

## DETERMINACION INMUNOENZIMATICA DE LOS NIVELES SERICOS DE INMUNOGLOBULINA EN NIÑOS ASMATICOS DE LA MESETA CENTRAL DE COSTA RICA

Bruno Lomonte<sup>1</sup>, Pilar Salas<sup>2</sup> y Flor Quesada<sup>3</sup>

### RESUMEN

Se describen los niveles de IgE sérica en una muestra de 69 niños con diagnóstico de asma bronquial, de la meseta central de Costa Rica, así como de 33 niños aparentemente sanos, sin historia clínica de alergias, y de 20 adultos donadores de sangre. La comparación estadística mostró un mayor promedio de IgE sérica en el grupo de niños asmáticos con respecto al grupo control, así como una mayor frecuencia de niveles de IgE muy aumentados (>1000 kU/l) en los niños asmáticos. Los valores de IgE hallados en los niños aparentemente sanos son más similares a los descritos en poblaciones de países tropicales que de países de Europa y Norteamérica. Se realizó una comparación entre

un método inmunoenzimático y uno radioinmune para la cuantificación de IgE y se obtuvo un coeficiente de correlación de 0,947. (Rev. Cost. Cienc. Med. 1989; 10/3: — ).

### INTRODUCCIÓN

La inmunoglobulina E (IgE), fue aislada por primera vez en 1966, y seguidamente fue identificada como la clase de inmunoglobulina que media las reacciones de hipersensibilidad tipo I (revisado por Johansson [7]). El hallazgo de un mieloma IgE permitió la producción de antisueros anti-IgE, lo que a su vez propició el desarrollo de técnicas inmunológicas para su cuantificación (7). Dada la baja concentración de IgE en suero normal (alrededor de 500.000 veces menor que la de IgG), los métodos para su cuantificación requieren de una alta sensibilidad física (7, 19). Fundamentalmente se utilizan métodos radioinmunes e inmunoenzimáticos. En la actualidad, la tecnología de hibridomas (11) ha permitido la obtención de anticuerpos monoclonales contra la cadena epsilon humana, de gran utilidad en las técnicas mencionadas.

La cuantificación de IgE es parte de la evaluación integral de los pacientes en estudio por padecimientos alérgicos (20).

1 Instituto Clodomiro Picado, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

2 Instituto de Investigaciones en Salud y Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, y

3 Laboratorio de Inmunoanálisis, Sección de Medicina Nuclear, Hospital San Juan de Dios, CCSS, San José, Costa Rica.

Correspondencia: Dr. Bruno Lomonte, Instituto Clodomiro Picado, Universidad de Costa Rica.

El asma bronquial extrínseca fue una de las primeras entidades clínicas en que la determinación de IgE halló utilidad diagnóstica (7). Aparte de los trastornos alérgicos, otras causas de elevación en la IgE sérica son las afecciones parasitarias, especialmente por helmintos, así como algunas infecciones virales, por ejemplo por virus de herpes, parainfluenza, respiratorio sincicial, y Epstein—Barr (9). Dado que los niveles de IgE (así como de otras inmunoglobulinas) en la población de distintas regiones geográficas pueden variar significativamente por factores genéticos y/o ambientales (2, 3, 4, 12, 14), y dada la escasa información, publicada sobre los niveles de IgE en la población costarricense, consideramos de interés investigar este parámetro en un grupo de niños con diagnóstico de asma bronquial y un grupo de niños control”, aparentemente sanos y sin historia de alergias, de la meseta central de Costa Rica. También se determinó la IgE en un grupo de veinte adultos donadores de sangre. A la vez se realizó una comparación entre el método inmunoenzimático y un método radioinmune para esta determinación, con el fin de evaluar su correlación.

