



Influence of serum levels of vitamin D on IgE response in schoolchildren with asthma in poor communities

Influencia de los niveles séricos de vitamina D sobre la respuesta IgE en niños escolares con asma en comunidades pobres

Eduardo Egea,¹ Gloria Garavito,¹ Luis Fang,² Dary Luz Mendoza,³ José Miguel Escamilla,⁴ Elsie De Los Ríos,⁵ Rodolfo Dennis,⁶ Mario Sánchez-Borges⁷

Abstract

Background: Asthma is a common disease in the world and vitamin D (Vit-D) has been associated with the presence and severity of this disease.

Objective: To establish the association between levels of Vit-D and IgE response in schoolchildren with asthma living in four cities in Colombia.

Methods: Case-control study in 1340 schoolchildren (687 asthmatic and 653 controls) from communities in extreme poverty in Barranquilla, Cartagena, Santa Marta, and Montería. Serum concentrations of Vit-D, total IgE, and anti-Dermatophagoides farinae, Periplaneta americana, and Ascaris lumbricoides (AL) specific IgE were measured.

Results: Controls reported higher concentrations of Vit-D [61.9 ± 28.4 ng/mL] than cases [53 ± 23.3 ng / mL] ($p < 0.05$). Total IgE was higher in cases ($p < 0.05$). Only anti-AL IgE showed a clear difference: in controls, optical density was 0.27 ± 0.25 ; in cases, 0.22 ± 0.24 ($p < 0.05$). Vit-D showed differences between cases and controls in each population.

Conclusions: An association could not be demonstrated between Vit-D deficiency and asthma, as total IgE was elevated in patients and controls. The results suggest that Vit-D influences the specific IgE response in poor asthmatic children in areas endemic for helminthiasis.

Keywords: Vitamin D; Allergens; IgE; Pediatric Asthma; School; Ascaris lumbricoides

Este artículo debe citarse como:

Egea E, Garavito G, Fang L, Mendoza DL, Escamilla JM, De Los Ríos E, Dennis R, Sánchez-Borges M. Influencia de los niveles séricos de vitamina D sobre la respuesta IgE en niños escolares con asma en comunidades pobres. Rev Alerg Mex. 2016;63(3) :252-269

¹Universidad del Norte, División Ciencias de la Salud, Grupo de Investigación en Inmunología y Biología Molecular. Barranquilla, Colombia • ²Corporación Universitaria Rafael Núñez, Programa de Odontología. Cartagena, Colombia • ³Universidad del Atlántico, Facultad de Ciencias Básicas, Laboratorio de Bioquímica de Macromoléculas. Barranquilla, Colombia • ⁴Universidad de Cartagena, Facultad de Medicina. Cartagena, Colombia • ⁵Clínica Saima, Unidad de

Alergología. Montería, Colombia • ⁶Fundación Cardioinfantil, Bogotá, Colombia • ⁷Centro Médico Docente La Trinidad, Departamento de Alergia e Inmunología Clínica. Caracas, Venezuela

Correspondencia: Eduardo Egea.

eegea@uninorte.edu.co

Recibido: 2016-04-04

Aceptado: 2016-06-08



Resumen

Antecedentes: El asma es una enfermedad frecuente en el mundo y la vitamina D (Vit-D) se ha asociado con la presencia y severidad de esta enfermedad.

Objetivo: Establecer la asociación entre los niveles de Vit-D y la respuesta IgE en escolares con asma residentes de cuatro ciudades colombianas.

Métodos: Estudio de casos y controles en 1340 escolares (687 asmáticos y 653 controles) de comunidades en extrema pobreza de Barranquilla, Cartagena, Santa Marta y Montería. Se midieron las concentraciones séricas de Vit-D, IgE total e IgE específica anti *Dermatofagoides farinae*, *Periplaneta americana* y *Ascaris lumbricoides* (AL).

Resultados: Los controles reportaron concentraciones mayores de Vit-D [61.9 ± 28.4 ng/mL] que los casos [53 ± 23.3 ng/mL] ($p < 0.05$). La IgE total fue mayor en los casos ($p < 0.05$). Solo IgE anti-AL mostró una diferencia clara: controles, densidad óptica 0.27 ± 0.25 ; casos 0.22 ± 0.24 ($p < 0.05$). La Vit-D presentó diferencias entre casos y controles en cada población.

Conclusiones: No se pudo demostrar la asociación entre deficiencia de Vit-D y asma, dado que la IgE total estuvo elevada en los pacientes y en los controles. Los resultados sugieren que la Vit-D influye en la respuesta IgE específica en niños asmáticos pobres en zonas endémicas para helmintiasis.

Palabras clave: Vitamina D; IgE alérgicos; Asma pediátrica; Niño; *Ascaris lumbricoides*

Abreviaturas y siglas

25[OH] D3, 25-hidroxivitamina D3

AL, *Ascaris lumbricoides*

DE, desviación estándar

DO, densidad óptica

IgE, inmunoglobulina E

IOM, Institute of Medicine

ISAAC, The International Study of Asthma and Allergies in Childhood

MgCl₂, cloruro de magnesio

NaN₃, azida de sodio

UV, ultraviolet

Vit-D, vitamina D

Introducción

Las enfermedades alérgicas se han convertido en un problema de salud pública a nivel mundial. En Colombia, país ubicado en el cinturón del trópico, la prevalencia de estas enfermedades ha aumentado de manera relevante con un comportamiento epidemiológico acorde a lo descrito en la literatura.^{1,2}

El asma bronquial es una de las enfermedades crónicas más frecuentes a nivel mundial y afecta a 300 millones de personas aproximadamente.³ Los mecanismos que conducen a su eventual desarrollo

con diferentes expresiones clínicas son complejos e interactivos.⁴ La exposición a infecciones como la helmintiasis durante los primeros años de vida ha emergido como factor importante que modifica el riesgo de desarrollar asma en una persona genéticamente susceptible.^{5,6}

La relación entre la infección por helmintos, en especial *Ascaris lumbricoides* (AL), y atopia y asma, es motivo de controversia. La helmintiasis ha sido asociada con la reducción del riesgo para atopia y/o el desencadenamiento de los síntomas de asma en

áreas con alta prevalencia de infecciones parasíticas, pero con riesgo incrementado para el desarrollo de atopia y asma en áreas con baja prevalencia de estas parasitosis.⁷

Por otra parte, los niveles séricos de vitamina D (Vit-D) se han asociado con la severidad del asma a través de su agonista más importante 1,25, Dihidroxitamina D3, que inmunomodula y regula la activación, proliferación, diferenciación y producción de citocinas en diferentes subpoblaciones de células inmunocompetentes CD4+ Th2.⁸ Se ha demostrado que la administración de Vit-D en el modelo murino protege de un proceso inflamatorio con infiltración eosinofílica pulmonar, altera los perfiles de citocinas, los niveles de IgE y los patrones de eosinofilia en las vías aéreas. Esto último se observa en la etapa de sensibilización por alérgenos, lo que sugiere que esta hormona puede tener influencia en el desarrollo de las enfermedades alérgicas y en especial en el asma bronquial.⁹

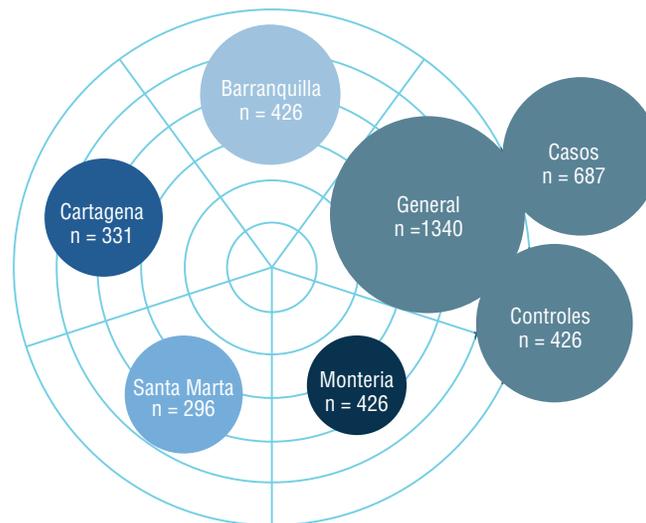
Poco o nada se conoce acerca de la influencia de los niveles séricos de la vitamina D, con la severidad del asma en poblaciones vulnerables y marginadas socioeconómicamente en el litoral Ca-

ribe, en especial en la costa colombiana. Existen estudios que evidencian la respuesta IgE específica anti-AL en grupos mulatos de Cartagena.¹⁰⁻¹² Sin embargo, no se cuenta con datos acerca de cómo los niveles séricos de vitamina D y la respuesta IgE anti-AL influyen en el asma alérgica pediátrica en el Caribe colombiano. El propósito de este estudio fue establecer la asociación entre los niveles de 25-hidroxivitamina D3 (25(OH) D3) y la respuesta IgE Total e IgE alérgica específica anti-*Blomia tropicalis*, anti-*Dermatofagoides farinae*, anti-*Periplaneta americana* y anti-*Ascaris lumbricoides* con el asma alérgica, en escolares residentes en asentamientos de comunidades pobres y marginadas, ubicadas en cuatro ciudades del Caribe colombiano.

