



UNIVERSITAT_{DE}
BARCELONA

Inmunopatología de la dermatitis atópica

Ignacio Umbert Millet



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- NoComercial – SenseObraDerivada 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - NoComercial – SinObraDerivada 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 4.0. Spain License.**

TESIS DOCTORAL
INMUNOPATOLOGÍA DE LA DERMATITIS ATÓPICA

DR. IGNACIO UMBERT MILLET

Q. 755. 896

TESIS DOCTORAL DIRIGIDA POR:

Prof. J.A.A. Hunter. UK

Prof. J.M. Mascaró. España

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA



0700132823

TESIS DOCTORAL

- Agradecimientos
- Motivo de la tesis
- Abreviaturas

CAPITULO I : INTRODUCCION

- A. Definición.
- B. Historia.
- C. Manifestaciones clínicas.
- D. Epidemiología.
- E. Histopatología y microscopia electrónica.
- F. Asociaciones genéticas.
- G. Aspectos farmacológicos.
- H. Agentes inhalantes: polen.
- I. Papel del polvo doméstico y del ácaro del polvo doméstico en la dermatitis atópica.

- J Papel de los agentes infecciosos en la dermatitis atópica.
- K. Relación de alergenios de la comida con la dermatitis atópica.
- L. Inmunopatología de la dermatitis atópica
 - Introducción.
 - El papel de la IgE en la dermatitis atópica.
 - Alteraciones de la inmunidad celular.
 - El papel de la IgG₄ en la DA
- M. Manejo y tratamiento de la dermatitis atópica
 - Métodos de prevención en recién nacidos, niños y adultos.
 - Medidas generales.
 - Irradiación por ultravioletas A, B.
 - Efectos de los glucocorticoides en la respuesta inmune inducida por células epidérmicas.

CAPITULO II: REVISION BIBLIOGRAFICA CONSIDERANDO LOS
SIGUIENTES ASPECTOS:

- A. Células de Langerhan.
- B. Linfocitos T. helper / supresores.
- C. Macrófago.
- D. HLA - DR
 HLA - DP
 HLA - DQ
- E. Mastocitos.
- F. Eosinófilos.
- G. Basófilos.
- H. Queratinocito.
- I. Objetivos en la tesis

CAPITULO III: PROYECTO. MATERIAL Y METODOS.

A.- Proyecto

B.- Pacientes:

1. Pacientes con piel normal no atópicos.
2. Pacientes con dermatitis atópica para el estudio de la prueba intradérmica con el ácaro del polvo doméstico.
3. Pacientes con dermatitis atópica para el estudio de la prueba parche con el ácaro del polvo doméstico.
4. Pacientes atópicos con exposición de rayos ultravioleta B.
5. Pacientes atópicos en piel sana y piel afectada de eccema.

C.- Métodos:

1. Biopsia cutánea
2. Prueba de Prick
3. Pruebas intradérmicas
4. Test de parche
5. RAST

6. Técnica de inmunoperoxidasa
7. Cuantificación e inmunofenotipado de las células en la epidermis y dermis.
8. Análisis estadísticos de los resultados

CAPITULO IV: RESULTADOS.

- A. Correlación técnica de RAST y PRICK.
- B. Estudio por microscopio óptico de las reacciones fijadas con formol :

H&E

GIEMSA

Toluidinia azul.

1. Test intradérmico de ácaro polvo de casa.
2. Test de parche en piel excoriada y no excoriada con ácaro del polvo de casa.
3. Exposición de piel atópica a los ultravioleta B

- C. Estudio por la técnica de inmuno peroxidasa usando anticuerpos monoclonales : epidermis/dermis.

CD1a - leu 6 L2.4.3 HLA - DR

CD8 - leu 2a B 7/21 HLA - DP

CD4 - leu 3a Leu 10 HLA - DQ

CD4 - leu M3

1. Piel normal no atópica.
 2. Estudio intradérmico de ácaro polvo de casa.
 3. Test de Parche en piel excoriada y no excoriada con ácaro del polvo de casa.
 4. Exposición de piel atópica a los rayos ultravioleta B.
 5. Pacientes atópicos en piel sana y piel afectada de eczema.
- D. Estudio de la proteína básica mayor en cinco pacientes tras la inyección del acaro del polvo doméstico intradérmica.

CAPITULO V: DISCUSION

1. Estudios inmunopatológicos del test intradérmico con APD y del test del parche en piel excoriada y no excoriada con APD.
2. Resultados comparativos entre la inyección intradérmica y el test del parche en piel excoriada y no excoriada.

3. Estudios inmunológicos en piel normal, no atópica, comparados con piel afectada y no afectada de eccema en pacientes atópicos.
4. Método de recuento del número celular en la epidermis y dermis.
5. Histología del estudio intradérmico, test del parche, y UVB.
6. Correlación entre el test de PRICK y RAST.
7. Estudios con Rayos Ultravioleta B
8. Estudios de Ag de histocompatibilidad clase II en la Prueba intradérmica, test del parche, UVB y piel afecta y no afecta.

CONCLUSIONES PUNTUALES

BIBLIOGRAFIA

AGRADECIMIENTOS

- A mis padres, que con su amor y ejemplo me han dado la posibilidad de mi educación.
- A mi hermano Pablo y a mi familia por darme su apoyo.
- Al Profesor J.A.A. Hunter por darme la oportunidad y facilidades de hacer este trabajo. Tambien quiero agradecer su valioso consejo y ánimo durante la consecución de este estudio y dirección de esta tesis.
- Al Profesor J.M. Mascaró por la dirección de esta tesis.
- Al Profesor J.M. Moragas por su estímulo en los momentos decisivos de mi profesión.
- Al Dr. Carlos Cordon que me ayudó a configurar el plan de la tesis para obtener una beca Cirit.
- A Eva McVitie que con paciencia me enseñó todo el trabajo de laboratorio.
- Al Dr. David Gawkrödger y Frances Britton que me ayudaron en esta tesis.
- Al Departamento de Dermatología del Royal Infirmary de Edimburgo por darme la oportunidad de pasar un año aprendiendo de ellos.

- A la Generalitat de Catalunya por concederme una Beca Cirit para llevar a cabo esta tesis.
- Al Dr. Jaume Martorell y el Departamento de Inmunología del Hospital Clínic de Barcelona por ayudarme en la discusión.
- Al Dr. Kristin M. Leiferman, por realizar el estudio de la proteína básica mayor.
- Al Dr. Carlos Ascaso, por ayudarme en el análisis estadístico.
- A Carmina Esteban, por su paciencia durante la transcripción de la tesis en castellano, inglés y catalán.
- A mis compañeros por darme la oportunidad de aprender de ellos.

MOTIVO DE LA TESIS

Uno de los aspectos importantes en mi educación en el campo de la dermatología ha sido el poder tener unos conocimientos sólidos en el campo de la dermatopatología.

Durante mi estancia en la Universidad de Nueva York, en el departamento de dermatopatología que dirige el Dr. A. Bernard Ackerman, me di cuenta de la importancia de la inmunología en los procesos inflamatorios de la piel.

Siguiendo el consejo de mi maestro el Dr. Ackerman, tuve el privilegio de poder realizar mi tesis en la Universidad de Edimburgo, en el departamento que dirige el Prof. John A. Hunter. Escogí el tema de Dermatitis atópica por los siguientes motivos:

1. Una mayor incidencia de esta enfermedad en el Reino Unido y países de latitud nórdica.
2. En el departamento de dermatología del Royal Infirmary, es una de las enfermedades más frecuentes en consulta ambulatoria y hospitalaria.
3. La dermatitis atópica es una enfermedad en la que el sistema inmunológico juega un papel esencial y su comprensión me será muy útil para tratar esta enfermedad, y puede ser modelo válido para la mayor comprensión de otras enfermedades dermatológicas relacionadas con la inmunología.
4. Dentro de la dermatitis atópica, los factores exacerbadantes como el ácaro del polvo doméstico juegan un papel esencial.

El constante rascado, inducido por el prurito del paciente es una puerta de entrada constante de antígenos, lo cual produce una respuesta de hipersensibilidad retardada. La disminución de los alergenios como el ácaro del polvo doméstico, en el ambiente de estos pacientes repercute en una mejoría del estado de salud de los mismos.

5. La introducción de ciertas mejoras en el habitat de estos pacientes, hará disminuir la morbilidad de esta enfermedad y en consecuencia una posible disminución de la hospitalización de estos enfermos.

ABREVIATURAS

Acaro del polvo doméstico =>	APD
Anticuerpos monoclonales =>	AM
Antígeno 1 asociado función linfocítica =>	LFA-1
Antígeno linfocitario humano de clase II =>	HLA
Célula de Langerhans=>	CL
Célula presentadora de antígeno =>	CPA
Complejo de Histocompatibilidad mayor =>	CHM
Cristales de Charcot Leyden =>	CCL
Dermatitis atópica =>	DA
Disfotatasa de adenosina =>	ADPase
Endocitosis mediada por receptor =>	EMR
Factor de activación del timocito derivado de la célula epidérmica =>	ETAF
Factor inhibición migratoria =>	MIF
Factor necrótico tumoral =>	TNF
Factor quimiotáctico del neutrófilo =>	FQN
Factor quimiotáctico del eosinófilo =>	FQE
Fitohemaglutinina =>	FHA
Fosfodiesterasa =>	FDA
Fotoquimioterapia por psoralen =>	PUVA
Interferon =>	IFN
Interleukina =>	IL
Leucocitos mononucleares =>	LMN
Linfocito de sangre periférica =>	LSP
Mastocitos de la mucosa =>	MCM
Mastocitos del tejido conectivo =>	MTC
Media y distancia intercuartil =>	MDI
Molécula 1 de adhesión intercelular =>	ICAM-1

Neurotoxina derivada del eosinófilo =>	NDE
Péptido relacionado con el gen de la calcitonina =>	PRGC
Proteína básica mayor =>	PBM
Proteína catiónica del eosinófilo =>	PCE
Prueba de Mann Whitney U =>	PMWU
Rayos ultravioleta A-B =>	UVA-B
Reacción de fase retardada =>	RFR
Test de Wilcoxon =>	TW
Trifosfatasa de adenosina =>	ATPase
Virus herpes simple =>	VHS

CAPITULO I

Introducción

A. Definición

La dermatitis atópica (DA) ha sido definida como una erupción eccematosa, pruriginosa y recurrente, que afecta de forma simétrica en áreas de flexura y se presenta con asociación de historia personal o familiar de asma, fiebre del heno o dermatitis.

Esta enfermedad es consecuencia de alteraciones del sistema inmunológico y de los niveles de fosfodiesterasa y AMP cíclico .

B. Historia

En 1892, Besnier fue el primer autor en describir una enfermedad familiar que cursaba con prurito desde la infancia hasta la edad adulta, que presentaba variaciones según las diversas estaciones del año, y aparecía asociada con asma y fiebre del heno. Brocq, en 1902, denominó a esta enfermedad como neurodermatitis difusa, sugiriendo como causa la existencia de una alteración del sistema nervioso. En 1923, Coca y Cooke utilizaron el término "atopia" para definir el trastorno que presentaban diversos pacientes que asociaban asma, fiebre del heno y eccema. Más tarde, en 1933, Wise y Sulzberger describieron tres fases clínicas en

los pacientes afectados de dermatitis atópica: fase infantil, fase del niño y fase adulta.

C. Manifestaciones clínicas

La dermatitis atópica carece de signos absolutamente específicos y de pruebas de laboratorio que sean concluyentes, siendo la presencia de un conjunto de manifestaciones clínicas la que nos permitirá un mejor reconocimiento de la enfermedad.

Para efectuar el diagnóstico de dermatitis atópica es necesario que existan 3 o más manifestaciones clínicas básicas:

- Prurito
- Morfología y distribución típica:
 - a) Liquenificación flexural lineal en adultos.
 - b) Afección facial y área extensores en niños.
- Dermatitis crónica recidivante.
- Historia personal o familiar de atopia.

Asimismo, han de darse tres o más manifestaciones clínicas secundarias:

- Xerosis
- Ictiosis, queratosis pilosa.
- Hipersensibilidad tipo I.
- Aumento de IgE en plasma.
- Inicio de la enfermedad en edad temprana.
- Aumento de las infecciones cutáneas por alteraciones de la inmunidad celular.
- Tendencia del paciente a presentar dermatitis en las palmas de manos y pies.
- Dermatitis del pezón.
- Queilitis.
- Conjuntivitis recidivante.
- Pliegue de Dennie - Morgan.
- Querotocono.
- Catarata subcapsular anterior.
- Eritema y palidez facial.

- Pitiriasis alba.
- Prurito cuando existe sudación.
- Intolerancia al contacto con la lana.
- Intolerancia a determinados alimentos.
- Factores emocionales y ambientales que influyen la curación de la enfermedad.
- Dermografismo blanco.

La dermatitis atópica se subdivide en tres formas clínicas:

1. Eccema agudo. Se observa entre el primer y segundo año de edad, caracterizándose por una dermatitis exudativa. Las áreas afectadas son la cara y la superficie extensora de las extremidades.
2. Eccema del niño. Se presenta entre los 4 y 10 años de edad. Las áreas más afectadas son la antecubital, popliteal, manos, pies, y periorbital. No se observa una dermatitis tan exudativa, como en la fase aguda .
3. Eccema del adolescente y adulto. Este eccema se observa entre los 12 y 20 años de edad, afectando fundamentalmente a las zonas de flexión, cara, cuello, tronco superior y extremidades. Se observan áreas de liquenificación y engrosamiento de la piel.

Un subgrupo de la dermatitis atópica sería el concepto de criptoatopia cutánea (Grimalt F, Lecha M, Mascaró JM), siendo una forma frustrada de la dermatitis atópica que presenta un grado variable de prurito, presentando múltiples trastornos cutáneos como dermatitis de contacto , e irritativa entre otros.

Estos pacientes presentan antecedentes familiares de signos mayores y menores de atopia y algunos signos mayores extracutáneos de la misma, formando un subgrupo de la atopia cutánea.



LESION ERITEMATOSA-ESCAMOSA EN BRAZO. PACIENTE AFECTA DERMATOSIS ATOPICA



LESION ERITEMATOSA-ESCAMOSA CON AREAS DE LIQUENIFICACION EN ZONA DE FLEXURAS

D. Epidemiología

La dermatitis atópica es una enfermedad cutánea globalmente distribuida con diversas evaluaciones de su prevalencia según autores y zonas geográficas. Se estima que en los EE.UU., la DA afecta a un 0.7% de la población (Johnson, 1977); en los países nórdicos se ha señalado que al menos un 5% de la población infantil está afectada en algún momento de DA (Atherton, 1982); asimismo, la incidencia en Inglaterra se sitúa en el 3,1% (Walker, 1956).

E. Histopatología y microscopia electrónica

Histopatología

Los cambios patológicos que se observan en el microscopio óptico pueden dividirse en dos fases, aguda y crónica, con continuidad entre ambas (Prose y Sedlis, 1960; Prose, 1965). Durante la fase aguda, existe una ligera hiperplasia psoriasiforme de la epidermis con hiperqueratosis suave y ligera paraquetosis.

Ocasionalmente se pueden observar mitosis en la parte más baja de la epidermis, sugiriendo un estado proliferativo en la evolución de la lesión. También se observa edema intercelular (como espongiosis), así como edema intracelular (Stenn, 1981). Las vesículas de la DA aguda son relativamente pequeñas en comparación con las observadas en la dermatitis de contacto alérgica. Se pueden apreciar múltiples vesículas separadas unas de otras por finos septos, que se vuelven coalescentes en algunas áreas.

Frecuentemente se observan infiltrados linfocitarios dentro y alrededor de las vesículas epidérmicas. En lesiones de algunos días de evolución se pueden observar neutrófilos dispersados en la dermis y la epidermis y agregados formando escama/crosta asociados al exudado en el estrato córneo.

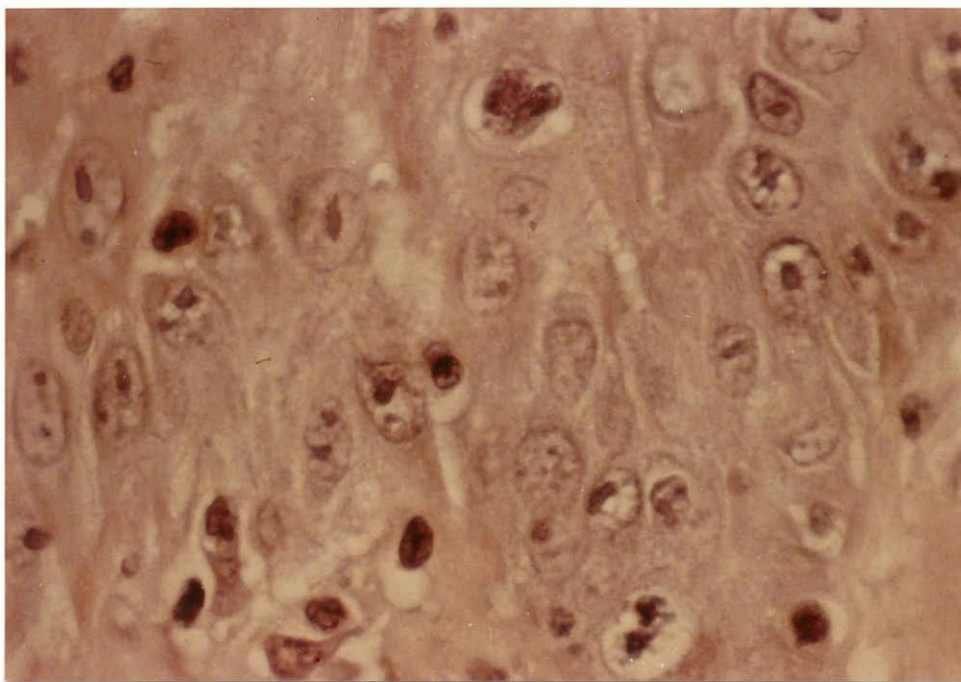
En la dermis subyacente se aprecia un infiltrado inflamatorio predominantemente formado de células mononucleares, muchas de ellas linfocitos distribuidos alrededor de los vasos dérmicos, aunque también se observan monocitos y macrófagos. Ocasionalmente se ven eosinófilos y basófilos, mientras que las células plasmáticas están ausentes. En algunos casos se observa un infiltrado liquenoide en la unión dermoepidérmica. Algunos mastocitos aparecen hipogranulados, presumiblemente debido al rascado consecuente. Existe hipertrofia de las células endoteliales y pericitos del plexo venoso superficial (Mihm, 1976).

Los cambios patológicos en las placas crónicas liquenificadas consisten en una hiperplasia (de moderada a marcada) de la epidermis con elongación de las crestas interpapilares y una hiperqueratosis visible con áreas de paraqueratosis y células disqueratóticas focales. Están presentes diversos grados de edema intercelular pero no se observa normalmente formación de vesículas en las placas crónicas. Existe un notable infiltrado inflamatorio perivascular dérmico compuesto por células mononucleares que muestra una mezcla de células linfoides y células con carácter monocito/macrófago.

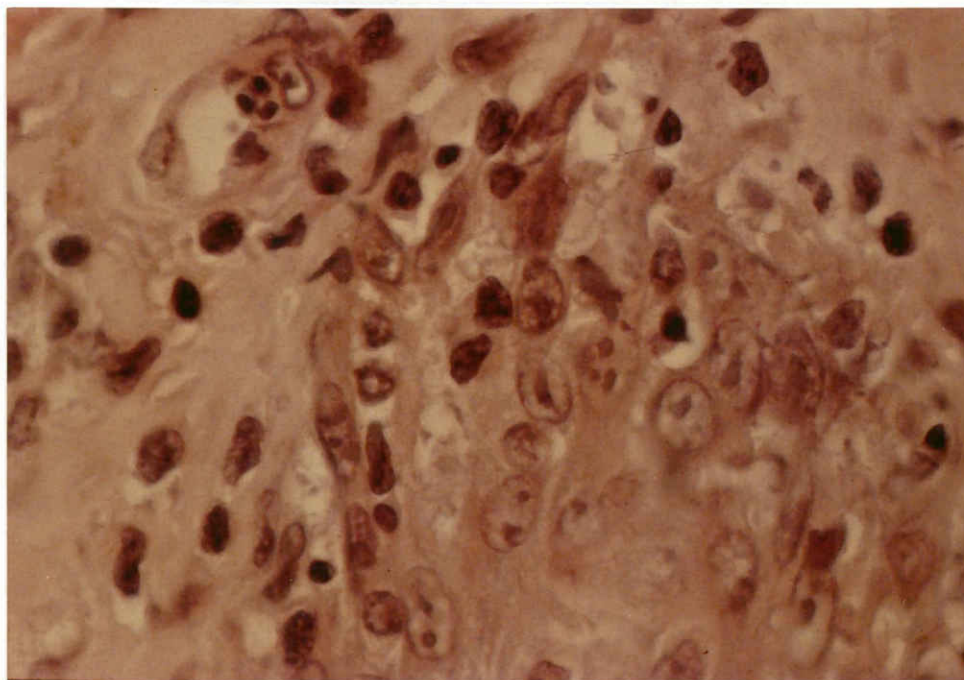
Focalmente se puede observar la presencia de células mononucleares en la epidermis. Raramente se hallan

eosinófilos. Cuando se usan tinciones metacromáticas apropiadas, los mastocitos se vuelven sorprendentemente evidentes. El número de capilares y sus paredes engrosadas está aumentado. Un hallazgo notable en las placas liquenificadas es la fibrosis de la dermis papilar y de la parte más alta de la dermis reticular. La fibrosis se observa en líneas verticales dentro de las elongadas papilas de la dermis papilar y se vuelve confluyente en la dermis reticular.

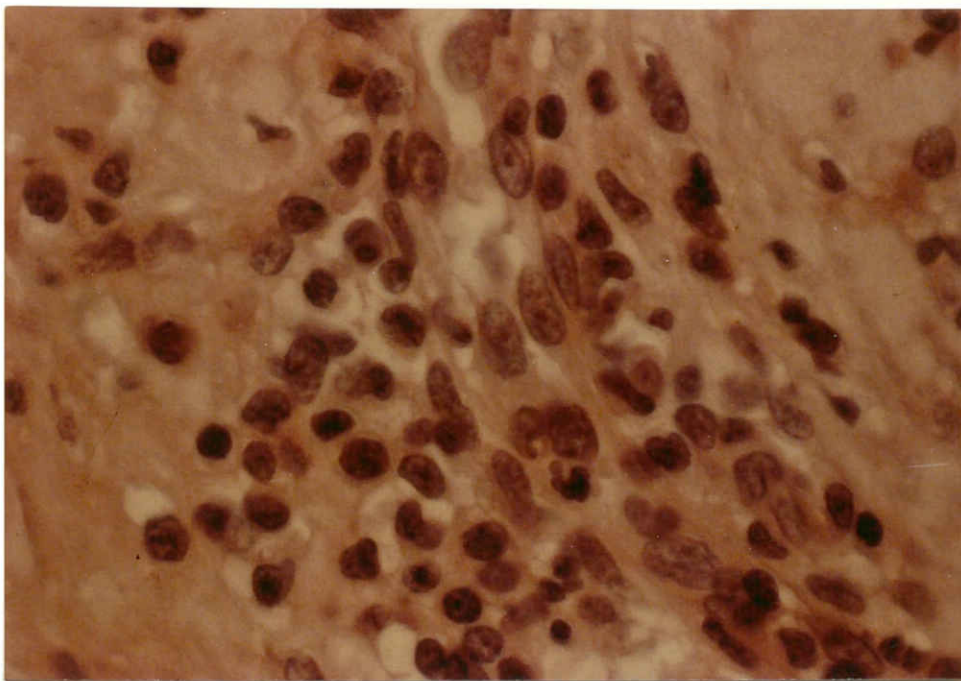
En ocasiones, se observa fibrosis perineural de pequeños nervios (Tong, 1980; Mihm, 1976).



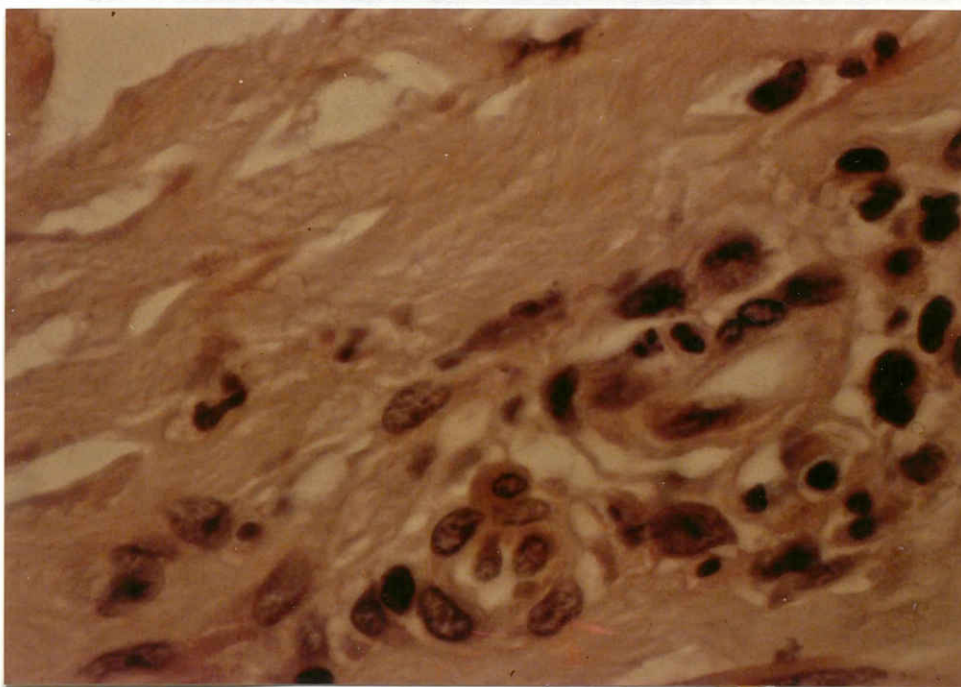
EDEMA INTERCELULAR DE LA EPIDERMIS OBSERVANDOSE ALGUNOS LINFOCITOS EN LA EPIDERMIS - LIGERA ATIPIA DE LOS KERATINOCITOS BASALES (X40)



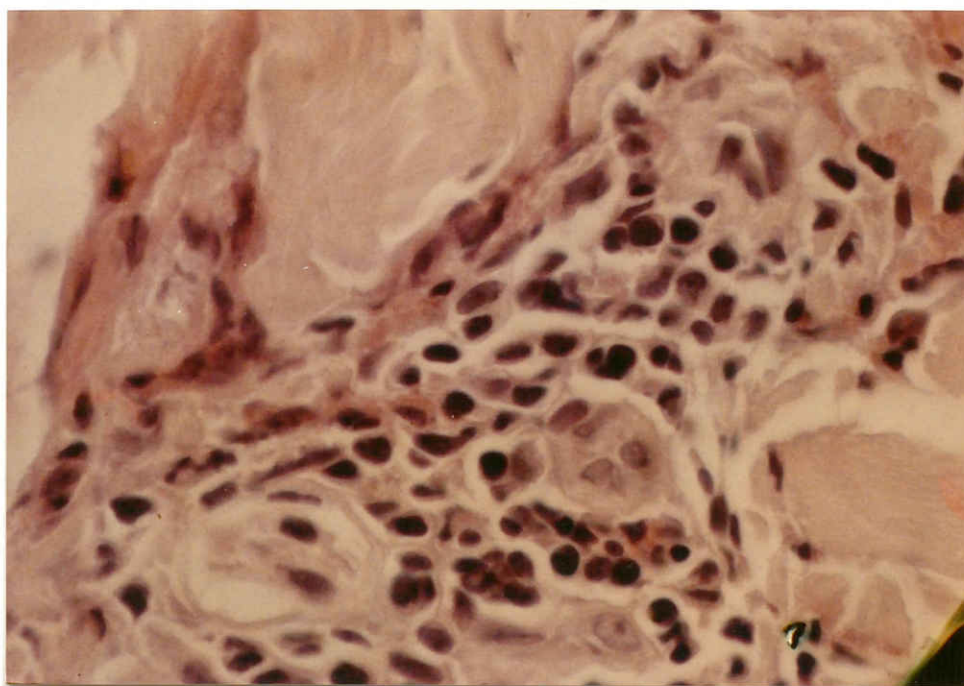
ALTERACION VASCULAR EN LA UNION DERMOEPIDERMICA. OBSERVESE LA PROTUSION DE LOS LINFOCITOS EN ESTA AREA (X40)



INFILTRADO PERIVASCULAR COMPUESTO DE LINFOCITOS E HISTIOCIDIOS EN DERMIS PAPILAR (X50)



AUMENTO DE MASTOCITOS EN EL INFILTRADO PERIVASCULAR EN BIOPSIA DE PACIENTES ATOPICOS (X50)



INFILTRADO PERIVASCULAR COMPUESTO DE LINFOCITOS E HISTIOCIDIOS EN DERMIS PAPILAR (X50)

Microscopia electrónica

Los queratinocitos basales se observan más grandes de lo normal con núcleos irregulares y muestran ligera pérdida de la polaridad. El aparato de Golgi y las mitocondrias celulares están aumentados en número y tamaño. Las tonofibrillas se hallan irregularmente agregadas y distribuidas en el citoplasma. Las células del estrato granuloso están separadas por amplios espacios llenos de material amorfo de moderada densidad electrónica, sugiriendo la presencia de fluido intercelular. Los fragmentos nucleares, restos mitocondriales y restos de otras organelas se localizan en el estrato córneo de las lesiones agudas (Prose, 1965). En las lesiones crónicas liquenoides, estos cambios son menos aparentes, existe menos fluido intercelular y las tonofibrillas no son tan numerosas. La capa córnea está engrosada pero es de estructura normal (Prose, 1965). Se observan células de Langerhans (conteniendo los característicos granulos de Birbeck) en varios niveles de la epidermis. En algunas de estas células, el citoplasma contiene cisternas dilatadas de retículo endoplasmático rugoso y complejos de Golgi abundantes. Se pueden apreciar células mononucleares cruzando la membrana basal en la unión dermoepidérmica. En ocasiones son células de Langerhans puesto que contienen gránulos de Birbeck. Se pueden ver células de Langerhans yuxtapuestas a las células mononucleares en la dermis, donde se observan además linfocitos así como monocitos/macrófagos. Algunos macrófagos contienen gránulos de melanina en las vacuolas de membrana.

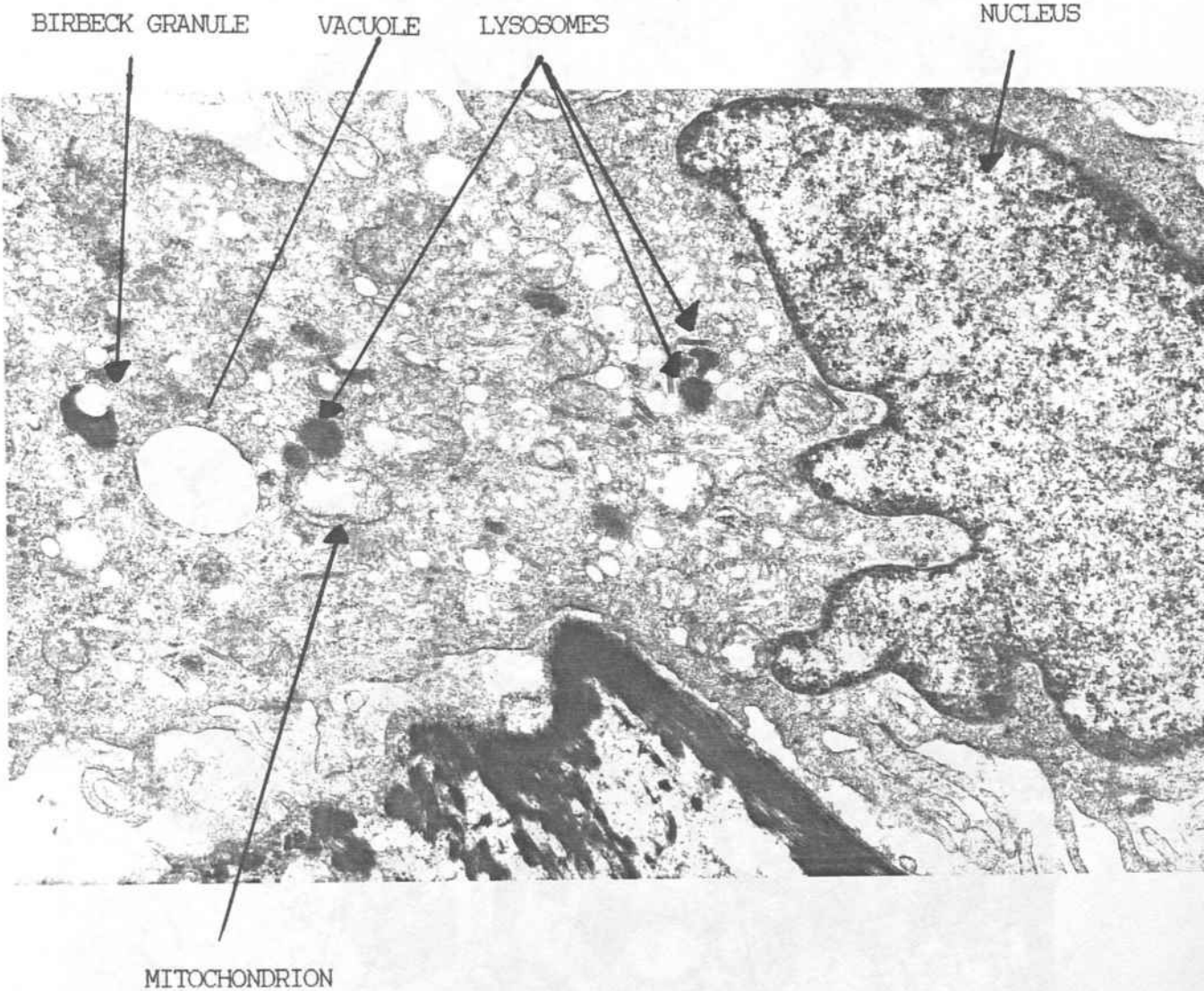
Existen células en la dermis que pueden representar células

indeterminadas puesto que tienen microvellosidades de superficie, núcleos de forma irregular y filamentos intracitoplasmáticos pero carecen de gránulos de Birbeck (Najem, 1985).

LANGERHANS CELL



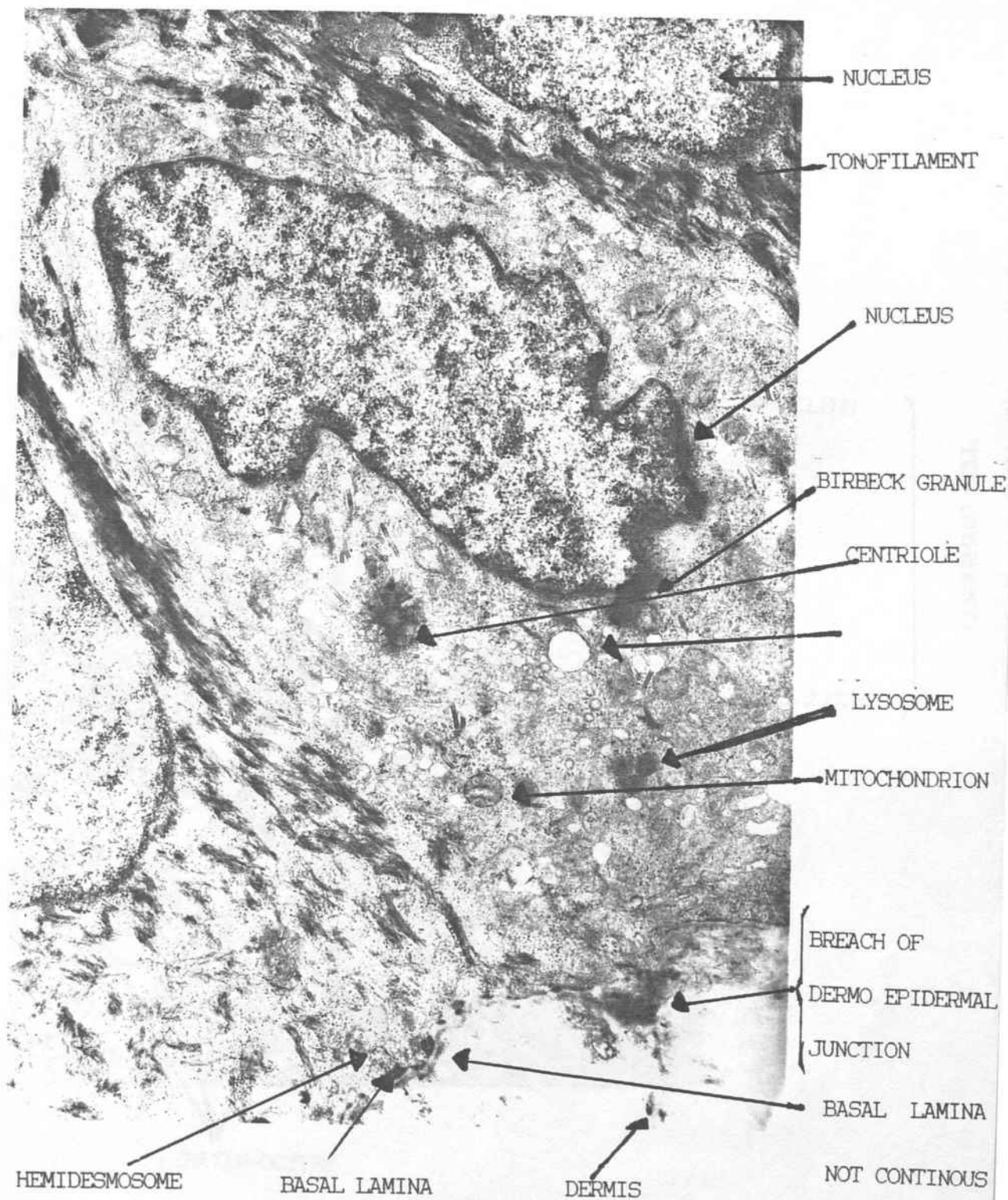
LANGERHANS CELL



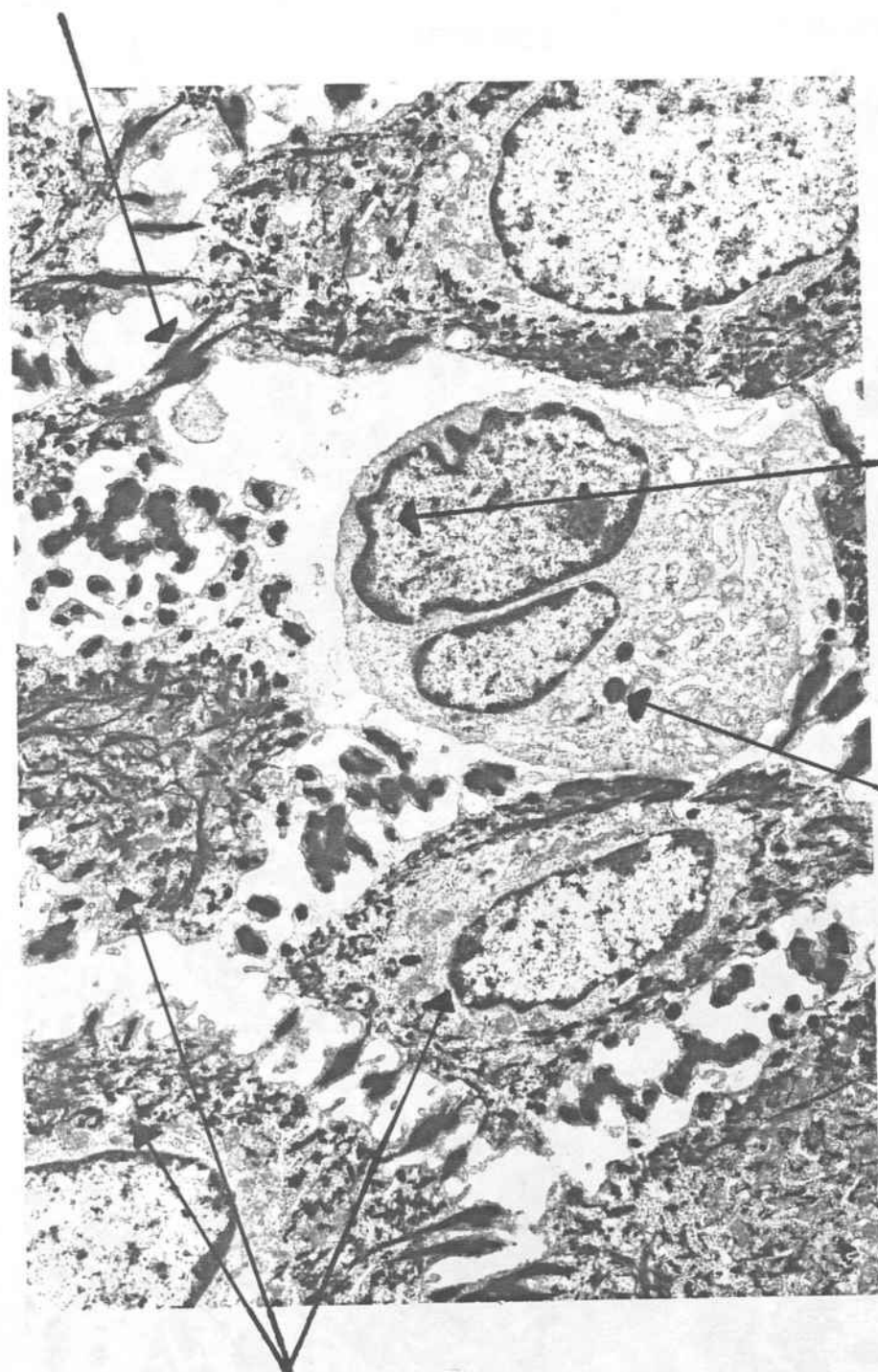
LANGERHANS CELL (HIGH POWER)



LANGERHANS CELL AT DERMO-EPIDERMAL JUNCTION



DESMOSOME



NUCLEUS

LYSOSOME

LANGERHANS CELL

KERATIN-OCYTES

LANGERHANS CELL

APPOSITION IN

BIRBECK GRANULE

EPIDERMIS

LYMPHOCYTE



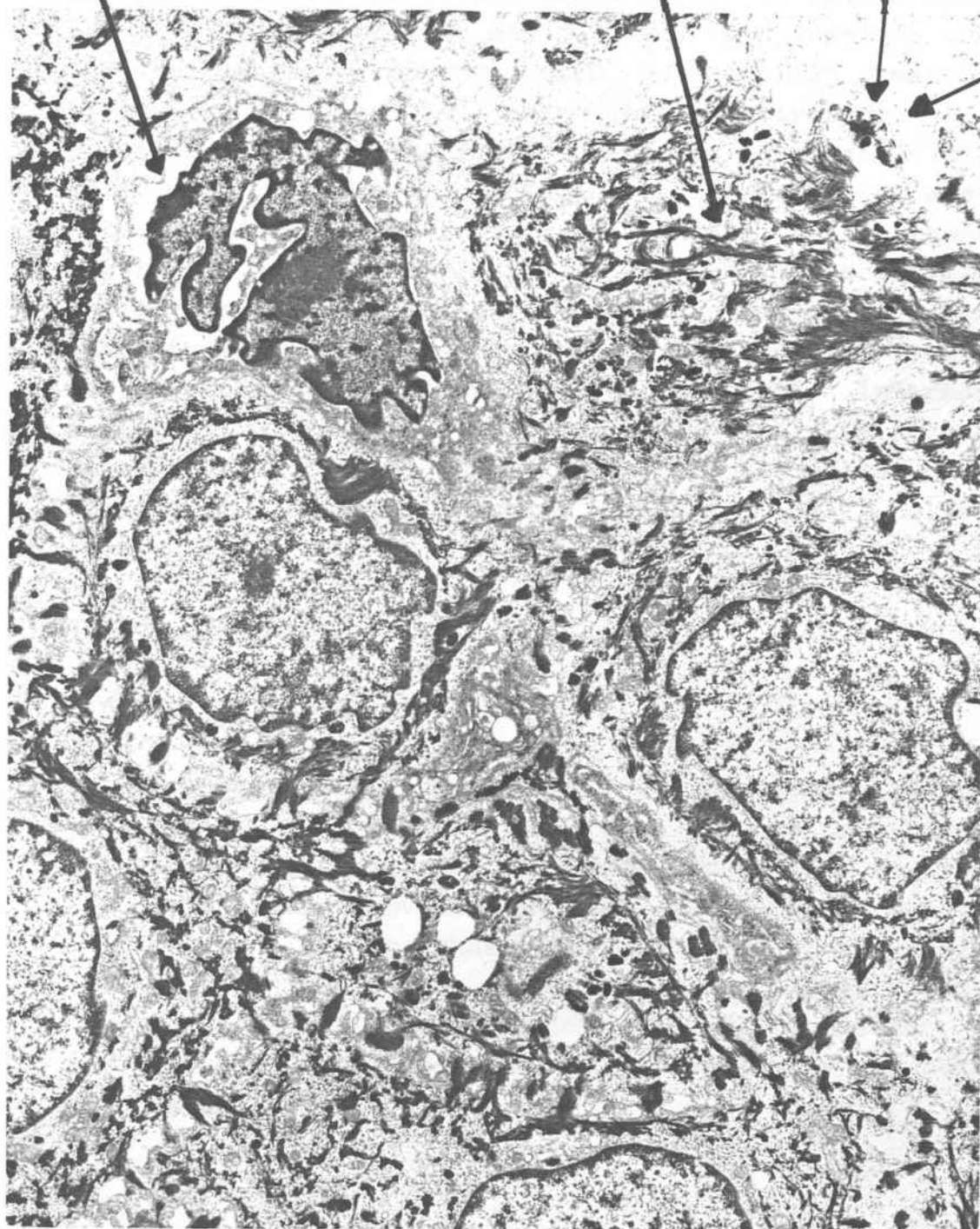
LANGERHANS CELL DAMAGE

KERATINOCYTE (BASAL)

CYTOLYSIS (SHRUNKEN CYTOPLASM)

DERMOEPIDERMAL JUNCTION

DERMIS



F. Asociaciones genéticas

La DA tiene unas bases hereditarias. De un 60% a un 70% de pacientes con DA tienen un familiar de primer grado con una alteración atópica o más de una, mientras que sólo el 30% de la población de control no atópica presenta una historia familiar de este tipo. Diversos estudios realizados por Rajka (1960) y Schultz - Larsen (1986) en individuos gemelos registraron una concordancia más alta para atopia en los gemelos monocigotos. Inicialmente se pensó que la DA se heredaba de modo autosómico dominante; en la actualidad existen evidencias de las influencias ambientales en un patrón de herencia poligénico multifactorial. Si bien existen numerosos informes que sugieren la existencia de asociaciones de la DA al antígeno leucocitario humano (HLA), ninguno de ellos ha sido confirmado de manera adecuada (De Weck, 1977; Blumenthal 1980).

G. Aspecto dermatológicos

Fármaco - Fisiología

1. Estudios psicofisiológicos Un problema psicofisiológico fundamental en la DA es la tendencia inherente de la piel para producir prurito en respuesta a la mínima provocación. Las influencias emocionales pueden desencadenar liberación de los mediadores histamínicos de los mastocitos o reacciones vasomotoras o de sudor que causan prurito. El rascado puede volverse una respuesta condicionada que perpetúa el ciclo (Hanifin, 1986).

2. El prurito en la DA. El prurito es el síntoma dominante en la DA y puede llevar a excoriación, erosión y liquenificación. La etiología del prurito severo en la DA es todavía desconocida. Algunos estudios han mostrado una duración prolongada del prurito y un descenso en el umbral del picor (Arthur, 1956). Graham y Wolf (1953) mostraron que el prurito era posterior a la vasodilatación en los pacientes con DA.

Diversos estudios cutáneos realizados en pacientes con DA muestran un incremento de mastocitos (Mihm, 1976), concentración de histamina (Johnson 1960), niveles de leucotrienos (Ruzicka, 1984) y de la liberación de histamina procedente de los basófilos (Butler, 1983). Asimismo, estudios recientes sugieren que la secreción de diversos neuropéptidos, tales como la sustancia P, puede estimular la liberación de una variedad de mediadores del prurito y de la inflamación procedentes de los mastocitos cutáneos causando vasodilatación seguida de prurito (Foreman, 1984).

3. Sudación: Clínicamente, existe unanimidad en la opinión de que la sudación no es normal en la DA, tanto si es térmica, inducida por el ejercicio, por la temperatura ambiente aumentada o emocional. La sudación coincide con un aumento en la respuesta prurito / rascado y conduce a la lesión cutánea. Actualmente, permanece sin demostrar que la retención sudoral cause directamente el prurito, aunque es concebible que la oclusión de únicamente una pequeña

proporción de conductos sudorales sea suficiente para causar prurito y que el aparente incremento en la producción de sudor sea compensatorio de áreas con ausencia de sudación (Hanifin, 1986).

4. Respuestas cutáneas fisiológicas

Dermografismo blanco. Al frotar o friccionar la piel de un paciente con DA se produce un blanqueamiento paradójico de la misma (Whitfield, 1938). El dermografismo blanco se ha considerado como un signo diagnóstico de ayuda durante las exacerbaciones de la DA. La respuesta linear blanca se puede producir en aproximadamente el 75% de pacientes y tiene una buena correlación con la ausencia de reacción inducida por la histamina (Kalz, 1960). No existe respuesta habonosa y los estudios de pletismografía son congruentes con vasoconstricción en el área blanqueada (Thune, 1980). El dermografismo blanco no se bloquea por la atropina, la procaina ni la simpatectomía y además parece encontrarse bajo influencias locales y no neurales (Rajka, 1975).

Reacciones a los cambios de temperatura

En los pacientes con DA, la temperatura cutánea basal se halla típicamente disminuida, especialmente en las áreas acrales. La vasculatura cutánea se constriñe rápidamente en un ambiente frío y se dilata lentamente en ambientes cálidos (Abrams, 1963). Se cree que existe una tendencia a la vasoconstricción cutánea

generalizada en la atopia, en relación a las respuestas adrenérgica y colinérgica.

5. Anormalidades farmacológicas

Blanqueamiento retardado por los agentes colinérgicos

Un blanqueamiento retardado en respuesta a la acetilcolina ocurre en el 70% de pacientes con DA (Champion, 1961). El mecanismo permanece desconocido. No obstante, numerosos autores están de acuerdo en que esta respuesta no es específica de la DA.

Respuestas adrenérgicas y catecolaminas

La evidencia de una función autónoma alterada se refiere a una alteración de la actividad adrenérgica-x reflejada mediante un aumento del tono piloerector en la DA y reacciones vasocutáneas y oculares aumentadas con la pilocarpina en el asma (Rajka, 1975). Asimismo, existe relación entre los brotes de DA y el estrés emocional.

En 1968, Szentivanyi señaló que muchas de las formas farmacológicas e inmunológicas de las enfermedades atópicas se podían explicar mediante el bloqueo de los receptores adrenérgicos beta que producen un desequilibrio en las influencias de la regulación adrenérgica y colinérgica. Su hipótesis llevó a una serie de estudios sobre la respuesta del AMP cíclico (AMP-C) a los receptores adrenérgicos beta comparado con los pacientes atópicos (Parker, 1973; Reed, 1976).

Los resultados mostraron que existía una respuesta disminuída a los receptores adrenérgicos beta pero también a la protablandina E y a la histamina (Parker, 1977; Safko, 1981). Estos hallazgos sugieren que la anormalidad se sitúa distalmente a los receptores. Más tarde, se explicó mediante demostración de la disminución del AMP-C y la elevación de la actividad de la fosfodiesterasa (FDE) en los leucocitos mononucleares procedentes de pacientes atópicos comparada con pacientes control sin atopia con dermatitis de contacto alérgica (Grewe, 1982; Holden, 1986). Así pues, las respuestas disminuídas del AMP-C a una variedad de agonistas puede ser el resultado de un incremento del catabolismo del nucleótido cíclico más que de un bloqueo del receptor de la hormona.

Respuesta al ácido nicotínico. La aplicación tópica de ácido nicotínico o de sus ésteres es normalmente causa de eritema; aunque en pacientes con DA no se ha observado ninguna reacción (Murrell, 1959).

Histamina, mastocitos y basófilos. Los mastocitos se hallan aumentados en la DA, especialmente en la piel afectada crónicamente (Mihm, 1976).

Diversos investigadores han demostrado elevaciones de la concentración cutánea de histamina incluso en piel no afecta (Johnson, 1960). La histamina intramuscular produce una respuesta eritematosa exagerada en áreas de piel reactiva de los pacientes con DA comparada con la respuesta de individuos control. El número de basófilos en sangre y en tejidos es normal en los

pacientes con DA pero la liberación de histamina está aumentada en los basófilos de estos pacientes después de una estimulación in vitro con anti-IgE o con covalina en comparación con los basófilos normales. Este aumento de la liberación de histamina es independiente de las concentraciones séricas de IgE unido a las células y puede reflejar un metabolismo selectivo de los nucleótidos cíclicos (Butler, 1983).

Recientemente, Coulson (1989) no fue capaz de encontrar incremento en la actividad de la fosfodiesterasa (FDE) específica del AMP-C de las células mononucleares en sangre periférica en un numeroso grupo de niños con DA. Estudios posteriores sobre la actividad de la FDE leucocitaria mononuclear normal no atópica hallaron elevación de la misma mediante incubación con histamina (Holden, 1987). Estos estudios actualizan el punto de vista de que la actividad elevada de la FDE en individuos atópicos puede ser secundaria a los mediadores de la inflamación cutánea.

Holden et al (1989) muestran que los pacientes en tratamiento con esteroides fluorados tópicos tienen una actividad de la FDE-LMN similar a los controles normales y además no responden a la histamina in vitro. Esto sugiere que los esteroides actúan directamente sobre los LMNs para prevenir cualquier incremento de la FDE en respuesta a la exposición a la histamina.

Chan et al (1986) han sugerido que la histamina provoca la activación de la proteínacinas C y la posterior fosforilización de la FDE. Es posible que los

esteroides interfieran con este proceso directamente o indirectamente y en consecuencia prevengan la fosforilización de la FDE.

Anormalidades de los nucleótidos cíclicos

Szentivanyi (1968), en su descripción inicial de un sistema modelo, sugirió que el descenso en el AMP cíclico era debido a receptores beta defectivos en las superficies celulares de las células mononucleares.

Recientemente, Henkel (1984), Mc Millan (1985) y otros han encontrado niveles elevados de fosfodiesterasa en padres con DA. El mecanismo propuesto para el defecto es que los leucocitos de los pacientes con DA, asma y fiebre del heno tienen la fosfodiesterasa aumentada lo que conduce a unos niveles de AMP cíclico por debajo de lo normal. Los niveles disminuidos de AMP cíclico pueden propiciar liberación de histamina (Butler, 1983), reducción de la supresión de células T y aumento en la producción de IgE (Hanifin, 1982). En 1983, Butler demostró que el aumento en la liberación de la histamina podía relacionarse con el aumento en la actividad de la fosfodiesterasa leucocitario, que se encuentra elevada en la DA.

Linfocitos portadores de receptores para la histamina

Recklin (1980) y otros han identificado una población de linfocitos T, portadores de receptores H₂ para la histamina, que tienen actividad supresora para ciertas

respuestas inmunes mediadas por linfocitos. En este sistema, la histamina puede actuar como un regulador con retroalimentación negativa en la actividad efectora del linfocito. Estos autores sugieren que la histamina liberada procedente de los mastocitos y basófilos durante los episodios inflamatorios puede actuar en las células T supresoras portadoras de receptores para la histamina las cuales, a su vez, elaboran un factor supresor inducido por la histamina. Para la activación de la histamina de las células T supresoras también se precisa de monocitos o de un factor derivado de ellos (interleucina-1). Los pacientes atópicos tienen un número reducido de células T supresoras con receptores H2 y una generación también reducida de PGE2 por los monocitos.

H. Agentes inhalantes

1. Polen. En los últimos 30 años han sido numerosos los trabajos que han implicado al polen en las exacerbaciones estacionales de la DA. En 1936, Brunsting identificó a 32 de 100 pacientes con DA y positividad en las pruebas cutáneas para la Ambrosia; dieciséis de ellos desarrollaron brotes estacionales de su eccema durante el período estacional de esta planta. Tuft (1950) y colaboradores muestran que tras la inhalación de Ambrosia, los pacientes sensibilizados con DA desarrollan rinorrea, estornudos y finalmente cambios eccematosos suaves. Más tarde, Nilzen (1958) proporcionó evidencias notables que implicaban al polen como factor patogénico en algunos pacientes con DA.

2. Moho. Tuft (1950) y colaboradores fueron capaces de demostrar sudación en las localizaciones predilectas de la DA, tras la inhalación de *Alternaria*. Además, los cambios cutáneos eccematosos suceden en 12-24 horas.

Rajka (1963) demostró cambios cutáneos eccematosos en los pacientes con DA tras inhalación de extracto de moho a la concentración de 1/10. Ambos autores proporcionan evidencias notables de la patogenicidad del moho aunque todavía son necesarios más estudios para evaluar su exacto significado.

I. Papel del polvo doméstico (PD) y del ácaro del polvo doméstico (APD) en la dermatitis atópica.

Desde hace tiempo se sabe que los pacientes asmáticos mejoran cuando residen en una zona montañosa, como Suiza. En 1922, Storm Van Leeuwen señaló que una mejoría similar puede conseguirse en una habitación sin polvo. Este autor fue el primero en describir la alta frecuencia de reacciones de hipersensibilidad inmediata positivas para los alérgenos del PD, en individuos atópicos. Esta teoría fue confirmada por Keller (1924) mientras que en 1967 Kopecka y colaboradores sugirieron que la DA puede ser el resultado de una reacción autoalérgica al PD. Este punto de vista que hace de los alérgicos (especialmente los inhalantes) la causa mayor de DA fue subrayado por Tuft en 1949. Tuft señaló que los pacientes con DA eran sensibles a los extractos del polvo del suelo existente en sus propios hogares, resaltando el hecho que dos de estos pacientes curaron cuando realizaron una limpieza cuidadosa de sus

casas. En 1972, Johansson y posteriormente Barnetson et al. (1981) mostraron que los pacientes con DA presentan niveles muy altos de IgE para los alérgenos inhalantes. En 1969, Spieksma y Voorhorst señalaron que una gran proporción de alérgenos en el polvo doméstico estaban producidos por los ácaros *Pyroglyphid*, especialmente el *Dermatophagoides pteronyssimus*. A principios de los años setenta, la Sociedad Bencard desarrolló una técnica para la reproducción en grandes cantidades de *Dermatophagoides pteronyssimus* en un medio mamífero no ectodérmico desnaturalizado.

La disponibilidad de estos cultivos hizo posible purificar el alérgeno mayor: el antígeno PI (Chapman y Platt-Hills, 1978-1980). El antígeno PI es una glucoproteína de 24.000 daltons de peso molecular, rápidamente soluble en solución acuosa. Este antígeno puede encontrarse en los ácaros vivos, las cutículas y las partículas fecales pero no en los huevos.

Existen evidencias que sugieren que el alérgeno del polvo del suelo permanece en forma de partículas fecales enteras.

Tovey et al (1981) hallaron niveles elevados de antígeno PI en el polvo procedente de diversos objetos: moquetas, muebles, vestidos, ropa de cama o muñecos de peluche. Beck y Korsgaard (1989) ilustran una asociación clara entre dermatitis atópica moderada a severa y exposición incrementada al ácaro del polvo doméstico en los colchones de sus propias casas; apoyando la hipótesis de que los antígenos del ácaro pueden ser un factor etiológico. Chapman y Mitchell (1982) mostraron que los niveles de anticuerpos

IgE e IgG anti-PI se encontraban elevados en los pacientes con DA y que existía muy buena correlación entre las pruebas cutáneas positivas y la presencia de anticuerpos IgE séricos. Carswell (1986) halló que la concentración de los anticuerpos IgE al cuerpo del ácaro eran más elevados en los pacientes con eccema que en los asmáticos.

Recientemente, Barnetson (1987) presentó el caso de un paciente con DA con un incremento de IgE contra el antígeno PI durante la exacerbación de su eccema y un descenso de las mismas inmunoglobulinas tras a la mejoría clínica. Estas observaciones nos conducen a la siguiente pregunta: ¿Cuál es el efecto de grandes cantidades de alérgeno aplicadas directamente sobre la piel? Simon (1945), Nexmand (1948) Vehara y Ofuji (1976) han descrito reacciones alérgicas de tipo retardado en la DA después de pruebas epicutáneas con el alérgeno del polvo doméstico; las formas clínicas e histopatológicas de estas reacciones fueron compatibles con las de la DA.

Más recientemente, diversos autores como Mitchell (1982), Platts-Mills (1983), Young (1985), Reitamo (1986), I. Gondo (1986) y Norris (1988) indujeron lesiones cutáneas de eccema mediante una prueba modificada en pacientes con DA que habían presentado reacción positiva de hipersensibilidad inmediata en una prueba epicutánea para el ácaro del polvo doméstico (PI). Antes de aplicar el extracto antigénico del ácaro (o una sustancia control) se desgastó suavemente la piel de los pacientes. Las biopsias de las localizaciones afectas realizadas a las 48 horas revelaron un infiltrado celular dérmico y una prominente espongiosis epidérmica. Los hallazgos histológicos fueron virtualmente indistinguibles

de los de las biopsias procedentes de DA clásicas. Los grupos de pacientes con rinitis y/o asma (pero sin DA) y con reacciones alérgicas de hipersensibilidad inmediata para los alérgenos no mostraron reacciones de tipo retardado en las pruebas epicutáneas.

Rowle (1984), Mitchell y Platt-Mills (1984) señalaron que los pacientes que muestran hipersensibilidad inmediata al *Dermatophagoides pteronyssimus* tienen células T circulantes sensibilizadas contra el antígeno PI. Estas células T sensibilizadas probablemente actúan como células T helper para la producción de anticuerpos y de reacciones retardadas.

Reitamo (1986) y Gondo (1986) inmunofenotiparon los infiltrados tras la exposición del antígeno PI en la piel de los pacientes con DA y hallaron un incremento en la proporción de linfocitos OKT4/OKT8 con elevación de las células T helper y descenso de las T supresoras. El número de basófilos y mastocitos no excedió del 10% al 15%, en contraste con los resultados de Mitchell (1984) quien halló una marcada infiltración de basófilos, sugiriendo una respuesta cutánea de hipersensibilidad por basófilos. Gondo (1986) demostró la vía percutánea de entrada del antígeno del ácaro en biopsias de piel desgastada, utilizando tinciones férricas. Estos autores señalaron la presencia de una reacción urticariforme (clínica e histológicamente típica de alergia tipo I) que posteriormente cambió a una reacción eccematosa, típica de reacción alérgica tipo IV.

Existen pocos trabajos sobre la inyección intradérmica del antígeno PI. Young (1985) introdujo la fracción A del polvo

doméstico en un paciente con DA, mostrando reacciones positivas 20 minutos después de la provocación intradérmica pero sin reacción alguna a las 48 horas.

J. Papel de los agentes infecciosos en la dermatitis atópica

Desde el punto de vista del clínico práctico, algunas de las observaciones más importantes hacen referencia al papel desarrollado por el *Staphylococcus aureus* en la fisiopatología de la DA (Hanifin, 1986).

Aly y Maibach (1976) hallaron que un 93% de pacientes con lesiones activas de DA presentaron colonización por *Staphylococcus aureus* mientras que el porcentaje descendía a un 79% en cultivos procedentes de piel no afecta. *S.aureus* estaba presente en la piel de un 10% de la población normal.

Hanafin y Rogge (1980) observaron clínicamente la existencia de micropústulas en la DA, planteando la hipótesis que la quimiotaxis esté inhibida por el plasma de estos pacientes. Hauser (1985) estudió la respuesta inmune para *S.aureus* en los pacientes con DA y mostró una hiperrespuesta selectiva contra la pared celular purificada de este microorganismo en las reacciones de hipersensibilidad retardada. Friedman (1985) examinó los pacientes con DA colonizados por el *S. aureus* y utilizando métodos de ensayo inmunoradiométrico para determinar anticuerpos IgE, halló que solamente de 3 a 25 pacientes presentaron unión a los anticuerpos IgE .

Cole y Silverburg (1986) encontraron una capacidad específica de los s. aureus para adherirse a la pared celular de los corneocitos en los pacientes atópicos. Se sugirió que la responsabilidad para esta adherencia selectiva recaía sobre una porción de proteína procedente de la pared de la bacteria (proteína A) y de ningún modo en una pérdida de resistencia por parte del paciente.

Infección por el virus del herpes simple (VHS) y otros virus

Los pacientes con DA tienen una susceptibilidad aumentada para la infección cutánea por VHS (Kaposi, 1985). La infección herpética labial típica permanece localizada pero puede diseminarse por toda la cara y se requieren de 2 a 3 semanas para su curación. EL eccema herpético generalizado refleja una deficiencia de la inmunidad celular.

Los pacientes también muestran tener susceptibilidad aumentada para la diseminación de otras infecciones víricas, como el virus de la vacuna, las verrugas (Currie, 1971) y los molluscums contagiosum (Solomon, 1966).

K. Papel de la alergia alimentaria en la dermatitis atópica.

El papel de la alergia e intolerancia alimentaria en la precipitación y exacerbación de la DA continúa siendo motivo de discusión. Es conocido que en los niños atópicos, la alergia alimentaria es relativamente común pero muchas de estas alergias se pierden en la adolescencia precoz. Los síntomas incluyen angioedema, urticaria por contacto, eritema generalizado, asma, rinitis, síntomas

gastrointestinales, prurito y exacerbación de la dermatitis atópica. Cuando se ingiere alimento (tanto líquido como sólido), éste entra en contacto en primer lugar con la mucosa oral, donde puede causar degranulación de los mastocitos en individuos sensibilizados produciendo angioedema. Más tarde, el estómago actúa como un reservorio donde la secreción de ácido hidrociorídico y pepsina pueden alterar la antigenicidad de los alimentos y lo mismo ocurre con las enzimas del intestino delgado. La degranulación de los mastocitos de la mucosa oral en la mucosa yeyunal, como resultado de la exposición antigénica, puede producir vómitos, diarrea o dolor abdominal, aunque únicamente ocurra en una minoría de pacientes. La exposición frecuente a diversos alérgenos puede, por otro lado, liberar los mediadores de los mastocitos produciendo prurito cutáneo con el consiguiente rascado.

Recientemente, algunos autores sugieren que también puede estar involucrado en la DA una respuesta de la IgE en fase tardía (Atherton, 1982). La proteína básica mayor (PBM) fue hallada en la dermis de pacientes tras provocación alimentaria oral controlada. Es conocido que la PBM induce liberación de la histamina procedente de los basófilos humanos (O'Donnel, 1983). Hill (1984) señaló la presencia de erucciones eccematosas después de 2 o 3 días de una provocación oral con un combinado lácteo en niños con DA.

