguir ampliando la muestra analizando todos los pacientes sometidos a autotrasplante de progenitores hematopoyéticos para obtener resultados no solo descriptivos.

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

A pesar del número reducido de pacientes alérgicos, se observan cambios clínicos relevantes, en tres pacientes la clínica alérgica desapareció, en dos la clínica se mantiene asintomática y en uno no ha presentado nueva exposición al alérgeno. También se objetivan cambios de laboratorio pre y post autotrasplante de sangre periférica, con pérdida de la IgE específica en 5 de 6 pacientes alérgicos antes del trasplante. Pudiendo objetivar una modificación de la respuesta alérgica en los pacientes sometidos a autotrasplante.

Todos los pacientes recibieron tratamiento mieloablativo y acondicionamiento con distintos quimioterápicos según la patología de base y los protocolos utilizados en nuestro hospital. Existen distintos artículos donde se utilizan tratamientos mieloablativos y otros no mieloablativos para la supresión máxima del sistema inmune utilizados hasta el momento para tratar enfermedades autoinmunes. Aunque se planteó analizar los resultados de la sensibilización según el tipo de acondicionamiento realizado, el reducido tamaño de la muestra imposibilita un análisis adecuado.

Aunque es posible que un porcentaje de pacientes puede ser *curado* de su sensibilización alérgica, hasta que se pruebe lo contrario, el trasplante autólogo para las enfermedades alérgicas no debe considerarse como una opción terapéutica viable, sino más bien como un cambio en la historia natural de la enfermedad. El trasplante autólogo logra un restablecimiento y regeneración del sistema inmunitario³⁹ y por defecto el nuevo sistema inmunológico genera auto tolerancia y/o tolerancia a alérgenos. Sin embargo, la ablación inmunológica, a pesar de la eliminación de todas las células de memoria reactivas, no se produce incluso ni con tratamientos agresivos de irradiación total presentes en los regímenes mieloablativos⁴⁰.

9. Conclusiones

Se trata de un estudio piloto para investigar el concepto de clonalidad y memoria en la respuesta alérgica, en las que deben existir tanto LT como LB específicos para el alérgeno. Según los datos preliminares de este estudio parece haber una pérdida de la respuesta alérgica en nuestra muestra de pacientes, tanto “*in vivo*” por mejora en los síntomas clínicos, como “*in vitro*” por descenso de la IgE específica a los alérgenos. Sin embargo, serán necesarios estudios más amplios para obtener resultados más certeros que no sean tan solo descriptivos, así como un seguimiento en el tiempo de la evolución de estos pacientes respecto a su sensibilización alérgica.

A pesar de que el autotrasplante se ha ensayado en varias enfermedades autoinmunes, las alternativas terapéuticas existentes en las enfermedades alérgicas hacen improbable la utilización del autotrasplante con esta indicación debido a otras alternativas terapéuticas y al inaceptable riesgo beneficio del paciente.

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

10. DOCUMENTO ANEXO I y II

1. INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE

Proyecto de investigación titulado **Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos**

Investigador principal Dr./a. Adriana Izquierdo Domínguez, Dra. Victoria Cardona Dahl

Sección de *Alergología*. Servicio Medicina Interna

Objetivos:

Le solicitamos su participación en este proyecto de investigación cuyo objetivo principal es profundizar en el conocimiento de factores modificadores de la respuesta inmunológica que puedan influir en la enfermedad *alérgica*, en pacientes sometidos a autotrasplante de progenitores hematopoyéticos .

Beneficios:

Es posible que de su participación en este estudio no se obtenga un beneficio directo. Sin embargo, la identificación de posibles factores relacionados con la modificación del sistema inmune podría beneficiar en un futuro a otros pacientes que la sufren y contribuir a un mejor conocimiento y tratamiento de esta enfermedad.

Procedimientos del estudio:

Si decide participar, se le realizará una entrevista clínica enfocada a saber si usted tiene o no tiene alergia y se le extraerá un tubo adicional de sangre (5 cc) antes de ser trasplantado y a los 4 o 6 meses después del trasplante, coincidiendo con una analítica que usted ya tenga programada.

Del tubo de sangre se obtendrá suero en el que se mirará si tiene usted reactividad alérgica (anticuerpos IgE) contra sustancias del ambiente o alimentos.

Si usted lo desea, se le informará de los resultados obtenidos en su caso y de la significación clínica de los mismos.

Molestias y posibles riesgos:

La toma de muestras de sangre le puede provocar una sensación de ardor en el punto en el que se introduce la aguja en la piel y occasionar un pequeño hematoma o una leve infección que desaparece en pocos días. Más raramente puede aparecer mareo en el momento de la extracción de sangre.