Métodos

Este es un estudio con un diseño de casos y controles, que involucró 1340 escolares; entre ellos 687 asmáticos y 653 controles sanos, procedentes de asentamientos marginados de las cuatro principales ciudades de la Costa Caribe colombiana: Barranquilla, Cartagena, Santa Marta y Montería (Figura 1).

Figura 1. Descripción de la población estudiada. Se analizaron 1340 escolares procedentes de asentamientos marginados de cuatro ciudades ubicadas en la costa caribe colombiana.



Características de la población de estudio

El diseño de este proyecto, el método y los criterios de selección de los participantes, se han descrito en trabajos previos.^{1,2} En Colombia, la población se encuentra estratificada socioeconómicamente entre los estratos 1 a 6, acorde a sus niveles de pobreza. La mayoría de la población en áreas urbanas pertenecen a los estratos 1, 2 y 3. Los niños asentados en estos se caracterizan por vivir en hacinamiento (tres o más personas por dormitorio); con ausencia o limitación del acceso a los servicios públicos: agua, electricidad y saneamiento ambiental; así como bajo nivel y alta deserción escolar.¹³ Todos los participantes incluidos en el presente estudio pertenecían a los estratos 1 a 3.

Fenotipos clínicos de los escolares asmáticos

Los escolares y/o sus padres participantes en este estudio se tamizaron mediante un cuestionario adaptado y modificado del estudio ISAAC.¹⁴ En este cuestionario el sujeto-caso se definió como aquel niño que confirmó síntomas y signos de asma en los últimos 12 meses antes de su ingreso al estudio, historia de crisis asmática diagnosticada por un médico y antecedentes de asma y/o rinitis del niño y/o sus padres. Todos los sujetos que cumplieron con estos criterios fueron evaluados clínicamente por un médico del equipo de investigadores para confirmar el diagnóstico de asma.

Los controles se definieron como aquellos individuos clínicamente normales sin antecedentes de asma, rinitis y/o cualquier otra enfermedad alérgica en ellos o sus padres; sin reporte de diagnóstico clínico de asma, rinitis alérgica y dermatitis atópica. Todos los sujetos del estudio habitaban en zonas deprimidas, bajo condiciones socioeconómicas similares y evidenciaron los índices gubernamentales más precarios de pobreza en Colombia, en cada una de las cuatro ciudades involucradas.¹³

Muestras biológicas

Con previo asentimiento y consentimiento infor-

mado, a todos los sujetos se les tomaron muestras de sangre periférica para la obtención de suero y plasma. Se tomaron un total de 10 ml de sangre en tubos Vacutainer (Beckton Dickinson & Company, Franklin Lakes, Estados Unidos) para la cuantificación de vitamina D y los títulos de IgE total y alérgico específica. Todas y cada una de las muestras se tomaron en ayunas y antes de las 7 a.m. Ninguno de los pacientes había recibido vitamina D durante los últimos 6 meses previos a su ingreso al estudio. Inmediatamente después de la recolección, las muestras fueron envueltas en papel de aluminio (para evitar el acceso de la luz UV) y se almacenaron a -20 °C hasta su posterior análisis.

Consideraciones éticas

El presente estudio contó con la aprobación del Comité de Ética de la División de Ciencias de la salud de la Universidad del Norte en Barranquilla, Colombia. Todos los consentimientos y asentimientos se guardaron y permanecen bajo custodia en los archivos del proyecto.

Niveles séricos de vitamina D

Los niveles séricos de 25-hidroxivitamina D se midieron mediante la técnica de inmunoensayo enzimático (Immunodiagnosis Systems Boldon, Tyne and Wear, UK). Las concentraciones fueron clasificadas según el punto de corte establecidos por el *Institute of Medicine* (IOM), donde <10 ng/ml de 25(OH)D corresponde a niveles deficientes; 10 a < 30 ng/mL como vitamina D, insuficiente; ≥ 30 a <100 ng/ml como vitamina D, suficiente; y ≥ 100 ng/ml como posible intoxicación de vitamina D.¹⁵

Niveles séricos de IgE Total e IgE específicas

A todos los participantes se les estudiaron los niveles de IgE total y anticuerpos IgE específicos de *Ascaris lumbricoides*. A los integrantes de un subgrupo de 323 casos (47 %) y 280 (42.8 %) controles seleccionados aleatoriamente se les midieron los títulos de anticuerpos IgE específicos de *Blomia tropicalis* y *Dermatofagoides farinae*. Mientras que

la cuantificación de IgE anti-*Periplaneta americana* se realizó en un subgrupo de 306 (44.5 %) casos y 279 controles (42.7 %) también seleccionados aleatoriamente.

Los niveles séricos de IgE total se cuantificaron mediante un kit comercial (Monobind Inc.) y la técnica de inmunoensayo enzimático (Phadia UniCAP System, Pharmacia Upjohn, Uppsala, Sweden). Estos datos se clasificaron en niveles normales y elevados a partir de las concentraciones de referencia según la edad del individuo, así: de 0-3 años (<10 UI/ml); de 3-4 años (<25 UI/ml); de 4-7 años (<50 UI/ml); y de 7-14 años (<100 UI/ml).

La detección de IgE anti-*Dermatophagoides pteronyssinus*, IgE anti-*Blomia tropicalis* e IgE anti-*Periplaneta americana* se realizó mediante la tecnología ImmunoCAP (Phadia UniCAP System, Pharmacia Upjohn, Uppsala, Sweden). Esta cuantificación se realizó en subgrupos representativos de casos y controles, los cuales fueron escogidos aleatoriamente. Las concentraciones de IgE específica, se clasificaron según los criterios de Phadia ImmunoCAP, donde los valores se expresan en kUA/l. Valores >0.35 kUA/l representan un aumento progresivo en la concentración relativa de anticuerpos específicos al alérgeno. Los valores <0.35 kUA/l representan niveles ausentes o no detectables de anticuerpos. La categorización de los anticuerpos específicos se clasificó como sigue: 0 - < 0.35 kUA/l ausente o no detectable; 0.35 - < 0.70 kUA/l bajo; 0.70 - < 3.50 kUA/l moderado; 3.50 - < 17.5 kUA/l alto; 17.5 - < 50.0 kUA/l muy alto I; 50.0 - < 100 kUA/l muy alto II; 100 kUA/l muy alto III.

Determinación de anticuerpos IgE anti-*Ascaris lumbricoides*

La prueba se realizó mediante un ensayo de ELISA indirecto casero, y se usó como antígeno un extracto de cuerpo entero de AL previamente producido por el grupo de investigación.¹⁶ En breve, el extracto de AL se disolvió en tampón carbonato/bicarbonato de sodio 0.2 M (pH 9.2), hasta una concentración final de proteínas de 50 µg/ml. En

una placa de microtitulación de 96 pozos (Nunc-Immuno™MicroWell™ de Thermo Scientific®) se adsorbieron 5 µg de proteína por pozo, correspondiente a 100 µl del extracto diluido. La adsorción se llevó a cabo durante 16 horas a temperatura ambiente; los pozos se bloquearon durante 3 horas con solución de bloqueo (PBS1X, BSA 0.02%, NaN₃ 0.02%). Los pozos se incubaron por 16 h con 100 µL de una dilución 1/5 de los sueros de los sujetos involucrados en el estudio.

