

# Proteína catiónica eosinófila sérica en niños con inflamación alérgica y no alérgica

J.A. Gómez Carrasco<sup>1</sup>, A. Blanco Quirós<sup>2</sup>, E. Arranz Sanz<sup>3</sup>, J.J. Tellería Orriols<sup>2</sup>, S. Lapeña López de Armentia<sup>4</sup>, M. Alvarez Mon<sup>5</sup>

**Resumen.** La proteína catiónica del eosinófilo (ECP) sérica aumenta cuando hay una inflamación con activación de eosinófilos. La ECP se estudió en el suero de los grupos: I: 32 niños polínicos asintomáticos y sin medicación en junio y octubre, y II: 10 niños asmáticos ingresados en el hospital con crisis agudas. Como controles se utilizaron los grupos: III: 25 niños sospechosos de un proceso atópico en los que se descartó una enfermedad mediada por IgE; IV: 34 enfermos celíacos; V: 15 fibróticos quísticos, y VI: 48 niños normales. Los polínicos tenían una ECP aumentada en junio ( $21,2 \pm 27,7 \mu\text{g/L}$ ) comparado a los normales ( $p < 0,001$ ) y seguía alta en octubre ( $13,5 \pm 9,2 \mu\text{g/L}$ ,  $p < 0,005$ ). A pesar de no presentar síntomas, los enfermos con ECP muy alta ( $> 20,0 \mu\text{g/L}$ ) mostraron una correlación ECP/Peak-flow ( $p: 0,038$ ) de signo negativo; además, en estos enfermos también se correlacionaron negativamente la ECP con la mejoría del broncoespasmo de junio a octubre ( $p: 0,024$ ). En algunos pacientes con crisis asmáticas también había ECP elevada, pero los resultados fueron muy heterogéneos probablemente debido al tratamiento recibido. La ECP no dependió de la edad, ni del sexo. No se correlacionó con la IgE, pero en los pacientes no alérgicos lo hizo con la eosinofilia sanguínea ( $p < 0,005$ ). En la enfermedad celíaca, remitida o activa, y en la fibrosis quística no hallamos elevación de ECP. La ECP aumenta en el suero de algunos enfermos alérgicos o sospechosos de alergia, pero no en todos los casos. No aumenta en otras inflamaciones crónicas de las mucosas, como celíaca y fibrosis quística. Tiene una cierta correlación con el broncoespasmo y pudiera tener un valor predictivo de la evolución a corto plazo.

*An Esp Pediatr 1996;44:245-249.*

**Palabras clave:** Proteína catiónica del eosinófilo; ECP; Alergia; Asma.

## SERUM EOSINOPHIL CATIONIC PROTEIN (ECP) IN CHILDREN WITH ALLERGIC AND NON-ALLERGIC INFLAMMATION

**Abstract.** Serum eosinophil cationic protein (ECP) levels increase in inflammation processes with activation of eosinophils. We studied serum ECP in (I) 32 pollinic children without symptoms, in June and October and (II) 10 children with acute asthma crisis. As control groups we included (III) 25 children sent to the hospital with suspected allergic diseases in which an IgE mediated process could be ruled out; (IV) 34

coeliac patients; (V) 15 children with cystic fibrosis and (VI) 48 normal children. The pollinic children had increased figures of ECP in June ( $21.2 \pm 9.2 \mu\text{g/L}$ ) compared to normal controls ( $p < 0.001$ ) and they continued to have high levels in October ( $13.5 \pm 9.2 \mu\text{g/L}$ ,  $p < 0.05$ ). The patients with very high ECP ( $> 20 \mu\text{g/L}$ ), in spite of being asymptomatic, showed a negative correlation between ECP/peak-flow ( $p: 0.038$ ). In addition, in these patients the ECP also had a negative correlation with the recovery of bronchospasm from June to October ( $p: 0.024$ ). Some asthmatic children also had high ECP, but the results were too heterogeneous to draw any conclusions, possibly due to the drugs received. The ECP was independent of age and sex. It not correlated with serum IgE, nevertheless, in non-atopic patients it did correlate with blood eosinophilia ( $p < 0.005$ ). In coeliac and cystic fibrosis patients, we did not find ECP to be increased. In conclusion, serum ECP increases in some allergic patients and suspected allergy, but not in all cases. It does not increase in other chronic mucosal inflammations, such as coeliac or cystic fibrosis. It correlates with bronchospasms and would have some value in predicting short-term evolution.