Protección de datos personales:

De acuerdo con la Ley 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, los datos personales que se obtengan serán los necesarios para cubrir los fines del estudio. En ninguno de los informes del estudio aparecerá su nombre, y su identidad no será revelada a persona alguna salvo para cumplir con los fines del estudio, y en el caso de urgencia médica o requerimiento legal. Cualquier información de carácter personal que pueda ser identificable será conservada por métodos informáticos en condiciones de seguridad por la Sección de Alergología, o por una institución designada por ella. El acceso a dicha información quedará restringido al personal de investigación, designado al efecto o a otro personal autorizado que estará obligado a mantener la confidencialidad de la información.

De acuerdo con la ley vigente, tiene usted derecho al acceso de sus datos personales; asimismo, y si está justificado, tiene derecho a su rectificación y cancelación. Si así lo desea, deberá solicitarlo al médico que le atiende en este estudio.

De acuerdo con la legislación vigente, tiene derecho a ser informado de los datos relevantes para su salud que se obtengan en el curso del estudio. Esta información se le comunicará si lo desea; en el caso de que prefiera no ser informado, su decisión se respetará.

Si necesita más información sobre este estudio puede contactar con la investigadora responsable, la Dra. Adriana Izquierdo Domínguez de la Sección de Alergología. Tel. (93) 274 61 69.

Su participación en el estudio es totalmente voluntaria, y si decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que necesite y la relación con el equipo médico que le atiende no se verá afectada.

2. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio:

Modificación de la respuesta alérgica en pacientes sometidos a trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos

Yo (nombre y apellidos):

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He hablado con:(nombre del investigador) _____

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1. Cuando quiera
2. Sin tener que dar explicaciones
3. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fecha y firma del participante

Fecha y firma del investigador

11. Bibliografía

¹ IBMTR/ABMTR Newsletter, February 2002, volume 9, issue 1.

² Averso F, Tabilio A, Velardi A, et al. Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. N Engl J Med 1998; 339:1186-93.

³ Gratwohl A, Passweg J, Baldomero H, Urbano-Ispizua AL. Bone marrow transplantation activity in Europe 1999. Report from the European Group for Bone Marrow Transplantation (EBMT). Bone Marrow Transplant 2001;27:899-916.

⁴ Law P, Meryman H. Cryopreservation of human bone marrow grafts. En: Gee AP, ed. Bone marrow processing and purging: A practical guide , Boca Raton, Fl: CRC Press; 1991.p.331-40.

⁵ To LB, Bashford J, Durrant S, MacMillan J, Schwarer AP, Prince HM , Gibson et al J. Successful mobilization of peripheral blood stem cells after addition of anestim (stem cell factor) in patients who had failed a prior mobilization with filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) alone or with chemotherapy plus filgrastim. Bone Marrow Transplant 2003;31:371-8.

⁶ Mahevas M, Vaida I, Le Page L, Sid-Idris S, Royer B, Garedi R, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in the treatment of autoimmune diseases. La Revue de medicine interna 29 (2008) 115-121.

⁷ Rotrosen D, Matthews JB, Bluestone JA. The immune tolerance network: a new paradigm for developing tolerance-inducing therapies. J Allergy Clin Immunol 2002;110:17-23.

⁸ Huston DP. The biology of the immune system. JAMA 1997;278:1804-1814.

⁹ Chaplin DD. The immune system: overview of the immune response. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:5442-5459.

¹⁰ Burt RK, Slavin S, Burns WS, Marmont AM. Induction of tolerance in autoimmune diseases by hematopoietic stem cell transplantation: getting closer to a cure. *Blood* 2002;99:768-784.

¹¹ Coffman RL. Origins of the T(H)1-T(H)2 model: a personal perspective. *Nat Immunol*. 2006;7:539–41.

¹² Kulig M, Bergmann R, Klettke U, Wahn V, Tacke U, Wahn U. Natural course of sensitization to food and inhalant allergens during the first 6 years of life. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;103:1173–9.

¹³ Valenta R, Mittermann I, Werfel T, Garn H, Renz H. Linking allergy to autoimmune disease. *Trends Immunol*. 2009;30:109–16.

¹⁴ Khan F, Hallstrand TS, Geddes MN, Henderson WRJ, Storek J. Is allergic disease curable or transferable with allogeneic hematopoietic cell transplantation? *Blood*. 2009;113:279–90.

¹⁵ Triggiani M, Patella V, Staiano RI, Granata F, Marone G. Allergy and the cardiovascular system. *Clin Exp Immunol*. 2008;153(suppl 1):7–11.

¹⁶ Ono SJ. Molecular genetics of allergic diseases. *Annu Rev Immunol*. 2000;18:347–66.

