

Indicaciones y rentabilidad de la provocación con alergen

J.I. Sierra Martínez

Jefe de la Sección de Inmunología y Alergia Pediátrica. Unidad Integrada. Hospital Clinic-Hospital de Sant Joan de Déu. Barcelona. España.

RESUMEN

Las pruebas de provocación bronquial específicas (PPBE) se han venido empleando con fines tanto de confirmación diagnóstica y modelo de laboratorio del estudio del asma, como para la valoración de la eficacia de la inmunoterapia con alergen; sin embargo, a pesar de los grandes avances que ha experimentado el conocimiento de los mecanismos etiopatogénicos del asma, las pruebas de provocación bronquial con alergen tienen algunas limitaciones metodológicas que nacen de la dificultad de su valoración en cuanto a qué marcadores de la inflamación (óxido nítrico exhalado, monóxido de carbono, etc.) han de ser investigados y en qué momentos de la cronología de la respuesta asmática. No parece que los actuales parámetros de exploración funcional respiratoria (FEV1, fundamentalmente) sean los más idóneos ni que los porcentajes de disminución de los mismos, habitualmente consagrados por el uso, sirvan en todos los casos para reconocer una respuesta que es broncoespástica e inflamatoria.

Tampoco las dosis de los alergen que se indican en los diversos protocolos logran remedar la exposición natural a los mismos, introduciendo así un importante sesgo en la interpretación de los resultados. En este sentido, otra dificultad no menos importante es la falta de una estandarización adecuada en cuanto a las características de los alergen empleados; seguramente el desarrollo de los recombinantes permitirá soslayar este obstáculo y mejorar la reproducibilidad de las pruebas.

Por lo dicho anteriormente, no parece razonable que en el diagnóstico etiológico del asma se contemple como requisito imprescindible que la prueba de

provocación bronquial sea positiva para un alergen determinado, que en ausencia de ésta no esté indicada la inmunoterapia específica y que la valoración de su eficacia descansa en la negatividad de una prueba anteriormente positiva: esta premisa no contempla la realidad de una reactividad bronquial sujeta a variables de difícil control (exposición natural previa al alergen, por ejemplo).

Palabras clave: Asma. Pruebas de provocación bronquial. Marcadores de inflamación. Óxido nítrico espirado. Monóxido de carbono. Espirometría. Alergenos. Inmunoterapia específica. Recombinantes. Oscilometría de impulsos. Hiperreactividad bronquial.

Indications and utility of allergen provocation testing

SUMMARY

Specific bronchial provocation tests have been used to confirm diagnosis, as a laboratory model for the study of asthma, and to evaluate the efficacy of immunotherapy with allergen extracts. However, despite the advances achieved in our knowledge of the etiopathogenic mechanisms of asthma, bronchial provocation tests with allergens have certain methodological limitations. These are due to the difficulty of evaluating these tests as regards which markers of inflammation (exhaled nitric oxide, carbon monoxide, etc.) should be investigated and at what points in the chronology of the asthmatic response. The current parameters used to assess respiratory

function (FEV1, mainly) do not seem to be the most ideal nor do their percentage reductions, usually established by use, always serve to identify a bronchospastic and inflammatory response.

Furthermore, the allergen doses indicated in the various protocols do not mimic natural exposure to these allergens, thus introducing an important bias in the interpretation of the results. In this sense, another and no less important difficulty is the lack of adequate standardization of the characteristics of the allergens used; the development of recombinant allergens may eliminate this obstacle and improve the reproducibility of the tests.

In view of the above, the requirement of a positive bronchial provocation test to a specific allergen in the etiological diagnosis of asthma does not seem reasonable nor does it seem reasonable that specific immunotherapy is not indicated if the test is negative or that evaluation of its efficacy lies in a negative result for a previously positive test. This premise does not take into account the fact that bronchial reactivity is subject to variables that are difficult to control (prior natural exposure to the allergen, for example).

