

January 2006

Efecto del fumarato de ketotifeno tópico sobre la concentración de IgE total en lágrimas y la expresión de HLA-DR en pacientes con conjuntivitis alérgica

Hilda Henny Herrera

Universidad de La Salle, Bogotá, martharodriguez@lasalle.edu.co

Pilar Prada

Universidad de La Salle, Bogotá, martharodriguez@lasalle.edu.co

Martha Rodríguez

Universidad de La Salle, Bogotá, martharodriguez@lasalle.edu.co

Alberto Rojas

Universidad de la Salle, martharodriguez@lasalle.edu.co

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/svo>



Part of the [Eye Diseases Commons](#), [Optometry Commons](#), [Other Analytical, Diagnostic and Therapeutic Techniques and Equipment Commons](#), and the [Vision Science Commons](#)

Citación recomendada

Herrera HH, Prada P, Rodríguez M y Rojas A. Efecto del fumarato de ketotifeno tópico sobre la concentración de IgE total en lágrimas y la expresión de HLA-DR en pacientes con conjuntivitis alérgica. *Cienc Tecnol Salud Vis Ocul.* 2006;(7): 17-26.

This Artículo de Investigación is brought to you for free and open access by the Revistas científicas at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in *Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular* by an authorized editor of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

Efecto del fumarato de ketotifeno tópico sobre la concentración de IgE total en lágrimas y la expresión de HLA-DR en pacientes con conjuntivitis alérgica¹

Hilda Henny Herrera* / **Pilar Prada**** / **Martha Rodríguez***** / **Alberto Rojas***

Resumen

La conjuntivitis alérgica es una hipersensibilidad tipo I o inmediata mediada por la IgE y su efecto sobre la liberación y activación de mediadores inflamatorios por los mastocitos. El objetivo del estudio fue determinar la presencia de sintomatología y concentración de IgE total en lágrimas antes y después del tratamiento con fumarato de ketotifeno en pacientes con conjuntivitis alérgica. Métodos: 12 pacientes con conjuntivitis alérgica que acudieron al Instituto de Investigaciones Optometricas de la Universidad de La Salle, se les realizó examen oftalmológico y determinación de IgE total en lágrimas. A estos pacientes se les trató con zaditen 0,025%, 1 gota cada doce horas, durante un mes, al cabo del cual se les realizó nuevamente examen oftalmológico, determinación de IgE y expresión de HLA-DR en citología de impresión.

Resultados: se encontró que los pacientes con conjuntivitis alérgica presentaron signos y síntomas como papilas, prurito, edema, ardor e hiperemia, los niveles de IgE fueron superiores a 5 kUI/l con una media de 23,75 kUI/l; después del tratamiento con Zaditen no hubo presencia de sintomatología y los niveles de IgE disminuyeron significativamente ($t= 3,30$) con una $p<0,01$ lo cual se correlacionó con la no expresión de HLA-DR en las células epiteliales de la conjuntiva por citología de impresión. Conclusiones: es probable que el control de los mediadores inflamatorios, a nivel local, por el fumarato de ketotifeno influyan directamente sobre la síntesis y regulación de la IgE por los LB de la mucosa conjuntival en pacientes con conjuntivitis alérgica

Palabras clave: conjuntivitis alérgica, IgE, cambio de clase, zaditen, citoquinas, histamina, mastocitos.

¹ Investigación financiada por la Universidad de La Salle.

* MD Oftalmólogo. Docente investigador Universidad de la Salle

** Optómetra. Docente investigador Universidad de la Salle

*** Bacterióloga MSc Inmunología. Docente Investigador Universidad de La Salle.

Correo electrónico: martharodriguez@lasalle.edu.co

Fecha de recepción: agosto 22 de 2006.

Fecha de aprobación: octubre 6 de 2006.

