

Dessensibilização induz hiporresponsividade e alterações no fenótipo de mastócitos de camundongos e basófilos humanos

Rafael Bonamichi dos Santos, Jorge Kalil, Mariana Castells, Pedro Giavina-Bianchi*

Introdução: Desenvolvida com base em evidências clínicas, falta à dessensibilização (dessen) revelar todos seus mecanismos imunológicos. **Objetivo:** Caracterizar alterações fenotípicas da superfície celular (AFSC) e demonstrar a indução de hiporresponsividade em mastócitos e basófilos pós-dessen. **Método:** Mastócito de medula óssea (BMMC) de Balb/c wild type (WT) e transgênico (Tg) hFcεRI foram submetidos ao protocolo dessen/ativação (PDA). Basófilo humano de sangue periférico (BHSP) também foi submetido a PDA. Especificidade de PDA foi avaliada ativando BMMC pós-PDA a um segundo alérgeno. Os fatores solúveis em meio de cultura pós-PDS foram avaliados executando PDA para OVA em BMMC previamente suspensos com sobrenadante de BMMC pós-PDA para DNP. Expressão/internalização de LAMP1/IgE/FcεRI e liberação de β-hexosaminidase (β-Hex) nos BMMCs e a expressão de CD63/CD203 nos BHSPs foram analisados por espectrofotômetro e citometria de fluxo. **Resultados:** BMMCs dessen liberaram 43,3% menos β-Hex e apresentaram 73,2% menor expressão LAMP1 do que BMMCs ativados. Quando BMMCs dessen/ativados foram ativados novamente com DNP 1 ng, a liberação adicional de β-Hex e a adicional expressão de LAMP1 foram semelhantes ao controle negativo. A hiporresponsividade pós PDA é específica, pois BMMCs pós-PDA para DNP liberaram mais β-Hex em contato com ionóforo de cálcio. BMMCs ativados expressaram 40,3% menos FcεRI do que controles negativos(cn), enquanto BMMCs dessen apenas 15,7% menos FcεRI do que cn. Enquanto para BHSP dessen e cn foram semelhantes as expressões de CD63/CD203 e internalizações de FcεRI, para BHSP ativados o aumento foi significativo. **Conclusão:** BMMCs pós-dessen apresentam AFSC LAMP1inc/IgEdec/FcεRIdec e secreção de β-Hex próximo ao cn. BHSP pós-dessen as AFSC são CD63 inc/CD203c inc/FcεRIdec (inc: *increase*, dec: *decrease*). A hiporresponsividade não se deve ao esgotamento de mediadores, não é mediada por fatores solúveis e está associada a alterações do fenótipo das células.

* FMUSP/HC.



Dispositivos únicos ou múltiplos para testes cutâneos alérgicos em crianças?

Laís Keiko Lopes, Tatiene Scallente Guedes, Carlos Antônio Riedi,
Herberto Jose Chong-Neto, Nelson Augusto Rosário*

Introdução: Teste cutâneo por puntura é a técnica mais utilizada e consagrada para a pesquisa de IgE específica em indivíduos alérgicos. **Objetivo:** Comparar os resultados de testes cutâneos por puntura com agulha e Multi-Test II® com diferentes concentrações de histamina e de extrato de *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp) e a dor relatada em cada teste. **Métodos:** Estudo experimental, realizado no complexo Hospital de Clínicas, Curitiba, Paraná. Foram avaliadas 104 crianças com idade entre 6 e 15 anos, diagnóstico de asma e ou rinite e ou dermatite atópica e teste cutâneo alérgico positivo para Dp. Foram realizados testes com agulha hipodérmica descartável BD Precision Glide® 13 x 0,3 e com dispositivo Multi-test II® com histamina 10 mg/mL e 1 mg/mL, extrato alergênico de Dp 5000 PNU/mL e 10000 PNU/mL e solução salina. Avaliação da dor foi obtida após cada teste pela escala de faces de dor de Wong-Baker. **Resultados:** A sensibilidade do teste cutâneo alérgico para os dois dispositivos foi 100% nas concentrações de histamina 10 mg/mL. Com histamina 1 mg/mL o Multi-test II® apresentou maior valor de sensibilidade (S = 86,5%) que a agulha (S = 56,7%). Alto nível de concordância entre os dois dispositivos foi observada com extrato de Dp na concentração de 10000 PNU/mL. Com a concentração de 5000 PNU/mL o nível de concordância entre os testes foi 69,1% (Kappa=0,2). A dor foi relatada por 65 crianças com Multi-Test II® e 48 com agulha. **Conclusão:** Houve alta sensibilidade para os dispositivos utilizados. Há diferenças entre os tamanhos das pápulas nos testes cutâneos alérgicos com os dois dispositivos, porém resultados falso-positivos não foram encontrados. Ambos os dispositivos foram bem tolerados pelas crianças.

Doenças alérgicas na infância e na adolescência: o que a sensibilização alérgica pode nos ensinar?