Key words: Asthma. Bronchial provocation tests. Markers of inflammation. Expired nitric oxide. Carbon monoxide. Spirometry. Allergens. Specific immunotherapy. Recombinant allergens. Impulse oscillometry. Bronchial hyperreactivity.

ALERGENOS Y ASMA

La sensibilización a neumoalergenos en el asma es una circunstancia muy común que está presente en alrededor del 75 % de los pacientes, con notables diferencia en función de la edad. En general, se admite que¹:

- Entre el 60 y 80 % de adultos y niños con asma tienen pruebas cutáneas positivas a neumoalergenos.
- Los síntomas de asma y los fenómenos inflamatorios que la acompañan se pueden reproducir en los pacientes mediante la inhalación de extractos alérgicos a los que están sensibilizados.
- La exposición intensa a aeroalergenos ha producido brotes epidémicos de asma (soja).
- La sensibilización, con producción de IgE específica, es un factor de riesgo para desarrollar asma, especialmente a los alergenios domésticos.
- La gravedad del asma guarda relación con el grado de sensibilización a los alergenios domésticos.

- La sintomatología y las pruebas de función pulmonar mejoran cuando los pacientes evitan los alergenios a los que están sensibilizados.

Las pruebas de provocación bronquial con alergenios comunes y con agentes ocupacionales hidrosolubles de alto peso molecular, se realizan en clínica mediante la nebulización de concentraciones progresivamente crecientes de los mismos.

Para detectar la repuesta se utilizan determinaciones del funcionalismo pulmonar, generalmente el FEV1, aunque como veremos más adelante, en el paciente no colaborador (circunstancia muy frecuente por debajo de los seis años) pueden valorarse otros parámetros.

En los asmáticos sensibilizados a un determinado alergenio pueden observarse tres tipos de respuesta durante la prueba de provocación bronquial²:

1. Respuesta inmediata, que se detecta a los 15 o 20 minutos de la inhalación del alergenio y se resuelve habitualmente en un plazo de 2 a 3 horas.
2. Respuesta tardía, es la que presenta un cierto porcentaje de pacientes que desarrollan un nuevo deterioro del funcionalismo pulmonar, que alcanza su grado máximo a las 6-12 horas y se resuelve generalmente en 24 horas.
3. Respuesta dual, que para determinados alergenios (alternaria, ácaros) se produce con cierta frecuencia.

La respuesta inmediata es predominantemente broncospástica mientras que la tardía es inflamatoria e induce aumentos persistentes de la hiperrespuesta bronquial inespecífica; estas características de la respuesta tardía han determinado que se la considere como un modelo de asma en el laboratorio³.

Durante los últimos años, los conceptos acerca del papel de los alergenios en el asma han cambiado sustancialmente, de forma que en la actualidad se les atribuyen dos grandes efectos⁴:

1. Actuar como desencadenantes de episodios agudos.
2. Inducir y mantener el proceso inflamatorio y los fenómenos de daño-reparación en las vías aéreas que conducen al remodelado de las mismas y el mantenimiento de la enfermedad.

Habitualmente, la protocolización e interpretación de los resultados de las pruebas de provocación bronquial con alergenios se han realizado sin tener en cuenta el papel de estos agentes en el mantenimiento de la inflamación y del daño estructural de las vías aéreas.

En este contexto, parece evidente que las pruebas de provocación bronquial específicas (TPBE) deberían valorarse con cautela teniendo presente al menos tres aspectos⁵:

1. Valoración de la respuesta tardía, como inductora de inflamación e hiperrespuesta bronquial.

2. La forma de evaluar esta respuesta tardía: decíamos antes que la respuesta tardía es fundamentalmente inflamatoria; no parece pues que las determinaciones que realizamos habitualmente para su medición (FEV1, Raw, sGaw, etc.) sean los parámetros más indicados (tampoco los % de variación con respecto a los basales están suficientemente documentados, probablemente disminuciones menores del FEV1 que las del 20 % consagradas por el uso, sean significativas); por otro lado, el estudio de los marcadores de inflamación está muy limitado en la edad pediátrica, con excepción del óxido nítrico exhalado (ONE) y, también dificultosos a esta edad, los obtenidos por medio del esputo inducido.