Effect of the topic ketotifeno fumarato on the total concentration of IgE in tears and the expression of HLA-DR in conjunctivitis allergic patients

Abstract

Allergic conjunctivitis is a hypersensitive type I or immediate by the IgE and its effect regarding the liberation and activation of inflammatory mediators by mastocitos. The purpose was to determine the presence of symptomatology and IgE total concentration in tears before and after treatment with ketotifeno fumarato in conjunctivitis allergic patients. 12 conjunctivitis allergic patients attended to the Optometric Research Institute of the Universidad de La Salle, and an ophthalmological exam was carried out and a total IgE in tears was determined. These patients were treated with zaditem 0.025%, a tear every 12 hours, for a month. At the end of this treatment an ophthalmological

exam was carried out again, the IgE was determined, as well as the presence of HLA-DR in an impression cytology. Results found that conjunctivitis allergic patients had signs and symptoms such papillas, pruritus, edema, ardor and hyperemia, the IgE levels were higher to 5UI/1 with a measure of 23.75 UI/1. After the treatment with zaditen there were no symptomatology and the IgE levels significantly decreased ($t= 3.30$) with a $P<0.01$, which was related to the lack of presence of HLA-DR in epithelial cells of the conjunctiva by impression cytology just as normal people. As a conclusion, it is possible that the control of inflammatory mediators, at local level, by ketotifeno fumarato has direct influence over the synthesis and regulation of IgE by LB in conjunctiva mucosa in allergic conjunctivitis patients.

Key Words: allergic conjunctivitis, IgE, zaditen, cytoquinas, histamine, mastocitos.

INTRODUCCIÓN

La hipersensibilidad tipo I a nivel ocular es una condición sistémica y/o local que usualmente afecta la conjuntiva y por esta razón frecuentemente se refiere como conjuntivitis alérgica. Las conjuntivitis alérgicas, se presentan en un 5% a un 22% de la población, dependiendo de la región geográfica y la edad (Bogacka, 2003). La mayoría de estas alergias afectan también los párpados y en algunas ocasiones la cornea dependiendo de la severidad. Estas alergias oculares que se asocian con IgE, se han clasificado en conjuntivitis aguda estacional, Conjuntivitis aguda perenne, Keratoconjuntivitis Vernal, Keratoconjuntivitis atópica y Conjuntivitis papilar gigante. (Bhargava, 1998; Groblewska, 2003)

La patogénesis de la conjuntivitis alérgica involucra un complejo mecanismo, que se centra alrededor de la síntesis y regulación de IgE durante la fase de sensibilización y la de granulación del mastocito con liberación de múltiples mediadores inflamatorios en la fase efectora o segunda respuesta al antígeno.

En la fase de sensibilización o primera exposición al antígeno, el sistema inmune, siempre inicia la respuesta de anticuerpos con la producción de IgM. En los sujetos alérgicos, ocurre un desbalance en las subpoblaciones de Linfocitos T ayudadores (LTH) antígeno específicos, con predominio del tipo 2 (LTH2) secretores de citoquinas como la IL4, IL-13, que promueven el cambio de clase de IgM hacia IgE o IgG1, junto con otras citoquinas que regulan aspectos importantes de las respuestas de hipersensibilidad tipo I. Otros factores como la ruta de entrada del antígeno, las células presentadoras, el micro ambiente y el componente genético del huésped (atopia), contribuyen en la expresión de la respuesta inmune asociada a la IgE. La IgE secretada, se une a los receptores de alta afinidad para la porción Fc de la IgE (RFcε1) sobre los mastocitos (residentes

en los tejidos), basófilos y eosinófilos (en sangre), estas células representan el mecanismo efector de la respuesta mediada por la IgE (Paul,1999).

La fase efectora se presenta la segunda vez que el alérgeno entra al huésped, el tiempo que demore el alérgeno en entrar en contacto con la IgE sobre los mastocitos, será el determinante del inicio de la sintomatología. Una vez el alérgeno se une a dos IgE (*crosslinking*) en la superficie de los mastocitos, provoca la agregación de los FcεRI e inicia una serie de eventos intracelulares que conllevan a la movilización de Ca⁺⁺ intracelular, necesario para la degranulación y liberación de mediadores inflamatorios preformados como la histamina, serotonina, heparina, etc. Además se aumenta la síntesis de citoquinas como IL-4, IL-3, IL-5 y se regula positivamente la actividad enzimática de la fosfolipasa A2 incrementando la síntesis de novo de prostaglandinas y leucotrienos en el mastocito. Todos estos mediadores generan la respuesta inflamatoria aguda y contribuyen a la quimiotaxis de eosinófilos hacia el tejido, en 8 a 10 horas del estímulo inicial, estas células son en gran parte responsables del daño tisular, denominada la fase tardía de la hipersensibilidad inmediata (Abelson, 2000).

