

11227

20

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

INSTITUTO DE SEGURIDAD SOCIAL Y SERVICIOS PARA LOS  
TRABAJADORES DEL ESTADO

HOSPITAL REGIONAL "1º DE OCTUBRE"

**“ESTUDIO COMPARATIVO DE  
MARCADORES DE ACTIVACIÓN  
EN ASMA BRONQUIAL”**

280751

T E S I S  
QUE PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD  
EN MEDICINA INTERNA  
P R E S E N T A  
DR. RICARDO ECHEVERRIA MARTINEZ

MÉXICO, D.F.

2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*Manuel Hernández*

**Dr. Manuel Ramiro Hernández**

**Profesor titular del curso de Especialidad en Medicina Interna**

*Arturo Serrano López*

**Dr. Arturo Serrano López**

**Médico adscrito al servicio de Medicina Interna**

**Asesor de la Tesis.**

*J. Vicente Rosas Barrientos*

**Dr. J. Vicente Rosas Barrientos**

**Médico adscrito al servicio de Medicina Interna**

**Coasesor de la Tesis.**



*Horacio G. Olvera Hernández*

**Dr. Horacio G. Olvera Hernández**

**Coordinador de Enseñanza e Investigación.**

SUBDIRECCIÓN MÉDICA

29 NOV 2000

HOSP. REG. 16 DE LOS ANJOS, COORD. DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

## **DEDICATORIA**

**A TODOS LOS MIOS, A QUIENES LES DEBO LO QUE HOY SOY...**

**A MI ESPOSA, POR SU APOYO Y COMPRENSIÓN...**

**A MI HIJO, AL QUE HE SACRIFICADO EN TIEMPO DE JUEGO Y  
DIVERSIÓN...**

**A MI MADRE, QUIEN NO VIVIO PARA VER ESTE MOMENTO...**

**A MI PADRE, CUYOS CONSEJOS ME HAN SIDO DE GRAN  
UTILIDAD EN EL TRANCURSO DE MI VIDA...**

**A TODOS USTEDES GRACIAS POR TODO LO QUE ME HAN  
DADO.**

**FEBRERO, 2001**

**RICARDO ECHEVERRIA**

## **INDICE**

<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>ANTECEDENTES.....</b>	<b>3</b>
<b>JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>18</b>
<b>DEFINICIÓN DE TERMINOS UTILIZADOS.....</b>	<b>20</b>
<b>HIPOTESIS.....</b>	<b>23</b>
<b>DISEÑO DEL ESTUDIO.....</b>	<b>24</b>
<b>MATERIAL Y METODO.....</b>	<b>24</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>28</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>31</b>
<b>CONCLUSIÓN.....</b>	<b>34</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>35</b>

## RESUMEN

**Antecedentes:** Las alergias son una serie de padecimientos que se determinan genéticamente, afectando del 20 al 30% de la población en los países desarrollados. Estos padecimientos se caracterizan por un aumento en la capacidad de los linfocitos B para producir anticuerpos del tipo de la IgE en respuesta a ciertos grupos de antígenos. El asma alérgica es una enfermedad inflamatoria por excelencia. Mucho sobre la compleja interacción bidireccional entre el sistema inmune y el epitelio de la vía aérea, el efecto del ambiente, y la patofisiología subyacente del desorden nos son oscuras. Una parte primordial para el inicio de dicha respuesta es la manera en que los linfocitos T y linfocitos B realizan el reconocimiento del antígeno y la manera en que son presentados estos antígenos a las células T, las cuales se activan liberando un perfil de citocinas generando subgrupos de células T reguladoras que producen diferentes interleucinas, que pueden incrementar la respuesta inmune o incluso inhibirla. Se han descrito dos subpoblaciones: las células Th1 que suprime la síntesis de IgE y la proliferación de células B, y las células Th2 que incrementa la producción de IgE y favorece la activación y quimiotaxis de los eosinófilos. Una de las vías coestimuladoras más importantes y mejor caracterizadas en la activación de las células T implica la unión "ligando-receptor" de unas moléculas de la superficie de las células T, estas moléculas reciben el nombre de "Grupos de Diferenciación" (CD).

**Diseño del estudio:** Este es un estudio piloto inicial, de corte transversal analítico, para determinar el nivel de expresión de los "Grupos de Diferenciación" y su correlación con la severidad del asma.

**Material y métodos:** Durante los meses de Noviembre de 1999 y Junio del 2000 se escogieron a 10 pacientes, con una edad mayor de 18 años, y que ingresaron al servicio de Urgencias Adultos del H. R. "1° de Octubre" por presentar cuadro asmático agudo, con historia de asma alérgica. Cinco de ellos con cuadro asmático leve y cinco con cuadro asmático severo.