**Key words.** Eosinophil cationic protein; ECP; Allergy; Asthma.

## Introducción

Hay ciertas alteraciones inflamatorias en las que participan los eosinófilos. Ello es bien conocido en las enfermedades atópicas, pero actualmente se estima que también ocurre en otros procesos no alérgicos<sup>(1)</sup>. Además, al eosinófilo se le atribuye una importante acción citotóxica, mediada por las proteínas básicas contenidas en sus gránulos<sup>(2)</sup>. La degranulación se debe a la activación de los eosinófilos, siendo sólo parcialmente conocidas las sustancias y factores que la provocan<sup>(4)</sup>.

La proteína catiónica del eosinófilo (ECP) es una glicoproteína muy básica, de cadena única, con un PM de unos 20.000 Dalton. Se localiza en la matriz de los gránulos y es específica de los eosinófilos, al contrario que otros factores que también están presentes en los neutrófilos. Presenta un alto contenido en zinc y de arginina. Al menos hay tres formas de ECP, que se diferencian por su grado de glicosilación<sup>(5)</sup>. Una vez liberada es capaz de matar parásitos como el *Schistosoma*, o destruir células epiteliales de la piel y mucosas. Otras acciones de la ECP son liberar la histamina de los mastocitos, estimular la secreción de moco, facilitar la fibrosis activando la síntesis de proteoglicanos, inhibir la proliferación de los linfocitos T, además es neurotóxica y activa la fibrinólisis<sup>(6)</sup>.

La determinación de ECP es un indicador fiable de la activación de los eosinófilos y además es una molécula estable a

<sup>1</sup> Servicio de Pediatría. Hospital Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares, Madrid. <sup>2</sup> Area de Pediatría. Facultad de Medicina de Valladolid. <sup>3</sup> Area de Inmunología. Facultad de Medicina de Valladolid. <sup>4</sup> Servicio de Pediatría. Hospital «Virgen Blanca». León. <sup>5</sup> Servicio de Inmunología. Hospital Príncipe de Asturias. Alcalá de Henares, Madrid.

Correspondencia: Prof. Alfredo Blanco Quirós.

S. Pediatría. Facultad de Medicina, C/ Ramón y Cajal, 5, 47005 Valladolid.

Recibido: Octubre 1994

Aceptado: Mayo 1995

temperatura ambiente<sup>(7)</sup>, por lo que cada vez se usa más en la valoración del asma y otras enfermedades<sup>(8)</sup>. En el presente trabajo investigamos las variaciones de ECP en el suero de niños con procesos alérgicos y no alérgicos para conocer mejor su utilidad diagnóstica y pronóstica.

## Pacientes

### Niños alérgicos

#### 1. Polínicos sin síntomas

Se incluyeron 32 niños de 7 a 13 años (media:  $9,8 \pm 2,0$  años); 9 eran niñas y 23 niños. En 16/32 casos había antecedentes de alergia en padres o hermanos. Todos los pacientes fueron estudiados durante el mes de junio y en 24/32 se repitió el estudio completo en octubre del mismo año. Ningún enfermo presentaba síntomas clínicos de asma en el momento del estudio de junio, aunque alguno tenía rinitis y/o conjuntivitis. En octubre todos estaban asintomáticos. Coincidiendo con la exploración alergológica se realizó una timpanometría a todos los enfermos siendo normal en todos, salvo en cuatro en el mes de junio y en siete en octubre, que sufrían alteraciones uni o bilaterales. La radiografía de tórax fue anormal sólo en tres que presentaron ligeros infiltrados intersticiales perihiliares.