Enseguida se adicionó a cada pozo 100 µl de un segundo anticuerpo, anti-IgE conjugada a la enzima fosfatasa alcalina (Sigma®); IgG de origen caprino diluido 1/2000 encubándose la placa en cámara húmeda por 2 horas. Posteriormente se adicionó a cada pozo 100 µl del sustrato para la enzima fosfatasa alcalina, el p-nitrofenil fosfato disuelto en solución de dietanolamina al 10% v/v, MgCl₂ 0.5 mM (1 mg/ml). La reacción se leyó con una longitud de 405 nm, mediante el uso del Software Gen5™ Data Analysis (BioTek® Instruments, Inc). Para la discriminación diagnóstica de esta prueba se estableció un punto de corte, el cual se calculó sumando el doble de la desviación estándar al promedio de los valores de absorbancia de las muestras negativas. Para este estudio, el punto de corte fue una densidad óptica (DO) de 0.26 con una desviación estándar de 0.076

Análisis estadístico

La asociación entre niveles séricos de vitamina D, IgE total e IgE alérgeno-específicas con asma se estimó a partir de la diferencia entre los niveles y títulos entre niños asmáticos y controles en los cuatro grupos poblacionales mediante la prueba de U de Mann-Whitney (comparación entre dos grupos) y Kruskal-Wallis (comparación entre 3 o más grupos). Por su parte, la distribución de estas variables no mostró normalidad según la prueba de Shapiro-Wilk, por lo tanto se analizaron como variables no paramétricas. Se analizó la asociación de estas variables (categorizadas) con la enfermedad. Mediante tablas de contingencia y mediante la aplicación de pruebas de

χ^2 con corrección por continuidad de Yate o prueba exacta de Fisher, según las circunstancias.

Se estimó el grado de asociación entre la vitamina D, IgE total e IgE alérgeno-específicas mediante la estimación del coeficiente de correlación de Spearman. También se diseñaron modelos de regresión lineal multivariada con el método de pasos sucesivos, en los que las variables de estudio (vitamina D e IgE alérgeno-específicas) dan respuesta a los niveles de IgE total.

Todos los análisis estadísticos fueron realizados mediante el software estadístico SPSS v20 (IBM® SPSS® Statistics 20; IBM Corp., USA). La significancia estadística fue interpretada como $p < 0.05$.

Resultados

La muestra analizada estuvo constituida por 1340 escolares que reportaron un promedio de edad de 8.72 años (DE: 2.39). El 54.8 % (n=374) son del género masculino y el 45.2 % (n=309) restante corresponde al género femenino. La descripción socio-

demográfica según las cuatro ciudades se muestra en el Cuadro 1.

Concentraciones séricas de vitamina D, IgE total e IgE alérgeno-específicas

En la muestra estudiada se observó que los controles reportaron concentraciones significativamente superiores de vitamina D (61.9 ± 28.4 ng/ml) en relación con los niños con asma alérgico (53 ± 23.3 ng/ml) ($p < 0.05$). Sin embargo, estos promedios corresponden a concentraciones de vitamina D dentro de los niveles suficientes. Por otra parte, la IgE total se mostró significativamente elevada en los casos (392.1 ± 306.8 UI/ml) a diferencia de los controles (335.8 ± 273.1 UI/ml) ($p < 0.05$). En cuanto a la respuesta IgE alérgeno-específica, solo los anticuerpos IgE anti-*Ascaris lumbricoides* mostraron una diferencia clara, el grupo control reportó una absorbancia promedio de 0.27 ± 0.25 en comparación a los casos cuya absorbancia fue significativamente menor con una densidad óptica de 0.22 ± 0.24 ($p < 0.05$) (Cuadro 2).

Cuadro 1. Características sociodemográficas de los grupos de estudio

	General		Barranquilla		Cartagena		Santa Marta		Montería	
	n=1340	%	n=426	%	n=331	%	n=296	%	n=287	%
Grupo										
Casos	687	51.3	213	50	164	49.5	151	51	159	55.4
Controles	653	48.7	213	50	167	50.5	145	49	128	44.6
Sexo										
Masculino	374	54.8	235	55.3	138	41.7	147	50.3	149	51.9
Femenino	309	45.2	190	44.7	193	58.3	145	49.7	138	48.1
Edad [media \pm DE]	8.72 \pm 2.39		8.89 \pm 2.33		8.95 \pm 2.27		8.06 \pm 1.97		8.9 \pm 2.84	

DE: Desviación estándar.

Cuadro 2. Concentraciones séricas de vitamina D, IgE total e IgE alérgeno-específicas

	Casos Media ± DE	Controles Media ± DE	p*
Vitamina D (ng/mL)	53 ± 23.3	61.93 ± 28.4	0.00**
IgE total (UI/ml)	392.1 ± 306.8	335.81 ± 273.1	0.00**
IgE A. lumbricoides (Abs)	0.22 ± 0.24	0.27 ± 0.25	0.00**
IgE D. farinae (KUA/l)	8.37 ± 21.7	3.63 13.0	0.23
IgE B. tropicalis (KUA/l)	5.6 ± 17.4	3.49 ± 12.5	0.87
IgE P. americana (KUA/L)	1.07 ± 5.0	0.63 ± 1.62	0.16

DE: Desviación estándar, *U de Mann Whitney test. **p<0.05

El análisis según ciudades demostró que los casos procedentes de Barranquilla mostraron niveles significativamente elevados de IgE total (391.5 UI/mL) e IgE anti-*D. farinae* (14.8 kUA/l), mientras que los controles reportaron concentraciones significativamente elevadas de vitamina D (71.05 ng/mL) e IgE anti-*A. lumbricoides* (0.26 OD). Por su parte, los casos de Cartagena demostraron niveles superiores de vitamina D (56.2 ng/mL), mientras que los controles reportaron concentraciones elevadas de IgE total (413.4 UI/ml) e IgE anti-*A. lumbricoides* (0.32 OD). En Santa Marta se asocian los casos con concentraciones significativamente mayores de IgE anti-*A. lumbricoides* (0.27 OD) y los controles con vitamina D (69.7 ng/ml). En Montería sólo los controles se asociaron con niveles elevados de IgE total (383.4 UI/ml) (Figura 2).

Al transformar los datos de vitamina D, IgE total e IgE alérgeno específica según los valores de referencia antes descritos, se pudo identificar que el 83.4% (n=573) de los niños asmáticos y el 74.7% (n=487) de los controles presentaron niveles suficientes de vitamina D; a su vez un 14.2% (n=98) de los casos mostraron niveles deficientes o insuficien-

tes de esta vitamina en comparación con los controles que fueron el 13.5% (n=88) (p<0.05). Por otra parte, el 85.3% (n=585) de los casos presentaron IgE Total elevada a diferencia de los controles (77.3%; n=505) (p<0.05). Con respecto de la respuesta IgE alérgeno-específica, solo la respuesta IgE anti-*D. farinae* mostró una diferencia significativa entre casos y controles, el 53.9% (n=174) de los casos se encuentra sensibilizado a este ácaro a diferencia del 48.6% (n=136) de los controles (p<0.05).

Según la ciudad de procedencia se observó que en Barranquilla el 8.9% (n=19) de los casos mostraron deficiencia e insuficiencia de vitamina D a diferencia de los controles (1.9%; n=4) (p<0.05). En Cartagena el 9.7% (n=16) de los niños enfermos presentaron deficiencia e insuficiencia a diferencia de los controles cuyo número es significativamente superior (26.3%; n=44) (p<0.05). En Santa Marta, el porcentaje de casos con deficiencia e insuficiencia de vitamina D es del 29.8% (n=45) a diferencia de los controles (9%; n=13) (p<0.05). En Montería el 11.3% (n=18) de los casos mostraron insuficiencia de vitamina D en comparación al 21.3% (n=27) de los controles (Cuadro 3).