Una vez que la hipersensibilidad alimentaria se haya diagnosticado correctamente, el único tratamiento demostrado consiste en evitar estrictamente el antígeno. Algunos estadios sugieren que hasta el 40% de niños con DA y alergia alimentaria perderán su hipersensibilidad sobre el

primer año después de la anulación del antígeno, aunque esta pérdida de sensibilidad varía según el antígeno involucrado (Sampson, 1985). Diversos alimentos como los huevos, cacahuets y cereales parecen ser los más persistentes. Matthew et al (1977) estudiaron 23 hijos de padres alérgicos en un régimen sin alergenos desde el nacimiento hasta los 6 meses. El grupo sin alergenó presentó un menor eccema y menor IgE total a los 6 meses y al año que el grupo control a los 6 meses.

En un estudio cruzado a doble ciego, Atherton et al (1978) mostraron que la exclusión de la leche de vaca y de los huevos de la dieta de los niños mejoraba el eccema y que la prueba cutánea no podía predecir la eficacia de este tipo de régimen; lo que sugiere que otros mecanismos que los mediados por IgE intervienen en la patogenia de la dermatitis atópica. La lactancia materna está adquiriendo cada vez más importancia en la prevención de la DA. Así, diversos estudios recientes sugieren que la exclusividad de la lactancia materna y la introducción tardía de alimentación sólida actúa como medida profiláctica para la alergia alimentaria en los niños con DA que posean riesgo hereditario de alteraciones atópicas (Saarinen, 1984).

Recientemente, Chandra (1986) y otros autores señalan que el hecho que la mujer evite alérgenos alimentarios comunes durante el embarazo y la lactancia está asociado a una reducción significativa de la incidencia y severidad de la dermatitis atópica entre los niños alimentados con lactancia materna. En caso de historia familiar de atopia, las mujeres (que tendrán niños con riesgo de atopia) deberían evitar en lo posible leche de vaca, huevos, ternera, cacahuets y

pescado durante el embarazo y la lactancia, y amamantar exclusivamente tanto tiempo como sea posible (6 meses o más).

Munkvad y colaboradores (1984) mostraron una visión opuesta al control dietético cuando administraron a 33 pacientes con DA una dieta sin antígenos durante 3 semanas de hospitalización y la compararon con una dieta placebo. El grupo de pacientes con mejoría no fue estadísticamente significativo frente al grupo placebo.

Otros autores comparten el mismo punto de vista en cuanto que la lactancia materna prolongada o el retraso en la introducción de la leche de vaca o comida sólida no juega un papel sustancial en la modificación de la prevalencia, severidad o edad de inicio en los pacientes atópicos (Halpern et al, 1973; Van Asperen et al, 1984; Moroz, 1986).

L. Inmunopatología de la dermatitis atópica

La etiología de la dermatitis atópica permanece desconocida, pero el resultado final es una interacción compleja entre alteraciones genéticas, farmacofisiológicas e inmunorreguladoras. Debido a que los defectos inmunológicos no se han hallado en todos los pacientes con DA, se ha sugerido que la DA es una alteración heterogénea.

En analogía con el asma bronquial, la DA puede dividirse como mínimo en dos grandes grupos:

El primer grupo reúne los pacientes con alteraciones inmunorreguladoras, incluyendo las elevaciones marcadas de IgE en suero. En estos casos, los alérgenos pueden desempeñar un papel provocando prurito mediante la interacción de la IgE con los mastocitos (e incluso los macrófagos), de manera similar a cómo la exposición a alérgenos produce broncospasmo en el asma extrínseco.

El segundo grupo lo constituyen pacientes con escasas o nulas alteraciones inmunológicas y puede ser análogo con los pacientes con asma intrínseco que presentan niveles bajos de IgE sérica y no sean atópicos.

Los pacientes de ambos grupos parecen tener una hiperreactividad cutánea intrínseca que produce una disminución en el umbral del prurito para los estímulos mecánicos o químicos, del mismo modo que los sujetos asmáticos desarrollan broncospasmo en respuesta a concentraciones más bajas de histamina inhalada, que las necesarias para obtenerlo en los sujetos normales. Siguiendo a la obtención de la respuesta al prurito debida a desequilibrios farmacológicos cutáneos o a la liberación de los mediadores de los mastocitos o de los macrófagos, el rascado puede agravar la enfermedad cutánea y favorecer la introducción adicional de antígenos procedentes de la superficie cutánea.

Las células de Langerhans, células presentadoras de antígeno, pueden posteriormente estar preparadas para liberar monocinas que atraen y promueven la proliferación de linfocitos T activados y de macrófagos activados en la piel, con la subsiguiente proliferación epidérmica.

El papel de la IgE en la dermatitis atópica

Inicialmente se había sugerido la presencia de una base inmunológica en la DA debida al hecho que más del 70 % de pacientes con DA tienen historia familiar o personal de asma o rinitis alérgica. Los pacientes con DA frecuentemente presentan exacerbaciones y reacciones habonosas mediadas por reaginas para los antígenos inhalantes o alimentarios. Los anticuerpos reagínicos pertenecen a la clase de inmunoglobulinas IgE. Numerosos informes confirman que entre el 43% y el 80% de pacientes afectos de DA presentan niveles de IgE elevados en suero (Jones, 1975, Gurevitch, 1973, Stone, 1973), habiéndose encontrado diversas correlaciones entre los niveles séricos de IgE y los hallazgos clínicos en la DA.

Los niveles séricos de IgE están más elevados en los pacientes con asma concomitante y/o rinitis alérgica (Jones, 1975, Witting, 1980).

Las pruebas RAST para la IgE antígeno-específica se dirigen a una gran variedad de antígenos, incluyendo los inhalantes respiratorios comunes, polen, mohos, insectos y a los antígenos alimentarios. Existe poca correlación entre los síntomas clínicos y los resultados de estas pruebas en pacientes atópicos con dermatitis (Hoffman, 1975).

Diversos estudios han señalado niveles séricos normales de IgE en el 20 %-75 % de pacientes con DA (Juhlin, 1969, Stone, 1973).

Algunos pacientes con gammaglobulinemia congénita ligada al sexo y ausencia de reactividad inmediata demostrable en pruebas cutáneas han presentado lesiones típicas de DA (Peterson, 1962).

Asimismo, se han documentado niveles elevados de IgE sérica en pacientes con dermatitis de contacto, dishidrosis y psoriasis (O'Loughlin, 1977).

Algunos pacientes con DA presentan en sangre periférica niveles anormalmente elevados de anticuerpos IgG contra la fracción FC de IgE. Los anticuerpos anti-IgE pueden desempeñar un papel importante en la formación de inmunocomplejos circulantes conteniendo IgE. Estos inmunocomplejos han sido descritos en pacientes asmáticos y con DA tras una provocación alimentaria (Quinti, 1984; Inganas, 1981).

En la actualidad parece que los niveles elevados de IgE circulante solamente se pueden considerar como un rasgo no específico de DA.

Recientemente se ha demostrado que los mastocitos no son las únicas células con receptores para la IgE. Los macrófagos (Dessaint, 1979), basófilos (Ishizaka, 1975), linfocitos T y B en sangre periférica (Ishizaka, 1981), eosinófilos (Capron, 1984) monocitos y células de Langerhans (Bruynzeel-Koomen, 1986) también poseen receptores para la fracción FC de la IgE puesto que estas células se encuentran en el infiltrado de las lesiones cutáneas de la DA. La presencia de IgE en estos tipos celulares proporciona unión entre las respuestas inmunes tipos I y IV en la patogenia de la DA.

Estas moléculas de IgE se han encontrado en piel afectada, y en mucha menor extensión, en piel no afectada de pacientes con DA, pero no CL procedentes de individuos no atópicos (Brunynzeel-Koomen, 1986; Bieber, 1989). Este hallazgo indica que en la DA la CL están inducidas para sintetizar receptores para la IgE y/o adquirir productos de la división de la IgE. FcER2. Brunynzeel-Koomen (1988) mostró que el anti-FcER2 puede inhibir la unión de las IgE creadas de eritrocitos a CL procedentes de pacientes con DA, lo que apoya el hecho que la presencia de IgE en la superficie de las CLs en esta enfermedad, resulta de la unión de la IgE a la FcER2. Recientemente, Bieber (1989) muestra que el rIL-4 y el π IFN- γ humanos son capaces de inducir la expresión de los receptores de baja afinidad para la IgE (FcER2, CD23) en células de Langerhans epidérmicas humanas. Los resultados confirmaron la importancia de los receptores en la patogenia del eccema atópico, así como en la regulación de la síntesis de IgE.

El papel de la IgG4 en la DA

Las reacciones de hipersensibilidad inmediata, mediadas por anticuerpos IgG se describieron en un principio por Parish (1970).

Desde entonces, se han establecido asociaciones clínicas de los niveles de IgG4 e IgE en los pacientes atópicos (Gwynn et al, 1979; Gwynn et al, 1982; Menet et al, 1984). Recientemente, Shehade et al (1988) encontraron que estos anticuerpos estaban significativamente elevados en los pacientes con enfermedad más severa. Las IgG4 al igual que las IgE se pueden producir en respuesta a un estímulo de los

antígenos ambientales y pueden ser marcadores apropiados para monitorizar el tratamiento de la enfermedad alérgica.

Alteraciones de la inmunidad celular

Un 80% de pacientes con DA presentan inmunidad celular defectuosa. Estas alteraciones se manifiestan como susceptibilidad incrementada a las infecciones cutáneas severas por el virus del herpes simple, el virus de la vacuna (Leyden 1979), molluscum contagiosum (Solomon, 1966), verrugas (Currie, 1971) y por dermatófitos (Hanifin, 1974).

Algunos autores han señalado que los pacientes con DA presentan un deterioro en respuesta de hipersensibilidad retardada. La incidencia de positividad en las pruebas epicutáneas fue menor en los pacientes con DA que en los controles normales; los pacientes con DA presentan también mayor dificultad para sensibilizarse al DNCB, que los sujetos normales (Palacios, 1966). En algunas investigaciones se ha señalado una reducción en las respuestas de hipersensibilidad retardada en las pruebas cutáneas de intradermorreacción utilizando antígenos microbianos comunes, tales como Candida, estreptocinasa y estreptodermasa (Elliot, 1979; Rajka, 1961).

Desde que se sabe que los linfocitos T son los mediadores de la inmunidad celular, se han realizado algunos estudios mediante formación de rosetas con hematíes de carnero, mostrando en los pacientes con DA un número bajo de linfocitos T circulantes formando rosetas (Byrom, 1979). Más recientemente la disponibilidad de los anticuerpos monoclonales ha permitido identificar y aislar las

subpoblaciones de linfocitos T humanos, habiéndose observado que la mayoría de los pacientes con DA presentan un descenso en la proporción de células T, T3+ y T8+ con un incremento selectivo en índice de células T4+/células T8+ (Leung, 1981; Willenze, 1983; Kamp, 1983).

En contraste, los pacientes con rinitis alérgica y asma sin DA, psoriasis ni dermatitis de contacto, no presentaron ninguna reducción de las células T supresoras/citotóxicas circulantes (Leung, 1981). La relación entre las manifestaciones clínicas de la DA y la reducción selectiva en la subpoblación de células T supresoras/citotóxicas permanece desconocida. Se ha postulado que una deficiencia de las células supresoras pueda ser la responsable de la elevación de los niveles de IgE séricos en la DA, puesto que algunos estudios han mostrado que la deplección selectiva de las células T supresoras se correlaciona con el incremento de la IgE (Ishizaca, 1976). La evidencia más convincente de que la síntesis de anticuerpos IgE esta sujeta a la regulación de las células T se deriva de la observación de que los pacientes con inmunodeficiencia primaria de las células T (tales como los síndromes de Wiscott - Aldrich, ataxia-telangiectasia y Di George, caracterizados por pérdida parcial pero no completa de células T) tienen niveles elevados de IgE en suero (Waldman, 1972). Se ha propuesto la hipótesis de que estos pacientes poseen un número suficiente de células T helper/inductoras para iniciar la síntesis de anticuerpos IgE pero también un número inadecuado de células T supresoras para inhibir la síntesis de IgE. Los pacientes con el síndrome hiper-IgE que tienen deficiencias de células T8+ y supresoras poseen elevaciones marcadas en los niveles séricos de IgE, lo que

proporciona un apoyo para esta hipótesis (Geha, 1981). En resumen, existe una perturbación del equilibrio entre las células T helper IgE-específicas y la supresión celular T.

Los pacientes con DA tienen una respuesta linfocitaria reducida para los mitógenos de las células T tales como fitohemaglutinina, Candida y tuberculina (Lobitz, 1972, Hovmark 1975). Lobitz et al (1972) midieron la respuesta mitogénica inducida por la fitohematoglutina en los linfocitos de 2 pacientes con DA severa y anergia cutánea completa. La mitogénesis linfocitaria a la fitohemaglutinina se encontraba disminuida cuando la dermatitis estaba en activo pero normalizada en caso de remisión clínica. Recientemente, estudios de Uehara y Sawai (1989) muestran que pacientes con dermatitis moderada pudieron ser sensibilizados al DNCB en la misma medida que lo hicieron individuos no atópicos. Cuando la dermatitis fue severa, el estímulo cutáneo con DNCB resultó negativo en algunas ocasiones; esto evidencia el hecho de un bloqueo reversible en la expresión cutánea de tipo retardado en los pacientes con DA severa. Una posible explicación para este bloqueo eferente en la hipersensibilidad de tipo retardado puede residir en que las reacciones eccematosas pudieran ser una manifestación de una reacción mediada por IgE (Mitchell, 1982). Estas reacciones están asociadas con la degranulación de los mastocitos concomitantemente a la liberación de histamina (Mekori, 1988). La histamina liberada en las reacciones mediadas por la IgE puede interferir con la inmunidad celular (Qang, 1978) a través de la inhibición de los linfocitos con receptores H2 (Rocklin, 1976). En contraste, tanto la respuesta para los mitógenos de las células B (tales como el mitógeno pokeweed) como el número

de células B, son completamente normales (Byrom, 1979). Además de las células supresoras, la subpoblación T8+ incluye a los precursores de las células T citotóxicas. Se sabe que las células T helper cooperan con las células T citotóxicas efectoras para generar linfólisis celular durante el curso de una reacción linfocitaria mezclada (Reinherz, 1979). Más tarde, diversos estudios mostraron que además de tener un número reducido de células T8+ (supresoras/citotóxicas), las células T4+ procedentes de pacientes con DA presentaban un defecto funcional en su capacidad para generar células T citotóxicas (Leung, 1983). Esta función defectuosa de las células T citotóxicas puede justificar la susceptibilidad incrementada para desarrollar diversas infecciones cutáneas. Además, se requieren las células T4+ para la activación y proliferación de las células supresora/citotóxicas T8+.

M. Manejo y tratamiento de la dermatitis atópica

1. Estrategias para la prevención de la DA en recién nacidos:

La incidencia de dermatitis atópica es más alta en la primera infancia y coincide con la máxima incidencia de alergia alimentaria. En recién nacidos de alto riesgo (historia familiar de alergia, niveles elevados de IgE y reducción en el número y función de las células T supresoras al momento de nacer), una exposición reducida a los alérgenos alimentarios puede disminuir la severidad o la incidencia de DA.

Entre las precauciones a adoptar estarían las siguientes:

- Evitar alérgenos alimentarios durante el período del embarazo y la lactancia, tales como leche de vaca, huevos, pescado o cacahuetes.
- Hacer durar la lactancia materna 4-6 meses o más.
- Si la lactancia materna no es posible, añadir caseína hipoalérgica en fórmula hidrosalina.
- Retrasar la introducción de alimentos sólidos.
- Reducir la exposición a los antígenos inhalantes.
- Reducir el riesgo de infección.
- Evitar el humo del tabaco.

2. Estrategias para la protección de la DA en niños:

- Explicar a los padres la naturaleza de la afección y enfatizar su buen pronóstico.
- Evitar el calor excesivo.
- Empleo de prendas de algodón.
- Arreglo de las uñas con frecuencia.
- Orientar al niño con DA hacia una profesión donde

- pueda evitar el contacto con irritantes.
- Las dietas especiales se deben reservar para aquellos casos que no respondan al tratamiento convencional y posean además una historia clara de intolerancia alimentaria.

3. Estrategias para la prevención de la DA en adultos

El manejo debe iniciarse de manera ideal en la adolescencia. Las promesas sobre un blanqueamiento total o una gran mejoría después de la pubertad deben complementarse siempre con el hecho que algunos pacientes atópicos nunca curan completamente y que una proporción de los que se blanquean en la adolescencia, desarrollan el patrón clásico de DA del adulto.

Entre las precauciones a adoptar para la prevención de la DA en adultos se encontrarían las siguientes:

- Evitar siempre que fuera posible diversas ocupaciones profesionales como enfermería, peluquería o trabajos en fábricas que empleen irritantes.
- Actividades deportivas: puede tratarse el asma inducido por el esfuerzo; la cloración de las piscinas puede agravar la DA.

- Los espacios soleados y los baños de agua salada son beneficiosos.
- Dieta: no son necesarias restricciones, a menos que los pacientes relacionen objetivamente el empeoramiento de su dermatitis con el consumo de ciertos alimentos.
- El estrés desempeña un papel importante en la exacerbación del eccema. Las técnicas de autorrelajación serán de utilidad en estos pacientes.
- Eliminación y reducción de los factores de exacerbación: ácaro del polvo doméstico, por ej.

Limpiar cuidadosamente con aspiradora las moquetas, alfombras, y cambiar regularmente la ropa de cama. Recientemente, ha salido al mercado un aerosol que elimina el ácaro (Tymasol) y cuya utilidad ha sido comprobada si bien tiene el inconveniente de su elevado precio.

4. Medidas generales

A. Períodos cortos de hospitalización

Con esta medida se puede reducir considerablemente la utilización de corticoides sistémicos.

I. Se recomienda:

- Descanso absoluto
- Habitación en penumbra.
- Pocas visitas.
- Ropa de cama de algodón.
- Habitación sin polvo ni animales.
- Temperatura de 68°C a 70°F, humedad relativa del 70%.
- Dieta blanda, sin alcohol, especias ni cafeína.

II. Tratamiento tópico

- Baño con aceite (20 min dos veces al día).
- Cremas emolientes aplicadas en toda la superficie corporal.
- Aplicación de esteroides locales de tipo I ó II en las áreas afectas.
- Antes de los UVB, preparaciones de alquitrán.

- Aplicar crema de hidrocortisona en la cara al 1% o un esteroide no fluorado.
- Lavado diario del cuero cabelludo con champú seguido de una loción esteroide tópica.

III. Tratamiento sistémico

- Antibióticos sistémicos tales como eritromicina a dosis de 250 mg cuatro veces al día o dicloxaciclina, 250 mg cuatro veces al día.
- Antihistamínicos con efecto sedante del tipo hidroxicina (hasta 25 mg cuatro veces al día) o bloqueadores H1 - H2 tales como la doxepina (hasta 25 mg cuatro veces al día).
- En pacientes con estado de agitación: clorpromacina a dosis de hasta 25 mg cuatro veces al día.
- Esteroides de vida corta en inyección intramuscular antes de la hospitalización, tales como betametasona 8 mg o betametasona 6 mg.
- Fotoquimioterapia con PUVA.

B. Tratamiento ambulatorio

- Evitar o reducir en lo posible los factores que provoquen exacerbación.
- Aplicar emolientes tópicos durante o después del baño, tantas veces como sea necesario.
- Corticoides tópicos: Utilizar compuestos de mediana a alta potencia en períodos cortos de tratamiento e hidrocortisona para el mantenimiento.
- Antibióticos sistémicos, en caso de necesidad.
- Antipruriginosos, antihistamínicos.

5. El papel de los UVB , y los UVA en la dermatitis atópica

El infiltrado celular en la dermatitis atópica crónica consiste principalmente en linfocitos T helper (Rocha, 1984) , que frecuentemente expresan los antígenos clase II del CMH (Baker, 1984). Existe un gran número de células de Langerhans en la epidermis y en la dermis (Rocha, 1984; Zachary, 1985). El tratamiento con ultravioletas B (UVB) o la fotoquimioterapia con psoraleno (PUVA) son de gran ayuda para algunos pacientes con DA. Los UVB y la PUVA afectan la

reactividad inmunológica incluyendo la supresión de la hipersensibilidad retardada (Sjoval, 1986). En el transcurso de los últimos años se ha incrementado nuestro conocimiento sobre los efectos de la radiación ultravioleta. La irradiación in vivo con UVB - UVC - UVA de la piel humana produce un descenso de las células de Langerhans epidérmicas T6+ DR+ (Aberer, 1981); la irradiación con UVB - UVC induce la aparición de células epidérmicas presentadoras de antígeno T6 - DR+ (Cooper, 1985). Estas células epidérmicas presentadoras de antígeno T6 - DR+ son responsables del incremento en la capacidad presentadora de antígeno de las células epidérmicas obtenidas tras exposición ultravioleta y son además fenotípica y funcionalmente análogas a la subpoblación menor especializada de monocitos periféricos OKM1 - OKM5 + que son, a su vez, potentes activadores de sus mismas células T en ausencia de antígenos añadidos (Cooper, 1986). Ultraestructuralmente, estas células son idénticas a los melanófagos pero afectan la vigilancia inmune de los cánceres cutáneos puesto que activan las células T8 supresoras (Cooper, 1985).

La radiación ultravioleta también ejerce otras acciones, tales como reducir la degranulación de los mastocitos (Fjellner, 1982), disminuir la actividad del factor ETAF de activación de los timocitos derivado de las células epidérmicas (Sauder, 1983), retardar el incremento de la producción de interleucina-I y el descenso inmediato de la función de presentación de antígeno en las células epidérmicas humanas (Rasanen, 1981). Como propiedades antimicrobianas, inhibe el

crecimiento de P. articular y S. Aureus (Faergemann, 1987).

En conclusión, la radiación UVB produce la desaparición de los marcadores de las células de Langerhans y la abrogación de la función de sus células presentadoras de antígeno pero la aparición de T6 - DR+ provoca la inducción de las células T supresoras y la expresión in vivo de falta de respuesta o tolerancia al antígeno.

Otros estudios han demostrado que siguiendo a la irradiación UVB se aprecia un aumento rápido en el número de células de Langerhans epidérmicas entre los días 7-14 y 42-56, lo que se ha venido en llamar fases de recuperación precoces y tardías (Miyachi, 1987).

6. Efecto de los glucocorticoides en la respuesta inmune inducida por células epidérmicas.

Tanto los corticoides administrados tópicamente como los administrados sistémicamente, conducen a una reducción de las células epidérmicas portadoras de las Ia (Aberer, 1984). Este descenso fue concomitante con una mejoría substancial de la función inmunológica dependiente de las células de Langerhans en las células epidérmicas y con una reducción posterior de la proliferación singénica y alogénica antígeno-específica de las células T. Recientemente, Asworth (1988) confirmó estos hechos mostrando un descenso del número de células de Langerhans HLA-DR+ / T6 con una

inhibición marcada de la activación de las células T, no estando alterada la producción de EATF por las células epidérmicas. Después de la interrupción del tratamiento, el número y función de las células de Langerhans volvieron lenta y gradualmente a sus valores normales.

CAPITULO II

Revisión de la literatura considerando los siguientes aspectos:

A. Células de Langerhans

1. Definición. Las células de Langerhans son células dendríticas procedentes de la médula ósea que residen principalmente en epitelios escamosos estratificados.

Normalmente están localizadas a nivel suprabasal y constituyen aproximadamente de un 3% a un 4% de todas las células epidérmicas. Su visualización en el microscopio óptico requiere el uso de técnicas histoquímicas y/o de marcaje inmune apropiadas. Ultraestructuralmente, las células de Langerhans muestran particulares organelas citoplasmáticas trilaminares (gránulos de Birbeck), que facilitan su identificación. Las células de Langerhans poseen receptores para la fracción FC de la IgG y para el componente C3 del complemento y sintetizan los antígenos HLA-D de la clase Ia.

Diversos estudios funcionales han revelado que las células de Langerhans son responsables de la capacidad de las células epidérmicas para inducir respuestas proliferativas y citotóxicas de las células T. Asimismo, estudios in vitro e in vivo sugieren que las células de Langerhans son las células inductoras exactas para la generación de la respuesta inmune

dependiente de las células T, que se origina en la epidermis y que representa el puesto avanzado más periférico del sistema inmune.

2. Morfología. En secciones teñidas rutinariamente con hematoxilina y eosina, las células de Langerhans aparecen como células claras (un núcleo celular rodeado por un citoplasma claro). Hoy día se utilizan métodos histoquímicos e inmunológicos para el marcaje de las células de Langerhans. Los métodos histoquímicos más comunes son las técnicas de adenosina trifosfatasa (ATPasa) y adenosina difosfatasa (ADPasa). Las células de Langerhans aparecen como células dendríticas con 10 dendritas aproximadamente. Los cuerpos celulares tienen una forma piramidal con límites entre 15 y 20 mm de diámetro. Sus apéndices se extienden en el epitelio circundante y ocasionalmente alcanzan el estrato granuloso (Rodríguez y Caorsi, 1978).
3. Ultraestructura de las células de Langerhans. Las células de Langerhans poseen un núcleo lobulado y frecuentemente cerebriforme. No existen desmosomas que se originen en la membrana plasmática ni tonofilamentos en el citoplasma, aunque sí hay unos pocos filamentos citoplasmáticos. Las células de Langerhans contienen lisosomas que muestran actividad fosfatasa ácida (Birbeck, 1961). La presencia de una organela en forma de bastoncillo, de longitud variable, con estriaciones regulares en el centro y una vejiga en un extremo, proporciona a esta estructura una apariencia de raqueta de tenis (Wolf, 1972). Reconstrucciones tridimensionales de los gránulos de

las células de Langerhans sugieren que éstos consisten en una estructura plana tipo lámina ocasionalmente enroscada o en forma de copa con una protusión vesicular (Caputo, 1976). En la dermis existen algunas células dendríticas que no poseen gránulos de Birbeck pero comparten numerosos rasgos funcionales y estructurales comunes con las células del linaje de las células de Langerhans (Steinman, 1980). Actualmente se desconoce la naturaleza del signo que induce la formación del gránulo de Birbeck, aunque existen evidencias de que estas estructuras están envueltas en la endocitosis mediada por el receptor (Schuler, 1983).

Hanou et al (1988) mostró que la endocitosis mediada por receptores (EMR) inducida por unión a anticuerpos monoclonales BL6 anti T6 afectaba a excavaciones (pits) revestidas, vesículas envueltas, endosomas, retículo endoplasmático liso y a lisosomas.

Después de la EMR aparecen granulos de Birbeck marcados con oro en el centro de la célula.

4. Inmunomarcaje. Stingl et al (1978) observaron que únicamente las células de Langerhans epidérmicas (y no otras células epidérmicas) expresaron localizaciones receptoras para la fracción FC de la molécula de IgG (receptores FC-IgG) y para el tercer componente del complemento, aunque carecían de marcadores para los linfocitos T y B. Las células de Langerhans también expresan y sintetizan el antígeno Ia (respuesta inmune asociada). Los antígenos Ia (antígenos MHC de la clase II) son glucoproteínas que se expresan únicamente

en células del sistema inmune (Tamaki, 1979). Recientemente, Sontheimer et al (1986) utilizando una técnica de inmunofluorescencia indirecta de doble marcaje mostraron que las células de Langerhans epidérmicas humanas normales CD1(+) expresan el HLA-DR, HLA-DP, así como e HLA-DQ. Las células de Langerhans expresan los antígenos de membrana LY5-T200. Estos antígenos se hallan en todas las células hematopoyéticas y confirman el origen de las células de Langerhans en la médula ósea (Scheld, 1979). Las células de Langerhans tienen los antígenos de diferenciación T6 y T4 que previamente habían sido considerados como específicos de timocitos y linfocitos pero sin conocerse su significado biológico (Murphy, 1981).

Los melanocitos comparten con las células de Langerhans un marcador fenotípico común: la proteína S-100. Este antígeno se halla en las células de Schwann y de la glia y en el citoplasma de las células de Langerhans y de los melanocitos (Cocchia, 1981).

5. Funciones de las células de Langerhans

Se han demostrado in vitro, interacciones funcionales entre las células de Langerhans y los queratinocitos. Las células epidérmicas pueden iniciar la generación de las respuestas celulares T proliferativas y citotóxicas a través de antígenos de proteína soluble, haptenos y aloantígenos (Braathen, 1980). Las células de Langerhans por sí mismas, no son capaces de inducir la activación de las células T altamente purificadas y

precisan de interacción funcional con células epidérmicas para producir esta respuesta (Steiner, 1985). Las células de Langerhans son la única población celular que puede restituir a los macrófagos con Ia en su capacidad de presentación inmunológica de antígeno a los linfocitos T (Unanue, 1972). Estas interacciones con los linfocitos T están reguladas por los genes unidos al complejo mayor de histocompatibilidad (Braathen, Thorsby, 1982). En las respuestas de tipo celular, la activación de la población de linfocitos T helper requiere el reconocimiento del antígeno y de los productos de la región HLA-D (moléculas de clase II) en la célula presentadora de antígeno (CPA). Después que los linfocitos se unan a los complejos DR antigénicos, las CPAs segregan una linfocina (IL-1) necesaria para posteriores proliferaciones y diferenciaciones de los linfocitos T (Saunders, 1984).

Ultimamente se ha mostrado en células epidérmicas de ratón, que la CL es capaz de segregar IFN γ después de ser estimulada con varios alérgenos de contacto (Knop et al, 1988). Por otra parte, las células de Langerhans desempeñan un papel clave en la generación de la respuesta de las células T efectoras protectoras contra una variedad de antígenos (aloantígenos, haptenos, antígenos de diferenciación y antígenos tumorales). La similitud entre las células de Langerhans y ciertas células tipo macrófagos y la producción por parte de ambas de interleucina-1 sugiere que existan funciones compartidas (Saunders, 1984).

Vigilancia inmune. La epidermis es la barrera más externa del huésped contra las agresiones ambientales y como tal está expuesta a muchos antígenos, protegiendo al huésped mediante la generación de respuestas celulares T contra dichos antígenos (incluyendo los víricos y asociados a tumor).

Hipersensibilidad de contacto. Las células de Langerhans son muy importantes en la patogenia de hipersensibilidad de contacto. En sujetos previamente sensibilizados, las células de Langerhans presentan al antígeno para sensibilizar los linfocitos lo que conduce a la formación blástica y la proliferación de estos linfocitos T, así como la liberación de linfocinas (Silberberg - Sinakin y Thorbecke, 1980).

Rechazo de injertos. Es bien conocido que la proliferación de linfocitos T helper responde a los antígenos de la clase II mientras que las células citotóxicas lo hacen de manera preferente por los aloantígenos de la clase I. Sin embargo, la ausencia de estímulos Ia disminuye la generación de células citotóxicas. Las células de Langerhans Ia positivas representan "linfocitos residentes" y proporcionan los estímulos necesarios requeridos para la alosensibilización.

La deplección natural o artificial de las células de Langerhans procedentes de aloinjertos puede conducir a una supervivencia prolongada de aloinjerto (Morrison, 1980).

B. Células T e inmunidad celular

El sistema de la inmunidad celular es importante para la defensa contra los organismos intracelulares o que están ocultos para los factores humorales o circulantes tales como virus, levaduras, hongos, micobacterias, parásitos intracelulares o cuerpos extraños no degradables. El origen de los linfocitos T se halla en las células madre de la médula ósea. Pequeños linfocitos circulan desde la médula ósea hasta el timo (Stutman, 1971).

Durante su estancia en el timo, cambian los marcadores de superficie de las células T (Raff 1971). Posteriormente, muchos linfocitos dejan el timo y se dirigen hacia las áreas (de las envolturas) linfoides periarteriolas del bazo y a las áreas corticales de los ganglios linfáticos, migran a través de estas áreas y dentro de la circulación linfática para volver de nuevo a los órganos linfáticos. Un pequeño número de linfocitos T controlan los tejidos y los vasos periféricos para responder a antígenos específicos o a organismos invasores (Gowans, 1959).

La respuesta de la inmunidad celular se divide en dos partes: a) rama aferente, que es la respuesta inmune entre la introducción del antígeno y el desarrollo de la inmunidad contra el antígeno, y b) rama eferente, es la respuesta inmune entre el desarrollo de la inmunidad y la eliminación del antígeno.

En la rama aferente, ciertas células procesan en primer lugar al antígeno. Estas células procesadoras de antígeno incluyen a los macrófagos, células de Langerhans, células ocultas y las células foliculares interdigitantes, en los ganglios linfáticos. Estas células presentan el antígeno a los linfocitos T helper. Esta función requiere contacto de célula a célula de las células presentadoras del antígeno con las células T y ambas deben compartir los antígenos HLA de histocompatibilidad de la clase II, para que se induzca la respuesta inmune. La segunda señal la proporciona el mediador soluble de la interleucina-1, el cual activa la célula T en la presentación del antígeno (Oppenheim, 1982). La interleucina-1 es secretada por los macrófagos, las células de Langerhans, los queratinocitos y otras células. Cuando se activa la célula T, secreta interleucina-2 y expresa los receptores para la misma en su superficie. La interleucina-2 es un factor de crecimiento de la célula T que causa suficientes linfocitos para producir y obtener una reacción celular capaz de eliminar el antígeno (Smith, 1980).

En la rama eferente, los linfocitos pueden depender de células accesorias (células asesinas (natural killer)) para eliminar los agentes infecciosos y destruir los antígenos.

Después de la expansión clonal de las células T siguiendo a la producción de interleucina-2, las células T secretan linfocinas incluyendo al interferón y al factor de inhibición de la migración (MIF). Las

linfocinas desempeñan diversos papeles, tales como la inducción de la migración de las células inflamatorias del área, la inmovilización de la inflamación en el mismo sitio y la activación y promoción de la fagocitosis, destrucción y degradación.

Regulación de las células T

Los linfocitos T helper/inductores (CD4) estimulan la respuesta celular inmune. Estas células poseen en su superficie un antígeno designado como T4. Los linfocitos T4 ejercen su efecto en las células portadoras de los antígenos HLA de la clase II, tales como los HLA-DR, DQ y DP en los macrófagos y en algunos linfocitos.

Una población de linfocitos T helper (CD4+ CD45R-) ayuda a las células B en la proliferación y diferenciación para producir anticuerpos (Marimoto, 1985). Esta diferenciación de las células B en células plasmáticas necesita la colaboración de la IL2 (Powers, 1987) y probablemente de la IL4 y IL5 (Boom, 1988). Recientemente, Dohlsten (1988) mostró que la subpoblación CD4+, CD45R- produce la IL2 y el IFN- γ . Estos resultados han sido confirmados por Gaya et al (1989); así, la población CD4+ CD45R- puede ser el equivalente humano de una subpoblación celular T helper murina descrita previamente, llamada Th1, la cual se define por su capacidad de segregar IL2 y t-IFN. Otra subpoblación (CD4+ CD45R+) activa a las células T supresoras (Moore, 1986) directamente o a través de la activación de las células CD8+ (Damle, 1987).

Las células T supresoras/citotóxicas con el antígeno T8 (CD8) en su superficie mitigan la respuesta inmune, suprimiendo tanto la respuesta humoral como la celular.

En conclusión, los linfocitos T helper (CD4) inducen a los linfocitos B para producir inmunoglobulinas, estimulan a las células supresoras y elaboran factores que regulan las funciones de las células linfoides y no linfoides.

Las células asesinas son linfocitos grandes y granulares que constituyen el 2%-6% de los linfocitos circulantes. Carecen de inmunoglobulinas de membrana y de receptores para la fracción C3 del complemento pero tienen receptores FC1, T4, T8 y M1. Su actividad destructura no depende del anticuerpo y no se inhibe por la presencia de inmunocomplejos circulantes.

C. Monocito Macrófago

Los monocitos se originan en la médula ósea y circulan como macrófagos inmaduros por la circulación periférica. El 75% de los monocitos permanecen en los márgenes e invaden la circulación en el curso de una infección. Los monocitos fagocitan y destruyen de manera más lenta. Se mueven también más despacio que los neutrófilos y proporcionan el aporte fagocítico para ellos. Los monocitos se pueden diferenciar en los tejidos y se vuelven macrófagos, células epitelioides y células gigantes. Los macrófagos activados son capaces de destruir e ingerir ciertos organismos que no pueden

hacerlo los neutrófilos, tales como micobacterias, hongos, restos celulares y parásitos intracelulares. Los macrófagos hísticos ingieren y procesan al antígeno para presentarlo a los linfocitos T y secretan IL-1 para estimular la proliferación linfocitaria (Unanue, 1984). Los macrófagos pueden alterar al antígeno con el fin de que se vuelva más inmunogénico. Unicamente los macrófagos con Ia (antígeno HLA-D) en su superficie pueden presentar antígenos a las células T (Thomas, 1978). Durante la infección, la población de macrófagos Ia se expande mediante la estimulación de diversas linfocinas, como el interferón α . Los macrófagos también secretan sustancias del tipo factores angiogénicos y monocinas que actúan como mediadores de la inflamación. En conclusión, los monocitos poseen un gran número de funciones, tales como la fagocitosis, la iniciación de la respuesta inmune, la secreción de mediadores que modulan la inflamación y la destrucción de ciertas células envueltas de anticuerpos.

D. Estructura y función de las moléculas de HLA

En el ser humano existe una formación de genes en el brazo corto del cromosoma 6 que afecta la expresión de antígenos celulares de superficie, de integración celular y del control cuantitativo de la respuesta inmune. A esta formación se la denomina complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) o HLA.

Los antígenos HLA de superficie celular son algunos de los factores codificados por los genes en el CMH.

Actualmente se conocen dos tipos diferentes de moléculas de HLA, la clase I y la clase II. Ambos tipos de moléculas son heterodímeros compuestos de una cadena polipeptídica α asociada de manera no covalente a una cadena polipeptídica B (Bodmer, 1984).

Las cadenas α de la clase I están compuestas de aproximadamente 340 restos de Aa que forman tres dominios extracelulares; una parte de transmembrana y una parte final intracitoplasmática. Están codificados por genes en los locus A, B y C del complejo HLA y son altamente pleomórficos. La cadena B es un dominio extracelular de 100 Aa y no es pleomórfica.

Las cadenas α y B de la clase II son de aproximadamente 230 Aa y ambas forman dos dominios extracelulares, una parte de transmembrana y la parte final intracitoplasmática. Ambas cadenas están codificadas por las subregiones de los genes DP, DQ y DR del complejo HLA.

Las moléculas HLA de la clase I se expresan generalmente en la mayoría, si no en todas, las células nucleadas excepto en los hepatocitos, el endotelio corneal y los trofoblastos (sincitiotrofoblastos) (Daar, 1984). La expresión de la clase I está sometida a muchos factores reguladores como por ejemplo el interferón α (IFN- α) (Leung, 1986).

Las moléculas de la clase II están en las células B, las células T activadas, los monocitos/macrófagos, las células dendríticas (Stastny, 1986), en numerosas células expuestas al interferón, células endoteliales y células epiteliales (Halloran, 1986). La expresión cualitativa y cuantitativa de las moléculas de las clases I y II depende de diversos mecanismos reguladores capaces de regular su expresión por exceso o por defecto. Las células negativas para la clase II pueden (en presencia de interferón- α producido por células T activadas) volverse positivas para la clase II e inducir respuesta específica de antígeno de las células T4 (Bottazzo, 1983). Mientras que las células B reconocen al antígeno de manera directa con sus receptores para inmunoglobinas, las células T pueden reconocer antígenos expresados en las membranas celulares de las moléculas del CMH. Los receptores de antígeno de las células T reconocen epítopos antígenos unión con las partes de las moléculas del mismo CMH llamadas elementos de restricción (Benacerraf, 1981). Las células T de la subpoblación T4 (CD 4+) reconocen al antígeno conjuntamente con elementos de sus propias moléculas de la clase II. La subpoblación T8 (CD 8+) habitualmente reconoce al antígeno conjuntamente con elementos de sus propias moléculas de la clase I (Biddison, 1982). Las moléculas del CMH, los antígenos y los receptores de las células T, interaccionan y forman un complejo trimolecular (Schwartz, 1985).

Parte de un antígeno puede interaccionar físicamente con ciertas partes pleomórficas de las moléculas del propio CMH. Los receptores celulares T reconocen otra

parte del antígeno conjuntamente con las otras partes pleomórficas de la molécula del propio CMH. CD4 y CD8 son moléculas accesorias que estabilizan la unión de las células T a las células que expresan antígeno mediante la combinación de las partes no pleomórficas de la clase I de las moléculas del HLA-I (Royer, 1985).

Los genes del CMH regulan la activación de las células T específicas de antígeno. En otras palabras, el CMH no solamente necesita ser reconocido en unión a un antígeno sino que también regula la activación de las células T.

Subregión HLA-DR

Esta subregión se compone de 2 subunidades asociadas de manera no covalente, una cadena α pesada no variable y una cadena B ligera. Las células de Langerhans epidérmicas OKT6+ expresan las moléculas HLA - DR como células presentadoras de antígeno (Beman, 1983).

Subregión HLA-DQ

Los códigos para los antígenos de superficie celular se componen de cadenas simples α y B que son homólogas a las de los antígenos murinos IA. La región HLA-DQ podría desempeñar un papel en la presentación de antígenos a las células T autólogas. Las células de Langerhans epidérmicas y los monocitos expresan los productos del gen del HLA-DQ como células presentadoras de antígeno (Gonwa, 1983).

Subregión HLA-DP

Los códigos para los antígenos de superficie celular se componen de cadenas simples α y B que son antígenos estimulatorios en la reacción linfocitaria secundaria mixta (Shaw, 1980).

E. Mastocitos

1. Distribución y morfología. Los mastocitos humanos están ampliamente distribuidos en los diferentes órganos con una predilección relativa para las interfases huésped-medio ambiente (piel, vías respiratorias altas y tracto gastrointestinal). En la mayoría de órganos, los mastocitos están concentrados alrededor de los vasos sanguíneos de pequeño calibre, linfático, nervios y de los tejidos glandulares (Mikhail, 1964).

Utilizando un método morfométrico, el conteo de los mastocitos representó en la piel normal de un 0,2% a un 0,7% (Kasper, 1987).

Su morfología normalmente va desde una configuración ovoide ahusada a una de tipo "renacuajo". En la dermis, los mastocitos aparecen en forma dendrítica a causa de su aparente pleomorfismo en las reacciones histológicas verticales; su núcleo es redondo u oval (Bergstresser, 1984).

2. Origen: La médula ósea representa la primera fuente de mastocitos. Esta teoría fue confirmada en laboratorio mediante el empleo de ratones genéticamente deficientes en mastocitos, que desarrollaron un número normal de éstos tras efectuarles un transplante de médula ósea procedente de animales normales emparejados genéticamente (Hatanaka, 1979).
3. Subpoblaciones de mastocitos. En los roedores existen dos poblaciones de mastocitos fenotípicamente distintas: mastocitos del tejido conectivo (Mctc) y mastocitos de las mucosas (MCM) (Katz, 1985).

MCTC. Incluye a los mastocitos que se hallan en la piel, la cavidad peritoneal y la pars muscularis del estómago. Estas células almacenan una cantidad significativa de histamina, generan heparina asociada a gránulos y no dependen de los factores de crecimiento derivados de los linfocitos T.

La proliferación de MCTC era desconocida hasta que Hamaguchi et al (1987) mostraron que el crecimiento clonal de MCTC podía ser inducido en presencia de IL-3 y IL-4.

Recientemente, Takagi et al (1989) mostraron que la estimulación mediante antígenos multivalentes en anticuerpos anti-IgE de MCTC vía receptores IgE, no solamente desencadenaba la liberación de mediadores químicos de la célula sino también

inducía el crecimiento clonal de MCTC en presencia de IL-3.

MCM. Se ha identificado en la capa mucosa del tracto gastrointestinal y se caracterizan por contener concentraciones bajas de histamina, ausencia de heparina y ser extremadamente sensibles a la regulación por los linfocitos T.

La mayoría de los mastocitos hallados en la piel humana y en la porción de tejido conectivo del intestino delgado expresan la triptasa y la quimiotriptasa, mientras que la mayor parte de los mastocitos presentes en los pulmones y en la mucosa del intestino delgado únicamente contienen triptasa.

Los mastocitos cutáneos, pulmonares e intestinales responden a los estímulos mediados por IgE, aunque sólo los mastocitos procedentes de la piel liberan histamina tras exposición al sulfato de morfina (Tharp, 1987).

Los MCM son sensibles a la regulación por las citocinas IL-3 y IL-4 asociadas a las células T (Galli, 1989). La IL-3 representa la principal citocina de la subpoblación en cuanto a la regulación de la proliferación (Abe, 1988). Mientras, estudios in vitro muestran que la IL-4 puede actuar como estimuladora de la proliferación (Lee, 1986).

Esta población de MCM está regulada por productos de la propia célula T CD4+ (Bottomly, 1988) que a través de la producción de IL-4 regula la generación de la repuesta de la IgE (Paul, 1987). Recientemente, Parrás et al (1989) mostraron que los mastocitos inducen la transcripción y/o secreción de citocinas tales como la IL-1, IL-3, IL-5, IL-6, IFN γ y otras, en respuesta a la IgE y a antígenos multivalentes específicos. Estos hallazgos sugieren que los mastocitos, además de su función efectora de la inflamación pueden servir como fuente de factores de crecimiento y regulación.

4. Características de la tinción histológica.

La tinción de cloracetato esterasa tiñe mastocitos y neutrófilos. La tinción fluorescente de sulfato de barberina únicamente tiñe los MCTC y la avidina conjugada con las tinciones de fluorocromo o de peroxidasa de rábano tiñen tanto los MCTC como los MCM. Las tinciones más utilizadas son las de azul toluidina y giemsa en histología convencional.

5. Mediadores de los mastocitos:

A. Mediadores preformados. Incluyen:

- * Histamina

- * Factores quimiotácticos

- Factores quimiotácticos neutrófilos (FQN)
- Factores quimiotácticos eosinófilos (FQE)

* Heparina (No en MCM)

* Enzimas

- Triptasa proteasa neutral
- Triptasa
- Proteasa neutral (tipo quimiotripsina)
- Factor de Hageman activado
- Factor generador de la bradicina
- Activador de la precalicreína

B. Mediadores formados de nuevo

Acido araquinódico libre = Prostagladina D2;
leucotrienos: LTD4, LTC4 y LTE4; ácidos
hidroxigrasos.

6. Activadores de la secreción de los mastocitos

La estimulación tanto de mecanismos inmunes como no-inmunes, puede liberar los mediadores de la histamina mediante los siguientes mecanismos:

- Molécula de IgE unida al receptor de superficie del mastocito.
- Generación de las anafilotoxinas del complemento: C3a, C4a, C5a.
- Proteína básica mayor.
- Linfocitos activados.
- ATP-ADP.
- Substancia P.
- Péptido relacionado genéticamente con la calcitonina (PRGC).
- ACTH y estrógenos.
- Pentagastrina.
- Narcóticos.
- D1 tubocuranina.
- Succinilcolina.
- Acido acetilsalicílico.
- Agentes antiinflamatorios no esteroides.
- Polimixina B.

- Vancomicina.
- Tiamina.

7. Mecanismos fisiológicos de los mastocitos de tejidos.

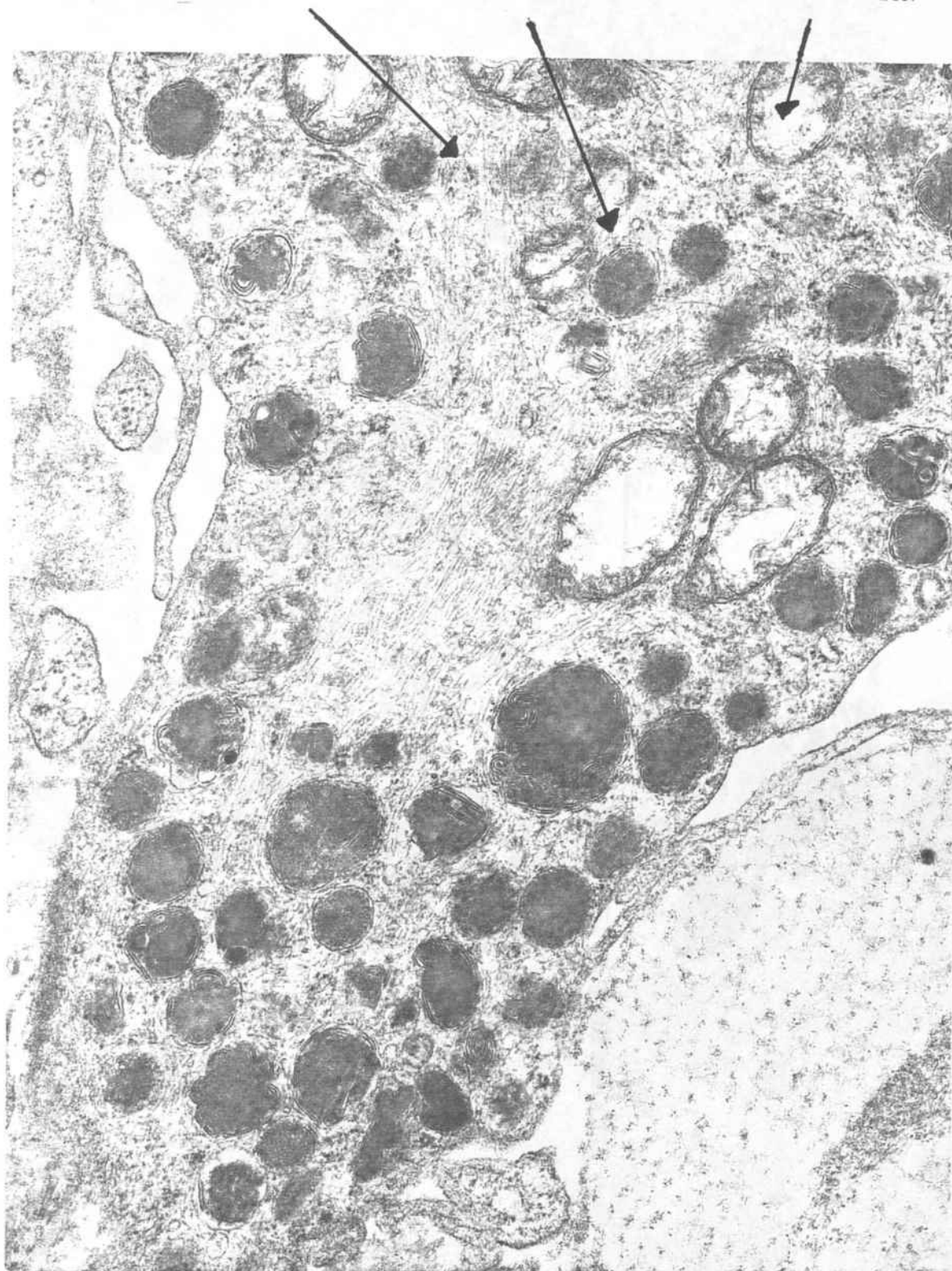
La abundancia relativa de mastocitos en las interfases huésped/medio ambiente tales como piel, pulmones y tracto gastrointestinal, y su asociación preferente a los vasos y canales linfáticos sugiere que éstos son importantes como mecanismo de defensa. Los mastocitos están también capacitados para mediar actividad antitumoral por diferentes mecanismos, como la regulación de la liberación de mediadores anafilácticos. Es sabido que los mastocitos destruyen las células tumorales sensibles a los efectos citolíticos del factor de necrosis tumoral (TNF). Asimismo pueden acumular y liberar las citocinas del TNF cuando se enfrentan con células neoplásicas (Jadus, 1986).

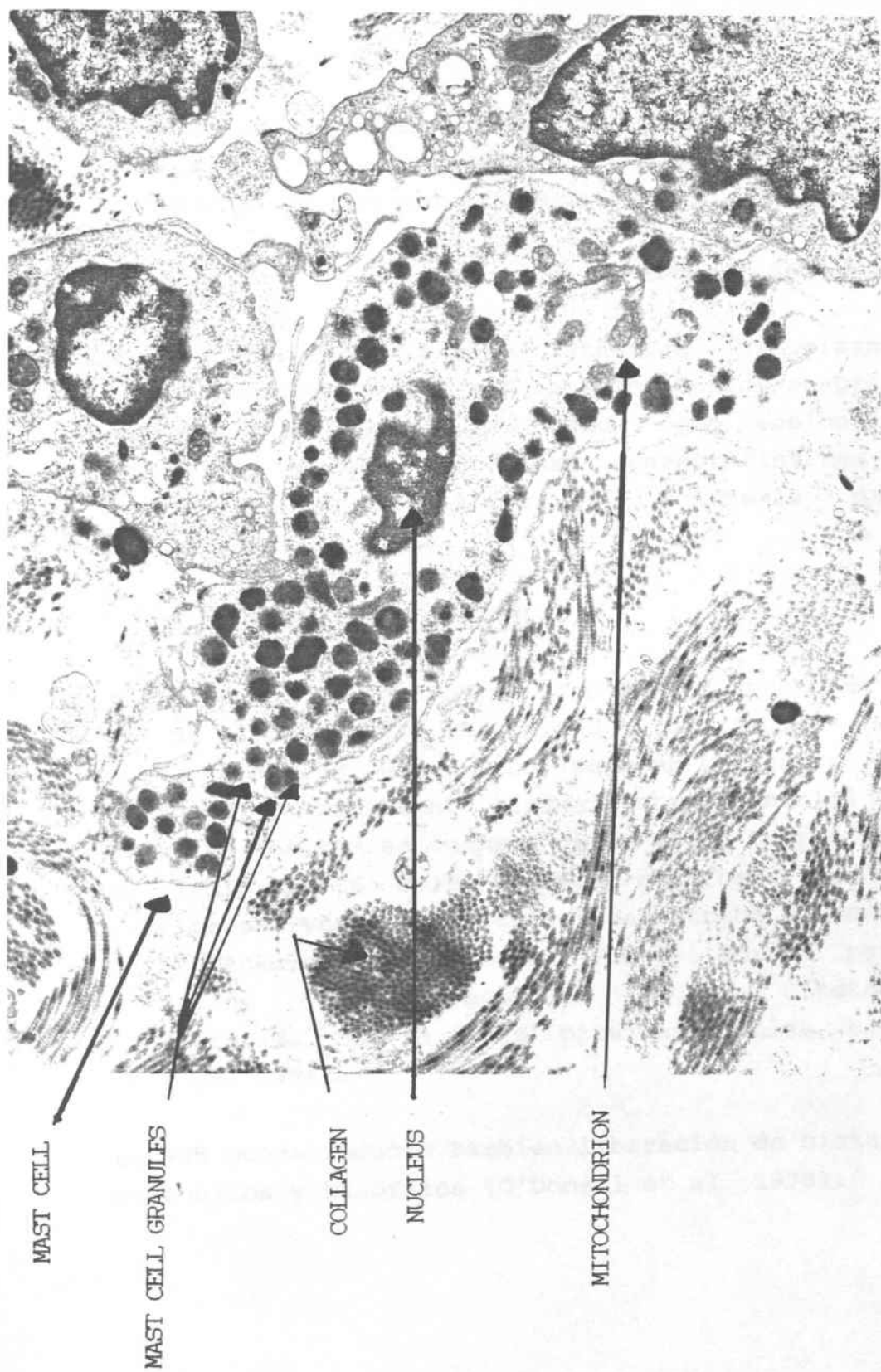
MAST CELL (HIGH POWER)

MICROFILAMENTS

MAST CELL GRANULE

MITOCHONDRION





F. Eosinófilos

Los eosinófilos humanos son de aproximadamente 10-15 de diámetro con un núcleo bilobulado y gránulos citoplasmáticos característicos (Gleich, 1984).

Los eosinófilos se producen en la médula ósea.

Los eosinófilos poseen gránulos citoplasmáticos característicos que debido a su contenido en proteínas básicas se tiñen con los ácidos como eosina. Estos gránulos poseen proteínas características que desempeñan un papel en la patogenia de las enfermedades.

Proteína básica mayor (PBM)

El contenido en los eosinófilos de esta proteína básica es de 5.000 ng por 10 elevado a 6 células (Gleich, 1984). La PBM está localizada en el centro de los gránulos y representa virtualmente el núcleo de la proteína. La PBM se compone de un 4% de triptófano, 13% de arginina, 6 moles de medio cistina y dos grupos sulfirreactivos con un punto isoeléctrico ph 10 elevado a 3 (Ackerman, 1982). La PBM es tóxica para los parásitos y ha mostrado causar citotoxicidad (relacionada con la dosis) para las células tumorales (Gleich, 1979).

La PBM puede inducir también liberación de histamina en mastocitos y basófilos (O'Donnell et al, 1973).

Peroxidasa (POE)

Se localiza en la matriz eosinofílica y cataliza la oxidación de diversas sustancias en presencia de H₂O₂. Asimismo, se une también a los mastocitos e induce su degranulación (Chenderson, 1980)

Proteína catiónica eosinofílica (PCE)

Constituye aproximadamente el 30% de la proteína total de los gránulos y se localiza en la matriz. Es capaz de unirse a la heparina y neutralizar sus propiedades anticoagulantes. Asimismo, aumenta la actividad de la Kalicreína y activa al plasminógeno. La PCE puede lesionar a los parásitos (Venge, 1980),

Neurotoxina derivada de los eosinófilos (NDE)

La NDE se localiza en la matriz de los gránulos y tiene la capacidad de inducir un síndrome neurotóxico (Ackerman, 1982).

Funciones

Los eosinófilos poseen receptores para C3 y para la FC de la IgG y la IgE (Weller, 1984); metabolizan el ácido araquidónico y producen el leucotrieno C4 (Shaw, 1984); asimismo poseen también glicerofosfatasas, adenosina trifosfatasas, α -mannosidasas, arylsulfatasas, collagenasas, B-glucoronidasa, ribonucleasas, ácidos catepsinicos, fosfatasas alcalinas, histaminasas y D-fosfolipasas (Gleich, 1984).

Es bien conocido que no todos los eosinófilos poseen las mismas características funcionales y que estas propiedades dependen de la naturaleza de la enfermedad subyacente.

Los eosinófilos circulan por el torrente sanguíneo durante un tiempo muy breve con una vida media del orden de 6 a 12 horas.

Cuando los eosinófilos penetran en los tejidos pueden persistir en ellos durante varios días como mínimo.

Diversos estudios experimentales in vitro e in vivo han demostrado que el aumento de producción de eosinófilos en la médula ósea está bajo el control de los linfocitos T. En animales, la respuesta a un estímulo para eosinófilos como la provocación parasitaria, no se da en ratones con ausencia congénita de timo (Hsu, 1976). In vitro, antígenos específicos o linfocitos estimulados mitogénicos producen factores con actividad eosinofilicopoyética, denominado factor estimulador de colonia eosinofílica (Burgess, 1980) y factor estimulador de crecimiento eosinofílico (Bartelmez, 1980).

Son numerosos los agentes con actividad quimiotáctica para los eosinófilos, tales como el factor quimiotáctico eosinofílico anafiláctico (FQE-A) de los mastocitos, la histamina, leucotrienos B₄ (el más importante) C₅, C_{5a}, C₅₆₇ y los factores derivados de los linfocitos con actividad quimiotáctica para los eosinófilos tipo promotor de la estimulación eosinofílica (PEE) (Colley, 1973) y precursor de la

acción quimiotáctica eosinofílica (AQE) (Cohen, 1971).

Los eosinófilos pueden fagocitar bacterias, hongos, micoplasmas y complejo antígeno/anticuerpo pero son menos eficientes que los neutrófilos.

Asimismo, son capaces de obtener una reacción oxidativa y pueden liberar productos oxidativos incluyendo al peróxido de hidrógeno, ion superóxido y radicales hidroxilos.

Los eosinófilos pueden regular o mitigar las reacciones dependientes de los mastocitos mediadas por IgE (Weller, 1979). Por consiguiente, la histaminasa eosinofílica puede catabolizar la histamina; la peroxidasa eosinofílica puede inactivar los leucotrienos (Henderson, 1982); la PBM une e inactiva la heparina (Gleich, 1976), y los eosinófilos pueden fagocitar los gránulos de los mastocitos y elaborar sustancias tipo prostaglandina que inhiben la liberación de los mediadores procedentes de los basófilos (Hubscher, 1975). Los eosinófilos pueden tener efectos nocivos en los tejidos del huésped; así, la PMB produce lesión celular en el asma bronquial (Frigas, 1980).

Recientemente se conoce que la IL-5 induce la proliferación y diferenciación selectivas de los eosinófilos en la sangre del cordón umbilical y en la médula ósea, así como que posee efectos en el mantenimiento de la viabilidad celular y los efectos quimiotácticos en los eosinófilos (Saito et al, 1988;

Yamaguchi et al, 1987). Silberstein (1987) mostró que otros factores celulares T, incluyendo la IL-4 y el factor t de necrosis tumoral, pueden activar a los eosinófilos. La mayoría de pacientes con DA no presentan eosinofilia en sangre periférica pero en biopsias cutáneas pueden mostrar pocos eosinófilos en el infiltrado inflamatorio. Leiferman et al (1985) detectó remanentes de eosinófilos con un anticuerpo monoclonal para la proteína básica mayor eosinofílica. La presencia de eosinófilos o de restos de eosinófilos es congruente con una reacción mediada por IgE.

Los eosinófilos sanguíneos procedentes de pacientes con DA son heterogéneos en su densidad. El número de eosinófilos hipodensos (pero no los normodensos) se correlaciona con la actividad de la enfermedad (Tsuda et al, 1984). Este autor muestra en estudios de inmunohistoquímica (utilizando un anticuerpo monoclonal EG2 que solo se une a las formas secretoras de la proteína catiónica eosinofílica que se detecta en los eosinófilos activados) que el 86% de eosinófilos hipodensos reaccionan con el anticuerpo EG2 y solo el 5% con eosinófilos normodensos. Estos hallazgos indican que los eosinófilos hipodensos y sus productos de degranulación pueden provocar una exacerbación clínica de la DA.

Ultimamente se sabe que los eosinófilos pueden ser responsables, directa e indirectamente, de la liberación de los mediadores en las reacciones de hipersensibilidad inmediata y que la peroxidasa eosinofílica puede inducir liberación de la histamina

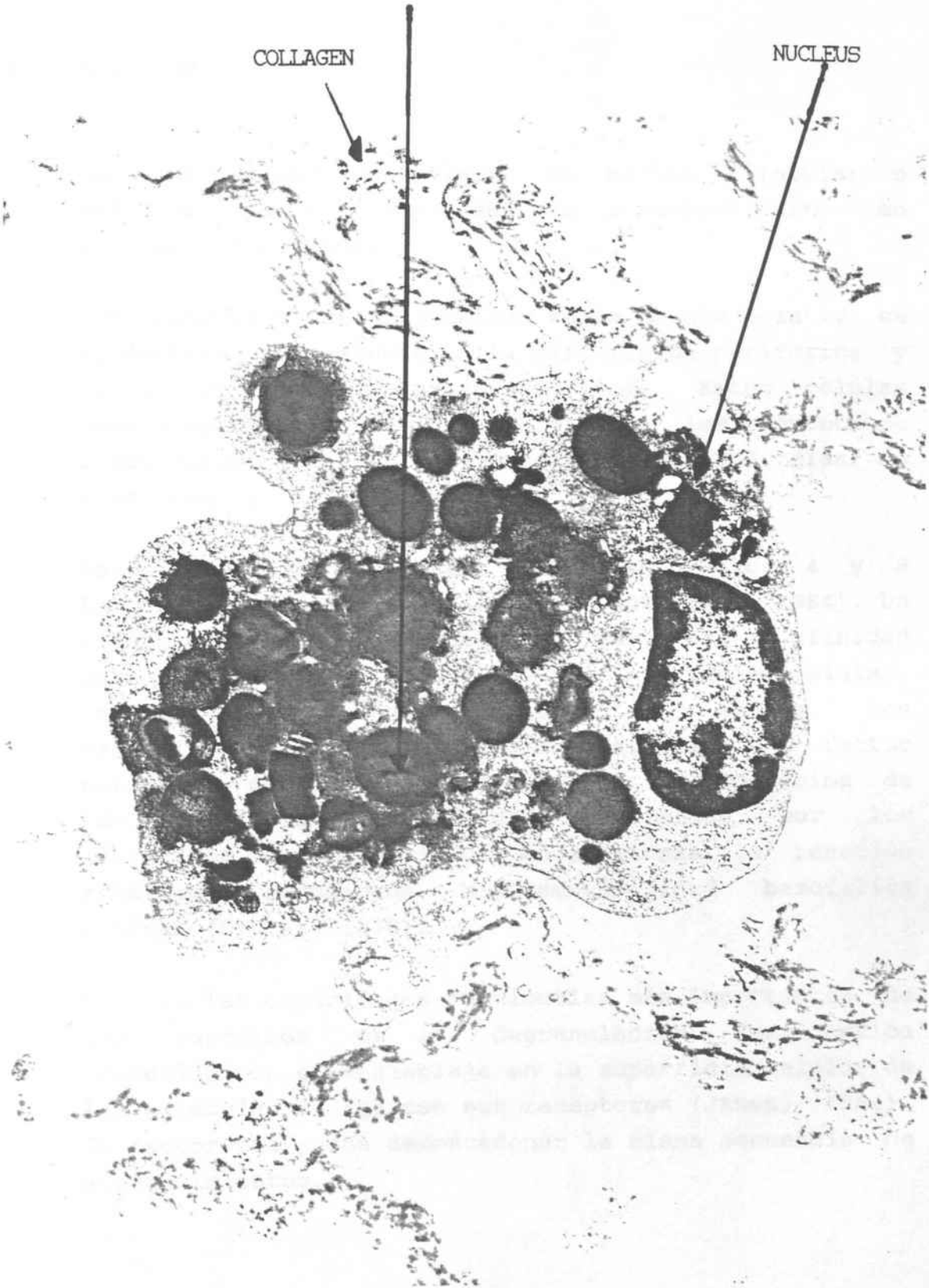
procedente de los mastocitos y de los basófilos (O'Donell, 1983).

Diversas biopsias realizadas a pacientes con dermatitis atópica sin eosinofilia periférica han mostrado la presencia de depósito fibrilar en toda la dermis.

GRANULE WITH CRYSTALLINE INCLUSIONS

COLLAGEN

NUCLEUS



G. Basófilos

Los basófilos son células de núcleo bilobular o multilobular y citoplasma con contenido alto en glucosaminoglicanos.

Los basófilos se diferencian en la médula ósea y se encuentran normalmente en la circulación periférica y no en los tejidos extravasculares. Estas células constituyen de un 0,5 a un 1% de los leucocitos circulantes y tienen un promedio de unos 2,5 días de vida (Juhlin, 1963).