El diagnóstico se hizo por la historia clínica, pruebas cutáneas (PRICK) y determinación de anticuerpos específicos de clase IgE (RAST). Los 32 casos tenían un PRICK positivo y un RAST de nivel 4 a gramíneas, salvo en un enfermo que fue de nivel 3; 22 asociaban una sensibilización a olivo con PRICK positivo y RAST de nivel 2 a 4. Aunque 7 pacientes tenían PRICK positivo a ácaros, epitelios de animales y/o hongos, sólo en uno sugirió expresividad clínica a estos alérgenos. Se consideró PRICK positivo cuando a los 15-20 minutos aparecía una pápula mayor que la del control de histamina diluida al 1/1.000. Las pápulas se valoraron haciendo media aritmética del diámetro mayor y menor.

Los síntomas polínicos recogidos en la anamnesis fueron: rinoconjuntivitis en los 32; asma en 11/32 y tos espasmódica en 14/32, que coincidió en los 11 asmáticos. Ninguno de los enfermos mostró dermatitis atópica en el momento de la consulta. Únicamente 4/32 presentaron antecedentes familiares de bronquitis en el primer año de vida. A pesar de la falta de expresividad clínica, en uno de los enfermos se descubrieron sibilancias en el momento de la auscultación, pero en los 31 restantes fue normal. Se determinó el Peak-flow durante la consulta con un aparato sencillo, calculando su percentil de acuerdo a la talla del niño<sup>(9)</sup>. Durante el mes de junio todos los enfermos presentaron un Peak-flow igual o menor del Pc50, mientras que en octubre esto sólo ocurrió en 13/25. Cuando se determinó la ECP ningún niño estaba recibiendo esteroides, antihistamínicos o broncodilatadores.

#### 2. Asmáticos en crisis

Este grupo comprendió 10 asmáticos, 5 niños y 5 niñas, de 2,5 a 14 años. Todos presentaron una crisis de severidad media

que precisó ingreso hospitalario, aunque no atención en UCI. Ninguno tenía dermatitis o cualquier otro tipo de lesión cutánea. Por el contrario, todos habían sufrido previamente varias crisis de asma. En el momento del ingreso todos los enfermos estaban tratados con broncodilatadores, principalmente salbutamol, y además, cuatro de ellos habían recibido ya corticoides: en dos por vía oral; uno, por vía parenteral y otro, por vía inhalatoria. Durante la evolución fue necesario añadir corticoides a otros tres pacientes. La radiografía de tórax era compatible con la normalidad, salvo un caso con intensos infiltrados intersticiales perihiliares. La determinación de ECP se realizó al ingreso y se repitió posteriormente, entre 1 y 5 días más tarde.

### Grupo control

Los niveles de ECP del grupo de enfermos polínicos fueron comparados a cuatro diferentes grupos controles que consistieron en: 1. Enfermos no alérgicos, pero con síntomas sugerentes. 2. Fibróticos quísticos con participación respiratoria. 3. Celíacos en fase de actividad y tratados. 4. Niños normales.

#### 1. Enfermos no alérgicos

Este grupo incluía 25 niños enviados a la consulta de alergología con síntomas de asma o rinoconjuntivitis de etiología alérgica, pero que se descartó con las pertinentes pruebas. En todos se hicieron al menos: pruebas cutáneas, RAST e IgE sérica. La edad media de estos enfermos fue de  $4,6 \pm 2,5$  años.

#### 2. Fibróticos quísticos

Este grupo consistió en 15 niños con fibrosis quística y diferentes grados de participación respiratoria. La edad media fue de  $7,6 \pm 3,0$  años. El diagnóstico se confirmó con la prueba de electrolitos en sudor, aunque en casos aislados también se hizo estudio genético. En 6 de ellos se aisló *Pseudomonas* en secreciones respiratorias. Ninguno tenía alteraciones alérgicas.