Carolina Sanchez Aranda, Renata Rodrigues Cocco, Felipe Faria Pierotti,
Marcia Carvalho Mallozi, Jackeline Motta Franco, Lilian Sanchez Moraes,
Antonio Carlos Pastorino, Nelson Rosario, Ekaterini Goudouris, Arnaldo Porto,
Neusa Falbo Wandalsen, Emanuel Sarinho, Flavio Sano, Maria Leticia Chavarria, Dirceu Solé*

Introdução: Com o avanço nas pesquisas, foi observado que a presença de sensibilização alérgica pode funcionar como um marcador de persistência de alergia. Além disso, a presença de duas ou mais doenças alérgicas num mesmo paciente, a chamada multimorbidade, pode também atuar como um preditor de gravidade. **Objetivo:** Descrever o perfil de sensibilização alérgica de pacientes atópicos acompanhados em diferentes serviços de alergia pediátrica no Brasil. **Método:** Estudo transversal com avaliação da história médica e mensuração de IgE sérica específica (sIgE) para proteínas totais dos alérgenos e seus componentes em participantes com idade entre seis meses e dezoito anos. **Resultados:** 470 participantes, sendo 224 (47,7%) meninas, foram divididos em grupos: 1 (rinite e/ou asma; n = 111, maior prevalência de sensibilização (MPS) ao *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp)- 87,4%); 2 (dermatite atópica; n = 99, MPS ao Dp- 90,9%); 3 (alergia alimentar; n = 95, MPS ao leite de vaca (LV)- 84,2%); 4 (lactente sibilante; n = 80, MPS ao Dp- 32,5%) e 5 (sem história médica de alergia; n = 85, MPS à *Blomia tropicalis* - 52,4%). Os componentes mais prevalentes foram o Der p 1 e 2. Os fatores mais importantes associados à gravidade foram alergia alimentar (OR = 2,36; IC95% = 1,15-4,83), dermatite atópica (OR = 2,12; IC95% = 1,03-4,33) e apresentar multimorbidade (OR = 1,68; IC95% = 1,03-2,74). Em relação à proteção, ser monossensibilizado (OR = 0,08; IC95% = 0,01-0,61) foi o fator mais expressivo. **Conclusão:** Esse estudo avaliou a sensibilização alérgica e a presença de multimorbidade em crianças atópicas e a relevância desses fatores, principalmente na gravidade das doenças. O manejo de crianças que apresentam simultaneamente diferentes doenças alérgicas, como também aquelas que são polissensibilizadas deve ser diferenciado para o sucesso terapêutico.

* Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP - EPM.

Identificação das proteínas IgE-reativas do pólen do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) para auxílio no diagnóstico e futura otimização do tratamento

Daniele Danella Figo, Karine de Amicis Lima, Denise Neiva Santos de Aquino, Fabiane Pomiencinski, Gabriele Gadermaier, Jorge Kalil, Peter Briza, Fábio Fernandes Morato Castro, Keity Souza Santos*

Introdução: Clinicamente, a rinite alérgica tem sido tradicionalmente caracterizada como sazonal, perene ou episódica. No entanto, essa abordagem de fenotipagem pode apresentar sobreposições. Pacientes com rinite perene podem apresentar piora dos sintomas na presença de alérgenos sazonais como polens. A imunoterapia alérgeno-específica é o único tratamento capaz de modificar a evolução natural da doença, porém, depende fundamentalmente da correta identificação do alérgeno responsável. **Objetivo:** Produzir um extrato proteico a partir do pólen do cajueiro e identificar as proteínas IgE-reativas presentes neste pólen. **Métodos:** Doze pacientes residentes em Fortaleza, foram selecionados com base na história de rinite alérgica persistente e agravamento dos sintomas no momento da floração do cajueiro. Foram incluídos 3 indivíduos não-atópicos expostos ao cajueiro como grupo controle. O soro desses pacientes foi testado em Western Blot 1D e 2D e as proteínas IgE-reativas foram submetidas à espectrometria de massas para identificação. Os epítomos foram preditos *in silico* contra uma base de dados de epítomos. **Resultados:** Foi possível identificar alguns homólogos de alérgenos de outros polens, como isoflavona redutase (Bet v 6), beta-1,3-glucanase (Ole e 9), proteína de choque térmico 70 kDa (Cor a 10), além de outras proteínas que podem representar novos alérgenos, tais como ATPase, aminociclase, glutamina sintetase e fosfoglucomutase. A predição do epítomos revelou a possibilidade de reatividade cruzada com outros alérgenos de pólen, tais como Phl p 4 e Mal d 1, além de outros aeroalérgenos. **Conclusão:** Esta é a primeira descrição da alergia ao pólen do caju mostrando a reatividade específica de IgE nos soros dos pacientes. A caracterização imunológica e estrutural de novos alérgenos, além de auxiliar no diagnóstico e tratamento de alergias não descritas, oferece ferramentas para prever epítomos e produzir moléculas hipoalergênicas nesta era da medicina de precisão.