Los basófilos contienen condroitinsulfatos 4 y 6 histamina, lisofosfolipasa y PMB (Metcalf, 1984). Un rasgo cardinal de los basófilos es la alta afinidad para la IgE de sus receptores de superficie celular, también presente en los mastocitos. Además, los basófilos contienen leucotrienos C4, D4 y E4, factor activador de las plaquetas y FQE-A. La producción de los basófilos se encuentra controlada por los linfocitos T, produciendo en ocasiones la reacción retardada denominada hipersensibilidad basofílica cutánea (Dvorak, 1970).

Una de las capacidades funcionales más importantes de los basófilos es la degranulación anafiláctica producida por el ensamblaje en la superficie celular de las moléculas de IgE con sus receptores (James, 1964). El factor C5a puede desencadenar la misma secuencia de acontecimientos.

En la dermatitis atópica, cuando el paciente se rasca la piel, introduce alérgenos nuevos y provoca una respuesta de tipo I mediada por IgE y de tipo IV con activación celular T. Esto produce un incremento de basófilos y posteriormente de mastocitos debido a la liberación de los factores quimiotácticos de los basófilos mediante los linfocitos T activados y los Ag tales como el P1.

H. Queratinocito

El papel de los queratinocitos en el sistema inmune cutáneo no está definido en su totalidad. El número y función de los factores producidos por los queratinocitos, tales como el factor de activación de los timocitos derivado de las células epidérmicas (Lugar et al, 1981), la sustancia tipo IL-3 (Lugar et al, 1985), el factor de activación de las células asesinas (natural killer) derivado de las células epidérmicas (Lunger et al, 1985), la sustancia tipo timopoyetina (Chu et al, 1983), el factor inhibidor de los linfocitos derivado de los queratinocitos (Nickoloff et al, 1986), el factor linfocitario derivado de las células epidérmicas (Nicolas et al, 1986) y la actividad asesina natural (Niedecken et al, 1988) indican que tienen una función inmunoreguladora e inmunomoduladora. Se ha informado recientemente de la expresión de los antígenos linfocitarios humanos clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA)-DR-DQ-DP por los queratinocitos humanos (Carr et al, 1986; Gawkrödger et al, 1987). El queratinocito se integra como efector o como diana en las acciones del sistema inmune limitado o no al complejo mayor de histocompatibilidad (CMH). Diversas observaciones clínicas han demostrado que los queratinocitos positivos al antígeno linfocitario humano (HLA-DR) están fuertemente correlacionados con la infiltración linfocítica en la epidermis en varias enfermedades cutáneas (Tjerlund et al, 1978; Lampert et al, 1982; Aubock et al, 1986). Sugiriendo que la expresión

aberrante de los queratinocitos HLA-DR desempeña un papel inductivo en la migración de las células T en la epidermis. Estudios *in vitro* (Bashamm et al, 1984) e *in vivo* (Scheynious et al, 1986) muestran que los estímulos para sintetizar HLA-DR-DP-DQ parecen ser secretados por IFN- γ mediante linfocitos mononucleares de sangre periférica en un cultivo de queratinocitos humanos (Nickoloff et al, 1987). La unión de linfocitos T a queratinocitos tratados con IFN- γ estuvo bloqueada mediante la preincubación de células T con anticuerpos contra el antígeno-1 asociado a la función linfocitaria (LFA-1) (Nickoloff, 1988). Un enlace para el LFA-1 es la molécula I de adhesión intercelular (ICAM-1 que es una glucoproteína de 90 a 114 kilodaltons (Martin, 1987). Cuando se expone el IFN- γ en un cultivo de queratinocitos induce también la expresión de ICAM-1 (Dustin et al, 1988). En resumen, la adherencia entre las células T que contienen AFL-1 en su superficie y los queratinocitos tratados con IFN- γ ocurre mediante la interacción LFA-1/ICAM-1. Se concluye que el IFN- γ , una vez producido en la dermis por los linfocitos T activados, puede ser de importancia en el tránsito linfocitario en la epidermis. El IFN- γ induce la expresión de la ICAM-1 de manera más precoz y con mayor extensión que lo hace el HLA-DR. Dicha expresión de la ICAM-1 puede ser un iniciador importante de la interacción queratinocito/linfocito, mientras que la expresión HLA-DR en los queratinocitos puede ser más importante en el reconocimiento antigénico y/o presentación a los linfocitos activados postadherencia (Messadi et al, 1988). Recientemente, Bieber et al (1989) mostraron que los queratinocitos en la piel

afectada de la DA expresan HLA-DR, CD1a, y moléculas de IgE. Informes previos habían sugerido que el patrón intercelular se debe a la secreción de CD1 más que a la expresión de los queratinocitos (Willemze et al, 1985).

Los queratinocitos también expresan receptores para la interleucina 1 (IL-1R, tras la estimulación con ésteres de forbol y IFN- γ (Kupper et al, 1989). Después de esta estimulación, los queratinocitos inducen un estado de activación caracterizado por el ciclo celular y la expresión de novo de citocinas inflamatorias IL-6, GCSF y factores quimiotácticos.

Finalmente, y tras la exposición al IFN- γ , los queratinocitos expresan OKM5 en piel sana y enferma. Esto proporciona evidencia adicional de un papel celular accesorio en la respuesta inmune cutánea (Allen et al, 1989).

I. Objetivos en la tesis

1. El objetivo principal de esta tesis es ver si el APD juega un papel de factor exacerbante en DA. Introdujimos APD vía intradérmica y utilizamos la prueba de contacto en piel dañada y no dañada para saber qué ocurría inmunológicamente.
2. El segundo objetivo es comparar la respuesta inmunológica entre la inyección intradérmica de APD y la prueba de contacto en piel dañada y no dañada. Esta prueba demostrará cual es la penetración en cada una de las pieles, dañada o no dañada.
3. Para poder contestar a estas preguntas, es muy importante saber el estado inmunológico de piel normal de pacientes no atópicos para poder compararlo al de las áreas afectas o no afectas de pacientes atópicos. Esta información es útil para comparar la respuesta inmunológica con ambos estudios APD intradérmico y prueba de contacto.
4. Es importante saber qué metodo se ha usado al contar el número de células en la epidermis y dermis, y compararlo con otros resultados descritos en la literatura.
5. Será interesante conocer el acontecer histológico de los eosinófilos, mastocitos y basófilos para discutir su significado en DA.

6. Será también interesante saber si hay una correlación clínica entre la prueba de Prick-Rast y las manifestaciones clínicas de la DA
7. En esta década, la radiación UV se ha convertido en una herramienta de éxito en el tratamiento de la DA. Será importante conocer la respuesta inmunofenotipada después de UVB en pacientes atópicos.
8. Es esencial ver las células clase II de la epidermis en los estudios y comparar entre ellas las células HLA-DR, HLA-DP y HLA-DQ y hacer una hipótesis de sus funciones.

CAPITULO III

PROYECTO - MATERIAL Y METODOS

3.1 PROYECTO

- A. Inmunohistología en pacientes con piel normal no atópica.
- B. Histología e inmunopatología de las pruebas intradérmicas para el ácaro del polvo doméstico en pacientes atópicos.
- C. Histología e inmunopatología de las pruebas epicutáneas para el ácaro del polvo doméstico (APD) en piel lesionada y no lesionada de pacientes atópicos.
- D. Histología e inmunopatología de la piel de pacientes con dermatitis atópica, antes y después de un tratamiento con UVB.
- E. Inmunopatología en piel afecta y no afecta de pacientes con dermatitis atópica.

MATERIAL Y METODOS

3.2 Sujetos

- A. Pacientes con piel normal no atópica

Se obtuvieron muestras biópsicas cutáneas de control procedentes de 16 pacientes sin evidencia de enfermedad

cutánea. Se procesaron las muestras cutáneas para su estudio, marcándolas con inmunoperoxidasa para inmunofenotipar los infiltrados y efectuar recuento de las células de Langerhans.

B. Pacientes con dermatitis atópica para el estudio de la prueba intradérmica con el ácaro del polvo doméstico.

Seleccionamos cinco pacientes afectados de dermatitis atópica a los que se inyectó el ácaro del polvo doméstico de manera intradérmica en la piel no afecta.

C. Pacientes con dermatitis atópica para el estudio de las pruebas epicutáneas con el ácaro del polvo doméstico.

Seleccionamos cinco pacientes afectados de dermatitis atópica y realizamos las pruebas epicutáneas con el ácaro del polvo doméstico en piel lesionada y no lesionada. Asimismo, estudiamos las diferencias en un paciente entre la piel lesionada testada.

D. Pacientes con dermatitis atópica para el estudio pre y postratamiento con ultravioletas B(UVB).

Se estudiaron tres pacientes con eccema atópico crónico desde la infancia. A todos los pacientes se les había administrado emolientes y ungüentos diluidos de corticoides previamente a los UVB, que continuaron utilizando durante el tratamiento. Los pacientes 1 y 2

recibieron UVB utilizando una unidad Waldemann UV 1.000 (equipado con tubos Sylvania F 75/85W/UV6) emitiendo UVB y UVA con irradiación a una distancia de 45 cm en 0,104 mw/cm² sobre 290-350 nm. Los pacientes fueron tratados tres veces por semana durante 3 semanas. Después de una dosis de prueba, ésta se fue incrementando de acuerdo con un protocolo establecido, aunque siempre fue menor que la usada para la psoriasis. El eccema mejoró en todos los pacientes con la radiación de UVB. Antes de iniciar el tratamiento con UVB se tomaron biopsias en sacabodados bajo anestesia local de la piel afecta y de la localización complementaria del otro lado corporal al finalizar la terapia con UVB.

E. Paciente con dermatitis atópica para el estudio de piel afecta y no afecta.

Seleccionamos 12 pacientes con dermatitis atópica y estudiamos su piel afecta y no afecta.

3.3 METODOS

3.3 A. Biopsias cutáneas

Se realizaron los pasos siguientes:

- Muestra de biopsia en piel normal de cada paciente no atópico.

- Cuatro biopsias (control, 8h, 24h y 48h) en cada paciente de los estudios intradérmicos y pruebas epicutáneas para el ácaro del polvo doméstico.
- Dos biopsias (en piel afecta y no afecta y pre y postratamiento UVB) en cada paciente de los grupos D y E.

Previamente a la realización de las biopsias se esterilizó la piel con solución antiséptica (sauidil) y se secó con gasas estériles. La anestesia local (xilocaína al 1%, sin adrenalina) se realizó alrededor del lugar de la biopsia aunque no dentro para evitar artefactos debidos al trauma de la aguja. Las biopsias excisionales se dividieron en dos partes, procesándolas en hematoxilina y eosina, giemsa y azul toluidina y en inmunoperoxidasa. Las muestras para inmunoperoxidasa se guardaron en nitrógeno líquido a -200 C.

TABLA 1

	Pacientes	Immunoperoxidasa Biopsias	H&E Biopsias	Total
Pacientes no atópicos	16	16		16
Pacientes atópicos Pruebas intradérmicas ácaro del polvo domes- tico	5	20	20	40
Pacientes atópicos Pruebas epicutáneas APD	5	20	20	40
Pacientes atópicos Estudio UVB	3	12	12	24
Pacientes atópicos piel afecta	12	12		24
Pacientes atópicos piel no afecta		12		
TOTAL				144



RESULTADOS CLINICOS TRAS LA PRUEBA DE PRICK

3.3.B. Prueba de Prick

Se testó la piel de 25 pacientes afectados de dermatitis atópica mediante la prueba de Prick con los alérgenos indolentes comunes, ácaro del polvo doméstico, mezcla de pólenes, gato, perro, vaca, caballo, mezcla de mohos, huevos, leche, trigo y la solución de control (Bencard, L+U, UK). Se aplicó una pequeña gota de la solución en piel normal de la parte volar del antebrazo. Posteriormente se practicó la prueba de Prick a través de la solución dentro de la piel utilizando una lanceta cortante (Lance Blades, Ltd) y vigilando no obtener sangre. Tras la prueba se secó la solución mediante papel absorbente para evitar mezclar las soluciones entre ellas, analizándose la reacción después de 15 minutos. El tamaño del habón y la reacción eritematosa fueron descritos en una cinta transparente y medidos según la escala estándar.

1 - 5 mm de habón +

5 - 10mm de habón ++

--- 10mm de habón +++

3.3.C. Pruebas intradérmicas

Hemos utilizado *Dermatophagoides pteronyssinus* D1 procedente de Pharmacia, Upsala, Suecia 1000 BU/ml. Hemos inyectado 0,1 ml., equivalente a 5 unidades después de diluir con dilución

de Albumina, (NSA dilución), Pharmacia (1000 BU/1ml --> se tomó 0,1ml y se diluyó en 2ml. --> 50 BU/ml --> se tomó 0,1ml. (5 unidades).

Se realizó la prueba intradérmica en el brazo de cinco pacientes afectados de dermatitis atópica. Posteriormente se realizó biopsia a las 8, 24 y 48h.



RESPUESTA CLINICA 8H. TRAS LA INYECCION INTRADERMICA DEL ACARO POLVO DOMESTICO.



RESPUESTA CLINICA 24H. TRAS LA INYECCION INTRADERMICA DEL ACARO POLVO DOMESTICO.



RESPUESTA CLINICA 48H. TRAS LA INYECCION INTRADERMICA DEL ACARO POLVO DOMESTICO.

3.3.D. Pruebas epicutáneas

Se realizaron pruebas epicutáneas a cinco pacientes afectados de dermatitis atópica con únicamente un alérgeno: el ácaro del polvo doméstico (APD).

503 Dermatophagoides pteronyssinus,

A quagen S A, DK.

100.000 S Q E/ml

Se utilizó 1ml. equivalente a 6000 unidades de APC 100.000/ml. diluido en una concentración veinticinco veces menor (1.000.000 BU/ml).

--> Se tomó 0,5ml. y diluyó en 5ml.

--> 4000 BU/1ml. --> tomando 1.5ml. (6000 U)

Por cada patch test se realizaron 20 escoriaciones con cinta adhesiva en la piel, produciendo un peeling. Posteriormente se introdujo en el área afectada la solución de 0,5ml, cubriéndola con un papel de filtro. Esto se realizó en superficie palmar y ambos antebrazos.

Además, se realizaron las pruebas epicutáneas en la piel no afectada de la superficie palmar de los antebrazos de tres pacientes, a las mismas diluciones.



TECNICA DEL PATCH TEST CON ACARO POLVO DOMESTICO TRAS LA
ABRASION PREVIA DE LA EPIDERMIS.

3.3.E. RAST

La prueba de la absorción de los radioalérgenos (RAST) se usa habitualmente en los pacientes afectados de dermatitis atópica, algunos de ellos con incremento de la IgE. Mediante esta técnica es posible identificar diversos tipos de IgE contra diferentes antígenos.

La prueba RAST consiste en la introducción de un antígeno (tipo ácaro del polvo doméstico) en un disco de filtro apropiado. Posteriormente se introduce el suero del paciente con la consecuente formación de inmunocomplejo antígeno/anticuerpo que se limpiará tres veces con una substancia tampón con el fin de eliminar todos los anticuerpos no unidos a antígeno. Más tarde, se introduce anti-IgE marcada con ^{125}I que se unirá al complejo porción antigénica IgE. El complejo radioactivo será más positivo en la RAST.

3.3.F. Técnica de la preparación de la inmunoperoxidasa

1. Preparación de la congelación de secciones

Las muestras cutáneas se congelaron bruscamente en un compuesto OCT. En primer lugar se colocaron en isopentano enfriado previamente con nitrógeno líquido. Las muestras se envolvieron rápidamente en laminillas de aluminio y fueron guardadas en nitrógeno líquido. Los cortes congelados se prepararon después que fueron tomados del almacenamiento en

nitrógeno líquido y conservados durante 1 a 2 horas a 25 °C en el criostato. Las biopsias cutáneas de cada uno de los pacientes se prepararon simultáneamente para el marcaje de la inmunoperoxidasa: por ejemplo, las muestras cutáneas de piel afecta y no-afecta del mismo paciente positivo o del control en el mismo paciente.

2. Procedimiento de la inmunoperoxidasa

La técnica de la inmunoperoxidasa fue el método utilizado en el departamento de Dermatología, Royal Infirmary, Edinburgo.

- a. Corte de las secciones congeladas de 6 mm de grosor en un criostato (SLEE, Londres) a -25 °C. Estos cortes fueron colocados sobre unos portaobjetos de cristal cubiertos de gelatina.
- b. Secado de los cortes al aire de un ventilador durante 20 minutos a temperatura ambiente.
- c. Fijación de los cortes en acetona durante 10 minutos a temperatura ambiente.
- d. Lavado ligero de los cortes, en una solución Tris/salina compuesta de una parte de Tris 0,01 M (hidroximetil aminometano)/ HCl tamponando a pH 7,6 y nueve partes de solución salina (0,85% de cloruro sódico).
- e. Tratamiento de los cortes con suero de conejo normal (DAKO Ltd.) diluido a 1:5 en una solución Tris 0,01 M

tamponada a ph 7,6, durante 10 minutos en temperatura ambiente. Este paso es esencial para reducir la tinción de fondo.

- f. Drenaje de los portaobjetos, el exceso de suero de conejo normal.
- g. Los cortes se marcaron con los siguientes anticuerpos monoclonales:

TABLA 2

Nomenclatura CD	AC Monoclonales	Especificidad	Dilución
CD1a	DAKO T6	Células de Langerhans	1/100
	HLA DP: B7/21	Linfocito B Monocito	sin diluc.
	HLA DQ: Leu 10	Linfocito B	1/100
	BT 3,4	Monocito	1/100
	HLA DR: L2-4-3	Células T ac- tivadas.	1/100
		Linfocitos B	1/100
		Células de Langerhans	1/100
		Monocito/ macrófago	1/100
CD4	Leu 3a	Células T hel- per/inductoras	1/90
CD8	Leu 2a	Células T su - presoras cito- tóxicas	1/50
CD14	LeuM3	Monocito/Macrofago	1/100

DAKO: DAKO Ltd. Dinamarca.

Leu: Becton Dickinson. Monoclonal Center Inc.

California. EE.UU.

B7,21: Becton Dickinson.

Los cortes de control se incubaron únicamente con solución tris/tamponada sin los anticuerpos primarios en este estadio. Los cortes se mantuvieron en una habitación húmeda durante toda la noche a -40°C .

- h. Lavado por tres veces de los cortes con solución tris/salina con una duración de tres minutos cada vez.
- i. Incubación de los cortes con antisuero de conejo conjugado con peroxidasa anti-ratón (DAKO Ltd.) diluido a 1:40 en solución 0,01 M de tris/HCl tamponada a pH 7,6 durante 30 minutos en una habitación húmeda a temperatura ambiente.
- j. Lavado posterior de los cortes con solución tris/salina por tres veces de tres minutos de duración cada una.
- k. Tinción de los cortes para la actividad de la peroxidasa con una solución que contenía 3 mg de 3,3 tetrahidrocloruro de diaminobencidina DAB (Sigma) en 10 ml 0,01 % de peróxido de hidrógeno reciente, durante 5 minutos en temperatura ambiente.

1. Nuevo lavado de los cortes por tres veces de 5 minutos cada vez en solución tris/salina. Los cortes fueron teñidos repetidas veces con la tinción de Mayer deshidratada en alcohol graduado, lavados con xileno y montados en un medio DPX (Raymond Lanub).

3. Método de la tinción doble

En los cortes de tejido congelados de muestras procedentes de lesiones intradérmicas y marcadas por inmunoperoxidasa, se hallaron numerosas células con peroxidasa endógena que no se tiñeron específicamente con diaminobencidina "DAB". Un tratamiento de los cortes congelados (antes de la preparación de inmunoperoxidasa) con metanol y 0,01% de peróxido de hidrógeno (Streefkerk, 1972), inhibió parcialmente la actividad peroxidasa endógena de estas células pero lesionó los antígenos T6, como se demostró en las células de Langerhans. Con el fin de evitar esto, se utilizó la prueba de la fosfatasa alcalina.

3.3.G Prueba de la fosfatasa alcalina

Se tomaron de cada biopsia cortes al criostato de 6 μm , que fueron fijadas en acetona durante 10 minutos y dejadas secar al aire. Los cortes se preincubaron 10 minutos con un 20 % de suero de conejo normal (SCN) en solución tris/salina tamponada (TST) y se incubaron durante la noche a 4° C con una batería de anticuerpos monoclonales diluido en un 20 % de SCN en TST (tabla 2), empleándose un 20% de SCN en TST como control.

Se reveló reactividad utilizando un sistema de fosfatasa alcalina. La inmunoglobulina de conejo anti-ratón conjugada con fosfatasa alcalina (Dakopatts a/s, Dinamarca) diluida a 1:20 se aplicó durante 1 hora a temperatura ambiente. Tras el lavado, se desarrolló la reacción utilizando una solución de naftol AS-MX fosfato sódico a la venta (Sigma Chemical Co. Ltd. Poole, Inglaterra), levamisol y rojo resistente TR a la venta en 0,1 M Tris tamponado a pH 8,2. Los cortes fueron teñidos repetidas veces con la tinción de Mayer.

3.3.H Cuantificación e inmunofenotipado de las células en la epidermis y en la dermis

1. Cuantificación de las células de Langerhans en la epidermis

Se conocen varios métodos para contar las células de Langerhans en la epidermis. Por ejemplo, Harrist et al (1983) describieron el conteo de las células de Langerhans por milímetro lineal de la longitud epidérmica, pero la epidermis en los cortes congelados siempre muestra ondulaciones frecuentes a su través. Esto conduce a dificultar la aplicación de este método en concreto. Lo mismo sirve para el conteo por área de superficie utilizando una retícula de cuadrados, tal como lo describe Haftek et al (1983). Sin embargo, este método consume mucho tiempo debido a la variabilidad del grosor epidérmico en cada campo microscópico, lo que hace necesario medir la superficie epidérmica en cada campo.

El método del conteo de las células de Langerhans epidérmicas en relación con la capa de células basales, tal como lo describieron Mackie y Turbitt (1983) pareció ser el adecuado para el estudio comparativo entre varias muestras cutáneas. Este método salvó las dificultades de los otros métodos de conteo. Se tiñeron 14 cortes para cada una de la mayoría de las muestras de los sujetos. Los cortes fueron examinados en el microscopio Leitz y se realizó el conteo utilizando lentes de objetivo 50 x 1, 25 x 1,25. El número de células desdríticas epidérmicas teñidas se contó en aproximadamente 200 queratinocitos basales. Se registraron positivas las células que demostraron dendritas en asociación con una tinción negativa para sus núcleos. No se tuvieron en cuenta las dendritas solas. Por otra parte, se realizaron 14 cortes de cada biopsia para DAKO T6; los otros monoclonales sólo se utilizaron de 4 a 6 cortes.

2. Cuantificación de las células de Langerhans en la dermis

En la dermis hemos utilizado una retícula cuadrada calibrada utilizando el objetivo x 50 para el conteo de las células.

Posteriormente se calculó la cantidad de células por el número de cuadrículas aplicando pruebas estadísticas.

3.3.I. Análisis estadístico de los resultados

Se calculó la media y el SEM para cada muestra; asimismo, se calculó la desviación estándar y el error de desviación

estándar aplicando la siguiente fórmula:

$$\frac{DE}{\sqrt{Vn}}$$

Vn: media

DE: desviación estándar

Debido a que las variables estudiadas son pequeñas (los valores de conteo y los resultados son menores de 30) se ha escogido una prueba no paramétrica.

Para comparar los resultados independientes se ha utilizado la prueba U de Mann Whitney y para comparar los dependientes la prueba de datos apareados T de Wilcoxon. Las medidas de dispersión utilizadas son la mediana y la amplitud que ayudarán a entender los diferentes resultados obtenidos en las pruebas no paramétricas.

CAPITULO IV

Resultados

4.1. Correlación entre las pruebas de Prick y RAST

4.2. Examen al microscopio óptico de los cortes embebidos en formol: H y E, tinción de Giemsa y de toluidina azul

A: Inyección intradérmica del ácaro del polvo doméstico (APD)

B: Pruebas epicutáneas: a) de piel lesionada

b) de piel intacta

C: Estudios con UVB

4.3. Examen cutáneo mediante la prueba de la inmunoperoxidasa utilizando anticuerpos monoclonales: epidermis/dermis

(CD1a) Leu 6

(CD8) Leu 2A

(CD4) Leu 3A

(CD14) Leu M3

L2.4.3 HLA-Dr

B 7/21

HLA-Dp

Leu 10

BT 3/4 HLA-Dq

A. Piel normal no atópica

B. APD intradérmico

C. Pruebas epicutáneas

a/ Piel lesionada

b/ Piel intacta

D. Estudios con UVB

E. Piel afecta/piel no afecta

4.4. Estudio de la proteína básica mayor en cinco pacientes tras la inyección intradérmica del ácaro del polvo doméstico.

4.1. Correlación prueba de Prick y RAST

Se efectuaron las pruebas de Prick y RAST a 25 pacientes para los siguientes antígenos: APD, polen, gato, huevos, leche y trigo. El antígeno más común fue el ácaro del polvo doméstico (APD) seguido por el polen, gato, huevos, leche y trigo. (Tabla 3).

TABLA 3

	PRUEBA de PRICK										
	IV	III	II	I	0	No	+++	++	+	-	No
APD	17	2	2	-	1	3	4	16	2	2	1
POLEN	10	7	2	1	2	3	5	12	4	3	1
GATO	7	7	3	3	2	3	6	8	9	1	1
HUEVOS	3	4	5	3	4	6	-	5	6	10	4
LECHE	-	6	7	2	9	1	1	2	1	11	10
TRIGO	2	5	3	4	7	4	-	1	2	10	12

Para el APD, la mayoría de pacientes (17/25) presentaban los valores más elevados en el RAST lo que no ocurrió para la prueba de Prick (4/25). En ésta la mayoría (16/25) presentó únicamente ++.

Los valores de IgE sérica fueron > 1000 en 21 pacientes y sólo en tres estuvieron la IgE fue < 1000 .

4.1. Correlación entre la prueba de Prick y el RAST

En el eje de ordenadas se representa la distribución de los valores de RAST para cada prueba de Prick. (Tabla 4,5)

Eje de ordenadas: RAST

Eje de abscisas: Número de pacientes

Para poder observar la evolución global de estos valores de RAST se agrupan en RAST negativo (0), RAST de intensidad moderada (1,2) y RAST muy intenso (3,4).

Prick 0. Para 39 resultados de RAST a partir de siete antígenos:

- 19 con RAST negativo

- 10 con respuesta de moderada intensidad

- 10 con respuesta muy intensa

Prick +. Para 20 resultados de RAST a partir de siete antígenos:

- 3 con RAST negativo

-5 con respuesta de moderada intensidad

-12 con respuesta muy intensa

Prick ++ . Para 42 resultados de RAST a partir de siete antígenos:

-3 con RAST negativo

-12 con RAST de moderada intensidad

-28 con respuesta muy intensa

Prick +++ . Para 15 resultados de RAST a partir de siete antígenos:

-Ningún RAST negativo

-Uno con respuesta de moderada intensidad

-14 con respuesta muy intensa

En términos generales se observa el mismo comportamiento para la prueba de Prick y para el RAST.

Cuando aparece un incremento en los resultados de la prueba de Prick también se observa un aumento de intensidad moderada en los valores de RAST.

Prick 0 : 25% de resultados muy intensos de RAST

Prick + : 60% " " " " " "

Prick ++ : 67% " " " " " "

Prick +++ : 93% " " " " " "

En resumen, para Prick 0 se observa un incremento en los RAST negativos y cuando la prueba de Prick es +, ++, +++ se ve un aumento en las respuestas de moderada intensidad en la mayoría de los pacientes. En éstos se observa una tendencia al aumento de las respuestas muy intensas.

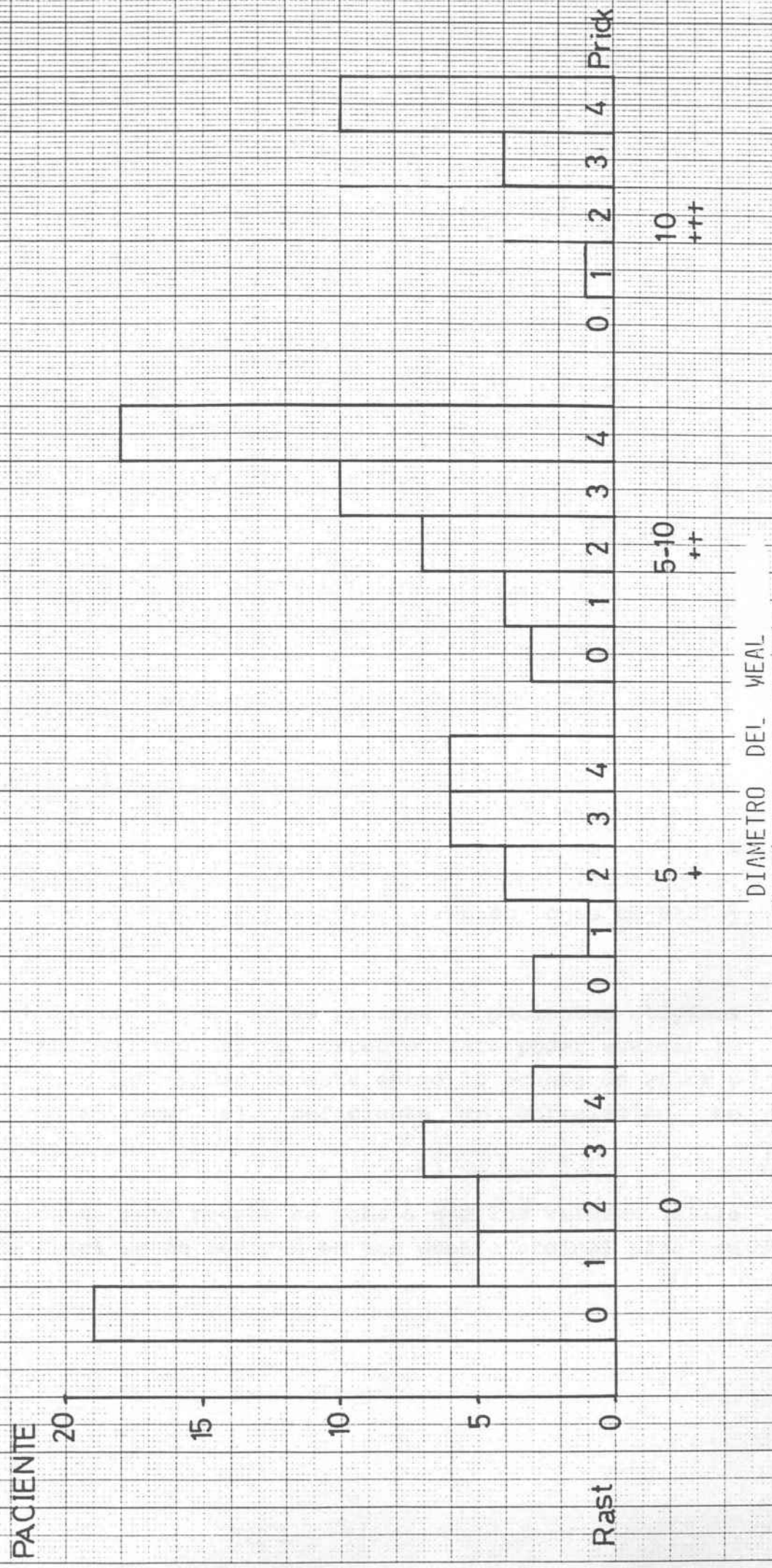
Se podría decir que existe alguna relación en la intensidad de la respuesta entre la prueba de Prick y el RAST. Pensamos que el RAST es la prueba más apropiada para medir la intensidad de la respuesta inmunológica en pacientes atópicos ya que determina claramente la cantidad de anticuerpos formados contra ciertos antígenos.

TABLA 4

Prick 0	---->	RAST 0	-->	19	pacientes
		RAST 1	-->	5	"
		RAST 2	-->	5	"
		RAST 3	-->	7	"
		RAST 4	-->	3	"
Prick + < 5	---->	RAST 0	-->	3	pacientes
		RAST 1	-->	1	"
		RAST 2	-->	4	"
		RAST 3	-->	6	"
		RAST 4	-->	6	"
Prick ++ 5-10	---->	RAST 0	-->	3	pacientes
		RAST 1	-->	4	"
		RAST 2	-->	7	"
		RAST 3	-->	10	"
		RAST 4	-->	18	"
Prick +++ > 10	---->	RAST 0	-->	-	pacientes
		RAST 1	-->	1	"
		RAST 2	-->	-	"
		RAST 3	-->	4	"
		RAST 4	-->	10	"

TABLE (5)

PRICK RAST RELACION DE 25 PACIENTES



C. Correlación de la pruebas de Prick-RAST para APD

PRICK	RAST	
	+	-
+	20	-
-	-	1
No realizado	3	1

Para los valores de Prick y de RAST, el hecho que los resultados sean positivos o negativos no tiene importancia, ya que cuando el Prick es positivo, también lo es el RAST y viceversa. (Tabla 6)

Podemos utilizar, pues, ambas pruebas en pacientes atópicos para llegar a un diagnóstico correcto. Para poder evaluar la relación y la intensidad de ésta entre la prueba de Prick y el RAST utilizando el coeficiente de correlación de Spearman.

La elección de esta prueba se debe a que los valores de la prueba de Prick están medidos en una escala ordinal para su

mejor clasificación y organización.

$$rs = 1 - \frac{6 \sum d^2}{n(n^2 - 1)}$$

donde

rs = coeficiente de correlación ordinal;

d = el grado de diferencia entre las observaciones de cada persona, y

n = tamaño de la muestra a estudio

La discusión y la correlación se han realizado basándose en las tablas de significación del coeficiente de Spearman (Hollander y Wolfe, 1973)

El rs= 0,5485

Existe una correlación positiva entre la prueba de Prick y el RAST ($p < 0,01$) para el APD. Cuando los valores de Prick aumentan, también lo hacen los del RAST.

A. Estudio de la inyección intradérmica de ácaro del polvo doméstico

La mayoría de los pacientes presentaron niveles de IgE sérica = 1000 con los valores más altos en la prueba del RAST para el ácaro del polvo doméstico y el polen de mezcla de hierbas.

Los valores de habón para la prueba de Prick se sitúan entre 5 y 10 cm 0 =10 cm. Los valores control están dentro de los límites normales.

B. Estudios del ácaro del polvo doméstico en las pruebas epicutáneas

En todos los pacientes (excepto dos) la IgE sérica es = 1000.

Los valores en la prueba del RAST son los más altos con una medida de habón (en la prueba de Prick) de 5 a 10 cm de diámetro.

C. Estudios con UVB

En la mayoría de los pacientes, los valores de la IgE sérica son cercanos a 1000. Los valores en la prueba del RAST en casi todos los casos son el máximo con mediciones de habón para la prueba de Prick de unos 5 cm de diámetro.

D. Piel afecta y piel no afecta

Todos los pacientes presentan valores de IgE sérica = 1000. En casi todos ellos, la prueba del RAST muestra valores máximos para el APD y las mediciones del habón en la prueba de Prick son de alrededor de 5 cm de diámetro.

Conclusión

En nuestros 25 pacientes afectados de DA el antígeno del APD fue el más común en desarrollar respuesta inmunológica.

4.2. Examen al microscopio óptico de los cortes embebidos en formol.

a. APD intradérmico

H y E -Existe un incremento de mastocitos a las 24 horas.
 -Se aprecia gran incremento de eosinófilos a las 8 horas con un descenso rápido a las 24h.

Azul de toluidina -Incremento moderado de los mastocitos a las 8 horas con un descenso a las 48 horas.

 -Incremento moderado de eosinófilos a las 8 horas con un descenso a las 24 horas.

Giemsa -Incremento rápido de mastocitos a las 8 horas con descenso moderado a las 24 y 48 horas.

-Incremento moderado de eosinófilos a las 8 horas con un descenso a las 24 horas.

Conclusión: Se aprecia a las 8 horas un incremento de mastocitos y eosinófilos demostrado mediante tres tinciones especiales, con un descenso a las 24 y 48 horas.

Es difícil evaluar los valores de basófilos en los tejidos.

b. APD-Pruebas epicutáneas

H y E -Difícil de valorar.

Azul de toluidina -Descenso de los mastocitos a las 8 horas con una recuperación moderada a las 24 y 48 horas.

Giemsa -Difícil de valorar.

c. Estudios con UVB

H y E -Descenso de los mastocitos después de la irradiación con UVB.

Azul de toluidina -Incremento de los mastocitos después de la irradiación UVB

ESTUDIO INTRADERMICO DEL APC

tiempo	paciente	H & E			GIEMSA			TOLUIDINA AZUL		
		m	e	b	m	e	b	m	e	b
0	BS	2	N	N	19			2	2	N
	DG	N	N	N	11					
	IU							14	1	N
	DK	9	N	N				4	N	N
	JC	N	2	N	1			13	1	
8	BS	15	23	N	34	43	4	11	2	N
	DG	2	3	N				3	1	N
	IU	N	5	N	25	N	155	8	1	
	DK	1	20	1	10	N	N	15	5	
	JC	N	36	N	39	28	1	25	5	
24	BS	5	2		18	20	2	6	5	1
	DG	24	25					3	1	1
	IU	7	9	N	26	1	N	16		
	DK	4	4	1	9	N	N	15	1	
	JC	N	3	N	12	N	N	18	N	N
48	BS	4	2	N	10	35	1	3		
	DG	6	5	N	16	21	1	12		
	IU		8		9			12		
	DK	25	1	N	9	N	N	10		
	JC	N	1	N	5	N	N	3	1	N

ESTUDIO DEL PARCHÉ DEL APC

tiempo	paciente	H & E			GIEMSA			TOLUIDINA AZUL		
		m	e	b	m	e	b	m	e	b
0	IU				26	N	N	11	N	N
	II	10	6	N				16		
	RA	9	1	N				35	N	N
	IP	12						30	N	N
	SJ	6	1					33	N	N
8	IU	2	N	N				16	N	N
	II	10	1	N				11	N	N
	RA	9	7	N				15	N	N
	IP	6						24	N	N
	IU	2	N	N	17	N	N	13	N	N
24	II	20	7	N				25		
	RA	5	N	N				20	N	N
	IU	2	N	N				18		
	II	10	N	N	19	N	N	34	N	N
	RA	8	N	N				20	N	N
48	SJ	6	1					33		
	SJ	4	1					33	N	N

ESTUDIO DEL UV3

tiempo	paciente	H & E			TOLUIDINA AZUL		
		m	e	b	m	e	b
PRE	JN	35	3	N	9	N	N
	GT	1	1	N	6	N	N
POST	JN	14	4	N	28		
	GT	3	1	N	6	N	N
	R3	9	1	N	15	N	N

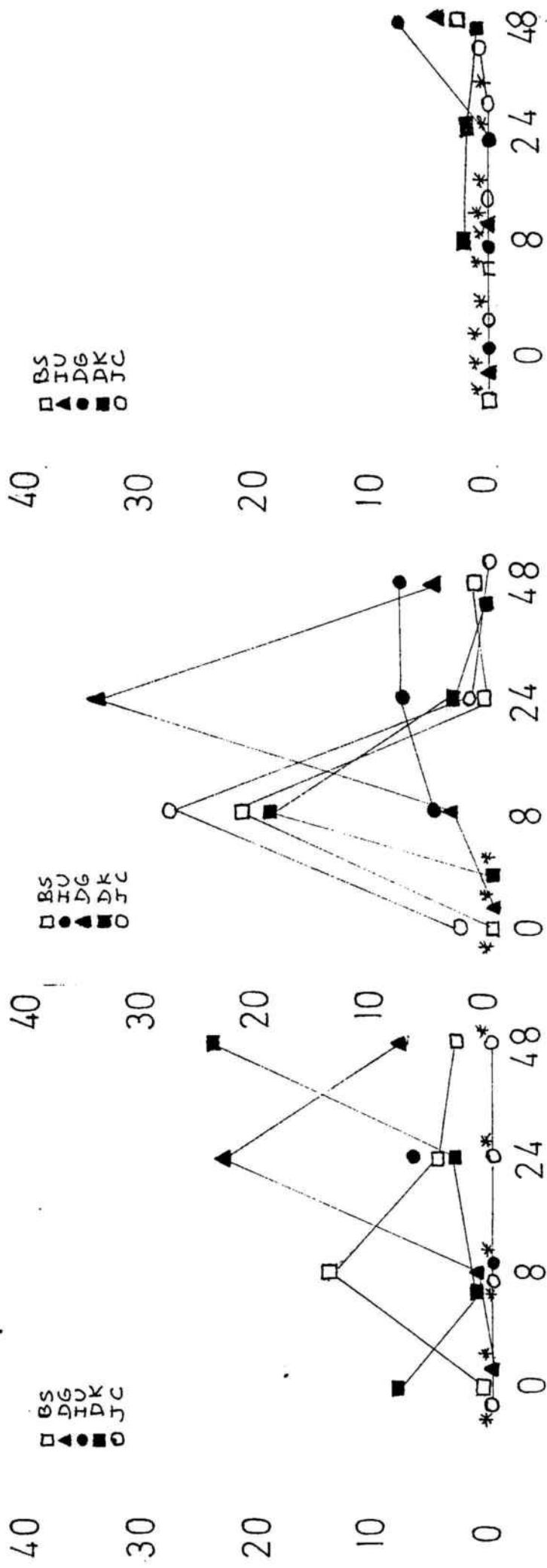
TA3LA (8)

H & E

MAST cells

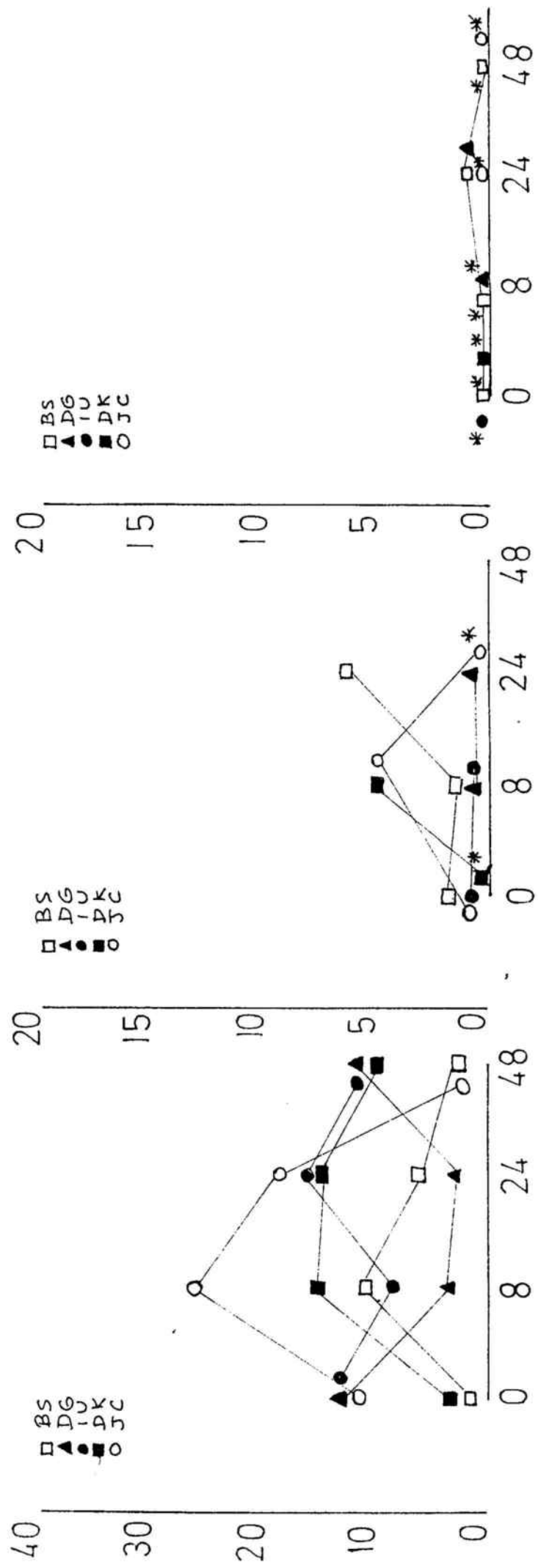
E cells

3 cells



TOLUIDINA AZUL

MAST⁺cells /grat x 10⁻⁶ E cells B cells

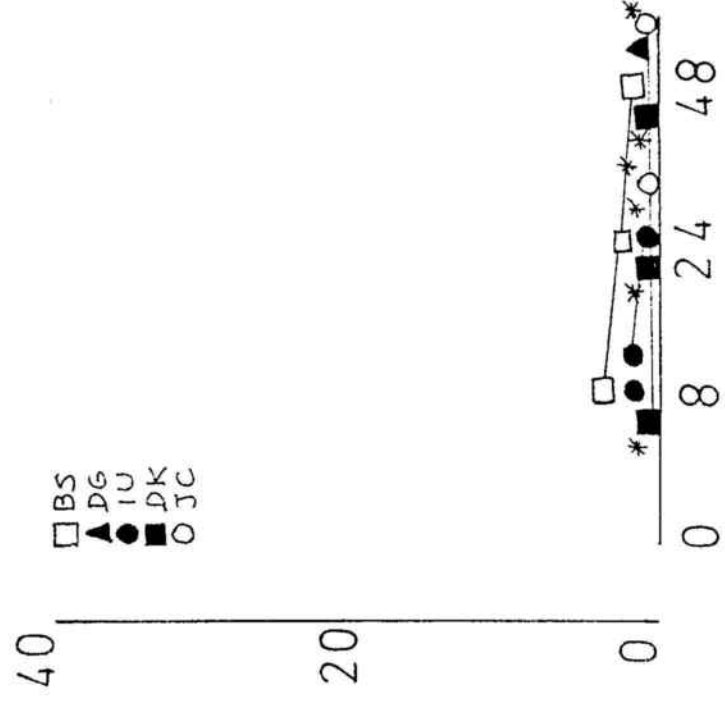
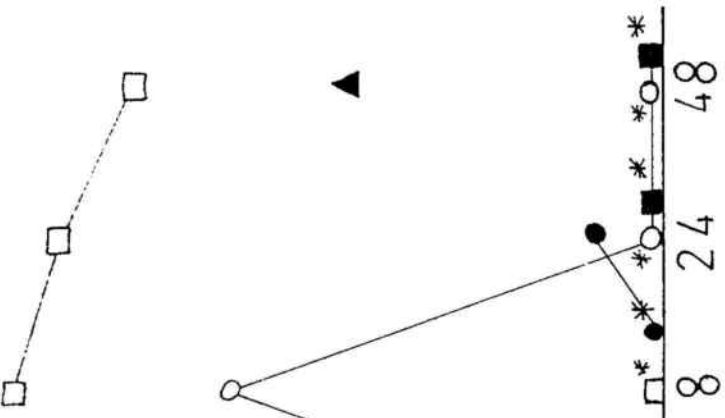
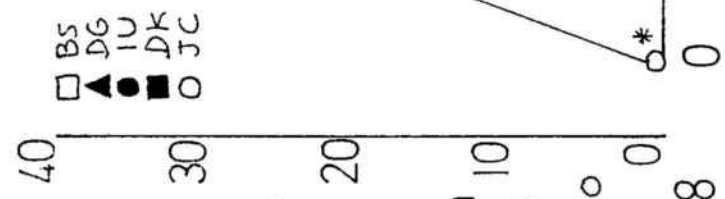
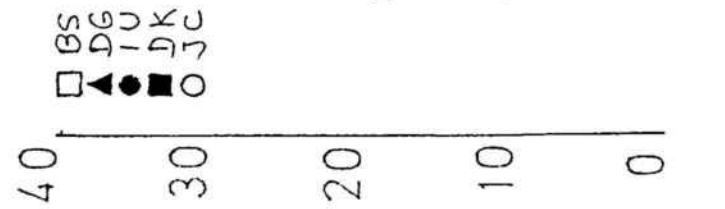


GIEMSA

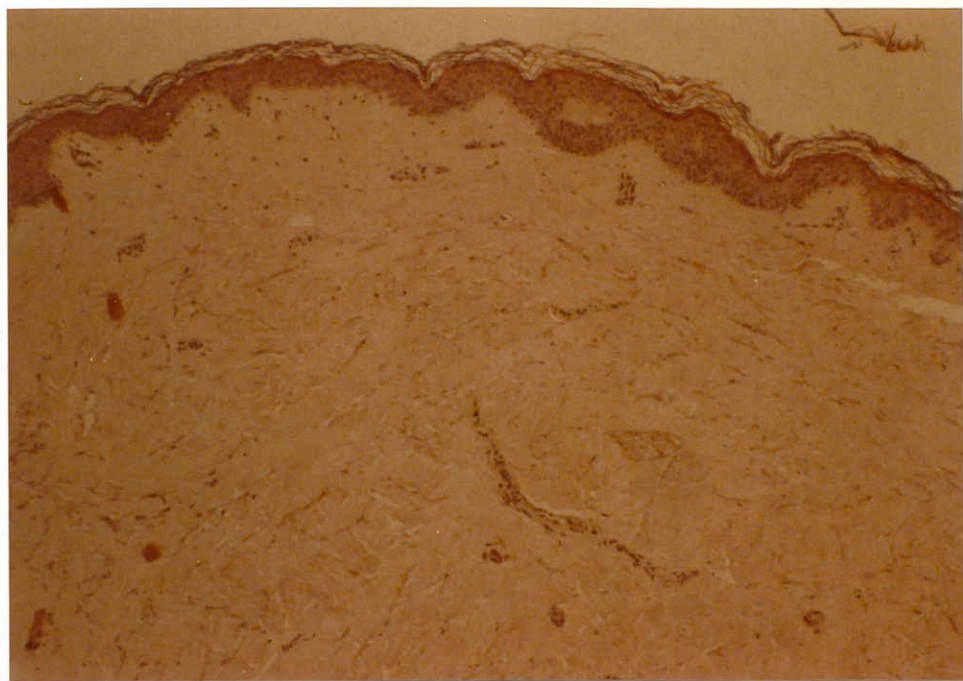
M c e l s

E c e l s

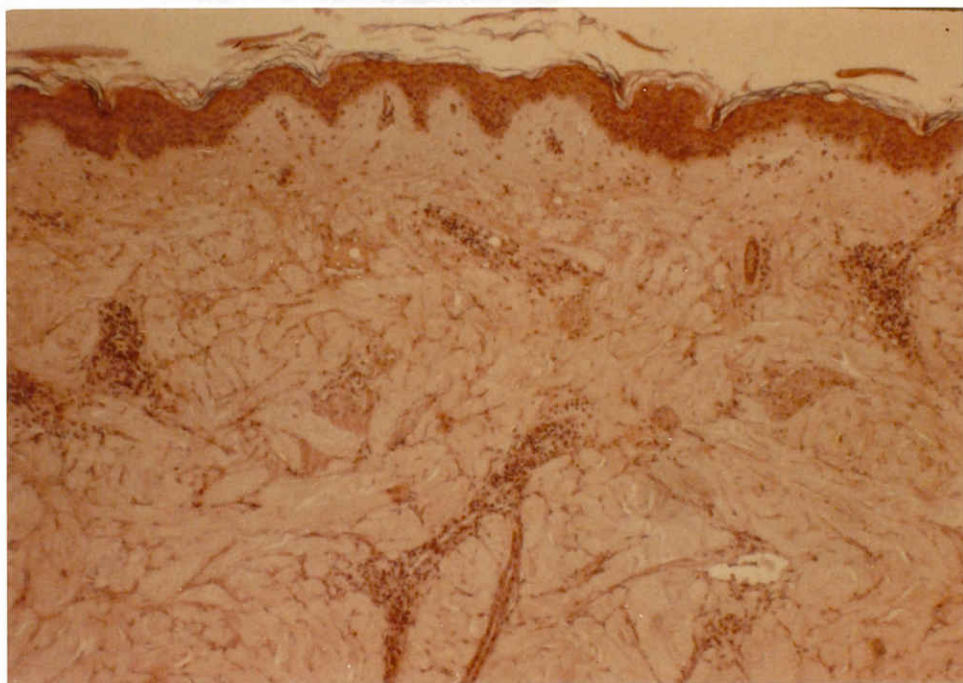
3 c e l s



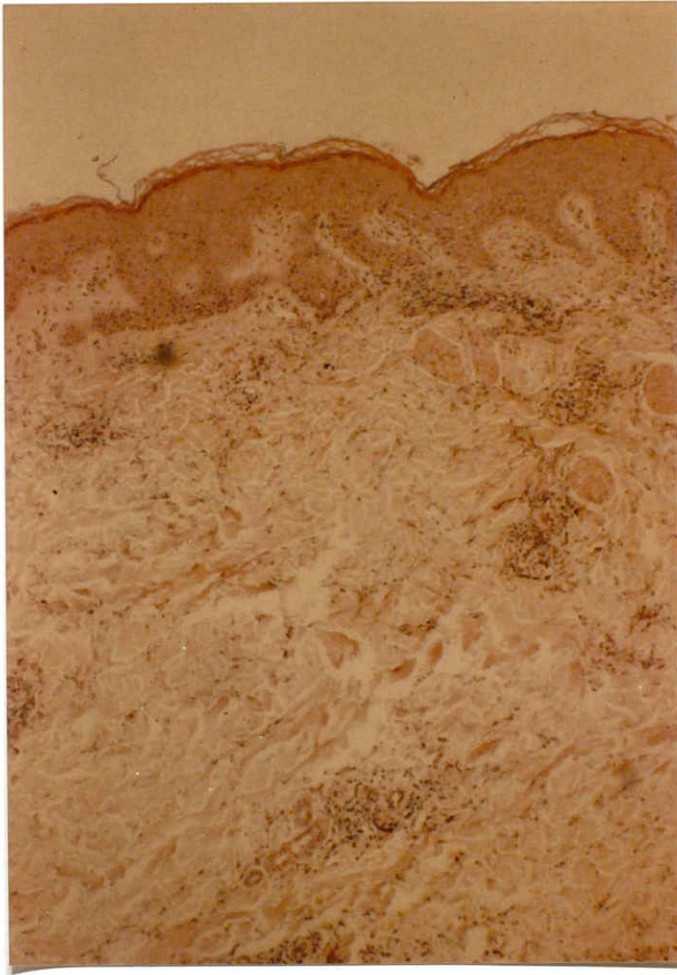
TIEMPO EN HORAS



PIEL NORMAL EN PACIENTE ATOPICO CONTROL (X4)

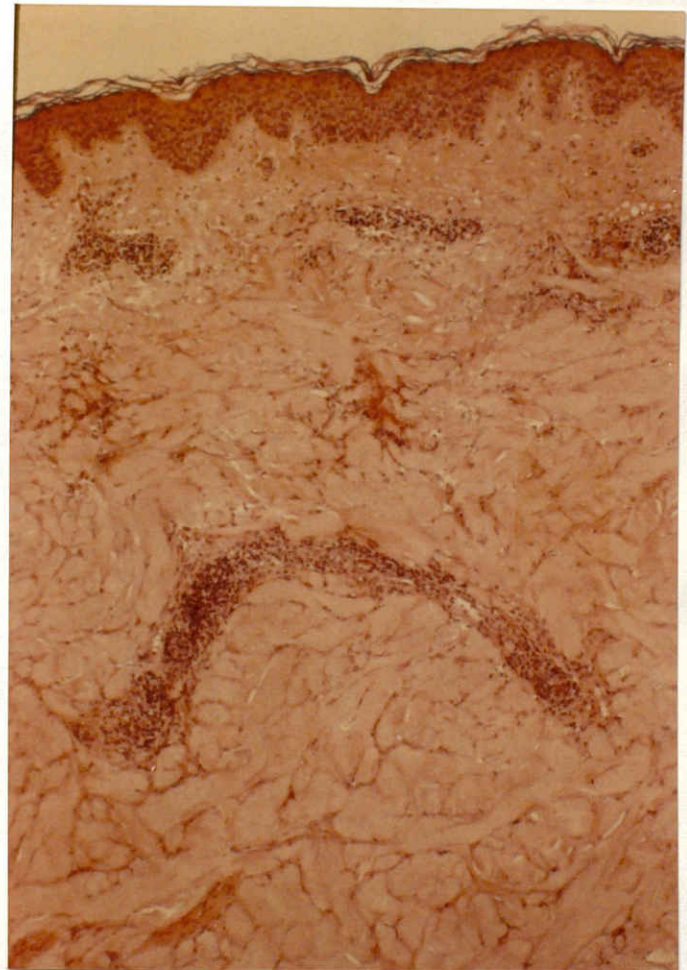


RESPUESTA A LAS 8H. TRAS LA INYECCION DEL ACARO POLVO DOMESTICO INTRADERMICO (X4)



RESPUESTA A LAS 24H. TRAS
LA INYECCION INTRADERMICA
DEL ACARO POLVO
DOMESTICO (X4)

RESPUESTA A LAS 48H. TRAS
LA INYECCION INTREDERMICA
DEL ACARO POLVO
DOMESTICO (X4)

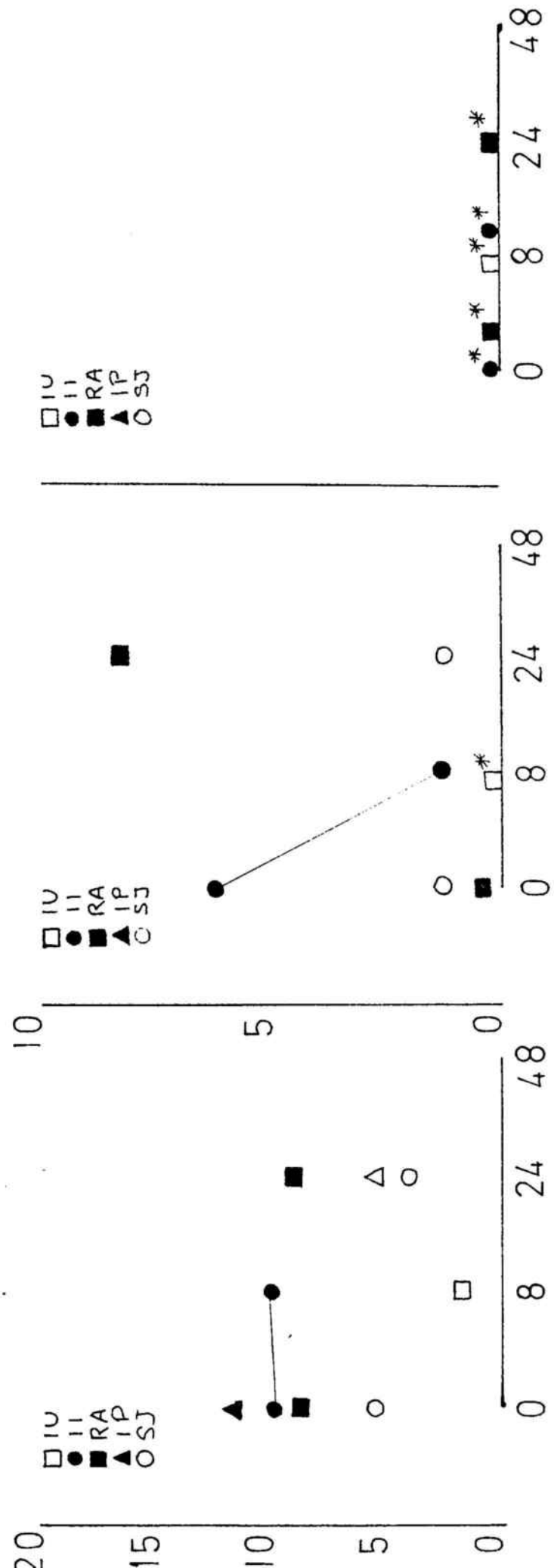


H&E

M cells

E cells

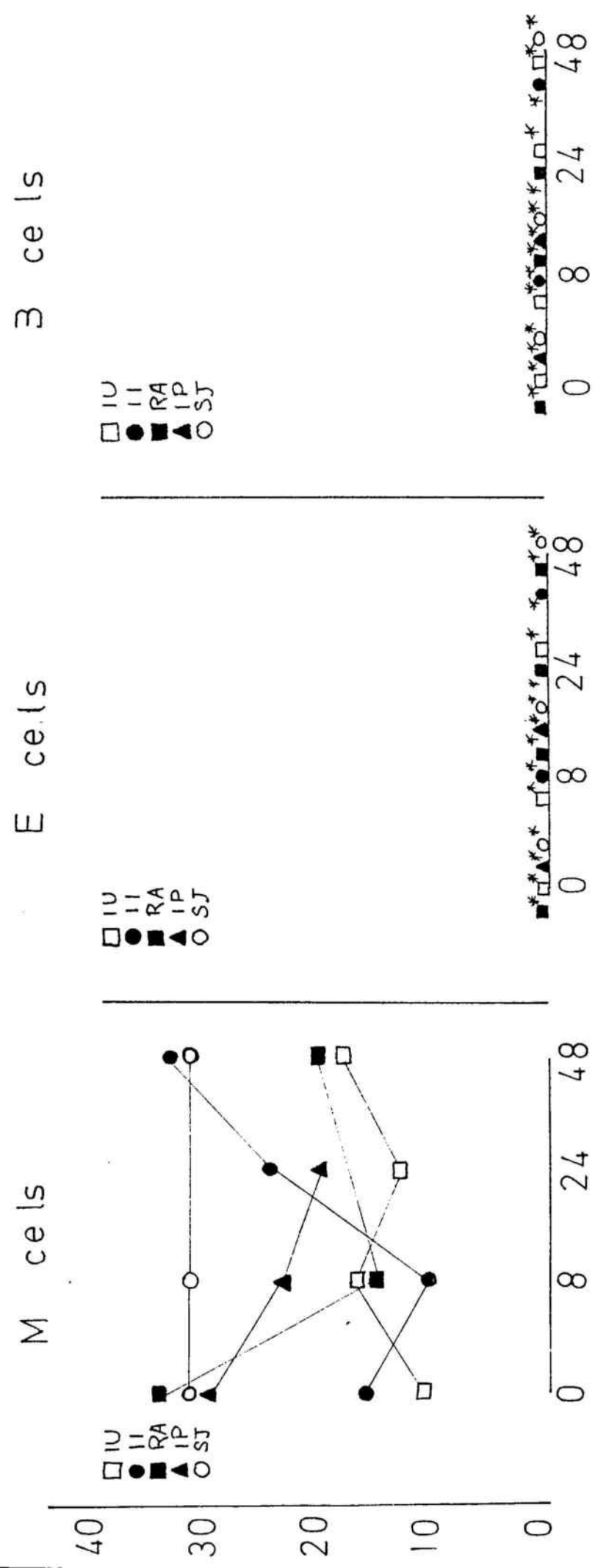
3 cells



TIEMPO EN HORAS

TABLE A (12)

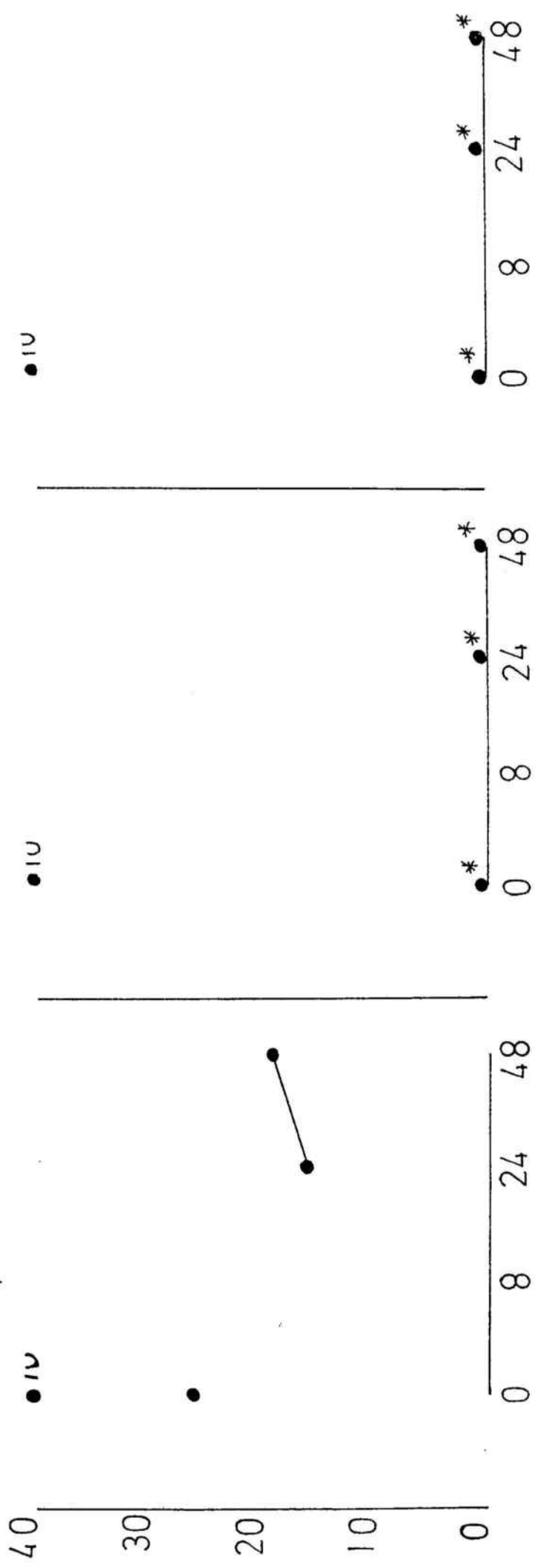
TOLUIDINA AZUL



TIEMPO EN HORAS

TA3LA (13)

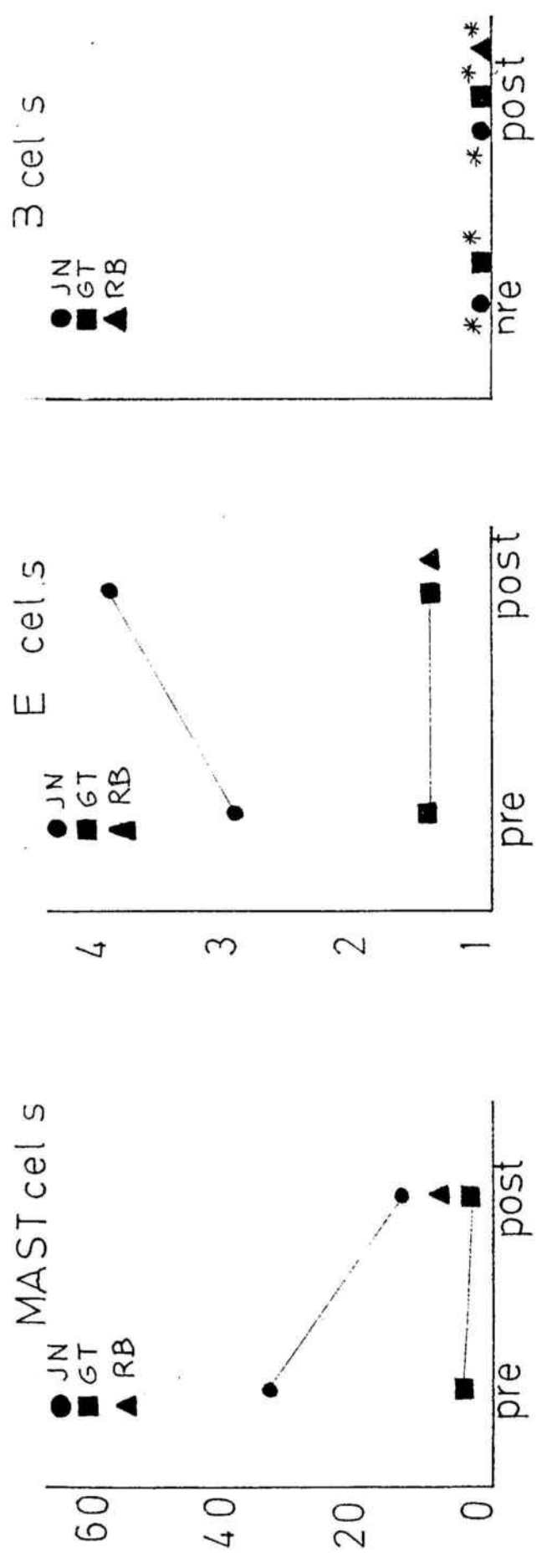
M cels E cels GIEMSA 3 cels



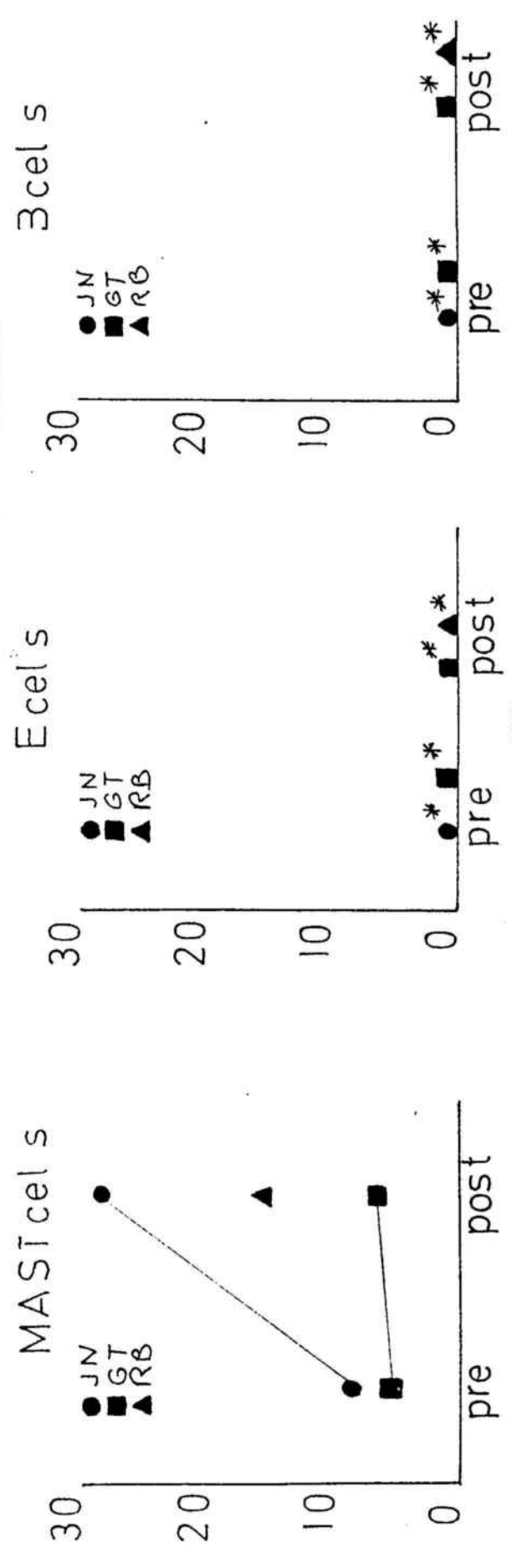
TIEMPO EN HORAS

TABLA (14) HISTOLOGIA DEL ESTUDIO DE UVB

H&E



ESTUDIO DE UVB TOLUIDINA AZUL



4.3. Valores con la técnica de la inmunoperoxidasa

A. Piel normal de pacientes no atópicos

(CD1a) Leu T6. Incremento moderado en la epidermis con valores más bajos en la dermis.