#### 3. Enfermos celíacos

Se incluyeron como ejemplo de inflamación crónica de la mucosa digestiva. Consistió en 34 enfermos, de los que 17 estaban en actividad y otros 17 llevaban una dieta exenta de gluten y se hallaban en remisión. El diagnóstico se basó en los anticuerpos antiendomiso positivos y la atrofia vellositaria. El estudio de ECP coincidió siempre con la realización de una biopsia intestinal que fue normal en los 17 pacientes remitidos y con una atrofia subtotal en los otros 17.

#### 4. Niños normales

La ECP se estudió en 48 niños normales de 7 meses a 13 años (media:  $7,1 \pm 6,2$ ). Eran niños a los que se hicieron controles analíticos, preoperatorios o de anteriores enfermedades ya superadas. Se descartaron los que presentaban entidades de carácter alérgico, inmunológico o infeccioso. También se eliminaron dos casos que presentaron cifras de ECP superiores al límite de confianza 95 del propio grupo normal, que resultó ser de  $14,4 \mu\text{g/L}$ .

Tabla I Niveles séricos de proteína catiónica eosinófila (ECP)

Grupo	n	ECP myg/L	Elevado*
<b>I. Polínicos</b>			
En junio	32	21,2 ± 27,7	Sí (p < 0,001)
En octubre	24	13,5 ± 9,2	Sí (p < 0,005)
<b>II. Asmáticos</b>			
Al inicio	10	18,3 ± 4,4	Sí (p < 0,001)
	10	23,2 ± 25,1	Sí (p < 0,001)
<b>III. Aparentemente alérgicos</b>			
Con asma	16	11,2 ± 11,4	Sí (p < 0,05)
Sin asma	9	5,7 ± 4,5	No
<b>IV. Celíacos</b>			
En actividad	17	3,4 ± 3,0	No
En remisión	17	3,3 ± 2,7	No
<b>V. Fibróticos quísticos</b>			
	15	1,4 ± 0,4	No
<b>VI. Niños normales</b>			
	48	6,2 ± 4,1	

\* Elevado respecto al grupo de niños normales.

## Métodos

Los anticuerpos IgE específicos se hicieron por el método comercial RAST-Phadebas (Pharmacia) expresando los resultados en niveles de 0 a 4, según los controles de la propia técnica.

La ECP se determinó por el sistema CAP (Pharmacia) realizando automáticamente las diferentes reacciones y lavados con el aparato Auto-CAP y leyendo los eluidos fluorescentes en un Fluoro Count 96. Los datos se valoraron con el programa informático Master CAP. Básicamente la técnica consiste en un carrier de celulosa que porta anticuerpo anti-ECP contra el que reacciona el suero del enfermo. Después de lavar reiteradamente se añade otro anticuerpo anti-ECP marcado con una enzima. Al incorporar un sustrato se produce fluorocromo en cantidad proporcional a la de complejo ECP-anti-ECP marcado. Los niveles de ECP de las muestras a estudiar se calculan en relación a cinco patrones comerciales (Pharmacia) que van desde 2 a 200 µg/L.

El cálculo estadístico se hizo con el programa StatView en un ordenador Macintosh, calculando las diferencias de los grupos con la del test de Mann-Whitney para muestras no apareadas y el de Wilcoxon para la evolución de los asmáticos. La correlación se hizo siempre con test de Spearman.

## Resultados

### 1. Niños normales

El valor medio de ECP en los niños normales fue de 6,2 ± 4,1 µg/L. Situamos el límite máximo de la normalidad en 14,4 µg/L que corresponde al percentil 97. Las tasas de ECP no se correlacionaron con la edad de los niños y tampoco hubo diferencias en función del sexo.

