

Moderador: C. Lahoz

A. Blanco Quirós,
J. J. Tellería, J. Castro

Área de Pediatría. Instituto de
Biología y Genética Molecular
(IBGM). Universidad de
Valladolid.

Sesiones plenarias

GENÉTICA DE LA ALERGIA

Genes reguladores de la respuesta alérgica

La sensibilización atópica y las enfermedades con patogenia alérgica presentan un indiscutible origen genético, aun cuando se sumen también fuertes condicionantes ambientales. La valoración de la influencia genética en un determinado carácter o en una enfermedad se realiza estudiando la agrupación familiar de casos y especialmente en el estudio de gemelos univitelinos. Cuando la influencia genética es máxima la coincidencia será del 100%, pero si es mínima y sólo depende de factores ambientales el porcentaje de coincidencia será aproximadamente similar al de la población no relacionada. Son numerosas y antiguas las observaciones que prueban la incidencia familiar de la alergia, pero no hay acuerdo sobre el tipo de herencia, muy posiblemente poligénica y además la base genética está muy modificada por las circunstancias ambientales¹⁻¹¹.

GENES Y REGIONES CROMOSÓMICAS CANDIDATAS

Los genes que codifican proteínas presuntamente relacionadas con la respuesta alérgica se hallan repartidos por los diferentes cromosomas. No obstante, algunas regiones han merecido especial atención de los investigadores por considerarse más probablemente involucradas en la producción de atopía y/o asma. Reciben el nombre de “regiones candidatas” y son revisadas a continuación (Fig. 1).

Cromosoma 5

El brazo largo del cromosoma 5 levantó gran interés, porque contiene una agrupación (“cluster”) de genes relacionados con la respuesta inmunitaria. Se incluyen citoquinas como IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL12 e IL-13; además están los genes de los receptores beta-1 y beta-2 adrenérgicos; factores estimulantes de colonias (GM-CSF y CSF -1R) y otros como el receptor en endotoxinas (CD14) y el factor liberador de interferón (IRF1)^{11,12}.

Citoquinas. Estudios iniciales realizados en familias holandesas¹³ y por Marsh¹⁴ en población amish de Pensilvania, muy endogámica, concluyeron que la IgE total elevada, la hiperreactividad bronquial y el asma se asociaban con marcadores localizados alrededor del cluster de genes de la IL-4 y del gen del receptor beta 2 adrenérgico. Posteriormente, otros investigadores no

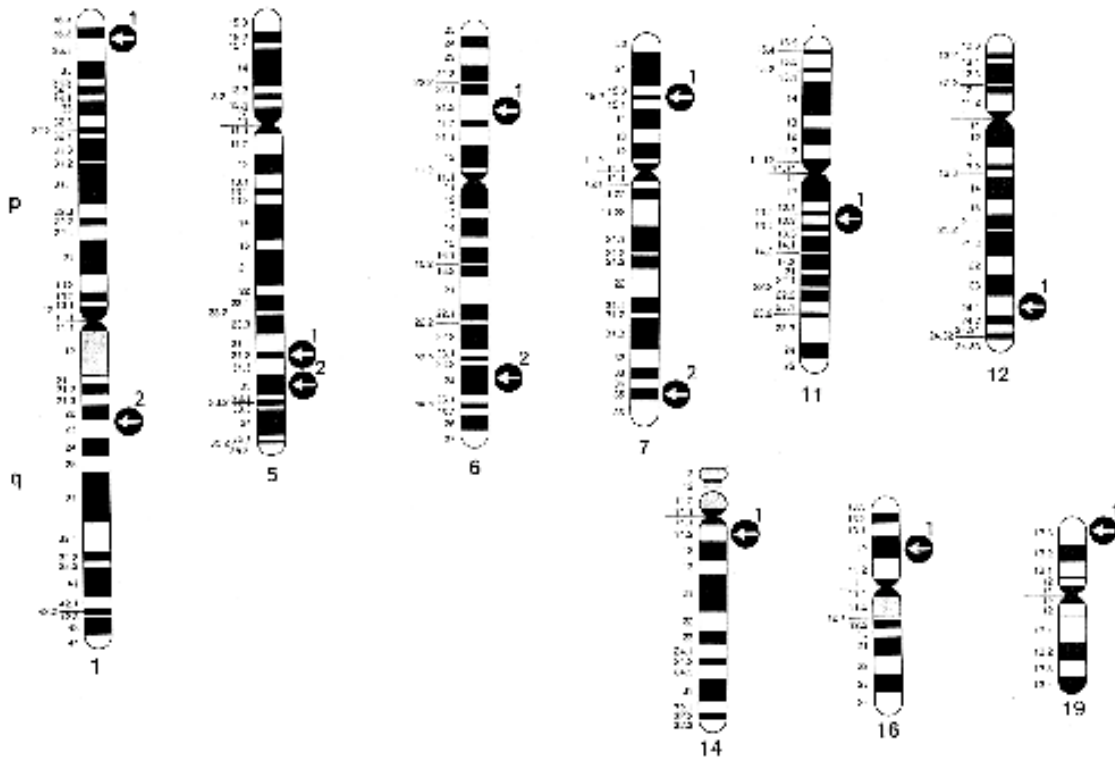


Fig. 1. Algunos genes con supuesta influencia en la atopia. Cromosoma 1: Molécula CD30 (1) y cadenas alfa y gamma del receptor FcεRI (2). Cromosoma 5: Cluster de interleukinas (1) y receptor beta adrenérgico (2). Cromosoma 6: Complejos HLA, incluyendo TNF (1) y receptor IFNγ (2). Cromosoma 7: Cadena gamma y beta de TCR (1 y 2). Cromosoma 11: Cadena beta del receptor FcεRI (1). Cromosoma 12: IFNγ (1). Cromosoma 14: cadenas alfa y delta del TCR (1). Cromosoma 16: Receptor de IL-4 e IL-13 (1). Cromosoma 19: CD23 o FcεRII (tomado de Blanco A y col⁷).

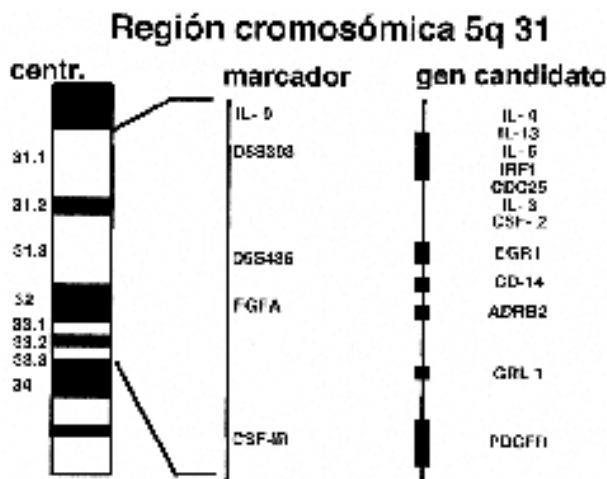


Fig. 2. Principales genes localizados en el llamado cluster de interleukinas del cromosoma 5.

podieron corroborar estos hallazgos¹⁵. Aunque los primeros hallazgos en genes relacionados con la IL-4 fueron esperanzadores, luego no se halló asociación entre asma o niveles altos de IgE y variaciones alélicas de la región 5q31¹⁶, o esta asociación fue muy débil¹⁷. Aún queda la

posibilidad de repetir la investigación con mayor muestra para aumentar la potencia estadística (Fig. 2).

Entre 1996 y 1997 Rosenwasser y col.¹⁸ publicaron la influencia de los genes de la región promotora de IL-4 e IL-10, insistiendo en el interés del estudio de esta región genética^{19,20}. Posteriormente, en 1998 Noguchi y col.²¹ hallaron un polimorfismo (C-590T) que se transmitía en desequilibrio entre familiares asmáticos, pero sin relación con las cifras de IgE.

Receptor beta-2-adrenérgico (B2-R). En el año 1995 se publicaron algunos resultados prometedores sobre la asociación de asma y modificaciones de la secuencia del B2-R. Se halló una elevada presencia de arginina en posición 16 (Arg16) en pacientes con asma nocturna²²; el alelo Glu27 en hiperreactividad bronquial, y estudios funcionales mostraron que el Gly16 altera la respuesta del B2-R ante los estímulos²³. En otro sentido, se encontraron rápidas pérdidas de las respuestas broncodilatadoras mediada por beta-2-adrenérgicos en los homocigotos Gly16 y un menor efecto en homocigotos Arg16²⁴. La variante Arg16 y la respuesta a fármacos

broncodilatadores también se asoció fuertemente (63%) a niños asmáticos²⁵.

Con posterioridad los resultados no parecieron tan claros. Dewar y col.²⁶ no hallaron relación entre asma y cualquier tipo de polimorfismo B2-R y solo una pobre significación estadística para la asociación Gly16 y atopia, algo que, sin embargo, no comprobaron Deichman y col.²⁷. Ramsay y col.²⁸ comunicaron diferencias con respecto a la respuesta a histamina pero no con diagnóstico clínico de asma. En una reciente y amplia revisión sobre el gen B2-R se duda acerca de su influencia sobre el asma o la atopia, se deja abierta la posibilidad de su relevancia en la respuesta a broncodilatadores y se concluye que los defectos B2-R pudieran ser consecuencia del asma y no causa²⁹.

Cromosoma 6

El sistema HLA está situado en el cromosoma 6 y su relación con la atopia ha sido muy revisado^{5,8,18,30}.

Estudios de alelos. En enfermos alérgicos se halló una frecuencia incrementada (39%) de los alelos DR3 y DR7, frente a controles (5%), sospechándose que el hallazgo se relaciona más con la atopia en general, que con la respuesta contra un determinado alérgeno o con el asma³¹. Se comunicaron diferentes asociaciones como el asma ocupacional y HLA-DQB1*0503³². Además se afirmó que el DQA1*0103 y DQB1*0502 serían protectores de la atopia³¹, pero curiosamente otros autores encontraron alelos protectores diferentes³³. Nosotros hallamos asociación del alelo DQA1*0201 con la atopia y papel protector del DQA1*0301³⁴. Quizá los diferentes resultados hallados se deban a aspectos técnicos o más probablemente a variaciones regionales o poblacionales. La participación del sistema HLA y del HLA-DQA1 en la susceptibilidad de la atopia es muy debatida y revisada²⁵.

En alérgicos a dermatofagoides se halló primitivamente aumentado el alelo DRB1*04 y el 07, posteriormente otros autores hallaron el DQA1*0301³⁵, y más recientemente el haplotipo DRB1*1101, DQA1*0501 y DQB1*0301, alcanzando riesgos relativos muy elevados, entre 8,2 y 15,8 en una población venezolana³⁶. Autores japoneses identificaron varios epítomos en un antígeno de *Dermatofagoides pteronyssinus* (Der pII) que están restringidos a ser presentados por moléculas HLA DRB1*1502 y B1*0405, ambos alelos típicos de la población japonesa, sin embargo, sólo en los que además de tener estos alotipos eran atópicos mostraban respuesta tipo Th2³⁷. Se cree que aunque los alérgenos sean reco-

nocidos y presentados de forma específica por ciertas moléculas HLA, para que haya alergia deben concurrir factores adicionales desconocidos que causan la específica presentación a células Th2³⁷.

En Barcelona, el riesgo de asma por inhalación de soja se relacionó con el gen DRB1*13 y determinados alelos sólo fueron hallados en los casos epidémicos y no en el resto de los asmáticos. Por el contrario no se relacionó con el gen DQB1³⁸. Muy probablemente una predisposición genética contribuyó a la respuesta de los pacientes asmáticos expuestos al polvo de soja.

La alergia al polen de olivo se asoció a individuos que poseen el antígeno HLA-DR7 DQ2 y según parece las moléculas DR7-DQ2 están implicadas en el reconocimiento del polen de olivo y en la presentación a los linfocitos³⁹. HLA-DQ2, la sensibilización a ácaros o al alérgeno Amb aV del polen de ambrosía y HLA-DQB1*0101, sin embargo, también hay estudios bien documentados en los que se concluye la ausencia de asociación entre genes HLA y alergia a polvo doméstico³². El DRB1*08 ha sido asociado tanto a la sensibilización al cacahuete⁴⁰ como a la asociación cacahuete-gramíneas⁴¹.

En nuestro país el alelo DR11 se encontró elevado en pacientes sensibilizados a AINEs, pero sólo en casos con reacción anafilactoide y no en los que presentaron angioedema⁴². Por otra parte, se halló una implicación funcional de los alelos DR7 y DQ2 en el reconocimiento del alérgeno Ole e 1³⁹, más tarde se publicó su relación con el gen Fc épsilon RI-beta y se observó asociación entre la sensibilización a Ole e 3 y el alelo DQB1*0201⁴³.

Otros genes. Una mutación del gen del receptor 1 del IFN γ situado en el cromosoma 6q reveló una susceptibilidad incrementada a las infecciones por micobacterias, indicando la importancia de la respuesta tipo Th1 frente a estos gérmenes^{44,45}, pero este fallo no parece facilitar directamente la atopia, aún cuando se dice que el IFN γ protege de la atopia.