(CD8-CD4) Leu 2A-3A. No se aprecia alteración en los valores T helper/T supresores.

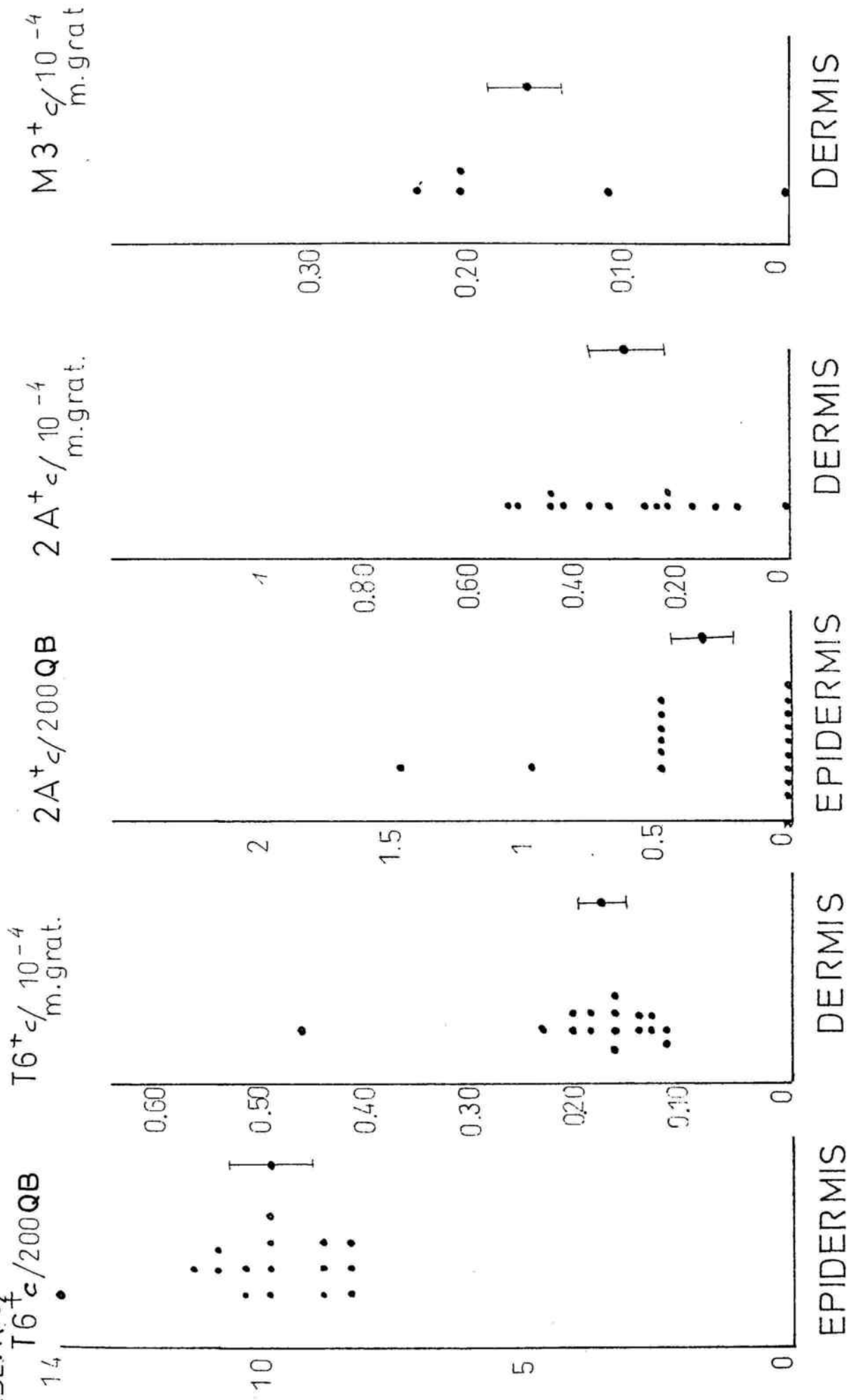
CD14 M3. Incremento moderado en los valores de la dermis.

HLA-DR. Incremento moderado en los valores de la epidermis.

TA3LA (15)

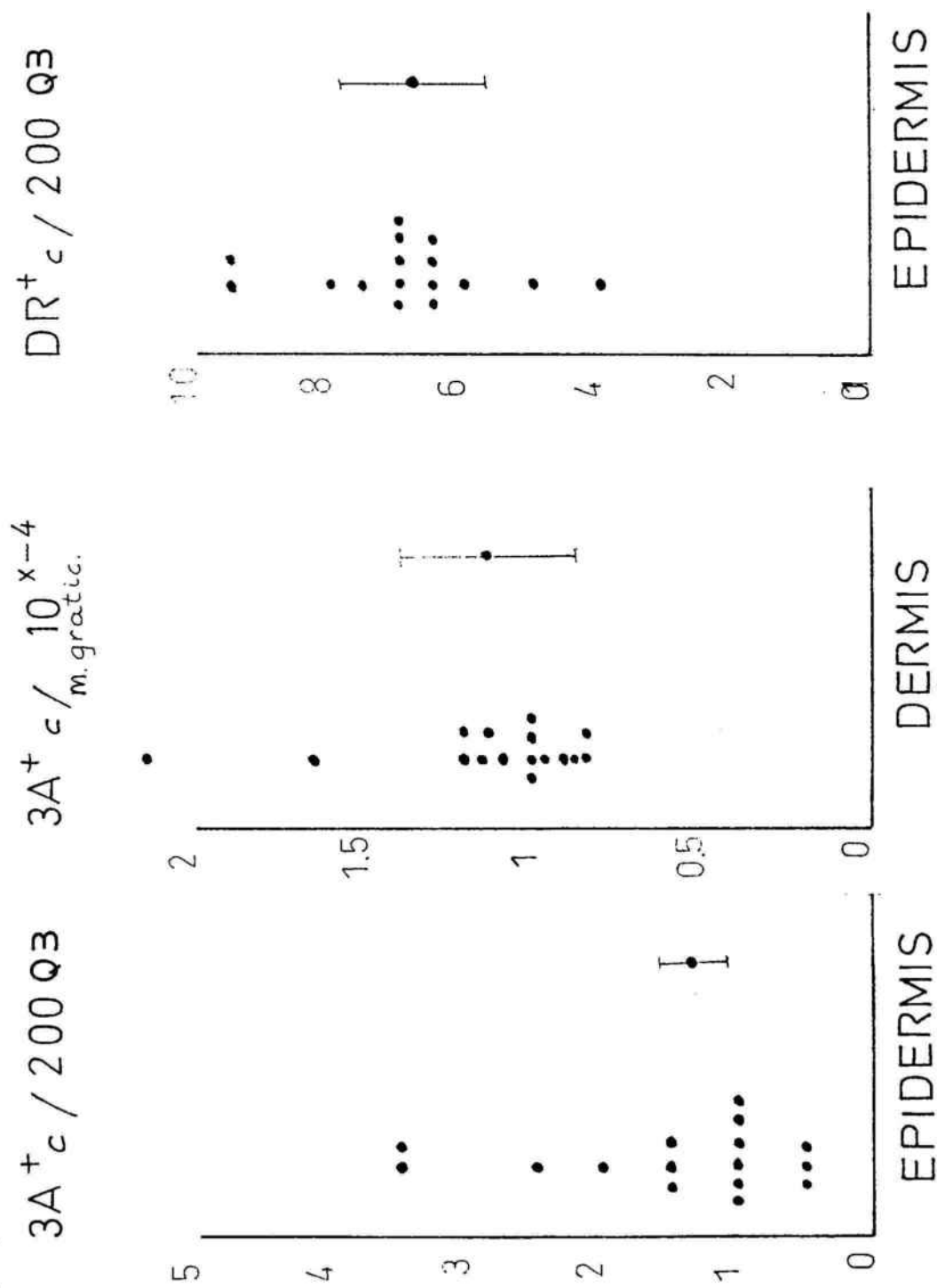
EPIDERMIS 200 QB				DERMIS 10 ^{x-4}										
N° DE CELS / 200				N° DE CELS / MM ² x 10 ⁻⁴										
Q.EPidermicos Basales(media±sem)				(media±sem)										
T6	2A	3A	DR	T6	2A	3A	M3							
11	10	0.5	0	3.5	3.5	7	7	0.14	0.12	0.46	0.10	1.06	1.04	0.21
9	13	0	0	1	1	8	65	0.21	0.17	0.24	0.19	0.42	1.04	0.12
10.5	8.5	0.5	0.5	2.5	1	7	9.5	0.21	0.14	0.25	0.24	0.95	1.32	0.24
11	9	0	0	0.5	1	6.5	7	0.17	0.17	0.35	0.54	1.31	0.88	0.21
10.5	10.5	0.5	0.5	1	0.5	7	6	0.15	0.19	0.39	0.44	1.17	0.85	0.07
8.5	10.5	0	0.5	1.5	0.5	6.5	6.5	0.17	0.12	0.46	0.08	1.11	1.04	
8.5	10.5	1	0	1.5	1	5	9.5	0.23	0.19	0.46	0.14	0.85	1.15	
10	9	1.5	0	2	1.5	7.5	4	0.47	0.14	0.53	0.26	2.18	1.55	
10±0.31	0.34±0.11	14.7±0.24	6.90±0.29	0.18±0.02	0.32±0.03	1.15±0.08	0.17±0.03							

TA3LA(16)

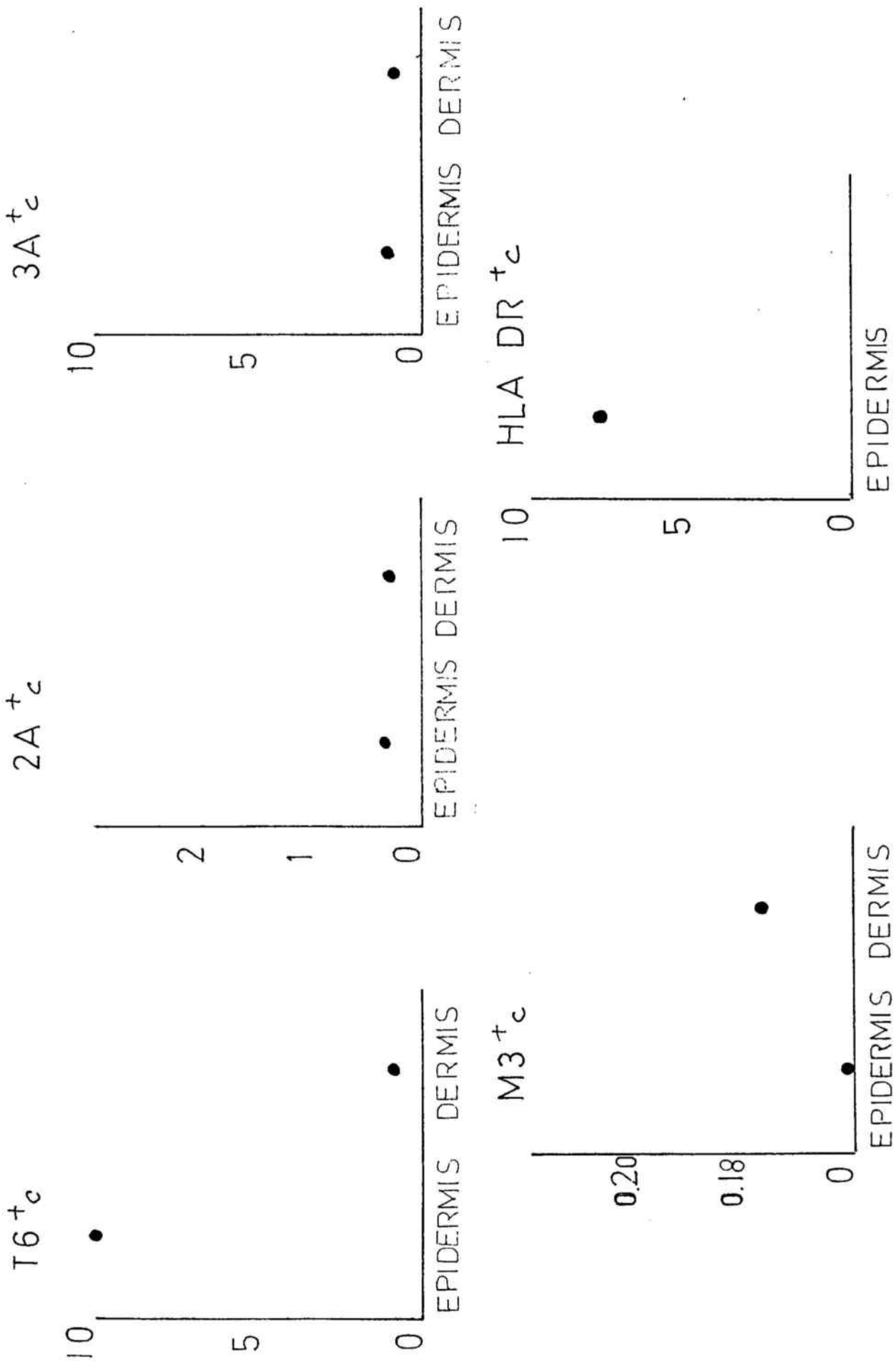


PIEL NORMAL NO ATOPICA

TA3LA(17)



TA3LA(18)



B. Estudio en el APD intradérmico

(CD1a) Leu T6.	Se aprecia incremento de las células de Langerhans tanto dérmicas como epidérmicas a las 8, 24 y 48 horas.
(CD8) Leu 2A.	Se aprecia un incremento de las células T supresoras de la epidermis y la dermis A las 8 y 24 horas con un descenso moderado en la dermis a las 48 horas.
(CD4) Leu 3A	Se aprecia un incremento de las células T <u>helper</u> en la epidermis y en la dermis a las 8 y 24 horas con un descenso a las 48 horas en la epidermis y lo contrario en la dermis.
CD14 M3.	Se aprecia un incremento tanto en epidermis con en la dermis a las 8 y 24 horas con un descenso a las 48 horas en la epidermis y variable en la dermis.
HLA-Dr.	Incremento de células Dr positivas a las 8-24 y 48 horas.
HLA-Dp.	Incremento de células Dp positivas a las 8, 24 y 48 horas.
HLA-Dq (leu 10).	Incremento de células Dq positivas a las 8, 24 y 48 horas.

APD		horas		
		8h	24h	48h
(CD1 _a)	T6	↑↑	↑↑	↑↑
(CD8)	2A	↑↑	↑↑	-↓
(CD4)	3A	↑↑	↑↑	-↓
	M3	↑↑	↑↑	↑-
	Dr	↑	↑	↑
	Dp	↑	↑	↑
(Leu 10)	Dq	↑	↑	↑

Conclusión

Se aprecia un incremento de las células T6+, linfocitos T helper, linfocitos T supresores, macrófagos y de las células Dr, Dp, Dq (leu 10) de la clase II a las 8 y 24 horas con un incremento de células T6+ y células de clase II.

TABLA (19)

ESTUDIO INTRADERMICO DEL APC

TIEMPO EN HORAS	PACIENTE	BIOPS N°	N° de cels / 100epidermicas queratinocitos basales $\bar{x} \pm$ sem				n° de cels / mm ² x 10 ⁴ dermis media $\pm$ sem			
0	3 S	AD 63	36.9±2.22	1.44±0.09	6.86±4.7	NF	1.0±0.8	117±0.11	3.9±0.5	1.97±0.9
	DG	AD 67	26.69±3.33	6.82±1.61	7.07±3.7	NF	1.11±0.18	0.69±0.01	1.09±0.42	1.65±0.79
	I U	AD 72	17.16±1.98	NF	NF	NF	1.1±0.09	0.15±0.06	0.54±0.46	0.68±0.14
	DK	AD 76	31.27±2.67	5.14±1.3	2.4±2.4	NF	2.02±0.11	1.78±0.24	2.2±0.35	1.69±0.29
	J C	AD 80	35.27±3.51	NF	NF	NF	2.85±0.89	1.30±0.14	1.87±0.35	1.96±0.68
8	3 S	AD 60	33.56±0.35	7.78±2.87	10.65±1.64	6.34±3	1.56±0.3	1.51±0.04	3.34±0.21	10.05±0.9
	DG	AD 64	40.06±1.52	1.98±0.33	3.45 ±0.39	12.6±0.12	0.76±0.7	0.97±0.3	3.82±0.78	4.74±0.73
	I U	A D 73	30.85±3.8	NF	NF	NF	0.93±0.08	0.48±0.18	0.48±0.18	3 ± 0.69
	DK	A D 77	32.59±3.54	3.30 ± 3	7.19 ±0.98	NF	1.51±0.2	5.34±2.04	5.66±0.07	5.74±0.77
	J C	A D 81	52.27±4.73	11.44±1.9	95.0 ±2.4	NF	3.69±0.02	1.77±0.23	4.44 ±1.19	3.77±0.5

NF : no localizado

TABLA(20)

ESTUDIO INTRADERMICO DEL APC

ESTUDIO INTRADERMICO DEL APC			ANTIQUERPOS MONOCLONALES														
TIEMPO EN HORAS	PACIENTE	BIOPS N°	T	6	2	A	3	A	M	3	N° de cels. /mm x10 ⁻⁴ dermismedia±sem						
			N°de cels. /100 epidermal media Queratinocitos basales ± sem						T	6	2	A	3	A	M	3	
24	BS	AD 61	45.56±4.5	8.16±3.5	19.25±3.3	11.13 ± 4					2.48±0.19	2.71±0.56	7.52±1.48	4.25±1.06			
	DG	AD 65	47.77±3.85	6.8 ± 2.65	25.93±1.8	1.79± 0.1					4.08±0.27	3.39±1.83	12.4±0.35	4.69±0.68			
	IU	AD 74	30.01±1.92	NF	NF	NF					0.67±0.1	1.21±0.28	2.02±0.04	3.98±0.42			
	DK	AD 78	35.92±3.22	17.00±4.8	7.16 ±1.4	10.74±4.2					0.67±0.21	2.59±0.85	1.02±0.14	2.92±1.19			
	JC	AD 82	61.63±4.83	13.26±3.2	22.60±6.8	13.63±1					4.71±0.41	2.28±0.34	6.69±0.35	4.38±0.15			
48	BS	AD 62	62.62±2.18	21.6±1.78	18.8±4.3	3.04±1.5					4.06±0.16	1.94±0.17	10.49±0.77	5.54±0.49			
	DG	AD 66	38.93±2.28	6.77±1.10	16.78±3.8	5.20±1.6					4.23±0.29	1.06±0.4	7.34±1.78	2.54±0.66			
	IU	AD 75	27.62±3.07	NF	NF	NF					0.68±0.08	0.62±0.15	3.18±0.16	1.3±0.09			
	DK	AD 79	3.76±2.7	7.72±2.3	NF	6.15±2.7					0.97±0.07	3.46±0.56	1.73±0.32	7.83±0.58			
	JC	AD 83	54.21±4.14	19.95±3.2	18.57±3.5	4.39 ± 4					3.73±0.36	1.48±0.42	7.5 ±1.53	4.20±1.28			

NF : no localizado

TABLA(21)

ESTUDIO INTRADERMICO DEL APC				ANTICUERPOS MONOCLONALES			
TIEMPO EN HORAS	PACIENTE	BIOPS N°	DR	DP	DQ (Leu 10)	DQ (B 734)	
0	B S	A D 63	16.6±2.1	16.6±1.20	14.70±2.5	NF	
	D G	A D 67	13.31±4.4	10.4±1.8	15.15±1.4	NF	
	I U	A D 72	17.54±2.3		8.33±1.19	NF	
	D K	A D 76	25.66±6.5	3.15 ± 0	21.19±6.7	22.77±5.2	
	J C	A D 80	12.34±2.9	3.14±0.9	NF	8.89±5.4	
8	B S	A D 60	28.95±0.56	15.54±4.95	26.38±2.5	9.53±9.5	
	D G	A D 64	22.11±0.99	16.16±2.70	17.17±2.97	NF	
	I U	A D 73	5.61±1.27	5.54±2.4		NF	
	D K	A D 77	24.9±9.02	18.83±4.46	20.98±0.89	16.22± 5.2	
	J C	A D 81	17.18± 2	14.6±1.06	18.49±4.3	32.29±4.8	

NF : no localizado

TABLA (22)

ESTUDIO INTRADERMICO DEL APC			ANTICUERPOS MONOCLONALES			
TIEMPO EN HORAS	PACIENTE	BIOPS N°	DR	DP	DQ	DQ
24	B S	AD 61	N° de cels. / 100 epidermicas media Queratinocitos basales λ -sem			
	DG	AD 65	39.01 $\pm$ 4.90	26.13 $\pm$ 4	26 $\pm$ 2.3	NF
	I U	AD 74	17.64 $\pm$ 3.3	21.40 $\pm$ 7.6	17.93 $\pm$ 1.3	NF
	DK	AD 78	8.44 $\pm$ 4.2	10.64 $\pm$ 1.5	12.38 $\pm$ 2.7	20.96 $\pm$ 3.73
	J C	AD 82	26.42 $\pm$ 5.2	31.77 $\pm$ 1.3	19.16 $\pm$ 6.10	14.97 $\pm$ 4
	B S	AD 62	52.42 $\pm$ 17.8	16.08 $\pm$ 3.9	33.14 $\pm$ 3.6	27.96 $\pm$ 8.2
48	DG	AD 66	41.6 $\pm$ 3.8	39.9 $\pm$ 7.3	37.69 $\pm$ 8.05	NF
	I U	AD 75	29.4 $\pm$ 5.6	22.30 $\pm$ 10.8	24.5 $\pm$ 3.8	0.82 $\pm$ 0.8
	DK	AD 79	31.74 $\pm$ 0.7	6.83 $\pm$ 4.7	9.35 $\pm$ 0.16	3.74 $\pm$ 2.09
	J C	AD 83	19.33 $\pm$ 1.72	12.54 $\pm$ 0.7	12.25 $\pm$ 3.0	16.76 $\pm$ 8.8
			34.76 $\pm$ 11.6	19.76 $\pm$ 0.9	20.80 $\pm$ 1.41	31.04 $\pm$ 9.9

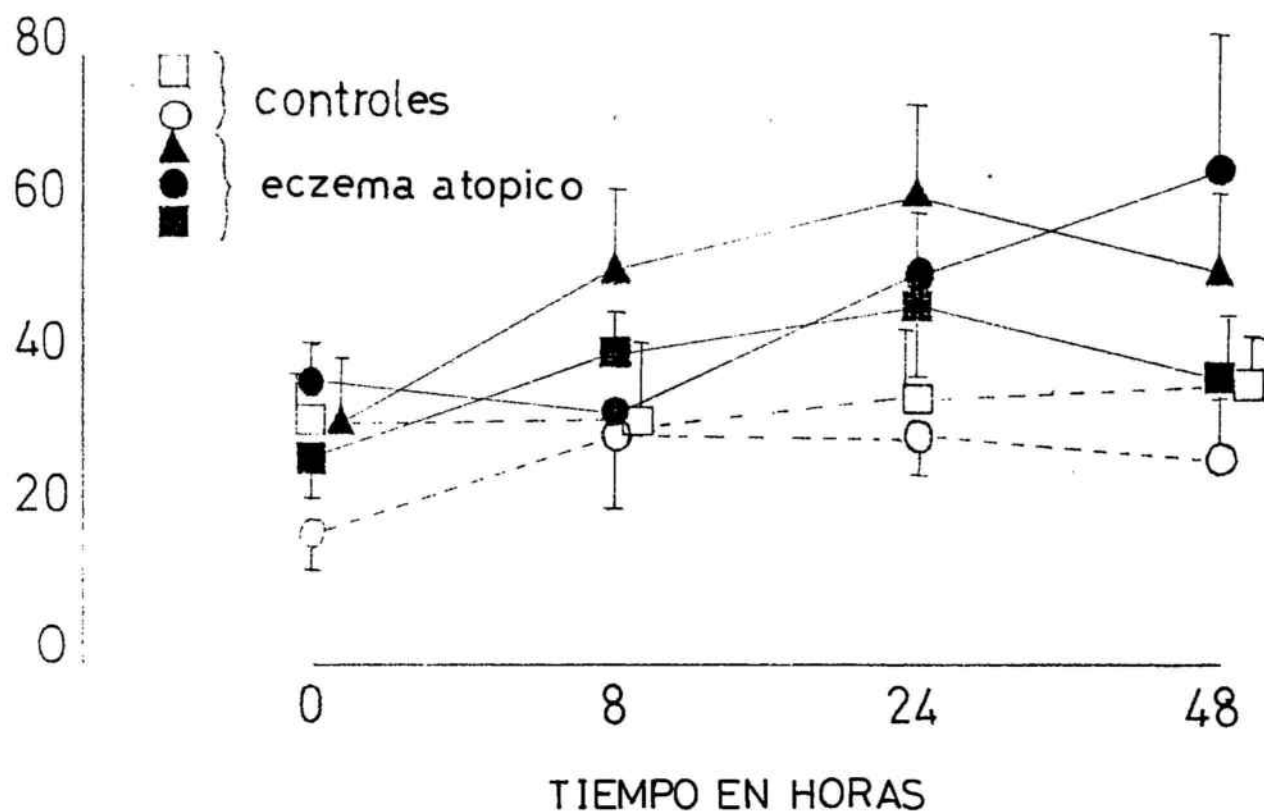
NF : no localizado

TABLA(23)

ESTUDIO INTRADERMICO DEL APC

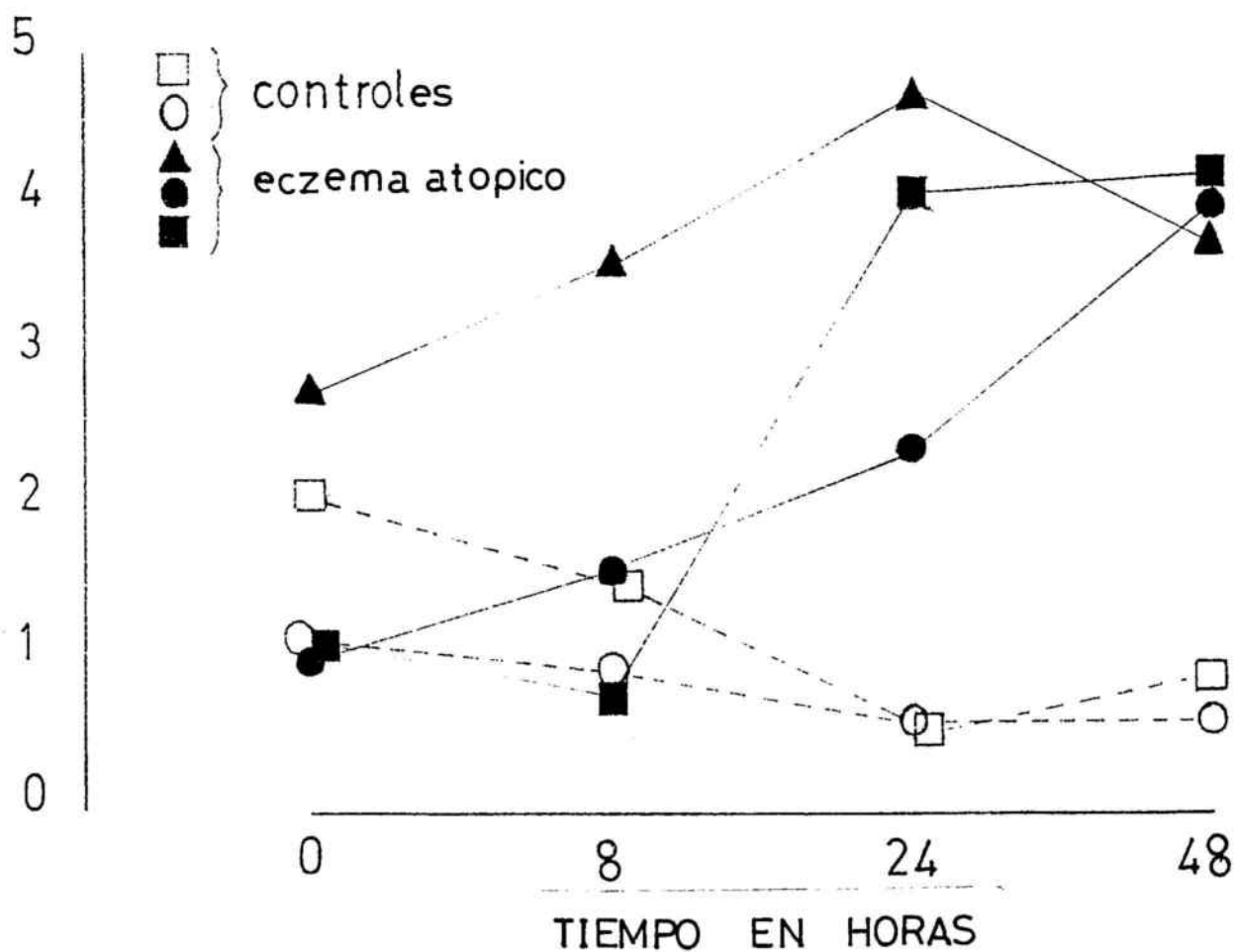
T6⁺ CELS. / 100QUERATINOCITOS BASALES

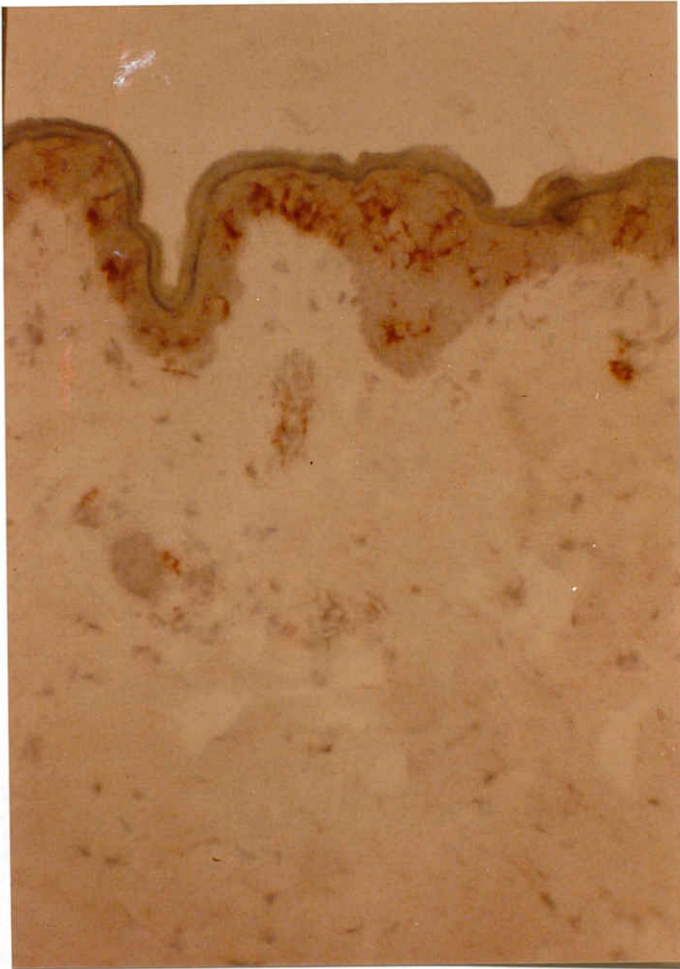
EPIDERMIS



T6⁺ CELS. / mm² x 10⁻⁴

DERMIS





CELULAS CD1(+) -
CONTROL (X10)

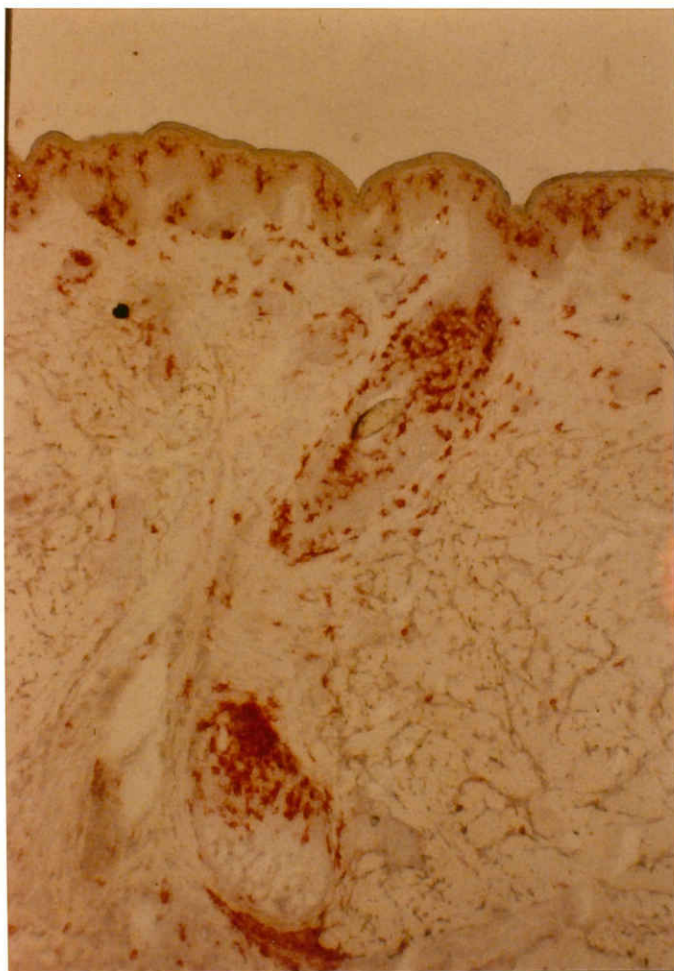
CELULA CD1(+) A LAS 8H.
TRAS LA INYECCION INTRADERMICA
TRAS LA INYECCION DEL ACARO
POLVO DOMESTICO (X10)





CELULA CD1(+) A LAS 24H
 TRAS LA INYECCION
 INTRADERMICA DEL ACARO
 POLVO DOMESTICO (X4)

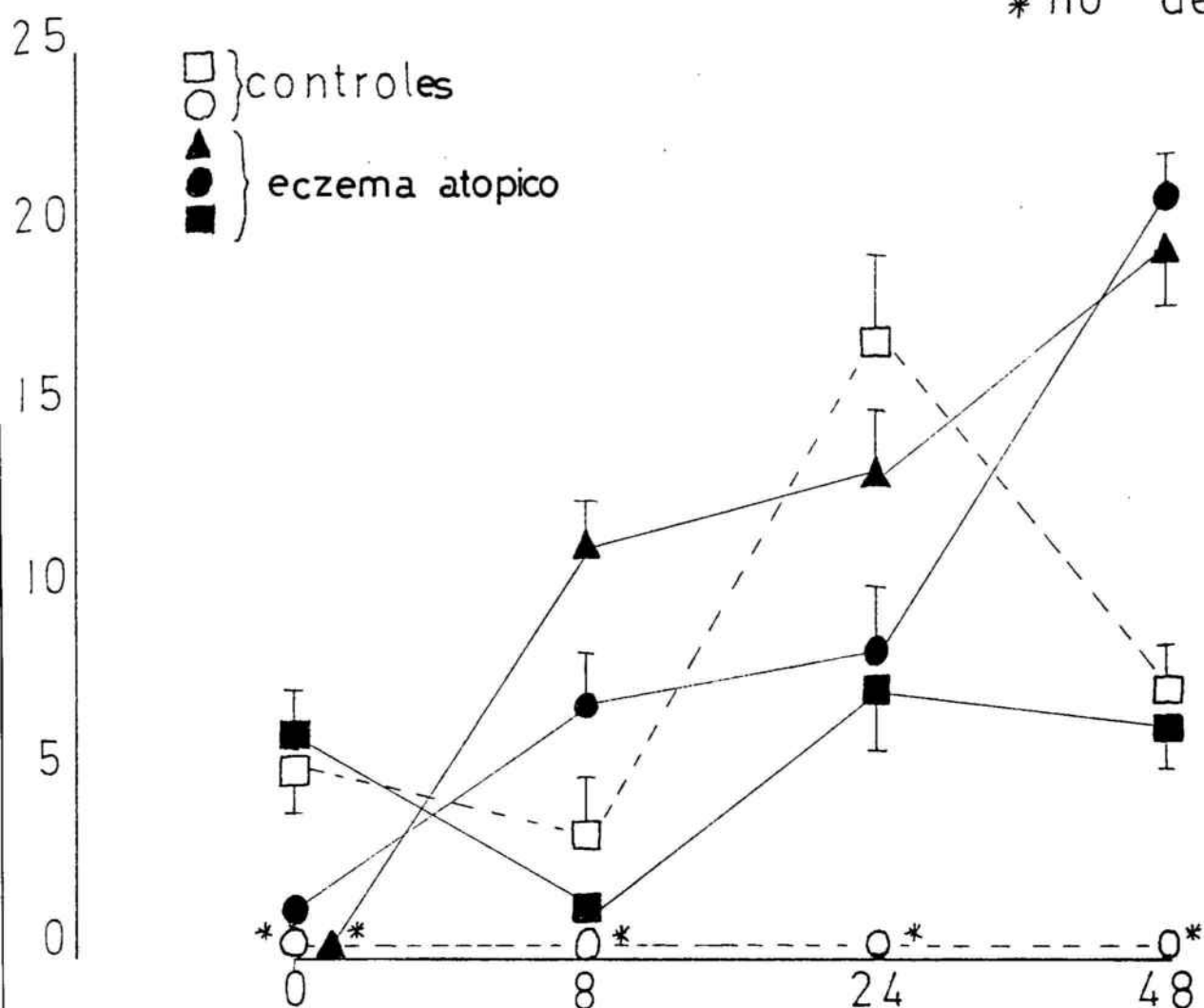
CELULA CD1(+) A LAS 48h. TRAS
 LA INYECCION INTRADERMICA DEL
 ACARO POLVO DOMESTICO (X4)



2A⁺ CELS. / Q3

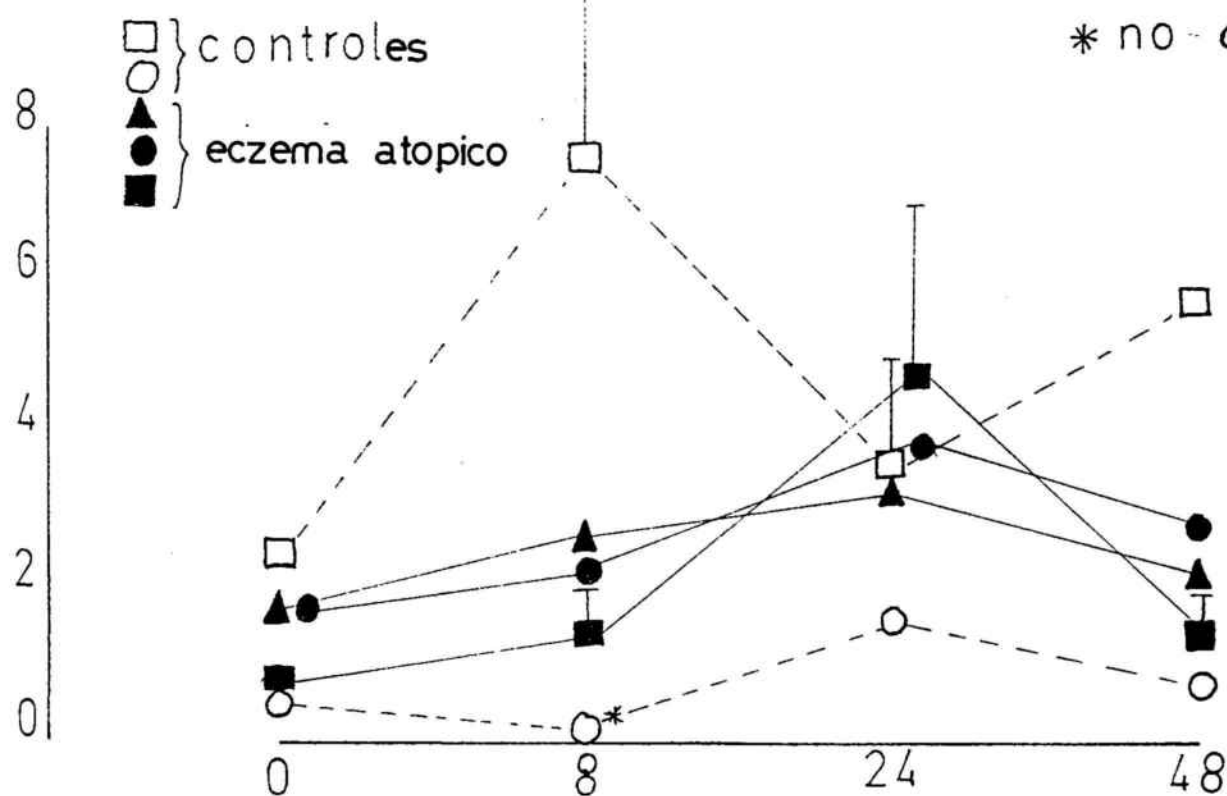
EPIDERMIS

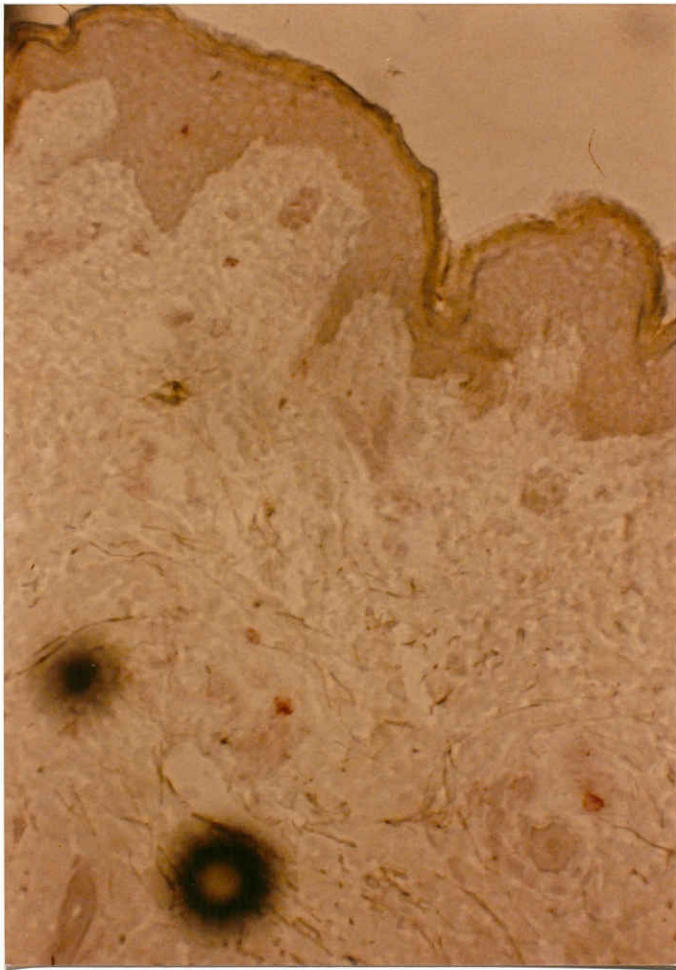
* no detectado

2A⁺ CELS. / mm² x 10⁻⁴

DERMIS

* no detectado





CELULAS CD8 (+) -
CONTROL (X10)

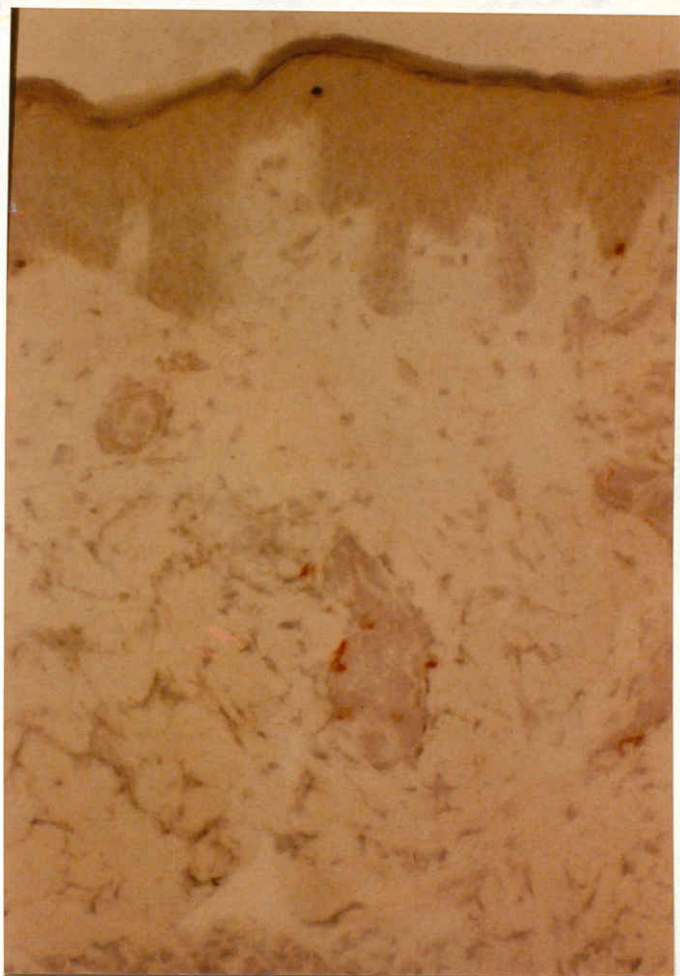
CELULAS CD8 (+) A LAS 8. TRAS
LA INYECCION INTRADERMICA DEL
ACARO POLVO DOMESTICO (X4)



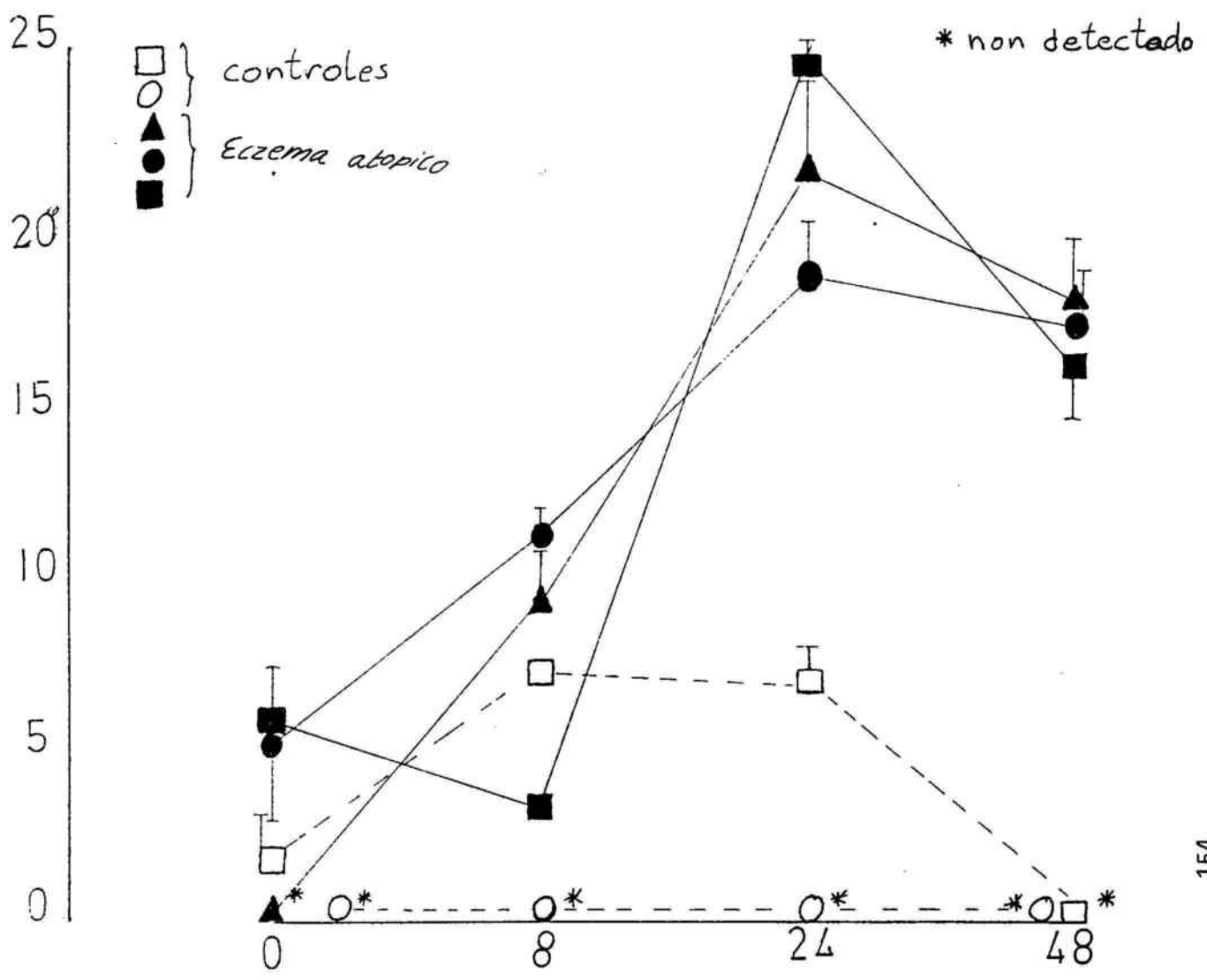


CELULA CD8(+) A LAS 24H.
 TRAS LA INYECCION
 INTRADERMINA DEL ACARO
 POLVO DOMESTICO (X4)

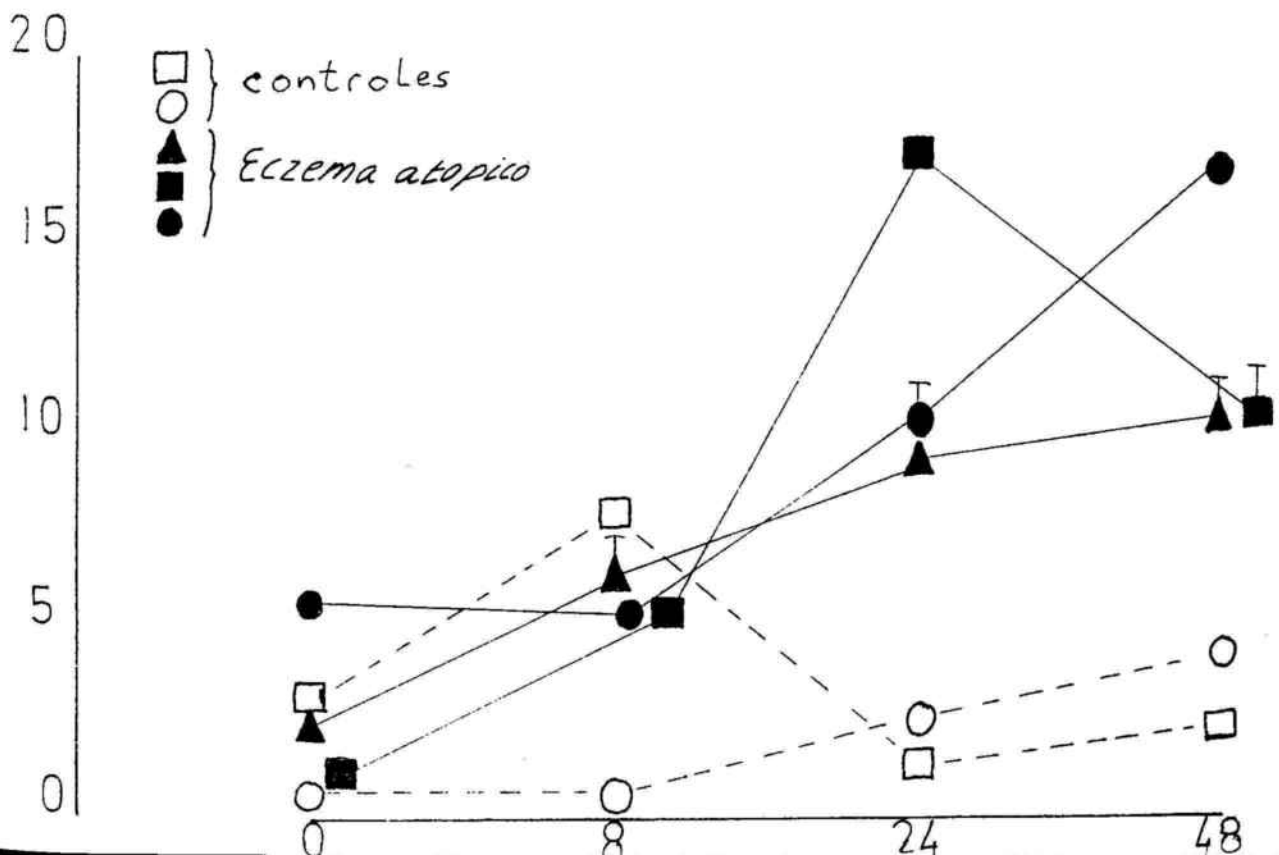
CELULA CD8(+) A LAS 48h. TRAS
 LA INYECCION INTRADERMICA DEL
 ACARO POLVO DOMESTICO (X10)

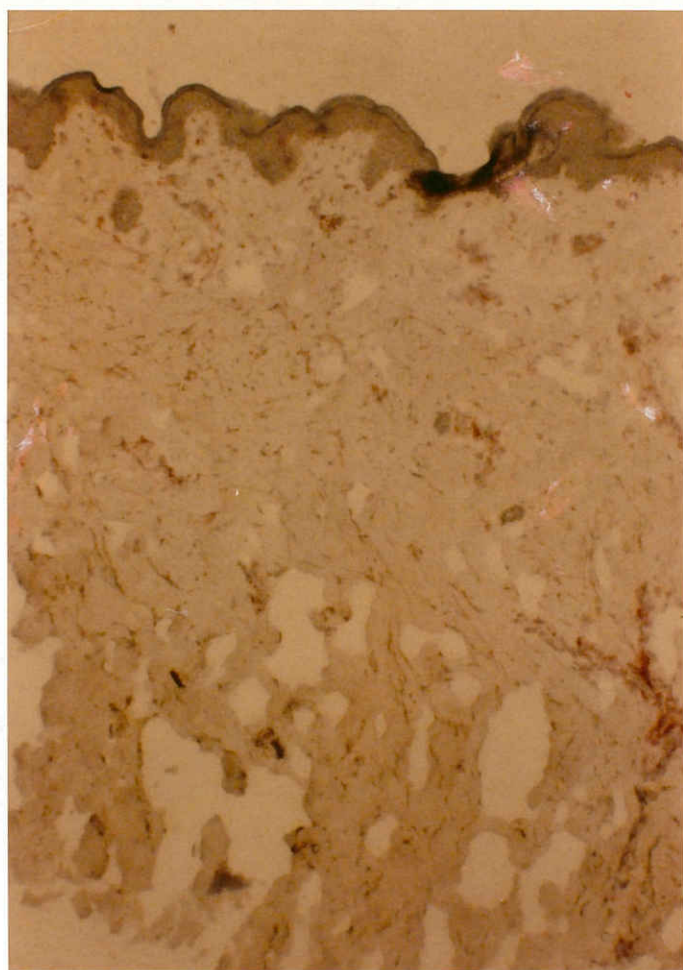


TABLA(25) ESTUDIO INTRADERMICO DEL APC
 3A* CELS. / 100 QB
 EPIDERMIS



3A CELS. / mm² x 10⁻⁴ DERMIS





CELULA CD4(+) -
CONTROL (X4)

CELULA CD4(+) A LAS 8H. TRAS
LA INYECCION INTRADERMICA
DEL ACARO POLVO DOMESTICO (X4)





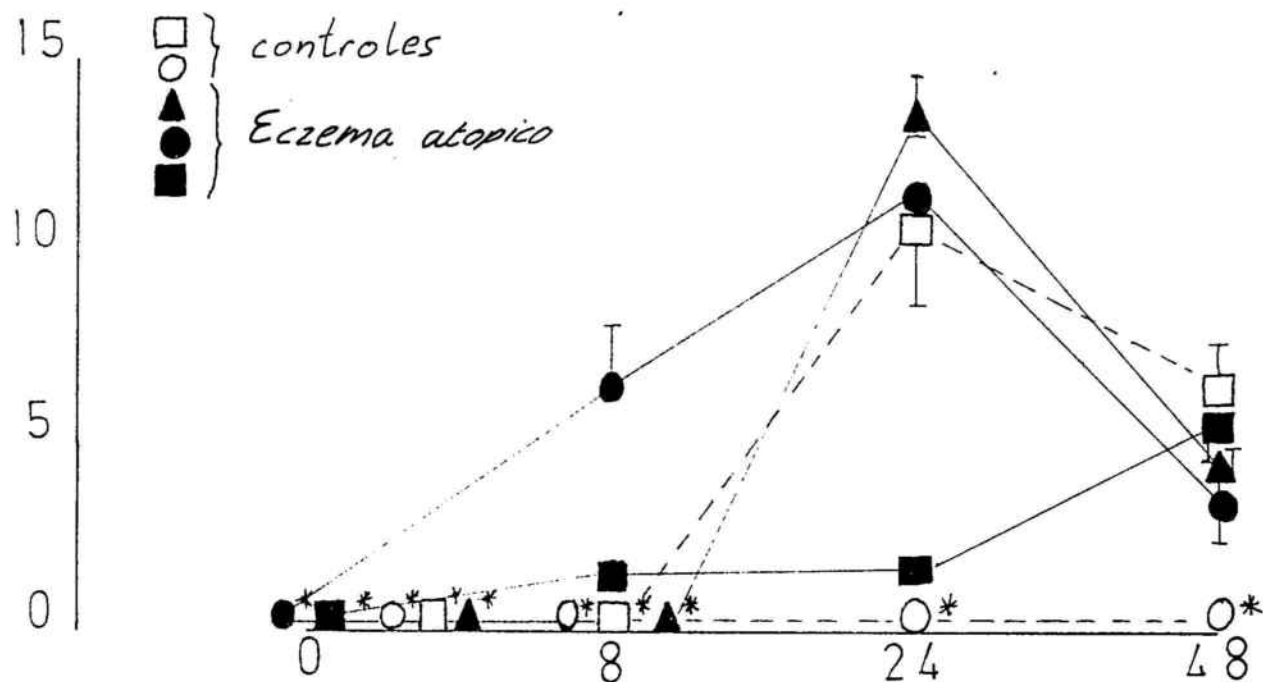
CELULA CD4(+) A LAS 24H.
TRAS LA INYECCION
INTRADERMICA DEL ACARO
POLVO DOMESTICO (X4)

CELULA CD4(+) A LAS 48H. TRAS
LA INYECCION INTRADERMICA DEL
ACARO POLVO DOMESTICO (X4)



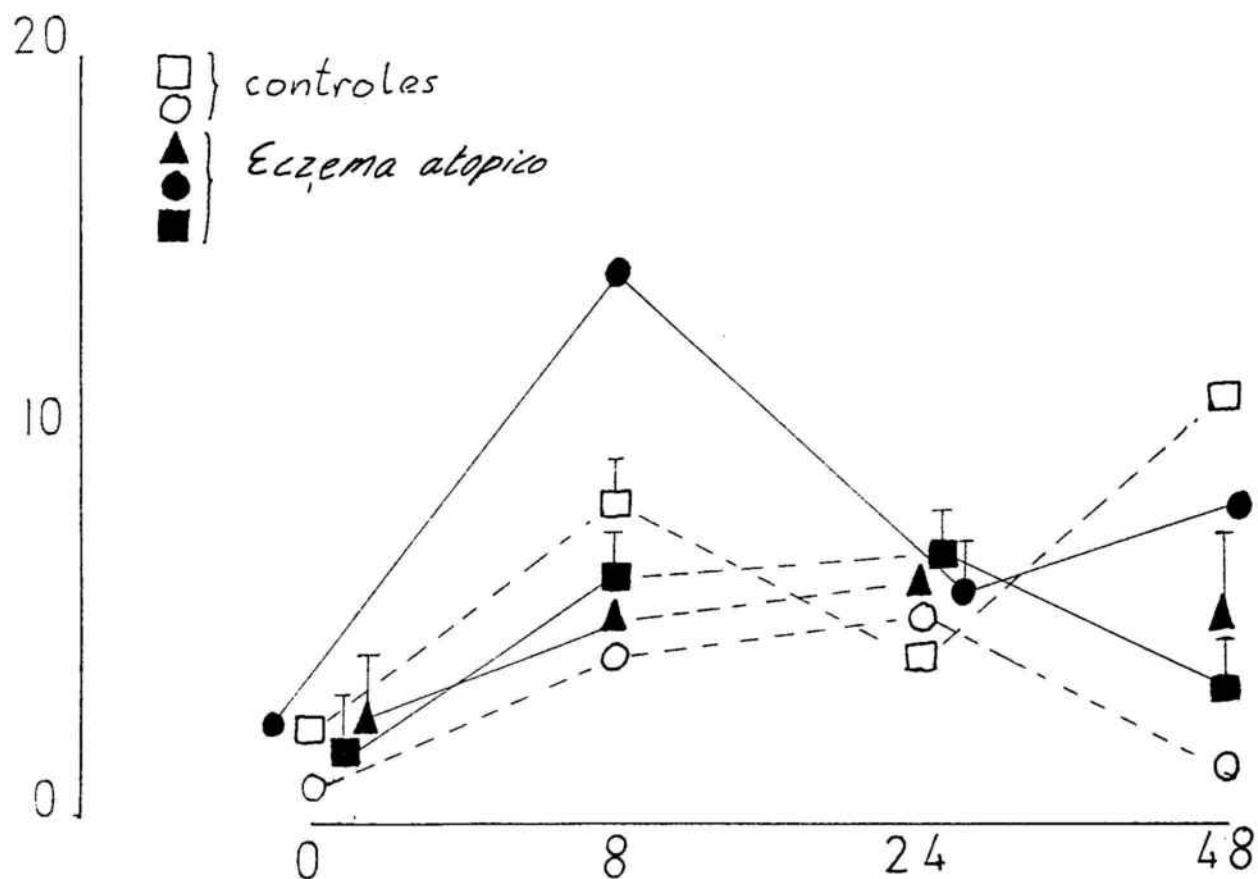
TABLA(26) ESTUDIO INTRADERMICO DEL APC
M3⁺ CELS. / Q3 EPIDERMIS

* no detectado



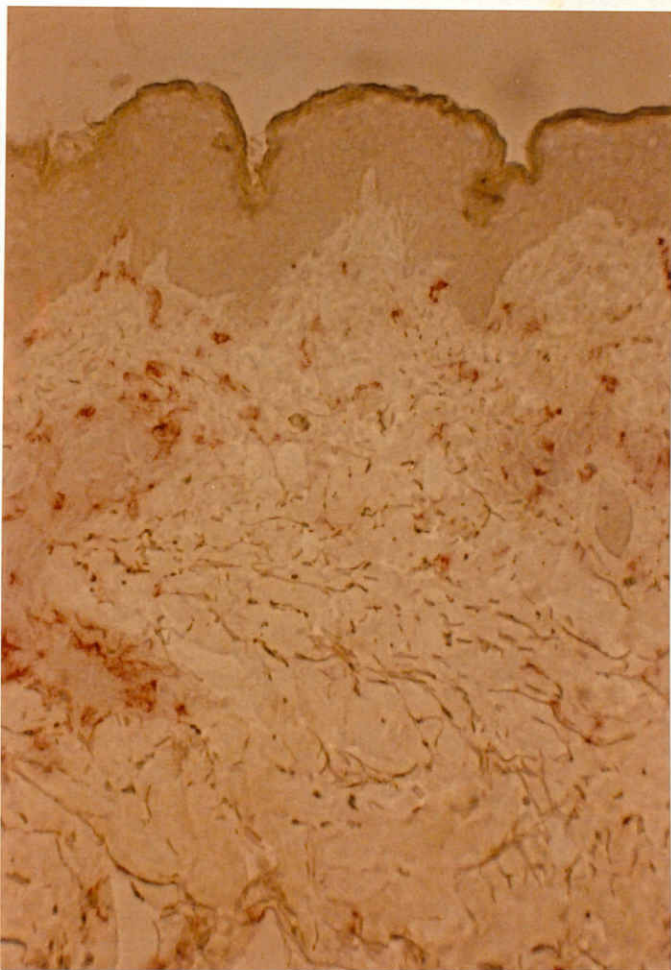
M3⁺ CELS. mm² x 10⁻⁴

DERMIS





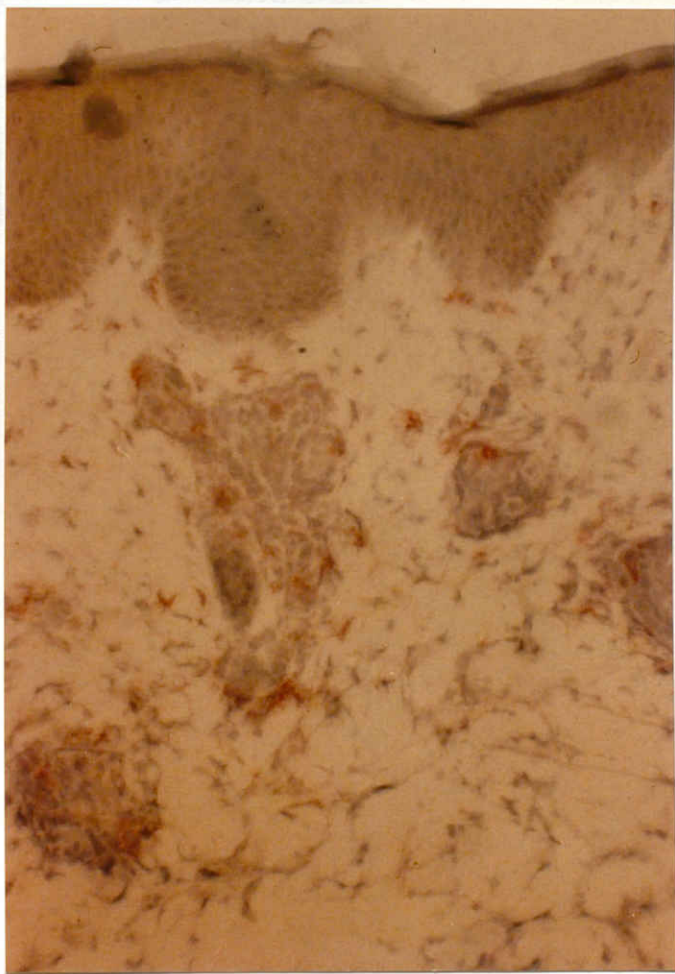
CELULAS CD14 (+) (LEU M3)
CONTROL (X10)