### 2. Niños polínicos

En este grupo de enfermos el nivel de ECP sérico fue de 21,2

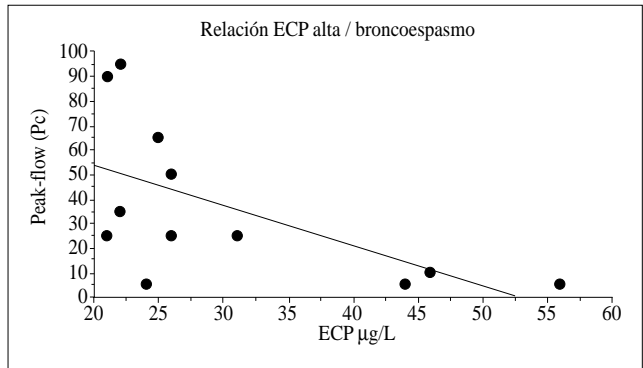


Figura 1. Cuando se estudiaron exclusivamente aquellos niños polínicos con ECP muy alta (> 20 µg/L) apareció una clara correlación de signo negativo con el broncoespasmo (p: 0,038, con el test de Spearman).

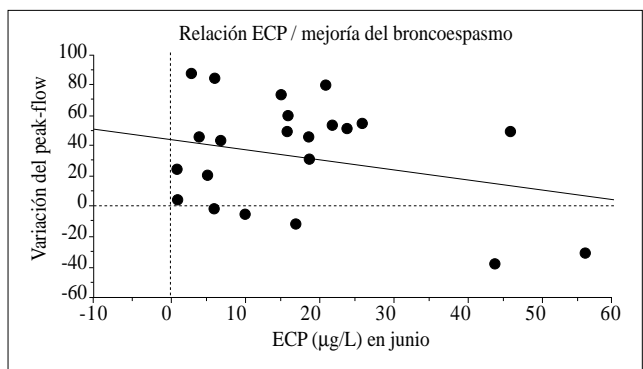
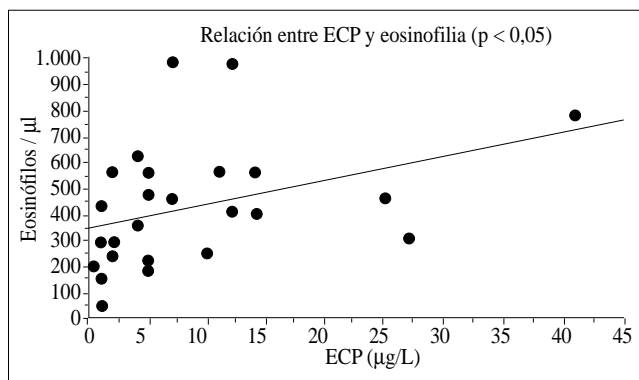


Figura 2. Al valorar únicamente el subgrupo de polínicos con ECP > 20 µg/L apareció una correlación negativa entre los niveles de ECP y el grado de mejoría del broncoespasmo desde junio a octubre. Parece sugerir un valor pronóstico para la ECP sérica cuando está elevada (p: 0,024, mediante el test de Spearman).

± 27,7 µg/L durante junio y descendió a 13,5 ± 9,2 µg/L en octubre, pero la disminución estacional no fue significativa (p: 0,141) usando tests para muestras apareadas. El número de enfermos con valores elevados fue 16/32 (50%) en junio y 7/24 (29,1%) en octubre (tabla I).

La IgE sérica se mantuvo elevada, sin variación estacional, con medias de 545 ± 453 U/ml en junio y 645 ± 638 U/ml en octubre. De las 52 determinaciones realizadas, sólo tres sueros, dos en junio y uno en octubre, tenían tasas de IgE normales para su edad. La IgE y la ECP sérica no se correlacionaron.

Hallamos una tendencia negativa entre la ECP y el Peak-flow, siendo más alta la ECP cuanto más bajo era el Peak-flow. Esta correlación no llegó a ser significativa para el grupo completo de enfermos. Sin embargo, alcanzó significación estadística (p: 0,038) cuando valoramos sólo los casos con ECP alta (≥20 µg/L) (Fig. 1). Además en este subgrupo, con ECP muy alta en el mes de junio, había una correlación de signo negativo entre los niveles de ECP y la mejoría del Peak-flow desde junio a octubre (p: 0,024) (Fig. 2). Estos resultados sugieren un cierto valor pronóstico.