El TNF α es una potente citoquina proinflamatoria, cuyo gen está situado dentro del cluster HLA, así como el TNF β o linfotoxina (LT). Los genes de ambas formas de TNF han sido implicadas en la atopia y asma. Unos autores hallaron asociación del asma con un polimorfismo del TNF β denominado LT α NcoI⁴⁶, mientras que otros relacionaron el asma⁴⁷ o la hiperreactividad bronquial⁴⁸ con un polimorfismo del gen promotor del TNF α (-308TNF). Nosotros en un estudio con 65 casos no rela-

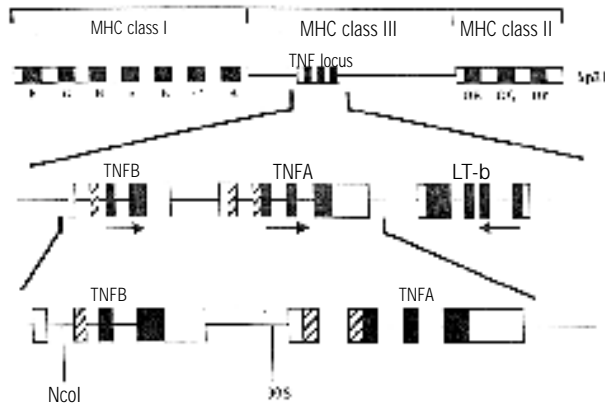


Fig. 3. Localización de los genes del TNF α y TNF β o linfotolina (LT) dentro del cluster de HLA.

cionados confirmamos la asociación del polimorfismo -308TNF del TNF α en atópicos y en asmáticos (RR: 9,44), pero no pudimos confirmar la asociación con el LT α NcoI del TNF β ^{49,50} (Fig. 3).

Cromosoma 11

En uno de los primeros estudios sobre el tema, Cookson y col.⁵¹ hallaron relación entre el asma, los anticuerpos IgE y la rinitis y un gen situado en el cromosoma 11, insistiendo en su hipótesis de herencia autosómica dominante para la atopia⁵². Luego identificaron un marcador genético (D11S97) en la región 11q13 que presentaba un fuerte ligamiento con la atopia, y que era llamativamente más intenso cuando se heredaba por rama materna⁵³. El hallazgo en D11S97 se confirmó parcialmente en una población japonesa, pero en lo que disienten la mayoría de autores es en considerar la atopia como un proceso autosómico dominante⁵⁴.

Los iniciales estudios prosiguieron sobre el gen codificante de la cadena beta del receptor de alta afinidad para la IgE (Fce-RI) que estaba muy cerca, también en la región 11q13, específicamente en el axón 6⁵⁵. Sin embargo, muchos autores no confirmaron los cambios de nucleótidos (Leu 181/183) previamente descritos en el exón 6 del Fce-RI^{56,57}. Por ello, las investigaciones en el exón 6 se suspendieron, recomendándose dirigir las hacia el exón 7⁵⁶.

Se describió una sustitución genética (E237G) en el 3,5-5% de las poblaciones australianas, japonesas e inglesas que se ligaba al asma y a la hiperreactividad bronquial, aunque no se aclaró si la sustitución constituía una mutación causal del asma o si estaba en desequilibrio de ligamiento con otra mutación determinante,

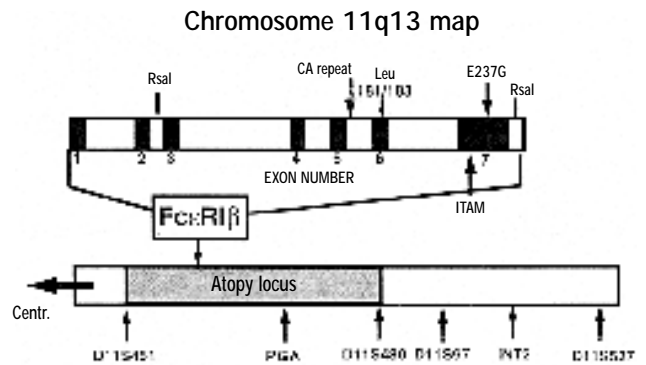


Fig. 4. Principales genes del cromosoma 11 relacionados con la atopia alrededor del gen de la cadena beta del FceRI.

todavía sin descubrir. Algunos autores habían comunicado la asociación del asma y la atopia con un polimorfismo situado en el intrón 2 del gen FceRI β , en un estudio hecho en nuestro laboratorio no confirmamos este hallazgo en población de Castilla y León⁵⁸. Realmente no pudimos confirmar asociación con ninguno de los marcadores propuestos en este gen (RsaI, en el intrón 2; Leu 181/183 en el axón 6 y E237G, en el axón 7). Similar resultado negativo fue comunicado en población holandesa⁵⁹. No obstante, recientemente se abrió el tema al hallarse relación de ciertos alelos RsaI con asma, eosinofilia o niveles elevados de IgE, en población australiana⁶⁰ (Fig. 4).

Cromosoma 12

El estudio del cromosoma 12 se ha recomendado⁵⁶ porque su brazo largo contiene los genes codificadores del IFN γ , los del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF1) y de la forma constitutiva de la sintetasa del óxido nítrico (NOS1). Una muestra de la isla Barbados mostró un fuerte ligamiento para 2 grupos de marcadores cercanos al gen del IFN γ ; la investigación se repitió en 12 familias amish, y se confirmó en 3 de los 4 centros participantes en un Estudio Colaborativo Americano sobre la Genética del Asma (CSGA). También fue prometedor el hallazgo, en 60 familias, de ligamiento del asma y de la atopia con marcadores situados en una zona distal de la región 12q, que comprende unos 12cM entre los marcadores D12S366 y D12S377¹¹. El ligamiento más fuerte lo mostró el marcador D12S97, que es más telomérico que el gen IFN γ . El ligamiento de la atopia

a este marcador también fue comprobado en otra muestra de 131 familia⁶.

Contrariamente a estos resultados positivos, Hayden y col.⁶¹, estudiando 265 pacientes venezolanos y australianos, no hallaron polimorfismos en los 4 exones del propio gen del IFN γ y en las regiones que los flanquean. Al contrario, afirman que se trata de una región extraordinariamente conservada y que tienen muy poca variabilidad⁶¹.

Cromosoma 7 y 14

En el cromosoma 14 está el gen codificante de la cadena alfa del receptor de las células T (TCR α) y de la cadena delta, mientras que los genes de las cadenas gamma y beta están en 7p y 7q, respectivamente⁶². Se comunicaron asociaciones entre sensibilización a determinantes alérgicos muy purificados y microsatélites del gen TCR α , en el cromosoma 14. Al menos se realizaron dos estudios familiares independientes, uno británico y otro australiano¹¹. Un ligamiento significativo a alelos de microsatélites TCR α se observó en parejas de hermanos británicos sensibilizados a ácaros ($p=0.0001$)⁴⁶. En los sujetos australianos existió un exceso compartido de alelos en hermanos sensibilizados al polen ($p=0.004$). Parece que un gen en la región TCR α pudiera modificar la respuesta IgE específica¹¹. Por el contrario, no aparecen indicios de ligamiento entre los procesos alérgicos y la cadena beta del TCR.

Los atópicos reaccionan contra alérgenos peculiares e inhabituales y la regulación genética de la respuesta IgE frente a un alérgeno específico seguramente es diferente de la regulación de la IgE total. La producción de anticuerpos IgE específicos pudiera depender de variantes de la molécula HLA, presentadora del alérgeno, o del receptor de las células T (TCR) que recibirá la información, pues estas moléculas son centrales en el manejo y reconocimiento antigénico. Sus cadenas alfa y beta son codificadas por genes situados en diferentes cromosomas, 14 y 7⁶².

Hasta ahora el papel que pueda tener el TCR en la atopía no está suficientemente claro y mucho menos su influencia genética.

Cromosoma 16

En el cromosoma 16 se codifica la molécula alfa del receptor de la interleukina-4 (IL-4R). Investigadores de San Luis comunicaron una mutación de esta cadena que le hace hipersensible a su ligando natural, la

IL-4, citoquina directamente implicada en la síntesis de IgE. Esta alteración (R576) consiste en la sustitución de una glutamina por una arginina en la posición 576 y fue hallada con más frecuencia en enfermos alérgicos que en controles. En 1998, Deichmann y col⁶³ insistieron en la presencia de marcadores colindantes al gen del IL-4R (Cr.16p12) que eran transmitidos a hijos atópicos, pero únicamente por rama materna. Sin embargo, en un reciente estudio con 82 familias japonesas no se halló asociación ni del asma ni de la atopía con marcadores de esta zona (D16S298 y D16S403), tampoco se encontró con el polimorfismo Q5/6R⁶⁴. Muy recientemente Shirakawa y col⁶⁵ resaltaron que el receptor de la IL-13, también muy relacionada con la atopía, comparte su cadena alfa con el IL-4R, por lo que sus anomalías podrían tener una doble influencia y debe ser motivo de especial atención.

COMENTARIOS FINALES

El estudio genético de la atopía se está encontrando con mayores dificultades de las previstas y los hallazgos no han tenido la relevancia y repercusión que el esfuerzo merecía. La historia reciente de las investigaciones es una relación de hallazgos que prácticamente nunca son universalmente corroborados. Suelen ser marcadores genéticos propios de poblaciones restringidas. Todo hace pensar que las variaciones raciales, incluso familiares, son importantes y los hallazgos genéticos que se vayan consiguiendo tienen que comprobarse en poblaciones distintas, precisándose grupos de trabajo colaborativos repartidos por todos los continentes.

El problema de la patogenia inmunológica alcanza una gran complejidad. De forma más o menos directa son numerosas las células, las citoquinas, los receptores y los mensajeros intracelulares que pudieran facilitar una reacción atópica. Se habla de "genes candidatos" pero antes deberíamos aclarar los "factores inmunitarios candidatos", y a continuación buscarles sus anomalías genéticas.

Los problemas genéticos de carácter técnico también son serios. Un mapeo superficial orienta hacia regiones cromosómicas con marcadores asociados a atopía o asma, pero luego hay que completar el estudio con una identificación detallada y lenta. Sin embargo, este campo tecnológico es el que muestra un futuro

más optimista por el sorprendente avance de la genética.

La principal y elemental limitación de los estudios genéticos es que a pesar de convivir con las enfermedades atópicas siguen siendo muy desconocidas y lo que se manifiesta es cuando los genetistas reclaman fenotipos concretos y objetivos. Es un asunto fundamental y aún más importante en Pediatría, donde el niño no atópico o no asmático todavía puede llegar a serlo años más adelante.