**Resultados:** Se observó un valor alto de CD-62L y CD-124 en los pacientes con asma leve, encontrándose disminuidos en los pacientes con asma severa. El CD-152 se encontró disminuido en los pacientes con asma leve y aumentado en los pacientes con asma severa. El CD-30 se encontró elevado en los pacientes con asma severa y disminuido en los pacientes con asma leve. Se encontró una disminución de la concentración de IgE en los pacientes con asma severa en comparación con los pacientes con asma leve.

**Conclusiones:** Clínicamente la expresión de las moléculas no podía ser valorable ya que se median en un estado de descontrol. Los hallazgos abren la posibilidad de generar otras rutas de investigación como es el demostrar el comportamiento de la expresión de los CD en los pacientes en estado intercrítico par predecir la predisposición de sufrir un estado grave la enfermedad.

## **ABSTRACT**

**Background:** The allergies are a series of sufferings that you/they are determined genetically, affecting from the 20% to 30% of the population in the developed countries. These sufferings are characterized by an increase in the capacity of the lymphocytes B to produce antibodies of the type of the IgE in answer to certain groups of antigens. The allergic asthma is par excellence an inflammatory illness. A lot of envelope the complex bidirectional interaction among the immune system and the epithelium of the air road, the effect of the atmosphere, and the underlying pathophysiology of the disorder is we dark. A primordial part for the beginning of this answer is the way in that the lymphocytes T and lymphocytes B carries out the recognition of the antigen and the way in that these antigens are presented to the cells T, which are activated liberating a chemokines profile generating sub-groups of cells T regulateds that different interleukines that can increase the immune answer take place or even to inhibit it. Two sub-populations has been described: the cells Th1 that suppresses the synthesis of IgE and the proliferation of cells B, and the cells Th2 that increases the production of IgE and it favors the activation and chemotaxis of the eosinophyles. One of the roads more important and better coestimulated characterized in the activation of the cells T implies the tie-receiving union of some molecules of the surface of the cells T, these molecules receive the name of "Clusters of Differentiation" (CD).

**Design of the study:** This is a initial pilot study, of analytic traverse court, to determine the level of expression of the Clusters of Differentiation and their correlation with the severity of the asthma.

**Material and methods:** During the months of November of 1999 and June of the 2000 they were chosen 10 patients, with an age bigger than 18 years, and that they entered to the Mature service of Urgencies of the H. R. "1° de Octubre" to present sharp asthmatic square, with history of allergic asthma. Five of them with light asthmatic square and five with severe asthmatic square.

**Results:** It was observed a high value of CD-62L and CD-124 in the patients with light asthma, being diminished in the patients with severe asthma. The CD-152 was diminished in the patients with light asthma and increased in the patients with severe asthma. The CD-30 was elevated in the patients with severe asthma and diminished in the patients with light asthma. We met a decrease of the concentration of IgE in the patients with severe asthma to compare with the patients with light asthma.

**Conclusions:** Clinically the expression of the molecules could not be rateable since they are mediated in a lake of control state. The discoveries open the possibility to generate other investigation routes like it is demonstrating the behavior of the expression of the CD in the patients in even between critic state to predict the bias of suffering a serious state the illness.

## 1.- ANTECEDENTES

La alergia o atopia son una serie de padecimientos que se determinan genéticamente, afectándose del 20 a 30% de la población de los países desarrollados, con un incremento en su prevalencia observado en la última década. Estos padecimientos alérgicos se caracterizan por un aumento en la capacidad de los linfocitos B para producir anticuerpos del tipo de la Inmunoglobulina E (IgE) en respuesta a ciertos grupos de antígenos<sup>a</sup> (alergenos) que, en su medio ambiente, pueden activar dichos sistemas inmunológicos por la inhalación, ingestión o penetración a través de la piel. (1)

El asma, síndrome clínico que se conoce desde hace más de 2,000 años, es una enfermedad inflamatoria por excelencia. Mucho sobre la compleja interacción bidireccional entre el sistema inmune y el epitelio de la vía aérea, el efecto del ambiente, y la patofisiología subyacente del desorden nos son obscuras. Los mecanismos que la causan son complejos y varían según la población, la persona y se ha involucrado a la sensibilidad genética, que probablemente involucra varios genes, en combinación con varios componentes del medio ambiente como causantes de esta enfermedad. Sin embargo, no todos los casos del asma pueden ser explicados por la respuesta alérgica.