## **MATERIAL Y METODOS**

El grupo de niños con diagnóstico de asma bronquial consistió de pacientes preescolares atendidos en el Cuarto de Nebulizaciones del Servicio de Consulta Externa del Hospital Nacional de Niños, San José, Costa Rica. Como grupo de control se seleccionó a 33 niños aparentemente sanos, que acudieron a consultas de control en la Clínica “Dr Solón Nuñez”, Hatillo (San José, Costa Rica) sin historia de padecimientos alérgicos ni asma, y que presen-

taran un hemograma normal. También se incluyó una muestra de veinte adultos que se presentaron a donar sangre en el Banco del hospital citado. No se investigó la presencia de parásitos intestinales u otros agentes infecciosos en ninguno de los grupos investigados. No se hizo diferencias por sexo en los grupos, dado que otros investigadores han hallado que este factor no tiene influencia en la concentración de IgE (1, 10).

Las muestras de suero fueron mantenidas a — 20 °C hasta su análisis (tres meses). Para la determinación de IgE sérica total se utilizó un método inmunoenzimático (“IgE EIA”; Pharmacia Diagnostics, Uppsala, Suecia) basado en una captura en fase sólida con un anticuerpo monoclonal anti-IgE y detección simultánea con el mismo anticuerpo conjugado con fosfatasa alcalina. La lectura del producto final se realizó a 420 nm en un espectrofotómetro Shimadzu (UV-160; Shimadzu Corporation, Japón). Los estándares para la curva de referencia se corrieron por triplicado, así como un suero control precalibrado (Pharmacia). Las concentraciones de IgE de las muestras estudiadas se obtuvieron por interpolación en la curva de referencia, mediante la regresión logarítmica aplicada a los dos puntos más próximos a la lectura de la muestra. Tanto los estándares de referencia como las muestras en estudio fueron analizados simultáneamente.

Para fines comparativos, se analizó 108 muestras concomitantemente por un método radioinmune (“IRMA-count total IgE”; Diagnostic Products Corporation, California, EUA). En breve, la técnica se basa en una unión inicial entre la IgE de la muestra y un anticuerpo monoclonal antiIgE marcado con un ligando, en fase líquida. Los complejos son unidos a una

fase sólida recubierta con el ligando a través de un puente con anticuerpos antiligando, y posteriormente la IgE unida es detectada con dos anticuerpos anti-IgE marcados con  $^{125}\text{I}$ . Las curvas de referencia se establecieron con los estándares por el fabricante.

Las concentraciones de IgE fueron transformadas logarítmicamente para aproximar una curva normal (9). La comparación de promedios se realizó mediante la prueba de t de Student, utilizando el programa SPSS.

## RESULTADOS

La curva de referencia obtenida por el método inmunoenzimático comercial ("IgE EIA") fue típica, con una alta reproducibilidad de las lecturas de estándares. El suero control dio un valor dentro del ámbito esperado, según las instrucciones del fabricante. Los valores de IgE, tanto de los niños asmáticos como de los normales, se distribuyen en un ámbito amplio. El Cuadro 1 resume los principales resultados correspondientes a las distintas muestras estudiadas. Los adultos donadores de sangre presentaron una concentración promedio de IgE mayor que la de los niños aparentemente sanos (Cuadro 1). Las distribuciones de frecuencias en dichos grupos se comparan en la Figura 1. En los niños con asma bronquial fue más frecuente hallar niveles de IgE altos, mayores de 1000 kU/l, que en los niños control. La comparación de promedios entre estos dos grupos, mediante t de Student, indicó que la diferencia es altamente significativa ( $p < 0,00001$ ). Por otra parte la comparación entre el método inmunoenzimático y el radioinmune en 108

muestras analizadas, mostró un coeficiente de correlación de 0,947 (Figura 2).

## DISCUSION

La comparación de los promedios observados en los dos grupos mostró un mayor nivel de IgE sérica en los niños asmáticos. Además, la distribución de frecuencias mostró una clara tendencia a encontrar en los pacientes asmáticos un mayor número de casos con niveles muy elevados de IgE, mayores de 1000 kU/l. Esto coincide con los estudios descritos en la literatura (6, 7). En un pequeño número del grupo de niños asmáticos, se encontró niveles bajos de IgE (ej.  $<10$  kU/l; Figura 1), lo cual podría deberse a casos de asma intrínseca. En Costa Rica, Frajman et al. (5) describieron los niveles de IgE sérica en un grupo de 20 pacientes alérgicos adultos y 20 controles normales, en un estudio de varios aspectos de su función inmune celular. Mientras que los controles se mantuvieron por debajo de 80 kU/l de IgE, los individuos alérgicos tuvieron un promedio de 625 kU/l (5).