No parece que a corto plazo la genética pueda solucionar el origen de la atopia y el asma, pero es fácil y deseable que la identificación de ciertos marcadores genéticos pueda facilitar la clasificación de diferentes subtipos de enfermos, con interesantes aportaciones diagnósticas, pronósticas y terapéuticas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson GG, Morrison JFJ. Molecular biology and genetics of allergy and asthma. *Arch Dis Child* 1998; 78: 488-496.
- Sluyter R, Tovey ER, Duffy DL, Britton WJ. Limited genetic control of specific IgE responses to rye grass pollen allergens in Australian twins. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 322-331.
- Manian P. Genetics of asthma: A review. *Chest* 1997; 112: 1397-1408.
- Martínez FD. Complexities of the genetics of asthma. *Amer J Respir Crit Care Med* 1997; 156: S117-S122.
- Casarolo V, Georas SN, Song Z, Ono SJ. Biology and genetics of atopy disease. *Curr Opin Immunol* 1996; 8: 796-803.
- Holgate ST. Asthma genetics: waiting to exhale. *Nature Genet* 1997; 15: 227-229.
- Blanco Quirós A, Castro J, Tellería JJ. Fundamentos biológicos y genéticos de la atopia y el asma. *Allergol et Immunopathol* 1998; 26: 59-73.
- Rihs HP, Baur X. Asthma and genetics. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1994; 4: 324-328.
- Panhuisen CIM, Meyers DA, Postma DS, Bleecker ER. The genetics of asthma and atopy. *Allergy* 1995; 50: 863-869.
- Hopkin. Genetics of atopy. *Pediatr Allergy Immunol* 1995; 6: 139-144.
- Wilkinson J, Holgate ST. Candidate gene loci in asthmatic and allergic inflammation. *Thorax* 1996; 51: 3-8.
- Postma DS, Bleecker ER, Amelung PJ, Holroyd KJ, Xu J, Panhuisen CIM, Meyers DA, Levitt RC. Genetic susceptibility to asthma, bronchial hyperresponsiveness coinherited with a major gene for atopy. *N Engl J Med* 1995; 333: 894-900.
- Bleecker ER, Postma DS, Meyers DA. Evidence for multiple genetic susceptibility loci for asthma. *Amer J Respir Crit Care Med* 1997; 156: S113-S116.
- Marsh DG. Approaches toward the genetic analysis of complex traits: Asthma and atopy. *Amer J Respir Crit Care Med* 1997; 156: S133-S138.
- Blumenthal MN, Wang Z, Weber JL, Rich SS. Absence of linkage between 5q markers and serum IgE levels in four large atopic families. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 892-896.
- Laitinen T, Kauppi P, Ignatius J, et al. Genetic control of serum IgE levels and asthma: linkage and linkage disequilibrium studies in an isolated population. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 2069-2076.
- Mansur AH, Bishop DT, Markham AF, Britton J, Morrison JFJ. Association study of asthma and atopy traits and chromosome 5q cytokine cluster markers. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 141-150.
- Rosenwasser LJ. Genetics of asthma and toxicol. *Lett* 1996;86: 73-77.
- Rosenwasser LJ. Genetics of atopy and asthma: Promoter-based candidate gene studies for IL-4. *Inch Arch Allergy Immunol* 1997;113: 61-64.
- Rosenwasser LJ, Borish L. Genetics of atopy and asthma: The rationale behind promoter-based candidate gene studies (IL-4 and IL-10). *Amer J Respir Crit Care Med* 1997; 156: S152-S155.
- Noguchi E, Shibasaki M, Arinami T, Takeda K, Yokouchi Y, Kawashima T, Yanagi H, Matsui A, Hamaguchi H. Association of asthma and the interleukin-4 promoter gene in Japanese. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 449-453.
- Turki J, Pakj, Green SA, Martin RJ, Liggett SB. Genetic polymorphisms of the beta 2-adrenergic receptor in nocturnal and non-nocturnal asthma. Evidence that Gly 16 correlates with the nocturnal phenotype. *J Clin Invest* 1995; 95: 1635-1641.
- Hall IP, Wheatley A, Wilding P, Liggett SB. Association of the Glu-27 beta 2-adrenoceptor polymorphism with lower airway reactivity in asthmatic subjects. *Lancet* 1995; 345: 1213-1214.
- Tan S, Hall IP, Dewar J, Dow E, Lipworth B. Association between beta 2-adrenoceptor polymorphism and susceptibility of bronchodilator desensitization in moderately severe stable asthmatics. *Lancet* 1997; 350: 995-999.
- Martínez FD, Graves PE, Baldini M, Solomon S, Erickson R. Association between genetic polymorphism of the beta 2-adrenoceptor and response to albuterol in children with and without a history of wheezing. *J Clin Invest* 1997; 100: 3184-3188.
- Dewar JC, Wheatley AP, Venn A, Morrison JFJ, Britton J, Hall IP. Beta 2-adrenoreceptor polymorphisms are in linkage disequilibrium but are not associated with asthma in an adult population. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 442-448.
- Deichmann K, Schmidt A, Heinzmann A, Kruse S, Forster J, Kuehr J. Association studies on beta 2-adrenoreceptor polymorphisms and enhanced IgE responsiveness in an atopic population. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 794-799.
- Ramsay Ce, Hayden CM, Tiller KJ, Burton PR, Goldblatt J, Lesouef PN. Polymorphisms in the B2-adrenoreceptor gene associated with decreased airway responsiveness. *Allergy* 1999; 29: 1195-1203.
- Lipworth BJ. Beta 2-adrenoreceptor responsiveness and asthma activity. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 257.
- Aron Y, Swierczewski E, Lockhart A. HLA class II haplotype in atopic asthmatic and non-atopic control subjects. *Clin Exp Allergy*

- 1995; 25 (supl. 2): 65-67.
31. Aron Y, Desmazes-Dufeu N, Matran R, Polla BS, Dusser D, Lockhart A, Swierczewski E. Evidence of a strong, positive association between atopy and the HLA class II alleles DR4 and DR7. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 821-828.
32. Holloway JW, Doull I, Begishvili B, Beasley R, Holgate ST, Howell WM. Lack of evidence of a significant association between HLA-DR, DQ and DP genotypes and atopy in families with HDM allergy. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 1142-1149.
33. Stephan V, Schmid V, Frischer T, Sparholt S, Forster J, Wahn V, Uehr J. Mite allergy, clinical atopy and restriction by HLA class II immune response genes. *Pediatr Allergy Immunol* 1996; 7: 28-34.
34. Castro J, Blanco Quirós A, Tellería JJ, Andiñón R, Linares P. Analysis of DQA1* alleles as genetic markers of asthma and atopic diseases. *Cadernos Immuno-Alergol Pediatr* 1997; 12 (supl): 12.
35. Holloway JW, Doull I, Begishvili B, Beasley R, Holgate ST, Howell WM. Lack of evidence of a significant association between HLA-DR, DQ and DP genotypes and atopy in families with HDM allergy. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 1142-1149.
36. Lara-Marquez ML, Yunis JJ, Layrisse Z, Ortega F, Carvallo-Gil E, Montagnani S, Makhtadze NJ, Pocino M, Granja C, Yunis E. Immunogenetics of atopic asthma: association of DRB1*1101, DQA1*0501, DQB1*0301 haplotype with *Dermatophagoides* spp. sensitive asthma in a sample of Venezuela. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 60-71.
37. Okano M, Nagano T, Nakada M, Masuda Y, Kino K, Yasueda H, Nose Y, Nishimira Y, Ohta N. Epitope analysis of HLA-DR-restricted helper T-cell responses to Der p II, a major allergen molecule of *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Allergy* 1996; 51: 29-35.
38. Soriano JB, Ercilla G, Sunyer J, et al. HLA class II genes in soybean epidemic asthma patients. *Amer J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1394-1398.
39. Cardaba B, de Pablo R, Vilches C, Martin E, Geller-Bernstein C, de Andres B, Zaharan Y, del Pozo V, Gallardo S, de Arruda E. Allergy to olive pollen: T-cell response from olive allergic patients is restricted by DR7-DQ2 antigens. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 316-322.
40. Howell WM, Turner SJ, Hourihane O'B, Dean TP, Warner JO. HLA class II DRB, DQB1 and DPB1 genotypic association with peanut allergy: evidence from a family-based and case-control study. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 156-162.
41. Boehncke W-H, Loeliger C, Kuehn P, Kalbacher H, Bohm BO, Gall H. Identification of HLA-DR and -DQ alleles conferring susceptibility to pollen allergy and pollen associated food allergy. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 434-441.
42. Quirarte J, Carrillo T, Torres MJ, Blanco C, Castillo R, Ortega N, Pérez-Aciego P, Rodríguez de Castro F, Florido F, Sáenz de San Pedro, Sánchez-García F. Estudio de los alelos HLA-DRB1 y HL-DQB1 en pacientes en reacciones cutáneas y anafilactoides inducidas por fármacos antiinflamatorios no esteroideos. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1998; 13: 184-189.
43. Cardaba B, Cortegano I, Florido F, et al. Genetic restrictions in olive pollen allergy. *J Allerg Clin Immunol* 2000; 105: 292-298.
44. Newport MJ, Huxley CM, Huston S, Hawrylowicz CM, Oostra BA, Williamson R, Levin M. A mutation in the interferon-gamma-receptor gene and susceptibility to mycobacterial infections. *N Engl J Med* 1996; 335: 1941-1949.
45. Rook GA. Intractable mycobacterial infections associated with genetic defects in the receptor for interferon gamma: what does this cell us about immunity to mycobacteria? *Thorax* 1997; 52 (supl. 3): S41-S46.
46. Cookson WOCM. Genetic components of atopy and asthma. En: SB Liggett y DA Meyers, *The genetics of asthma*. Dekker Inc. Nueva York 1996: 495-509.
47. Albuquerque RV, Hayden CM, Palmer LJ, Laing AI, Rye PJ, Gibson NA, Buttrton PR, Goldblatt J, Lesouef PN. Association of polymorphisms within the tumour necrosis factor (TNF) genes and childhood. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 578-584.
48. Li Kam Wa TC, Mansur H, Britton J, Williams G, Pavord I, Richards K, Campbell DA, Morton N, Holgate ST, Morrison JFJ. Association between -308 tumour necrosis factor promoter polymorphism and bronchial hyperreactivity in asthma. *Allergy* 1999; 29: 1204-1208.
49. Castro J, Blanco Quirós A, Linares P, Martín JF, Tellería JJ. Molecular analysis of the TNF locus polymorphisms and susceptibility to atopy in Spain. *Allergy* 1999; 54 (supl. 51): 4.
50. Castro J, Tellería JJ, Linares P, Blanco Quirós A. Increased TNF- α *2 but no TNFB*1 allele frequency in Spanish atopic patients. *Invest Allergol Clin Immunol* (admitido).
51. Cookson WOCM, Sharp PA, Faux JA, Hopkin JA. Linkage between Immunoglobulin E response underlying asthma and rhinitis and chromosome 11q. *Lancet* 1989, I: 1292-1295.
52. Cookson WOCM, Hopkin JM. Dominant inheritance of atopic immunoglobulin-E responsiveness. *Lancet* 1988; 1: 86-88.
53. Cookson WOCM, Young RP, Sandford AJ, Moffatt MF, Shirakawa T, Sharp PA, Faux JA, Julier C, Le Souef PN, Nakamura Y, Lathrop GM, Hopkin JM. Maternal inheritance of atopic IgE responsiveness on chromosome 11q. *Lancet* 1992; 340: 381-384.
54. Hizawa N, Yamaguchi E, Furuya K, Kodama N, Kojima J, Kawakami Y. Association between high serum total IgE levels and D11S97 on chromosome 11q13 in Japanese subjects. *J Med Genet* 1995; 32: 363-369.
55. Sandford A, Weir T, Pare P. The genetics of asthma. *Am Respir Crit Care Med* 1996, 153: 1749-1765.
56. Thomas NS, Wilkinson J, Holgate ST. The candidate region approach to the genetics of asthma and allergy. *Amer J Respir Crit Care Med* 1997; 156: S144-S151.
57. Wong ZYH, Tsonis D, vanHerwerden L, et al. Linkage analysis of bronchial hyperreactivity and atopy with chromosome 11q13. *Electrophoresis* 1997; 18: 1641-1645.
58. Castro J, Tellería JJ, Blanco Quirós A, Linares P, Andiñón R. Lack of association between atopy and RsaI polymorphism within intron 2 of the Fc ϵ R1-beta gene in Spanish population sample. *Allergy* 1998; 53: 1083-1086.
59. Amelung PJ, Postma DS, Xu J, Meyers DDA, Bleeker ER. Exclusion of chromosome 11q and the Fc ϵ R1-beta gene as aetiological factor in allergy and asthma in a population of Dutch asthmatic families. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 397-403.
60. Palmer LJ, Rye PJ, Gibson NA, Moffatt MF, Goldblatt J, Burton PR, Cookson WOCM, Lesouef PN. Association of Fc ϵ R1-beta polymorphisms with asthma and associated traits in Australian asthmatic families. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 1555-1562.
61. Hayden C, Pereira E, Rye P, Palmer L, Gibson N, Palenque M, Hagel I, Lynch N, Goldblatt J, Lesouef P. Mutation screening of interferon-gamma (IFN γ) as a candidate gene for asthma. *Clin Exp Allergy*

1997; 27: 1412-1416.

62. Barclay AN, Birkeland ML, Brown MH et al. The Leucocyte antigen. Facts Book Series. Academic Press. Londres 1993.

63. Deichmann KA, Heinzmann A, Forster J, Dischinger S, Mehl C, Brueggenolte E, Hildebrandt F, Moseler M, Kuehr J. Linkage and allelic association of atopy and markers flanking the IL4-receptor gene. Clin Exp Allergy 1998; 28: 151-155.

64. Noguchi E, Shibasaki M, Arinami T, Takeda K, Yokouchi Y, Kobayashi K, Imoto N, Matsui A, Hamaguchi H. Lack of association of atopy/asthma and the interleukin-4 receptor a gene in Japanese. Clin Exp Allergy 1999; 29: 228-233.

65. Shirakawa T, Deichmann KA, Izuhara K, Mao X-Q, Adra CN, Hopkin JM. Atopy and asthma: genetic variants of IL-4 and IL-13 signalling. Immunol Today 2000; 21: 60-64.

J. R. Lamb

Respiratory Medicine Unit,
Edinburgh University Medical
School, Edinburgh, Reino
Unido.

MHC class II histocompatibility antigens in the selection of T cell responses to house dust mite derived allergens

INTRODUCTION

The theoretical aim of specific immunotherapy is to vaccinate with allergen or its derivatives under conditions that will inhibit the allergen specific response leaving the remainder of the immune system functionally intact. In addition to specific IgE, a characteristic finding in allergic inflammation, both CD4+ T cells, which express a Th2-dominant cytokine profile and eosinophils, are major components of the cellular infiltrate present at the disease site. It is believed that eosinophils contribute to airway hyper-responsiveness in asthma through epithelial damage by basic granule proteins, and that similar mechanisms may contribute to upper airway inflammation in rhinitis. Eosinophil chemoattractant chemokines, in particular eotaxin and RANTES are now recognised as important factors leading to the eosinophil response and the regulation of these chemokines is mediated by CD4+ T cells. T cell activation following allergen exposure is not limited to atopic individuals and T cells reactive with allergen can be identified in the peripheral repertoire of subjects who are not genetically susceptible to allergic disease, but they are of the Th1 phenotype and have no apparent pathogenic role. Because CD4+ T cells are central to the regulation of allergen specific responses they provide an obvious target for immunotherapy. Although successful for a number of allergens, vaccination with intact native allergen carries the risk of inducing anaphylaxis and, therefore, the need remains to develop novel therapeutics, such as subunit vaccines. The regulation of T cell function, whether in the induction Th1 immunity or tolerance in

Th2 cells, is controlled by transplantation antigens. Here we will discuss the role of MHC class II molecules in T cell targeted subunit vaccines using two examples. Firstly, human CD4+ T cell recognition of native and analogue peptides derived from Der p 2, the group 2 allergen of HDM. Secondly, the induction of tolerance to MHC class II restricted T cell epitopes of the group 1 allergen of HDM, Der p 1 in an *in vivo* experimental model of T cell tolerance in mice.