El asma alérgica presenta una prevalencia máxima durante la infancia, afectando aproximadamente al 10% de la población, disminuyendo posteriormente entre el 5 a 6% de la población durante la adolescencia y el inicio de la vida adulta, época en que son altas las tasas de remisión. Posteriormente vuelve a incrementarse la prevalencia durante la parte tardía de la vida adulta alcanzando del 7 al 9%. (2) Aproximadamente la mitad de los ancianos con asma desarrollan su enfermedad antes de los 65 años, pero 2% de la población anciana general tendrán un inicio tardío.

---

<sup>a</sup> .-El término antígeno sugiere una sustancia simple, generalmente una macromolécula orgánica que induce la formación de anticuerpos. Estas sustancias tienen dos propiedades definidas: 1) Capacidad para estimular la respuesta inmune y 2) La habilidad para reaccionar específicamente con los anticuerpos o las células involucradas en la respuesta inmune.(35)



Varias pruebas han establecido que la mayor parte de los casos de asma son una forma de hipersensibilidad inmediata. Aproximadamente el 70% de los pacientes tienen pruebas cutáneas positivas –reacciones de habón y eritema- tras la inyección de uno o más alérgenos comunes (Asma atópico). Además, se puede provocar la obstrucción de las vías aéreas en muchos pacientes asmáticos mediante la inhalación de alérgenos específicos.(1)

Las principales sustancias capaces de desarrollar sensibilización alérgica –y que con más frecuencia disparan la respuesta inmunitaria- son los alérgenos intradomiciliarios; de éstos, los componentes del polvo casero ocupan un lugar preponderante. El principal microorganismo presente en el polvo casero capaz de desencadenar enfermedades alérgicas es el ácaro del polvo o *dermatophagoides*, el cual pertenece a la familia Acaridae. Las principales especies son el *pteronisinus*, el *farinae* y la *Blomia*. (3,4,5,6,7,8,9,10).

El asma afecta aproximadamente a 10 millones de personas en los Estados Unidos. La tasa de prevalencia es similar en otros países industrializados, pero parece ser más baja en otras áreas del mundo menos desarrolladas.(4,5) Por razones que no enteramente se aclaran, la preponderancia de asma a aumentado en la década pasada. En algunos pacientes, el asma no es un problema durante la mayor parte del día, pero ocasionalmente ocasiona ataques severos súbitos que necesitan las visitas no programadas a los hospitales y requiere manejo de corticoesteroides sistémicos. Los individuos afectados pueden tener una morbilidad considerable y el asma puede producir la muerte en algunos pacientes. La incidencia de asma y muertes por asma esta creciendo en todo el mundo. No obstante la mayoría de los pacientes nunca experimentan episodios que pongan en peligro la vida. Por otra parte la asistencia de los individuos con asma grave –habitualmente individuos jóvenes y además sanos con insuficiencia respiratoria inminente o real- representan un desafío para los médicos internistas.(3,4,5,6)

En la patogenia del asma bronquial tienen que ver las células inmunitarias (Linfocitos T y Linfocitos B) que expresan su función como resultado de una serie compleja de fenómenos que tienen lugar en fases: (4,5,11)

- Fase de activación
- Fase de inducción
- Fase de proliferación
- Fase de diferenciación
- Fase de ejecución.

Tanto los linfocitos T como los linfocitos B realizan funciones inmunitarias, y cada uno de ellos, cuando recibe las señales adecuadas, pasa a través de estas fases en forma sucesivas hasta alcanzar sus funciones efectoras. La función efectora expresada puede ser el punto final de una respuesta, como la secreción de anticuerpos por una célula plasmática diferenciada, o puede servir como función reguladora que module otras funciones.

Una parte primordial para el inicio de dicha respuesta es la manera en que los linfocitos T y linfocitos B realizan el reconocimiento del antígeno. Las respuestas de anticuerpos a los alérgenos requiere del reconocimiento del antígeno por las células T colaboradoras y la colaboración entre linfocitos T y B específicos de antígeno. Esta colaboración entre los linfocitos T-B se denomina "interacción análoga", porque depende del reconocimiento específico del antígeno y de otras moléculas de superficie que interactúan en las dos células (4,6,8,10,12).

Una vez que ingresa el antígeno al organismo la respuesta inmunológica se inicia con la presentación de los antígenos, por medio de "células presentadoras de antígenos" que pueden ser monocitos, macrófagos y células B a las células T colaboradoras maduras (ThCD-4+) las cuales se activan liberando un perfil de citoquinas generando subgrupos de células T reguladoras que producen diferentes Interleucinas (IL), que pueden incrementar la respuesta inmune (IL-2, IL-3, IFN- $\gamma$ , IL-5 e IL-6) o incluso inhibirla (IL-4 e IL-10). Esta unión que se establece entre el antígeno y su receptor se denomina "ligando-receptor".