**Figura 3.** En los enfermos no alérgicos se halló una significativa relación entre las cifras de ECP y la eosinofilia sanguínea ( $p < 0,005$ , mediante el test de Spearman).

### 3. Niños con crisis de asma

Al ingreso los valores medios de ECP fueron  $18,3 \pm 14,4$   $\mu\text{g/L}$ , cifra alta respecto a los controles ( $p < 0,01$ ) y siguió siendo alta al hacer la segunda determinación ( $p < 0,01$ ). No hubo diferencia significativa entre los datos apareados de la primera y segunda determinación y además en 5/10, en lugar de disminuir como se esperaba, todavía se incrementó más. A ello contribuyó que la segunda determinación fue muy precoz, en 7/10 antes de transcurridas 48 horas, además al ingreso ya recibían tratamiento todos, que en cuatro pacientes era corticoideo.

### 4. Niños aparentemente alérgicos

En estos 25 casos la cifra de ECP fue de  $9,2 \pm 9,8$   $\mu\text{g/L}$  y sólo 4/25 (16%) tenían valores elevados cuando se estudiaron. La IgE en el suero fue de  $94 \pm 156$  U/ml con tasas altas en sólo 5/25 niños. En este grupo se investigó la relación entre la ECP y la cifra absoluta de eosinófilos en sangre, mediante el test de Spearman con resultado significativo ( $p < 0,05$ ) (Fig. 3).

### 5. Celíacos y fibróticos quísticos

La ECP fue normal en todos los enfermos estudiados. No hubo diferencia entre el grupo de celíacos en remisión y en actividad, como tampoco en los fibróticos con o sin participación respiratoria. No parece que la inflamación pulmonar de estos procesos se refleje sobre la ECP sérica.

## Discusión

Los alérgicos al polen frecuentemente presentan anomalías subclínicas durante la polinosis que se descubren sólo en la auscultación y en la exploración funcional pulmonar. Esta situación puede ocurrir, incluso, en pacientes con rinoconjuntivitis que nunca padecieron asma. Por ello, no es raro que los polínicos mostraran valores altos de ECP en el mes de junio. La duración de estas anomalías es variable y no se circunscribe al período de polinización, algunos mantienen la hiperreactividad bronquial de forma permanente. En siete casos había sensibilización a otros alérgenos sin repercusión clínica aparente; sin embargo, no des-

cartamos que estos alérgenos contribuyesen a elevar la ECP en el mes de octubre, que todavía estaba alta en casi el 30% de los casos. No obstante, entre los enfermos con ECP elevada en octubre los había con sensibilizaciones asociadas, pero también otros exclusivamente polínicos.

La relación entre la ECP y la hiperreactividad bronquial fue descrita por otros autores<sup>(10)</sup>; se demostró en condiciones basales y tras provocación con varios estímulos: alérgenos, histamina o ejercicio<sup>(11,12)</sup>. La ECP es más alta cuanto más bajo es el Peak-flow. El patrón de respuesta de la ECP es variable o al menos han sido descritos dos diferentes. Cuando hay reacción broncoconstrictora tardía se mantiene, pero en caso contrario puede descender a los 60 minutos por debajo de los valores basales<sup>(13,14)</sup>. Sin embargo, es llamativo que las provocaciones con metacolina no modifican la ECP, debido a que este fármaco sólo produce broncoespasmo, sin componente inflamatorio eosinófilo<sup>(15)</sup>.

La ECP se ha estudiado en secreciones y en líquido de lavado broncoalveolar (LBA), demostrándose una buena correlación con los niveles séricos<sup>(16)</sup>. Esto sugiere una activación eosinófila local, pero también sistémica. Obviamente la determinación en suero es mucho más cómoda de realizar, especialmente en el niño, por lo que es una analítica cada vez más extendida<sup>(17-19)</sup>. Sin embargo, el estudio en LBA tiene alguna ventaja porque refleja más directamente lo ocurrido en la mucosa. Al comenzar el tratamiento, sobre todo con esteroides, los niveles de ECP sérico bajan rápidamente, aunque los síntomas persistan; por el contrario, se mantienen altos en las secreciones hasta la mejoría clínica<sup>(20)</sup>. Parece que el tratamiento desactiva antes los eosinófilos sistémicos que los locales.