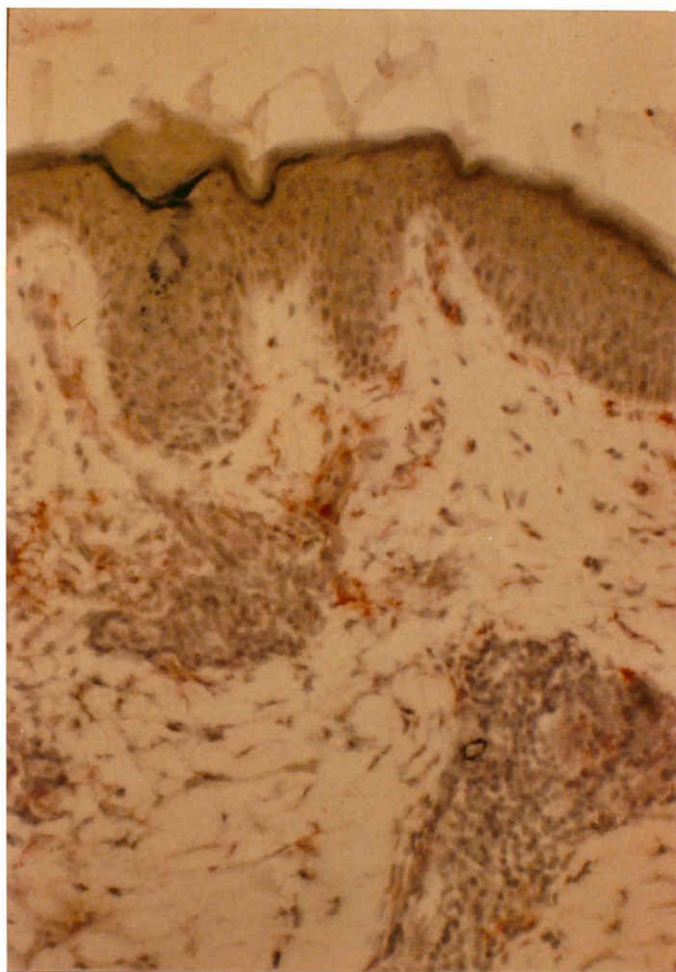
CELULAS CD14 (+) A LAS 8H. TRAS
LA INYECCION INTRADERMICA DEL
ACARO POLVO DOMESTICO (X10)



CELULAS CD14+ A LAS 8H.
 TRAS LA INYECCION
 INTRADERMICA DEL ACARO
 POLVO DOMESTICO (X50)



CELULAS CD14(+) A LAS 24H. TRAS
 LA INYECCION INTRADERMICA DEL
 ACARO POLVO DOMESTICO (X10)



CELULAS CD14(+) A LAS 48H. TRAS LA INYECCION INTRADERMICA
DEL ACARO POLVO DOMESTICO (X10)

TABLA(27)

N° DE CELULAS EPIDERMICAS CLASE II POR 100 Q3

control } ○
sujeto } □

atopico ○ ▲ ● ■

HLA-DR

50
25
0

HLA-DP

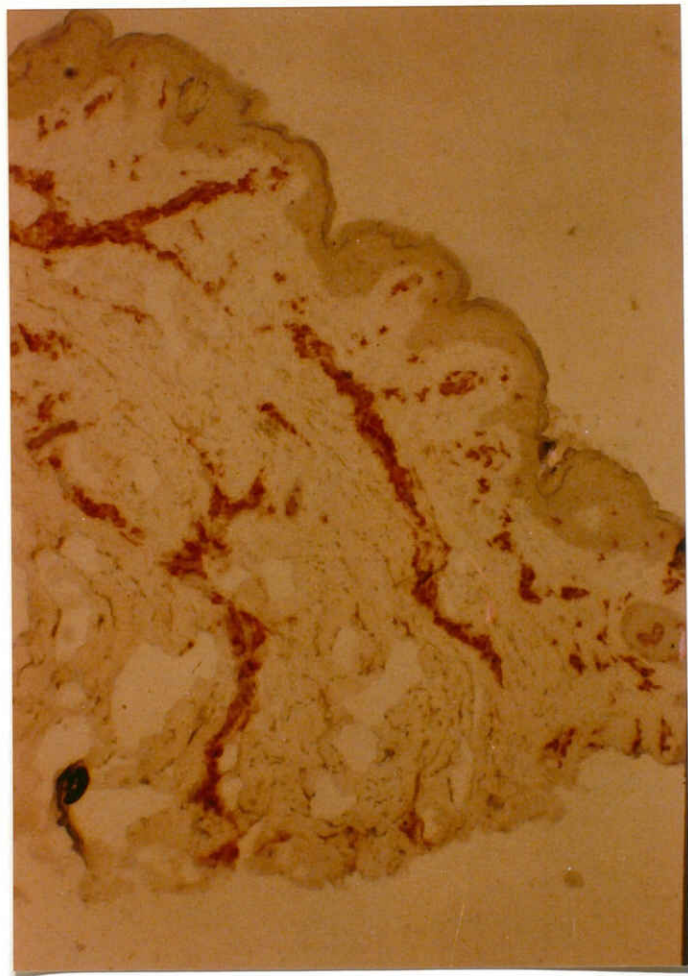
40
20
0

HLA-DQ

40
20
0

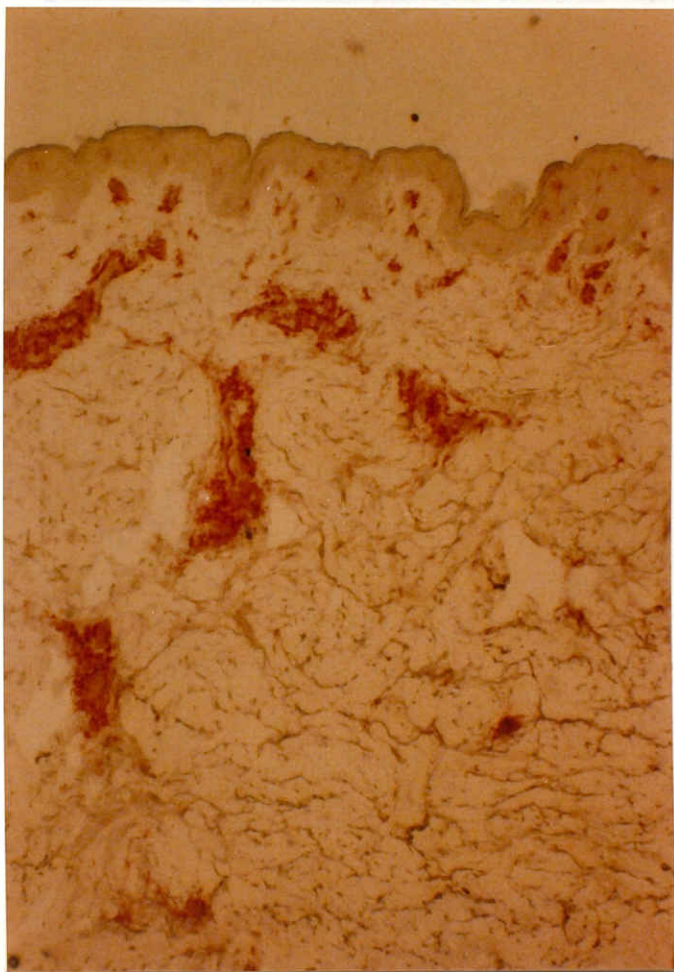
0 8 24 48

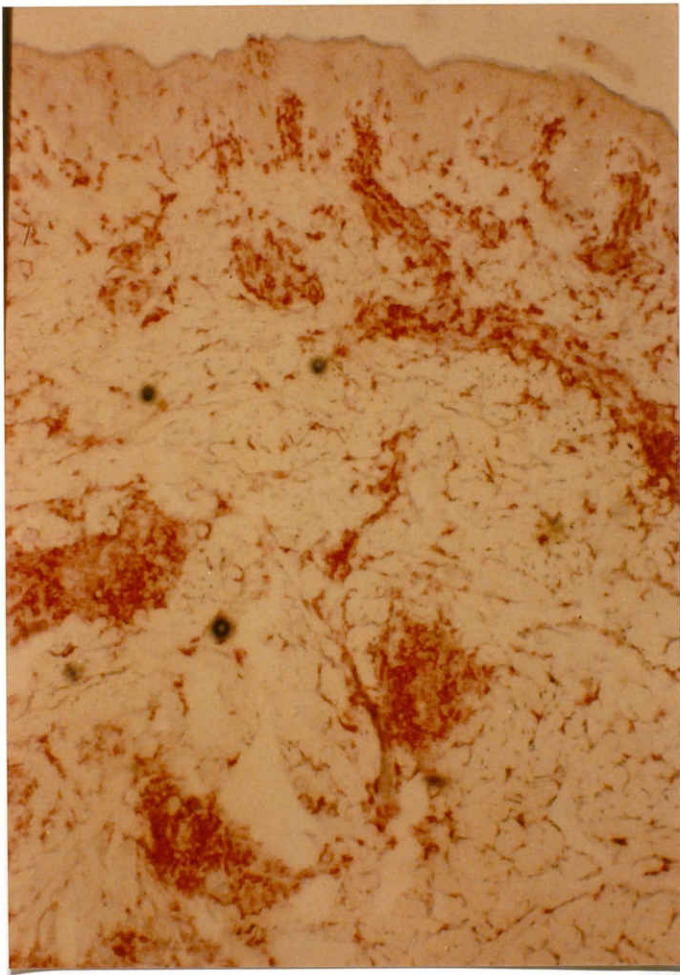
Tiempo en horas despues de la inyeccion intradermica
del APC



CELULAS HLA-DR+
CONTROL (X4)

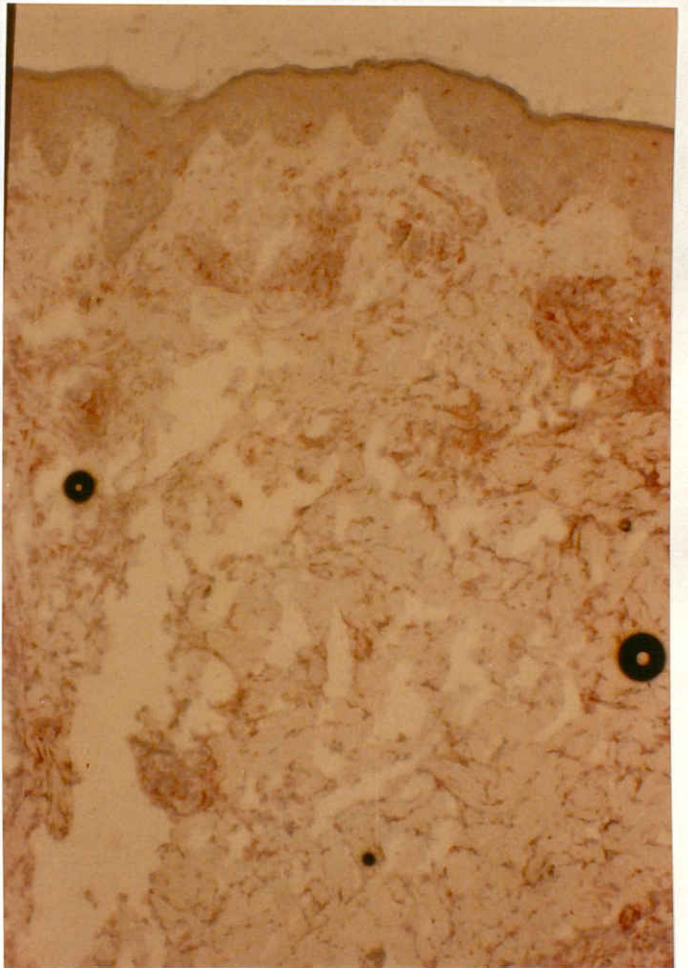
CELULAS HLA-DR+ A LAS 8H. TRAS
LA INYECCION INTRADERMICA DEL
ACARO POLVO DOMESTICO (X4)





CELULAS HLA-DR+
A LAS 24H. TRAS LA
INYECCION INTRADERMICA
DEL ACARO POLVO
DOMESTICO (X4)

CELULAS HLA-DR+ A LAS 48H.
TRAS LA INYECCION INTRADERMICA
DEL ACARO POLVO DOMESTICO (X4)





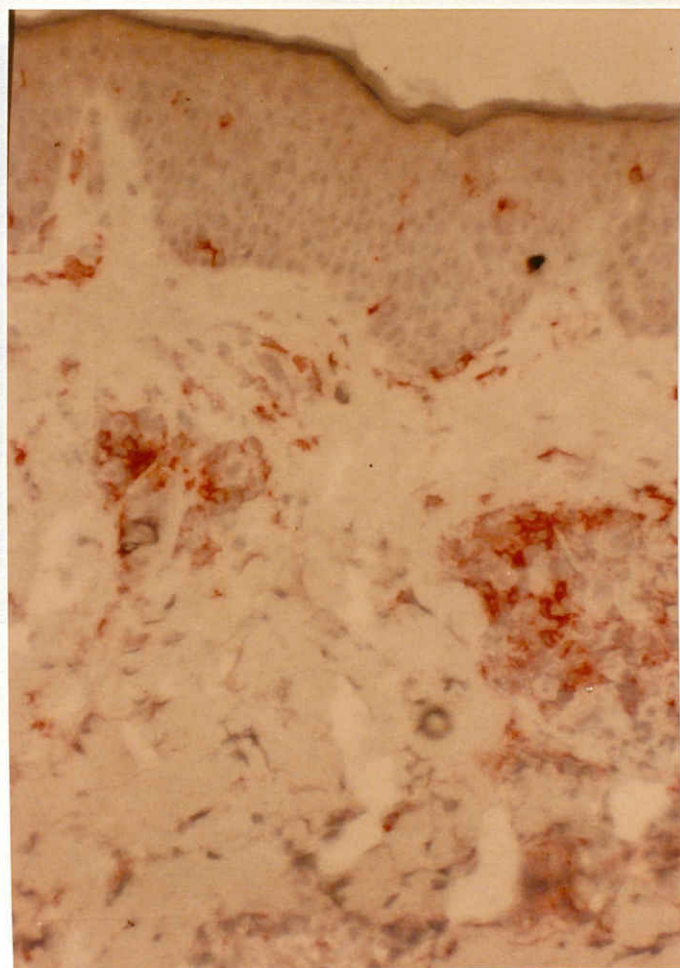
CELULAS HLA-DP+
CONTROL (X10)

CELULAS HLA-DP+ A LAS 8H.
TRAS LA INYECCION INTRADERMICA
DEL ACARO POLVO DOMESTICO (X4)





CELULAS HLA-DP+
A LAS 24H. TRAS LA
INYECCION INTRADERMICA
DEL ACARO POLVO
DOMESTICO (X10)

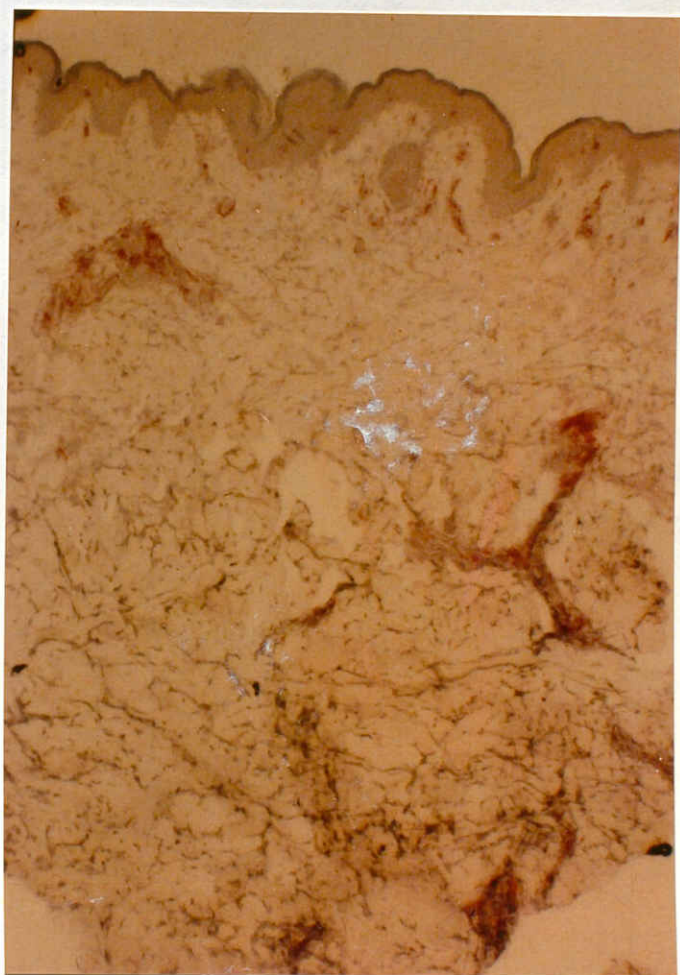


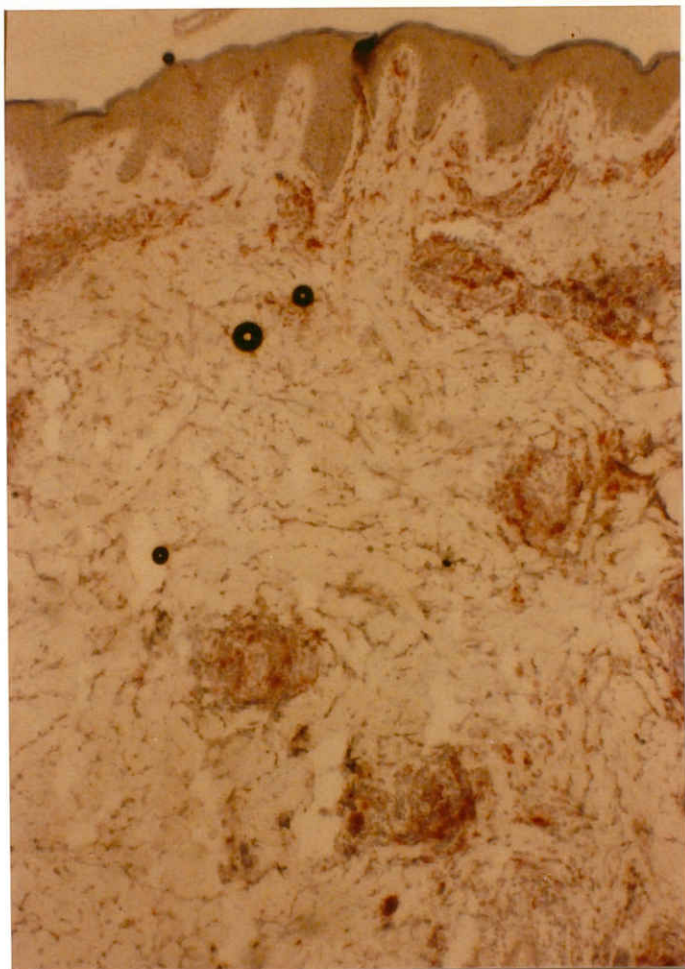
CELULAS HLA-DP+ A LAS 48H.
TRAS LA INYECCION INTRADERMICA
DEL ACARO POLVO DOMESTICO (X10)



CELULAS HLA-DQ+
CONTROL (X10)

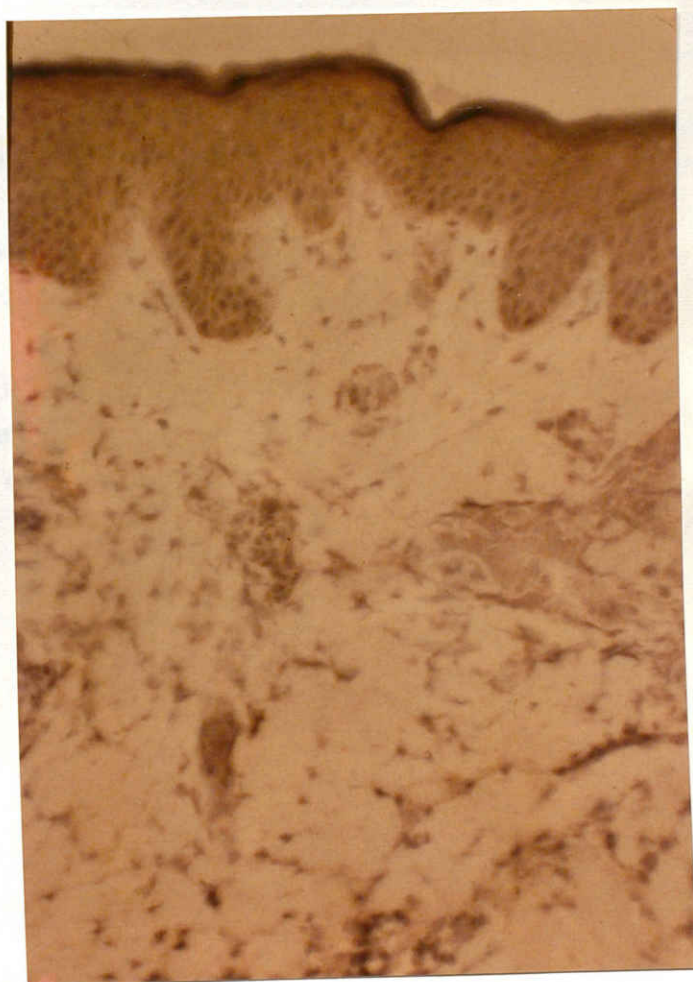
CELULAS HLA-DQ+ A LAS 8H.
TRAS LA INYECCION INTRADERMICA
DEL ACARO POLVO DOMESTICO (X4)





CELULAS HLA-DQ+
A LAS 24H. TRAS LA
INYECCION INTRADERMICA
DEL POLVO DOMESTICO (X4)

CELULAS HLA-DQ+ A LAS 48H.
TRAS LA INYECCION INTRADERMICA
DEL POLVO DOMESTICO



C. Pruebas epicutáneas en piel lesionada.
Paciente Atópico.

(CD1_a) Leu T6. Se aprecia un incremento de las células de Langerhans en la epidermis a las 8, 24 y 48 horas y un descenso en la dermis.

Se aprecia una diferencia moderada entre la piel lesionada positiva al APD y la piel lesionada negativa para el APD con valores más altos en la primera.

(CD8) Leu 2A. Se aprecia un incremento de células T supresoras a las 8, 24 y 48 horas con un descenso en la dermis.

La piel lesionada APD+ muestra muy poca diferencia con la piel lesionada APD-.

(CD4) Leu 3A Se aprecia un descenso de células 3A+ en la epidermis y dermis a las 8 horas y posteriormente un aumento a las 48 horas.

Existe muy poca diferencia entre piel lesionada APD+ y la piel intacta.

(CD14) M3 Se aprecia un descenso en la epidermis a las 8 horas y un incremento en la dermis a las 8, 24 y 48 horas.

HLA-DR

HLA-DP

Se aprecia un descenso a las 8 horas con un incremento a las 24 y 48 horas.

HLA-DQ

La piel lesionada APD+ presenta valores más altos que la piel lesionada APD-.

Pruebas epicutáneas con APD en piel intacta

(CD1a) Leu T6 Incremento moderado a las 8, 24 y 48 horas en la epidermis, resultados opuestos en la dermis.

(CD8) Leu 2A Epidermis: incremento moderado de células 2A+ después de las 24 horas.

Dermis: descenso de células 2A+ a las 8 horas con recuperación moderada a las 24 horas.

(CD4) Leu 3A Incremento moderado de células 3A+ a las 24 horas en la epidermis. Resultados variables en la dermis.

(CD14) M3 Resultados variables

HLA-DR

HLA-Dp Resultados variables

HLA-Dq Incremento moderado después de las 8, 24 y 48 horas.

	Piel lesionada			Piel intacta		
	horas			horas		
	8	24	48	8	24	48
(CD1 _a)Leu T6	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↑	
(CD8) 2A	↑↓	↑↓	↑↓	-↓	↑↑	
(CD4) 3A	↓↓	↑↑	↑↑	-↑	↑↑	
M3	↓↑	↑↑	↑↑	+ ⁻	+ ⁻	+ ⁻
Dr	↓	↑	↑	+ ⁻	+ ⁻	+ ⁻
Dp	↓	↑	↑	+ ⁻	+ ⁻	+ ⁻
Dq-Leu10	↓	↑	↑	↑	↑	↑

En conclusión Leu T6 (CD1_a) en piel lesionada hay un aumento de células de Langerhans en la epidermis con disminución en la dermis, los mismos valores para piel no lesionada.

(CD8) Leu 2A. En las células T supresoras se aprecia un incremento a las 8, 24, y 48 horas en la epidermis con resultados inversos en las dermis. Los valores en la piel intacta muestran incremento de células + después de las 24 horas.

- (CD4) Leu 3A Se aprecia un descenso a las 8 y 48 horas con un incremento a las 24 y 48 horas tanto en la epidermis como en la dermis. Ligero aumento después de 24 horas en piel intacta.No hay relación en la piel intacta.
- (CD14) Leu 3 Piel lesionada: incremento de valores a las 24 y 48 horas, tanto en la epidermis como en la dermis.
- Piel intacta. Sin relación.
- HLA-Dr Piel lesionada. Se aprecia un descenso a las 8 horas en la epidermis y un incremento a las 24 y 48 horas
- HLA-Dp Ligero aumento después de las 24-48 horas en piel lesionada
- HLA-Dq Ligero aumento después de 24-48 horas en piel lesionada y no lesionada.

TABLA(28)

ESTUDIO DEL TEST DEL PARCHÉ			ANTICUERPOS MONOCLONALES										
			EPIDERMIS			DERMIS							
			T 6	2 A	3 A	M 3	T 6	2 A	3 A	M 3	N° de cels / mm ² x 10 ⁻⁴		
TIEMPO	PACIENTE	BIOPS N°	17.16±1.98	NF	NF	NF	1.56±0.13	0.21±0.09	0.77±0.65	0.96±0.02			
0	I U	AD 72	1.41±1.8	3.0±0.8	1.1±0.2	NF	9.4±0.9	8.3±1.7	1.6±0.6	4.0±1.1			
	I I	AD 87	24.5±2.8	1.4 ± 0.2	1.7±0.2	1.2±0.3	24.6±2.6	9.1±2.9	11.4±2.6	13.4±1.1			
	RA	AD 91	46.66±1.77	4.3±1.43	4.09±0.99	NF	4.79±0.26	4.26±2.46	3.57±1.16	10.54±2.95			
escoriada	I P	AD 95	35.55±9.27	18.16±1.07	24.34±9.77	23.42±5.50	5.55±1.05	5.21±0.42	3.49±0.09	9.09±2.05			
	S J	AD 101	6.9±1.3	0 ± 0	5.8±0.1	0±0	1.7±0.3	1.7±0.6	28.6±1.7	19.4±1.1			
8	I U	AD 84	17.5±0.8	3.0±0.9	0.7±0.2	NF	8.3±1.4	1.7±0.6	1.4±0.2	6.6±0.4			
	I I	AD 88	25.6±1.4	2.3 ± 0.2	2.4±1.4	0.6±0.1	12.9±1.4	3.4 ± 0.9	24.3±2.5	8.6±2.0			
	RA	AD 92	42.82±3.12	19.70±0.70	6.89±0.44	6.3±0.75	4.13±0.19	4.78±0.38	2.57±0.33	5.08±1.30			
escoriada	I P	AD 100											

NF: no localizado

TABLA (29)

ESTUDIO DEL TEST DEL PARCHE			ANTICUERPOS MONOCLONALES																			
			E P I D E R M I S					D E R M I S														
			T 6	2 A	3 A	M 3	T 6	2 A	3 A	M 3												
			N° de cels. / 100 Q3 ± sem										N° of cels. / mm ² x 10 ⁻⁴									
24	escoriada + HDM	escoriada	no	escoriada	BIOPS N°	11.7±1.2	0±0	6.9±1.3	0±0	2.3±0.5	2.3±0.6	21.1±0.1	22.6±1.1									
			no	escoriada	BIOPS N°	16.2±1.7	3.2±0.2	0.3±0.2	NF	9.1±0.9	0.7±0.1	0.5±0.1	NF									
			no	escoriada	BIOPS N°	19.7±1.78	0±0	1.9±0.1	1.6±1.3	15.7±1.1	1.4±0.3	14±0.3	17.4±8.6									
48	escoriada - HDM	escoriada	no	escoriada	BIOPS N°	46.3±6.93	3.72±1.18	5.29±1.59	NF	15.8±0.16	15.9±0.25	15.3±0.47	4.56±1.08									
			no	escoriada	BIOPS N°	35.88±6.63	3.62±0.33	5.42±0.04	NF	14.0±0.20	2.42±0.23	12.2±0.03	2.44±0.94									
			no	escoriada	BIOPS N°	12.5±1.7	0±0	7.1±0.3	0±0	5.1±0.1	1.4±0.3	1.8±1.4	1.6±0.9									
escoriada	escoriada	escoriada	no	escoriada	BIOPS N°	15.5±1.3	8.15±5.4	6.7±1.6	NF	1.4±0.3	9.4±0.3	6.6±2	12.6±0.3									
			no	escoriada	BIOPS N°	15.4±2.5	0±0	4.8±0.2	2.4±0.2	2.3±0.4	1.8±1.2	6.7±2.2	4.3±0.2									
			no	escoriada	BIOPS N°	44.66±7.25	21.85±1.27	17.09±0.01	7.29±1.04	2.92±0.16	4.05±1.02	7.24±1.41	6.26±2.38									

NF: no localizado

TABLA 30

ESTUDIO DEL TEST DEL PARCHE			ANTICUERPOS MONOCLONALES			
TIEMPO	PACIENTE	BIOPS N°	N° de cets. / 100Q3 ± sem			
			EPIDERMIS			
0	I U	AD 72	17.54±2.3		8.33±1.19	NF
	I I	AD 87	10±1.0	4.2±2.4	5.6±1.7	9.0±0.8
	RA	AD 91	11.9±2.9	15.3±2.5	10.4±0.9	4.5±1.3
	I P	AD 95	27.52±5.01	3.07±13.52	15.94±6.87	31.84±5.63
escoriada control 24 Hrs.	I P	AD 97	23.64±0.52	11.92±1.68	13.77± 2.89	16.84 ± 4
escoriada	S J	AD 101	24.54±1.77	11.29±1.86	21.47±6.54	20.39±5.43
8	I U	AD 84	(8.5)	5.1±0.8	11.4± 0.8	(7)
	I I	AD 88	18.9±0.9	7.6±1.6	2.6±0.7	12.71±10
	RA	AD 92	15.8±1.1	5.8±1.5	11.2±5.2	2.3±0.2
	I P	AD 100	8.48±2.04	5.76±0.66	8.74±1.45	6.7±0.8

□ ▲ ● ■ ▼ ▢ ▲ ● ■

NF: no localizado

TABLA(3f)

ESTUDIO DEL TEST DEL PARCHE				ANTICUERPOS MONOCLONALES			
TIEMPO	PACIENTE	BIOPS N°	EPIDERMIS				N° de cels /100Q3 ± sem
			HLA DR (L 2 4 3)	HLA DP (3 7 21)	HLA DQ (Leu10)	BT 734	
24 escoriada	I U	AD 85	11.4±1.3	10.5±0.5	11.2±0.4	9.1±0.9	□
	I I	AD 89	13.1±0.4	5.1±0.2	8.1±0.3	11.9±1.5	▲
	RA	AD 93	21.1±6.0	14.7±1.5	6.6±1.7	5.7 ± 0	●
48 escoriada	I P	AD 98	26.37±2.13	16.64±2.11	19.86±4.08	26.37±7.64	■
	I U	AD 86	12.9±0.7	11.3±0.5	(3.5)	6.5±0.3	□
	I I	AD 90	14±0.3	6.0±0.7	7.25±1.8	14 ± 0.2	▲
escoriada	RA	AD 94	13.3±2.4	6.3±0.2	2.2±1.2	6.0±0	●
	I P	AD 99	61.47±7.65	22.85±2.15	13.25±5.08	20.43±5.29	■

TA3LA(32)

TEST DEL PARCHÉ DEL APC

PIEL ESCORIADA

$T6^+ c./100 Q3$

$T6^+ c./mm^2 \times 10^{-4}$

$2A^+ c./100 Q3$

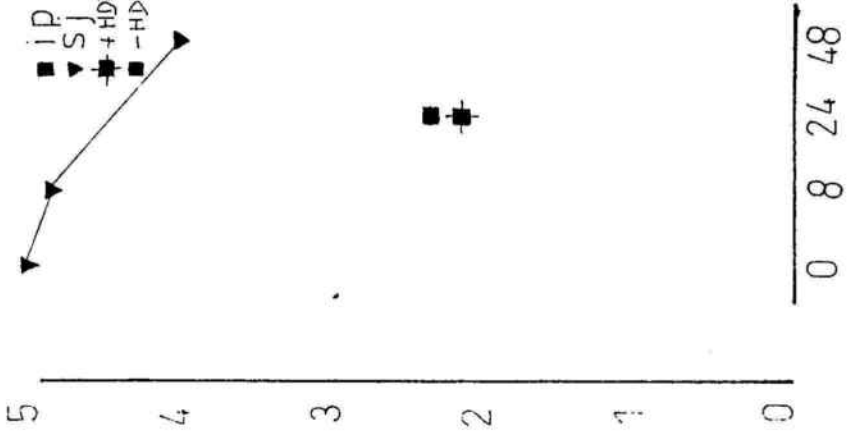
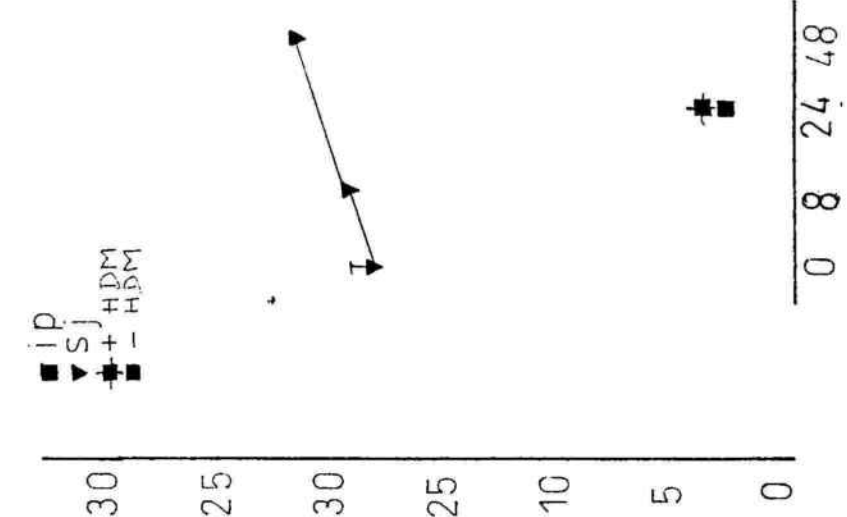
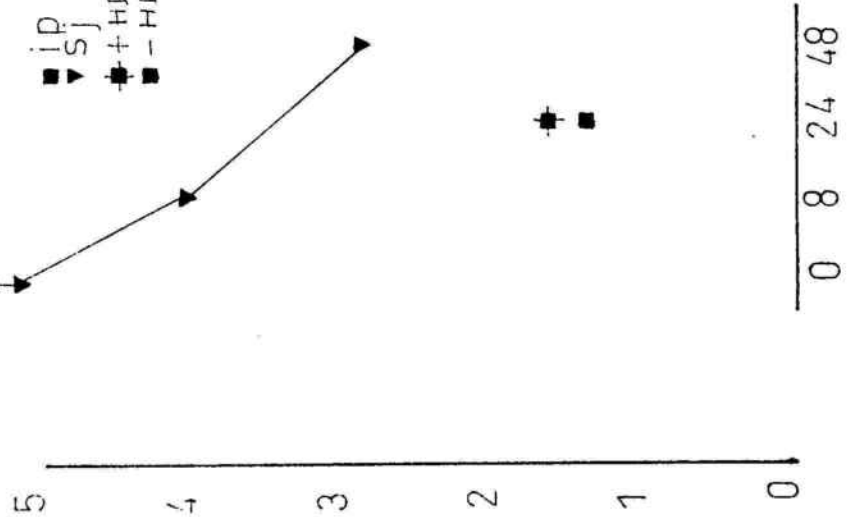
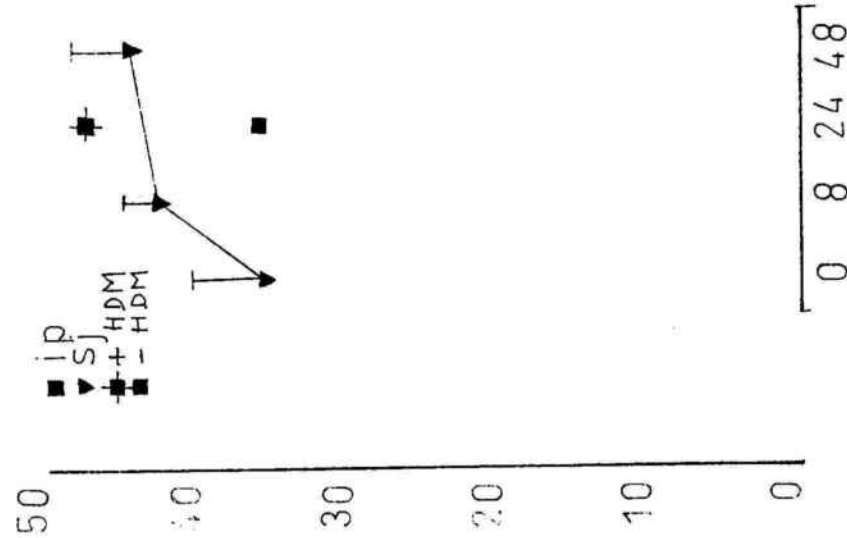
$2A^+ c./mm^2 \times 10^{-4}$

EPIDERMIS

DERMIS

EPIDERMIS

DERMIS



TIEMPO EN HORAS

TA3LA (33)

TEST DEL PARCHÉ DEL APC

PIEL ESCORIADA

3A⁺c / 100 QB

3A⁺c / mm² × 10⁻⁴

M3⁺c / 100 QB

M3⁺c / mm² × 10⁻⁴

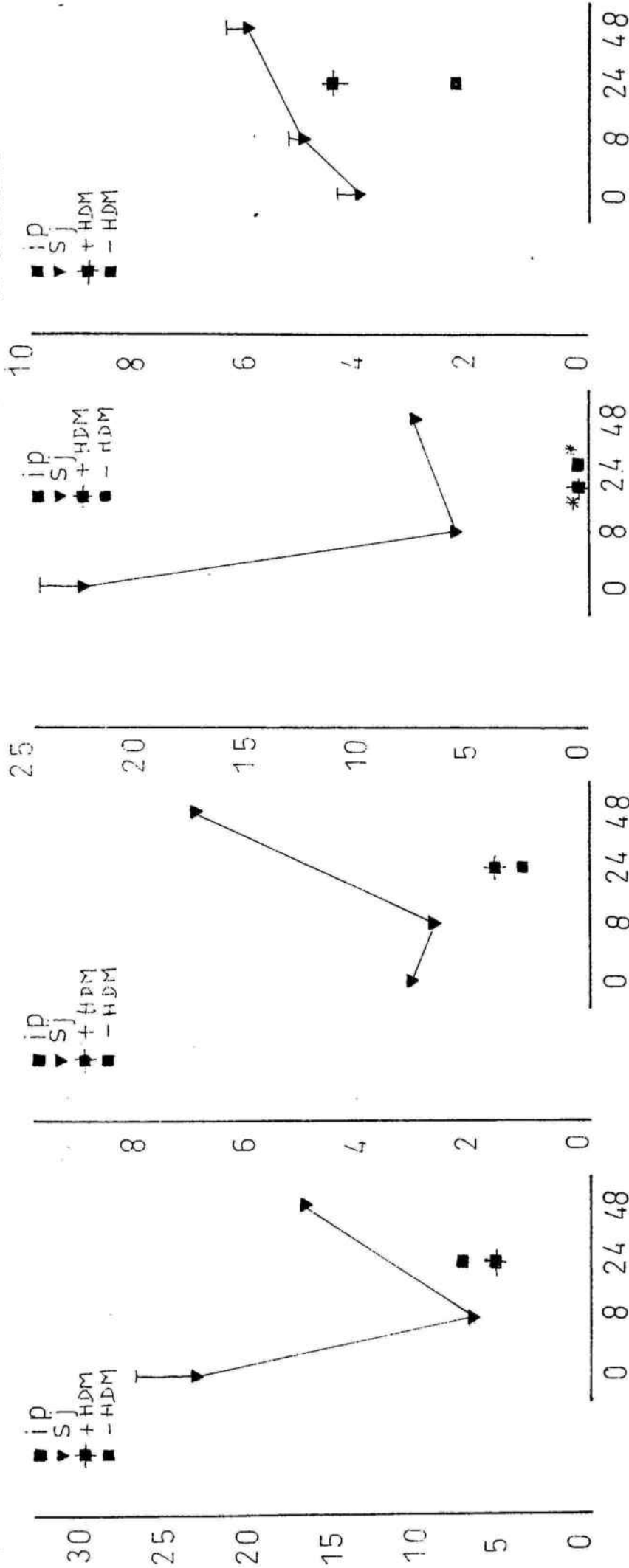
EPIDERMIS

DERMIS

EPIDERMIS

DERMIS

* *no localizade*



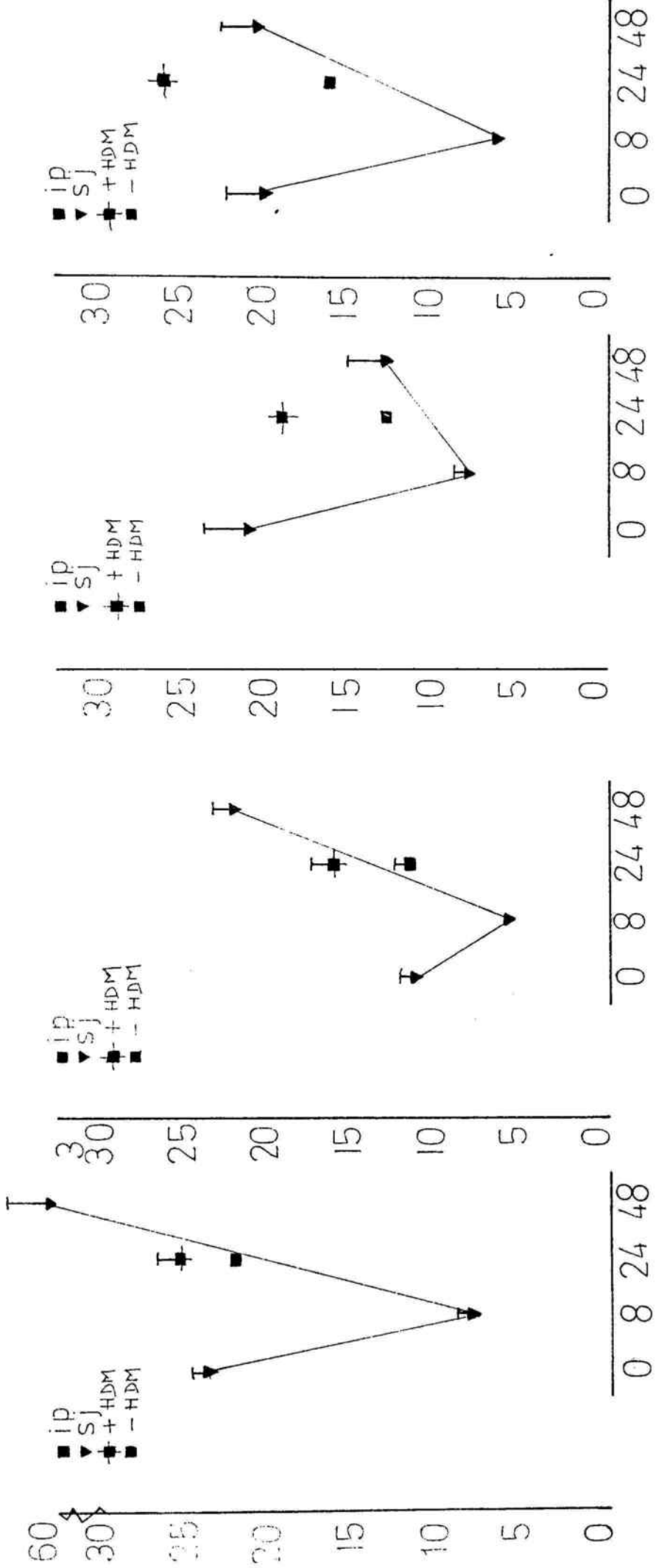
TIEMPO EN HORAS

TA3LA(34)

TEST DEL PARCHE DEL APC PIEL ESCORIADA

(CLASE II)