Uno de los hallazgos más significativos en este tipo de alergias es el aumento en los niveles de IgE sérica y en el órgano o tejido blanco. Clásicamente el cambio de clase se ha considerado un evento restringido a los órganos linfoides y que la presencia de IgE en el tejido blanco es debido a la migración de Linfocitos B (LB) de memoria secretores de IgE (Gray, 1993; Fokkens, 2000). Se ha demostrado que aún en las alergias localizadas como rinitis y conjuntivitis hay una activación sistémica, detectable en el laboratorio, frente a los alérgenos, especialmente en los episodios agudos de la enfermedad (Szabo, 2000). En los pacientes alérgicos el aumento de los niveles

de IgE sérica se correlaciona directamente con la cantidad de IgE detectada a nivel local (Somos, 2001).

Otros investigadores afirman que la activación y síntesis de IgE por los LB puede darse en las mucosas, a nivel local. Abu El-Asrar y colaboradores (2001) encontraron en biopsias de conjuntiva de pacientes con Keratoconjuntivitis Vernal, inmunoreactividad para CD23/CD21 y CD40 en el centro de los folículos linfoides, indicando una fuerte activación de los LB en el tejido linfoide asociado a la conjuntiva. En pacientes con rinitis alérgica, aproximadamente 1 de cada 25 LB produce IgE en la mucosa nasal, comparado con 1 de cada 10,000 LB en sangre periférica (Kleijan, 2000), dadas las evidencias, es posible que los LB secretores de IgE también se originen en las mucosas.

Para el cambio de clase, los LB deben sufrir una recombinación del DNA (corte y unión) desde la región constante μ (IgM) a cualquier otra. La región 5' que flanquea cada región codificadora de clase, denominada S (*switch*), permite la unión entre los segmentos a recombinar (por ejemplo, para el cambio de IgM a IgE hay unión de $S\mu S\epsilon$) y el DNA intermedio entre cada región S se elimina la molécula original (Paul, 1999). Takhar y colaboradores (2005) establecieron la presencia del DNA circular $S\mu S\epsilon$ y la enzima necesaria para la recombinación de clase en los LB de la mucosa nasal de sujetos con rinitis alérgica, determinando que la recombinación de los LB ocurre localmente en la mucosa. En otras investigaciones se han obtenido los mismos resultados y se ha comprobado que la transcripción de la región ϵ por LB de la mucosa, es inhibida *in vitro*, en presencia de anticuerpos monoclonales contra la IL-4 o IL-13, indicando que la producción de estas citocinas de *novo* en el tejido, puede manejar el cambio de clase a IgE en la mucosa (Cameron, 2003).

En la conjuntivitis vernal se ha demostrado el predominio de LTH2 en lágrimas comparado con sujetos no alérgicos (Leonardi, 1999), aunque este patrón de LTH2 alérgico específico (secretor de IL-4, IL-5, IL-3 e IL-13) también se ha demostrado, *in vitro*, en células mononucleares de sangre periférica, en niños atópicos previamente estimulados (Jenmalm, 2001), por lo tanto, se podría afirmar que en ciertas condiciones alérgicas hay activación local y/o sistémica.

La activación inmunológica a nivel local también se ve reflejada en los cambios que ocurren en las células epiteliales de la conjuntiva, las cuales no solo actúan como barreras sino que participan en la regulación de la inflamación alérgica, una vez las células epiteliales son estimuladas por la liberación de histamina, expresan moléculas de adhesión, antígenos de histocompatibilidad clase II como el HLA-DR y secretan citoquinas proinflamatorias como la IL-1, IL-6 e IL-8, amplificando la respuesta alérgica. Estos cambios en el epitelio conjuntival en los procesos alérgicos también pueden servir como marcadores de un proceso inflamatorio activo (Irkec, 2003).

Todos estos trabajos sugieren fuertes evidencias de que la mucosa provee todo el micro ambiente necesario para que los LB residentes en el tejido, realicen el cambio de clase a IgE y se produzcan localmente las citoquinas necesarias para mantener esta condición. La regulación y síntesis de la IgE a nivel local podría cambiar significativamente el tratamiento de las alergias localizadas, siendo el blanco preferencial la modulación de las citoquinas y mediadores inflamatorios que influyan directamente sobre la síntesis de IgE.

La farmacoterapia de la conjuntivitis alérgica consiste principalmente de antihistamínicos, estabilizadores de la membrana del mastocito, antiinflamatorios no esteroideos con acción limitada sobre los productos de la ciclooxigenasa y esteroides tópicos, poco utilizados debido a los efectos colaterales (Bhargava).