3. Las dificultades de remedar la exposición natural a los alergenitos a los que el paciente está sensibilizado. En este sentido⁶, experimentalmente se ha comprobado que la exposición mantenida (6 o 7 días) a concentraciones bajas (que no produzcan respuesta asmática inmediata) se traduce en un aumento de la HRB, acompañada de proliferación de eosinófilos y elevación de IL-5 y ECP en esputo inducido.

INDICACIONES DE LA PROVOCACIÓN BRONQUIAL ESPECÍFICA

Clarificación del papel real de un determinado alérgeno como agente causal del asma

Aunque existen células comunes a la piel y los pulmones, hay grandes diferencias entre ambos órganos, en términos de orientación de mastocitos, eosinófilos, componentes vasculares etc. Por este motivo, la mayoría de los autores cree que el órgano diana de la respuesta alérgica (los bronquios en el caso del asma) debe ser "provocado" para determinar el papel de un alérgeno determinado; de hecho, gran parte de los estudios realizados muestran que la respuesta bronquial proporciona diferente información que la obtenida por las pruebas cutáneas o las realizadas *in vitro*; en concreto, cuando se examinan las relaciones entre IgE, mastocitos y basófilos de varias partes del organismo, se comprueba que las respuestas frente al mismo alérgeno pueden ser muy diferentes⁷.

Otro motivo de discordancia es la respuesta local en producción de IgE específica en un órgano en par-

ticular: Huggins and Brostoff miden la producción local de IgE en secreción nasal, estudiando un número de pacientes con pruebas cutáneas y determinación de IgE negativas frente a D. pt. en los que hallaron IgE específica para dicho alérgeno en secreción nasal, con gran correspondencia con la historia clínica y test de provocación nasal.

Como alternativa o comparación con otros procedimientos diagnósticos (pruebas cutáneas, pruebas *in vitro*)

La provocación bronquial se ha empleado cuando existe insuficiente información o esta es discrepante con la obtenida por la historia clínica, pruebas cutáneas; en general, el grado de reactividad cutánea se correlacionaría con la respuesta bronquial, sobre todo en el caso de alergia al polen y está parcialmente condicionada por la hiperreactividad bronquial inespecífica subyacente.

Estudio de mediadores y mecanismos involucrados en la reacción asmática

Además de los clásicamente conocidos (niveles de histamina, leucotrienos, PAF, tromboxano B, eosinófilos y sus productos, linfocitos, etc.) en sangre y secreciones (esputo inducido, por ejemplo), actualmente se investiga en las alteraciones del perfil de marcadores de inflamación exhalados tras las pruebas de provocación bronquial; entre los muchos que se hallan en estudio⁸⁻¹⁰ (CO, isoprostanos, peróxido de hidrógeno, pentano, etano, etc.) sólo la determinación del nítrico exhalado parece más correlacionable con la respuesta tardía; en este sentido, Kharitonov et al, someten a provocación bronquial con alérgeno a un grupo de 24 pacientes con asma alérgica. Determinaron el FEV1 y las concentraciones de ON en el aire espirado con intervalos frecuentes tras la provocación; un total de 16 pacientes presentaron respuestas duales a la provocación, mientras que los 8 restantes mostraron respuestas inmediatas aisladas. En los pacientes con sólo respuesta inmediata no se detectaron modificaciones significativas del ONE, excepto un aumento puntual al cabo de 21 horas de la provocación. Por el contrario, los pacientes con respuesta tardía mostraban aumentos significativos de ONE a partir de las 8 horas de la provocación, que se mantenía durante las 13 horas siguientes y, lo que es más interesante, los incrementos de ONE en este grupo de pacientes, se correlacionaba con la respuesta tardía espirométrica aunque aparecían con cierto retraso.