HUMAN CD4+ T CELL RECOGNITION OF DER P 2: THE INFLUENCE OF MHC CLASS II ON EPITOPE SELECTION

In order to identify the location of the major T cell epitopes in Der p 2, proliferative responses to overlapping synthetic peptides derived from the predicted amino acid sequence of Der p 2 were analysed. The pattern of recognition was determined for polyclonal T cells from HDM atopic and non-atopic individuals. T cell repertoires of both atopic and non-atopics were reactive with Der p 2 and no peptides were identified that induced responsiveness selectively in subjects from either the allergic or control group. T cell responses to all regions of Der p 2 were detected, nevertheless, peptides covering the sequences 11-50 and 61-104 were dominant. The analysis was extended to T cell clones and it was confirmed that four distinct T cell epitopes were presented and located within residues 16-31, 22-40, 82-100 and 111-129. Interestingly, over time the pattern of recognition did not vary suggesting there is no plasticity in the response.

The MHC class II restriction of T cell clones, all isolated from the same individual was probed using monoclonal antibodies reactive with HLA-DP, -DQ and -DR to inhibit antigen proliferation. The inhibition of T cell proliferation by the addition of either anti-HLA-DR or anti-HLA-DQ antibodies suggested that Der p 2 peptides could be presented by HLA-DR and -DQ but not HLA-DP molecules in this individual. Antigen presented by EBV-transformed B cell lines characterised for their expression of HLA-D region gene products demonstrated that recognition of peptides 16-31 and 111-129 was restricted by HLA-DQ (DQB1*0301), whereas peptide 82-100 is recognised in association with HLA-DR (DRB1*1101). Peptide 22-40 was pre-

sented by both HLA-DRB1*1101 and -DQB1*0301 class II molecules.

Genetic epidemiological studies have failed to establish a clear association between the expression of a particular HLA phenotype and allergic responsiveness to HDM. In addition, to the restriction specificities described above the ability of HLA-DRB3, -DRB5 and -DP molecules to present HDM derived allergens has been reported. Thus, it appears that many different MHC class II molecules can bind and present multiple HDM epitopes which would imply subunit vaccines remain a viable proposition in the treatment of HDM allergy.

ALTERED T CELL LIGANDS IN THE MODULATION OF T CELL RESPONSES: STUDIES ON DER P 2

It is now well established that single amino acid substitutions introduced at the T cell receptor (TCR) contact residues can bring about subtle modifications in the structure of peptides. Recognition of these peptide analogues, termed altered T cell ligands, through changes in the affinity of the interaction between TCRs and their ligands can result in partial signalling such that only selected effector function of the T cells is induced. Since both allergen specific Th2 and Th0 cells are present in the peripheral CD4+ T cell pool of atopic individuals the potential to inhibit cytokine production by Th2 cells and promote Th1 cytokine production by Th0 cells may contribute to the down-regulation of allergic inflammation. The effects of altered T cell ligands derived from a dominant T cell epitope in Der p 2, residues 28-40, on proliferation and cytokine production by human Th2 and Th0 cells. From both functional competition and proliferation assays, using analogues substituted with alanine or charged amino acids, the influence of different positions in p28-40 on TCR recognition and/or MHC class II binding was determined. For the Th0 cells, generally those analogues that lead to a reduction in proliferation also decreased both IL-4 and IFN- γ production. However, the p28-40 analogues with alanine residues at either position 34 or 36 altered the IFN- γ : IL-4 ratio by selectively enhancing IFN- γ secretion. As regards Th2 cells, stimulation with the peptide analogues induced different patterns of effector function.

Selected analogues induced IL-4 production in the absence of proliferation, whereas in response to other peptide variants of p28-40, both IL-4 production and proliferation were inhibited. The p28-40 analogue with both residues at positions 34 and 36 substituted by alanine further enhanced IFN- γ production by Th0 cells but had no effect on IL-5, IL-10 or TGF- β synthesis. The modulation of T cell effector function with altered T cell ligands may have practical applications in reprogramming allergic inflammatory responses by promoting Th1 cytokines.

PEPTIDE-INDUCED TOLERANCE IN A MURINE MODEL OF RESPONSIVENESS TO HDM: INSIGHTS INTO THE MECHANISMS OF ALLERGEN DESENSITISATION

In normal circumstances inhaled non-pathogenic proteins do not provoke strong immunity but induce tolerance and the ability of the respiratory immune system to remain unresponsive to inert antigens entering the airways is important in maintaining homeostasis. The mechanisms regulating mucosal tolerance are poorly understood however, genetic and external environmental factors interact to affect the functional outcome of processing and presentation of allergens in the lung. Under certain conditions, these normal regulatory mechanisms may breakdown and drive local inflammation, such as occurs in asthma. Understanding these mechanisms in the long-term will aid in the development of immunotherapy. In order to address this question we have investigated the cellular and molecular of respiratory mucosal tolerance in an experimental model induced by intranasal delivery of a peptide p110-130 from Der p 1, which contains the immunodominant epitope. Tolerance is antigen specific, long lasting and mediated by regulatory CD4+ (Tr-1) T cells. It is accompanied by downregulation of cytokines (IL-2, IL-5 and IFN- γ) but the presence of immunosuppressive cytokines such as IL-10 and TGF- β was not detected. Intranasal treatment with the dominant peptide alone inhibited responses to all peptides in the intact Der p 1 protein. As the natural history of these Tr-1 cells, which are in part responsible for the induction and maintenance of respiratory mucosal tolerance unfolds vaccination

aimed at selectively inducing this population may become possible.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Medical Research Council, the Wellcome Trust and the British Lung Foundation.

REFERENCES

- Verhoef A, Higgins JA, Thorpe C, Marsh SGE, Hayball JD, Lamb JR, O'Hehir RE. Clonal analysis of the atopic immune response to the group 2 allergen of *Dermatophagoides* spp: identification of HLA-DR and -DQ restricted T cell epitopes. *Int Immunol* 1993; 5: 1589-1599.
- Higgins JA, Hayball JD, Thorpe C, O'Hehir RE, Lamb JR. Overlapping T cell epitopes in the group 1 allergen of *Dermatophagoides* species restricted by HLA-DP and -DR class II molecules. *J. Aller Clin Immunol* 1994; 93: 891-899.
- O'Brien RM, Thomas WR, Nicholson I, Lamb JR, Tait BD. An immunogenetic analysis of the T cell recognition of the major house dust mite allergen Der p 2: identification of high and low responder HLA-DQ alleles and localisation of T cell epitopes. *Immunology* 1995; 86: 176-182.
- Hoyne GF, Askonas BA, Hetzel C, Thomas WR, Lamb JR. Regulation of house dust mite responses by inhaled peptide: transient activation of CD4+ T cells precedes the development of tolerance in vivo. *Int Immunol* 1996;8: 335-342.
- Tsitoura DC, Verhoef A, Gelder CM, O'Hehir RE, Lamb JR. Altered T cell ligands derived from a major house dust mite allergen enhance IFN- γ but not IL-4 production by human CD4+ T cells. *J Immunol* 1996; 157: 2160-2165.
- van Neerven RJJ, Ebner C, Yssel H, Kapsenberg ML, Lamb JR. T lymphocyte responses to allergens: epitope specificity and clinical relevance. *Immunol Today* 1996;17:256-532.
- Hoyne GF, Jarnicki AG, Thomas WR, Lamb JR. Characterisation of the specificity and duration of T cell tolerance to intranasally administered peptides in mice: a role for intramolecular epitope suppression. *Int Immunol* 1997; 9: 1165-1173.
- Tsitoura DC, DeKruyff R, Lamb JR, Umetsu DT. Intranasal exposure to protein antigen induces immunological tolerance by functionally disabling CD4+ T cells. *J Immunol* 1999; 163:2592-2600.
- Hoyne GF, LeRoux I, Corsin-Jimenez M, Tan K, Dunn J, Forsyth L, Dallman MJ, Owen MJ, Ish-Horowicz D, Lamb JR. Serrate 1 induced Notch signalling regulates the decision between immunity and tolerance made by peripheral CD4+ T cells. *Int Immunol* 2000;12: 177-185.
- Verhoef A, Lamb JR. Threshold signalling of human Th0 cells inactivation and anergy: modulation of effector function by altered TCR ligands. *J Immunol* 2000;164: 6034-6040.

J. Quiralte,
M.^a J. Torres-Galván¹

Unidad de Alergia, Hospital
Ciudad de Jaén. Jaén.

¹Unidad de Investigación.
Hospital de Gran Canaria.

Aspectos genéticos de la intolerancia a AINEs y su correlación clínica

Las reacciones idiosincrásicas inducidas por fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son un grupo heterogéneo de síndromes^{1,2}, desde el punto de vista clínico y, posiblemente patogénico. Ante la ausencia de un marcador específico que nos pueda confirmar el diagnóstico de estas reacciones, debemos de clasificarlas esencialmente a partir de sus diferentes rasgos clínicos y biológicos. En 1996, propusimos una clasificación de las reacciones a AINEs basada en 3 aspectos diferentes², pero estrechamente relacionados, como fueron la descripción clínica del síndrome (de forma histórica o través de la provocación oral controlada), la existencia de enfermedades concomitantes asociadas y por último, según el patrón de reactividad cruzada entre los diferentes AINEs durante la realización del test de provocación.

LOS SÍNDROMES CLÍNICOS

Las reacciones que aparecen durante la provocación oral controlada con AINEs en pacientes susceptibles incluyen síndromes clínicos muy definidos². Estas reacciones pueden ser de tipo cutáneo (urticaria y angioedema), de tipo respiratorio (rinitis y asma bronquial) y de tipo sistémico, indiferenciables de una reacción anafiláctica.

Dentro del grupo de pacientes con reacciones de tipo cutáneo debemos de destacar aquellos que presentan una combinación variable de urticaria, angioedema o exantemas maculopapulosos entre 1 y 6 horas tras la administración del AINE³. Dentro de ellas tenemos que hablar de un grupo especial de pacientes: aquellos que presentan angioedema periorbitario^{2,4}, habitualmente bilateral y aislado, aunque pueda asociarse hasta en un 12% de casos con formas combinadas con síntomas respiratorios (especialmente rinitis y asma bronquial)².

El segundo grupo de reacciones son las de tipo respiratorio. Basándose en diferentes estudios previos de caracterización clínica de pacientes con asma inducido por aspirina a través de la provocación oral controlada⁵, Stevenson y Simon en la década de los 80 sistematizaron las reacciones a AAS en varios grupos⁶: la reacción nasoocular pura, la reacción asmática pura, la reacción clásica (que es la combinación de síntomas nasoculares más un descenso del VEMS mayor del 20%) y la reacción asmática parcial, en la que el descenso del VEMS oscila entre un 15 y un 20%.

El tercer y último grupo de síndromes que vamos a estudiar son las reacciones anafilactoides. La principal característica clínica de estas reacciones es su similitud con otras anafilaxias. En 1997, realizamos un estudio propectivo de seguimiento sobre 21 pacientes con anafilaxia por AINEs⁷. Eran mayoritariamente mujeres, como en los otros grupos de pacientes con intolerancia a AINEs, y presentaron una combinación variable de síntomas cutáneos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los Proyectos de Investigación del Fondo de Investigación Sanitaria nº 94/0631, 96/0685 y 97/0107; y por una Beca de la Fundación de la SEAIC (Convocatoria 1995)

(fundamentalmente urticaria), de signos sugestivos de obstrucción respiratoria de tracto superior (fundamentalmente estridor y disfonía) en el 70% de los casos e hipotensión en aproximadamente un 30% de casos. En esta serie, las pirazolonas en primer lugar y los derivados acéticos, en segundo lugar, fueron las principales causas de anafilaxia, aunque cualquier AINE puede estar implicado en el desarrollo de estos cuadros⁸⁻¹².

LA ENFERMEDAD CONCOMITANTE ASOCIADA

Las reacciones de tipo cutáneo y respiratorio tienen una mayor probabilidad de presentarse en el contexto de una enfermedad concomitante asociada¹⁻⁴. En general, a ésta podríamos definirla como una enfermedad que presenta exacerbaciones con el uso del AINE, pero que no se modifica en su historia natural aunque se evite de forma completa el uso de éste. Así por ejemplo, es habitual que los pacientes con reacciones de tipo cutáneo, presenten urticaria crónica. La existencia de estas reacciones dependen básicamente de la actividad de la urticaria crónica en las semanas anteriores a la administración terapéutica (o diagnóstica) del AINE. Y en general, se puede estimar que entre un 21 y un 30% de pacientes con urticaria crónica son intolerantes a la aspirina.