En términos generales, para una adecuada interpretación de los análisis de laboratorio, es importante estudiar la propia población y no guiarse simplemente por los datos descritos en la literatura, en su mayoría obtenidos en poblaciones de países industrializados. El caso de la IgE es un ejemplo de variabilidad importante en distintas poblaciones. Los promedios geométricos de IgE en Estados Unidos y países Escandinavos, en niños sanos, tienden a estar en alrededor de 8-14 kU/l (1,10). Un estudio en escolares del sur de Italia mostró un promedio de 21 kU/l (12). En países tropicales como Venezuela, se ha descrito promedios de 51 y 74 kU/l para niños sanos de 7 y 9

años, respectivamente (16), cifras similares a las observadas en el presente estudio. Rosario et al. (18) describen un promedio de 192 kU/l de IgE en niños de Brasil. Un extremo notable lo constituyen los informes sobre las poblaciones indígenas Waorani en Ecuador, con promedios de más de 11000 kU/l de IgE en adultos (4, 8, 14), así como de pobladores del Tibet, con más de 2900 kU/l en adultos (4). Entre algunos aspectos interesantes que influyen sobre los niveles de IgE, además de los clásicamente descritos como estados alérgicos e infecciones helmínticas, están el estado nutricional (17), el grupo étnico (9), el nivel socioeconómico (13, 15), y aún hábitos como el fumado (20). Por otra parte, la comparación entre el método inmunoenzimático y el radioinmune permitió corroborar que existe una correlación adecuada, tal como lo describen algunos fabricantes (ej. Pharmacia) e investigadores (20). La mayor estabilidad de los reactivos, el menor peligro en su manejo, la simplicidad del método y su lectura final, hacen más conveniente el inmunoensayo enzimático que el radioisotópico.

Los resultados expuestos en este trabajo con respecto a niños y adultos aparentemente sanos no pretenden ser valores de referencia para la determinación de IgE sérica. Sin embargo, se consideró conveniente divulgarlos como un informe sobre esta variable de laboratorio, en una muestra de la población costarricense. Sería importante realizar estudios futuros, diseñados para establecer puntos de referencia exactos para esta determinación, en la población costarricense.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos a los colegas Drs. Marianela Trejos, Jenny Montero y Luis del Valle, por su colaboración en este estudio, al Sr. Alvaro Montenegro por su ayuda en el análisis estadístico, así como a los Drs S.G.O. Johansson (Instituto Karolinska), Luisa Businco (Universidad de Roma), B. Björkstén (Universidad de la Salud de Linköping) y a la Compañía Pharmacia Diagnostics por su apoyo en varios aspectos de este trabajo. B. Lomonte y P. Salas son miembros del Programa Financiero de Apoyo a Investigadores del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT).

CUADRO 1

CONCENTRACION SERICA DE IgE EN UNA MUESTRA DE NIÑOS NORMALES, ASMATICOS Y DE ADULTOS NORMALES DE COSTA RICA, DETERMINADA MEDIANTE INMUNOENSAYO ENZIMATICO

Grupo	n	edad (años)	Concentración IgE (kU/l)**	
			promedio geométrico	ámbito
Niños control	33	6 (1-11)*	74	5-1738
Niños asmáticos	69	4 (1- 7)*	308	1-3467
Adultos	20	>18	249	30-3070

\*promedio (ámbito).

\*\* 1 U = 2,4 ng IgE.