DR cels /100 QB DP cels /100 QB DQ (leu 10) cells/100 QB DQ (B734)c. /100 QB



TIEMPO EN HORAS

EPIDERMIS

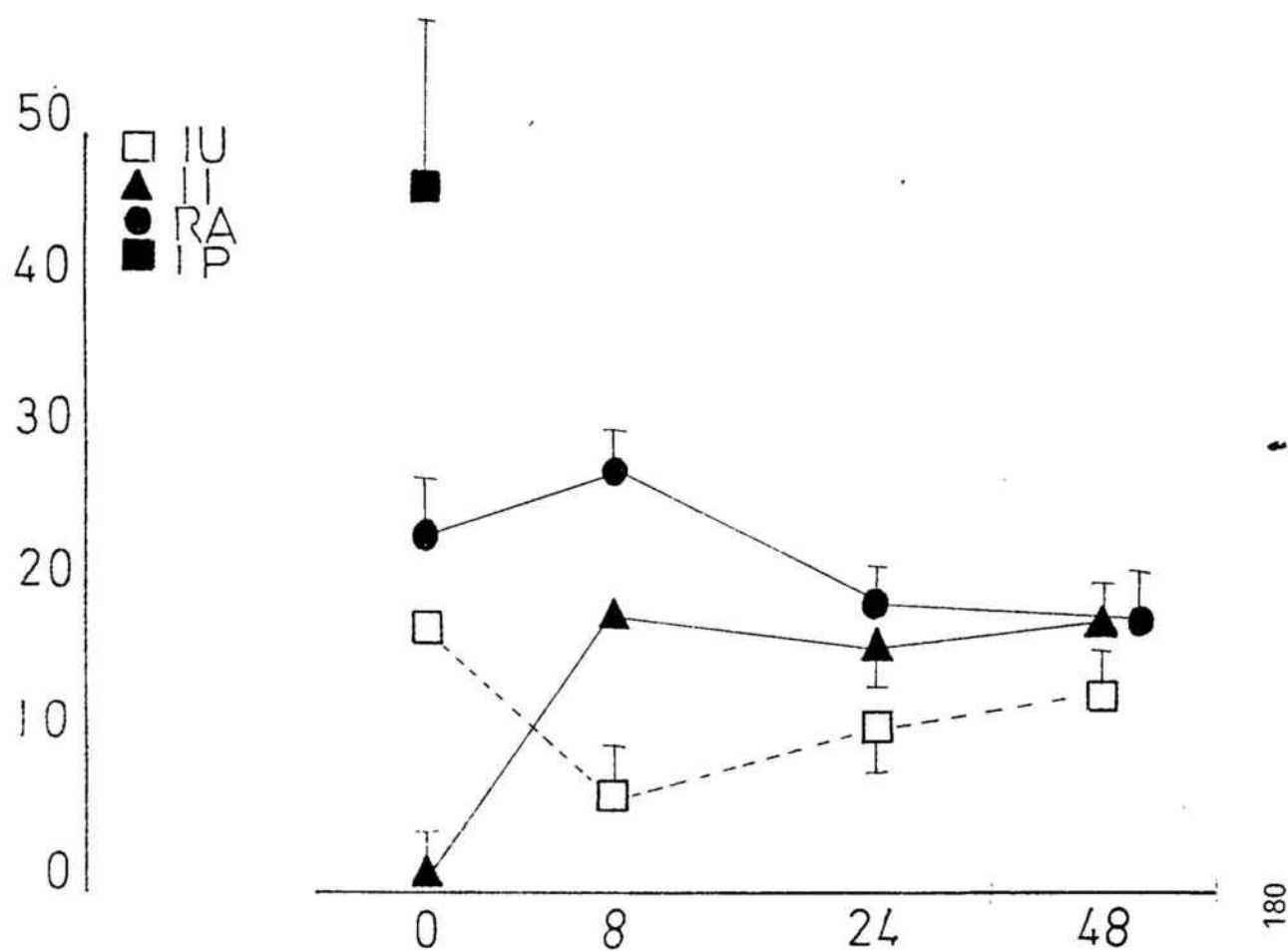
EPIDERMIS

EPIDERMIS

EPIDERMIS

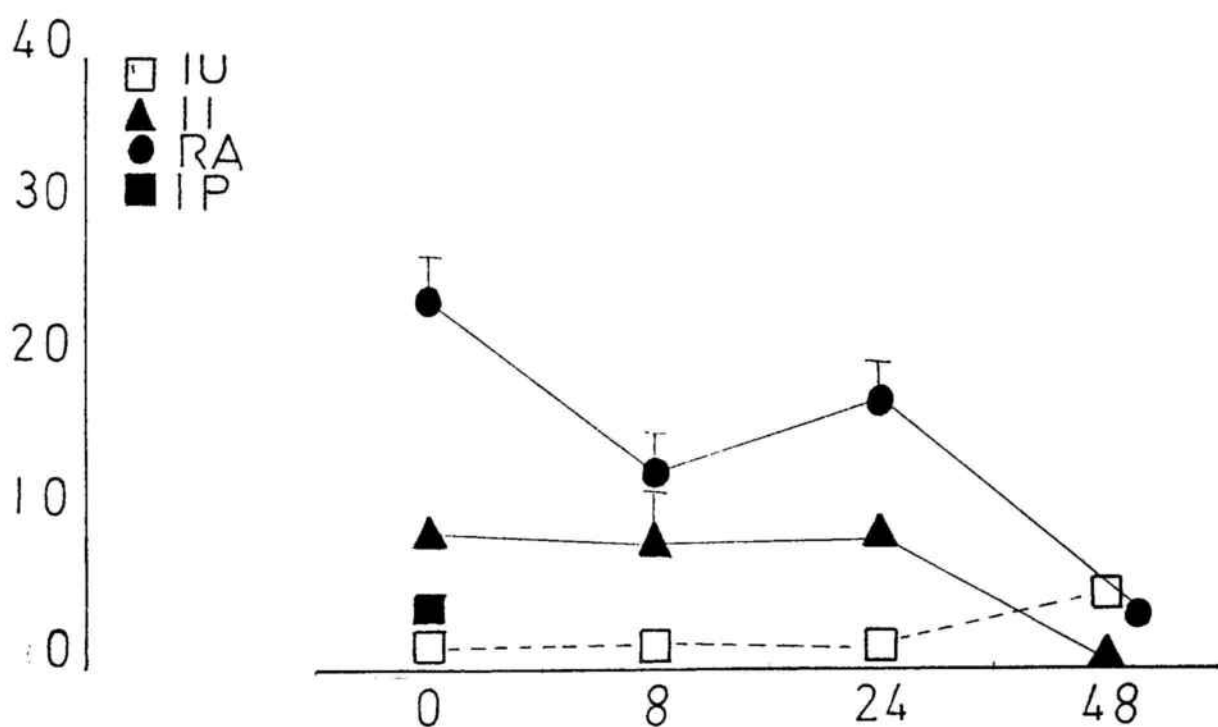
T6 cells / 100/QB

EPIDERMIS



T6 cells / mm² x 10⁻⁴

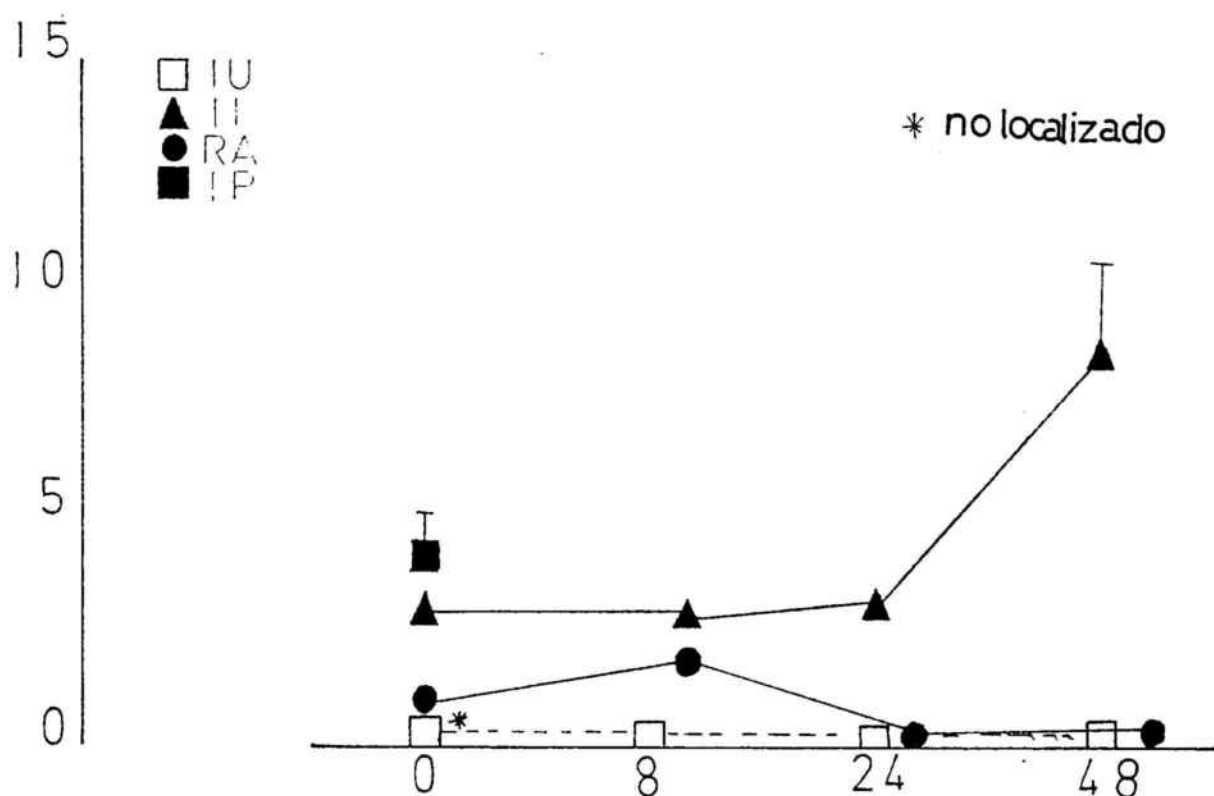
DERMIS



TIEMPO EN HORAS

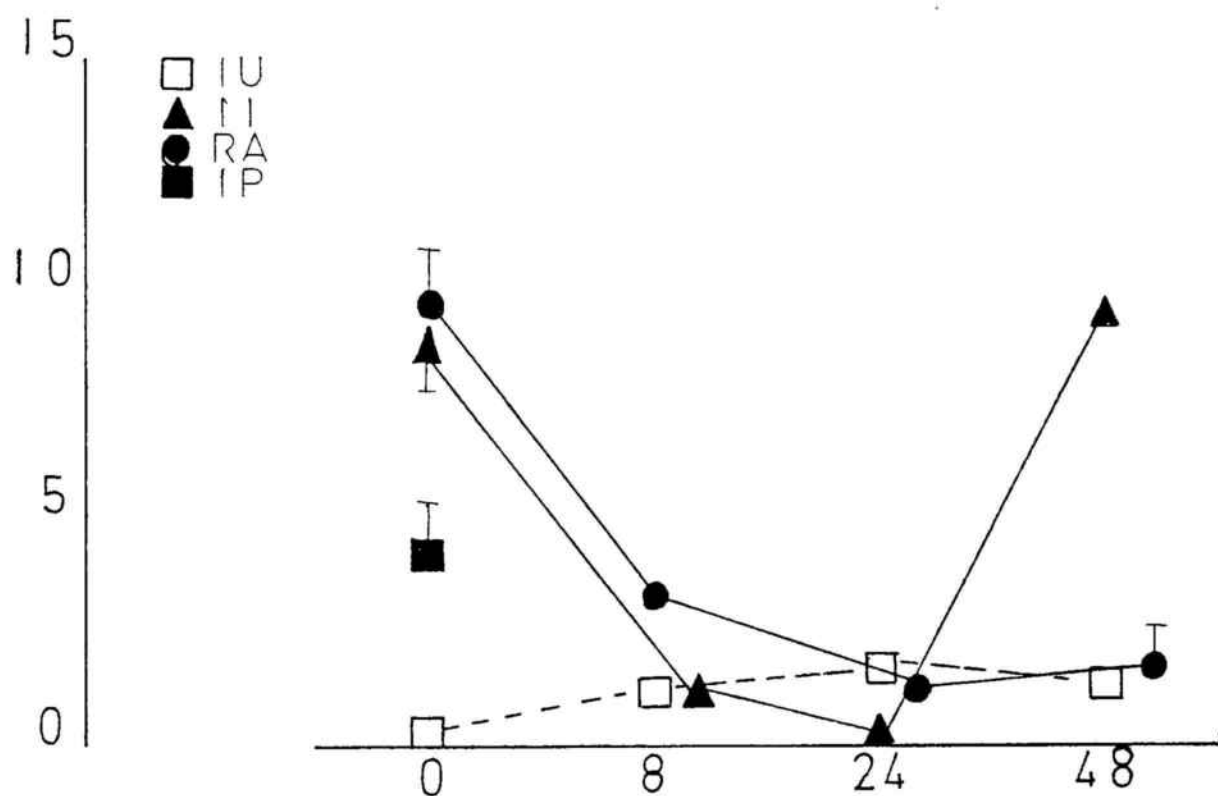
2A⁺ cels. / 100 QB

EPIDERMIS



2A⁺ cels. / mm² x 10⁻⁴

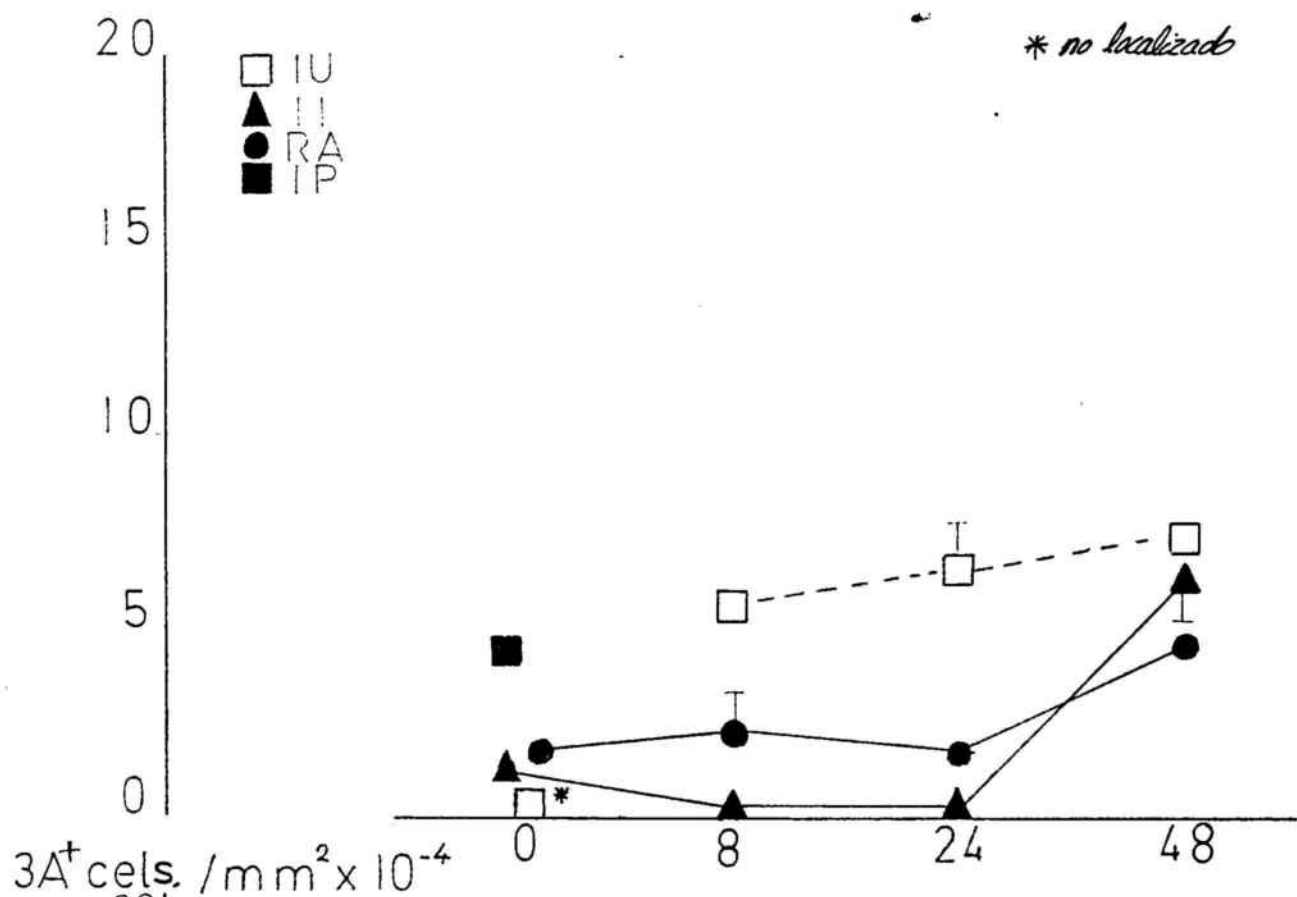
DERMIS



3A⁺ cels. / 100 QB

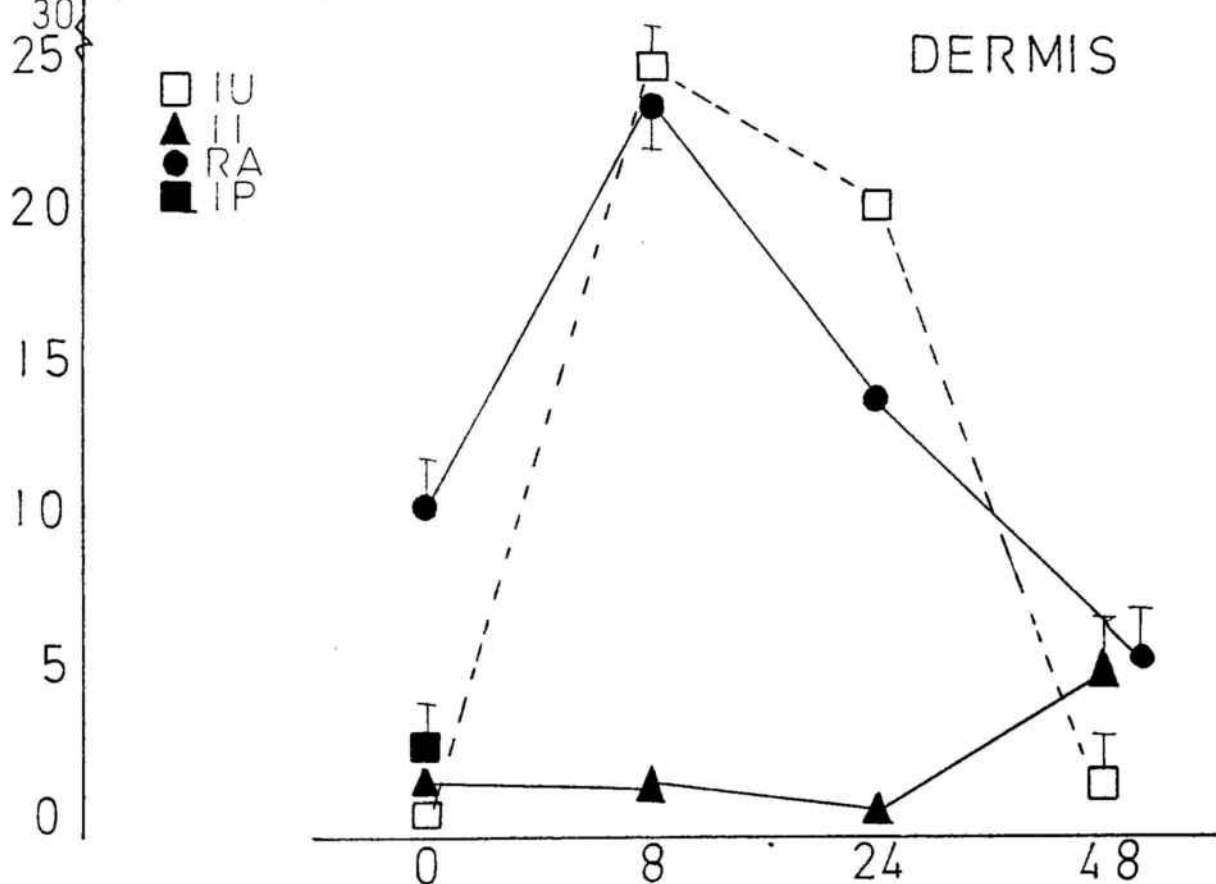
EPIDERMIS

* no localizado



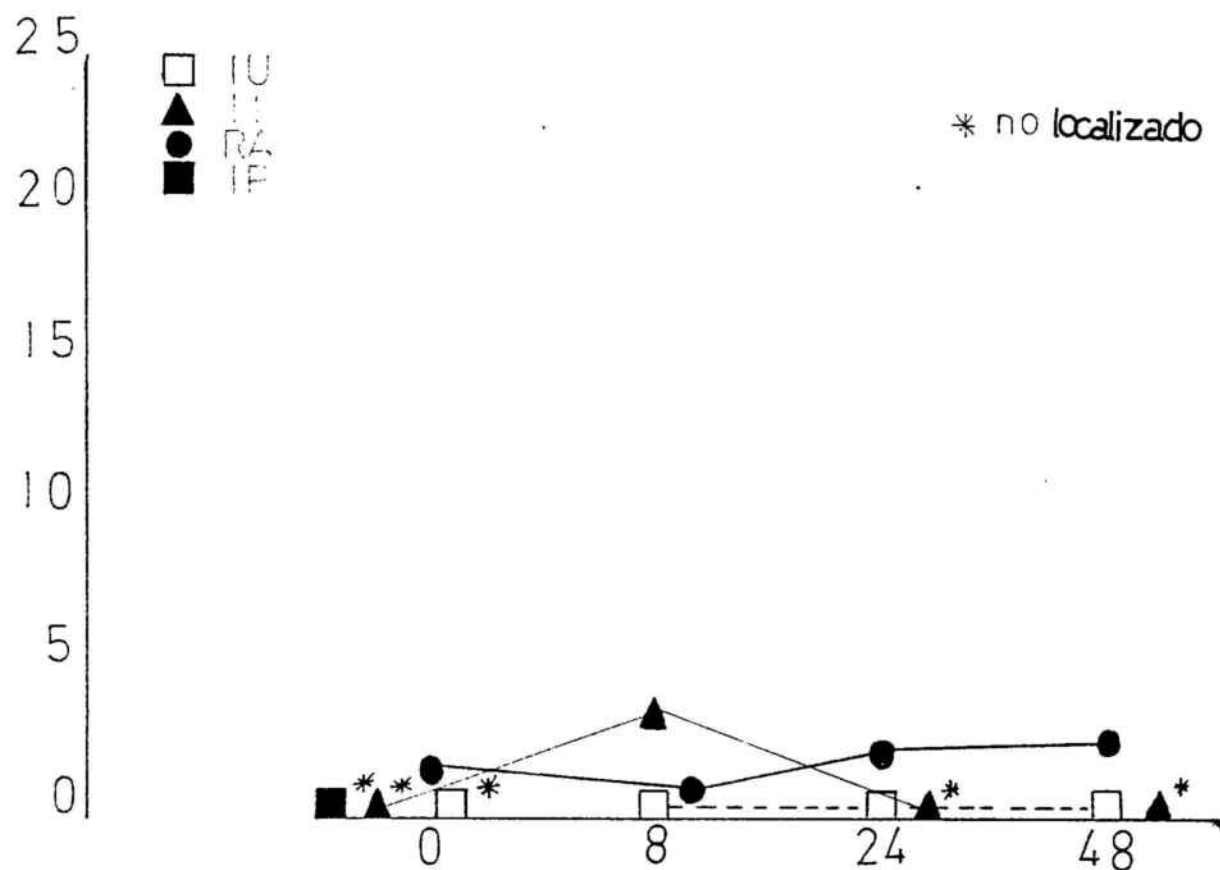
3A⁺ cels. / mm² x 10⁻⁴

DERMIS



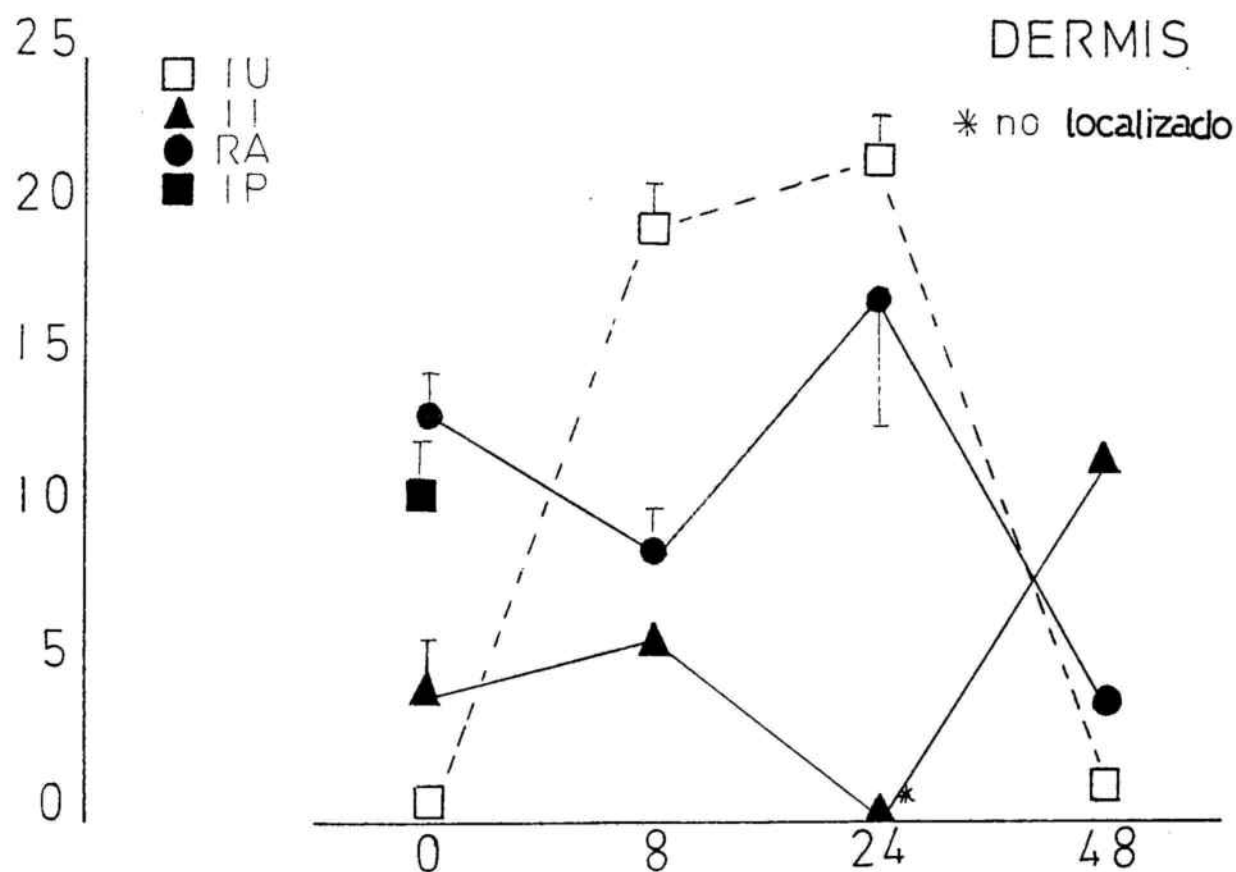
M3⁺ cels / 100 QB

EPIDERMIS



M3⁺ cels / mm² x 10⁻⁴

DERMIS

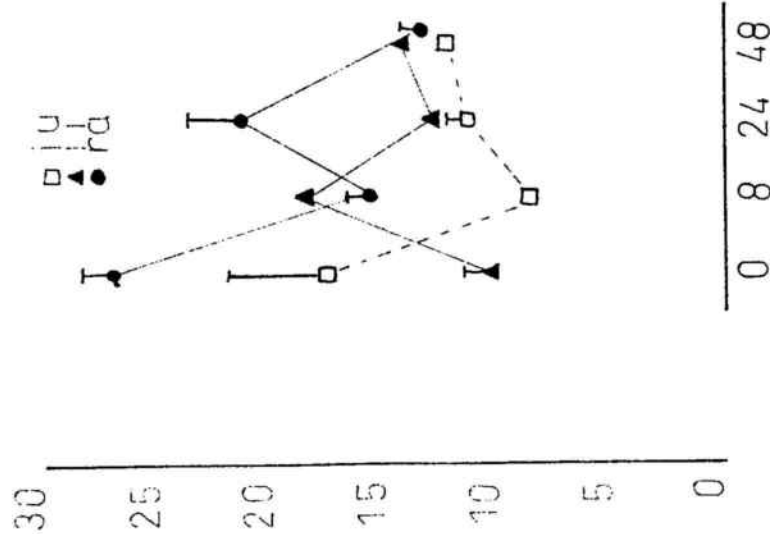


DR CELS /100 QB

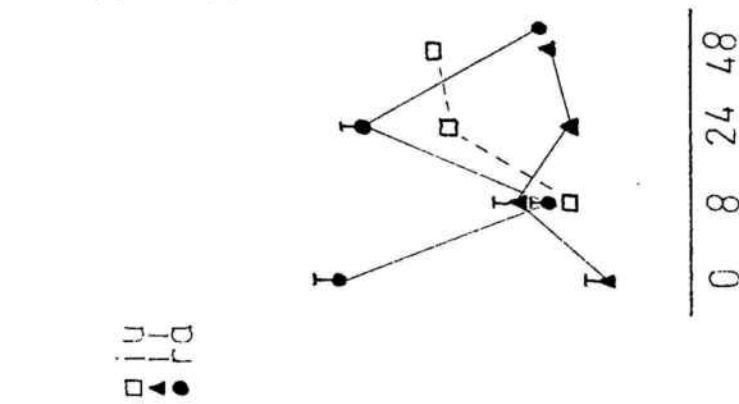
DP CELS /100QB

DQ (leu 10) CELS /100 QB

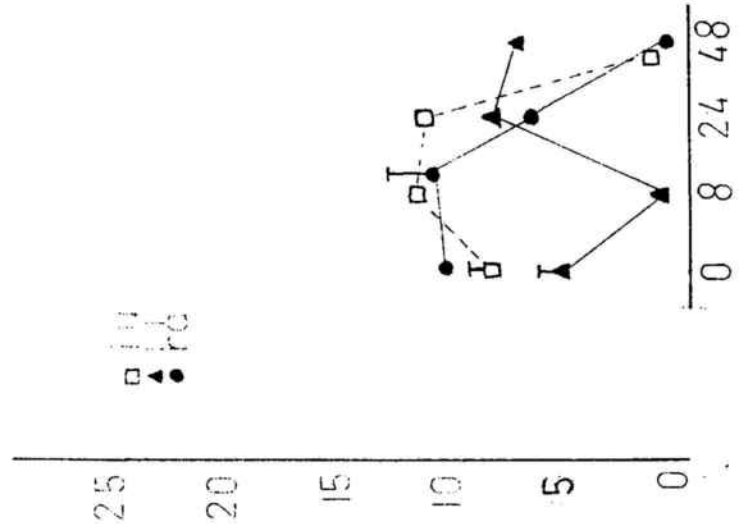
DQ(3734) C /100 QB



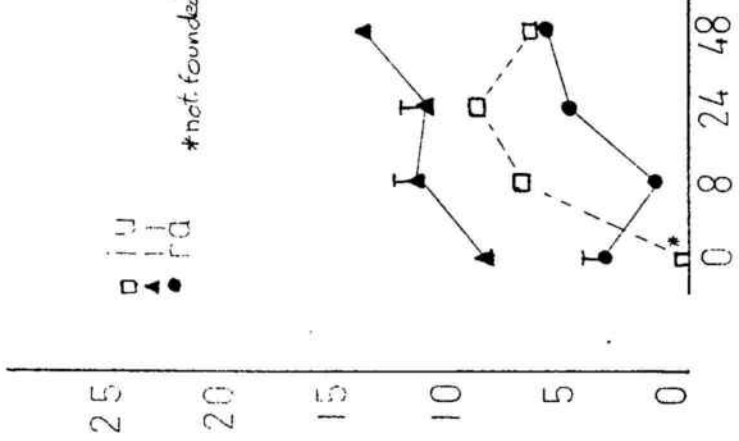
EPIDERMIS



EPIDERMIS



EPIDERMIS



EPIDERMIS

D. Estudios con UVB = media global

(CD1a) Leu T6 Se aprecia un descenso de las células T6 + en la epidermis y en la dermis en solo dos pacientes.

(CD8) Leu 2A Se observa un descenso de las células 2A+ en la dermis y en la epidermis sólo en dos pacientes.

(CD4) Leu 3A Se aprecia un descenso de células 3A+ en la dermis y en la epidermis sólo en dos pacientes.

HLD-Dr Unicamente en dos pacientes se aprecian descensos celulares en la dermis y en la epidermis.

HLA-Dp Descenso de células en la dermis y la epidermis.

HLA-Dp Descenso de células en epidermis y en la dermis y la epidermis en sólo dos pacientes

Conclusión

Después del tratamiento con UVB se aprecia un descenso de las células de Langerhans, linfocitos T helper, linfocitos T y las células de la clase II.

EL EFECTO DEL UVB SOBRE LA PIEL DE 3 PACIENTES ATOPICOS

ESTUDIO DEL			EPIDERMIS		DERMIS								
			Nº de cel s /100QUERATINOCITOS BASALES, (media ±sem)				Nº de cel s /MM ² x10 ⁻⁴ (media ±sem)						
			ANTICUERPOS MONOCLONALES										
UVB					T 6	2 A	3 A	M 3	T 6	2 A	3 A	M 3	
Tiempo	Paciente	BIOPS nº	J N	SP 34	18.4 ± 2.1	0.35±0.09	0.71±0.15	MD	1.09 ± 0.08	0.3 ± 0.03	1.29 ± 0.11	0.1 ± 0.02	
PRE UVB	GT	SP 35			17.0 ± 2.0	0.12 ± 0.06	0.12 ± 0.05	0.04 ± 0.04	0.73 ± 0.06	0.12 ± 0.03	0.83 ± 0.15	0.02 ± 0.01	
	BR	SP 36			16.6 ± 1.6	0.12 ± 0.12	MD	MD	0.21 ± 0.03	0.02 ± 0.001	0.09 ± 0.03	0.04 ± 0.02	
POST UVB	JN	SP 32			6.5 ± 0.5	MD	0.19 ± 0.09	MD	0.54 ± 0.04	0.09 ± 0.03	0.21 ± 0.04	0.05 ± 0.03	
	GT	SP 38			10.6 ± 1.4	0.69±0.27	0.04 ± 0.03	MD	0.92 ± 0.08	0.07 ± 0.02	0.6 ± 0.09	0.04 ± 0.01	
	BR	SP 37			14.9 ± 1.5	0.03 ± 0.03	MD	MD	0.16 ± 0.03	0.004 ± 0.002	0.2 ± 0.06	MD	

MD= no detectado

TABLA(4)

EL EFECTO DEL UVB SOBRE LA PIEL DE 3 PACIENTES ATOPICOS

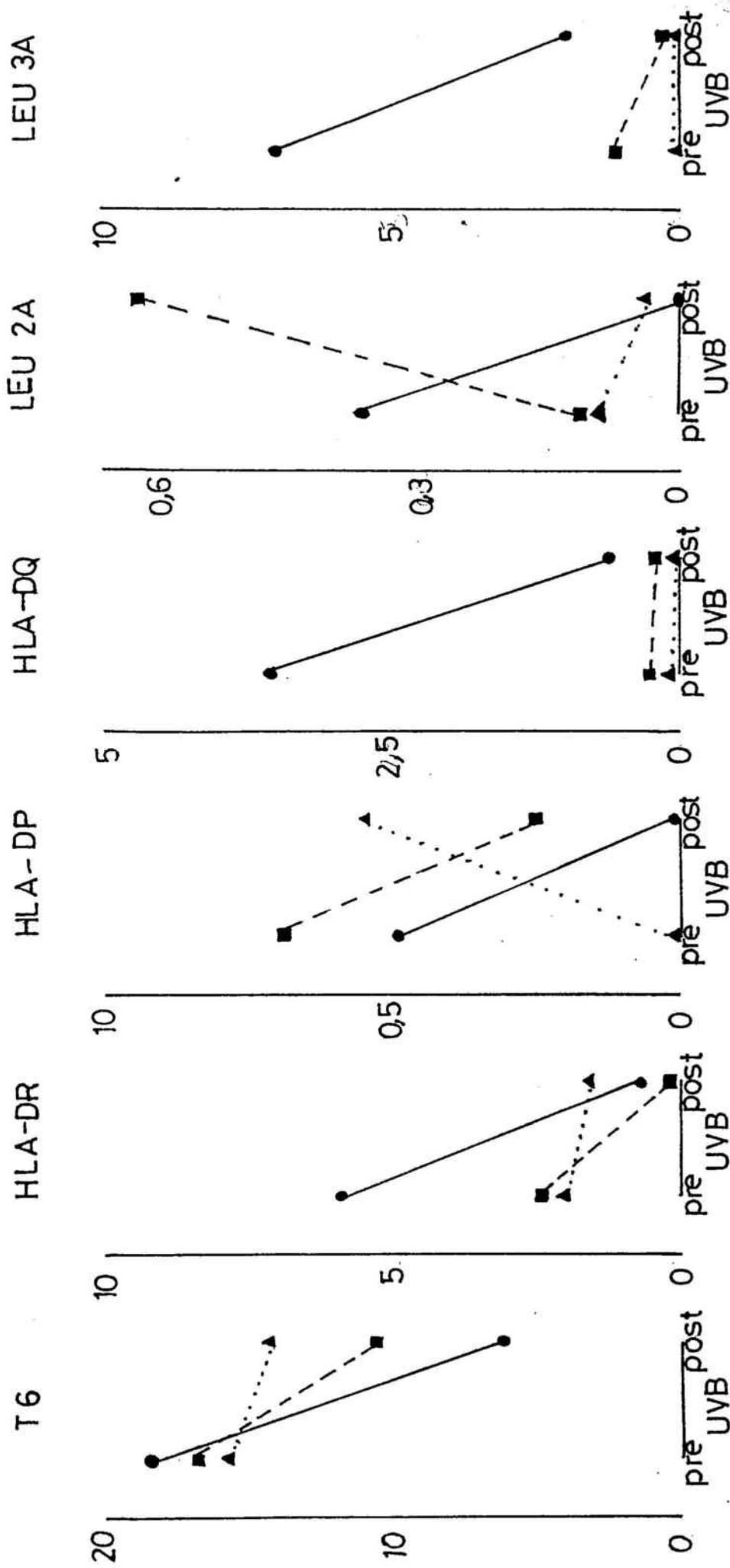
ESTUDIO DEL UVB			EPIDERMIS		DERMIS			
			N° de cels/100 Queratinocitos 3. media $\pm$ sem)		N° de cels/ MM ² $\times 10^{-4}$ (media $\pm$ sem)			
ANTICUERPOS MONOCLONALES								
Tiempo	Paciente	BIOPS n°	HLA-DR	HLA-DP	HLA-DQ	HLA-DR	HLA-DP	HLA-DQ
			HLA-DR	HLA-DP	HLA-DQ	HLA-DR	HLA-DP	HLA-DQ
PRE UVB	J N	SP 34	6.0 $\pm$ 0.59	0.5 $\pm$ 0.13	3.6 $\pm$ 0.68	2.98 $\pm$ 0.1	0.56 $\pm$ 0.07	1.86 $\pm$ 0.05
	G T	SP 35	2.44 $\pm$ 0.26	0.69 $\pm$ 0.26	0.5 $\pm$ 0.28	2.6 $\pm$ 0.38	2.16 $\pm$ 0.2	0.62 $\pm$ 11
	B R	SP 36	2.3 $\pm$ 0.25	MD	0.12 $\pm$ 0.12	1.01 $\pm$ 0.18	0.15 $\pm$ 0.14	0.03 $\pm$ 0.02
POST UVB	J N	SP 32	0.8 $\pm$ 0.22	MD	0.6 $\pm$ 0.16	1.19 $\pm$ 0.16	0.17 $\pm$ 0.05	0.71 $\pm$ 0.14
	G T	SP 38	1.69 $\pm$ 0.55	0.25 $\pm$ 0.13	0.46 $\pm$ 0.17	2.5 $\pm$ 0.21	0.24 $\pm$ 0.05	0.76 $\pm$ 0.11
	B R	SP 37	1.64 $\pm$ 0.81	0.56 $\pm$ 0.26	MD	1.31 $\pm$ 0.14	0.04 $\pm$ 0.02	0.01 $\pm$ 0.01

MD= no detectado

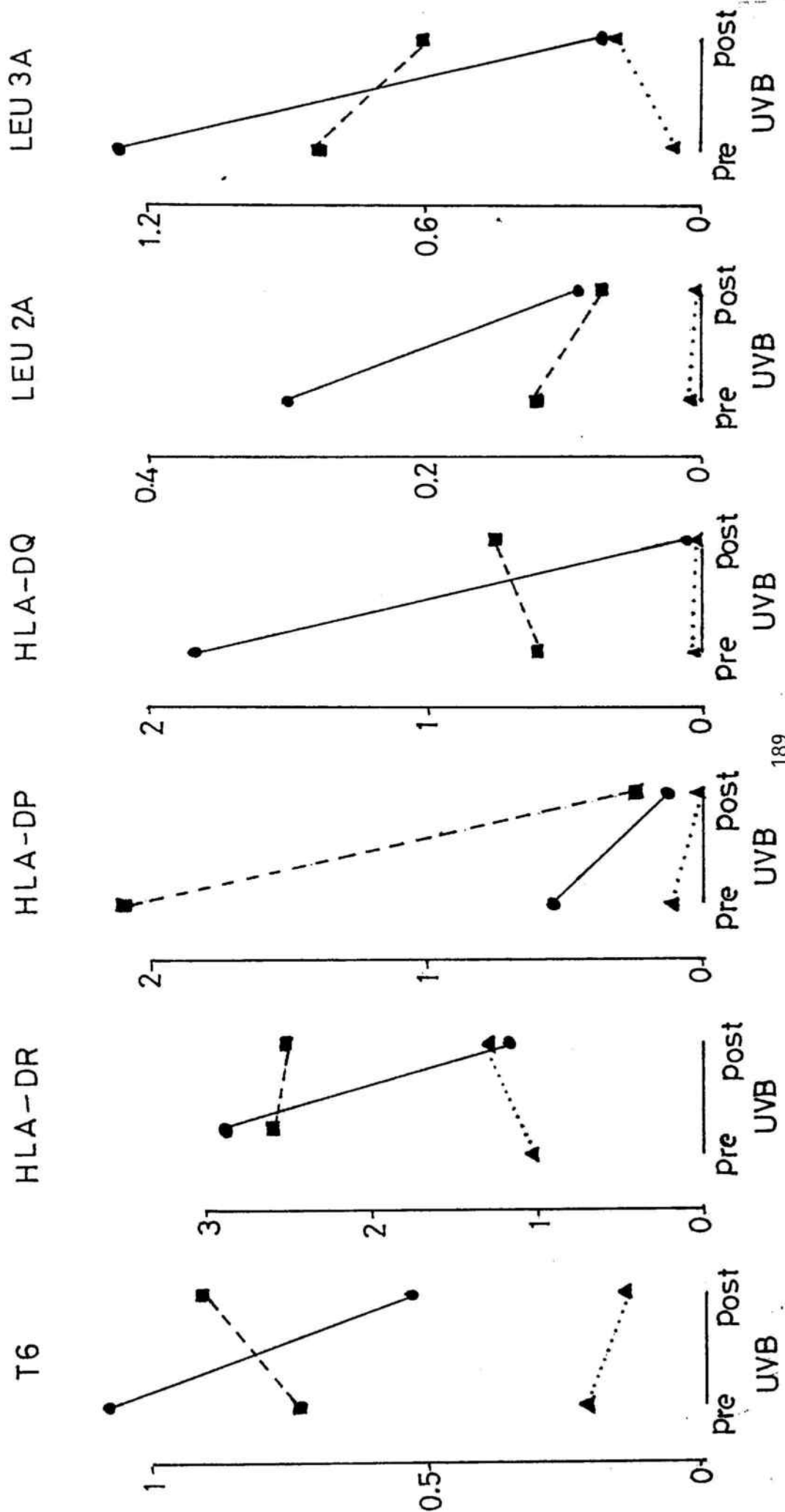
TABLA 42

EL EFECTO DEL UVB SOBRE LA PIEL DE 3 PACIENTES ATOPICOS

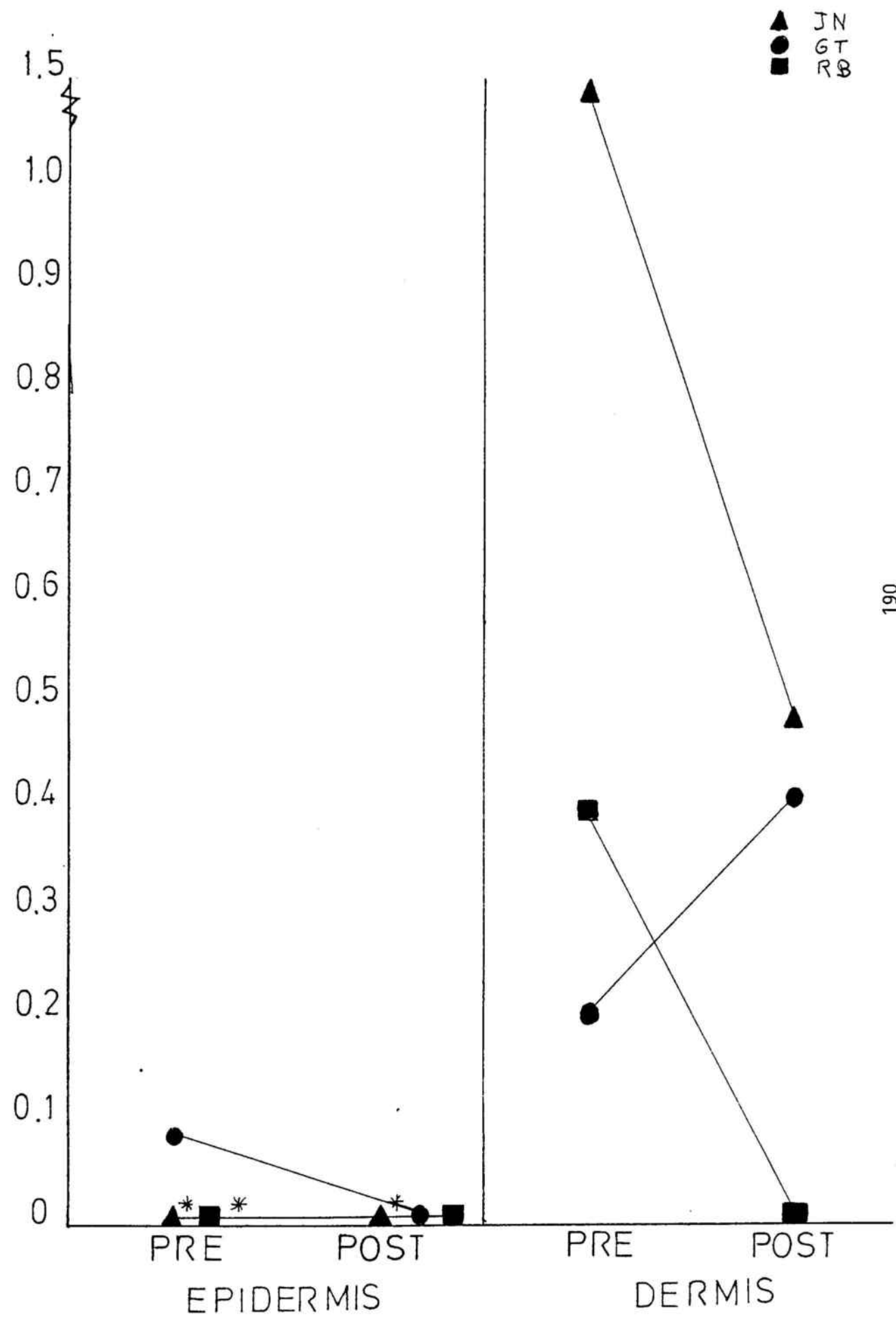
NUMERO DE CELULAS MARCADAS POR 100 QUERATINOCITOS BASALES EPIDERMICOS



NUMERO DE CELULAS MARCADAS POR 2^{-4} MMX 10 DERMIS



TABLA(44) EL EFECTO DEL UV3 SOBRE LA PIEL DE 3 PACIENTES ATOPICOS
UVB en M3⁺ CELS.



E. Estudio de la piel afecta y no afecta en la dermatitis atópica

Se ha realizado un análisis estadístico utilizando la prueba de Wilcoxon, la prueba U de Mann Whitney y la prueba de la mediana y la amplitud intercuartil.

(CD1a) Leu T6:

- Prueba de Wilcoxon. No se observan diferencias estadísticas entre la piel afecta y no afecta ni en la dermis ni en la epidermis.
- Prueba U de Mann Whitney. Se observa una diferencia estadística entre la piel sin atopia y la afecta y no afecta en pacientes con dermatitis atópica tanto en la dermis como en la epidermis.
- Mediana y amplitud intercuartil. Los valores de la mediana son más altos en la piel afecta que en la no afecta y en la control tanto en la epidermis como en la dermis. Para la piel normal, la amplitud intercuartil es muy pequeña en comparación con la de la piel afecta y no afecta de pacientes con dermatitis atópica.

(CD8) Leu 2a:

- Prueba de Wilcoxon: Existe una diferencia estadística a nivel de la epidermis entre la piel afecta y no afecta de pacientes con dermatitis atópica. No se observa diferencia estadística en la dermis.

- Prueba de U de Mann Whitney. Existe una diferencia estadística tanto en la epidermis como en la dermis entre la piel sin atopía y la afecta y no afecta de pacientes con dermatitis atópica.
- Mediana y amplitud intercuartil. Los valores de la mediana son más altos en la piel afecta que en la no afecta y en los controles de piel normal sin atopía la amplitud intercuartil es muy pequeña en comparación con la de la piel afecta y no afecta en pacientes con dermatitis atópica.

(CD4) Leu 3a:

- Prueba de Wilcoxon. Se observa una diferencia estadística a nivel de la epidermis entre la piel afecta y no afecta en pacientes con dermatitis atópica. No se encuentra diferencia estadística en la dermis.
- Prueba U de Mann Whitney. Se observa una diferencia estadística a nivel de la epidermis entre la piel de pacientes sin atopía y piel no afecta. No se observa diferencia estadística en la dermis.

Tanto en la epidermis como en la dermis se encuentra una diferencia estadística entre la piel de pacientes sin atopía y la piel de pacientes afectados.

- Mediana y amplitud intercuartil. Los valores de la mediana son más altos en la piel afecta que en la no afecta y en la de los controles tanto en la dermis como

en la epidermis. Para la piel normal sin atopia, la amplitud intercuartil es muy pequeña en comparación con la de la piel afecta y no afecta de pacientes con dermatitis atópica.

Ratio CD4/CD8 en dermis y epidermis

$$\text{Epidermis no afecta : } \frac{\text{CD4}}{\text{CD8}} = 1.13$$

$$\text{Epidermis afecta: } \frac{\text{CD4}}{\text{CD8}} = 1.19$$

$$\text{Dermis no afecta: } \frac{\text{CD4}}{\text{CD8}} = 0.79$$

$$\text{Dermis afecta: } \frac{\text{CD4}}{\text{CD8}} = 2.57$$

- En la epidermis no afecta hay más células CD4 que células CD8.
- En la dermis no afecta hay más células CD8 que células CD4.
- La razón entre epidermis y dermis no afectas arroja unos valores más próximos.
- En la epidermis afecta hay más células CD4 que células CD8.
- En la dermis afecta hay más células CD4 que células CD8.
- La razón entre epidermis y dermis no afectas arroja valores con grandes diferencias.
- Tanto en la epidermis afecta como en la no afecta, el cociente tiende a 1.

M3:

- Prueba de Wilcoxon. No se observa diferencia estadística entre la piel afecta y no afecta ni en epidermis ni en dermis.
- Prueba U de Mann Whitney. No se observa diferencia estadística entre piel afecta, no afecta y control ni en dermis ni en epidermis.
- Mediana y amplitud intercuartil: Los valores de la mediana son más altos en la piel no afecta que en la afecta y en la control tanto en epidermis como en dermis. No se observa diferencia significativa para la amplitud intercuartil.

HLA-DR:

- Prueba de Wilcoxon. Se observa diferencia estadística entre la piel afecta y no afecta en la epidermis de pacientes con dermatitis atópica.
- Prueba U de Mann Whitney. Existe una diferencia estadística entre la piel sin atopia y la piel afecta y no afecta a nivel de la epidermis en pacientes afectados de dermatitis atópica.
- Mediana y amplitud intercuartil. Los valores de la mediana son más altos en la piel afecta que en la no afecta y en la control. Para la piel normal sin atopia la amplitud intercuartil es muy pequeña en comparación con la de la piel afecta y no afecta de pacientes con dermatitis atópica.

HLA-DP y HLA-DQ:

- Prueba de Wilcoxon. No se observa diferencia estadística a nivel de la epidermis entre la piel afecta y no afecta.
- Prueba U de Mann Whitney. No realizada.
- Mediana y amplitud intercuartil. Los valores de la mediana son más altos en la piel afecta que en la no afecta de pacientes con dermatitis atópica.

En resumen: No existe una diferencia significativa entre la piel afecta y no afecta de pacientes con atopia, excepto para los linfocitos T colaboradores y T supresores a nivel de la epidermis. Existe una diferencia en el inmunofenotipo del infiltrado entre la piel control y la afecta y no afecta, excepto para los macrófagos.

EPIDERMIS MEDIA -SEM					DERMIS MEDIA -SEM				
PIEL NO AFECTA		PIEL AFECTA			PIEL NO AFECTA		PIEL AFECTA		
Paciente	N°	T6 ⁺ CELS. / 100 QB	N°	T6 ⁺ CELS. / 100 QB	N°	T6 ⁺ CELS. / mm ² x 10 ⁴	N°	T6 ⁺ CELS. / mm ² x 10 ⁴	
SH	AD 5	32.75 ± 2.26	AD 4	30.22 ± 1.53	AD 5	0.14 ± 0.14	AD 4	1.02 ± 0.05	
CC	AD17	45.04 ± 3.94	AD18	56.9 ± 5.52	AD17	1.15 ± 0.08	AD18	0.86 ± 0.15	
MC	AD29	41.7 ± 3.68	AD30	42.5 ± 3.31	AD29	1.15 ± 0.11	AD30	1.87 ± 0.11	
LF	AD32	51.7 ± 4.26	AD31	52.05 ± 2.66	AD32	1.69 ± 0.06	AD31	1.62 ± 0.12	
GT	AD34	47.6 ± 1.73	AD33	23.11 ± 2.63	AD34	0.97 ± 0.42	AD33	1.36 ± 0.07	
GL	AD36	38.02 ± 2.27	AD35	31.01 ± 3.3	AD36	2.40 ± 0.06	AD35	1.68 ± 0.69	
3S	AD38	40.14 ± 4.34	AD37	50.01 ± 4.66	AD38	1.51 ± 0.15	AD37	2.23 ± 0.14	
RD	AD40	45.94 ± 2.34	AD39	50.56 ± 2.21	AD40	0.94 ± 0.64	AD39	0.78 ± 0.20	
MCS	AD42	40.13 ± 3.04	AD41	36.48 ± 2.30	AD42	1.02 ± 0.04	AD41	1.35 ± 0.05	
M3	AD54	34.47 ± 1.60	AD55	69.71 ± 6.46	AD54	0.18 ± 0.03	AD55	0.65 ± 0.06	
J V	AD57	65.9 ± 3.25	AD56	72.21 ± 3.58	AD57	0.76 ± 0.05	AD56	1.31 ± 0.09	
PM	AD59	35.3 ± 1.30	AD58	56.23 ± 2.76	AD59	0.57 ± 0.02	AD58	12.6 ± 0.05	
		43.94	2.66	47.58	4.46	1.04	0.18	1.33	0.13

Paciente	EPIDERMIS MEDIA-SEM				DERMIS MEDIA-SEM			
	PIEL NO AFECTA		PIEL AFECTA		PIEL NO AFECTA		PIEL AFECTA	
	N°	2A ⁺ CELS. / 100 QB	N°	2A ⁺ CELS. / 100 QB	N°	2A ⁺ CELS. / mm ² x 10 ⁴	N°	2A ⁺ CELS. / mm ² x 10 ⁴
SH	AD 5	2.08 ± 0.64	AD 4	2.36 ± 0.38	AD 5	0.22 ± 0.06	AD 4	0.33 ± 0.01
CC	AD17	3.85 ± 0.70	AD18	8.20 ± 4.60	AD17	0.52 ± 0.06	AD18	0.93 ± 0.04
MC	AD29	13.45 ± 3.36	AD30	21.07 ± 2.43	AD29	0.78 ± 0.22	AD30	0.71 ± 0.39
LF	AD32	2.59 ± 0.86	AD31	6.83 ± 3.27	AD32	0.78 ± 0.10	AD31	0.55 ± 0.08
GT	AD34	1.45 ± 0.41	AD33	12.6 ± 0.60	AD34	0.42 ± 0.05	AD33	0.62 ± 0.08
GL	AD36	3.4 ± 1.96	AD35	4.23 ± 0.22	AD36	3.07 ± 0.11	AD35	0.48 ± 0.02
BS	AD38	5.24 ± 3.15	AD37	14.62 ± 5.39	AD38	0.82 ± 0.45	AD37	1.06 ± 0.50
RD	AD40	3.25 ± 1.86	AD39	5.02 ± 1.11	AD40	0.63 ± 0.01	AD39	0.65 ± 0.07
MCS	AD42	9.35 ± 3.56	AD41	9.18 ± 0.22	AD42	1.23 ± 0.08	AD41	1.04 ± 0.04
M B	AD54	8.05 ± 0.21	AD55	17.95 ± 2.12	AD54	0.56 ± 0.08	AD55	1.23 ± 0.12
J V	AD57	5.06 ± 2.44	AD56	3.05 ± 1.29	AD57	0.40 ± 0.14	AD56	0.66 ± 0.24
PM	AD59	NEG	AD58	2 ± 2	AD59	0.14 ± 0.01	AD58	0.16 ± 0.16
		4.81 ± 1.09		8.92 ± 1.83		0.79 ± 0.22		0.70 0.09

TABLA (47)

EPIDERMIS MEDIA-SEM		DERMIS MEDIA-SEM			
PIEL NO AFECTA		PIEL AFECTA		PIEL NO AFECTA	
N°	3 A ⁺ CELS. / 100 QB	N°	3A ⁺ CELS. / 100 QB	N°	3A ⁺ CELS. / mm ² x 10 ⁻⁴
SH	AD 5 0.34 ± 0.34	AD 4 1.12 ± 1.12	AD 5 1 ± 0.63	AD 4 0.72 ± 0.07	3A ⁺ CELS. / mm ² x 10 ⁻⁴
CC	AD 17 4.02 ± 1.05	AD 18 1.47 ± 0.50	AD 17 1.06 ± 0.28	AD 18 1.78 ± 0.35	
MC	AD 29 3.29 ± 1.10	AD 30 12.57 ± 6.44	AD 29 2.03 ± 0.12	AD 30 2.28 ± 0.39	
LF	AD 32 15.5 ± 0.85	AD 31 22.7 ± 0.70	AD 32 3.26 ± 0.03	AD 31 1.85 ± 0.02	
GT	AD 34 5.36 ± 0.92	AD 33 9.7 ± 0.55	AD 34 1.12 ± 0.10	AD 33 1.73 ± 0.06	
GL	AD 36 10.71 ± 1.34	AD 35 8.48 ± 2.23	AD 36 3.37 ± 0.07	AD 35 1.70 ± 0.08	
BS	AD 38 8.88 ± 7.25	AD 37 12.65 ± 1.62	AD 38 2.89 ± 0.30	AD 37 3.36 ± 1.3	
RD	AD 40 NEG	AD 39 15.34 ± 0.26	AD 40 0.01 ± 0.01	AD 39 1.67 ± 0.01	
MCS	AD 42 1.29 ± 0.70	AD 41 2.69 ± 2.69	AD 42 0.52 ± 0.46	AD 41 1.24 ± 1.24	
M3	AD 54 3.7 ± 3.60	AD 55 14.56 ± 1.28	AD 54 1.48 ± 0.10	AD 55 2.18 ± 0.48	
JV	AD 57 6.3 ± 6.31	AD 56 13.86 ± 3.44	AD 57 1.23 ± 0.09	AD 56 1.64 ± 0.14	
PM	AD 59 6.04 ± 3.64	AD 58 12.8 ± 3.20	AD 59 0.52 ± 0.12	AD 58 1.49 ± 0.01	
	5.45 ± 1.30	10.66 ± 1.84	1.54 ± 0.32	1.80 ± 0.18	

TABLA (48)

EPIDERMIS MEDIA-SEM				DERMIS MEDIA-SEM				
PIEL NO AFECTA		PIEL AFECTA		PIEL NO AFECTA		PIEL AFECTA		
Paciente	N°	M3 ⁺ CELS. / 100 QB	N°	M3 ⁺ CELS. / 100QB	N°	M3 ⁺ CELS. / mm ² x 10 ⁻⁴	N°	M3 ⁺ CELS. / mm ² x 10 ⁻⁴
SH	AD 5	NEG	AD 4	NEG	AD 5	0.30 ± 0.02	AD 4	0.61 ± 0.08
CC	AD17	NEG	AD18	NEG	AD17	0.66 ± 0.10	AD18	0.51 ± 0.08
MC	AD29	NEG	AD30	NEG	AD29	0.24 ± 0.10	AD30	0.30 ± 0.01
LF	AD32	19.02 ± 7.72	AD31	NEG	AD32	1.02 ± 0.02	AD31	0.55 ± 0.40
GT	AD34	NEG	AD33	NEG	AD34	0.33 ± 0.01	AD33	0.15 ± 0.04
GL	AD36	NEG	AD35	NEG	AD36	0.65 ± 0.11	AD35	0.41 ± 0.34
BS	AD38	NEG	AD37	8.27 ± 1.38	AD38	0.65 ± 0.10	AD37	0.26 ± 0.04
RD	AD40	4.65 ± 1.86	AD39	1.67 ± 1.68	AD40	1.40 ± 0.10	AD39	0.95 ± 0.35
MCS	AD42	NEG	AD41	NEG	AD42	0.05 ± 0.05	AD41	0.04 ± 0.02
M3	AD54	3.99 ± 2.97	AD55	2.18 ± 1.15	AD54	0.27 ± 0.01	AD55	0.66 ± 0.18
J V	AD57	NEG	AD56	2.89 ± 1.45	AD57	0.67 ± 0.01	AD56	0.70 ± 0.01
PM	AD59	NEG	AD58	NEG	AD59	0.52 ± 0.12	AD58	0.58 ± 0.02
		2.30 ± 1.59		1.25 ± 0.70		0.52 ± 0.11		0.48 ± 0.07

TABLA (49)

		EPIDERMIS MEDIA-SEM				EPIDERMIS MEDIA-SEM			
		PIEL NO AFECTA		PIEL AFECTA		PIEL NO AFECTA		PIEL AFECTA	
Paciente	N°	DR ⁺ CELS. / 100 QB	N°	DR ⁺ CELS. / 100 QB	N°	DP ⁺ CELS. / 100 QB	N°	DP CELS. / 100 QB	
SH	AD 5	5.7 ± 3.8	AD 4	7.02 ± 0.27	AD 5	3.36 ± 0.03	AD 4	3.84 ± 1.60	
CC	AD 17	16.05 ± 0.35	AD 18	27.3 ± 1.85	AD 17	8.77 ± 0.35	AD 18	17.25 ± 4.46	
MC	AD 29	9.34 ± 0.55	AD 30	26.03 ± 1.23	AD 29	9.32 ± 1.08	AD 30	4.18 ± 0.45	
LF	AD 32	18.16 ± 7.45	AD 31	25.23 ± 12.8	AD 32	30.9 ± 2.75	AD 31	32.8 ± 3.51	
GT	AD 34	30.5 ± 5.01	AD 33	21.05 ± 6.46	AD 34	16.82 ± 13.2	AD 33	9.14 ± 1.73	
GL	AD 36	14.09 ± 4.67	AD 35	11.7 ± 0.87	AD 36	10.5 ± 3.26	AD 35	6.69 ± 2.25	
BS	AD 38	59.05 ± 35.4	AD 37	23.93 ± 5.98	AD 38	26.1 ± 6.70	AD 37	26.05 ± 3.98	
RD	AD 40	13.91 ± 11.82	AD 39	32.1 ± 5.71	AD 40	24.06 ± 3.37	AD 39	27.79 ± 1.89	
MCS	AD 42	2.99 ± 0.90	AD 41	2.4 ± 3.41	AD 42	9.85 ± 9.85	AD 41	7.55 ± 7.56	
M3	AD 54	37.76 ± 0.57	AD 55	36.62 ± 7.54	AD 54	21.98 ± 0.60	AD 55	49.67 ± 23.69	
J V	AD 57	24.17 ± 8.45	AD 56	18.61 ± 8.20	AD 57	22.54 ± 12.98	AD 56	23.22 ± 10.10	
PM	AD 59	6.04 ± 6.05	AD 58	30.9 ± 3.30	AD 59	10.74 ± 0.15	AD 58	17.6 ± 3.20	
		19.81 ± 0.28		23.70 ± 2.41		16.24 ± 2.49		18.81 ± 4	

TABLA (50)

EPIDERMIS MEDIA-SEM				EPIDERMIS MEDIA-SEM				
PIEL NO AFECTA		PIEL AFECTA		PIEL NO AFECTA		PIEL AFECTA		
Paciente	N°	$DQ^{+}_{(eq_{10})}$ CELS. / 100 QB	N°	$DQ^{+}_{(eq_{10})}$ CELS. / 100 QB	N°	3734^{+} CELS / 100 QB	N°	3734^{+} CELS. / 100 QB
SH	AD 5	9.9 ± 0.97	AD 4	10.9 ± 0.42	AD 5	9.2 ± 0.70	AD 4	13.52 ± 0.70
CC	AD17	8.23 ± 2.27	AD18	25.3 ± 11.2	AD17	11.1 ± 0.60	AD18	15.4 ± 11.1
MC	AD29	4.66 ± 0.82	AD30	14.14 ± 5.37	AD29	7.12 ± 3.28	AD30	8.78 ± 0.70
LF	AD32	29.3 ± 2.10	AD31	20.52 ± 2.68	AD32	37.7 ± 9.47	AD31	39.9 ± 5.72
GT	AD34	25.45 ± 0.15	AD33	7.18 ± 2.59	AD34	4.62 ± 4.63	AD33	17.5 ± 0.30
GL	AD36	3.86 ± 0.65	AD35	1.33 ± 0.89	AD36	2.67 ± 1.34	AD35	11.2 ± 9.01
BS	AD38	6.41 ± 2.12	AD37	22.5 ± 17.60	AD38	15.21 ± 1.88	AD37	12.06 ± 0.34
RD	AD40	31.06 ± 5.55	AD39	30.8 ± 1.78	AD40	NEG	AD39	2 ± 0.06
MCS	AD42	24.8 ± 12.18	AD41	6.72 ± 2.69	AD42	31.5 ± 6.21	AD41	0.80 ± 0.50
M3	AD54	39.28 ± 2.86	AD55	32.37 ± 2.06	AD54	NEG	AD55	NEG
J V	AD57	17.08 ± 5.83	AD56	15.37 ± 5.97	AD57	32.02 ± 12.61	AD56	35.6 ± 12.83
P M	AD59	2.82 ± 2.82	AD58	4.4 ± 0.40	AD59	7.54 ± 6.78	AD58	13.75 ± 11.8
		16.87 ± 3.6		15.9 ± 3.59		13.22 ± 3.81		14.20 ± 3.59

MEDIA TOTAL DE VALORES

VALORES TOTALES	PIEL AFECTA	PIEL NO AFECTA	PIEL AFECTA	PIEL NO AFECTA
	EPIDERMIS		DERMIS	
T6	47.58 ± 4.46	43.94 ± 2.66	1.33 ± 0.13	1.04 ± 0.18
2A	8.92 ± 1.83	4.81 ± 1.09	0.70 ± 0.09	0.79 ± 0.22
3A	10.66 ± 1.84	5.45 ± 1.30	1.80 ± 0.18	1.54 ± 0.32
M3	1.25 ± 0.70	2.30 ± 1.59	0.48 ± 0.07	0.52 ± 0.11
HLA DR	23.70 ± 2.41	19.81 ± 0.28		
HLA DP	18.81 ± 4	16.24 ± 2.49		
HLA DQ< ^(leu 10) (b 734)	15.9 ± 2.99	16.87 ± 3.6		
	14.20 ± 3.59	13.22 ± 3.81		

RATIO: $\frac{\text{N}^{\circ} \text{ de ce ls. localizada/ 100 QB EPIDERMICAS}}{\text{N}^{\circ} \text{ de ce ls. localizadas/ mm}^2 \times 10^3 \text{ en la dermis}}$

anticuerpo monoclonal	NORMAL	PACIENTES ATOPICOS	
		PIEL NO AFECTA	PIEL AFECTA
T 6	55.5	42.2	35.7
2 A	1.06	6.08	12.74
3 A	1.2	3.5	5.92
M 3	0	4.41	2.60
HLA DR	2.8	3.4	1.1

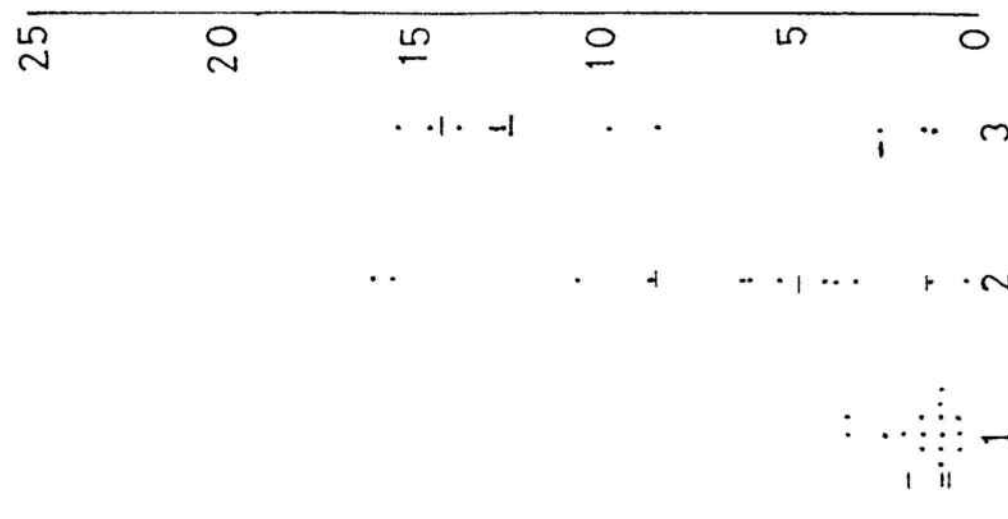
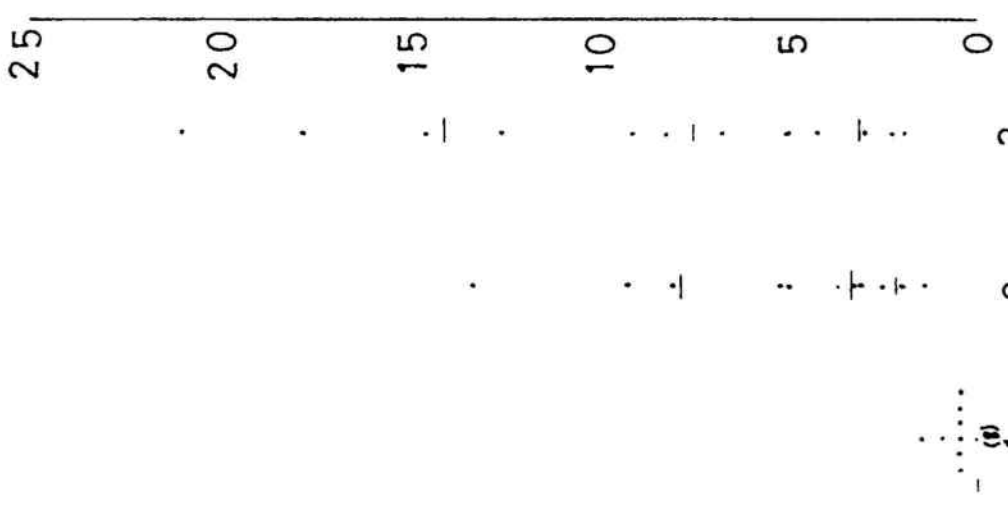
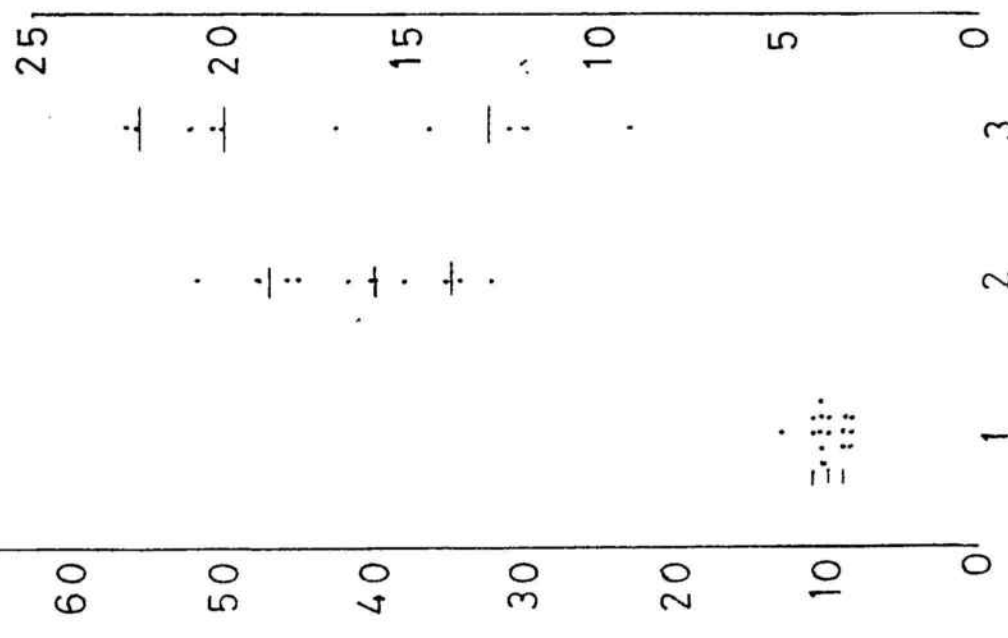
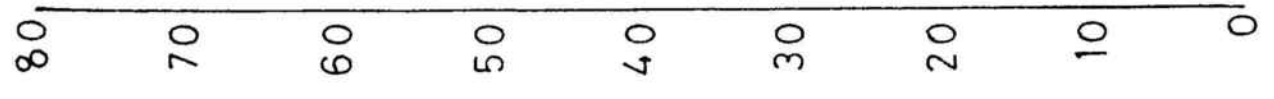
no atopicos(1)Piel no afectaatopica(2)y piel afecta atopica(3) epidermis

LEUM3

LEU 3A

LEU 2A

T 6



46)

41)

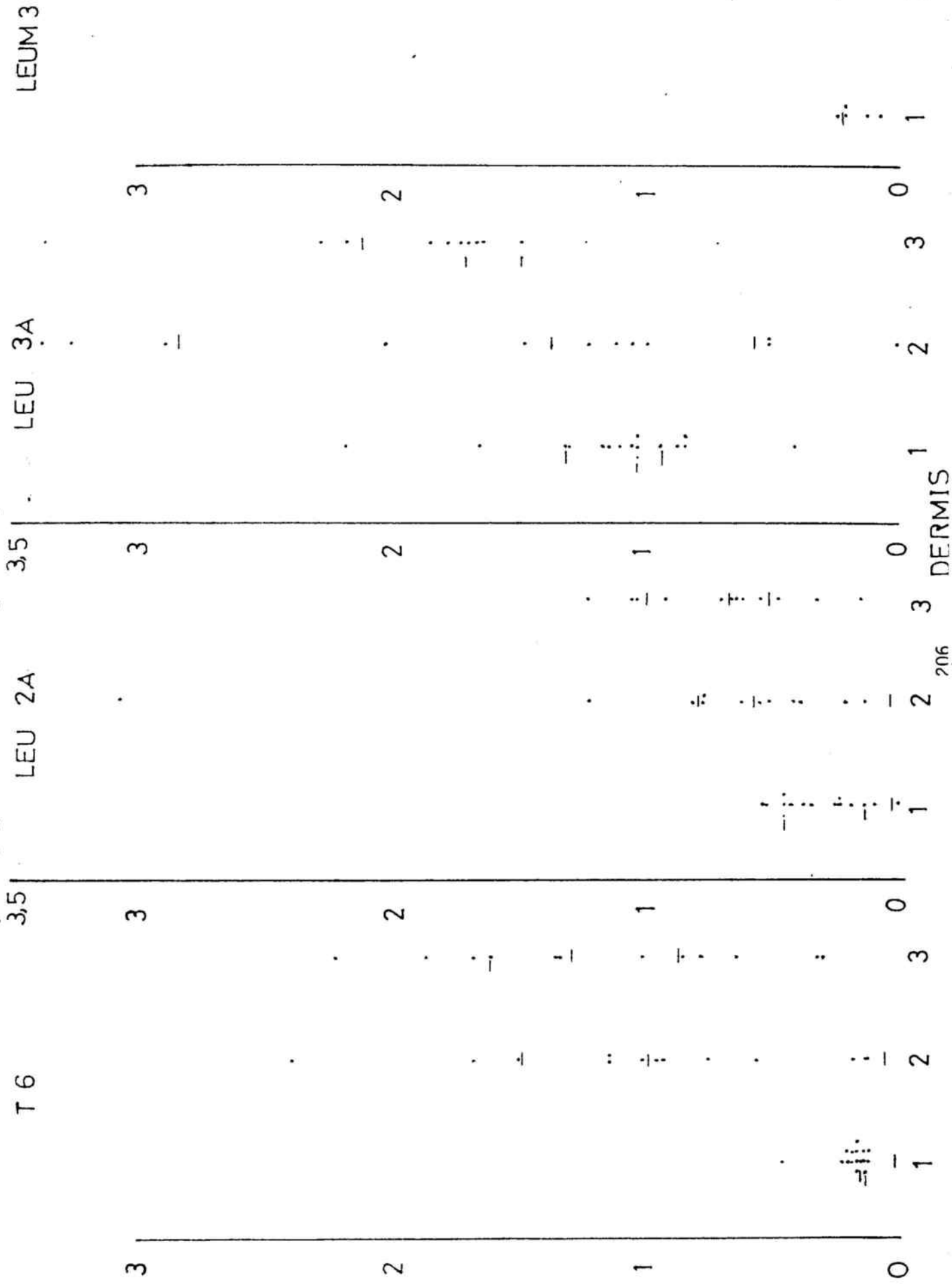
43)

EPIDERMIS

TA3LA (54)

NUMERO DE CELULAS MARCADAS POR MM X 10 DERMIS

no atópicos (1) piel no afectada atópica (2) y piel afectada atópica (3) dermis



no atopicos (1) Piel no afecta atopica(2) Y piel afecta atopica(3) epidermis

HLA - DR

HLA - DP

HLA - DQ

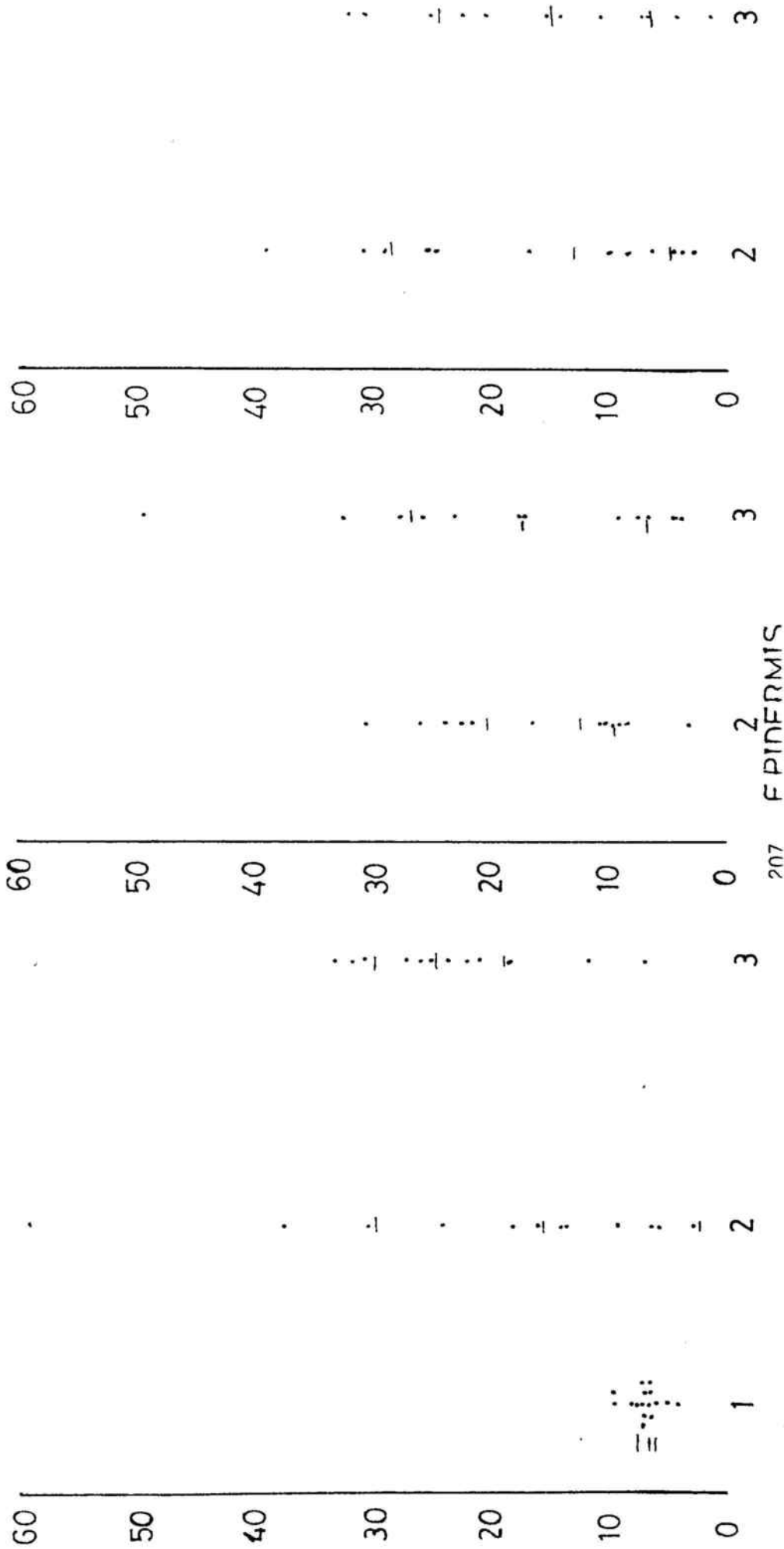


TABLA (56)

MANN WITNEX U TEST

	EPIDERMIS	DERMIS
T6	Piel no afecta	P<0.001
	Piel afecta	P<0.001
2A	Piel no afecta	P<0.001
	Piel afecta	P<0.001
3A	Piel no afecta	Insionificante
	Piel afecta	P<0.001
M3	Piel no afecta	Insionificante
	Piel afecta	Insionificante
HLADR	Piel no afecta	P<0.01
	Piel afecta	P<0.001

comparación de células que expresan positividad para los siguientes anticuerpos monoclonales en la epidermis y dermis en piel afópica afecta y no afecta.