En los enfermos alérgicos la ECP fue más alta que en los niños que parecían alérgicos, pero que no lo fueron. Sin embargo, en este grupo, cuando lo que sufrían era asma, también estaba aumentada la ECP respecto a los controles. En ningún grupo hubo correlación entre la ECP y la IgE sérica. Estos datos parecen indicar que la alergia mediada por IgE facilita la inflamación eosinófila, pero que también puede ocurrir en su ausencia. Asimismo, hay alérgicos con ECP normal.

De acuerdo a nuestros datos, Hay dos poblaciones distintas de enfermos, una con broncoconstricción y ECP alta y otra que a pesar de la broncoconstricción mantiene la ECP sérica normal. Sin embargo, no hay ninguna característica etiológica, clínica ni terapéutica que diferencie los dos grupos, aunque sería interesante conocer la evolución a largo plazo de estos enfermos.

Los resultados del grupo alérgico se compararon a los de otras enfermedades inflamatorias, pero ni en los celíacos ni en los fibróticos quísticos encontramos aumento de ECP sérica. En la celíaca hay indicios del papel efector de los eosinófilos en la lesión yeyunal<sup>(21,22)</sup>. Se hallaron depósitos de ECP en la lámina propia intestinal<sup>(23)</sup> y también un aumento de ECP en secreción yeyunal, pero era una elevación local y aguda que alcanzaba su máximo a los 60 minutos de la administración de la gliadina<sup>(22)</sup>. También se describieron depósitos de proteína eosinófila básica<sup>(14)</sup>. En ningún artículo hay datos de ECP en suero, ni tampoco se sabe si la elevación yeyunal se mantiene en una

situación crónica de administración mantenida de gluten. Sin embargo, es conocido que los eosinófilos sanguíneos disminuyen durante la provocación con gluten<sup>(25)</sup>.

En la fibrosis quística con participación pulmonar, a pesar de la intensa inflamación crónica broncopulmonar, no se elevó la ECP sérica. Esto parece indicar que los eosinófilos no participan en las lesiones y que la inflamación eosinófila del asma no es común a todas las alteraciones bronquiales.

En los niños con crisis aguda de asma los datos de ECP fueron muy heterogéneos, con cifras muy altas en unos casos y en otros normales. Algunos enfermos sufrieron un aumento de ECP en el control posterior y en otros disminuyó. La variada terapéutica, en drogas y vías de administración, que presentaban hace que sea prácticamente imposible obtener consecuencias de estos resultados.

Encontramos correlación entre la ECP y la broncoconstricción basal pero sólo fue significativa si sólo incluíamos a los enfermos con una ECP muy alta (> 20 µg/L). Creemos que el hallazgo más interesante es que los niños con ECP elevada en la primavera fueron los que menos mejoraron su broncoconstricción en el otoño, incluso empeoraron. Por consiguiente, el aumento de ECP sérica en niños asintomáticos, podría tener valor pronóstico y sería interesante confirmarlo en posteriores estudios.