Algunos fármacos tiene acción combinada como el Fumarato de ketotifeno, un derivado de la benzocycloheptathiophene, al 0,025% en solución oftálmica (Zaditen, Novartis Ophthalmics) está indicado para el manejo sintomático de la conjuntivitis alérgica, varias investigaciones han demostrado su eficacia, seguridad y acción rápida y prolongada en las conjuntivitis alérgicas (D'Àrienzo, 2002; Gomes, 2003; Horak, 2000).

El fumarato de ketotifeno presenta múltiples mecanismos de acción para un efectivo manejo de este tipo de conjuntivitis. Como antihistamínico es un potente antagonista de los receptores de histamina H1 y H2, estabilizador de mastocitos (Schoch, 2003), inhibidor de la quimiotaxis, activación y degranulación de los eosinófilos, disminuye la expresión de complejo mayor de histocompatibilidad clase II (Kawano, 1996) e inhibe el incremento en el TNF- α (Deng, 2005).

El Fumarato de ketotifeno tiene efectos adicionales en el proceso inflamatorio al actuar en la inhibición de la liberación de mediadores inflamatorios como leucotrienos, prostaglandinas y factor activador de plaquetas (PFA) a partir de otras células como neutrófilos y basófilos y altera la expresión de las moléculas de adhesión celular.

En este estudio se analizó la concentración de IgE total en lágrimas antes y después del tratamiento

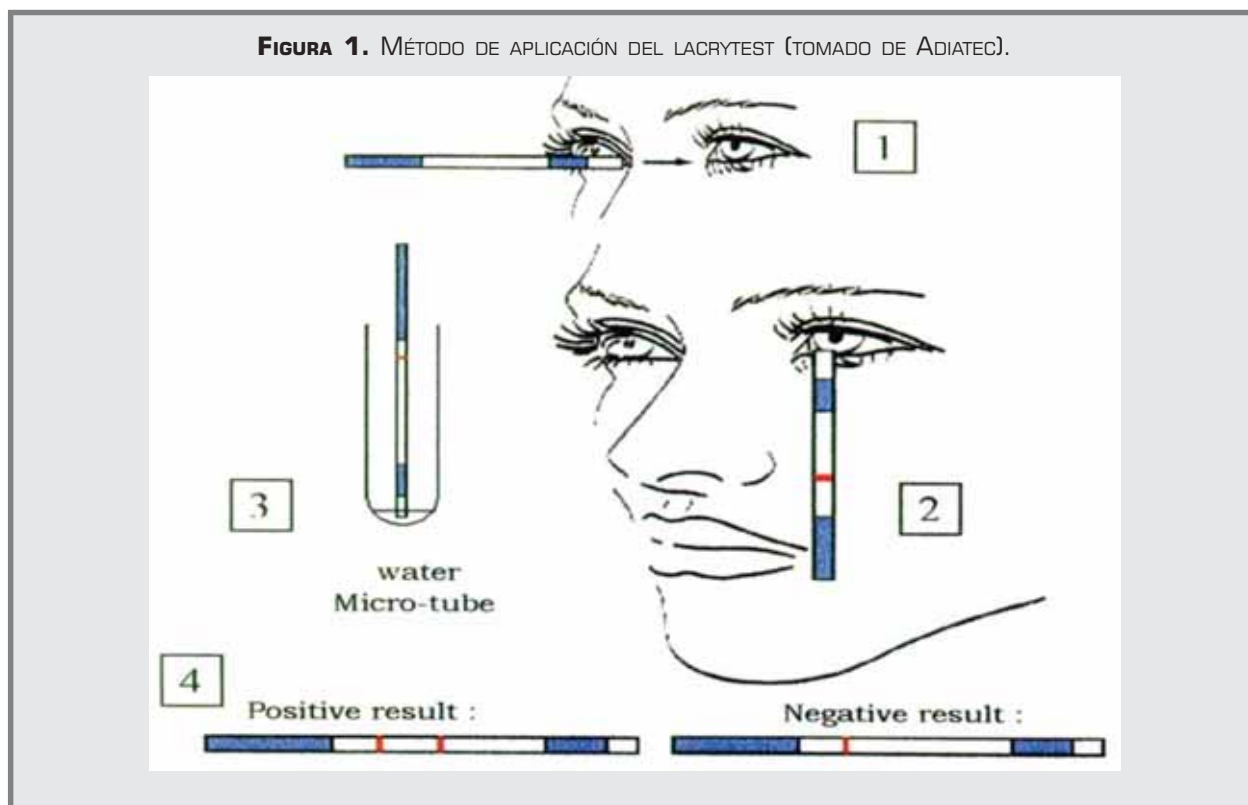
con Zaditen, para determinar si el control de la respuesta inflamatoria a nivel local influía en la producción de IgE local, dando por hecho que la recombinación y síntesis puede ocurrir en la mucosa y que es influenciada por el microambiente del tejido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes. Se evaluaron 12 sujetos mayores de 14 años con diagnóstico clínico de conjuntivitis alérgica, sin tratamiento previo que acudieron al Instituto de Investigaciones Optométricas de la Universidad de La Salle a los cuales se les determinó niveles de IgE total en lágrimas antes y un mes después del tratamiento con Zaditen (cortesía, Novartis Ophthalmics), una gota en ambos ojos cada 12 horas. Después del tratamiento se determinó la expresión de HLA DR en citología de impresión por inmunohistoquímica en la mitad de los pacientes evaluados.