Una vez más, el angioedema periorbitario constituye un tipo de reacción muy especial: suele afectar a pacientes jóvenes, con un comienzo en la edad infantil en más del 60% de los casos y, sobre todo, porque en el 100% de los casos se detecta una alergia respiratoria asociada²⁻⁴, mayoritariamente por ácaros. Aunque este hecho, sin duda, debe de estar influenciado porque en el área geográfica en donde se describió este síndrome, las Islas Canarias, los ácaros del polvo doméstico son los aeroalergenos más frecuentes¹³. En otros lugares de España, como por ejemplo Jaén, en donde la alergia al polen es la primera causa de alergia de tipo respiratorio, la prevalencia de este tipo específico de reacción a AINEs es notablemente más baja, posiblemente inferior al 5% del total de casos de intolerantes a AINEs (observación personal). De alguna forma y por causas que desconocemos, la alergia a los ácaros condiciona una anormal frecuencia de esta forma específica de presentación de las reacciones a AINEs.

Dentro de este grupo de pacientes y estrecha relación con el fenómeno atópico, describimos y caracteriza-

mos un síndrome apasionante: la anafilaxia desencadenada por ingestión de alimentos contaminados por ácaros¹⁴. Todos los pacientes presentaban unas características clínicas comunes: que tenían alergia respiratoria a los ácaros, eran intolerantes a aspirina (mayoritariamente con angioedema periorbitario) y presentaban en relación con la ingesta de alimentos confeccionados con harinas de repostería episodios anafilácticos de gravedad variable, sin evidenciarse durante el estudio alergia alimentaria alguna. Antes de describir este síndrome, nosotros ya conocíamos la asociación del angioedema periorbitario con alergia a los ácaros. Pero, estaba claro que algo menos del 2% de nuestra población de alérgicos a los ácaros presentaba intolerancia a la aspirina. Por eso, era llamativo que 14 pacientes (el 87% del grupo de estudio) presentaran intolerancia a aspirina. Esto significaba, que un intolerante a la aspirina atópico tenía hasta 300 veces más posibilidades de sufrir una reacción severa por ingestión de ácaros que un paciente tolerante¹⁵. El análisis microscópico de la harina reveló una contaminación extrema de la harina por *Dermatophagoides farinae* y por otros ácaros de familia *Acaridae* (concretamente *Tyrophagus entomophagus*). Recientemente, Blanco et al han descrito otro raro ácaro de depósito, *Suidasia medanensis* implicado en este tipo de reacciones¹⁶. Se documentó la relación causal con la ingestión de harina, reproduciéndose de forma controlada el cuadro sistémico en 3 de los pacientes con reacciones más leves por medio de provocaciones simple ciego con la harina infestada. Y en segundo lugar, por medio de la cuantificación de alérgenos de ácaros por medio de monoclonales, se llegó a la conclusión que el grupo 1 de alérgenos de los ácaros, posiblemente por su unión selectiva a prolaminas del trigo, no podían ser la causa de este síndrome. Y que los alérgenos responsables debían ser estables al calor, a cambios extremos de pH y a la digestión con proteasas, condiciones que cumplían los alérgenos del grupo 2 de ácaros¹⁴.

Dentro de las reacciones de tipo respiratorio, el asma bronquial es la enfermedad clásica asociada a la intolerancia a AINEs que podríamos definirla como un proceso inflamatorio de intensidad variable de la mucosa respiratoria (nasal, sinusal y bronquial), asociada a exacerbaciones tras la administración de AINEs¹⁷. Ha habido varios intentos en denominar este síndrome pero sin duda el de mayor éxito fue el formulado por Samter y Beers en 1968¹⁸, el síndrome ASA (de aspirina) triada, conformado por la propia reacción a la aspirina, el asma y la poliposis nasosinusal. La enfermedad suele comen-

zar en la 3ª década de la vida, con una rinitis de tipo vasomotor, seguida posteriormente con una sinusopatía hipertrófica eosinofílica, con o sin pólipos nasales. Y aunque este proceso puede permanecer localizado, lo habitual es que se acompañe de asma, generalmente de intensidad moderada/grave, que precisa ciclos de esteroides tópicos o sistémicos para su control e incluso precise medidas intensivas de manejo en el caso de la reagudización tras la toma de aspirina. En este sentido, hasta parte de pacientes que precisan ventilación mecánica tiene asma inducido por aspirina¹⁹.

En el caso del paciente con reacción anafilactoide por AINEs, lo habitual es que el sujeto sea aparentemente sano^{2,7}, salvo por la enfermedad que condiciona el uso del AINE, que al menos en mi experiencia, en el 80% se usa para el control del dolor agudo. En este sentido, en 1987 se estableció una base de datos de pacientes expuestos a AINEs, con el propósito de evaluar las reacciones de hipersensibilidad. Pues bien como clase, los AINEs presentaron hasta 3 veces más posibilidades de desarrollar anafilaxia en pacientes que presentaban un dolor agudo, con respecto a los pacientes que no exhibían esta característica clínica²⁰.

EL PATRÓN DE REACTIVIDAD CRUZADA ENTRE AINES

Los AINEs que determinan las reacciones que hemos visto son un grupo heterogéneo de fármacos de estructura química diferenciadas, pertenecientes a diversas familias químicas y cuyo nexos en común es la inhibición de las diferentes isoformas de la COX¹.

Todos tenemos la experiencia clínica de que un paciente con reacciones a un AINE, puede presentar reacciones a otro de estos fármacos a lo largo de su vida, aunque previamente nunca haya sido expuesto^{1,4}. Es lo que se ha dado en llamar reactividad cruzada. Pues bien 4 años antes de que el Dr. John Vane describiera la inhibición de la COX como el mecanismo de acción de la aspirina²¹, en 1967 Vanselow describieron la primera reacción cruzada de tipo respiratorio entre aspirina e indometacina, un salicilato y un acético²². Y en 1975, Szczeklik estableció que la capacidad de inhibición *in vitro* de la COX por parte de los AINEs está en estrecha relación con su capacidad de producir este tipo de reacciones¹. Es decir cuanto más potencia tenga el AINE, más posibilidad tiene de producir una reacción.

En los 140 pacientes intolerantes que estudié, en un 85% de casos se demostraba la reactividad cruzada entre los AINEs durante la POC. Pero observamos también que su aparición era muy dependiente del tipo de reacción². Así, aparecía en el 100% de los casos de pacientes con reacciones respiratorias y en el 90% de los pacientes con reacciones cutáneas. Por el contrario, y aunque se han descrito formas variantes de reacciones anafilactoides con reactividad cruzada², estos pacientes presentaron en más del 90%, un patrón de reactividad de tipo selectivo, es decir sólo reaccionaban frente al AINE implicado en la reacción o bien frente a otros pertenecientes a la misma clase química⁷.

LOS MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS: ASPECTOS GENÉTICOS

El mecanismo de las reacciones idiosincrásicas inducidas por AINEs es desconocido. Sin embargo, la mayoría de las evidencias apuntan a una sobreproducción de leucotrienos sulfidopeptídicos (Cys-LT) como causa de la mayoría de estas reacciones²³, posiblemente asociada a la inhibición de la actividad de las diferentes isoformas de la COX¹.

La mayor parte de los pacientes con reacción a un determinado AINE son también intolerantes a otros, y esta capacidad está relacionada con su potencia como inhibidores de la COX-1¹. Sin embargo, esta hipótesis general no explica todas las reacciones inducidas por estos fármacos. Existe un grupo de pacientes que presentan reacciones selectivas de tipo anafilactoide que toleran durante la POC otros AINEs no relacionados químicamente con ellos, y que son potentes inhibidores de la COX-1⁷.

Un nuevo modelo patogénico en las reacciones de tipo respiratorio

La inhibición de la COX está en la base de la cadena de acontecimientos que genera las reacciones a AINEs. Sin embargo, en sí misma, la inhibición enzimática que se produce en todos los individuos tras la toma del AINE, no explica por qué sólo un 10% de asmáticos presentan este tipo de reacciones. Es posible, por tanto, que la inhibición de la síntesis de prostanoïdes (especialmente de la prostaglandina E₂-PGE₂) determine de alguna forma un comportamiento diferente en este grupo de pacientes, bien porque las diversas isoformas de la COX sean diferentes en su estructura y/o funcionalidad, o bien

porque coexistan con otras alteraciones en la ruta de la 5-lipoxigenasa (5-LO). En el momento actual, este último supuesto parece el más probable¹⁷. Recientemente, Cowburn et al²⁴ establecieron la distribución de las diferentes enzimas de esta ruta metabólica (5-LO, FLAP-*five lipoxigenase activating protein*-, leucotrieno A₄ (LTA₄)-hidrolasa y leucotrieno C₄ (LTC₄)-sintetasa) en muestras de epitelio respiratorio de sujetos asmáticos (tolerantes e intolerantes) y normales, obtenidas mediante la realización de biopsias transbronquiales. De todas ellas, sólo la LTC₄-sintetasa estuvo sobreexpresada de forma significativa en los sujetos asmáticos intolerantes: hasta 5 veces más que en los asmáticos tolerantes, y hasta 18 veces más cuando se comparó con sujetos normales. Los elementos celulares donde radica esta sobreexpresión enzimática son mayoritariamente eosinófilos (71%) y mastocitos (18%).

Es muy probable también que la sobreexpresión de esta enzima esté regulada genéticamente. El gen de la LTC₄-sintetasa está situado en el cromosoma 5q35²⁵. Recientemente, se ha identificado un polimorfismo en la región promotora de este gen que podría tener relevancia clínica. Este polimorfismo, consistente en una modificación en un nucleótido (adenina por citosina) en la posición - 444 del gen, es, hasta en un 60% de casos, más común en los pacientes con asma inducido por AINEs que en los pacientes tolerantes²⁶. Este cambio crea un sitio de unión adicional para un factor de transcripción, lo que podría explicar el aumento en la transcripción del gen.

Con todos estos datos podemos establecer en el momento actual que, al menos un polimorfismo del gen que codifica la LTC₄-sintetasa, podría determinar una sobreexpresión de esta enzima en ciertos tipos celulares (fundamentalmente eosinófilos y mastocitos), lo que condicionaría un aumento en la producción de Cys-LT de forma basal y tras la POC, posiblemente por la supresión del efecto inhibitorio que ejerce la PGE₂ sobre la ruta de la 5-LO.

Análisis de los marcadores de los genes HLA-DRB1 y HLA-DQB1 en pacientes con reacciones anafilactoides

Las reacciones inmediatas de tipo sistémico presentan rasgos clínicos y biológicos compatibles con un posible mecanismo inmunológico⁷: son cuadros anafilácticos, con ausencia de reactividad cruzada entre AINEs no estructuralmente relacionados con el que indujo la reacción y que, en ciertas ocasiones, se pueden asociar con

pruebas cutáneas positivas de lectura inmediata¹¹. Aunque está clara la capacidad de las moléculas HLA-DR, DQ y DP para presentar péptidos alergénicos a los linfocitos T CD4⁺, las HLA-DR parecen predominar en esta función. Los estudios de clones T *in vitro* sugieren que los clones restringidos por moléculas HLA-DQ son raros reflejando probablemente la menor expresión de DQ en comparación con DR en las células presentadoras de antígeno (CPA)²⁷.

Recientemente, Quiralte et al²⁸ encontraron una asociación positiva entre el alelo HLA-DRB1*11 y las reacciones anafilactoides por AINE, que no se evidenció en otros grupos de pacientes con reacciones a AINEs de tipo cutáneo o en pacientes tolerantes a AINEs (sanos o con anafilaxia mediada por IgE). La existencia de este marcador genético favorecería la existencia de un mecanismo inmunológico en este subgrupo de pacientes con reacciones a AINEs. Es posible, por tanto, que algunos de estos fármacos (como por ejemplo las pirazonas) puedan actuar como haptenos y desarrollar una respuesta inmunológica mediada por anticuerpos y restringida por algunas moléculas del sistema HLA.

Análisis de los grupos funcionales HLA-DR y los marcadores de los genes de la IL-4 (cromosoma 5q) y FcεRI-b (cromosoma 11q13) en pacientes con angioedema periorbitario aislado

Algunos investigadores han demostrado en varias poblaciones una asociación positiva de diversas definiciones de atopía, bien categóricas o bien cuantitativas²⁹, con diversos síndromes inducidos por AINEs como son el asma bronquial e incluso algunas reacciones cutáneas, especialmente el angioedema periorbitario aislado³⁰.

Se ha postulado que el control de la respuesta IgE depende de la combinación de dos tipos de mecanismo, uno dependiente del antígeno y otro independiente de él. En el primer caso, la CPA presenta un fragmento antigénico al linfocito Th, interacción que desencadena una respuesta IgE específica frente al alérgeno en cuestión. Los genes implicados en esta vía pueden ser divididos en dos subtipos: los relacionados directamente con el reconocimiento antigénico, particularmente HLA y TCR, y los que participan en el resto de la respuesta, como son los implicados en la transducción de señales y la regulación génica. En el segundo caso, se trata de una sobreproducción policlonal en la que los datos señalan como responsable a la interacción entre linfocitos B y células portadoras del receptor de alta afinidad para la IgE, co-

mo los basófilos y mastocitos. Ciertos controles genéticos son, probablemente, compartidos por ambas vías.