Perfil da sensibilização alérgica de crianças e adolescentes brasileiros – Projeto Alergia II: o que mudou na última década?

Carolina Sanchez Aranda, Renata Rodrigues Cocco, Felipe Faria Pierotti, Marcia Carvalho Mallozi, Jackeline Motta Franco, Lilian Sanchez Moraes, Antonio Carlos Pastorino, Nelson Rosario, Ekaterini Goudouris, Arnaldo Porto, Neusa Falbo Wandalsen, Emanuel Sarinho, Flavio Sano, Maria Leticia Chavarria, Dirceu Solé*

Introdução: O primeiro Projeto Brasileiro de Alergia (PROAL I), criado em 2004, teve por objetivo avaliar a prevalência de sensibilização aos principais alérgenos entre crianças alérgicas brasileiras. Este conhecimento permitiu melhorar o manejo das doenças alérgicas nesta população. **Objetivo:** Caracterizar o perfil de sensibilização alérgica atual (PROAL II) e compará-lo aos resultados do estudo anterior. **Método:** Onze centros brasileiros de Alergia Pediátrica participaram do PROAL II. Em ambas as pesquisas foram utilizados desenhos similares e determinações da IgE sérica específica aos diferentes alérgenos (ImmunoCAP®, positivo > 0,35 kUA/L). **Resultados:** As amostras foram semelhantes quanto ao número, sexo e idade. Houve aumento significativo da sensibilização entre os estudos (PROAL I vs PROAL II) para gato (12,3% vs 29,9%), amendoim (14,7% vs 20,5%), milho (10,9% vs 16,9%), leite de vaca (20,4% vs 31,9%), gramíneas (10,7% vs 22,6%), cão (8,1% vs 40,3%), epitélio de vaca (11,4% vs 29,9%) e de cavalo (4,6% vs 13,2%) ($p < 0,05$). **Conclusão:** A sensibilização a animais domésticos, aos polens de gramíneas e a alguns alimentos, notadamente ao leite de vaca, aumentou no decorrer desse intervalo entre os dois estudos. Mudanças no estilo de vida, em especial, nos hábitos alimentares e na exposição aos animais podem ter contribuído para esses resultados. O conhecimento sobre os principais alérgenos envolvidos na sensibilização de pacientes alérgicos é um dos primeiros passos para se estabelecer um tratamento de maior precisão.

* Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP - EPM.

Produção e caracterização do antígeno-5 do veneno da vespa *Polybia paulista*: uma poderosa ferramenta diagnóstica

Karine Marafigo de Amicis, Alexandra Sayuri Watanabe, Daniele Danella Figo, José Roberto Aparecido dos Santos-Pinto, Mario Sergio Palma, Fábio Fernandes Morato Castro, Jorge Kalil, Therese Wohlschlager, Peter Briza, Sabrina Wildner, Fatima Ferreira Briza, Gabriele Gadermaier, Keity Souza Santos*

Introdução: A vespa *Polybia paulista* endêmica no sudeste do Brasil é responsável por graves acidentes, causando reações alérgicas que podem levar ao choque anafilático. Apesar disso não dispomos de um extrato comercial para teste ou imunoterapia destes pacientes. O antígeno 5 (Ag5) é um dos alérgenos principais encontrados em venenos de himenópteros e está envolvido em reatividade cruzada. **Métodos:** O sequenciamento do Ag5 foi feito por espectrometria de massas (MS) do veneno de *P. paulista*. Um gene otimizado para a expressão em *E. coli* foi desenhado baseando-se na sequência de aminoácidos. A molécula foi purificada por cromatografia de troca catiônica e a sequência primária confirmada por MS. As propriedades físico químicas e a estabilidade da molécula foram confirmadas através de ensaios experimentais. A modelagem molecular foi baseada na estrutura cristalográfica do Ag5 de *V. vulgaris*. Reatividade à IgE foi verificada utilizando-se soro de 22 pacientes alérgicos a veneno de vespa. **Resultados:** Foi identificada uma nova isoforma do Ag5 semelhante ao da vespa *P. scutellaris* relatada como hipoalergênica. A molécula foi produzida na forma recombinante com conformação adequada em *E. coli*. O alérgeno, registrado na IUIS como Poly p 5, foi reconhecido por IgEs no soro de 50% dos pacientes testados e apresenta reatividade cruzada com outros Ag5 homólogos. Testes de desgranulação de basófilos em linhagem celular de ratos mostraram que o rPoly p 5 induziu pouca desgranulação, indicando seu potencial hipoalergênico. **Conclusão:** Pela primeira vez a utilização de um sistema de expressão em *E. coli* para a produção de rAg5 resultou em um alérgeno com a estrutura correta e estável, o que faz do rPoly p 5 uma ferramenta importante para diagnóstico e tratamento da alergia a este veneno. A molécula produzida é potencialmente hipoalergênica e se testes *in vitro* com sangue de pacientes alérgicos confirmarem essa suspeita, a molécula se torna particularmente interessante para uso na ITE.

* Faculdade de Medicina da USP.