ABSTRACT

*Serum IgE levels were determined in 69 Costa Rican Children with bronchial asthma, as well as in 33 apparently healthy children without clinical history of allergy, and in 20 blood donors. A significantly higher mean IgE level was found in asthmatic children when compared to control children. Also, frequency distributions in these two groups indicated a higher number of individuals with very high IgE concentration (>1000 kU/l) in the asthmatic group. Serum IgE levels in apparently healthy are more similar to those described in tropical countries than in Europe or North America. A comparison between an immunoenzymatic and radioimmune method for IgE quantitation gave a correlation coefficient of 0.947.*

IgE levels in a Northeast United States Caucasian population. En: Heusghem, O., Albert, A. y Benson, E.S. (Edit.) *Advanced Interpretation of Clinical Laboratory Data*. Marcel Dekker, Inc., New York, 1982; 295-305.

2. Bousquet, J. y Michel, F.B. Prediction of allergic risk in infants. En: Businco, L. (Edit) *Advances in Pediatric Allergy*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1983; 55-68.
3. Bousquet, J., Coulomb, Y., Arrendal, H., Robinet-Levy, M. y Michel, F.B. Total serum IgE concentrations in adolescents and adults using the Phadebas IgE PRIST Technique. *Allergy* 1982; 37: 397-406.
4. Buckley, C.E., Larrick, J.W. Kaplan, J.E. Population differences in contaneous methacholine reac-

REFERENCIAS

1. Bhafla, R. B., Rappaport, I., De Filippi, I. Y Schwartz, M.K. Serum

- tivity and circulating IgE concentrations. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1985; 76: 847-854.
5. Frajman, M., González, L., Alvarado, A. y Yock, J. Cellular immunity and IgE levels in atopic patients. *Allergy* 1987; 42:8 1 -84.
  6. Hamburger, R.N. Wheezing infants. En: Businco, L. (Edit.) *Advances in Pediatric Allergy*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1983; 140-148.
  7. Johansson, S.G.O. Methods for the detection of total and specific IgE antibodies in children. En: Businco, L. (Edit.) *Advances in Pediatric Allergy*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1983; 3-13.
  8. Kaplan, J.E., Larrick, J.W. y Yost, J.A. Hyperimmunoglobulinemia E in the Waorani, an isolated Amerindian population. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1980; 29: 1012-1017.
  9. Kjellman, N.I. Serum IgE and the predictive value of IgE determination. En: Businco, L. (Edit.) *Advances in Pediatric Allergy*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1983; 69-82.
  10. Kjellman, N.I., Johansson, S.G.O. y Roth, A. Serum IgE levels in healthy children quantified by a sandwich technique (PRIST). *Clin. Allergy* 1976; 6:51-59.
  11. Kohler, G. y Milstein, C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256:495- 497.
  12. La Rosa, M., Rizzo, R., Di Paola, M., Guglielmo, F., Pezzulla, N, y Ferrauto, C. IgE sieriche in una popolazione scolastica: valori de riferimento normali. *Rivista Pediatrica Siciliana* 1989; 43: 71-77.
  13. Lynch, N.R., Di Prisco, M.C. y Soto, J.M. Diagnosis of atopic conditions in the tropics. *Ann. Allergy* 1983; 51: 547-551.
  14. Lynch, N.R., López, R., Isturiz, G. y Tenias-Salazar, E. Allergic reactivity and helminthic infection in Amerindians of Amazon Basin. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 1983; 72:369-372.
  15. Lynch, N.R., López, R.I., Di Prisco, M.C., Hagel, I., Medouze, L., Viana, G., Ortega, C. y Prato, G. Allergic reactivity and socioeconomic level in a tropical environment. *Clin. Allergy* 1987; 17:199-207.
  16. Ponce, D.P., Anderson, O., Ilja, R., Monzon, E. y Bianco, N.E. Total serum IgE levels in Venezuelan schoolchildren. *Clin. Allergy* 1983; 13:521-528.
  17. Reyes, MA., Saravia, N.G., Watson, R.R. y McMurray, D.N. Effect of moderate mainutrition on im-