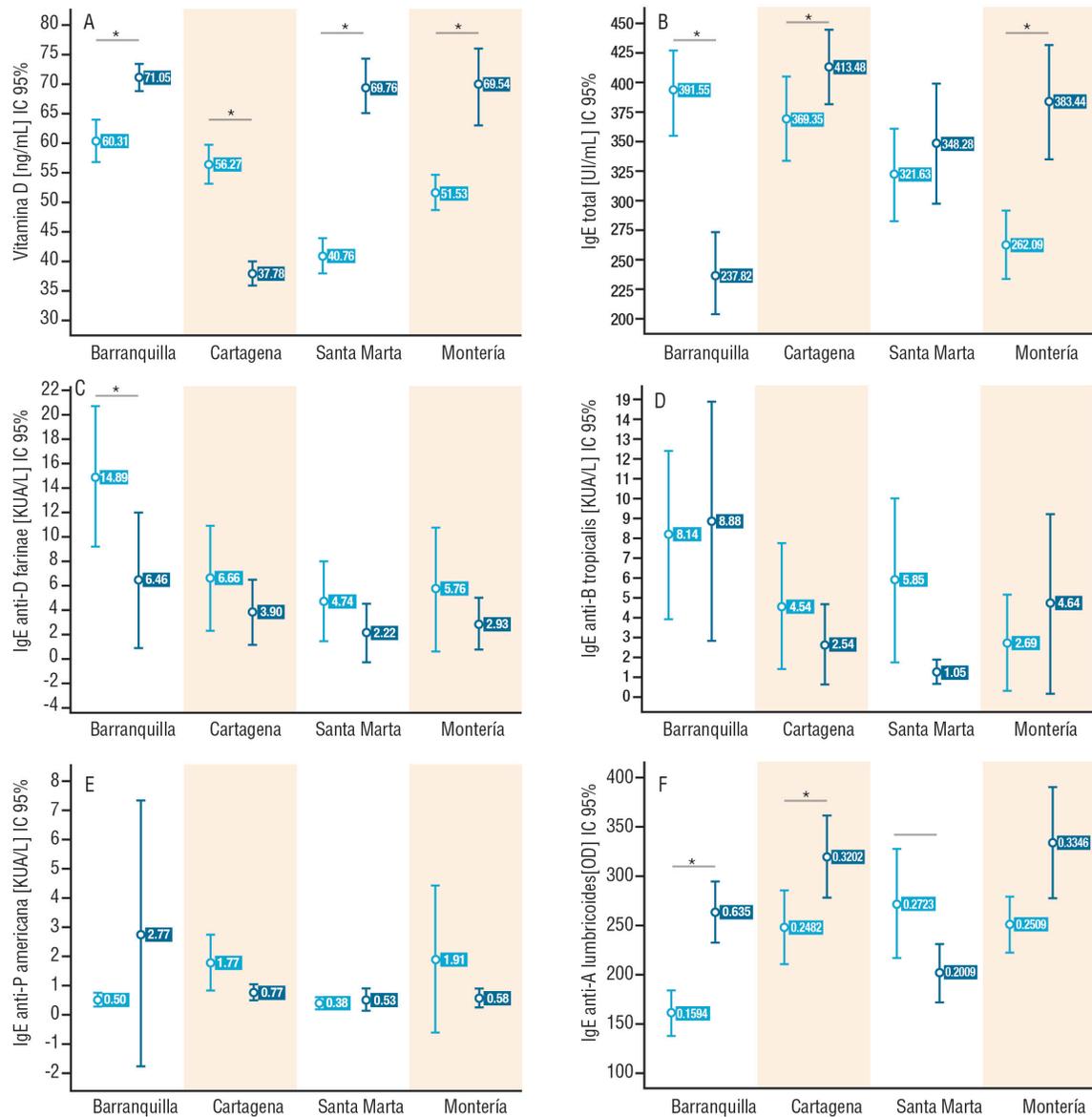


Figura 2. Concentraciones séricas de vitamina D, IgE total e IgE antígeno específicas en los grupos de estudio. A) en todos los grupos de estudio el promedio de vitamina D sérica se encuentra dentro de los niveles suficientes. Sin embargo se observan concentraciones significativamente elevadas en los casos de Cartagena y controles del resto de las ciudades. B) se observa que los asmáticos de Barranquilla y controles de Cartagena y Montería mostraron IgE total significativamente elevada. C) solo los asmáticos de Barranquilla mostraron IgE anti-*D. farinae* significativamente elevada. D) y E) no se observó diferencia estadísticamente significativa en la respuesta IgE anti-*P. tropicalis* e IgE anti-*P. americana* entre casos y controles de los cuatro grupos de estudio. F) se observan valores significativamente elevados de IgE anti-*A. lumbricoides* en casos de Santa Marta y controles de Barranquilla y Cartagena.

Líneas de color azul representan los controles.

Líneas de color verde corresponden a los controles.

* valores de $p < 0,05$.

Cuadro 3. Concentraciones de la vitamina D en los grupos de estudio

Vitamina D	Barranquilla				Cartagena				Santa Marta				Montería							
	Caso		Control		p*	Caso		Control		p*	Caso		Control		p*	Caso		Control		p*
	n=213	%	n=213	%		n=164	%	n=167	%		n=151	%	n=145	%		n=159	%	n=128	%	
Deficiente	4	1.9	1	0.5	0.015°	1	0.6	2	1.2	0.00°	11	7.3	3	2.1	0.00°	---	---	1	0.8	0.00°
Insuficiente	15	7	3	1.4		15	9.1	42	25.1		34	22.5	10	6.9		18	11.3	26	20.5	
Suficiente	184	86.4	197	92.5		142	86.6	123	73.7		106	70.2	108	74.5		141	88.7	59	46.5	
Intoxicación	10	4.7	12	5.6		6	3.7	---	---		---	---	24	16.6		---	---	41	32.3	

*Prueba de Chi-cuadrado. °p<0.05

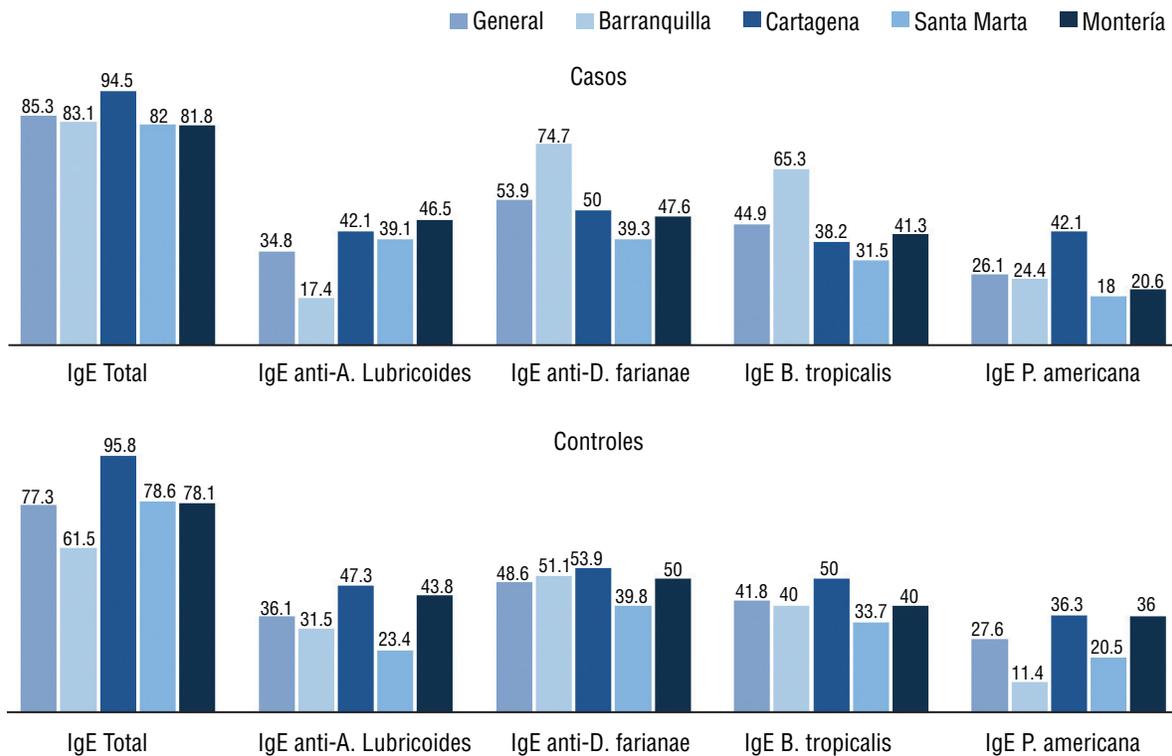


Figura 3. Respuesta IgE total y sensibilización a alérgenos. Se destaca la respuesta IgE total y sensibilización IgE anti-A. lumbricoides, D. farinae y B. tropicalis en los individuos de Barranquilla. *valores de p<0,05 contraste entre casos y controles.

En cuanto a la respuesta IgE total y sensibilización IgE alérgeno específica, en Barranquilla se observó una diferencia significativa en la respuesta de IgE total, el 83.1% (n=177) de los casos presentan niveles elevados de anticuerpos IgE total, a diferencia del 61.5% (n=131) de los controles ($p<0.05$). En cuanto a la respuesta IgE específica anti-*Ascaris lumbricoides*, el 17.4 % (n=37) de los casos se encuentran sensibilizados ($p<0.05$), mientras que en Santa Marta la frecuencia de los casos sensibilizados es del 39.1% (n=59) ($p<0.05$). En cuanto a la respuesta IgE específica a ácaros del polvo casero, los casos de Barranquilla presentan un 74.7 % (n=71) de sensibilización IgE anti-*D. farinae* y un 65.3 % de sensibilización IgE anti-*B. tropicalis* ($p<0.05$). La sensibilización a *P. americana* no mostró diferencia significativa entre casos y controles en cada ciudad (Figura 3).