## Bibliografía

- 1 Weller PF. The immunobiology of eosinophils. *N Engl J Med* 1991;1110-1119.
- 2 Bosch JA, San José A. El eosinófilo. Célula proinflamatoria y citotóxica. *Med Clin* 1982;98:175-177.
- 3 Chivato Pérez T, Laguna Martínez R. Papel actual del eosinófilo en la patogenia del asma bronquial: métodos de monitorización clínica. *Inflamación* 1993;4:155-163.
- 4 Pry CJF, Kay B, Gleich GJ. Eosinophils 1992. *Immunol Today* 1992;13:384-387.
- 5 Kapp A. The role of eosinophils in the pathogenesis of atopic dermatitis - eosinophils granule proteins as markers of disease activity. *Allergy* 1993;48:1-5.
- 6 Venge P. Eosinophils and neutrophil granulocytes. *Allergy* 1994;48:39-47.
- 7 Wantke F, Demmer CM, Gotz M, Jarisch R. Changes in serum ECP levels after storage at room temperature. *Allergy* 1994;49:483-484.
- 8 Ahlstedt S, Boman G, Enander, Johansson SGO, Peterson C, Venge P. In vitro monitoring of asthma. *Allergy* 1983;48(Suppl 17):12-164.
- 9 Sanz Ortega J, Martorell A, Alvarez A y cols. Estandarización de la espirometría forzada. Análisis de la función pulmonar basal (PEP, FEF25-75, FEF50) en una población infantil de referencia. *An Esp Pediatr* 1990;32:499-506.
- 10 Rak S, Lowhagen O, Venge P. The effect of immunotherapy on bronchial hyperresponsiveness and eosinophil cationic protein in pollen-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:470-480.
- 11 Venge P, Henriksen J, Dahl R. Eosinophils in exercise-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:699-704.
- 12 Tsuda H, Tsuda A, Ito M, Nambu M, Mayumi M, Mikawa H. Roles of eosinophils and catecholamines in pathophysiology of exercise-induced asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 1993;4:2221-2225.
- 13 Dahl R, Venge P, Olsson I. Variations of blood eosinophils and eosinophil cationic protein in serum of patients with bronchial asthma. *Allergy* 1978;33:211-215.
- 14 Venge P. Soluble markers of allergic inflammation. *Allergy* 1994;49:1-8.
- 15 Venge P, Dahl R, Peterson CGB. Eosinophil granule proteins in serum after allergen challenge of asthmatic patients and the effects of anti-asthmatic medication. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1988;87:306-312.
- 16 Adelroth E, Rosenhall L, Johansson SA, Linden M, Venge P. Inflammatory cells and eosinophilic activity in asthmatics investigated by bronchoalveolar lavage; the effects of antiasthmatic treatment with budesonide or terbutaline. *Am Rev Resp Dis* 1990;142:91-99.
- 17 Dahl R. Monitoring bronchial asthma in the blood. *Allergy* 1993;48:77-80.
- 18 Busse WW, Sedgwick JB. Eosinophils in asthma. *Ann Allergy* 1992;68:286-289.
- 19 Corrigan CJ, Kay AB. T cells and eosinophils in the pathogenesis of asthma. *Immunol Today* 1992;13:501-507.
- 20 Motojima S, Akutsu I, Fukuda T, Makino S, Takatsu K. Clinical significance of measuring levels of sputum and serum ECP and serum IL-5 in bronchial asthma. *Allergy* 1993;48:98-106.
- 21 Colombel JF, Torpier G, Janin A, Klein O, Cortot A, Capron M. Activated eosinophils in adult coeliac disease: evidence for a local release of major basic protein. *Gut* 1992;33:1190-1194.
- 22 Lavo B, Knutson L, Loof L, Odlin B, Venge P, Hallgren R. Challenge with gliadin induces eosinophil and mast cell activation in the jejunum of patients with coeliac disease. *Am J Med* 1989;87:655-660.
- 23 Hallgren R, Colombel JF, Dahl R, Fredens K, Kruse A, Jacobsen NO, Venge P. Neutrophil and eosinophil involvement of the small bowel in patients with coeliac disease and Crohn's disease: Studies on the secretion rate and immunohistochemical localization of granulocyte granule constituents. *Am J Med* 1989;86:56-64.
- 24 Talley NJ, Kephart GM, McGovern TW, Carpenter HA, Gleich GJ. Deposition of eosinophil granule major basic protein in eosinophilic gastroenteritis and coeliac disease. *Gastroenterology* 1992;103:137-145.
- 25 Horvath K, Nagy L, Horn G, Simon K, Csiszar K, Bodanszky H. Intestinal mast cells and neutrophil chemotactic activity of serum following a single challenge with gluten in coeliac children on a gluten-

free diet. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989;**9**:276-280.