Utilidad del test de provocación bronquial para la indicación de inmunoterapia específica

La provocación bronquial con alérgeno se parece muy poco a la exposición natural; en el curso de la provocación, el paciente recibe dosis progresivamente crecientes de un alérgeno nebulizadas directamente, durante un periodo de tiempo limitado. Por el contrario, durante la exposición natural a los alérgenos, los pacientes se exponen de forma reiterada a concentraciones variables del alérgeno y durante tiempos prolongados, sin que exista una relación clara entre uno y otro tipo de exposición. En definitiva, la provocación en el laboratorio puede no aportar una información suficiente sobre la implicación real del alérgeno en cuestión; por este motivo, no parece que el requisito de que exista un TPBE positivo sea condición "sine qua non" para indicar el tratamiento con inmunoterapia y no suple a la cuidadosa valoración de la historia clínica y de las pruebas diagnósticas habituales. A las dificultades metodológicas de la apreciación de los resultados (los parámetros de funcionalismo pulmonar no parecen suficientemente sensibles para detectar la presencia de inflamación inducida por la inhalación del alérgeno) se unen los propios de una escasa estandarización. Así, cabría tener en cuenta los siguientes aspectos:

- Calidad de los extractos alérgénicos: es un aspecto esencial y que la ingeniería genética ha contribuido a mejorar; los alérgenos recombinantes se irán incorporando al diagnóstico del asma, entre ellos ya se cuentan con los de ácaros (rDer p1, rDer f 1) hongos (rAsp f 1, rAlt a 1), animales domésticos (rFel d 1) entre otros¹¹. La puesta a punto de estos alérgenos recombinantes, permitirá disponer en breve plazo de una mejor estandarización y la reproducibilidad de las pruebas diagnósticas.

- Dosis de los alérgenos, variable según la potencia de los mismos (difícil de valorar a priori). Las distintas pautas tienen aún mucho de empíricas (la valoración del llamado "punto final" en prueba cutánea para indicar la dosis inicial en el TPBE se ha consagrado por el uso, pero es altamente discutible).

- El tamaño de las partículas nebulizadas.

- La existencia previa de hiperreactividad bronquial inespecífica puede condicionar el resultado de las pruebas de exposición bronquial¹².

Es también muy probable que la estimación de la obstrucción bronquial sea más realista mediante los parámetros que estudian la resistencias¹³ de las vías aéreas por pletismografía (Raw), oscilometría de impulsos (R 5Hz, X 5Hz) y los obtenidos por técnica de interrupción de flujos (Rint) y otras que permitirían la

práctica del TPBE en pacientes que no colaboran en la espirometría forzada.

Evaluación de los efectos de la inmunoterapia

La inmunoterapia específica (ITE) es, hoy por hoy, el único procedimiento terapéutico etiológico que puede modificar la respuesta inflamatoria que subyace en el asma en su origen y, como recoge la OMS "el único que puede afectar la evolución natural de las enfermedades alérgicas y prevenir el desarrollo de asma en pacientes con rinitis alérgica"¹⁴.

Si bien son sobradamente conocidas y documentadas las modificaciones inmunológicas que la ITE produce (reducción de células efectoras de la inflamación, reducción de los mediadores de la misma) tanto en mucosa bronquial como nasal¹⁵, la evidencia no sólo clínica sino también en la modificación del TPBE, ha sido más compleja por las ya comentadas dificultades de valoración racional del TPBE. Los estudios realizados, fundamentalmente mediante determinación de parámetros de función respiratoria, proporcionan una información muy incompleta; la escasa viabilidad en la edad pediátrica de los métodos "invasivos" de acceso a células y mediadores del proceso inflamatorio (biopsia bronquial, lavado broncoalveolar, etc.) incrementan los datos contradictorios existentes en la abundante literatura que existe al respecto, aunque si hay evidencias de los siguientes datos (en pacientes monosensibles a ácaros, pólenes o epitelio de gato y afectos de asma leve-moderada):

- Disminuye la reactividad bronquial al alérgeno (sobre todo en aquellos en los que se comprobó respuesta tardía^{4, 16}) y esto se correlaciona con la mejoría clínica y la disminución del consumo de fármacos.