¹⁷ Moneret-Vautrin DA, Morisset M, Flabbee J, Beaudouin E, Kanny G. Epidemiology of lifethreatening and lethal anaphylaxis: a review. *Allergy*. 2005;60:443–51.

¹⁸ Larché M, Akdis CA, Valenta R. Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(10):761–71.

¹⁹ Von Boehmer, H. and P. Kisielow. Negative selection of the T-cell repertoire: Where and when does it occur? *Immunol Rev.* 2006;209:284–9.

²⁰ Bohle B. T cell responses during allergen-specific immunotherapy of Type I allergy. *Front Biosci.* 2008;13:6079–85.

²¹ Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119:780–91.

²² Movérare R, Elfman L, Vesterinen E, Metso T, Haahtela T. Development of new IgE specificities to allergenic components in birch pollen extract during specific Immunotherapy studied with immunoblotting and Pharmacia CAP System. *Allergy.* 2002;57:423–30.

²³ Valenta R, Kraft D. From allergen structure to new forms of allergen-specific immunotherapy. *Curr Opin Immunol.* 2002;14:718–27.

²⁴ Valenta R, Niederberger V. Recombinant allergens for immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119:826–30.

²⁵ Linhart B, Valenta R. Molecular design of allergy vaccines. *Curr Opin Immunol.* 2005;17:646–55.

²⁶ Walters EH, Walters JA, Wood-Baker R. Anti-IgE and chemotherapy: a critical appraisal of treatment options for severe asthma. *Expert Opin Pharmacoter.* 2007;8:585–92

²⁷ Luger EO, Fokuhl V, Wegmann M et al. Induction of long-lived allergen-specific plasma cells by mucosal allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:819-26.

- ²⁸ Hoyer BF, Mumatz IM, Yoshida T, Hiepe F, Radbruch A. How to cope with pathogenic long-lived plasma cells in autoimmune diseases. Ann Rheum Dis 2008;67(suppl3):87-9.
- ²⁹ Baranyi U, Linhart B, Pilat N, Gattringer M, Bagley J, Muehlbacher F, Iacomini J, Valenta R, Wekerle T. Tolerization of a type I allergic immune response through transplantation of genetically modified hematopoietic stem cells. J Immunol. 2008;180:8168-75.
- ³⁰ Linhart B, Bigenzahn S, Hartl A, Lupinek C, Thalhamer J, Valenta R, Wekerle T. Costimulation blockade inhibits allergic sensitization but does not affect established allergy in a murine model of grass pollen allergy. J Immunol. 2007;178:3924-31.
- ³¹ Alexander T, Thiel A, Rosen O et al. Depletion of autoreactive immunologic memory followed by autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with refractory SLE induces long-term remission through de novo generation of a juvenile and tolerant immune system. Blood 2009;113:214-23.
- ³² Wahn V, Laws HJ, Bode CP, Burdach SE. Cure of latex allerg by bone marrow transplantation. Eur J Pediatric. 1999;158:88
- ³³ Koharazawa H, Kanamori H, Takabayashi M et al. Resolution of atopic dermatitis following allogenic bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia. Bone Marrow Transplant. 2005;35:1223-1224
- ³⁴ Hourihane JO, Rhodes HL, Jones AM, Veys P, Connet GJ. Resolution of peanut allergy following bone marrow transplantation for primary immunodeficiency. Allergy. 2005;60:536-537
- ³⁵ Khan F, Ueno-Yamanouchi A, Serushago B, Bowen T, Lyon A, Lu C, et al. Basophil activation test compared to skin prick test and fluorescence enzyme immunoassay for aeroallergen-specific Immunoglobulin-E. Allergy, Asthma & Clinical Immunology 2012, 8:1

³⁶ Mutius E. The environmental predictors of allergy disease. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:9-19

³⁷ Cabrera-Freitag P, Goikoetxea MJ, Gamboa PM, Martínez-Aranguren R, Beorlegui C et al. A Study of the Variability of the in Vitro Component-Based Microarray ISAC CDR 103 Technique. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21(5):414-5.

³⁸ Chalubinski M, Grzegorczyk J, Kowalski ML. Glucocorticoid-induced immunoglobulin E synthesis by peripheral blood mononuclear cells from allergic and nonallergic subjects. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2011 Sep;107(3):251-7. Epub 2011 Jul 22.

³⁹ Traynor AE, Schroeder J, Rosa RM, Cheng D, Stefka J, Mujais S, et al. Treatment of severe systemic lupus erythematosus with high-dose chemotherapy and haemopoietic Stem-cell transplantation: a phase I study. *Lancet* 2000;356(9231):701e7.

⁴⁰ Burt R, Testor A, Craig R, Cohen B, Suffit R, Barr W. Hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases: What have we learned? *Journal of Autoimmunity* 30 (2008) 116e120.