IgE total en lágrima. Para su determinación se utilizó la prueba de lacrytest (Adiatec, Nantes, Francia), un inmunoensayo cromatográfico que utiliza anticuerpos monoclonales y policlonales contra la IgE en lágrimas con una sensibilidad del 91,5% y especificidad del 98,7%. En resumen, se colocó en contacto con el ojo del paciente una tira por 3 minutos o hasta que aparece un piloto que confirma el funcionamiento del test. La tira se puso en contacto con agua desmineralizada y se leyó el resultado a los 10 minutos (Figura 1). Los resultados se expresaron en kUI/l (unidades internacionales por litro). El test permite la cuantificación de la IgE, con valores desde 2,5 kUI/l, hasta 50 kUI/l.

FIGURA 1. MÉTODO DE APLICACIÓN DEL LACRYTEST (TOMADO DE ADIATEC).



HLA DR por inmunohistoquímica en citología de impresión. Para la citología de impresión se utilizaron membranas de biopore (Millicell-CM 0,4 μ m PICM 012550, Millipore Corp, Bedford, MA, USA). Las muestras de conjuntiva se tomaron bajo anestesia tópica con proparacaina al 5%. Las membranas se colocaron en la conjuntiva bulbar nasal y temporal, presionando suavemente por 5 segundos, se retiraron y fijaron inmediatamente en etanol al 96% hasta su uso. Las membranas se bloquearon con albúmina serica bovina (Sigma) por 40 minutos en agitación, se lavaron y se marcaron con anticuerpos anti-HLA-DR (clone LN-3, visionbiosystems, Novocastra, United Kingdom) y se procedió a utilizar Histostain-plus Kit Universal (Zymed

Laboratories), para inmunohistoquímica en tejidos, de acuerdo con las indicaciones de la casa comercial, sin realizar la recuperación de antígenos e intensificando los lavados con PBS (3 veces por 10 minutos) entre cada anticuerpo. Como control positivo se utilizó un corte histológico de linfoma y al control negativo no se le adicionó el anticuerpo primario, además se analizaron citologías de impresión de 4 ojos de sujetos sin ninguna anomalía como controles normales.

Los niveles de IgE total se analizaron por medio de comparación de las diferencias individuales, antes y después del tratamiento, prueba de t pareada,

RESULTADOS

Examen oftalmológico. El examen clínico de los pacientes antes del tratamiento mostró en la mayoría de los casos: prurito, ardor ocular, fotofobia, hiperemia ocular y presencia de papilas tarsales. Después del tratamiento con zaditen, no hubo signos ni síntomas en ninguno de los 12 pacientes estudiados.

IgE total en lágrimas. La concentración de IgE total en lágrimas en los pacientes con conjuntivitis alérgica antes del tratamiento fue superior a 5 kUI/l, con una media de 23,75 kUI/l. Después del trata-

miento con zaditen la mayoría de los pacientes disminuyeron la concentración de IgE total en lágrimas, 8 pacientes negativos y 2 pacientes disminuyeron a 5 Kul/l. En dos pacientes los niveles se mantuvieron iguales a la primera toma, uno con 5 kUI/l, el cual refirió no haber seguido el tratamiento con continuidad y otro con 50 kUI/l, este último dijo haber seguido el tratamiento adecuadamente, sin embargo manifestó sentir mejoría en la sintomatología, lo cual se comprobó en el examen clínico por ausencia de signos, igual que en todos los paciente. La media de las concentraciones de IgE después del tratamiento fue de 5,4 kUI/l (Tabla 1).