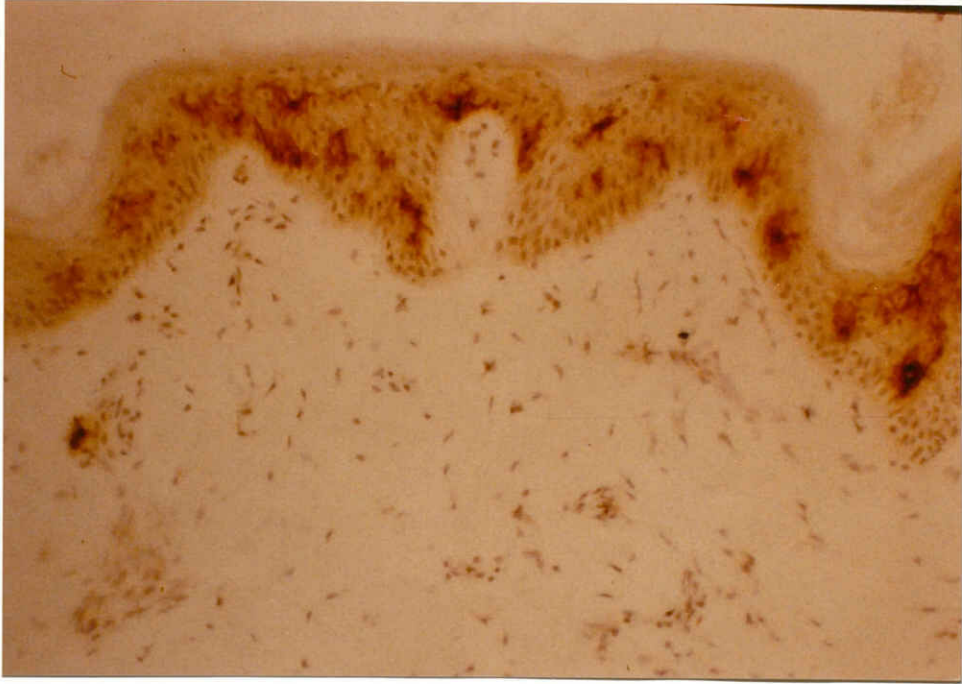
TA3LA (57)

	EPIDERMIS	DERMIS
T6	Insignificante	Insignificante
2A	P<0.02	Insignificante
3A	P<0.01	Insignificante
M3	Insignificante	Insignificante
HLADR	Insignificante	
HLADP	Insignificante	
HLADQ (leu 10)	Insignificante	

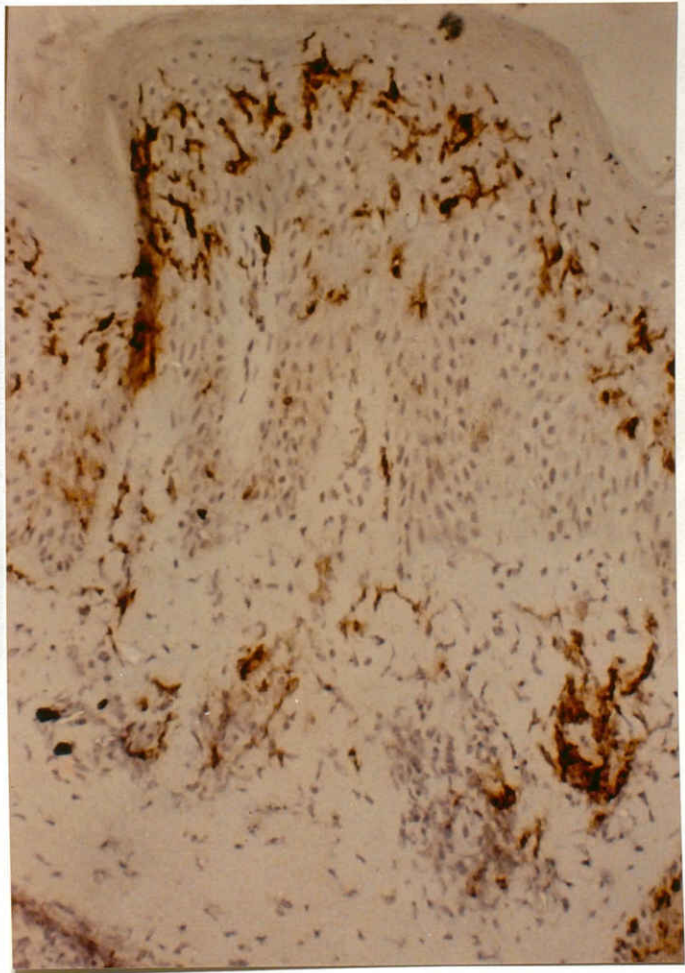
TABLA (58)

La distancia media para células que expresan positividad para los siguientes anticuerpos monoclonales en la epidermis y dermis en piel atópica afecta y no afecta.

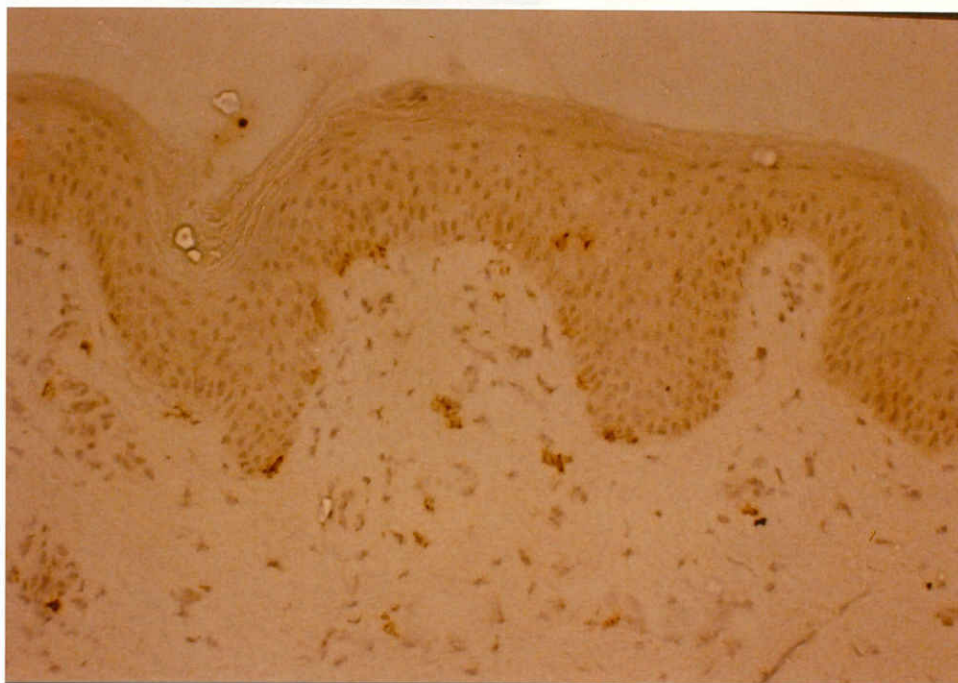
MONOCLONALES	EPIDERMIS		DERMIS	
	no atópica	atópica		no atópica
		Piel no afecta	Piel afecta	
T6	1.0 0.85-1.04	40.15 35-47	51.0 32-55.5	1.0 0.6-1.5 1.3 0.88-1.62
2A	0 -0.6	3.4 2.2-7.9	7.6 3.2-14.2	0.58 0.4-0.80 0.68 0.52-1.01
3A	1.0 0.8-1.9	4.8 1.4-8.6	12.4 2.8-14.2	1.38 0.58-2.84 1.72 1.49-2.12
M3				0.22 0.56 0.24-0.66 0.50 0.26-0.58
HLADR	6.5 6.0-7.5	15.5 2.2-29.9	24.9 19-30	
HLADP		12.5 9.5-20.5	17.5 6.8-27	
HLADQ		13 4.9-28.5	15 6.5-24.5	



CELULA CD1(+) PIEL NO AFECTA EN PACIENTES ATOPICOS (X10)

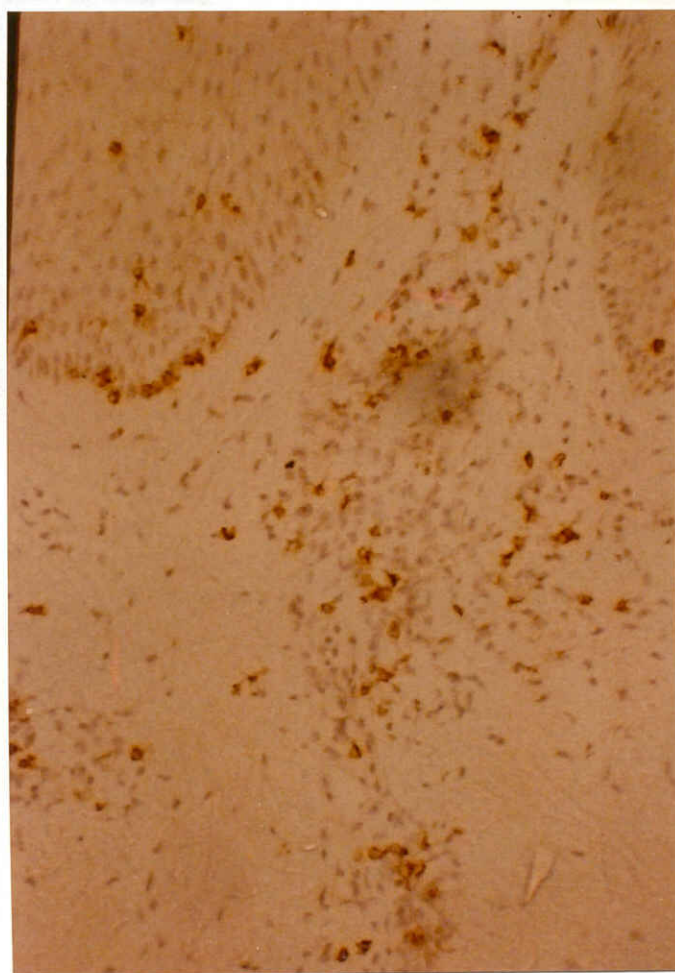


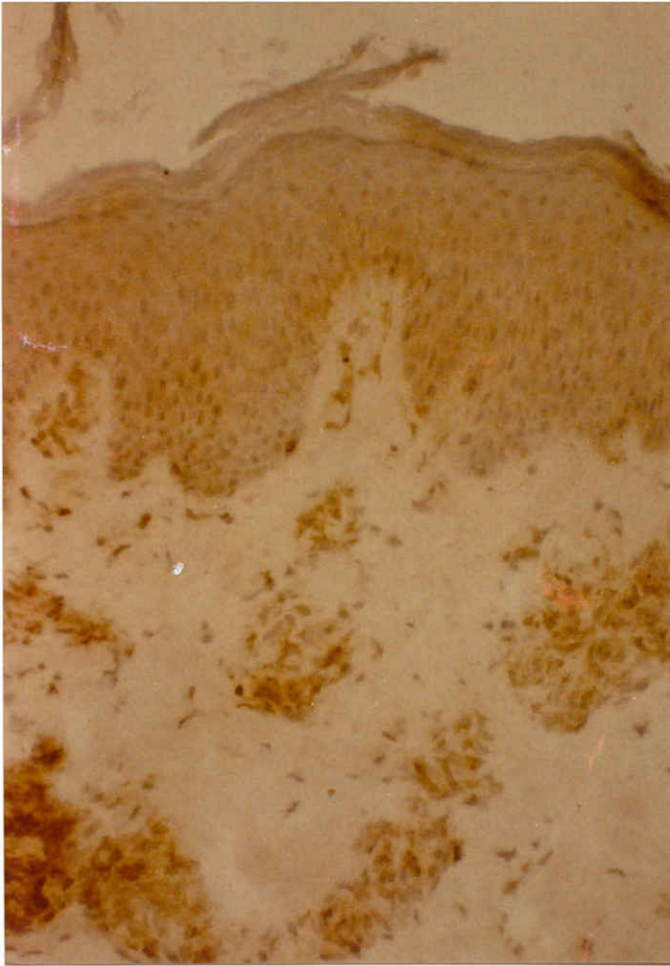
CELULA CD1(+) PIEL AFECTA
EN PACIENTES ATOPICOS (X10)



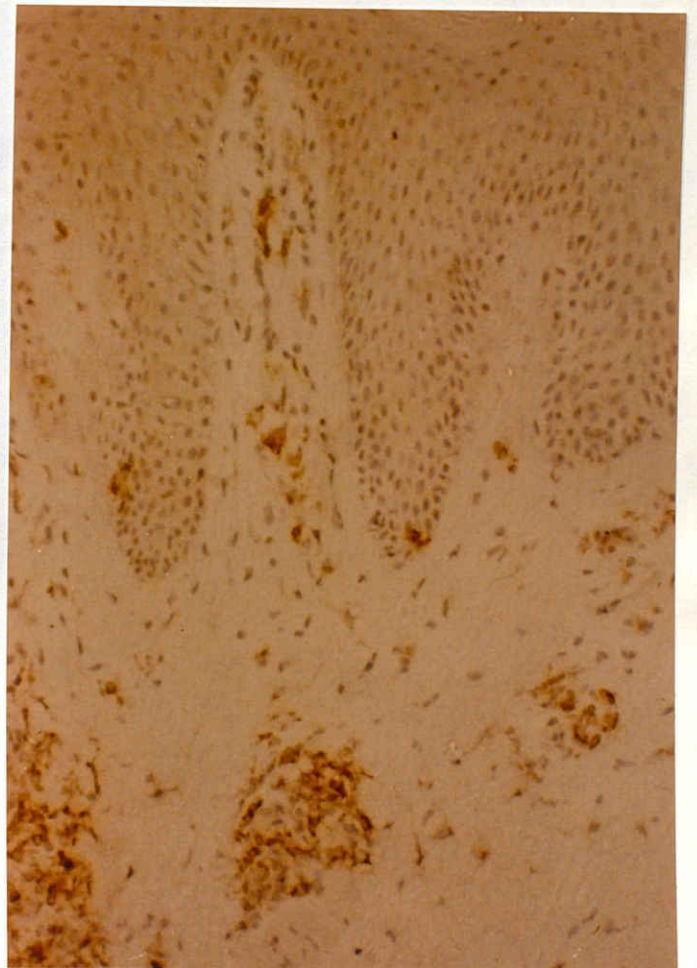
CELULAS CD8(+) EN PIEL NO AFECTA EN PACIENTES ATOPICOS (X10)

CELULAS CD8(+) EN PIEL
AFECTA EN PACIENTES
ATOPICOS (X10)

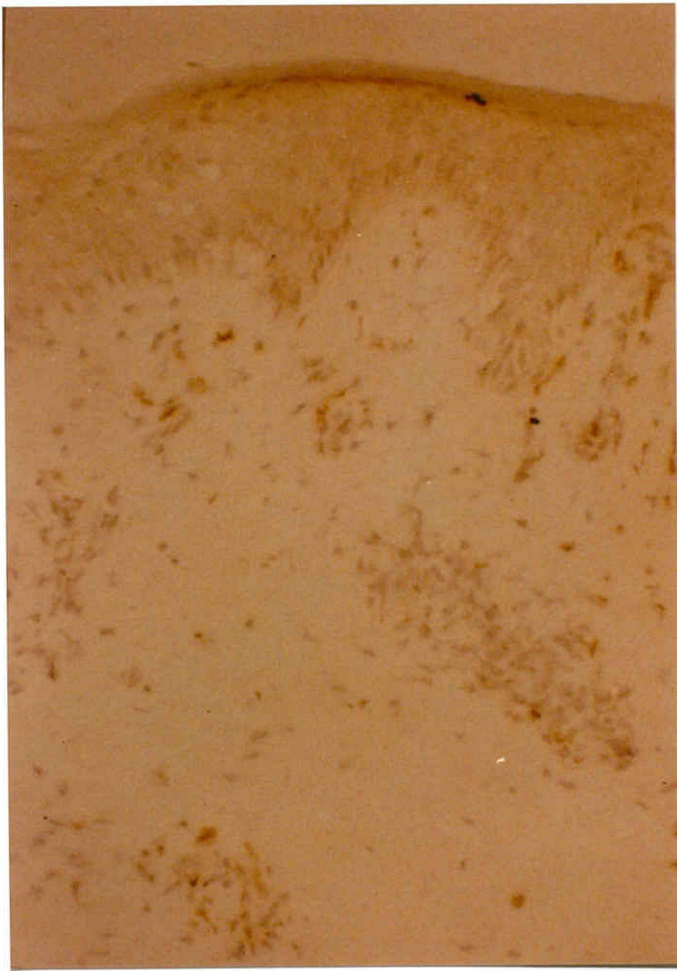




CELULAS DC4(+) EN PIEL
NO AFECTA EN PACIENTES
ATOPICOS (X10)



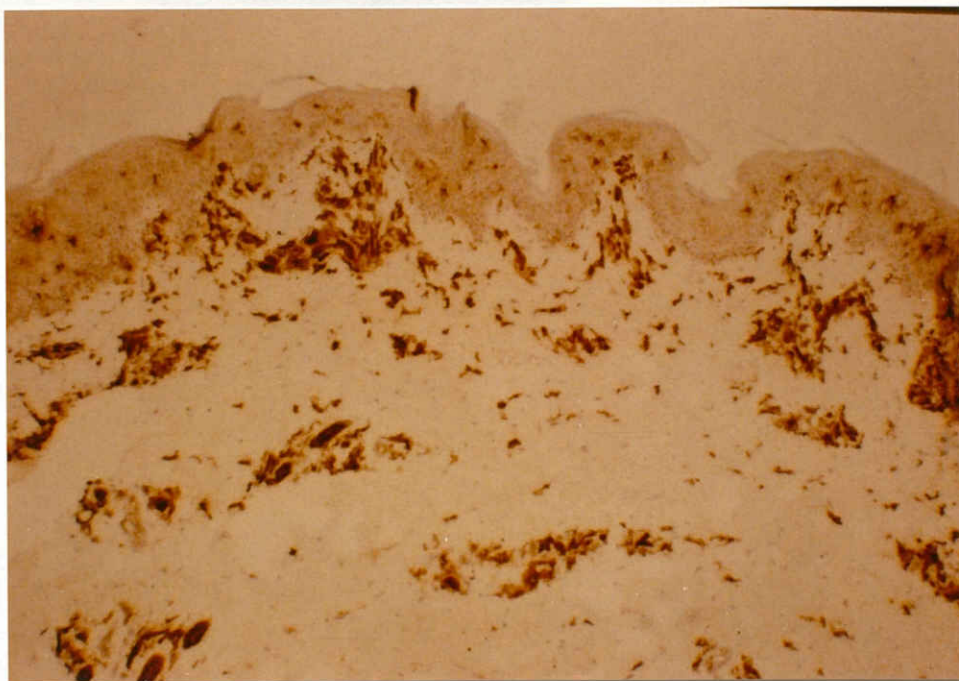
CELULAS CD4(+) EN PIEL
AFECTA EN PACIENTES
ATOPICOS (X10)



CELULAS CD14(+) EN PIEL
NO AFECTA EN PACIENTES
ATOPICOS (X10)

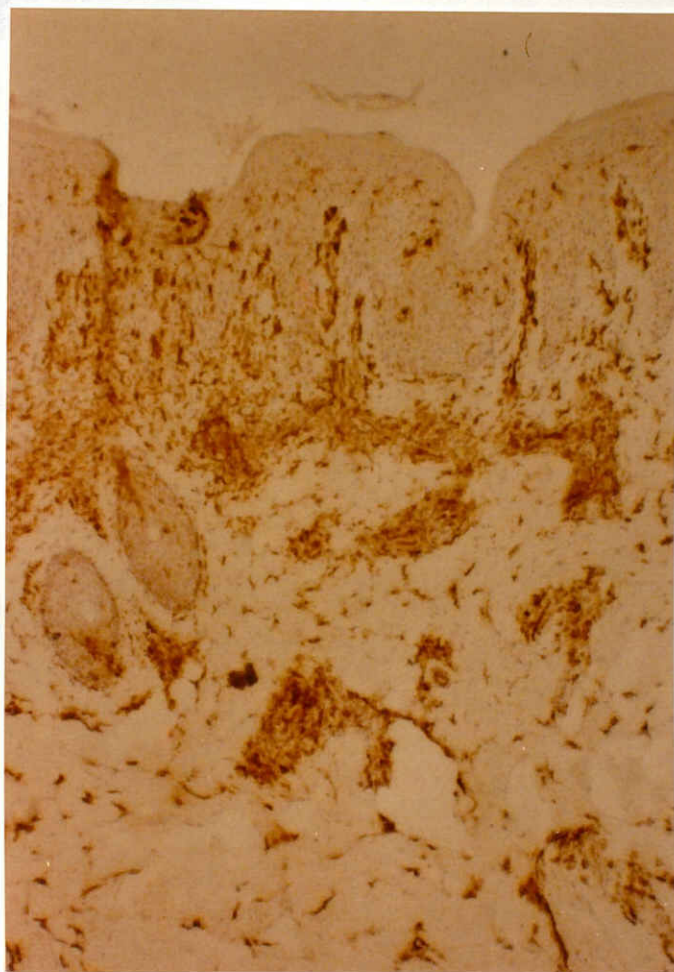
CELULAS DC14(+) EN PIEL
AFECTA EN PACIENTES
ATOPICOS (X4)

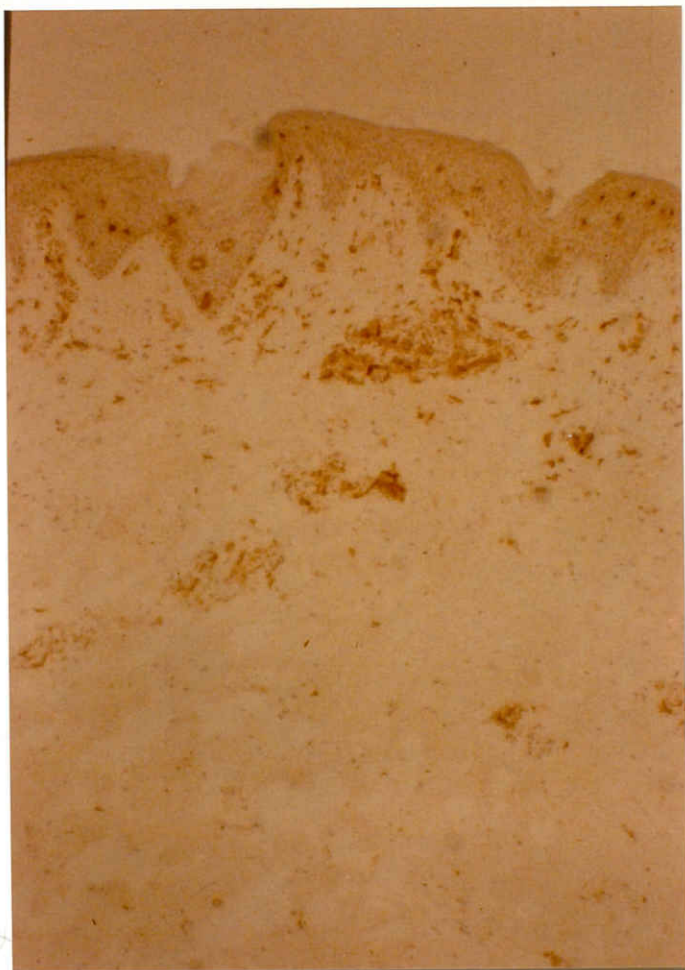




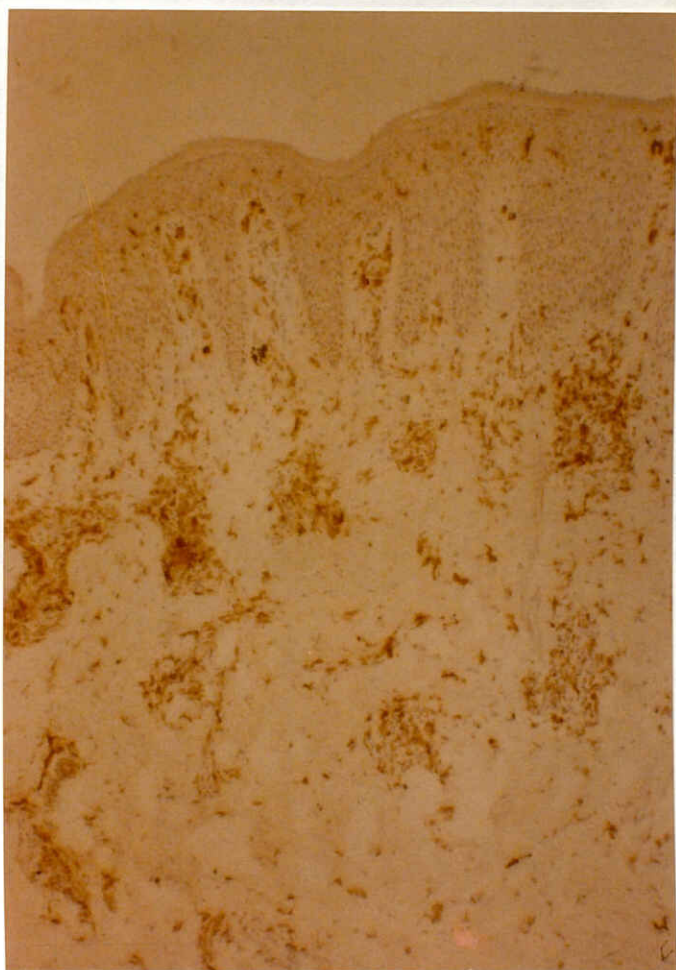
CELULAS HLA-DR+ EN PIEL NO AFECTA EN PACIENTES NO ATOPICOS
(X4)

CELULAS HLA-DR+ EN PIEL
AFECTA EN PACIENTES
ATOPICOS (X4)

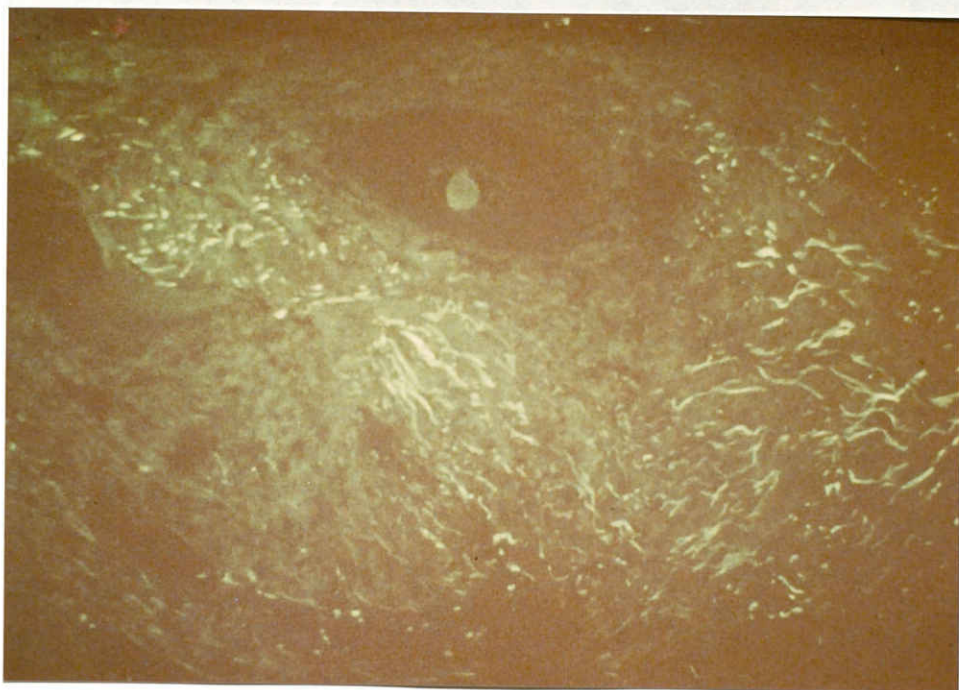




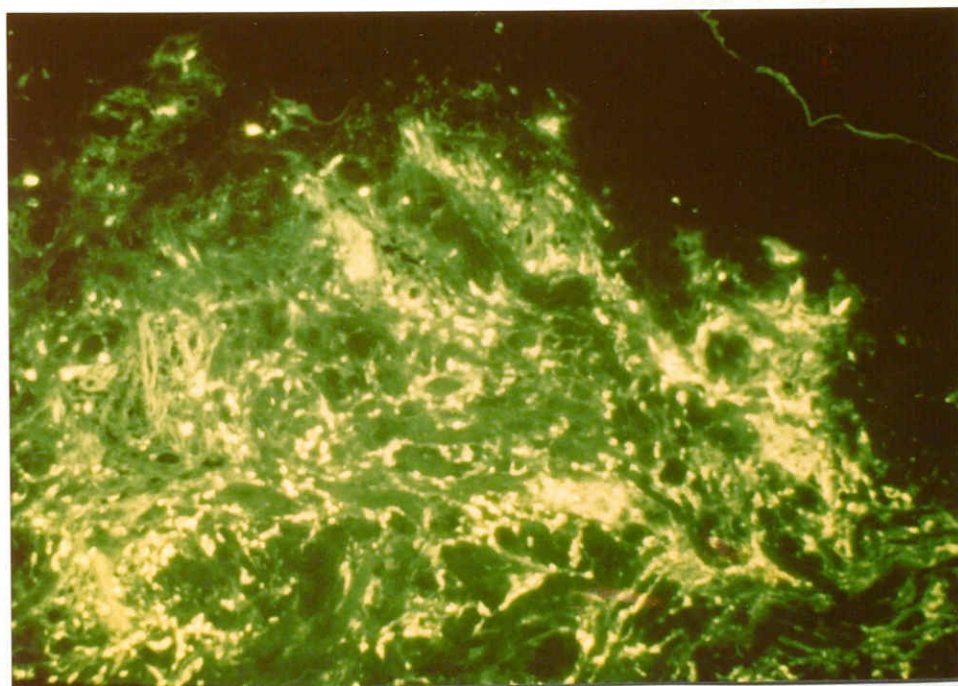
CELULAS HLA-DP+ EN PIEL
NO AFECTA EN PACIENTES
ATOPICOS (X10)



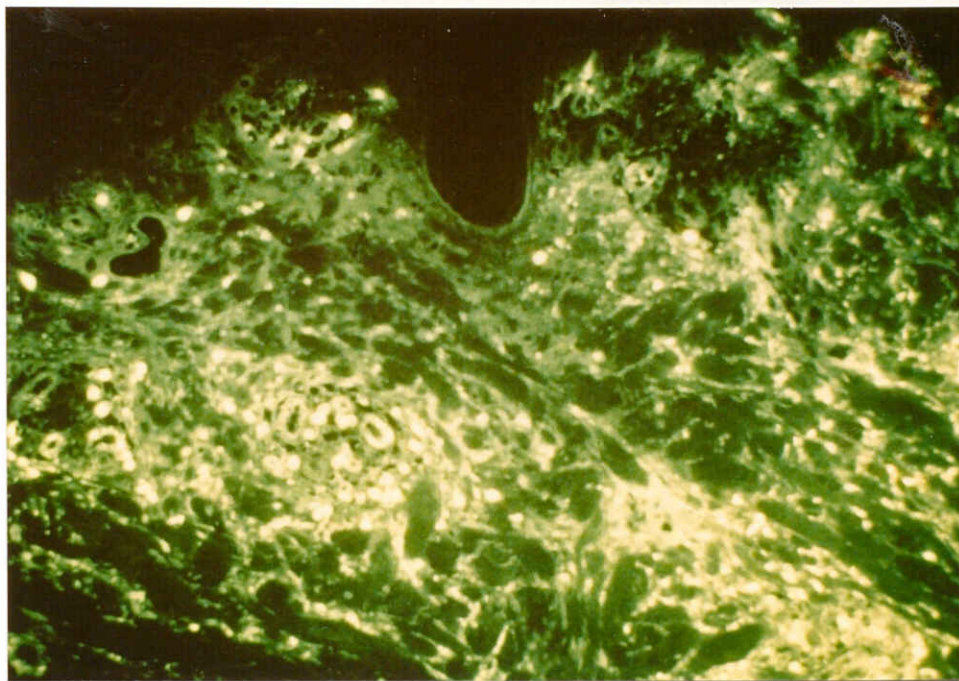
CELULAS HLA-DP+ EN PIEL
AFECTA EN PACIENTES
ATOPICOS (X4)



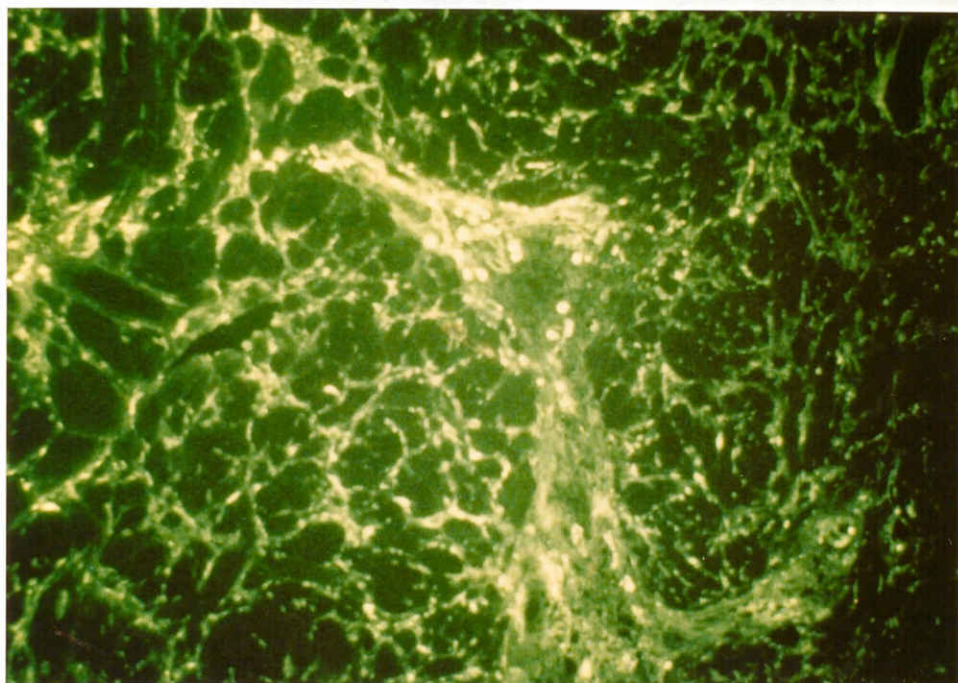
TINCION PARA LA PROTEINA BASICA MAYOR - CONTROL (X160)



TINCION PARA LA PROTEINA BASICA MAYOR A LAS 8H. TRAS
INYECCION INTRADERMICA DE ACARO POLVO DOMESTICO (X160)



TINCION PARA LA PROTEINA BASICA MAYOR A LAS 24H. TRAS LA INYECCION INTRADERICA DEL ACARO POLVO DOMESTICO (X160)



TINCION PARA LA PROTEINA BASICA MAYOR A LAS 48H. TRAS LA INYECCION INTRADERMICA DEL ACARO POLVO DOMESTICO (X160)

DISCUSION

Capítulo V

1. ESTUDIOS INMUNOPATOLOGICOS DEL TEST INTRADERMICO CON APD Y DEL TEST DEL PARCHES EN PIEL EXCORIADA Y NO EXCORIADA CON APD.

Es conocido que los alérgenos inhalatorios exacerban la enfermedad en muchos pacientes afectados de asma, fiebre del heno y dermatitis atópica (DA). También está aceptado que los pacientes con dermatitis persistente severa tienen concentraciones séricas elevadas de IgE específicas anti-APD que reflejan la gravedad de la enfermedad (Barnetson, 1981). Kanda (1984) halló antígenos de ácaros en la piel utilizando anticuerpos fluorescentes. En el mismo año, Mitchell y colaboradores aplicaron el APD en la piel de pacientes atópicos sensibilizados mediante una prueba del parche modificada y mostraron que el APD puede pasar a través de la piel excoriada e inducir lesiones eczematosas agudas. Gondo (1986) demostró la entrada percutánea de antígenos del ácaro en biopsias cutáneas mediante tinciones con hierro y describió una reacción urticaria típica de hipersensibilidad tipo I, que evolucionó con posterioridad a la reacción eczematososa típica de hipersensibilidad retardada tipo IV.

Recientemente se ha informado de diversas publicaciones que describen la aplicación del APD en la piel excoriada mediante el test del parche. Mitchell (1982), Gondo (1986), Norris (1987, 1988), Reitamo (1986) han enfatizado también

la importancia del APD como un factor exacerbante en la DA. Se han publicado pocos estudios sobre la inyección intradérmica de los alérgenos inhalatorios. Uehara (1976) inyectó caspa humana en la piel y mostró una correlación significativa entre el test del parche y el intradérmico. Mitchell (1984) inyectó APD en la piel de un grupo control no atópico y mostró respuesta haborosa a las 24 horas. Young (1985) inyectó APD en la piel de 18 pacientes con DA y en 10 pacientes atópicos sin dermatitis, señalando la existencia de una correlación clínica entre las dos pruebas. En todos estos estudios no hay información o ésta es insuficiente sobre el inmunofenotipo celular de las reacciones de las pruebas intradérmicas o del parche.

Uno de los principales objetivos de esta tesis ha sido el estudio de la naturaleza de la reacción inflamatoria tras la inyección del antígeno del APD.

Células CD1 +

En nuestro estudio del ácaro del polvo doméstico intradérmico se halló, mediante inmunofenotipado, un incremento en las células de Langerhans (CL) o células CD1 a las 8, 24 y 48 horas, tanto en la epidermis como en la dermis. En el estudio del test del parche se halló asimismo un incremento en las células CD1+ en la epidermis, tanto excoriada como no excoriada, pero no se apreciaron cambios en la dermis.

Estos resultados son similares a los que Bruynzeel-Koomen hallaron en 1988 mediante el test del parche con APD en piel

excoriada. Reitamo (1986) también señaló haber hallado un incremento del 30% en CL en las pruebas del parche con APD en piel excoriada. Existen diversos informes remarcando el incremento de CLs en la epidermis y la dermis en la dermatitis atópica. Leung (1983), Willemze (1983, 1985), Rocha (1984), Zachary (1985), Uehama (1985), Baier (1987) y Lever (1987).

El número elevado de células CD1+ puede deberse al hecho que los antígenos, al alcanzar la epidermis, inician la respuesta inmunológica, con lo que estas células expresan también el HLA-DR a las 24 y 48 horas.

La respuesta inmunológica insignificante en la dermis en los estudios en piel no excoriada puede explicarse por el hecho que el antígeno no haya alcanzado todavía la dermis, lo que justifica la pobre respuesta en CL (CD1_a), linfocitos T helper (CD4) y T supresores (CD8).

Las CL epidérmicas y dérmicas procedentes de pacientes con DA expresan moléculas de IgE (Bruynzeel-Koomen, 1986; Barker, 1988) y, por consiguiente, los alérgenos inhalatorios aplicados en la epidermis o dermis pueden unir moléculas de IgE específicas del alérgeno con estas CL y debido a que la CL tiene una potente capacidad presentadora de antígeno (Bejercke, 1984), induce una reacción de hipersensibilidad retardada. Esta teoría viene apoyada por diversos hallazgos invitro en que el APD puede inducir una respuesta linfocitaria de tipo T en los pacientes atópicos (Mitchell, 1984). Recientemente, Hauser (1988) mostró que

isotipo celular B. Knop et al (1988) mostraron que, tras estimulación con diversos alérgenos de contacto, células de Langerhans epidérmicas liberaban gamma interferón.

Este gamma interferón hará que las CL sintetizen más receptores para la IgE (FcER2) (Bieber et al, 1989) y expresen antígenos de la clase II (HLA DR-DQ) (Sheynious et al, 1986) y de la expresión de ICAM-1 (Dustin et al, 1988). Cuando se estimulan los queratinocitos con gamma interferón expresan también receptores para la interleucina-I (IL-IR) (Kupper et al, 1989) y OKM5, aportando amplificación adicional al APC. Todos estos hechos harán que los linfocitos activados se opongan al CPA.

CELULAS CD4-CD8

Los estudios del APD intradérmico en las células CD4-CD8 muestran valores incrementados tanto de linfocitos T helper (CD4) como de linfocitos T supresores (CD8) en la epidermis y en la dermis a las 8 y 24 horas, con descenso de las células CD8+ en la dermis y de las células CD8+ en la epidermis a las 48 horas.

En los estudios del parche, la respuesta de las células CD8+ es alta en la piel excoriada y no excoriada después de 48 horas. Esto significa que la respuesta inmunológica es más avanzada en los estudios con APD intradérmico y prueba del parche en la piel excoriada que en la piel no excoriada.

El Ratio CD4/CD8 para los estudios intradérmicos con APD es la siguiente.

	Epidermis	Dermis
0h.	1,21	3
8h.	1,27	1,84
24h.	1,65	2,49
48h.	0,97	3,7

En esta relación, los valores del ratio CD4/CD8 aparecen incrementados en la epidermis, y hay variables resultados en la dermis.

En los estudios del test del parche, la razón CD4/CD8 es la siguiente:

Tiempo (horas)	Piel no excoriada		Piel excoriada	
	Epidermis	Dermis	Epidermis	Dermis
0	1,93	0,79	1,31	0,66
8	1,6	8	0,34	0,53
24	3	8,08	1,47	0,53
48	2,28	1,17	0,79	1,78

Como se observa en esta tabla los resultados obtenidos son diversos.

No existen muchos informes en la literatura sobre estudios intradérmicos o test del parche con APD que clarifiquen el inmunofenotipado de las células CD4+/CD8+ en epidermis y dermis.

Un estudio sobre la prueba del parche con APD en piel excoriada mostró un aumento de células CD4+ en la dermis y de células CD8+ en la epidermis a las 48 horas (Bruynzeel-Koomen, 1988).

Asimismo, existen pocos informes acerca de las células CD4 y CD8+ en la epidermis de pacientes con DA. Leung (1983) informó un incremento de células CD4+ en la dermis papilar. Rocha (1984) halló un incremento de células CD8+ en la epidermis de lesiones cutáneas crónicas. Ninguno de estos autores utilizó un método estadístico para el recuento de células. En nuestro estudio se contaron las células positivas por cada 200 queratinocitos basales en la epidermis y se utilizaron métodos estadísticos para asesorar la significancia de los cambios observados.

Actualmente existen pocos trabajos que discutan la proporción celular CD4/CD8 en la piel de pacientes atópicos. Ralfkiaer (1984) no halló correlación en la proporción CD4/CD8 en la dermis pruebas del parche positivas. Reitamo (1986) mostró que la razón CD4/CD8 era elevada en las pruebas del parche con APD en piel excoriada. La mayoría de los informes muestran que hay alteración en la razón CD4/CD8 era elevada en la pruebas del parche con APD en piel excoriada.

La mayoría de los informes muestran que hay un aumento en la razón CD4/CD8 en sangre periférica de los pacientes atópicos (Leung, 1983; Willemze, 1983; Rocha, 1984; Zachary, 1985); Uehara, 1985; Sillevis, 1986; Lever, 1987) en comparación de los encontrados en sangre normal de pacientes no atópicos.

Nuestro estudio concuerda con Reitamo en que la proporción es alta en la prueba del parche pero también lo es en los estudios intradérmicos. En el último estudio, la razón se incrementaba de acuerdo con el tiempo pero estos resultados no se observaron en el estudio del test del parche.

Los linfocitos T helper (CD4+ CD5R+) también activan las células T supresoras (Moore, 1986) directamente o a través de la activación de las células CD8+ (Damle, 1987).

La explicación del aumento de linfocitos T helper y supresores, tanto en estudios del parche como intradérmicos, puede deberse a que el antígeno unido a la célula presentadora de antígeno (CL, queratinocitos, macrófagos) está en contacto con la célula T, y ambas células comparten antígenos de histocompatibilidad de la clase II. De esta forma, la interleucina, activa las células T en presencia de antígeno.

Cuando se activa la célula T, ésta libera interleucina-II y expresa receptor para la misma interleucina-II. Esta substancia es un factor de crecimiento celular T y consigue linfocitos suficientes para proliferar y obtener una reacción de tipo celular.

Las células T también secretan linfocinas tipo gamma interferón que amplían la respuesta inmunológica.

CELULAS (CD14) M3

En nuestro estudio intradérmico con APD, los macrófagos (detectados mediante Leu-M3) se incrementaron a las 8 y 24 horas tanto en la dermis como en la epidermis (capa basal). No existen datos de pacientes con DA y células Leu- M3+ en la epidermis. Estas células pueden ser macrófagos que pasen a través de la capa basal donde fagocitan y procesan al antígeno para su presentación a los linfocitos T. En la dermis, la infiltración de macrófagos se produjo sobre todo en la dermis papilar, presumiblemente por ser el área donde se localiza el antígeno del APD después de la inyección. Asimismo, en nuestro estudio se halló un número incrementado de CL en la dermis papilar, lo que sugiere que ésta es una de las áreas donde se reconoce al antígeno mediante las células presentadoras de antígeno.

Cuando los linfocitos T4 helper (CD4+ CD45R⁻), las células de Langerhans y los mastocitos producen gamma interferón activan los macrófagos que expresan antígenos de la clase II y luego presentan el antígeno a los linfocitos T, siendo éste uno de los más importantes fenómenos inmunológicos en la dermatitis atópica.

CELULAS DE CLASE II

En los estudios intradérmicos con APD se encontró que las células positivas HLA-DR, DP y DQ aparecían también incrementadas en número a las 8 y 24 horas y que las células positivas HLA-DP lo estaban a las 48 horas.

En los estudios del test del parche, las células positivas HLA-DR, DP y DQ estaban incrementadas a las 24 horas en piel excoriada, mientras que no se observó cambio alguno en la piel no excoriada. Ralfkaier ofrece resultados similares, lo que puede explicar la facilidad de penetración aumentada en la piel excoriada que tiene el antígeno, produciendo una expresión temprana de los antígenos de la clase II mediante la CPA.

No existen informes similares en el test del parche en piel excoriada pero se ha hallado un número aumentado de células HLA-DR+ en dermatitis atópica (Leung, 1983; Willemze, 1983, 1985; Zachary, 1985; Sillevis, 1985; Lever 1987). Barker (1987) halló valores incrementados de células positivas para HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ en la epidermis de pacientes atópicos y remarcó que estas células eran dendríticas, llamadas células de Langerhans y no queratinocitos.

Los antígenos de la clase II se expresan en las células dendríticas, las células B, las células T activadas, macrófagos, monocitos y en células endoteliales y epiteliales tras exposición al gamma interferón (Halloran, 1986).

Las células de Langerhans epidérmicas expresan moléculas HLA-DR, HLA-DP y HLA-DQ (Sontheimer, 1986) y su autor sugiere que las células de Langerhans epidérmicas, como otros componentes de las series celulares dendríticas, pueden ser más eficientes que los monocitos en la presentación antigénica nominal puesto que sólo cerca del 50% de monocitos en sangre periférica expresan moléculas HLA-DQ. En nuestro estudio, únicamente se realizó recuento de las células dendríticas de la epidermis que expresan estos idiotipos, pero no conseguimos estudiar las células dérmicas debido a que no realizamos inmunomarcaje doble. De estos estudios se puede deducir que estas CL (como otras células presentadoras de antígeno) expresan moléculas DR, DP y DQ y que se incrementan tras la inyección intradérmica del APD y en la prueba del parche.

CONCLUSION

De nuestros estudios intradérmicos con el APC podemos confirmar que tras la inyección intradérmica se produce una respuesta de las células inmunocompetentes similar a la que se ve en la dermatitis atópica.

Cuando el antígeno se introduce en la piel, las células de Langerhans o CD1+ actúan como células presentadoras de antígeno fagocitando el antígeno mediante endocitosis con la subsecuente degradación parcial no lisosomal. Más tarde los péptidos se reciclan unidos a antígenos de clase II en la superficie celular. Las células de Langerhans migran por los vasos linfáticos a las áreas paracorticales (T dependientes) de los ganglios linfáticos donde el antígeno se presentará a las células T.

La penetración adicional de posteriores alérgenos en la piel producirá que las CL transportadoras de antígeno contacten con las células T helper CD4+ con los receptores específicos para los alérgenos y los antígenos de clase II produciendo estimulación y proliferación de las células T CD4+.

Cuando el antígeno se presenta a sus receptores de linfocitos CD4 +, se produce y se libera interleucina 1 (IL1) por las CL. La IL1 puede incrementar la función de las CPA regulando la expresión HLA-DR en las CL, controlando la respuesta proliferativa de las células T, liberando interleucina II y IFN- γ , produciendo la ampliación de la respuesta inmune.

El IFN- γ se produce también por las células T activadas CD4 + y los mastocitos.

La función del IFN- γ es muy importante porque amplía la respuesta inmunológica. En las CL aumenta la expresión de los antígenos de la clase II y de los receptores para la IgE de baja afinidad (FCER2). En los monocitos, aumenta la producción de IL1 y del factor de necrosis tumoral. En las células endoteliales induce la expresión de los antígenos de clase II y de la ICAM 1. En los queratinocitos, el IFN- γ induce la expresión de la ICAM-1 siendo un iniciador muy importante de la interacción queratinocito-linfocito y también induce la expresión de los antígenos clase II (HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ) que serán esenciales para la presentación y reconocimiento antigénico a los linfocitos activados posteriormente a su adherencia.

En los queratinocitos también libera interleucina 1 (ETAF) y otros factores e induce la expresión de OKM5.

Finalmente, el IFN- γ activa las células T citotóxicas, a los macrófagos y a los mastocitos.

Todo este conjunto de mecanismos inmunológicos provoca una respuesta inflamatoria que producirá una espongiosis en la epidermis y una respuesta inflamatoria con un aumento de eosinófilos, linfocitos, mastocitos; característica de la dermatitis atópica

En resumen, creemos que tras la inyección intradérmica el APD provoca una respuesta de hipersensibilidad inmediata y retardada y que su aplicación continuada sobre la piel es probablemente un factor de constante exacerbación en el proceso atópico.

2. RESULTADOS COMPARATIVOS ENTRE LA INYECCION INTRADERMICA Y EL TEST DEL PARCHE EN PIEL EXCORIADA Y NO EXCORIADA

De los resultados de nuestro estudio se deduce que los pacientes en los que se inyectó APD en la dermis tienen la respuesta inmunológica más elevada, tanto en epidermis como en la dermis (CD1a, CD8, CD4, M3 y antígenos clase II).

De los estudios en pacientes con test del parche, aquellos que tenían la piel excoriada presentan mejor penetración de los antígenos con la subsecuente respuesta inmunológica más elevada que los pacientes con piel no excoriada. Es importante remarcar que en piel excoriada tanto las células CD1+ como las CD8+ están incrementadas en número en la epidermis, pero los resultados son los opuestos en la dermis. En los resultados de la prueba intradérmica con APD se aprecia elevación tanto en la epidermis como en la dermis. Una explicación sería que el antígeno en el test del parche en piel excoriada no haya llegado todavía a la dermis. Para CD4, M3 y los antígeno clase II, los valores son bajos a las 8 horas, pero aparecen incrementados a las 24-48 horas, lo que significa que el antígeno necesita cierto tiempo para pasar a través de la epidermis con el fin de ser presentado a las células T mediante la célula APC y desarrollar una respuesta inmunológica.

En la piel no excoriada existe un incremento para las células positivas a CD1a, CD8, CD4 y HLA-DQ, principalmente a las 24, 48 horas, mostrando que existe una penetración relativa del antígeno en la epidermis para desarrollar una respuesta inmunológica. La causa de la variabilidad de los resultados en M, HLA-DR y HLA-DP nos es desconocida.

También se estudiaron los cambios en piel excoriada con y sin aplicación del APD. Las diferencias no fueron significativas pero se apreciaron valores más elevados en la piel excoriada tras la aplicación del APD. Esto puede entenderse porque el antígeno del APD induce respuestas inmunológicas en la piel de los pacientes atópicos con aumento de CL, linfocitos T-supresores, macrófagos y células de clase II.

3. ESTUDIOS INMUNOLOGICOS EN PIEL NORMAL, NO ATOPICA, COMPARADOS
CON PIEL AFECTADA Y NO AFECTADA DE ECCEMA EN PACIENTES
TOPICOS

A partir de los resultados estadísticos respectivos hallados en este estudio se puede señalar que la respuesta inmunológica en los controles es muy baja (excepto para los macrófagos) en comparación con piel afectada y no afectada de eccema en pacientes atópicos. No hay diferencia estadísticamente significativa en el inmunofenotipo entre piel afectada y no afectada de pacientes atópicos excepto por células positivas a CD8 y CD4 en epidermis únicamente. Es importante conocer que puede existir la posibilidad de que haya una ligera diferencia o valores muy cercanos entre piel afectada y no afectada en pacientes con DA. El método estadístico no puede identificar estas diferencias.

Células CD1

Revisando la literatura, nuestros resultados presentan diferencias con los señalados por Leung (1983), ya que en nuestro estudio se observó un incremento mayor en el número de células CD1+ en la epidermis que en la dermis, tanto en piel afectada como no afectada de eccema de pacientes con DA. Estamos de acuerdo con Jong (1986) y Sillevis (1985) en que hay 3 patrones positivos para las CL epidérmicas: continuo, discontinuo y el escasamente distribuido de células dendríticas T6+ en la epidermis.

Finalmente, nuestros resultados son similares a los de Bieber (1988) que muestran un aumento de células CD1+ en

piel afectada de eccema. En cada biopsia procesada para CD1 se practicaron siete cortes; cada corte incluía 5μ de grosor con un resultado de 35μ . Para el CD1 se realizaron 14 lecturas procedentes de cada biopsia y posteriormente se aplicó un método estadístico para obtener los resultados.

El recuento de las CL epidérmicas se realizó con el mayor cuidado posible, tratando asimismo de conseguir más información para un mejor conocimiento de la DA.

Células CD8-CD4

Hay una diferencia estadísticamente significativa en las células CD8+ y CD4+ epidérmicas entre piel afectada y no afectada de eccema en pacientes con DA; y entre la piel de pacientes con DA (afectada y no afectada de eccema) y los pacientes control.

En lo que concierne a la dermis, no existe diferencia estadísticamente significativa entre piel afectada y no afectada en pacientes con DA; pero sí que la hay entre los pacientes control y la piel no afectada de eccema en pacientes atópicos.

Existe diferencia entre piel afectada y no afectada pero la prueba estadística no la identifica sucediendo solamente en la epidermis. La explicación puede estar en que en la DA los pacientes tienen muchos antígenos superficiales y aerotransportados sobre su piel y cuando se produce el prurito, los pacientes rasan introduciéndose estos antígenos en la epidermis. lo que desarrolla y amplifica la

respuesta inmunológica. Posteriormente, las CPA presentarán el antígeno a los linfocitos T que se activarán y producirán linfocinas que estimularán los mastocitos y eosinófilos, degranulándolos y produciendo una respuesta vasodilatadora (eritema) y más prurito. Si el antígeno no pasa a la dermis, la respuesta inmunológica será limitada en esta área, mostrando algunas diferencias solo entre los pacientes control y los atópicos, pero no con la piel afectada y la no afectada de eccema.

El cociente CD4/CD8 en la epidermis y dermis muestra que hay más células CD4+ en la epidermis y dermis afectadas de eccema y en la epidermis no afectada.

Para las células CD8+ existirán valores más elevados en la dermis no afectada.

Estos patrones indican que el cociente está aumentado debido al aumento de las células CD4+ tal como puede observarse en la epidermis y dermis afectadas.

Estos resultados son similares a los informes previos de Leung (1983), Rocha (1984), Zachary (1985). Zachary (1985) sugirió que en el eccema atópico, la actividad de las células T-helper sin oposición es consecuencia de un inadecuado número de células T-supresoras; nuestros datos confirman el desequilibrio existente entre las células reactivas CD8 y CD4.

Boss (1987) inmunofenotipó la piel normal y concluyó que el cociente CD4/CD8 era igual a uno. Nuestros resultados no difieren de los suyos, puesto que el cociente para la

epidermis no afectada y afectada es de 1,13 y 0,79. Otros autores (Sillevis 1986, Butler-Atherton 1982) remarcaron que existe un descenso de células CD8+ en la dermis de pacientes con DA. Nuestros resultados difieren de los suyos en que hay un incremento de células CD8+ tanto en la epidermis de piel afectada como de la no afectada en pacientes con DA. Rocha (1984) observó un incremento de células CD4+ en los procesos agudos, con aumento de células CD8+ en la piel liquenificada crónicamente. En nuestro estudio se intentó realizar biopsias en las lesiones más agudas evitando las placas crónicas.

En conclusión, estamos de acuerdo en que existe un desequilibrio entre las células CD4+ y CD8+ en la DA.

Macrófagos

No se observaron diferencias en la piel de los pacientes control y la de los pacientes atópicos. La explicación puede deberse a que los macrófagos se activan por las CPA y el antígeno.

Ag clase II

Existe un incremento de células HLA-DR+ en el conjunto de la piel afectada de pacientes con DA en relación a la piel no afectada y los pacientes control. El test Whitney U muestra una diferencia estadísticamente significativa entre la piel de pacientes atópicos (afectada y no afectada de eccema) y la piel normal de pacientes no atópicos. La prueba de

Wilcoxon no muestra diferencia estadísticamente significativa entre la piel afecta y la no afectada de eccema en pacientes con DA.

La prueba de Wilcoxon tampoco muestra diferencias significativas para el HLA-DP y el HLA-DQ. Este estudio confirma que en pacientes atópicos, las células de Langerhans expresan los idiotipos HLA-DR, HLA-DP y HLA-DQ y que éstos están más aumentados en la piel afectada y no afectada que en los controles.

No existen diferencias significativas en las células de la clase II entre la piel eccematosa clínicamente y la piel normal en pacientes con DA.

En conclusión, el inmunofenotipado de las células de la piel afectada y la no afectada de eccema es muy similar.

4. METODO DE RECUESTO DEL NUMERO CELULAR EN LA EPIDERMIS Y DERMIS

Uno de los objetivos de este estudio es establecer la metodología más conveniente para el recuento de las células de Langerhans. Si bien se han utilizado numerosas técnicas, han sido escasos los investigadores que hayan explicado en detalle la metodología.

Wolff y Winkelman (1976) llevaron a cabo el recuento de las CL utilizando una retícula ocular conjuntamente con la técnica de ATP-asa. Esta técnica fue también utilizada por Lisi (1973) y Schweizer (1977). Uno y Hanifin (1980) utilizaron la técnica de la l-DOPA fluorescente para detectar las CL y subsecuentemente la mayoría de autores utilizan los anticuerpos monoclonales (AMC) que es el método más ampliamente empleado hasta nuestros días. Lisi (1973) contó el número de CL por mm² en la epidermis y remarcó que en la DA existía un incremento de CL, mientras que ocurría lo contrario en la piel atópica hiperplásica.

Leung (1983) remarcó que existía un incremento de CL en la epidermis y dermis de la piel afectada de eccema de pacientes con DA, pero no halló ningún cambio en la piel no afectada de eccema de pacientes con DA ni en individuos control.

Rocha (1984) y Boss (1986) informaron de los mismos resultados de Leung pero no mencionaron los métodos utilizados. Harris (1983) midió en la epidermis el número de CL por mm de longitud total. Esta técnica tiene la desventaja de que en las secciones congeladas se hace

difícil contar las células puesto que la mayoría de secciones están arrugadas.

Sillevis et al (1986) mostraron que en la DA, las CL tienen cuerpos dendríticos más cortos que en la piel normal con distribución irregular en la epidermis. Estos autores tampoco mencionaron el método empleado. Jong et al (1986) utilizaron una retícula ocular para medir el área y la longitud de la epidermis. Concluyeron que en la piel de pacientes con DA no era posible categorizar el perfil de las células dendríticas T6+.

Halliday (1986) se preocupó de la relación de las CL en la epidermis hiperplásica. Este autor señaló que la CL no tiene relación con el grosor de la epidermis, así como que el mejor método de recuento de CL es medir mediante la longitud total de la epidermis y no por el área.

Bieber (1988) cuantificó las CL en piel normal y en piel de pacientes con DA utilizando 6 métodos diferentes. Halló un incremento de CL en todos los métodos excepto en CL/mm² medidas mediante análisis morfométrico que no mostró diferencias estadísticamente significativas. Concluyó que la enumeración metodológica utilizada puede influir la cuantificación de CL en piel normal y patológica.

En nuestro estudio se utilizó el método de Mackie (1983) que mide el número de células por cada 100 o 200 queratinocitos. Con este método se puede contar la relación entre el número de CL en los procesos hiperplásicos con más precisión.

5. EOSINOFILOS, MASTOCITOS Y BASOFILOS

Histopatológicamente, el hallazgo más remarcable fue el incremento de mastocitos y eosinófilos después de 8 horas. El aumento en el número de mastocitos persistió durante 24 horas pero descendió a las 48 horas.

El papel de los mastocitos está muy aceptado en una respuesta alérgica tipo I de la DA, pero Lemanske (1983) enfatizó que la degranulación de los mastocitos humanos dependiente de la IgE evoca no solamente una reacción clásica de hipersensibilidad inmediata sino también una respuesta inflamatoria objetivable tras horas/días, denominada reacción en fase lenta (LPR). La matriz granular del mastocito proporciona una fuente continua adicional de mediadores. Se produce infiltración eosinofílica entre 2 y 8 horas, mientras que las células mononucleares aparecen tras 1 o 2 días. En los pacientes con DA y lesiones cutáneas crónicas se halló un incremento de mastocitos (Mihm, 1976). Reitamo (1986) halló un 10-15% de mastocitos en el infiltrado de lesiones postexposición al APD en un test del parche. Gondo (1986) confirmó esta observación mostrando que tras 48 horas existen muchos mastocitos degranulándose en el infiltrado. Mitchell (1986) remarcó que en caso de existir exposición continuada al APD en pruebas del parche en piel denudada, es posible encontrar mastocitos hasta 10 días después.

Existen evidencias en ratones que el MCTC puede estimularse por un antígeno multivalente, por receptores de IgE, induciendo con crecimiento clonal de CTMC en presencia de IL-3 y liberando asimismo mediadores químicos (Takagi et al,

1989). En MCM, son sensibles a la regulación mediante las citocinas IL-3 y IL-4 asociadas a las células T (Golli, 1989). Cuando el mastocito vía IgE está expuesto al antígeno multivalente, secretará IL-1, IL-3, IL-5, IL6, e IFN γ (Parris et al, 1989).

También la PBM contenida en los eosinófilos inducirá liberación de histamina procedente de los mastocitos y los basófilos (O'Donnel et al, 1973).

Estos hallazgos sugieren que además de su función efectora inflamatoria, los mastocitos pueden actuar como una fuente de factores reguladores de crecimiento en la DA. En resumen, en nuestros estudios de test del parche y APD intradérmico se halló un incremento de mastocitos. Este incremento puede deberse a que la inflamación celular que ocurre tras la aplicación del alérgeno a la piel afecta a los linfocitos T así como a la regulación de la IgE.

Eosinófilos

Se observaron numerosos eosinófilos en el infiltrado a las 8 horas, pero su número descendió a las 24 horas. Estos resultados son similares a los hallados por Bruynzeel-Koomen et al (1988) en su estudio del test del parche con APD en piel desnuda. En nuestro estudio no se hallaron eosinófilos en la epidermis ni cerca de las células de Langerhans, tal como ocurrió en su informe. Gondo (1986) halló niveles incrementados de eosinófilo en la prueba del parche sobre piel desnuda a las 24 horas y Mitchell (1984) a las 48 horas. Mihm (1976) encontró también eosinófilos en las lesiones crónicas de pacientes atópicos.

En nuestro estudio de cinco pacientes se demuestra que tras la inyección intradérmica del APC se observa, a las 8,24 y 48h. una deposición difusa y granular, extracelular de la PBM tanto en dermis papilar y reticular. Este resultado confirma el papel fundamental que juegan los eosinófilos en la dermatitis atópica. El APC, al introducirse en la piel, se unirá a los receptores de la IgE en las células de Langerhans, produciéndose una presentación de estos, a los linfocitos T; activándose estos últimos, produciéndose una estimulación de los linfocitos B y la consecuente producción de IgE en sangre periférica.

Recientemente, se acepta que la IL-5 (Saito et al, 1988), la IL-4 y el factor gamma de necrosis tumoral (Silverstein, 1987) inducen la diferenciación selectiva y la proliferación de eosinófilos en el cordón umbilical humano y en la médula ósea.

También es conocido que ciertas linfocinas actúan como un factor quimiotáctico del eosinófilo (Parrish, 1982). Está aceptado que después de una reacción intradérmica, el alérgeno se une por sí mismo a las moléculas de IgE en los mastocitos de la dermis y provoca una reacción inmediata de tipo I. Los mastocitos posteriormente liberan un factor quimiotáctico eosinofílico y algunos de los eosinófilos infiltrantes se activan. Los eosinófilos, una vez activados, segregan proteínas que inhiben la respuesta de los linfocitos T (proteína catiónica del eosinófilo) o producen una mayor liberación de la histamina por parte del mastocito (proteína básica mayor), jugando un papel regulador en la dermatitis atópica .

Basófilos

El recuento de basófilos se realizó con dificultad. En unas pocas secciones se observaron algunas células con núcleos multilobulares con gránulos metacromáticos degranulados de varios tamaños. Sin embargo, es necesario utilizar el método Karnovski para una enumeración precisa de estas células.

6. TEST DE PRICK-RAST Y MANIFESTACIONES CLINICAS DE LA DA

De 25 pacientes incluidos en nuestros estudios se puede decir que para el APD la mayoría de los pacientes (17/25) presentaron valores en el RAST más elevados en comparación con los otros seis antígenos.

Asimismo, puede señalarse que donde había un incremento en los resultados del test de Prick existía también un incremento moderado de los valores del RAST, mostrando el mismo comportamiento entre el test de Prick y el RAST (Tabla n.4,5)

En la correlación Prick-RAST para el APD se hallaron los mismos resultados indicados anteriormente, siendo confirmados mediante la correlación de Spearman. De estos estudios se puede afirmar que ambas pruebas pueden ayudar en el protocolo del paciente atópico con el fin de buscar los posibles antígenos que actuarán como factores exacerbantes. En la literatura existen algunos estudios que muestran la correlación entre los niveles de IgE y la severidad de la enfermedad en la DA. (Beard et al, 1981; Church et al, 1976) y entre los niveles de anticuerpos específicos IgE para el antígeno (RAST) y la severidad de la dermatitis (Maruyama, 1975).

No obstante, la mayoría de estudios (Mackie et al, 1979; Stone, 1973; Juhlin, 1969; entre otros) no muestran correlación significativa entre los niveles de IgE y el RAST con la severidad de la afección cutánea.

Cuando se realizó este estudio en la universidad de Edinburgo, la opinión generalizada era que los valores de IgE y RAST no se correlacionaban con la severidad de la dermatitis en los pacientes atópicos y no se tenían resultados ni conclusiones para el test de Prick-RAST. Esta es la causa de que no se prestara mucha atención en comprobar la correlación de los valores del RAST con la severidad de la DA.

7. ESTUDIOS CON UVB

El tratamiento con UVB redujo significativamente el n° de células de Langerhans (CD1) en 2 de 3 sujetos y descendió de manera significativa el conteo dérmico en uno de ellos. En un paciente la radiación UVB descendió el número de linfocitos T helper (CD4), T supresores (CD8) y de células positivas para DR, pero el cambio no fue estadísticamente significativo. Se halló un descenso significativo del conteo de células dérmicas y epidérmicas DP+ tras radiación UVB en los otros 2 pacientes. El paciente 1 que recibió la dosis total más elevada de UVB mostró la mayoría de cambios. La mejoría clínica coincidió con una reducción en el global del recuento celular dermo-epidérmico reduciendo la infiltración dermoepidérmica de células inmunocompetentes.

Existen muchos informes acerca de los efectos de la radiación UVB sobre las células epidérmicas. La mayoría de los autores están de acuerdo en que después de la exposición a los UVB se aprecia un descenso en el número de células de Langerhans en la epidermis (Aberer et al, 1981; Obata et al, 1989; Iacobelli et al, 1985).

Miyouchi (1987) halló en la epidermis de oreja de rata, que as su exposición a radiación UVB se aprecia un incremento rápido de células de Langerhans entre el día 7 y el día 14 y un incremento gradual entre los días 42 y 56.

Recientemente, hay estudios que muestran que las células de Langerhans CD1a+/CD4+/DR+/DQ+ pierden gradualmente sus marcadores de superficie (Volc-Platzner, 1989, Cruz and Bergstresser, 1988).

La depresión (inducida por los UVB) de la capacidad presentadora de antígeno de las células de Langerhans está mejor correlacionada con una disminución de la actividad ATPasa, una forma que puede estar relacionada específicamente con una distribución alterada del enzima en la membrana celular (Bergstresser et al, 1980).