- Disminuye la HRB frente a histamina y metacolina¹⁶.

CONCLUSIONES

- Un TPBE confirma la implicación causal de un alérgeno determinado; sin embargo, la negatividad del mismo no la excluye, dadas las dificultades metodológicas ya comentadas.

- Muy seguramente, el estudio de los marcadores de inflamación obtenidos del aire exhalado contribuirá a la mejor valoración del TPBE.

- El uso de alérgenos recombinantes, pautas de provocación mejor estandarizadas y la medición de las resistencias de las vías aéreas pueden ser claves para una mayor rentabilidad de esta prueba diagnóstica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Colás C. En Facetas inéditas en asma bronquial. Publicación MSD, Madrid: Editores Médicos, S.A. 2000.
2. Prieto L, Gutiérrez V, Bertó JM. Pruebas de provocación bronquial con alérgenos en el asma. Aspectos controvertidos *Rev Esp Alergol Immunol Clin* 1998;12:(Núm. Extr.)84-96.
3. Arshad SH. Bronchial allergen challenge: a model for chronic allergic asthma? *Clin Exp Allergy* 1999;30:12-5.
4. Vives R, Hinojosa M, Cisteró AM. Pruebas de provocación bronquial específicas. En SEAIC (Eds). Pruebas de provocación bronquial inespecíficas y específicas. Madrid: Edicom-plet, 1983; p. 87-109.
5. Spector SL. Allergen inhalation challenges: En Spector S.L. (Eds) Provocation testing in clinical practice. New York: Marcel Dekker, 1995; p. 325-36.
6. Ibre E, Axelsson I, Zetterstrom O. Late asthmatic reactions and bronchial variability after challenge with low doses of allergens. *Clin Allergy* 1988;18:557-67.
7. Spector SL. Allergen inhalation challenges: En Spector S.L. (Eds) Provocation testing in clinical practice. New York: Marcel Dekker, 1995; p. 328-36.
8. Kharitonov SA, O'Connor BJ, Evans DJ, Barnes PJ. Allergen-induced late asthmatic reactions are associated with elevation of exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:1894-9.
9. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of pulmonary disease *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163(7):1693-722.
10. Sumitra BK, Ozkan M, McCarthy K, Laskowski D, Hammel J, Raed DA, Serpil CE. Alterations in exhaled gas profile during allergen. Induced asthmatic response *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1844-8.
11. Van Hage-Amsten M, Pauli G. Provocation testing with recombinant allergens. *Methods*, 2004; p. 281-91.
12. Cockcroft DW, Ruffin RE, Hargreave FE. Appearance of allergen-induced increases in airway responsiveness only after repeated allergen inhalation in two subjects. *Clin Exp Allergy* 1993;23:225-7.
13. Phagoo SB, Watson RA, Pride NB, Silverman M. Accuracy and sensitivity of the interrupter technique for measuring the response to bronchial challenge in normal subjects. *Eur Respir J* 1993;6:996-1003.
14. WHO Position Paper. Allergen Immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. *Allergy* 1998;53(Suppl 44):5-42.
15. Muñoz-López F. Alergia respiratoria en la infancia y adolescencia. Barcelona: Springer-Verlag Ibérica, 1999.
16. Álvarez MJ, Echechipía B, García A, Tabar AI, Martín P, Rico P, Olaguibel JM. Liposome-entrapped D. pteronyssinus vaccination in mild asthma patients: effect of 1-year double-blind, placebo-controlled trial on inflammation, bronchial hyperresponsiveness and immediate and late bronchial responses to the allergen, *Clin Exp Allergy* 2002;32:1574-82.