Comportamiento de la respuesta IgE y niveles de vitamina D entre las poblaciones del estudio

Al comparar el comportamiento y distribución de los datos correspondientes a los niveles de vitamina D, IgE total e IgE alérgeno-específicas, la respuesta IgE total mostró los valores mas elevados en los casos de Barranquilla (392 UI/ml), seguida por Cartagena (369 UI/ml), Santa Marta (322 UI/ml) y Montería (262 UI/ml) ($p<0.05$). En los controles se observó mayor variabilidad, en Cartagena se reportaron concentraciones de 413 UI/ml, seguida por Montería, Santa Marta y Barranquilla ($p<0.05$) (Figura 4).

Por otra parte, también se observó comportamiento variable en los niveles de vitamina D e IgE antígeno-específicos tanto en casos como controles. Mientras que en los casos la vitamina D reporta un comportamiento descendente desde Barranquilla

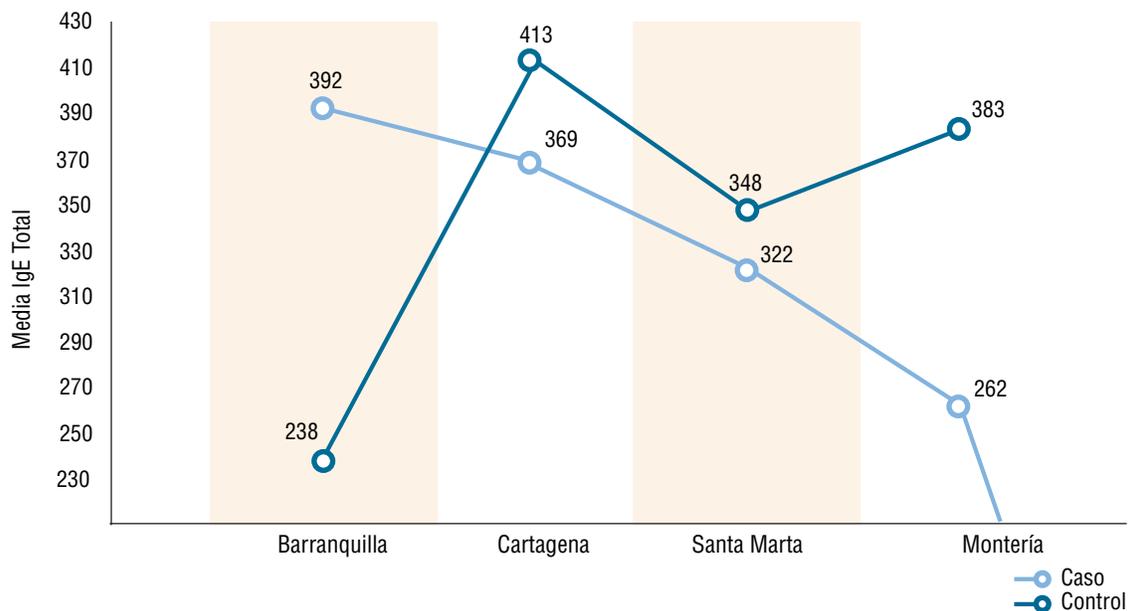


Figura 4. Distribución de la IgE total en los cuatro grupos de estudio. Las concentraciones de IgE total se mostraron elevadas tanto en casos como en controles, en los cuatro grupos de estudio. Se destaca el comportamiento variable en la respuesta IgE total en los controles.

hasta Montería. Los controles de Barranquilla y Santa Marta mostraron concentraciones superiores a las de Cartagena y Montería. La respuesta IgE alérgico específica mostró variabilidad significativa entre las cuatro ciudades (Figura 5).

Análisis de la respuesta IgE total en escolares asmáticos pobres del Caribe

Al evaluar el grado de asociación entre los títulos de IgE total, los niveles séricos de vitamina D y la respuesta IgE específica se demostró que la respuesta IgE total se correlaciona con los anticuerpos IgE anti-*A. lumbricoides* (Rho:0.154), anti-*D. farinae* (Rho:0.305) y anti-*B. tropicalis* (Rho:0.261) en los casos de Barranquilla. En Cartagena los casos IgE total se correlacionan negativamente con IgE anti-*A. lumbricoides* (Rho: -0.317) e IgE anti-*B.*

tropicalis (Rho:-0,227). En Santa Marta IgE total de los casos se correlaciona positivamente con los cuatro alérgenos evaluados. Mientras que en Montería la IgE total de los casos solo se correlaciona con la IgE anti-*A. lumbricoides* (Rho:0.348) (Cuadro 4).

Para tratar de entender el comportamiento de la IgE total, se desarrollaron modelos de regresión lineal multivariados en los que se pudo identificar que los niveles de vitamina D, IgE anti-*D. farinae* e IgE anti-*A. lumbricoides* mostró la mejor correlación posible (R:0.304; p=0.05). Entre los casos la vitamina D e IgE anti-*D. farinae* son los posibles factores predictores de la respuesta IgE total en la población afectada por el asma alérgico (R:0.225; p<0.05). Por su parte, el modelo compuesto por vitamina D e IgE anti-*P. americana* se muestra entre los controles (R:0.412; p<0.05) (Cuadro 5).

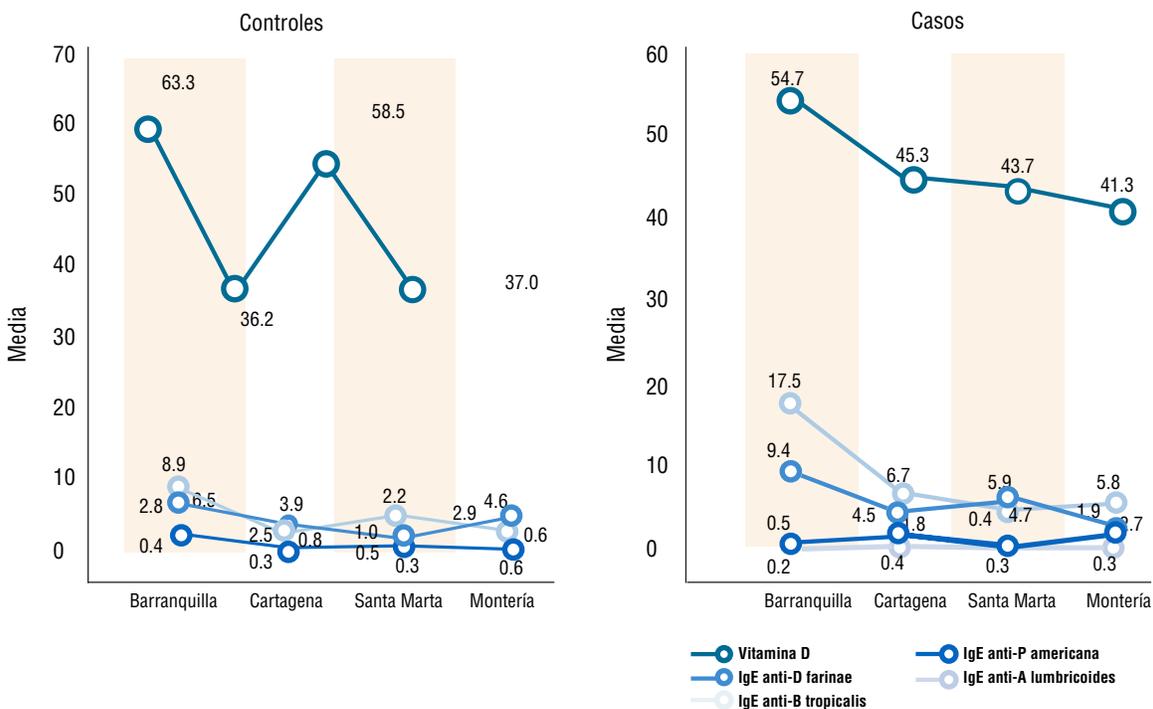


Figura 5. Distribución de la vitamina D e IgE antigeno específica en los cuatro grupos de estudio

Cuadro 4. Correlación de la vitamina D y la respuesta IgE total y alérgico-específica