- mediate hypersensitivity and immunoglobulin E levels in asthmatic children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1982; 70: 94-100.
18. Rosario-Filho, N.A. total serum IgE levels and eosinophil counts in trichiuriasis. *Rev, Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 1982; 24: 16-20.
19. Saxon, A. Immediate hypersensitivity: Approach to diagnosis. En: Lawlor, G.J. y Fischer, T.J. (Edit.) *Manual of Allergy and Immunology, diagnosis and therapy.* Little, Brown and Company, Boston, 1981; 15-34.
20. Yman, L. Antibodies in allergy and inflammations. Research tools and indicators of disease. En: *Annual Meeting of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology.* Uppsala, Pharmacia AB, 1985; 8-28.

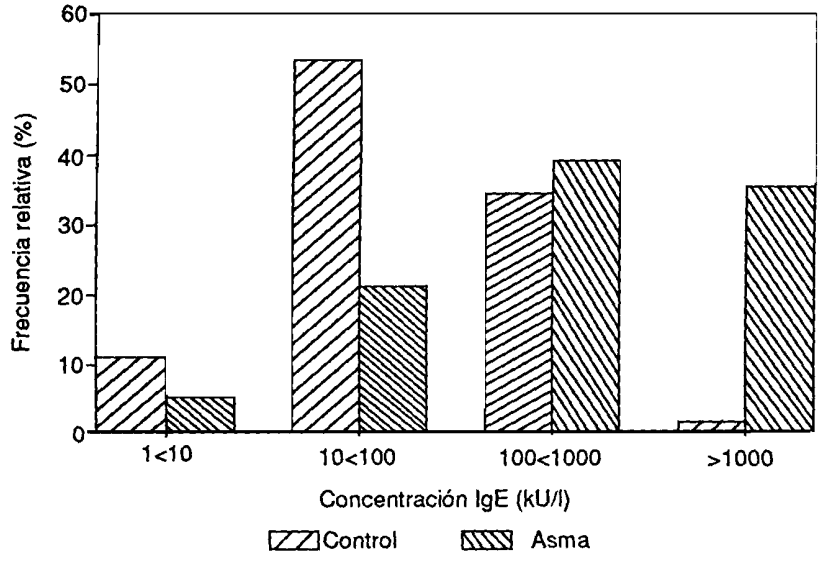


Fig. 1: Comparación de la distribución de frecuencias de los niveles de IgE sérica (kU/l) en niños asmáticos (n=69) y controles (n=33).

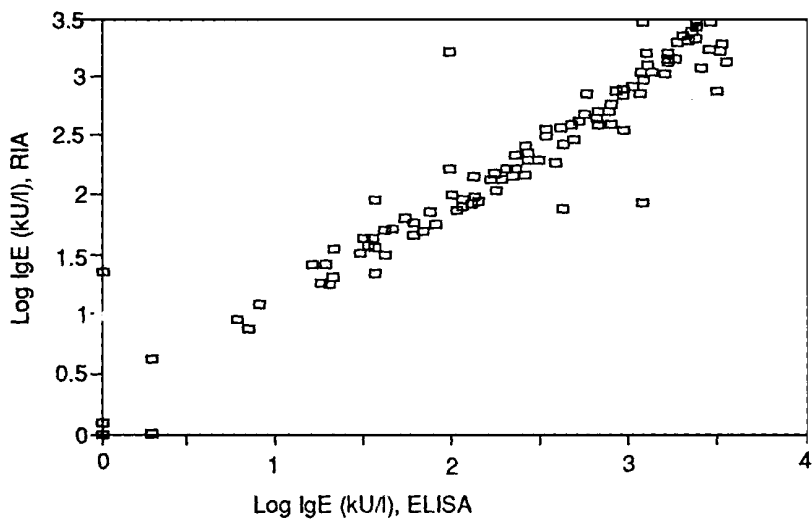


Fig.2: Análisis de correlación entre un método inmunoenzimático (ELISA; "IgE-EIA") y un método radioinmune (RIA: "IRMA-count total IgE") para la cuantificación de IgE sérica. n=1 08, r=0,947.