TABLA 1. NIVELES DE IgE TOTAL EN LAGRIMAS (kUI/L) EN PACIENTE CON CONJUNTIVITIS ALÉRGICA ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO CON ZADITEN.

	Niveles de IgE total en lagrimas antes del tratamiento (kUI/l)	Niveles de IgE total en lagrimas después del tratamiento (kUI/l)
*	50	50
	50	0
	50	0
	50	0
	20	0
	20	5
	20	5
	5	0
	5	0
	5	0
	5	0
	5	5
Media	23,75	5,41

* Paciente excluido del análisis

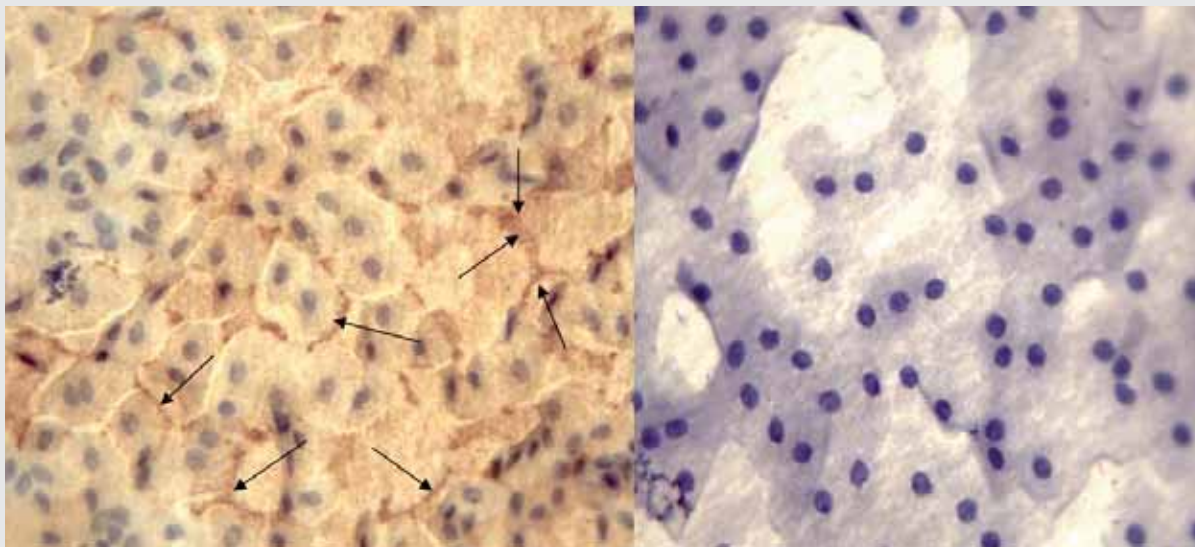
La concentración de IgE después del tratamiento fue significativamente diferente con respecto a la concentración de IgE antes del tratamiento con zaditen con una $t=3,30$ y un nivel de confianza del 0,01.

HLA DR en citología de impresión. No se detectó expresión de HLA DR en las células epiteliales de los pacientes con conjuntivitis después del tratamiento, ni en los sujetos normales, excepto en uno

de los pacientes analizados, el cual presentó 5kUI/l de IgE total en lágrimas antes y después del trata-

miento y que refirió no haber seguido el tratamiento de manera continua (Figura 2).

FIGURA 2. EXPRESIÓN DE HLA-DR EN MUESTRAS DE EPITELIO CONJUNTIVAL EN CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN DE PTES. CON CONJUNTIVITIS ALÉRGICA DESPUÉS DE 1 MES DE HO CON ZADITEN. A) MUESTRA POSITIVA PARA HLA-DR - NOTE EL PATRÓN DE MARCAS DE MEMBRANA - B) MUESTRA NEGATIVA PARA HLA-DR.