		Casos					
		Vitamina D	IgE Total	IgE A. lumb	IgE D. farinae	IgE B. tropicalis	IgE P. americana
Barranquilla							
Controles	Vitamina D		-0.218*	-0.182*	-0.196	-0.148	-0.057
	IgE Total	-0.014		0.154*	0.305*	0.261*	0.136
	IgE A. Lumb	-0.121	-0.094		0.318*	0.287*	0.172
	IgE D. Farinae	-0.138	0.364*	0.371*		0.726*	0.573*
	IgE B. Tropicalis	-0.064	0.427*	0.389*	0.851*		0.568*
	IgE P. Americana	-0.018	0.368*	0.349*	0.674*	0.672*	
Cartagena							
Controles	Vitamina D		0.146	-0.414*	-0.086	-0.042	0.052
	IgE Total	-0.066		-0.317*	-0.199	-0.227*	-0.222
	IgE A. Lumb	-0.073	0.19		0.316*	0.383*	0.331*
	IgE D. Farinae	0.11	0.231*	0.103		0.915*	0.752*
	IgE B. Tropicalis	0.135	0.183	0.148	0.911*		0.723*
	IgE P. Americana	0.025	0.062	0.066	0.639*	0.648*	
Santa Marta							
Controles	Vitamina D		-0.049	0.16*	0.082	0.053	0.03
	IgE Total	-0.136		0.279*	0.283*	0.328*	0.253*
	IgE A. Lumb	-0.481*	0.161		0.526*	0.535*	0.548*
	IgE D. Farinae	-0.157	0.51*	0.354*		0.959*	0.737*
	IgE B. Tropicalis	-0.05	0.51*	0.303*	0.935*		0.735*
	IgE P. Americana	-0.307*	0.602*	0.274*	0.623*	0.559*	
Montería							
Controles	Vitamina D		-0.137	-0.362*	-0.163	-0.048	-0.088
	IgE Total	-0.309*		0.348*	0.136	0.204	0.204
	IgE A. Lumb	-0.746*	0.313*		0.275*	0.287*	0.258*
	IgE D. Farinae	-0.098	0.302*	0.39*		0.906*	0.669*
	IgE B. Tropicalis	-0.117	0.326*	0.47*	0.925*		0.637*
	IgE P. Americana	-0.064	0.268	0.287*	0.483*	0.542*	

* Correlaciones con significancia estadística, valor de $p < 0.05$.

Cuadro 5. Explicación de la respuesta IGE total

General							
Modelo		R	R2	B	IC 95%		p
				Límite inferior	Límite superior		
1	Vitamina D	0.263	0.068	-2.89	-3.75	-2.02	0.00*
2	Vitamina D	0.294	0.08	-2.85	-3.70	-1.99	0.00*
	IgE D. farinae			1.49	0.61	2.37	0.001*
3	Vitamina D	0.304	0.09	-2.75	-3.61	-1.88	0.00*
	IgE D. farinae			1.42	0.54	2.30	0.002*
	IgE A. lumbricoides			53.46	0.07	106.8	0.05*
Casos							
1	Vitamina D	0.168	0.028	-1.916	-3.186	-0.645	0.003*
2	Vitamina D	0.225	0.051	-1.861	-3.12	-0.603	0.004*
	IgE D. farinae			1.343	0.355	2.332	0.008*
Controles							
1	Vitamina D	0.348	0.121	-3.713	-4.894	-2.531	0.00*
2	Vitamina D	0.412	0.17	-3.569	-4.722	-2.416	0.00*
	IgE P. americana			28.918	14.722	43.114	0.00*

Modelos de regresión lineal, método de pasos sucesivos.

Discusión

El informe de la *Estrategia mundial para la prevención y control del asma* adopta el concepto según el cual la carga genética es un factor de riesgo en el asma.¹⁷ En esta entidad multifactorial, la IgE es un factor desencadenante de los eventos fisiopatológicos en la cascada inflamatoria alérgica, induciendo fenómenos iniciados por la exposición a alérgenos ambientales. Estos eventos están asociados con los niveles séricos de IgE total.^{18,19} Estos niveles varían cuando se estudian en diferentes grupos étnicos. En afroamericanos son más elevados que en blancos y otros grupos raciales.^{20,21} Actualmente se acepta que

la ascendencia africana está asociada al desarrollo de asma y a la expresión de altos niveles de IgE total.¹⁰ En los brasileños, se demostraron niveles muy altos de IgE tanto en asmáticos como en individuos no alérgicos; muy probablemente debido a la alta prevalencia (83.5%) de parasitosis intestinal en esta población; situación ampliamente validada en otros grupos estudiados en las poblaciones de Suramérica, incluyendo Colombia.²²⁻²⁴

Los altos niveles de IgE sérica total, en pacientes de países pobres, con frecuencia indican una infección parasitaria crónica, especialmente por geohelminths, que estimulan la producción de an-

ticuerpos policlonales IgE. Otra posibilidad para explicar los altos niveles de IgE sérica es que estos individuos presentan una fuerte predisposición genética a la atopia, con más propensión a ser hipersensibles a alérgenos ambientales.^{25,26}

Los asmáticos que habitan en el trópico tienen una alta sensibilización a ácaros del polvo intradomiciliario, particularmente para *Blomia tropicalis* (Bt) y *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dp).^{11,27} Otra característica de estas regiones tropicales es un alto endemismo para las infecciones por geohelminetos, siendo la más frecuente la ascariasis.²⁸⁻³² Se considera que la sinergia de estas características podría inducir una fuerte respuesta de anticuerpos IgE desde una temprana edad.⁵

La respuesta de IgE anti-*Ascaris lumbricoides* se ha asociado tanto con la prevalencia como con la severidad del asma alérgica.³³⁻³⁸ Sin embargo, no se ha aclarado si esta asociación es independiente de la exposición a los ácaros y si hay una verdadera relación causa-efecto en donde una inmunomodulación producida por epítopes de los alérgenos de AL sería la responsable de esta respuesta.^{10,19-23} No obstante, los datos disponibles sugieren que la ascariasis y su concomitante respuesta IgE participarían en la patogénesis del asma.^{5,7}

Varios estudios han demostrado que los ácaros son importantes fuentes alérgicas en regiones tropicales.^{26,34,39} Donde las temperaturas cálidas y la alta humedad permiten el crecimiento abundante de alrededor de seis especies de importancia clínica, principalmente de *D. farinae*, *D. pteronyssinus* y *B. tropicalis*.^{40,41} En el asma, los niveles de IgE alérgeno específica contra ácaros de polvo casero, son factores predictivos mucho más importante que la IgE sérica total. Un estudio llevado a cabo en Kenia y otros realizados en diferentes países en vías de desarrollo, han mostrado que la IgE anti-ácaros del polvo doméstico se encuentra elevada tanto en el suero de sujetos asmáticos de las zonas urbanas como en los asmáticos residentes en áreas rurales.^{42,43}

Por otra parte, la vitamina D es un inmunomodulador de la respuesta inmune. Existen dos fuentes

de ella; la principal es la conversión del 7-dehidrocolesterol a pre-vitamina D3 por la luz ultravioleta-B en la exposición al Sol. La ingesta de vitamina D3 de alimentos como el pescado azul y el aceite de hígado de bacalao es la otra fuente.⁴⁴ En la actualidad no hay acuerdo universal sobre el nivel sérico de Vit-D para definir deficiencia de vitamina D.¹⁵ Nuestro estudio siguió la recomendación de la OIM para definir los límites y valores aceptados: La etnia es uno de los principales factores que determinan el nivel de vitamina D.^{15,45,46}

Hoy se acepta que concentraciones bajas de vitamina D se constituyen en un factor de riesgo para las exacerbaciones del asma (incremento en el número de hospitalizaciones y el uso de medicamentos).⁴⁷ Signorello et al. informaron que el riesgo de hipovitaminosis D está igualmente asociado con variantes genéticas, homocigotidad y heterocigotidad entre individuos afrodescendientes.⁴⁸

Un estudio llevado a cabo en Costa Rica reveló una asociación significativa entre las características clínicas y de laboratorio en ese grupo, la gravedad del asma y los niveles elevados de IgE total, así como la deficiencia de vitamina D.⁴⁹ La literatura revela variedad de resultados en diferentes poblaciones, los cuales pueden atribuirse a los bajos niveles séricos de vitamina D en países estacionales de latitudes diferentes al trópico. Sin embargo, en los afroamericanos, la piel expresa una mayor melanización y puede funcionar como una barrera para la síntesis de Vit-D. Esto, sumado a las variaciones en estilo de vida, nutrición y estructura genética de dichos grupos poblacionales, pudiera explicar en parte dichos resultados.⁵⁰