Cuando la dosis de radiación UVB es alta, hay una destrucción de las células epidérmicas, incluyendo a las CL, produciendo una inmunosupresión "sistémica" (Bergstresser, 1986; Parrish, 1986).

Recientemente, Volc-Platzer (1989) muestra que tras exposición a UVA no existe alteración de la expresión del LFA-1 por las células T CD3+ y de la ICAM-1 en queratinocitos.

Rasanen et al (1984) muestran que la irradiación UVB en la piel humana, aumenta la capacidad de producción IL-1 en las células epidérmicas.

Cooper (1986) y Baadsgard et al (1987) han descrito los hallazgos más interesantes tras la exposición a UVB. Estos autores describen que después de la irradiación UVB se produce una inducción de las células presentadoras de antígeno T6- DR+. Estas células son fenotípicamente y funcionalmente análogas a los monocitos sanguíneos OKM1-OKM5, que son potentes activadores de las mismas células T en ausencia de antígeno añadido. Estas células inducen células T supresoras específicas, las cuales descienden la respuesta inmune. Esto explica la mejoría clínica en la dermatitis de contacto y atópica.

En conclusión, este estudio confirma que tras irradiación UVB existe un descenso de CPA en la epidermis y dermis correlacionado con una mejoría clínica de la dermatitis atópica.

8. CELULAS DE LA CLASE II EN APC. ESTUDIOS DE LA PRUEBA DEL PARCHE-UVB Y PIEL AFECTADA Y NO AFECTADA

Los antígenos de la clase II son importantes para la comunicación, interacción y regulación de los sistemas celulares, colaborando en la inducción de la respuesta inmune. Estos antígenos se hallan en los linfocitos B, los linfocitos T activados, macrófagos, monocitos, células dendríticas y en muchas células expuestas al IFN γ incluyendo las células endoteliales y epiteliales.

El número y orden de los loci en la región HLA clase II consisten en 3 subregiones distintas genéticamente DR-DQ-DP, cada una de las cuales contienen genes α y β .

Los códigos de la subregión HLA-DR para los antígenos glicoproteicos de superficie celular que son estructuralmente análogos a los murinos, son conocidos en cuanto contienen los principales determinantes que desencadenan la inducción y proliferación de los linfocitos T helper (Quigstad, 1983). En la piel normal, los HLA-DR se expresan mediante los CL y otras células dendríticas, y cuando el antígeno penetra en la piel, las CL procesan y presentan el antígeno a los linfocitos T. Cuando los linfocitos T se activan producen IFN- γ que a su vez expresará las células DR --> DR+ tipo queratinocitos, macrófagos, monocitos y células endoteliales.

Este IFN γ también producirá la expresión de ICAM-1 determinando la adherencia linfocito-queratinocito. Los queratinocitos HLA-DR+ y las CL pueden estimular las células T epidermotrópicas para liberar linfocimas adicionales tipo

IFN γ produciendo incremento y perpetuación de la inflamación cutánea. De nuestros estudios con el APC se confirma que hay un incremento en la expresión de células HLA-DR + en la epidermis y dermis en piel afectada y no afectada de pacientes con DA. Se observaron valores normales en pacientes control no atópicos. Asimismo, se apreció un incremento de células CD4+ y CD8+ tanto en la epidermis como la dermis, lo que confirma la influencia del IFN γ en la expresión de estas células.

En los estudios de la prueba del parche en la piel denudada, hay un incremento de células HLA-DR+ a las 8h. y en la piel denudada no hay descenso de células HLA-DR+ ni HLA-DP+.

La exposición a los UVB en pacientes atópicos muestra un descenso de células CD-1 +, CD-4 + y CD-8 +, lo que confirma la disminución de CL en la epidermis con el subsecuente descenso de la presentación del antígeno a las células T con menor producción de IFN γ .

HLA-DQ previamente conocido como HLA-DC o DS también codifica para el antígeno de superficie celular compuesto de cadenas simples α - β , diferente de DR+ que es homólogo al antígeno murino Ia. HLA-DQ también juega un papel en la presentación del antígeno nominal a la célula T autóloga (Gonwa et al, 1983), pero también juega un papel importante en la función supresiva (Gonwa et al, 1983). Los monocitos humanos expresan ambos DR+ y DQ+ y son más eficientes presentando el antígeno nominal que los monocitos que solo expresan HLA DR+.

El IFN γ secretado por los linfocitos T activados es también responsable de la inducción de HLA-DP y DQ+ (Collins et al, 1984).

Este estudio muestra incremento de la expresión celular HLA-DQ+ y DP+ a las 8, 24 y 48 horas, pero también de células positivas para CD-1, CD-4 y CD-8. Esto confirma el efecto del IFN γ en la expresión de estas células. En nuestro estudio se confirma que la expresión de las células DQ+ y DP+ es menor que de las células DR+. Esto se puede explicar porque las células HLA-DQ + poseen una distribución tisular más restringida y son relativamente más resistentes a la inducción por IFN γ que las células HLA-DR (Todd et al, 1986; Berrih et al, 1985). También se puede explicar por otros factores que pueden inducir expresión de los antígenos de la clase II y pueden existir genes diferentes en la regulación del HLA-DQ y DP.

HLA-DP, previamente conocido como locus SB presenta antígenos de superficie celular compuestos por cadenas simples α y β y son antígenos estimulatorios con la reacción linfocítica mixta secundaria. Hasta el presente se conoce poco acerca de la función de la subregión de HLA-DP.

Este estudio también confirma que tras exposición a UVB existe un descenso de células HLA-DP+ - DQ+ y de células CD-1a +, CD-4 + y CD-8 +

CONCLUSIONES PUNTUALES

La dermatitis atópica es una enfermedad cutánea crónica inflamatoria de etiología desconocida.

La mayoría de autores coinciden en que las respuestas de tipo I o mediada por IgE y la de tipo IV o de inmunidad retardada juegan un papel en la patogenia de la dermatitis atópica.

Se cree que los alérgenos inhalatorios están implicados en la patogenia de la dermatitis. El ácaro del polvo doméstico es el alérgeno más comunmente hallado en los pacientes atópicos.

Por una razón inexplicada existe un prurito exagerado entre los pacientes con dermatitis atópica. Cuando los pacientes rascan, hay cierta lesión al nivel de la epidermis con la subsecuente penetración de los alergenos concretamente el ácaro del polvo doméstico.

La penetración del alérgeno provoca una respuesta de tipo I y de tipo IV.

1. En el estudio con el ácaro del polvo doméstico intradérmico se observó un incremento de la respuesta de las células inmunocomponentes (células de Langerhans, CD4 + CD8 +, macrófagos y células de la clase II).

2. Los estudios de la prueba del parche mostraron resultados similares pero con alguna variación en la respuesta de las células inmunocompetentes. La piel lesionada mostró más respuesta de las células inmunocompetentes que la piel no lesionada.
3. El tratamiento con irradiación ultravioleta B mostró un descenso de células de Langerhans CD4 +, CD8+ que se confirmó con la mejoría clínica de los pacientes.
4. También se estudiaron dieciseis pacientes control y doce pacientes atópicos con piel afectada y no afectada por dermatitis. Este estudio mostró diferencia en el inmunofenotipado del infiltrado entre los pacientes control y la piel afectada y no afectada excepto para los macrófagos.

No se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre la piel afectada y la no afectada excepto para las células epidérmicas CD4 + y CD8 +.

5. Los hallazgos histológicos confirman, tras la penetración del ácaro del polvo doméstico en piel de paciente afecto de dermatitis atópica, hay un aumento de los mastocitos y eosinófilos.
6. En cinco pacientes, tras la inyección intradérmica del ácaro del polvo doméstico, se observaron depósitos extracelulares, granulares y difusos de la proteína básica mayor, en dermis papilar y reticular, confirmando el papel fundamental que juega el eosinófilo en la dermatitis atópica.

7. El test de Prick y los valores de RAST se comportan de una manera similar, siendo estos tests válidos para el uso diagnóstico en el protocolo del enfermo atópico.

De este estudio se confirma que el ácaro del polvo doméstico actúa como un factor exacerbante en la patogenia de la dermatitis atópica.

REFERENCES

- Abe T, Ochiai H, Mimamishima Y, Nawa Y. Introduction of intestinal mastocytosis in nude mice by repeated injection of interleukin-3. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1988; 86:356.
- Aberer W, Schuler G, Stingl G, Honigsmann H, Wolff K. Ultraviolet light depletes surface markers of Langerhans cells. *J. Invest Dermatol* 1981;76:202-210
- Aberer W, Stingl G, Pogantsch S, Stingl G. Effect of glucocorticosteroids on epidermal cell-induced immune responses. *J Immunol* 1984;133:792-797.
- Abrams G, Farber EM. Peripheral vascular responses in atopic dermatitis. *Arch Dermatol* 1957; 88:554-557.
- Ackerman SJ, Durack DT, Gleich GJ. Eosinophil effector mechanisms in health and disease. In Gallin JI, Fauci AS, eds. *Advances in Host Defense. Mechanisms Vol 1* New York. Raven Press 1982;269-293
- Alegre VA, MacDonald DM, Poulter LW. The simultaneous presence of Langerhans' cell and interdigitating cell antigenic markers on inflammatory dendritic cells. *Clin Exp Immunol* 1986;64:330-333.
- Allen M, Barker J, Mac.Donald D. Keratinocyte OKM5 antigen expression: in vivo studies of normal and diseased skin. *J Invest Dermatol* 1989;92;3:395 (abstract)
- Aly R, Maibach HI. Bacterial flora of psoriasis. *Br J Dermatol* 1976;95:603-606.
- Aly R, Maibach HI, Shinefield HR. Bacterial flora of atopic dermatitis. *Arch Dermatol* 1977;113:780-785.
- Arthur RP, Shelley WB. The nature of itching in dermatitic skin. *Ann Internal Med* 1958; 49:900-908.
- Ashworth J, Booker J, Breathnach SM. Effects of topical corticosteroid therapy on Langerhans' cell antigen presenting function in human skin. *Br J Dermatol* 1988:457-470.
- Ashworth J, Mackie R. A quantitative analysis of the Langerhans cell in chronic plaque Psoriasis. *Clin Exp Dermatol* 1986;11:594-599.

Askenase PW, Rosensten R, Ptak W, Gershon RW T cells produce an antigen binding factor with in vivo activity analogous to IgE antibody. J Experimental Med 1983; 157: 862.

Van Asperen PP, Kemp AS, Mellis CM. Relationship of diet in the development of atopy in infancy. Clin Allergy 1984;14:525-532.

Atherton DJ. Atopic eczema. In: Brostoff I (eds). Food Allergy. London, WB Saunders, 1982:77-100.

Atherton DJ, Sewell M, Soothill JF, Wells RS, Chiltern CED. 1978. Lancet i.:401

Baadsgaard O, Wulf HC, Wantzin GL, Cooper KD. UVB and UVC, but not UVA, potentially induce the appearance of T6- DR+ antigen presenting cells in human epidermis. J Invest Dermatol 1987;89:113-118

Baier U, Burg G, Kaudewitz P et al. Correlation of the number of Langerhans cells with epidermal thickness in normal skin and atopic dermatitis. J Invest Dermatol. 1987;84:4-444

Barker J, Alegre V, MacDonald D. Surface-Bound Immunoglobuline on antigen presenting cells in cutaneous tissue of atopic dermatitis. J Invest Dermatol 1988;90:117-121.

Barker J, MacDonald D. Epidermal class II human Lymphocyte antigen expression in atopic dermatitis: A comparison with experimental allergic contact dermatitis. J Am Acad Dermatol 1987;16:1175-1179.

Barnetson R St C, Macfarlane HAF, Benton EC. House dust mite allergy and atopic eczema: A case report. Br J Dermatol 1987;116:857-860.

Barnetson R St C, Merret TG & Ferguson A (1981) Hyperimmunoglobulinaemia E in atopy. Clin Exp Immunol 1981; 46:54-60.

Bartelmez SH et al. Stimulation of eosinophil production in vitro by eosinophilopoietin and spleen-cell, derived eosinophil growth stimulating factor. Blood 1980;56:706.

Basham TY, Nickoloff BJ, Merigan TC, Morhenn VB. Recombinant gamma-interferon induces HLA-DR expression on cultured human keratinocytes. J Invest Dermatol 1984;83:88-90.

Beard LD, Thong YH, Turner TW. The immunological status of children with atopic dermatitis. *Acta Paediat Scand* 1981;70:551-555.

Beck HI, Korsgaard J. Atopic dermatitis and house dust mites. *Br J Dermatol* 1989;120:245-251.

Benacerraf B. The role of MHC Gene Products in Immune Regulation. *Science* 1981;212:1229

Bergstresser PR. Ultraviolet B radiation induces "local immunosuppression". *Curr Probl Dermatol* 1986;15:205-218

Bergstresser PR, Tigelaar RE, Tharp MD. Conjugated avidin identifies cutaneous rodent and human mast cells. *J Invest Dermatol* 1984; 83:214-218.

Bergstresser PR, Towers GB, Streilein JW. Natural and perturbed distributions of Langerhans cells: Responses to ultraviolet light, heterotopic skin grafting and dinitrofluorobenzene sensitization. *J Invest Dermatol* 1980;75:73-77

Berman B, France DS, Martinelli GP, Hass A. Modulation of expression of epidermal Langerhans cell properties following in situ exposure to glucocorticosteroids. *J Invest Dermatol* 1983; 80:168-171.

Berrih S, Arenzama-Seisdedos F, Cohen S, Deros R, Charron D, Virelizier J-L. Interferon-gamma modulates HLA class II antigen expression on cultured human thymic epithelial cells. *J Immunol* 1985; 135:1165-1171.

Besnier E. Premiere note et observations preliminaires pour servir d'introduction a l'etude des prurigos diathesiques. *Ann de Dermatol et Syphil* 1892; 23: 634.

Bieber T, Dannenberg B, Prinz JC et al. Occurrence of IgE bearing epidermal Langerhans cells in atopic eczema: A study of the time course of the lesions and with regard to the IgE serum level. *J Invest Dermatol*. 1989;93:215-219

Bieber T, Rieger A, Neuchrist C et al. Induction of Fc ϵ R2/CD23 in human epidermal langeran cells by human recombinant interleukin 4 and γ interferon. *J Exp Med* 1989;170:309-314.

Bieber T, Dannenbert B, Ring J, Braun-Falco O. Keratinocytes in lesional skin of atopic eczema bear HLA-DR, CD1 and IgE molecules. Clin Exp Dermatol 1989;14:35-39.

Bieber T, Ring J, Braun-Falco O. Comparison of different methods for enumeration of Langerhans cells in vertical cryosection of human skin. Br J Dermatol 1988;118:385-392.

Biddison WE. J Clin Immunol 1982;2

Birbeck MS, Breathnach AS, Everall JD. An electron microscope study of basal melanocytes and high-level clear cells (Langerhans' cells) in vitiligo. J Invest Dermatol 1961;37:51-63.

Bjercke S, Elgo J, Braathen L, Thorsby E. Enriched epidermal Langerhans cells are potent antigen-presenting cells for T cells. J Invest Dermatol 1984;83:286-289.

Blumenthal MN, Mendell N, Yunis E. Immunogenetics of atopic diseases. J Allergy Clin Immunol 1980; 66:403.

Bodmer WF. In histocompatibility Testing 1984. Berlin, Springer, 1984:11.

Boom WH, Liano D, Abbas AK. Heterogeneity of helper/inducer T lymphocytes. II. Effects of interleukin-4 and interleukin-2 producing T cell clones on resting B lymphocytes. J Exp Med 1988;167:1350.

Bos J, Zonneveld I, Das P, et al. The skin Immune system (SIS): Distribution and Immunophenotype of Lymphocyte subpopulations in normal human skin. J Invest Dermatol 1987;88:569-573.

Boss J, Van Garderen I, Krieg S. Different in situ distribution patterns of dendritic cells having Langerhans (T6) and Interdigitating (RFD1+) cell Immunophenotype in Psoriasis, atopic dermatitis and other Inflammatory Dermatoses. J Invest Dermatol 1986;87:358-361.

Bottazzo GF, Pujol-Borrel R, Hanafusa T. Lancet 1983;2:1115.

Bottomly K. A functional dichotomy in CD4 T lymphocytes. Immunol Today. 1988;9:268.

Braathen LR, Thorsby E. Studies on human epidermal Langerhans' cells. Alloactivating and antigen-presenting capacity. Scand J Immunol 1980;11:401-408.

Braathen LR, Thorsby E. Studies on human epidermal Langerhans cells. IV. HLA-D restriction and Langerhans cell-dependent antigen activation of T lymphocytes. Scand J Immunol 1982;15:55-61.

Brocq L. Les nevrodermites diffuses-prurits avec lichenification. In Besnier. Brocq and Jaquet editors: La pratique dermatologique. Tome III. Paris. 1902: 158.

Brunsting LA: Atopic dermatitis of young adults. Arch Dermatol Syph 1936; 34:935-957.

Bruynzeel-Koomen C, van der Donk EM, Bruynzeel PLB, Capron M, Gast GC, Mudde GC. Associated expression of T6 antigens and Fc-receptors for IgE on epidermal Langerhans cells from patients with atopic dermatitis. Clin Exp Immunol 1988;74:137.

Bruynzeel-Koomen C, Nichen D, Spry C et al. Active participation of eosinophils in patch test reactions to inhalant allergens in patients with atopic dermatitis. Br J Dermatology 1988;118:229-238.

Bruynzeel-Koomen C, van Wichen DF, Toonstra J, Berrens L, Bruynzeel PL. The presence of IgE molecules on epidermal Langerhans' cells in patients with atopic dermatitis. Arch Dermatol Res 1986;278:199-205.

Burgess AW et al. Granulocyte/macrophage-, megakaryocyte-eosinophil- and erythroid-colony stimulating factors produced by mouse spleen cells. Biochem J 1980;185:301.

Butler JM, Chan SC, Stevens S, Hanifin JM. Increased leukocyte histamine release with elevated cyclic AMP-phosphodiesterase activity in atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol 1983;71:490-497.

Butler JM, Atherton D, Levinsky RJ. Quantitative and functional deficit of suppressor T cells in children with atopic eczema. Clin Exp Immunol 1982;50:92-98.

Byrom NA, Timlin DM. Immune Status in atopic eczema: A survey. Br J Dermatol 1979;100:491-498.

Caputo R, Pelucchetti D, Monti M. Freeze-fracture of Langerhans granules: A comparative study. J Invest Dermatol 1976;66:297-301.

Carr M, McVittie E, Guy K, Gawkrödger DJ, Hunter JA. MHC class II antigen expression in normal epidermis. *Immunology* 1986;59:223-7.

Carswell F, Thompson S. Does natural sensitization in eczema occur though the skin?. *Lancet* 1986, 2:13-15.

Champion RH. Abnormal vascular reactions in atopic eczema. *Br J Dermatol* 1961;81:12-15.

Chan SC, Trask DM, Sherman SC, Hanifin JM. Histamine agonist stimulation of protein kinase C phosphorylation of a 61 K monocyte protein with characteristics of atopic cyclic AMP phosphodiesterase. *J Invest Dermatol* 1986; 86:468A.

Chandra RK, Puri S, Suraiyac C et al. Influence of maternal food antigen avoidance during pregnancy and lactation on incidence of atopic eczema in infants. *Clinical Allergy*, 1986;16:563-569.

Chapman MD, Rowntree SR, Mitchell EB, Fuenmajor MC, Platts-Mills TAE. Quantitative assessments of IgG and IgE antibodies to inhalant allergens in patients with atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1983;72:27

Chapman MD, Platts-Mills TAE. Measurement of IgG, IgA and IgE antibodies to *Dermatophagoides pteronyssinus* by antigen-binding assay, using a partially purified fraction of mite extract (F P). *Clin and Exp Immunol* 1978; 34:126-136.

4 1

Chapman MD & Platts-Mills TAE Purification and characterization of the major allergen from *Dermatophagoides pteronyssinus* antigen P . *J Immunol* 1980;125:587-592.

1

Chu A, Patterson J, Goldstein G, Berger C, Takesaki S, Edelson R. Thymopoietin-like substance in human skin. *J Invest Dermatol* 1983;81:194-7.

Church JA, Kleban DG, Bellanti JA. Serum immunoglobulin E concentrations and radioallergosorbent tests in children with atopic dermatitis. *Pediatr Res* 1976;10:97-99.

Coca AF, Cooke RA. On classification of the phenomena of hypersensitiveness. *J Immunol* 1983;6:63

Cocchia D, Michetti F, Donato R. Immunochemical and immunocytochemical localization of S-100 antigen in normal human skin. *Nature* 1981;294:85-87.

Cohen S, Ward PA. In vitro and in vivo activity of a lymphocyte and immune complex-dependent chemotactic factor for eosinophils. J Exp Med 1971;133:133.

Cole GW, Silverburg WL. The adherence of Staphylococcus aureus to human corneocytes. Arch Dermatol 1986;122:166-170.

Colley DG. Eosinophils and immune mechanisms. I. Eosinophil simulation promoter lymphokine (ESP): a lymphokine induced by specific antigen or phytohemagglutinin. J Immunol 1973;110:1419.

Collins T, Korman AJ, Wake CT, et al. Immune interferon activates multiples class II major histocompatibility complex genes and the associated invariant chain gene in human endothelial cells and dermal fibroblasts. Proc Natl Acad Sci USA 1984;81:4917-21

Cooper K, Neises G, Katz S. Effects of ultraviolet radiation. J Invest Dermatol 1986;86:363-370.

Cooper KD, Fox P, Neises G, Katz SL. Effects of ultraviolet radiation on human epidermal cell alloantigen presentation: initial depression of Langerhans' cell-dependent function is followed by the appearance of T6-DR+ cells that enhance epidermal alloantigen presentation. J Immunol 1985;134:129-137.

Coulson IH, Duncan SN, Holden CA. Peripheral blood mononuclear leucocyte cyclic adenosine monophosphate specific phosphodiesterase activity in childhood atopic dermatitis. British Journal of Dermatology 1989;120:607-612.

Cruz p, Bergstresser P. The low dose model of UVB induced immunosuppression. Photodermatology 1988;5:151-161

Currie JM, Wright RC, Miller OW. The frequency of warts atopic patients. Cutis 1971;8:244

Czernielewski J, Vaigot P, Asselineau D, Prunieras M. In vitro effect of UV radiation on immune function and membrane markers of human Langerhans' cell. J Invest Dermatol 1984;83:62-65.

Daar AS, Fuggle SV, Fabre JW et al. Transplantation 1984;38:287.

Dahl MV. Research on atopic dermatitis. Diamonds and rust (editorial). Arch Dermatol 1986;122:265-266

Dahl MV. Some aspects of atopic dermatitis. Arch Dermatol 1983;119:237-242.

Damle, NK, Childs AL, Doyle LV. Immunoregulatory T lymphocytes in man. Soluble antigen-specific suppressor-inducer T lymphocytes are derived from the CD4+CD45R-p80 subpopulation. J Immunol 1987;139:1501.

Dessaint JP, Torpier G, Capron M, Bazin H, Capron A. Cytophilic binding of IgE to the macrophage, I: Binding characteristics of IgE on the surface of macrophages in the rat. Cell Immunol 1979;46:12-23.

Dohlsten M, Hedlund G, Sjögren HO, Carlsson R. Two subsets of human CD4+ T helper cells differing in kinetics and capabilities to produce interleukin 2 and interferon-gamma can be defined by the Leu-18 and UCHL1 monoclonal antibodies. Eur J Immunol 1988;18:1173.

O'Donnell MC, Ackerman SJ, Gleich GJ, Thomas LL: Activation of basophil and mast cell histamine release by eosinophil granule major basic protein. J Exp Med 1983;157:1981-1991.

Dustin ML, Singer KH, Tuck DT, Springer TA. Adhesion of T lymphoblasts to epidermal keratinocytes is regulated by interferon γ and is mediated by intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1). J Exp Med 1988;167:1323-40.

Dvorak HF, Dvorak AM, Simpson BA, Richerson HB, Leskowitz S, Karnovsky MJ: Cutaneous basophil hypersensitivity. II. A light and electron microscopic description. J Exp Med 1970;132:558-582.

Elliot ST, Hanifin JM. Delayed cutaneous hypersensitivity and lymphocyte transformation: Dissociation in atopic dermatitis. Arch Dermatol 1979; 115: 36-39.

Faergemann J, Larkö O. The effect of UV-light on human skin microorganisms. Acta Dermatovenereol (Stockh) 1987; 67:69-72.

Faure MR, Nicolas JF, Thivolet J, Gaucherand MA, Czernielewski JM. Studies on T-cell subsets in atopic dermatitis: human T-cell subpopulations defined by specific monoclonal antibodies. Clin Immunol Immunopathol 1982;22:139-146.

Fjellner B, Hägermark Ö. Histamine release from rat peritoneal mast cells exposed to ultraviolet light. Acta Dermatovenereol (Stockh). 1982; 62:215-220.

Foreman JC, Piotrowski W. Peptides and histamine release. J Allergy Clin Immunol 1984; 74: 127-131.

Friedman SJ, Schroeter AL, Hamburger HA. IgE antibodies to Staphylococcus aureus: prevalence in patients with atopic dermatitis. Arch Dermatol 1985;121: 869-872.

Frigas E, Loegering DA, Gleich GJ et al. Cytotoxic effects of guinea pig eosinophil major basic protein on tracheal epithelium. Lab Invest 1980;42:35.

Galli SJ. New insights into solving the "riddle of the mast cell": microenvironmental regulation of mast cell development and phenotypic heterogeneity. Lab Invest 1989. In press.

Gawkrodger DJ, Carr MM, McVittie E, Guy K, Hunter JA. Keratinocyte expression of MHC class II antigens in allergic sensitization and challenge reactions and in irritant contact dermatitis. J Invest Dermatol 1987;88:11-16

Gaya A, Alsinet E, de la Calle O, Yagüe J, Martorell J, Vives J. The human CD4 T Lymphocytes lacking the CD45R antigen are the main interleukin-2 and gamma-interferon producers. J Exp Med. In press.

Geha RS, Leung DYM. Cellular abnormalities in patients with elevated serum IgE levels. J Allergy Clin Immunol 1986;78 (suppl): 994-999.

Geha RS, Reiherz EL, Leung D, McKee KT, Schlossman S, Rosen ES. Deficiency of suppressor T cells in the hyperimmunoglobulin E syndrome. J Clin Invest 1981;68:783-791.

Gleich GJ, Frigas E, Loegering DA et al. Cytotoxic properties of the eosinophil major basic protein. J Immunol 1979;123:2925-2927.

Gondo A, Saeki N, Tokuda Y. Challenge reactions in atopic dermatitis after percutaneous entry of mite antigen. Br J Dermatol 1986;115:485-493.

Gonwa T, Peterlin M, Stobo J. Human Ir genes: Structure and function. Adv Immunol 1983; 34:71-96.

Gonwa TA, Picker LJ, Raff HV, Goyert SM, Silver J, Stobo JD. Antigen-presenting capabilities of human monocytes correlate with their expression of HLA-DS, and Ia determinant distinct from HLA-DR. J Immunol 1983; 180:706-711.

Gowans JL. The life history of lymphocytes. Br Med Bull 1959;15:50.

Graham DT, Wolf S. The relation of eczema to attitude and to vascular reactions of the human skin. J Lab & Clin Med 1953;238-254.

Grewe SR, Chan SC, Hanifin JM. Elevated leukocyte cyclic AMP phosphodiesterase in atopic disease: a possible mechanism for cyclic AMP agonist hyporesponsiveness. J Allergy Clin Immunol 1982;70:452-7.

Grimalt F, Fecha M, Mascaró JM. El concepto de criptoatopia cutánea en las reacciones de contacto. Dermatitis de Contacto. Francesc Grimalt - Carlos Romaguera, Segunda Edición, 1987, Editada por Syntex Latino Ed. Barcelona.

Grimalt F, Romaguera C, Fecha M, Mascaró JM. El concepto de creptoterapia cutánea en las reacciones de contacto. Consideraciones de orden clínico sobre el subgrupo en la atopia cutánea. Med. Cut. I.L.A. XII 1988. 225-230.

Gruber G, Poznansky M, Boss M, Partin J, Gorevic P, Kaplan AP. Characterization and functional studies of rheumatoid synovial mast cells. Arth Rheum 1986;29:944-953.

Gurevitch AW, Heiner DC, Reisner R. IgE in atopic dermatitis and other common dermatoses. Arch Dermatol 1973;107:712-715.

Gwynn CM, Ingham J, Almousawi T, Stanworth DR. Bronchial provocation tests in atopic patients with allergen-specific IgG4 antibodies. Lancet 1982;1:245-256.

Gwynn CM, Morrison Smith J, Leon Leon G, Stanworth DR. IgE and IgG4 subclass in atopic families. Clinical Allergy 1979;9:119-123.

Haftek M, Faure M, Schmitt D, Thivolet J. Langerhans cells in skin from patients with Psoriasis. Quantitative and qualitative study of T6 and HLA-DR antigen-expressing cells and changes with aromatic retinoid administration. J Invest Dermatology 1983; 81:10.

Halpern SR, Sellars WA, Johnson RB, Anderson DW, Saperstein S, Reisch JS. Development of childhood allergy in infants fed breast, soy or cow milk. Allergy Clin Immunol 1973;51:139-151.

Halliday G, Mcardle J, Knight B et al. New methodology for assessment of the Langerhans cell network. J Pathol 1986; 148. 127-134.

Halloran PF, Wadgymer A, Autenried P. Transplantation 1986;41:413.

Hamaguchi Y, Kanakura Y, Fujita J et al. Interleukin 4 as an essential factor for in vitro clonal growth of murine connective tissue-type mast cells. J Exp Med 1987;165:268.

Hanau D, Fabre M, Schmidt D, Garaud J, Pauly G, Gazenave J. Appearance of Birbeck granule-like structures in anti-T6 antibody treated human epidermal langerhan cells. J Invest Dermatol 1988;90:298-304.

Hanifin J. Atopic dermatitis. J Am Acad Dermatol 1982;6:1-13.

Hanifin J, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. Acta Derm Venereol 1980 (suppl);92:44-47.

Hanifin J. Atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol 1984;73:211-226.

Hanifin JM. Pharmacophysiology of atopic dermatitis. Clin Rev Allergy 1986;4:43-65.

Hanifin JM, Bauman R, Rogge JL. Chemotaxis inhibition by plasma from patients with atopic dermatitis. Acta Derm Venereol (Stockh). 1980;92(suppl):52-56.

Hanifin JM, Butler JM, Chan SC. Immunopharmacology of the atopic diseases. J Invest Dermatol 1985;85:161s-164s.

Hanifin JM, Homburger HA. Staphylococcal colonization, infection, and atopic dermatitis--association not etiology. J Allergy Clin Immunol 1986;78:563-566.

Hanifin JM, Ray LF, Lobitz WC. Immunologic reactivity in dermatophytosis. Br J Dermatol 1974;90:1-8.

Harrist TJ, Muhlbauer JE, Murphy GF, Mihm MC Jr. Bhan AK. T6 is superior to Ia (HLA-DR) as a marker for Langerhans cells and indeterminate cells in normal epidermis : a monoclonal antibody study. J Invest Dermatol 1983;80:100-103.

Hatanaka K, Kitamura Y, Nishimune Y. Local development of mast cells from bone-derived precursors in the skin of mice. Blood 1979;53:142-147.

Hauser C, Snapper C, Ohara J et al. Cultured Langerhans cells activate type 2 T helper cells. *J Invest Dermatol* 1988;9:4:568.

Hauser C, Wütrich B, Matter L et al. The immune response to *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol (Stockh)*. 1985;114 (Suppl):101-104.

Hausman PB, Raff HV, Gilbert RC, Picker LJ, Stobo JD. T cells and macrophages involved in the autologous mixed lymphocyte reactions are required for the response to conventional antigen. *J Immunol* 1980;125:1374-1379.

Henderson WR, Jorg A, Klebanoff SJ et al: Eosinophil peroxidase-mediated inactivation of leukotrienes B₄, C₄ and D₄. *J Immunol* 1982;128:2609

Henderson WR, Chi EY, Klebanoff SJ. Eosinophil peroxidase-induced mast cell secretion. *J Exp Med* 1980;152:265-279.

Henkel NS, Chan SC, Thiel ML, Stevens Sr, Casperson LS, Hanifin JM. Elevated umbilical cord blood leukocyte cyclic adenosine monophosphate-phosphodiesterase activity in children with atopic parents. *J Am Acad Dermatol* 1984;11:422-6.

Hill DJ, Ford RPK, Shelton MJ, Hosking CS. A study of 100 infants and young children with cow's milk allergy. *Clin Rev Allergy* 1984;2:125-142.

Hoffman DR, Yamamoto FY, Geller B, Haddad Z. Specific IgE antibodies in atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol* 1975;55:256-267.

Holden C, Yuen T, Coulson IH. The effect of in vitro exposure to histamine on mononuclear leucocyte phosphodiesterase activity in atopic dermatitis. *Clin Exp Dermatol* 1989;14:186-190.

Holden CA, Chan SC, Hanifin JM. Monocyte localization of elevated cyclic AMP phosphodiesterase activity in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1986;87:372-376.

Holden CA, Chan SC, Norris S, Hanifin JM. Histamine induced elevation of cyclic AMP phosphodiesterase activity in human monocytes. *Agents and Actions* 1987;22:36-42.

Hollander M, Wolfe DA. Nonparametric statistical methods. Wiley Publication. Wiley and Sons 1973:191-192.

Hovmark A. An in vitro study of depressed cell mediated immunity and of T and B lymphocytes in atopic dermatitis. Arch Derm Venereol (Stockh) 1975;57:237-242.

Hsu CK et al. Immunopathology of schistosomiasis in athymic mice. Nature 1976;262:397.

Hubscher T. Role of the eosinophil in the allergic reactions. II. Release of prostaglandins from human eosinophilic leukocytes. Immunol 1975;114:1389.

Iacobelli D, Hahimoto K, Takahashi S. Effect of ultraviolet radiation on guinea pig epidermal Langerhans cell cytomembrane: light and electron microscopic studies. Photodermatology 1985;2:132-143.

Inganas M, Johansen SGO, Bennich H. Anti-IgE antibodies in human serum: Occurrence and specificity. Int Archs Allergy Appl Immunol 1981; 65:51-61.

Ishizaka K. Cellular events in the IgE antibody response. Adv Immunol 1976; 23:1-52.

Ishizaka K, Sandberg K. Formation of IgE binding factors by human T lymphocytes. Immunol 1981;126:1692-1696.

Jadus MR, Schmunk G, Djeu JY, Parkman R. Morphology and lytic mechanisms of interleukin 3-dependent natural cytotoxic cells. Tumor necrosis factor a possible mediator. J Immunol 1986; 137:2774-2783.

James LP, Austen KF. Fatal systemic anaphylaxis in man. N Engl J Med 1964; 270: 597-603.

Johansson SGO, Bennich H, Berg T. The clinical significance of IgE. In : Progress in Clinical Immunology (Ed. by R.S. Schwartz). New York, Grune & Stratton, 1972:157-181

Johnson ML. Prevalence of dermatologic disease among persons 1-74 year of age.: United States. Advance data from vital and health statistics of the National Center for Health. Statistics N. 4. 1977.

Johnson HH, de Oreo GA, Lascheid WP, Mitchel F. Skin histamine levels in chronic atopic dermatitis. J Invest Dermatol 1960; 34:237-238.

Jong M, Blanken R, Nanninga J et al. Defined in situ enumeration of T6 and HLA-DR expressing epidermal langerhans' cells. Morphologic and methodologic aspects. J Invest Dermatol 1986; 87:698-702.

Jones HE, Inouye JC, McGerity JL Lewis CW: Atopic disease and serum immunoglobulin E. Br J Dermatol 1975; 92:17-25.

Juhlin L. Basophil leucocyte differential in blood and bone marrow. Acta Haematol 1963; 29:89-95.

Juhlin L. Johansson SGO, Bennich H, Hogman C, Thyresson N. Immunoglobulin E in dermatoses. Levels in atopic dermatitis and urticaria. Arch Dermatol 1969;100:12-16.

Kalz F, Fegete Z. Studies on the mechanism of the white response and of the delayed blanch phenomenon in atopic subjects by means of Coomassie blue. J Invest Dermatol 1960; 35:135-140.

Kanda G. Ono M, Sakimori S, Anan S, Yoshida H. An immunohistology study of atopic dermatitis. I. Relationship of percutaneous invasion of mite antigen to cellular infiltration in the skin. Japanese Journal of Allergology 1984;33: 646.

Kang K, Cooper KD. Vandernbard. A, Strannegard IL, Strannegard O, Hanifin JM. Immunoregulation in atopic dermatitis: T lymphocyte subsets defined by monoclonal antibodies. Semin Dermatol 1983;2:59-68.

Kaposi M. Pathology and treatment of diseases of the skin . ed 4 (translated by JC Johnston). New York, William Wood & Co, 1895.

Kasper CS, Tharp MD. Quantification of cutaneous mast cells using morphometric point counting and a conjugated avidin stain. J Am Acad Dermatol 1987; 16:326-331.

Katz HR, Stevens RL, Austen KF. Heterogeneity of mammalian mast cells differentiated in vivo and in vitro. J Allergy and Clin Immunol 1985; 76:250-259.

Keller P. Beitrag zu den Beziehungen von Asthma und Ekzem. Arch Dermatol Syph (Berlin) 1924;148:82-97.

Knopp J, Enk A, Heremans H. Release of interferon gamma by epidermal Langerhan cells. J Invest Dermatol 1988;90:246 (abstract).

Kopecka B, Sorkin E, Borelli S, Fjelde A. Zur Frage autoallergischen Reaktionen bei der atopischen konstitutionellen Neurodermatitis. *Derm Wchr* 1967;153:253-263.

Koulu L, Jansen CT, Markku V. Effect of UVA and UVB irradiation on human epidermal Langerhans cell membrane markers defined by ATPase activity and monoclonal antibodies (OKT 6 and anti Ia). *Photodermatology* 1985;2:339-346.

Kupper T, Blanton B, Wong D, Sims J, Dower S. The keratinocyte interleukin 1 receptor molecular. Biochemical and functional analysis. *J Invest Dermatol* 1989;92;3:466 (abstract)

The Langerhans cell (editorial). *Lancet* 1981;2:674-675.

Lampert IA, Janossy G, Suitters AJ et al. Immunological analysis of the skin in graft versus host disease. *Clin Exp Immunol* 1982;50:123-131.

Lee F, Yokota T, Otsuka T et al. Isolation and characterization of a mouse interleukin cDNA clone that expresses B cell stimulatory factor 1 activities and T-cell- and mast cell-stimulating activities. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:2061.

Leiferman KM, Ackerman SJ, Sampson HA et al. Dermal deposition of eosinophil-granule major basic protein in atopic dermatitis. *N Engl J Med* 1985;313:282-285.

Lemanske R, Kaliner M. Late phase allergic reactions. *Int J Dermatol* 1983;401-409.

Lett-Brown MA, Allibet M, Hooks JJ, Georgiades JA, Thenson DO & Grant JA. Enhancement of basophil chemotaxis in vitro by virus induced interferon. *J Clinical Invest* 1981; 67:547.

Lett-Brown MA, Boetcher DA, Leonard EJ. Chemotactic responses of normal human basophils to C5a and to lymphocyte derived chemotactic factor. *J Immunol* 1976;117:246-252.

Leung DY, Bhan AK, Schenkeberger EE, Geha RS. Characterization of the mononuclear cell infiltrate in atopic dermatitis using monoclonal antibodies. *J Allergy Clin Immunol* 1983;71:47-56.

Leung DY, Geha RS. Immunoregulatory abnormalities in atopic dermatitis. *Clin Rev Allergy* 1986;4:67-86.

Leung DY, Rhodes AR, Geha RS. Enumeration of T cell subsets in atopic dermatitis using monoclonal antibodies. *J Allergy Clin Immunol* 1981;67:450-455.

Leung DY, Wood N, Dubey D, Rhodes AR, Geha RS. Cellular basis of defective cell-mediated lympholysis in atopic dermatitis. *J Immunol* 1983;130:1678-82.

Lever R, Turbitt M, Sanderson A et al. Immunophenotyping of the cutaneous infiltrate and of the mononuclear cells in the peripheral blood in patients with atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1987;89:4-7.

Lew AM, Lillehoj EP, Cowan EP et al. *Immunology* 1986;57:3.

Lew AM, Lillehoj EP, Cowan EP et al. Class I genes and molecules: An update. *Immunology* 1986;57:3-18.

Leyden JJ, Baker DA. Localized herpes simplex infection in atopic dermatitis. *Arch Dermatol* 1979;115:311-312.

Lisi P. Investigation of Langerhans cells in pathological human epidermis. *Acta Derm Vener* 1973;53:425.

Lobitz WC, Honeyman JF, Winkler MW. Suppressed cell mediated immunity in two adults with atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1972;86:317-328.

O'Loughlin S, Diaz-Perez JL, Gleich G, Winkelmann RK. Serum IgE in dermatitis and dermatosis. *Arch Dermatol*. 1977;113:309-315.

Luger TA, Stadler B, Katz S, Oppenheim J. Epidermal cell (keratinocyte) derived thymocyte activating factors (ETAF). *J Immunol* 1981;127:1493-1498.

Luger TA, Uchida A, Köck A, Colot A, Mickshe M. Human epidermal cells and squamous cells synthesize a cytokine that augments natural killer cell activity. *J Immunol* 1985;134:2477-2483.

Luger TA, Wirth U, Köck A. Epidermal cells synthesize a cytokine with interleukin 3-like properties. *J Immunol* 1985;134:915-919.

Mackie RM, Cobb SJ, Cochran REI, Thompson J. Total and specific IgE levels in patients with atopic dermatitis: the correlation between prick testing, clinical history of allergy and in vitro quantitation of IgE during clinical exacerbation and remission. *Clin Exp Dermatol* 1979;4:187-195.

Mackie RM, Turbitt ML. Quantification of dendritic cells in normal and abnormal human epidermis using monoclonal antibodies directed against Ia. and HLA antigens. *J Invest Dermatol* 1983;81:216.

Marlin SD, Springer TA. Purified intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) is a ligand for lymphocyte function-associated antigen 1 (LFA-1). *Cell* 1987;51:813-819.

Maruyama M. RAST in atopic dermatitis and other various dermatosis. *Jpn J Dermatol* 1975;85:567-575.

Matthew DJ, Taylor B, Norman AP, Turner MW, Smoothill JF. Prevention of eczema. *Lancet* 1977;1:321-4.

Mekori YA, Dobozi BS, Schocket AL, Kohler PF, Clark RAF. Delayed pressure urticaria histologically resembles cutaneous late-phase reactions. *Arch Dermatol* 1988;124:230-235.

Merrett J, Barnetson R St C, Burr ML, Merrett TG. Total and specific IgG4 antibody levels in atopic eczema. *Clinical and Experimental Immunology* 1984;56:645-652.

Metcalfe DD, Bland CE, Wasserman SI. Biochemical and functional characterization of proteoglycans isolated from basophils of patients with chronic myelogenous leukemia. *J Immunol* 1984;132:1943.

Mihm MC, Soter NA, Dvorak HF, Austen KF: The structure of normal skin and the morphology of atopic eczema. *J Invest Dermatol* 1976;67:305-312

Mikhail GR, Miller-Milinska A. Mast cell population in human skin. *J Invest Dermatol* 1964;43:249-254.

McMillan JC, Heskell NS, Hanafin JM. Cyclic AMP-phosphodiesterase activity and histamine release in cord blood leukocyte preparations. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1985;114(suppl):24-32.

Mitchell EB, Askenase PW. Basophils in human disease. *Clin Rev Allergy* 1983;1:427-48.

Mitchell EB, Chapman MD, Pope FM et al. Basophils in allergen-induced patch test sites in atopic dermatitis. *Lancet* 1982;1:127-130.

Mitchell EB, Crow J, Chapman MD, Jouhal SS, Pope FM, Platts-Mills TAE. Basophils in allergen-induced patch test sites in atopic dermatitis. *Lancet* 1982;1:127.

Mitchell EB, Crow J, Rowntree S, Webster AD, Platts-Mills TA. Cutaneous basophil hypersensitivity to inhalant allergens in atopic dermatitis patients: elicitation of delayed responses containing basophils following local transfer of immune serum but not IgE antibody. *J Invest Dermatol* 1984;83:290-295.

Mitchell EB, Crow J, Williams G, Platts-Mills TA. Increase in skin mast cells following chronic house dust mite exposure. *Br J Dermatol* 1986;114:65-73.

Mitchell EB, Rawle PC, Platts-Mills TAE. T cell responses to major allergen from the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* antigen PI. Comparison of patients with asthma, atopic dermatitis and perennial. *J Immunol* 1984;133:195-201.

Miyauchi S, Hashimoto K. Epidermal Langerhans cells undergo mitosis during the early recovery phase after ultraviolet B irradiation. *J Invest Dermatol* 1987;88:703-708.

Moore K, Nesbitt AM. Identification and isolation of OKT4 suppressor cells with the monoclonal antibody WR16. *Immunology* 1986;58:659.

Morimoto C, Letvin NL, Boyd AW et al. The isolation and characterization of the human helper inducer T cell subset. *J Exp Med* 1985;164:3762.

Morrison WL, Parrish JA, Bloch KJ, Krugler JI. In vivo effect of UV-B on lymphocyte function. *Br J Dermatol* 1979;101:513-519.

Morrison GL, Parrish JA, Woehler ME et al. The influence of PUVA and UVB irradiation of skin graft survival in rabbits. *J Invest Dermatol* 1980;75:331-333.

Moroz B. Significance of food hypersensitivity in children with atopic dermatitis special symposium. *Ped Dermatol* 1986;3:161-174.

Munkvad M, Danielsen L, Hoj L et al. Antigen-free diet in adult patients with atopic dermatitis. A double-blind controlled study. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1984;64:524-528.

Murphy GF, Bahn AK, Sato S et al. Characterization of Langerhans' cells by the use of monoclonal antibodies. Lab Invest 1981;45:465-468.

Murrell TW, Taylor WM. The cutaneous reaction to nicotinic acid (niacin)-furfuryl. Arch Dermatol 1959;78:545-552.

Najem Nabeel M. The role of Langerhans cell in atopic dermatitis. Thesis submitted to the University of Rottingham for the degree of doctor in medicine. July 1985.

Nexmand PH. Preliminary studies of skin reactions to human bander. Nexmand PH ed. Clinical studies of Besnier's prurigo. Copenhagen: Rosenkilde and Bagger, 1948:103-117.

Nickoloff B, Basham T, Merigan T, Torgeth J, Morhenn V. Human keratinocyte-lymphocyte reactions in vitro. J Invest Dermatol 1986;87:11-18.

Nickoloff BJ, Lewinsohn DM, Butcher EC. Enhanced binding of peripheral blood mononuclear leukocytes to gamma interferon treated cultured keratinocytes. Am J Dermatopathol 1987;9:413-418.

Nickoloff BJ, Mitra RS. Phorbol treatment enhances binding of mononuclear leukocytes to autologous and allogeneic gamma interferon treated keratinocytes which is blocked by anti-LFA-1 monoclonal antibody. J Invest Dermatol 1988;90:684-689.

Nicolas JF, Kaiserlian D, Dardenne M. Faure M, Thivolet J. Epidermal cell-derived lymphocyte differentiating factor (ELDIF) inhibits in vitro lymphoproliferative responses and interleukin 2 production. J Invest Dermatol 1987;88:161-166.

Niedecken H, Wehrmann W, Bauer R, Kreysel H. Reaction of human keratinocytes with the monoclonal antibody Leu 11: An immunohistological study. J Am Acad Dermatol 1988;18:304-310.

Nilzen A. Experimental background of some abnormal vascular reactions in atopic dermatitis and significance of skin tests in man. Third International Congress of Allergology. Paris Flammarion, 1958:635.

Norris PG, Schofield O, Camp RDR. A study of the role of house dust mite in atopic dermatitis. Br J Dermatol 1988;118:435-440.

Norris PG, Schofield O, Camp RDR. Does house dust mite aggravate atopic eczema. *Br J Dermatol* 1987;117:14.

Obata M, Tagami H. Alteration in murine epidermal Langerhans cell population by various UV irradiations: quantitative and morphologic studies on the effects of various wavelengths of monochromatic radiation on Ia-bearing cells. *J Invest Dermatol* 1985;84:139-145

Ogawa M, Berger PA, McIntyre OR et al. IgE in atopic dermatitis. *Arch Dermatol* 1971;103:575.

Oppenheim JJ, Stadler BM, Siraganian RP et al. Lymphokines: their role in lymphocyte responses: properties of interleukin. *Fed Proc* 1982;41:257-259

Ortonne JP, Schmitt D, Alario A, Thivolet J. Oral photochemotherapy in lichen planus and mycosis fungoides: Ultrastructural modifications of the infiltrating cells. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1979;59:211-218.

Palacios J, Fuller EW, Blaylock WK. Immunological capabilities of patients with atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1966;47:484-490.

Parish WE. Short-term anaphylactic IgG antibodies in human sera. *Lancet* 1970;2:591-592.

Parish WF, Lockhurst E. Eosinophilia VL. Spontaneous synthesis of chemokinetic, chemotactic, complement receptor inducing activities for eosinophils by bronchial T lymphocytes of asthmatic bronchitis patients. *Clin Allergy* 1982;12:475-288.

Parker CW, Kennedy S, Eisen AZ. Leukocyte and lymphocyte cyclic AMP responses in atopic eczema. *J Invest Dermatol* 1977;68:302-306

Parker CW, Smith JW. Alterations in cyclic adenosine monophosphate metabolism in human bronchial asthma. *J Clin Invest* 1973; 52:48-59.

Parish JA ed. The effect of ultraviolet radiation on the immune system. Skilman, NJ: Johnson & Johnson, 1986

Parish R, Burd H, Rogers H et al. Interleukin 3 dependent and independent mast cell stimulated with IgE and antigen express multiple cytokines. *J Exp Med* 1989;170:245-257.

Paul WE, Ohara J. B-cell stimulatory factor-1/interleukin 4. Annu. Rev. Immunol 1987;5:429.

Peterson ROA, Page AR, Good RA. Wheal and erythema allergy in patients with agammaglobulinemia. J Allergy Clin Immunol 1962;33:406-411.

Platts-Mills TAE, Mitchell EB, Rowntree S et al. The role of dust mite allergens in atopic dermatitis. Clin Exp Derm 1983;8:233-247.

Powers G, Miller RA, Heterogeneity among T helper cells. Interleukin 2 secretion and help for immunoglobulin secretion. J. Immunol 1987;139:2567.

Prose PH. Pathologic changes in eczema. J Pediatr 1965;66:178-199.

Prose PH, Sedlis E. Morphological and histochemical studies of atopic eczema in infants and children. J Invest Dermatol 1960;34:149-165.

Prose PH, Sedlis E, Bigelow M. The demonstration of lysosomes in the diseased skin of infants with infantile eczema. J Invest Dermatol 1965;45:448-457.

Quigstad E, Thorsby E. Class II HLA restriction of antigen-specific human T-lymphocyte clones. Scand J Immunol 1983;18:299-306.

Quinti I, Brozek C, Geha RS, Leung DYM. Circulating IgG antibodies to IgE in atopic syndromes. Clin Res 1984;32:146A.

Raff MC. Surface antigenic markers for distinguishing T and B lymphocytes in mice. Transplant Rev 1971;6:52.

Rajka G. Natural history and clinical manifestations of atopic dermatitis. Clin Rev Allergy 1986;4:3-26.

Rajka G. Prurigo Besnier (atopic dermatitis) with special reference to the role of allergic factors. I The influence of atopic hereditary factors. Acta Derm Venereol 1960;40:285.

Rajka G. Atopic Dermatitis. London. WB Saunders, 1975.

Rajka G. Studies in hypersensitivity to molds and staphylococci in prurigo besnier. Acta Derm Venereol 1963; 43 (suppl 54):86.

Rajka G. Delayed dermal and epidermal reactivity in atopic dermatitis (prurigo besnier), I: Delayed reactivity to bacterial and mold allergens. Acta Derm Venereol 1967;47:158-162.

Ralfkier E, Wantzin L. In situ immunological characterization of the infiltrating cells in positive patch test. Br J Dermatol 1984;3:13-22.

Räsänen L, Reumala T, Letho M, Jansen C, Rantala I, Leinikki P. Immediate decrease in antigen presenting function and delayed enhancement of interleukin-I production in human epidermal cells after in vivo UVB irradiation. Br J Dermatol 1989;120:589-596.

Rawle FC, Mitchel EB, Platts-Mills TAE. T cell responses to the major allergen from the house dust mite Dermatophagoides pteronyssinus, antigen PI: Comparison of patients with asthma, atopic dermatitis, and perennial rhinitis. J Immunol 1984; 133: 195.

Rawle FC, Platts-Mills TA, Mitchell EB. Quantitative aspects of the T cell proliferation response to antigen P1 from D pteronyssinus: suppression by added histamine and limited effects of basophil depletion. Clin Exp Immunol 1985;59:101-109.

Reed CE, Busse WW, Lee TP. Adrenergic mechanisms and the adenyl cyclase system in atopic dermatitis. J Invest Dermatol 1976;67:333-338

Reinherz EL, Kung PC, Goldstein G, Schlossman SF. Further characterization of the human inducer T cell subset defined by monoclonal antibody. J Immunol 1979;123:2894-2896.

Reitamo S, Visa K, Kahonen K, Kayhko K, Stubb S, Salo OP. Eczematous reactions in atopic patients caused by epicutaneous testing with inhalant allergens. Br J Dermatol 1986;114:303-309

Rocha C, de Mauberge J, Sarfati M, Song M, Delespesse G. Characterization of cellular infiltrates in skin lesions of atopic eczema by means of monoclonal antibodies. Dermatologica 1984;169:330-338.

Rocklin RE. Modulation of cellular immune responses in vivo and in vitro by histamine receptor-bearing lymphocytes. J Clin Invest 1976;57:1051-1058.

Rocklin RE, Breard J, Gupta S, Good RA, Melmon KL. Characterization of the human blood lymphocytes that produce a histamine-induced suppressor factor (HSF). *Cell Immunol* 1980;51:226-237.

Rodriguez EM, Caursi I. A secoval look at the ultrastructure of the Langerhans cell of the human epidermis. *J Ultrastructure Research* 1978;65:279.

Royer HD, Campen TJ, Ramarli D et al: Transplantation 1985;39:571.

Ruscetti FW, Cypess RH, Chervenick PA. Specific release of neutrophilic and eosinophilic stimulating factors from sensitized lymphocytes. *Blood* 1976;47:757.

Ruzicka T, Simmet T, Peskar BA, Braun-Falco O. Leukotrienes in skin of atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1984;82:563.

Saarinen UM. Prophylaxis for atopic disease. Role of infant feeding. *Clin Rev Allergy* 1984.2:151-167.

Safko MJ, Chan SC, Cooper KD et al. Heterologous desensitization leukocytes: a possible mechanism of betaadrenergic blockade in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:218-225.

Saito H, Hatake K, Dvorak AM, Leiferman KM, Donnenberg AD, Arai N, Ishizaka K, Ishizaka T. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:2288.

Sampson HA. Persistence of food hypersensitivity in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1985;75:179.

Sauder DN, Dinarello CA, Morhenn VB. Langerhans' cell production of Interleukin-1. *J Invest Dermatol* 1984;82:605-607.

Sauder DN, Noonan FP, De Fabo EC, Katz SI. Ultraviolet radiation inhibits alloantigen presentation by epidermal cells, partial reversal by the soluble epidermal cell product, epidermal cell-derived thymocyte-activity factor (ETAF). *J Invest Dermatol* 1983;80:485-489.

Scheid MP, Triglia D. Further description of the Ly-5 system. *Immunogenetics* 1979;9:423-433.

Scheynius A, Johansson C, van der Meide PH. In vivo induction of Ia antigens on rat keratinocytes by gamma-interferon. British Journal of Dermatology 1986;115:543-9.

Schuler G, Romani N, Stingl G et al. Coated Langerhans' cell granules in histiocytosis X cells. Ultrastruc Pathol 1983;5:77-82

Schultz Larsen F, Holm N, Heningsen K. A genetic epidemiologic study in a population based twin sample. J Am Acad Dermatol 1986;15:487-494.

Schuster DL, Bongiovanni BA, Pierson DL, Barbaro JF, Wong DT, Levinson AI. Selective deficiency of a T cell subpopulation in active atopic dermatitis. J Immunol 1980;124:1662-1667

Schwartz RH. T - Lymphocyte recognition of antigen in association with gene products of the major histocompatibility complex. Ann Rev Immunol 1985;3:237-61.

Schweizer J, Marks F. A developmental study of the distribution and frequency of langerhans cell in relation to formation of patterning mouse tail epidermis. J Invest Dermatol 1977;69:198-204.

Shaw RJ, Cromwell O, Kay AB. Preferential generation of leukotriene C4 by human eosinophils. Clin Exp Immunol 1984;56:716-722.

Shaw S, Johnson AH, Shearer GM. Evidence for a new segregant series of B cell antigens that are uncoded in the HLA-D region and that stimulate secondary allogeneic proliferative and cytotoxic responses. J Exp Med 1980;152:565-580.

Shehade SA, Layton GT, Stanworth DR. IgG4 and IgE antibodies in atopic dermatitis and urticaria. Clin Exp Dermatol 1988;13:393-396.

Silberberg-Sinakin I, Thorbecke GJ. Contact hypersensitivity and Langerhans' cells. J Invest Dermatol 1980;75:61.

Silberstein DS, David JR. Immunol Today 1987;8:380.

Sillevis-Smitt JH, Bos JD, Hulsebosch HJ, Krieg SR. In situ immunophenotyping of antigen presenting cells and T cell subsets in atopic dermatitis. Clin Exp Dermatol 1986;11:159-168.

Simon FA. Cutaneous reactions of persons with atopic eczema to human dander. Arch Dermatol Syph (Berlin) 1945;51:402-404.

Sjoval P, Christensen OB, Local and systemic effect of ultraviolet irradiation (UVB and UVA) on human allergic contact dermatitis. Arch Derm Venereol (Stockh). 1986;66:290-294.

Solomon LM, Telner R. Eruptive molluscum contagiosum in atopic dermatitis. Can Med Assoc J 1966; 95:978.

Solley GO, Gleich GJ, Jordan RE, Schroeter AL. The late phase of the immediate wheal and flare skin reaction. J Clin Invest 1976; 58:408.

Sontheimer R, Stastny P, Nuñez G. HLA-D Region antigen expression by human epidermal langerhans' cells. J Invest Dermatol 1986; 87:707-710.

Smith KA. T cell growth factor. Immunol Rev 1980;51:337.

Spieksma F, Th M Woorhorst R. Comparison of skin reaction to extracts of house dust, mites and human skin scales. Acta Allergologica 1969;24:124-135.

Stastny P, Nuñez G, Pettaway C. In HLA-Class II antigens Berlin, Springer, 1986:356.

Steiner G, Wolff K, Pehamberger H et al. Epidermal cells as accessory cells in the generation of alloreactive and hapten-specific cytotoxic T lymphocyte (CTL) responses J Immunol 1985;134:736-742

Steinman RM, Nussenzweig MC. Dendritic cells : Features and functions. Immunol Rev 1980;53:127-147.

Stenn KS, Borlin AK, Higgins T, Stenn JO: Spongiosis (Editorial). J Am Acad Dermatol. 1981;5:213-214.

Stingl G, Katz SI, Shevach EM et al. Detection of Ia antigens on Langerhans cells in guinea pig skin. J Immunol 1978;120:570-578.

Stone SP, Muller SA, Gleich GJ. IgE levels in atopic dermatitis. Arch Dermatol 1973;108:806-811.

Storm van Leeuwen W. Über die Hautreaktionen mit Extrakten menschlicher Kopfhautschuppen bei allergischen Krankheiten . Klin Wochenschr 1926;5:1023-1025.

Strannegard IL, Strannegard O. The T-cell deficiency in atopic disease and its relation to hyperproduction of IgE. Acta Derm Venereol (Stockh). 1981;95(suppl):20-24.

Stutman O, Good RA. Immunocompetence of embryonic hematopoietic cells after traffic to thymus. Transplant Proc 1971;3:923.

Szentivanyi A. The beta adrenergic theory of the atopic abnormality in bronchial/asthma. J Allergy 1968;42:203-232.

Takagi M, Nakahata T, Koiche K et al. Stimulation of connective tissue-type mast cell proliferation by crosslinking of cell-bound IgE. J Exp Med 1989;170:233-244.

Tamaki K, Stingl G, Gullino M et al. Ia antigens in mouse skin are predominantly expressed on Langerhans' cells. J Immunol 1979;123:784-787.

Tharp MD, Kagey-Sobotka A, Fox CC, Marone G, Lichtenstein LM, Sullivan TJ. Functional heterogeneity of human mast cells from different anatomical sites: In vitro responses to morphine sulfate. J Allergy Clin Immunol 1987;79:646-653.

Thomas DW et al. T lymphocyte stimulation by haptenconjugated macrophages: a model system for the study of immunocompetent cell interactions. Immunol Rev 1978;48:181.

Thune P, Rajka G. Small vessel reactivity in atopic dermatitis. Acta Dermatovener. 1980;92(suppl):30-32.

Tjernlund UM. Epidermal expression of HLA-DR antigens in mycosis fungoides. Arch Dermatol RES 1978;261:81-6.

Tong AKF, Mihm MC. The pathology of Atopic Dermatitis. Clin Rev Allergy 1986;4:27-42

Tood I, Pujol-Borrell R, Bottazzo GR, Feldman M. Epithelial MHC class II subregion expression in autoimmunity. Immunol Today 1986;7:8.

Tovey ER, Chapman MD, Wells CW & Platts-Mills, TAE. The distribution of dust mite allergen in the houses of patients with asthma. Am Rev Resp Dis. 1981;124:630-635.

Tsuda S, Miyasato M, Nakama T, Nakano S, Kasada M, Sasai Y. Evidence of eosinophil degranulation in the peripheral circulation of atopic dermatitis. J Invest Dermatol 1989;92;3:534.

Tuft LA. Importance of inhalant allergens in atopic dermatitis. J Invest Dermatol 1949;12:211-219.

Tuft L, Tuft HS, Heck VM. Atopic dermatitis, I. An experimental clinical study of the role of inhalant allergens. J Allergy 1950;21:181-186.

Tuft L, Tuft HS, Heck VM. Atopic dermatitis, II. Role of the sweating mechanism. J Invest Dermatol 1950;15:333-337.

Uehara M. Clinical and histological features of dry skin in atopic dermatitis. Acta Derm Venereol (Stockh) 1985;114(suppl):82-86

Uehara M, Ofuji S. Patch test reaction to human dander in atopic dermatitis. Arch Dermatol 1976;112:951-955.

Uehara M, Sawai T. Alongitudinal study of contact sensitivity in patients with atopic dermatitis. Arch Dermatol 1989;125:366-368.

Unanue ER et al. Antigen presentation: comments on its regulation and mechanism. J Immunol 1984;132:1.

Unanue ER. The regulatory role of macrophages in antigenic stimulation. Adv Immunol 1972;15:95-165.

Uno H, Hanifin JM. Langerhans cells in acute and chronic epidermal lesions of atopic dermatitis, observed by L-dopa histofluorescence, glycol methacrylate thin section, and electron microscopy. J Invest Dermatol 1980;75:52-60.

Valverde E, Vich JM, Huguet J, Garcia-Calderón JV, Garcia-Calderón PA. An in vitro study of lymphocytes in patients with atopic dermatitis. Clin Allergy 1983;13:81-88.

Venge P, Dahl R, Hallgren R et al. Cationic proteins of human eosinophil and their role in the inflammatory reaction, in Mahmoud AAF, Austen KF (eds). The Eosinophil in Health and Disease. New York, Grune Stratton, 1980:131-144.

Volc-Platzer B, Masberger I, Radaszkewicz T, Honigsman H. Differential effects of ultraviolet radiation on hematopoietic (CD45+) cells and the expression of leucocyte function associated (LFA) molecules in normal human epidermis. *J Invest Dermatol* 1989;92:538 (abstracts)

Waldman TA, Polmar SH, Balestra ST, Jost MC, Bruce RM, Terry WD. Immunoglobulin E in immunologic deficiency diseases. *J Immunol* 1972;109:304-310.

Walker RB, Warin RP: Incidence of eczema in early childhood. *British Journal of Dermatology* 1956;68:182.

Wang SR, Zweiman B. Histamine suppression of human lymphocyte response to mitogens. *Cell Immunol* 1978;36:28-36.

De Weck AL, Blumenthal MN. HLA and Allergy. Basel. S Karger AG Medical and Scientific Publishers, 1977.

Weller PF. Eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:1-10.

Whitfield A. On the white reaction (white line) in dermatology. *Br J Dermatol* 1938;50:71-82.

Willemze R, Degraaff-Reitsma CB, Crossen J. Van Vloten WA, Meijer CJLM. Characterization of T cell subpopulations in skin and peripheral blood of patients with cutaneous T cell lymphomas and benign inflammatory dermatoses. *J Invest Dermatol* 1983;80:60-66.

Willemze R, Dijkstra A, Nugteren W. Intercellular distribution of HLA-DR and T6 antigens in the epidermis of various dermatoses. *Br J Dermatol* 1985;802-804.

Wise F, Suzberger MB. In Year Book of Dermatology and Syphilology. Chicago. 1933. Year Book Medical Publisher Inc. p.59.

Witting HJ, Belloit J, Fillippi ID, Royal G. Age-related serum immunoglobulin E levels in healthy subjects and in patients with allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 1980;66:305-313.

Wolff K. The Langerhans' cell. *Curr Probl Dermatol* 1972;4:79-145.

Wolff K, Winkelmann RK. Quantitative studies on the Langerhans' cell. Population of guinea pig epidermis. *J Invest Dermatol* 1967;48:6:504-513.

Wüthrich B, Benz A, Skvaril F. IgE and IgG4 levels in children with atopic dermatitis. *Dermatologica* 1983;166:229-235.

Yamaguchi Y, Hayashi, Y, Sugama Y et al. *J. Exp Med* 1987;167:1737.

Young E, Bruynzeel-Koomen, Berrens L. Delayed type hypersensitivity in atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1985;114(suppl),77-81.

Zachary CB, Allen MH, MacDonald DM. In situ quantification of T-lymphocyte subsets and Langerhans cells in the inflammatory infiltrate of atopic eczema. *British Journal of Dermatology* 1985;112:149-156.

Zachary CB, MacDonald DM. Quantitative analysis of T-lymphocyte subsets in atopic eczema using monoclonal antibodies and flow cytometry. *British Journal of Dermatology* 1983;108:411-422.

Zachary CB, Poulter LW, MacDonald DM. Cell-mediated immune responses in atopic dermatitis: the relevance of antigen-presenting cells. *British Journal of Dermatology* 1985;113:10-16.