DISCUSIÓN

En la conjuntivitis alérgica los mastocitos juegan un papel central en las manifestaciones clínicas que se observan en los pacientes. Después del reto con el alérgeno, ocurre la degranulación de estas células, mediada por la IgE, que conlleva a la liberación de histamina y generación de prostaglandinas y leucotrienos que provocan la reacción clínica observada en la fase temprana, la liberación de citocinas y otros mediadores perpetúan los síntomas e inician la fase tardía a las 4 a 8 horas después del reto y persisten más de 24 horas (Abelson, 2000). Estos mediadores generados por los mastocitos en la mucosa inician la sintomatología pero también contribuyen a la cronicidad de la enfermedad ya que se

crea un micro-ambiente en la mucosa que favorece la activación y aumento de la respuesta inmunológica incluida la síntesis de IgE, aun en ausencia del estímulo (Smurthwaite, 2001).

Los resultados de muchas investigaciones prueban que la síntesis y regulación de IgE puede darse a nivel local debido a la generación de estos mediadores inflamatorios. En nuestro estudio se demostró que en los pacientes con conjuntivitis alérgica hay un aumento en la cantidad de IgE total en lágrimas y que estos niveles de IgE disminuyen significativamente después del tratamiento con fumarato de ketotifeno, un antihistaminico y estabilizador de la membrana del mastocito, el fármaco bloquea e inhibe la producción de otros mediado-

res inflamatorios controlando así la sintomatología; hasta ahora no se ha reportado que inhiba la síntesis de IgE ya que su acción no es directa sobre los LB ni en la inducción del cambio de clase a IgE, sin embargo, nosotros demostramos que después del tratamiento con zaditen los pacientes reducen significativamente la IgE en lágrimas, tal vez debido a su efecto sobre la respuesta inflamatoria a nivel local disminuyendo la concentración de mediadores inflamatorios en la conjuntiva, lo cual parece influir en la regulación de la síntesis de IgE a nivel local. El control de la respuesta inflamatoria por el zaditen se correlacionó directamente con la ausencia de sintomatología en los pacientes después del tratamiento y la ausencia de HLA-DR en las células epiteliales por citología de impresión. La expresión de antígenos de histocompatibilidad clase II es restringida a las células inmunológicas pero se ha demostrado que bajo cualquier agresión, la respuesta inflamatoria induce la expresión de HLA-DR en epitelio, siendo un marcador inflamatorio en estos tejidos. En esta investigación se demostró que después del tratamiento los pacientes no presentaron expresión de HLA-DR en las células epiteliales correlacionándose con la ausencia de sintomatología y disminución y/o ausencia de IgE en lágrimas. Solo uno de los pacientes, el cual no siguió adecuadamente el tratamiento expreso HLA-DR (Figura 2) y además sus niveles de IgE permanecieron en la misma concentración después del tratamiento. Estos resultados ratifican que el control de la sintomatología, debido al bloqueo e inhibición de los mediadores inflamatorios, a nivel local influyen directamente en la síntesis de IgE en la conjuntiva.

Solo uno de los pacientes que manifestó mejoría en la sintomatología y ausencia de HLA-DR permaneció con los mismos niveles de IgE (50 UI/l); es posible que en este paciente los niveles de IgE en lágrimas sean a expensas de la producción sistémica mas que de la síntesis local, ya que el tratamiento con

zaditen fue local, este no influye en la regulación y síntesis de la IgE sistémica. Más estudios como la determinación de IgE sérica y local simultáneamente en las conjuntivitis alérgicas, ayudarán a esclarecer en que condiciones la síntesis de IgE es principalmente a nivel sistémico o local o combinada, de manera que direcciona el tratamiento de este tipo de patologías que se hacen cada vez mas prevalente en la población.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al citólogo Edicson Alexander Juyo Melo por su valiosa colaboración en la realización y lectura de la citología de impresión.

BIBLIOGRAFÍA

- Abelson, M. «Allergic diseases of the eye». *W.B. Saunders company* 14. 15 (2000): 103-132.
- Abu El-Asrar, A.; Fatani, R.; Missotten, L. y Geboes, K. *Expression of CD23/CD21 and CD40/CD40 ligand in vernal keratoconjunctivitis*, 2001.
- Bhargava, A.; Jackson, W. y El-Defrawy, S. «Ocular allergic disease». *Drugs Today (Barc)* 34 11. (1998): 957 - 971.
- Bogacka, E. «Epidemiology of allergic eye diseases». *Pol Merkurisz Lek* 14. 84 (2003): 714.
- Cameron, L. et al. « $\text{Se}\Sigma$ and $\text{Se}\Sigma$ Switch Circles in Human Nasal Mucosa Following Ex Vivo Allergen Challenge: Evidence for Direct as Well as Sequential Class Switch Recombination». *The Journal of Immunology*, 2003, 171: 3816 - 3822.
- D'Arienzo, P.; Leonardi, A. y Bensch, G. «Randomized, double-masked, placebo-controlled comparison of the efficacy of emedastine difumarate 0,05% ophthalmic