En los asmáticos pediátricos involucrados en este estudio, la prevalencia de insuficiencia y deficiencia de vitamina D (<30 ng/mL) fue del 13.88% en el total de individuos estudiados. En contraste, el 79.1% de los sujetos presentaron niveles séricos suficientes de vitamina D. Estos porcentajes se semejan a los de un estudio reciente con el asma infantil y vitamina D que fue realizado en una población ecuatorial como Costa Rica, en la que el 28% tenía

insuficiencia de vitamina D.⁴⁹ Las relativas diferencias entre nuestro estudio y la población de Costa Rica se podrían explicar en la conocida asociación de aumento de riesgo de deficiencia de vitamina D en poblaciones que viven a mayores latitudes hacia el norte.⁵¹ En general, la prevalencia de la insuficiencia Vit-D en niños con asma en nuestra cohorte es similar a la observada en la literatura cuando se estudia en poblaciones que viven en latitudes similares. Este es el primer estudio que analiza y compara la asociación entre los niveles de Vit-D y la respuesta IgE anti alérgenos de ácaros del polvo casero, anti-*Periplaneta americana* y anti-*Ascaris lumbricoides* con asma alérgica, en niños escolares pobres pertenecientes a familias que viven en comunidades marginadas en Colombia.

En resumen, nuestro estudio proporciona información importante sobre el comportamiento de los niveles de Vit-D y el asma en escolares de asentamientos pobres del Caribe colombiano.

El principal inconveniente que este estudio muestra se refiere a la falta de control sobre factores que pudieron haber modulado la síntesis de Vit-D, tales como la actividad física de los sujetos, la dieta, la duración de exposición al aire libre y por lo tanto a la luz del sol, factores que regulan la homeostasis de la vitamina D. Cohortes prospectivas son necesarias para abordar con precisión las influencias de estos factores de confusión sobre los niveles de vitamina D en esta región del Caribe. Es también necesario resaltar que todos nuestros sujetos tuvieron características socioeconómicas, clínicas y estilos de vida similares y fueron reclutados siempre por el mismo equipo de investigadores en las mismas condiciones de espacio y tiempo. De igual manera, esto valida la representatividad de nuestros controles. Por lo tanto, creemos que nuestros controles fueron también representativos de esta población pediátrica vulnerable del Caribe colombiano.

Nosotros no pudimos demostrar la asociación entre la deficiencia de vitamina D con el asma pediátrica en la cohorte estudiada. Los niveles de Vit-D fueron similares tanto en los asmáticos como en el grupo control. Los niveles de IgE total estuvieron elevados tanto en los pacientes como en los controles, lo que está en consonancia con lo descrito en la literatura sobre estudios llevados a cabo en comunidades del trópico. Se requieren otros estudios en sujetos con características socioeconómicas y de estructura genética similares para validar nuestros estudios.

Nuestros resultados también sugieren que los niveles de la vitamina D ejercerían influencia sobre la respuesta inmune mediada por anticuerpos IgE total e IgE específicas, contra alérgenos de Df, Bt, Pa y Al en una muestra de escolares asmáticos asentados en comunidades pobres marginadas de zonas endémicas para las infecciones por parasitosis intestinales.

Agradecimientos

Presentamos agradecimientos a Colciencias y la Universidad del Norte por el apoyo en la financiación de este trabajo de investigación y cada uno de los individuos y sus padres por permitirnos el desarrollo del mismo.

Financiamiento

Este trabajo fue financiado parcialmente por Colciencias por el proyecto “Asociación de fenotipos clínicos de asma alérgica pediátrica con el polimorfismo del receptor (VDR) de la vitamina D. Identificación de variantes genéticas en escolares”. Código 121551929027 y por el proyecto “Asociación de niveles de IgE antiAL y deficiencia de vitamina D con asma. Un estudio en pacientes pediátricos residentes en asentamientos marginados en el Caribe colombiano”. Código 121551929033.

Referencias

1. Dennis RJ, Caraballo L, Garcia E, Rojas MX, Rondon MA, Perez A, et al. Prevalence of asthma and other allergic conditions in Colombia 2009-2010: a cross-sectional study. *BMC Pulm Med.* 2012;12:17. doi: 10.1186/1471-2466-12-17
2. Dennis R, Caraballo L, Garcia E, Caballero A, Aristizabal G, Cordoba H, et al. Asthma and other allergic conditions in Colombia: a study in 6 cities. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2004;93(6):568-574. doi: 10.1016/S1081-1206(10)61265-3
3. Milligan KL, Matsui E, Sharma H. Asthma in urban children: epidemiology, environmental risk factors, and the public health domain. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2016;16(4):33. doi: 10.1007/s11882-016-0609-6.
4. Martínez Aguilar NE. [Pathogenesis, trigger and risk factors in asthma]. *Rev Alerg Mex.* 2009;56 Suppl 1:S10-23.
5. Zakzuk J, Acevedo N, Cifuentes L, Bornacelly A, Sanchez J, Ahumada V, et al. Early life IgE responses in children living in the tropics: a prospective analysis. *Pediatr Allergy Immunol.* 2013;24(8):788-797. doi: 10.1111/pai.12161
6. Acevedo N, Mercado D, Vergara C, Sanchez J, Kennedy MW, Jimenez S, et al. Association between total immunoglobulin E and antibody responses to naturally acquired *Ascaris lumbricoides* infection and polymorphisms of immune system-related LIG4, TNFSF13B and IRS2 genes. *Clin Exp Immunol.* 2009;157(2):282-290. doi: 10.1111/j.1365-2249.2009.03948.x
7. Acevedo N, Caraballo L. IgE cross-reactivity between *Ascaris lumbricoides* and mite allergens: possible influences on allergic sensitization and asthma. *Parasite Immunol.* 2011;33(6):309-321. doi: 10.1111/j.1365-3024.2011.01288.x
8. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JB, Pols HA, Van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene.* 2004;338(2):143-156. doi: 10.1016/j.gene.2004.05.014
9. Matheu V, Back O, Mondoc E, Issazadeh-Navikas S. Dual effects of vitamin D-induced alteration of TH1/TH2 cytokine expression: enhancing IgE production and decreasing airway eosinophilia in murine allergic airway disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112(3):585-592.
10. Vergara C, Caraballo L, Mercado D, Jimenez S, Rojas W, Rafaels N, et al. African ancestry is associated with risk of asthma and high total serum IgE in a population from the Caribbean Coast of Colombia. *Human Genetics.* 2009;125(5-6):565-579. doi:10.1007/s00439-009-0649-2
11. Acevedo N, Erler A, Briza P, Puccio F, Ferreira F, Caraballo L. Allergenicity of *Ascaris lumbricoides* tropomyosin and IgE sensitization among asthmatic patients in a tropical environment. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011;154(3):195-206. doi:10.1159/000321106
12. Caraballo L, Acevedo N. New Allergens of Relevance in Tropical Regions: The Impact of *Ascaris lumbricoides* Infections. *World Allergy Organ J.* 2011;4(5):77-84. doi: 10.1097/WOX.0b013e3182167e04
13. Social Science Research Network. [Sitio web]. Rueda FA, Espinosa AE. ¿Los pobres de hoy serán los pobres del mañana? Determinantes de la pobreza y magnitud de la vulnerabilidad en Cartagena de Indias, Colombia. [Citado 2009 March 15]. Disponible en: http://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=1411775
14. Asher M, Keil U, Anderson H, Beasley R, Crane J, Martínez F, et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods. *Eur Res J.* 1995;8(3):483-491.
15. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(1):53-58. doi: 10.1210/jc.2010-2704
16. Mendoza Meza DL, Garavito Lancheros G, Lozano Socarrás S, Navarro Meza J, Egea Bermejo E. Identificación de fracciones electroforéticas de unión a IgE en extractos de *Ascaris* sp. *Revista Cubana Invest Biomed.* 2013;32(2):171-177. Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002013000200006
17. Kroegel C. Global Initiative for Asthma (GINA) guidelines: 15 years of application. *Expert Rev Clin Immunol.* 2009 May;5(3):239-249. doi: 10.1586/eci.09.1.
18. Burrows B, Martínez FD, Halonen M, Barbee RA, Cline MG. Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens. *N Engl J Med.* 1989;320(5):271-277. doi: 10.1056/NEJM198902023200502