Los estudios recientes sobre la estructura molecular de los HLA-DR han identificado subregiones (bolsillos) en el sitio de unión al antígeno, que probablemente influyen este proceso y el subsecuente reconocimiento por las células T. Entre estas subregiones, los aminoácidos del bolsillo 4 parecen particularmente importantes³¹. Es un hecho bien documentado que las células T pueden reconocer el mismo péptido presentado por alelos HLA-DR diferentes³². Para explicar este hecho, Ou et al han propuesto la hipótesis del patrón de restricción por supertipo DR, que postula la existencia de varios grupos funcionales DR definidos por el polimorfismo de los residuos 70, 71 y 74 de la cadena b³³. Se han identificado 7 grupos de alelos DR basándose en las propiedades fisicoquímicas de los aminoácidos localizados en estas posiciones, que a su vez pertenecen a 4 categorías, según la carga de los residuos: con carga positiva (grupos R y A), con carga positiva y negativa (grupos Dr, E y Q), con carga negativa (grupo De) y neutros (grupo a)³⁴.

Recientemente, Torres et al analizaron los grupos funcionales DR en pacientes con rinitis y asma bronquial por sensibilización a ácaros del polvo doméstico³⁵. El estudio reveló una diferencia significativa entre los casos y controles respecto a los grupos Dr y a. Según este estudio, el grupo Dr parece estar asociado significativamente ($P_c=0.039$, $OR=2.36$, $IC=1.20-4.62$) con la susceptibilidad a la enfermedad, mientras que el grupo a parece presentar un carácter protector ($P_c=0.044$, $OR=0.24$, $IC=0.08-0.75$). Este mismo análisis se efectuó utilizando los pacientes con angioedema periorbitario, presentando el mismo patrón de asociación con los grupos funcionales DR, sugiriendo que este patrón de asociación podría ser dependiente de la existencia de la alergia a los ácaros más que de la reacción a los AINEs.

También se estudió el polimorfismo de dos microsatélites localizados en el gen de la IL-4 (microsatélite gt situado en el 2º intrón) y en el gen FcεRI-b (microsatélite ca situado en el 5º intrón) en los pacientes con angioedema periorbitario. Se identificó un total de 13 alelos distintos en el gen de la IL4, en el rango de 136 y 178 pb (pares de bases) en los pacientes con angioedema periorbitario (Tabla I). No se demostró la existencia de asociación alguna entre los alelos de este marcador y el angioedema periorbitario aislado. Con respecto al gen FcεRI-b en estos mismos pacientes, hemos encontrado un total de 15 alelos distintos, en el rango de 110 a 140

Tabla I. Distribución de alelos del gen de la IL4 (cromosoma 5q) en pacientes con angioedema periorbitario aislado

Alelo (pb)	Pacientes (%)	Controles (%)	P	Pc
136	0 (0)	1 (0.4)	0.63	ns
152	118 (79.7)	210 (80.8)	0.44	ns
154	5 (3.4)	9 (3.5)	0.60	ns
162	3 (2.0)	7 (2.7)	0.47	ns
164	1 (0.7)	6 (2.3)	0.21	ns
166	2 (1.4)	10 (3.8)	0.12	ns
168	5 (3.4)	1 (0.4)	0.02	ns
170	3 (2.0)	2 (0.8)	0.25	ns
172	3 (2.0)	3 (1.2)	0.54	ns
174	4 (2.7)	4 (1.5)	0.34	ns
176	3 (2.0)	7 (2.7)	0.47	ns
178	1 (0.7)	0 (0.0)	0.36	ns
Total alelos	148 (100)	260 (100)		

Pc, P corregida; ns, no significativo

pb, que se encuentran reflejados en la Tabla II. Una vez más, no encontramos ninguna asociación entre los alelos de este marcador y el angioedema periorbitario.

Tabla II. Distribución de alelos del gen FcεRI-b en pacientes con angioedema periorbitario aislado

Alelo (pb)	Pacientes (%)	Controles (%)	P	Pc
110	4 (2.7)	1 (0.4)	0.06	ns
114	17 (11.5)	24 (9.2)	0.31	ns
116	12 (8.1)	18 (6.9)	0.43	ns
118	5 (3.4)	28 (10.8)	0.005	ns
120	36 (24.3)	49 (18.8)	0.12	ns
122	25 (16.9)	43 (16.5)	0.59	ns
124	25 (16.9)	59 (22.7)	0.10	ns
126	14 (9.5)	16 (6.2)	0.16	ns
128	8 (5.4)	2(0.8)	0.005	ns
130	0 (0.0)	9 (3.5)	0.01	ns
132	1 (0.7)	6 (2.3)	0.21	ns
134	0 (0.0)	3 (1.2)	0.25	ns
136	1 (0.7)	0 (0.0)	0.36	ns
138	0 (0.0)	1 (0.4)	0.63	ns
140	0 (0.0)	1 (0.4)	0.63	ns
Total alelos	148 (100)	260 (100)		

Pc, P corregida; ns, no significativo

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Szczeklik A, Gryglewski RJ, Czerniawska-Mysik G. Clinical patterns of hypersensitivity to non-steroidal antiinflammatory drugs and their pathogenesis. *J Allergy Clin Immunol* 1977; 60: 276-284.
2. Quiralte J, Blanco C, Castillo R, Ortega N, Carrillo T. Anaphylactoid reaction due to non-steroidal antiinflammatory drugs: clinical and cross-reactivity studies. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997; 78: 293-296.
3. Carmona MJ, Blanca M, García A, et al. Intolerance to piroxicam in patients with adverse reactions to non-steroidal antiinflammatory drugs. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90: 873-879.
4. Quiralte J. Aspirin-induced isolated periorbital angioedema. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998; 81: 459.
5. Pleskow WW, Stevenson DD, Mathison DA, et al. Aspirin sensitive rhinosinusitis/asthma: spectrum of adverse reaction to aspirin. *J Allergy Clin Immunol* 1983; 71: 580-7.
6. Stevenson DD, Simon RA. Sensitivity to aspirin and non-steroidal antiinflammatory drugs. In: Middleton E Jr, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NF Jr, Yunginger JW, Busse WW, eds. *Allergy. Principles and Practice*. Vol II. St. Louis: Mosby-year Book, Inc 1993: 1750.
7. Quiralte J, Blanco C, Castillo R, Ortega N, Carrillo T. Anaphylactoid reaction due to non-steroidal antiinflammatory drugs: clinical and cross-reactivity studies. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997; 78: 293-296.
8. Leung R, Olomley R, Czarny D. Paracetamol anaphylaxis. *Clin Exp Allergy* 1992; 22: 831-833.
9. Poe TE, Iimpert GH, Winker GJ. Anaphylactoid reaction to diflunisal. *J Fam Pract* 1989; 28: 104-105.
10. Van der Klauw MM, Stricker BH, herings RM, et al. A poplatio based case-cohort study of drug induced anaphylaxis. *Br J Clin Pharmacol* 1993; 35: 400-408.
11. Czerniawska-Mysik G, Szczeklik A. Idiosincrasia to pyrazolone drugs. *Allergy* 1981; 36: 381-384.
12. Mac Call CV, Cooper JW. Tolemtin anaphylactoid reactions. *JAMA* 1980; 243: 1263.
13. García-Ramos AE, Fernández-Caldas E, Seleznik MJ, Lockey RF. Respiratory allergies and skin test reactivity in high school students in Tenerife, Canary Islands, Spain. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1992; 2: 19-26.
14. Blanco C, Quiralte J, Castillo R, Delgado J, Arteaga C, Barber D, Carrillo T. Anaphylaxis after ingestion of wheat flour contaminated with mites. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 308-313.
15. Quiralte J, Blanco C. New trends in aspirin sensitivity. *Clin Exp Allergy* 1998; 28 (Suppl 4): 55-56.
16. Blanco C, Castillo R, Ortega N, Álvarez M, Arteaga C, Barber D, Carrillo T. Los ácaros como trofoalergenos. En: Colas C, Fraj J, Lezaun A, eds. *Debates sobre Alergología- Reunión Anual de la Sociedad Aragonesa de Alergología*. Barcelona: Gráfica Cromotip SL, 1999: 45-50.
17. Szczeklik A, Stevenson DD. Aspirin-induced asthma: advances in pathogenesis and management. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 5-13.
18. Samter M, Beers RF. Intolerance to aspirin: clinical studies and consideration of its pathogenesis. *Ann Intern Med* 1968; 68: 975-983.
19. Marquette CH, Salmier F, Leroy O, Wallaert B, Chopin C, Demarq JM, et al. Long-term prognosis for near-fatal asthma. A 6-year follow-up study of 145 asthmatic patients who underwent mechanical ventilation for near-fatal attack of asthma. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 76-81.
20. Strom BL, Carlson JL, Morse ML, et al. The effect of indication on hypersensitivity reactions associated with zomepirac sodium and other non steroidal antiinflammatory drugs. *Arthritis Rheum* 1987; 30: 1142-1148.
21. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action of aspirin-like drugs. *Nature* 1971; 231: 232-235.
22. Vanselow NA, Smith JR. Bronchial asthma induced by indomethacin. *Ann Intern Med* 1967; 66: 568-573.
23. Israel E, Fischer A, Rosenberg M, Lilly CM, Callery JC, Shapiro J, et al. The pivotal role of 5-lipoxygenase products in the reaction of aspirin-sensitive asthmatics to aspirin. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 1447-1451.
24. Cowburn AS, Sladek K, Soja J, Adamek L, Nizankowska E, Szczeklik A, et al. Overexpression of leukotriene C4 synthase in bronchial biopsies from patients with aspirin-intolerant asthma. *J Clin Invest* 1998; 101: 1-13.
25. Penrose JF, Spector J, Baldasaro M, Xu K, Arma JP, Austen KF, et al. Molecular cloning from human LTC4 synthase: organization, nucleotide sequence and chromosomal localization to 5q35. *J Biol Chem* 1996; 271: 11356-11361.
26. Sanak M, Simon HU, Szczeklik A. Leukotriene C4 synthase promoter polymorphism and risk of aspirin-induced asthma. *Lancet* 1997; 350: 1599-1600.
27. Altmann DM, Sansom D, Marsh SG. What is the basis for HLA-DQ associations with autoimmune disease? *Immunol Today* 1991; 12: 267-270.
28. Quiralte J, Sánchez-García F, Torres MJ, Blanco C, Castillo R, Ortega N, Rodríguez de Castro F, Pérez-Aciego P, Carrillo T. Association of HLA-DR11 with the anaphylactoid reaction caused by non-steroidal antiinflammatory drugs. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 685-689.
29. Bochenek G, Nizankowska E, Szczeklik A. The atopy trait in hypersensitivity to non-steroidal antiinflammatory drugs. *Allergy* 1996; 51: 16-23.
30. Quiralte J, Blanco C, Castillo R, Carrillo T. Atopy and NSAIDs sensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 144.
31. Fu XT, Bono CP, Woulfe SL, et al. Pocket 4 of HLA-DR (a,b1*0401) molecule is a major determinant of T cell recognition of peptide. *J Exp Med* 1995; 181: 915-926.
32. Martínez-Soria E, Steimle V, Burkhardt C, et al. An HLA-DRB1 a-helix motif shared by DR11 and DR8 alleles is implicated in the pluri-allelic restriction of peptide-specific T-cell lines. *Hum Immunol* 1994; 40: 279-290.
33. Ou D, Mitchell LA, Tingle AJ. HLA-DR restrictive supertypes dominate promiscuous T cell recognition: association of multiple HLA-DR molecules with susceptibility to autoimmune disease. *J Rheumatol* 1997; 24: 253-261.
34. Ou D, Mitchell LA, Tingle AJ. A new categorization of HLA-DR alleles on a functional basis. *Hum Immunol* 1998; 59: 665-676.
35. Torres-Galván MJ, Quiralte J, Blanco C, Castillo R, Carrillo T, Pérez-Aciego P, Sánchez-García F. Pocket 4 in the HLA-DRB1 antigen binding groove: an association with atopy. *Allergy* 2000 (en prensa).

B. Cárdbaba,
I. Cortegano, F. Florido,
I. Arrieta, E. Aceituno
V. del Pozo, S. Gallardo,
M. Rojo, P. Palomino,
C. Lahoz

Departamento de Inmunología.
Fundación Jiménez Díaz.
Madrid. Servicio de Alergia.
Hospital General de
Especialidades de Jaén.

Regulación genética de la respuesta al polen del olivo

INTRODUCCIÓN

La alergia al polen del olivo (*Olea europaea*) es una de las principales causas de enfermedades alérgicas en los países Mediterráneos y en España, se considera la segunda causa de polinosis tras las gramíneas, siendo la primera en ciertas regiones como Andalucía.