- solution and ketotifen fumarate 0,025% ophthalmic solution in the human conjunctival allergen challenge model. *Clin ther* 24. 3. (2002): 409-416.
- Deng, Y.; Xie, Q.; Zhang, S.; Chen, J.; Yang, Q. y Bian R. Changes of 5-lipoxygenase pathway and proinflammatory mediators in cerebral cortex and lung tissue of sensitized rats» *Acta Pharmacol Sin* 26 3 (2005): 353 - 358.
- Fokkens, W.; Vinke, J. y KleinJan, A. «Local IgE production in the nasal mucosa: a review». *Am. J. Rhinol* 14. (2000): 299.
- Gomes, P.; Welch, D. y Abelson, M. «Evaluation of the efficacy and safety of Ketotifen in the allergen challenge model». *Eur J Ophthalmol* 13. 2 (2003): 28 - 33.
- Goblewska, A. «Clinical picture, diagnosis and therapy of allergic eye diseases». *Pol Merkuriusz Lek* 14. 84. (2003): 719 - 722.
- Gray, D. «Immunological memory». *Annu. Rev. Immunol* 11. (1993): 49.
- Horak, F. y Stubner, P. «Onset and duration of action of ketotifen 0,025% and Emedastine 4% in (SAC)». *Clin Drug Invest* 23. 5 (2000): 329 - 337.
- Irkec, M. y Bozkurt, B. «Epithelial cells in ocular allergy». *Curr Allergy Asthma Rep* 3. 4. (2003): 352-357.
- Jenmalm, M.; Van Snick, J.; Cormont, F. y Salman, B. «Allergen-induced Th1 and Th2 cytokine secretion in relation to specific allergen sensitization and atopic symptoms in children». *Clin Exp Allergy* 31. 10. (2001):1528 - 1535.
- Kawano, Y.; Yoshizawa, I.; Baba, M. y Noma, T. «Ketotifen inhibits allergen-specific T lymphocytes' responses by suppressing antigen presentation with concomitant decrease of HLA-DQ antigen on macrophages». *Asian Pac J Allergy Immunol* 14. 2. (1996): 69 - 79.
- KleinJan, A.; Vinke, J.; Severijnen, L. y Fokkens, W. «Local production and detection of (specific) IgE in nasal B cells and plasma cells of allergic rhinitis patients». *Eur. Respir. J.* 15. (2000): 491.
- Leonardi, A. et al. «Identification of local Th2 and Th0 lymphocytes in vernal conjunctivitis by cytokine flow cytometry». *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40. 12 (1999): 3036 - 3040.
- Paul, W. *Fundamental Immunology* (cuarta ed.) Lippincott-Raven publishers, 1999.
- Pepose, J.; Holland, G. y Wilhelmus, K. *Ocular infection and immunity*. Mosby, 1996.
- Schoch, C. «In vitro inhibition of human conjunctival mast-cell degranulation by ketotifen». *Ocul Pharmacol Ther* 19. 1 (2003): 75 - 81.
- Smurthwaite, L. et al. «Persistent IgE synthesis in the nasal mucosa of hay fever patients». *Eur. J. Immunol.* 31. (2001): 3422.
- Somos, S.; Schneider, I. y Farkas, B. «Immunoglobulins in tears and sera in patients with atopic dermatitis». *Allergy Asthma Proc* 22. 2 (2001): 81 - 86.
- Szabo, Z. et al. «Differences in the changes of allergen-specific IgE serum levels and the chemiluminescence of peripheral blood phagocytes in patients with allergic rhinoconjunctivitis during the ragweed season». *Immunol Lett* 74. 3 (2000): 201 - 205.
- Takhar, P. et al. «Allergen Drives Class Switching to IgE in the Nasal Mucosa in Allergic». *Rhinitis The Journal of Immunology* 174. (2005): 5024 - 5032.