19. Marsh DG, Bias WB, Ishizaka K. Genetic control of basal serum immunoglobulin E level and its effect on specific reagenic sensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1974;71(9):3588-3592.
20. Grant AV, Araujo MI, Ponte EV, Oliveira RR, Cruz AA, Barnes KC, et al. High heritability but uncertain mode of inheritance for total serum IgE level and *Schistosoma mansoni* infection intensity in a schistosomiasis-endemic Brazilian population. *J Infect Dis.* 2008 Oct 15;198(8):1227-1236. doi: 10.1086/591946.
21. Grundbacher FJ, Massie FS. Levels of immunoglobulin G, M, A, and E at various ages in allergic and nonallergic black and white individuals. *J Allergy Clin Immunol.* 1985;75(6):651-658.
22. de Jesus AM, Almeida RP, Bacellar O, Araujo MI, Demeure C, Bina JC, et al. Correlation between cell-mediated immunity and degree of infection in subjects living in an endemic area of schistosomiasis. *Eur J Immunol.* 1993;23(1):152-158. doi: 10.1002/eji.1830230125
23. Arruda LK, Santos AB. Immunologic responses to common antigens in helminthic infections and allergic disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2005;5(5):399-402.
24. Schneider M, Hilgers RH, Sennekamp J. Allergy, total IgE and eosinophils in East and West -- serious effects of different degrees of helminthiasis and smoking. *Eur J Med Res.* 2002;7(2):63-71.
25. Scrivener S, Yemaneberhan H, Zebeignus M, Tilahun D, Girma S, Ali S, et al. Independent effects of intestinal parasite infection and domestic allergen exposure on risk of wheeze in Ethiopia: a nested case-control study. *Lancet.* 2001;358(9292):1493-1499. doi: 10.1016/S0140-6736(01)06579-5
26. Dombrowicz D, Capron M. Eosinophils, allergy and parasites. *Curr Opin Immunol.* 2001;13(6):716-720.
27. Caraballo L, Puerta L, Fernandez-Caldas E, Lockett RF, Martinez B. Sensitization to mite allergens and acute asthma in a tropical environment. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 1998;8(5):281-284.
28. Giraldo-Gomez JM, Lora F, Henao LH, Mejia S, Gomez-Marin JE. (Prevalence of giardiasis and intestinal parasites in pre-school children from homes being attended as part of a state programme in Armenia, Colombia). *Rev Salud Publica (Bogota).* 2005;7(3):327-338.
29. Alvarado BE, Vasquez LR. (Social determinants, feeding practices and nutritional consequences of intestinal parasitism in young children]. *Biomedica.* 2006;26(1):82-94.
30. Knudson A, Ariza Y, Lopez MC, Fajardo OS, Reyes P, Moncada LI, et al. (The effect of ivermectin on geohelminth frequency (i.e. as used in the onchocerciasis control program in Colombia)). *Rev Salud Publica (Bogota).* 2012;14(4):681-694.
31. Pullan RL, Smith JL, Jasrasaria R, Brooker SJ. Global numbers of infection and disease burden of soil transmitted helminth infections in 2010. *Parasit Vectors.* 2014;7:37. doi: 10.1186/1756-3305-7-37
32. Acevedo N, Sanchez J, Zakzuk J, Bornacelly A, Quiroz C, Alvarez A, et al. Particular characteristics of allergic symptoms in tropical environments: follow up to 24 months in the FRAAT birth cohort study. *BMC Pulm Med.* 2012;12:13. doi: 10.1186/1471-2466-12-13
33. van den Biggelaar AH, Rodrigues LC, van Ree R, van der Zee JS, Hoeksma-Kruize YC, Souverijn JH, et al. Long-term treatment of intestinal helminths increases mite skin-test reactivity in Gabonese schoolchildren. *J Infect Dis.* 2004;189(5):892-900. doi: 10.1086/381767
34. Cooper PJ, Chico ME, Rodrigues LC, Ordonez M, Strachan D, Griffin GE, et al. Reduced risk of atopy among school-age children infected with geohelminth parasites in a rural area of the tropics. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111(5):995-1000.
35. Cooper PJ, Chico ME, Bland M, Griffin GE, Nutman TB. Allergic symptoms, atopy, and geohelminth infections in a rural area of Ecuador. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168(3):313-317. doi: 10.1164/rccm.200211-1320OC
36. Marretta J, Casey FB. Effect of *Ascaris suum* and other adjuvants on the potentiation of the IgE response in guinea-pigs. *Immunology.* 1979;37(3):609-613.
37. Lee TD, McGibbon A. Potentiation of IgE responses to third-party antigens mediated by *Ascaris suum* soluble products. *Int Arch Allergy Immunol.* 1993;102(2):185-190.
38. Stromberg BE. Potentiation of the reagenic (IgE) antibody response to ovalbumin in the guinea pig with a soluble metabolic product from *Ascaris suum*. *J Immunol.* 1980;125(2):833-836.
39. Sales VS, Rodrigues CE, Cavalcanti GB, Trombone APF, Lima RC, Santos ABR, et al. Infection with *Ascaris lumbricoides* in pre-school children: Role in wheezing and IgE responses to inhalant allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;109(1, Suppl 1):S27. doi: http://dx.doi.org/10.1016/S0091-6749(02)81160-5

40. Puerta L, Fernandez-Caldas E, Mercado D, Lockey RF, Caraballo LR. Sequential determinations of *Blomia tropicalis* allergens in mattress and floor dust samples in a tropical city. *J Allergy Clin Immunol.* 1996;97(2):689-691.
41. Fernandez-Caldas E, Puerta L, Caraballo L, Mercado D, Lockey RF. Sequential determinations of *Dermatophagoides* spp. allergens in a tropical city. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 1996;6(2):98-102.
42. Perzanowski MS, Ng'ang'a LW, Carter MC, Odhiambo J, Ngari P, Vaughan JW, et al. Atopy, asthma, and antibodies to *Ascaris* among rural and urban children in Kenya. *J Pediatr.* 2002;140(5):582-588. doi: 10.1067/mpd.2002.122937
43. Erwin EA, Ronmark E, Wickens K, Perzanowski MS, Barry D, Lundback B, et al. Contribution of dust mite and cat specific IgE to total IgE: relevance to asthma prevalence. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119(2):359-365. doi: 10.1016/j.jaci.2006.12.648
44. Miller J, Gallo RL. Vitamin D and innate immunity. *Dermatol Ther.* 2010;23(1):13-22. doi: 10.1016/B978-0-12-386960-9.00002-2
45. Hata TR, Audish D, Kotol P, Coda A, Kabigting F, Miller J, et al. A randomized controlled double-blind investigation of the effects of vitamin D dietary supplementation in subjects with atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2014;28(6):781-789. doi: 10.1111/jdv.12176
46. Dong Y, Pollock N, Stallmann-Jorgensen IS, Gutin B, Lan L, Chen TC, et al. Low 25-hydroxyvitamin D levels in adolescents: race, season, adiposity, physical activity, and fitness. *Pediatrics.* 2010;125(6):1104-1111. doi: 10.1542/peds.2009-2055
47. Litonjua AA. Vitamin D deficiency as a risk factor for childhood allergic disease and asthma. *Curr Opin Allergy Clinical Immunol.* 2012;12(2):179-185. doi: 10.1097/ACI.0b013e3283507927
48. Signorello LB, Shi J, Cai Q, Zheng W, Williams SM, Long J, et al. Common variation in vitamin D pathway genes predicts circulating 25-hydroxyvitamin D Levels among African Americans. *PLoS one.* 2011;6(12):e28623. doi: 10.1371/journal.pone.0028623
49. Brehm JM, Celedon JC, Soto-Quiros ME, Avila L, Hunninghake GM, Forno E, et al. Serum vitamin D levels and markers of severity of childhood asthma in Costa Rica. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2012;12(2):179-185. doi: 10.1097/ACI.0b013e3283507927.
50. Freishtat RJ, Iqbal SF, Pillai DK, Klein CJ, Ryan LM, Benton AS, et al. High prevalence of vitamin D deficiency among inner-city African American youth with asthma in Washington, DC. *J Pediatr.* 2010;156(6):948-952. doi: 10.1016/j.jpeds.2009.12.033
51. Misra M, Pacaud D, Petryk A, Collett-Solberg PF, Kappy M, Drug, et al. Vitamin D deficiency in children and its management: review of current knowledge and recommendations. *Pediatrics.* 2008;122(2):398-417. doi: 10.1542/peds.2007-1894