El principal antígeno de este polen, Ole e 1, es una proteína perfectamente caracterizada, tanto a nivel nucleotídico como aminoacídico^{1,2}. Está compuesta por una cadena polipeptídica simple de 145 aa, que muestra gran microheterogeneidad de secuencia en algunas posiciones de su estructura primaria y un punto de glicosilación, que hace que esta proteína exhiba dos formas distinguibles por su peso molecular, glicosilada (20 kDa) y no-glicosilada (18,5 kDa). La comparación de secuencia demuestra que no tiene homología con ningún alérgeno previamente descrito, aunque su secuencia aminoacídica muestra un 36-38% de identidad con las secuencias deducidas de los polipéptidos codificados por los genes LAT52 del polen de tomate y Zmc13 del polen de maíz.

Además, en nuestro grupo hemos definido mediante anticuerpos monoclonales, 4 epítotos B en la superficie de Ole e 1³ y por análisis de la respuesta proliferativa de linfocitos T de pacientes alérgicos y no-alérgicos, frente a un panel de péptidos sintéticos derivados de la molécula de Ole e 1, definimos dos regiones, en la parte carboxiterminal, inmunodominantes en la respuesta T⁴.

Finalmente, por estudios poblacionales en dos grupos étnicos, españoles y árabes (presumiblemente con un "background" genético distinto), hemos demostrado la asociación de la respuesta de anticuerpos IgE α -Ole e 1 y el antígeno de histocompatibilidad de clase II, DQ2^{5,6}. Restricción que hemos encontrado asociada a la respuesta de otros antígenos derivados de Oleáceas, además de haberla demostrado a nivel experimental con la utilización de líneas T.

En el polen del olivo, además de Ole e 1, se han encontrado otros antígenos que unen anticuerpos IgE, algunos de los cuales han sido caracterizados y purificados (Tabla I).

El análisis de reactividad frente a estas proteínas es fundamental como herramienta diagnóstica, así como, para entender los mecanismos de reactividad cruzada.

Genética de la atopía

La alergia es una enfermedad multifactorial compleja, con evidencias de una fuerte influencia genética, ya que, entre el 40-80% de los pacientes con rinitis o asma bronquial muestran una historia familiar de alergia positiva, en contra del 20% o menos observado en la población no alérgica.

Los mecanismos inmunogenéticos que subyacen en la alta respuesta de anticuerpos IgE observados en las enfermedades atópicas pueden ser de dos tipos, específicos y no-específicos de antígeno.

Múltiples grupos han trabajado en la identificación de genes reguladores de las respuestas atópicas, lo que ha permitido la definición de fuer-

Tabla I. Antígenos caracterizados en el polen del olivo

Antígeno	Caracterización	Frecuencia de unión a IgE	Homología	Referencia
Ole e 1	Estructura primaria determinada: 145 aa, 16331 Da (masa molecular), proteína ácida. Alto grado de microheterogeneidad. Sitio de Glicosilación.	62%	Gen LAT52 del tomate, Zmc13 del maíz y OSPSG del arroz.	7, 2, 8
Ole e 2 (profilina del polen del olivo)	Clonado y secuenciado, 17-15 kDa, proteína ácida.	24%	Alta identidad con las profilinas del abedul.	9, 10
Ole e 3	Clonado y secuenciado. 9.2 kDa, proteína ácida.	50% en áreas de altos niveles de polen de olivo.	Similitud de secuencia con la secuencia consenso de los "EF-hand" motivos de proteínas de unión al Ca ²⁺ (polcalcinas).	11, 12
Ole e 4	Secuenciación parcial. 32 kDa, pls entre 4.65 y 5.1. Posible Glicoproteína.	80%	Sin homología con proteínas conocidas.	13, 14
Ole e 5	Secuencia N-terminal. 16 kDa, pls entre 5.1 y 6.5. Posible Glicoproteína.	35%	Alta homología con superóxido dismutasa de algunas plantas.	13
Ole e 6	Secuencia aminoácida. Masa molecular deducida 5830 Da. PAGE-SDS: 10kDa, pl 4.2	15 % (diferencias dependiendo del área: 10-55%)	Sin similitud de secuencia con proteínas conocidas.	15
Ole e 7	Secuencia aminoácida N-terminal: 9875 a 10297 Da. Alto grado de polimorfismo.	47%	Sin homología con proteínas conocidas.	16

tes candidatos a genes de la atopía, siendo los más relevantes el cromosoma 11q13¹⁷, donde se localiza el gen que codifica para la cadena b del receptor de alta afinidad para la IgE (FceRI-b), y el 5q31.1¹⁸, donde mapean las citoquinas asociadas a la respuesta alérgica (IL-4, IL-5, IL-13) también llamado "cluster de los genes de IL-4".

La regulación de la respuesta IgE específica de alérgenos puede diferir de la respuesta atópica en general. Las asociaciones genéticas son más fácilmente detectables frente a alérgenos purificados que frente a extractos complejos. A este respecto, se han estudiado fundamentalmente 2 cromosomas, el 6p21.3, donde mapean los genes que codifican por las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (MHC de clase II), las cuales juegan un papel central en la unión y presentación de péptidos antigéni-

cos a la célula T y el 14q11.2, donde está localizado el locus de la cadena alfa del receptor de la célula T (TCR). Ambos locus han sido asociados a la respuesta IgE específica de antígeno.

Nuestro último trabajo, se ha centrado en el estudio de reactividad frente a dos de los antígenos del polen del olivo, Ole e 1 y 3, comparando las restricciones genéticas asociadas a sus respuestas específicas¹⁹. En nuestro caso, hemos analizado: 1. El locus HLA de clase II y alguno de los polimorfismos de la cadena alfa del TCR, como genes reguladores de la respuesta específica de alérgenos, 2. Los polimorfismos genéticos de la subunidad beta del receptor de tipo I del Fce, implicados en la regulación de la IgE total. 3. Finalmente, hemos estudiado el gen de la cadena beta del TNF, regulador de mecanismos inflamatorios no específicos de IgE, pero que ha sido asociado con asma.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio

Se seleccionaron 22 familias nucleares (n=88 sujetos) en el Departamento de Alergia del Hospital General de Especialidades Ciudad de Jaén, siguiendo los criterios del Workshop de HLA y Alergia: la composición de las familias fue de 2 hijos alérgicos al polen del olivo y al menos uno de los padres no afecto (por examen físico personal e historia familiar).

Se determinó la hipersensibilidad inmediata a una batería de alérgenos comunes (incluyendo el extracto crudo de *Olea europaea*) por pruebas cutáneas.

Determinaciones serológicas

Las determinaciones serológicas fueron: IgE total, IgE frente al polen del olivo y como determinaciones específicas, IgG e IgE frente a Ole e 1 por DARIA y IgE frente a Ole e 3, por ELISA.

Los datos clínicos de los sujetos estudiados se resumen en la Tabla II, agrupando a los sujetos en alérgicos y no-alérgicos.

Análisis molecular

El DNA genómico fue extraído de los linfocitos de sangre periférica, mediante precipitación con sales, para el estudio genético de los 6 polimorfismos analizados en este trabajo¹⁹: los loci DRB1 y DQB1 que codifican por los antígenos de clase II, DR y DQ; los polimorfismos bialélicos de la cadena α del TCR ($\text{Va}8.1$); dentro del gen que codifica por la cadena β del receptor de alta afinidad para la IgE, los polimorfismos bialélicos en el intrón 2 y el exón 7; y los polimorfismos bialélicos del primer intrón del gen de la cadena α de la linfotoxina.

Análisis estadístico

Se utilizó análisis de regresión múltiple para el análisis de rasgos cuantitativos (IgE total, IgE específica al extracto completo, IgE e IgG específica a Ole e 1 y Ole e 3) y el test de desequilibrio de transmisión multialélica para examinar asociaciones con rasgos cualitativos (altos niveles de anticuerpos).

La significación estadística de las frecuencias fenotípicas y genotípicas entre grupos se determinó por el test de Fisher's.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se resume en la Tabla II, 49 sujetos estaban sensibilizados al polen del olivo (mostraron reactividad por pruebas cutáneas y niveles significativos de anticuerpos IgE frente al extracto completo del polen del olivo), de éstos, 48 mostraron niveles de anticuerpos significativos frente a Ole e 1 y 17 frente a Ole e 3. Todos los pacientes reactivos a Ole e 3 lo fueron también a Ole e 1.

Al analizar la relación de los polimorfismos estudiados en relación con los parámetros clínicos, encontramos los resultados que se resumen en la Tabla III.

Estos datos confirman por estudios familiares los resultados que previamente describimos en 2 poblaciones con diferente "background" genético (españoles y árabes), que asociaban la respuesta de anticuerpos IgE frente a Ole e 1 con DR7-DQ2. En este trabajo, la presencia de DR7 estaba asociado de una forma estadísticamente significativa con los altos niveles de IgE total de suero y los niveles de Abs IgG frente a Ole e 1 y el antígeno DQ2 con los altos niveles de IgG e IgE frente a Ole e 1.

Por otro lado, a pesar del bajo número de pacientes con niveles significativos de anticuerpos IgE frente a Ole e 3 (n=17), la presencia de DQ2 estaba asociada a esta res-

Tabla II. Parámetros clínicos de la población estudiada, agrupados en alérgicos y no-alérgicos al polen del olivo

	No-Alérgicos	Alérgicos
Nº Sujetos	39	49
Edad	45 ± 5	16 ± 9
IgE total (IU/mL)	125 ± 218	580 ± 470
IgE a- <i>Olea europaea</i> (UNI-CAP clases)	0.1 ± 0.44	4.5 ± 1.3
IgG a-Ole e 1(AU/mL)*	2322 ± 4770	n=49 (100%) 31143 ± 14315
IgE a-Ole e 1(AU/mL)*	665 ± 784	n=48 (97,9%) 10539 ± 7546
IgE a-Ole e 3 (OD)**	0	n=17 (34,6%) 0.41 ± 0.64

*AU/mL: Unidades Arbitrarias/mL, **OD: Unidades de densidad óptica

Tabla III. Asociaciones relevantes entre los parámetros clínicos y los loci analizados

	Exón 7 FceRIb RsaI (alelo 1)	Intrón 2 FceRIb RsaI (alelo 2)	TNF-b LTa-NcoI (alelo 1)	TCR Va8.1 (alelo 1)	HLA- DRB1	HLA- DQB1
IgE total	0.014	ns	ns	ns	DR7 (0.04)	ns
IgE a- <i>Olea e.</i>	0.004	0.003	ns	ns	ns	ns
IgG a-Ole e 1	0.006	0.025	ns	ns	DR7 (0.025)	DQ2 (0.023)
IgE a-Ole e 1	0.04	0.05	ns	ns	ns	DQ2 (0.013)
IgE a-Ole e 3	ns	ns	ns	ns	ns	DQ2 (0.036)

puesta. Esta similitud en la restricción genética podría indicar similitud a nivel molecular entre Ole e 1 y Ole e 3.

El polimorfismo de la cadena alfa del TcR ha sido asociado con la respuesta específica de alérgenos y en concreto, los polimorfismos Va-8.1, con la respuesta IgE frente a Der p 2. A pesar de conocer que Ole e 1 y este antígeno tienen asociaciones de HLA distinta, decidimos hacer este estudio por 2 razones: a) para ver qué pasaba con el otro antígeno estudiado (Ole e 3) y b) como control negativo de estudio de asociación genética (con respecto a Ole e 1). Nuestros resultados confirmaron esta hipótesis, ya que, no encontramos ninguna diferencia entre las frecuencias genotípicas de alérgicos y no-alérgicos. Además, el análisis de asociación de los distintos parámetros alérgicos con los alelos estudiados, demostraron que no había ninguna asociación significativa.

Distintas variantes polimórficas de la cadena b del receptor de tipo I del Fce, han sido asociadas con la regulación de la IgE, así como con el asma, dermatitis atópica y distintas condiciones atópicas.

Nosotros, hemos analizado dos de estos posibles polimorfismos, los localizados en el exón 7 y en el intrón 2. Respecto al exón 7, no encontramos ninguna diferencia estadísticamente significativa en las frecuencias genotípicas entre atópicos y no atópicos (a pesar de que el alelo 2 estaba disminuido en atópicos), aunque, los análisis de asociación demostraron que el alelo 1 estaba significativamente asociado con altos niveles de IgE total, así como de IgE del polen del olivo y de IgE e IgG específica de Ole e 1.

La distribución genotípica de los polimorfismos del intrón 2, comparado alérgicos y no-alérgicos fue similar, sin embargo, encontramos asociaciones estadísticamente significativas entre el alelo 2 y los altos niveles de Abs frente a *Olea europaea* y Ole e 1 (IgE e IgG).

Finalmente, realizamos el análisis de los polimorfismos del TNF, ya que, es una potente citocina pro-inflamatoria que se secreta en niveles muy altos en condiciones asmáticas, habiéndose asociado algunas variantes polimórficas con la alta secreción de TNF y con asma. Aquí, hemos estudiado las variantes bialélicas del gen que codifica por la cadena alfa de la linfotoxina, porque ha sido asociado con esta alta secreción de TNF.

Los resultados de frecuencia genotípica no muestran ninguna diferencia entre atópicos y no atópicos y ningún alelo está asociado con los rasgos alérgicos analizados. Este resultado, coincide con un trabajo que establece una asociación entre el aumento de secreción de TNF y el antígeno DR3²⁰, ya que en nuestro caso, la restricción de HLA es diferente.

En resumen, este trabajo demuestra las múltiples influencias genéticas implicadas en la respuesta frente al polen del olivo. Sin embargo, confirmamos por estudios familiares la asociación de la respuesta IgE frente a Ole e 1 y DQ2, así como, encontramos la misma asociación en la respuesta a otro antígeno del olivo, Ole e 3, lo que apunta hacia la presencia de algún motivo común en ambas proteínas.

Por otro lado, confirmamos la implicación de la cadena b del receptor de alta afinidad para la IgE en la regulación de la IgE.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Villalba M, Batanero E, López-Otín C et al. The amino acid sequence of Ole e 1, the major allergen from olive tree (*Olea europaea*) pollen. Eur J Biochem 1993;216:863-869.
2. Villalba M, Batanero E, Monsalve RI, et al. Cloning and expression of Ole e 1, the major allergen from olive tree pollen. J Biol Chem 1994;269:15217-15222.
3. Martín-Orozco E, Cárdbaba B, del Pozo V, et al. Epitope mapping, cross-reactivity with other Oleaceae pollens and ultrastructural localization. Int Arch Allergy Appl 1994; 104:160-170.
4. Cárdbaba B, del Pozo V, Jurado A, et al. Olive pollen allergy: searching for immunodominant T-cell epitopes on the Ole e 1 molecule. Clin Exp Allergy 1998; 28:413-2422.
5. Cárdbaba B, Vilches C, Martín E, et al. DR7 and DQ2 are positively associated with immunoglobulin-E response to the main antigen of olive pollen (Ole e 1) in allergic patients. Hum Immunol 1993; 38:293-299.
6. Cárdbaba B, de Pablo R, Vilches V, et al. Allergy to olive pollen: T-cell response from olive allergic patients is restricted by DR7-DQ2 antigens. Clin Exp Allergy 1996; 26:316-322.
7. Lauzurica P, Maruri N, Galocha B, et al. Olive (*Olea europaea*) pollen allergens. II. Isolation and characterization of two major antigens. Mol Immunol 1988; 25:337-344.
8. Lombardero M, Barbas JA, Moscoso del Prado J, Carreira J. cDNA sequence analysis of the main allergen, Ole e I. Clin Exp Allergy 1994; 24:765-770.
9. Asturias JA, Arilla MC, Gómez-Bayón N, Martínez J, Martínez A, Palacios R. Cloning and expression of the panallergen profilin and the major allergen (Ole e 1) from olive tree pollen. J Allergy Clin Immunol 1997; 100:365-372.
10. Ledesma A, Rodríguez R, Villalba M. Olive-pollen profilin. Molecular and immunological properties. Allergy 1998; 53:520-526.
11. Batanero E, Villalba M, Ledesma A, Puente XS, Rodríguez R. Ole e 3, an olive-tree allergen, belongs to a widespread family of pollen proteins. Eur J Biochem 1996; 241:772-778.
12. Ledesma A, Villalba M, Batanero E, Rodríguez R. Molecular cloning and expression of active Ole e 3, a major allergen from olive-tree pollen and member of a novel family of Ca²⁺-binding proteins (polcalcins) involved in allergy. Eur J Biochem 1998; 258:454-1459.
13. Boluda L, Alonso C, Fernández-Caldas E. Purification, characterization, and partial sequencing of two new allergens of *Olea europaea*. J Allergy Clin Immunol 1998; 101: 210-216.
14. Martínez A, Asturias JA, Palacios R, Sanz ML, Sánchez G, Oehling A, Martínez J. Identification of a 36-kDa olive-pollen allergen by in vitro and in vivo studies. Allergy 1999; 54: 584-592.
15. Batanero E, Ledesma A, Villalba M, Rodríguez R. Purification, amino acid sequence and immunological characterization of Ole e 6, a cysteine-enriched allergen from olive tree pollen. FEBS Lett 1997; 410: 293-296.
16. Tejera ML, Villalba M, Batanero E, Rodríguez R. Identification, isolation, and characterization of Ole e 7, a new allergen of olive tree pollen. J Allergy Clin Immunol 1999; 104: 797-802-817.
17. Cookson WCOM, Sharp PA, Faux JA, Hopkin JM. Linkage between immunoglobulin E response underlying asthma and rhinitis and chromosome 11q. Lancet 1989;1:1292-1295.
18. Marsh DG, Neely JD, Breazeale DR, et al. Linkage analysis of IL-4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. Science 1994;264:1152-1156.
19. Cárdbaba B, Cortegano I, Florido F; et al. Genetic restrictions in olive pollen allergy. J Allergy Clin Immunol 2000; 105:292-298
20. Jacob CO, Fronek Z, Lewis GD, et al. Heritable major histocompatibility complex class I-associated differences in production of tumor necrosis-factor relevance to genetic predisposition to systemic lupus erythematosus. Proc Natl Acad Sci USA 1990;87:1233-1237.

C. Geller-Bernstein*,
G. Hassoun**,
M. Kidon*,
R. Kenett***,
B. Cárdbaba****,
Y. Waisel***,
C. Lahoz****

*Kaplan Medical Center, Rehovot, Israel.

**Um-El Fahem Allergy Clinic, Um-El-Fahem, Israel.

***Tel Aviv University, Tel-Aviv, Israel.

****Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain.

The multifactorial character of allergic diseases

It is convenient to call allergy a "multifactorial" disease, because if there are that many factors we can hardly be expected to know them all ...

The problem is however, that even about the factors that are "known" we know very little.

For example:

GENETICS OF ALLERGY DISEASES

Ever since Blakeley in the 17-th century said that "rose fever runs in families", the international scientific community of allergists tries to find out how the genetic factor works in determining the mode of inheritance of sensitization and allergy, by many different approaches:

Population studies

Family "

Twin "

More recently disease susceptible genes for asthma and allergy were studied by:

Forward genetics

Candidate gene approach

Positional genetics.

And still, Malcolm Blumenthal, says the following in his chapter "Principles of genetics" from the last edition of our best textbook, "Allergy, Principle and Practice":

Although many studies are now looking at the genetics of a variety of asthmatic and allergic phenotypes using these new methods, they have given contradictory results. As of yet, there have been few triumphs.

While waiting for more triumphs in genetics, researchers are busy studying different impacts of:

THE ENVIRONMENT AS STIMULI FOR THE OUTBREAK OF ALLERGY SYMPTOMS

On this subject we are in the middle of a real turmoil: During the last years the classical concept of allergen avoidance as golden rule for prevention was challenged by the recent studies of Fernandez Von Mutius, Bjorksten and many others.

They claim that exposure to allergens in early life, might (as well as infections, vaccines and bad hygiene conditions) prevent rather than induce sensitization and allergy.

For that reason it is more important now than ever, to study the impact of allergen exposure on sensitization.

In order to learn about that, we have to corroborate information from different parts of the world such as the Mediterranean region to which Israel belongs.

"Mediterranean" is not only a sea, climate or vegetation; it is also a mentality and way of life. We like to spend much of our leisure time outdoors, from early ages on.

Therefore sensitization to pollen occurs already at ages 2-4 years, especially in rural communities even though in the textbooks it says the onset age for hay-fever is about 7 years.

But the textbooks and most of the journals are written in the USA and Northern Europe where climate and vegetation are different from ours.

We, have to learn about what OUR own allergic patients breathe in when the flowering starts.

What do we know about that?

Our climate is in general Mediterranean, with some influences from the desert in the South and from the mountains in the North.

Most common allergenic pollen comes from:

1st. Well known Mediterranean plants: grasses, trees and weeds.

B. Plants with allergenicity that we recently described.

Pistacia, Olive, Ferns.

Principal blooming seasons are spring and also autumn, some plants pollinate all the year, like:

Bermuda grass, Eucalyptus tree

Parietaria weed

Typically for our mild climate and massive artificial irrigation, pollen grains stay around most of the year and hay fever patients experience minor symptoms also beyond the peak of their main suffering season.

We have assessed seasonal variations of antipollen IgE levels in hay-fever children.

It was observed that clinical hay-fever symptoms and pollen counts are positively correlated

But it appears, that as opposed to reports from countries with continental climate, in our region, pollen sensitive patients have circulating antipollen IgE during the whole year.

One possible explanation for this phenomenon could be that pollen grains, present in the environment (even though in smaller quantities) beyond main flowering seasons, function as a booster for antipollen IgE production.

Let's now switch to:

Clinical manifestations of pollen allergy in genetically different population groups.

We have studied pollen allergy in the Jewish population of Israel, for many years, and found that in the whole population the overall prevalence of allergic sensitization to one or more allergens is 15-34% of which 12-34% are sensitive to pollen.

The percentage of patients that are sensitized to a certain pollen, parallels the density of the respective plant in the region where they live.

More recently our group studies in collaboration with Carlos Lahoz from Madrid, respiratory allergies in the Arab populations that live in Israel.

Previous results published in Allergy 1996 show that in the Arab settlement Um-El-Fahem with high density of olive trees prevalence of sensitization to olive po-

It is only 14% of all allergic patients, while it is 66% in Jewish populations that live in regions with similar density of olive trees.

In 1999 we assessed allergic sensitization in the Arab city Shefaram situated in the Lower Galilee mountains.

Out of its general population of 32,000, 17% are Druse; they are known there since about 1000 years ago (when the Druse religion was declared).

31% are Christians: some came about 700 years ago (stem from the Crusaders) and 52% are Muslims, they came gradually over the last 500 years.

Till about 30 years ago 90% of the population were farmers, growing olives which is the most important crop in the region.

In today's Shefaram, even though many of its citizens switched to new professions and labor, their houses are still spread between olive groves.

We addressed the question whether and how, under massive exposure to olive pollen, sensitization to it was influenced by the duration of exposure (in terms of generations) and, or by genetic configuration.

66 patients, were selected from the allergy clinic in Shefaram for this study, on the basis of clinically well documented pollen allergies.

The assessment was done in May, while the average number of Olive pollen grains per m³ air was: 256.

Each patient underwent a detailed demographic questionnaire, and skin prick test to allergens most common in the region.

Blood samples were taken and sent to Carlos Lahoz from Madrid for RAST tests and genomic typing.

And here is what was found:

17 of the patients were Druse, 22 Christian and 27 Muslim (90% had rhinitis, 72% eye symptoms, 53% asthma, and 22% skin symptoms).

The symptomatic season was mainly spring and early summer- for 89% of patients.

Skin prick tests to the three most relevant allergens showed that in the whole study population 40% were sensitive to Parietaria 30% to Dust Mite and 21% to Olive.

The distribution of sensitivity to Parietaria and dust were similar in all ethnic groups, and are also similar to what happens in the Israeli Jewish population.

Now look at Olive:

The overall prevalence of sensitization to it was 21%, which is again extremely low as compared to the 66% olive sensitive Jews that live in olive trees rich regions.

But the distribution is also peculiar: in the Druse 12%, Christian 18% and Muslims 30%.

A linear correlation was found between time of exposure over the last 1000 years, and prevalence of sensitization: the more previous generations were exposed to olive pollen, the less today's population is sensitive to it.

For genomic typing Lahoz separated the study population in two groups:

Those with Parietaria pollen reactivity

1. " " Olive pollen reactivity.

Those with Parietaria reactivity show once again the well known increase in DR5 (11) as described by Anna Ruffilli in Italian, and Israeli-Jewish populations, from a collaborative work we did with her, published in Clin. Exp. Allergy 1996.

In the Olive reactive allergic patients we see that in the non allergic Druse the FF for DQ2 is extremely low: 2%, and DR4 was 44%; in the non allergic Muslims, high frequency of:

DR4: 67% and DQ2: 17%, while in the allergic ones DR4 was low: 10% and DQ2: 60%.

Thus reconfirming results from the Um-El Fahem study that DR4 seems to be a protective class II antigen against sensitivity to Olive pollen while DQ2 is a risk factor.

We have also done discriminant analysis of sensitization to the most relevant allergens by socio-economic factors.

The numbers are small but we can however see that degree education influences presence of allergic sensitization as known in the whole world and also in the Israeli Jewish population: the more educated they are, the more allergic sensitization they have.

And if they use a vacuum cleaner, they have less sensitization to dust, which also predictable.

And we see again how Ethnic origin influences sensitization.

What I mean to show is that regarding most well known parameters of allergy the Arabs of Um-El Fahem behave like any other population in the world including the Israeli Jews.

But regarding sensitization to the pollen of olive to which they were (especially the Druse) exposed for centuries, they react differently.

These results may reflect a processes of olive pollen specific tolerance, acquired over the years, or a spontaneous desensitization, in both cases combined with natural selection.

Thus it appears in conclusion, that genetics and environment not only influence allergy each one separately in its own way, but they might have modulated one another during centuries.