Se han descrito dos subpoblaciones: las células Th1 que a través de la producción de IFN- $\gamma$  suprime la síntesis de IgE y la proliferación de las células B, y la subclase Th2 que incrementa la producción de IgE y favorece la activación y quimiotaxis de

los eosinófilos. En el asma la subclase predominante es la Th2, por lo que se ha propuesto que la inflamación en el asma podría ser consecuencia de un predominio de células Th2 sobre las Th1.

Una propiedad general de los linfocitos, tanto células T como células B, es la necesidad de dos señales distintas para inducir la proliferación y diferenciación hacia células efectoras. La primera señal la proporciona la unión del antígeno al receptor del antígeno en la superficie celular. En el caso de las células T, esta primera señal la proporciona la unión del complejo péptido-molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) al receptor para el antígeno de la célula T (TCR). La segunda señal para la activación de la célula T es suministrada por moléculas coestimuladoras que son moléculas de superficie en la superficie de las "células presentadoras de antígenos" que se unen a receptores específicos en el linfocito T. (4,9,12,13,14,15)

Una de las vías coestimuladoras más importantes y mejor caracterizadas en la activación de la célula T implica la unión "ligando-receptor" de una molécula de superficie de la célula T llamada CD-28, la cual se une a las moléculas coestimuladoras B7-1 (CD-80) y B7-2 (CD-86) expresadas en las "células presentadoras de antígenos". El CD-28 suministra señales que estimulan la respuesta de células T al antígeno: El CD-28 se expresa constitutivamente en el 80% de las células ThCD4+. La cantidad de CD-28 que se expresa aumenta tras la estimulación de las células T. Se desconoce por completo la forma en que CD-28 favorece la activación de la célula T y probablemente implique varios mecanismos. Existe evidencia de que las señales mediadas por CD-28 aumentan la expresión de genes de citoquinas (IL-2), además parece proteger a las células T de sufrir muerte celular programada al incrementar la expresión de la proteína de supervivencia.

Otra molécula de la superficie de la célula T, llamada CD-152 (CTLA-4), se une también a B7-1 y B7-2 pero, a diferencia del CD-28, transmite señales que inhibe la activación de la célula T. El CD-152 no es detectable en la superficie de las células T en reposo, su expresión es inducida después de la activación de la

célula T, alcanzando niveles máximos a las 48 horas. Se une a B7-1 y B7-2 con mayor afinidad que el CD-28.

Las señales bioquímicas generadas por CD-28 y CD-152 están incompletamente caracterizadas. Si bien no se conocen todos los detalles aún, está claro que la vía CD-28/CD-152-B7-1/B7-2 superpone a la vía de activación por receptor del antígeno de la célula T un sistema complejo de regulación que garantiza que las respuestas inmunitarias estén activadas cuando se necesiten y desactivadas cuando estas no se requieran.

La activación de las células T inducida por el antígeno lleva a la producción de muchas y diferentes moléculas secretadas y de superficie de las células, que poseen varias funciones efectoras y reguladoras. Una de estas proteínas de superficie inducida por activación que influye profundamente en la forma en que la célula T interactúa con otras células del sistema inmunitario es el ligando de CD-40 (CD-40L). Esta proteína se expresa horas después de la estimulación por el antígeno de la célula T uniéndose al CD-40, que es un receptor de superficie de otras células.(15,16)

Otra molécula de adhesión accesoria es el CD-11a que es una molécula de adhesión leucocitaria que pertenece a la superfamilia de las integrinas y reconoce a la molécula de adhesión intercelular 1 o ICAM-1 (CD-54, en la nomenclatura internacional). Esta molécula permite el rodamiento de los linfocitos a lo largo de las células endoteliales. No es una molécula coestimuladora pero aumenta el efecto de otras señales.

Por otra parte, el contacto físico entre las células B y los linfocitos T para la generación de respuesta de anticuerpos se sospechó por primera vez cuando se descubrió que la función colaboradora de los linfocitos T no podía ser reemplazada por sus productos secretados. Diversos estudios demuestran que los linfocitos T activados expresan una molécula de membrana que se une a un receptor de los linfocitos B, y esta interacción proporciona el estímulo que pone en marcha las respuestas de las células B (CD-40:CD-40L). La interacción del CD-40:CD-40L desencadena señales bioquímicas intracelulares en las células B que

son necesarias para que las células continúen su proceso de activación, proliferación y diferenciación de las células B.(17,18)

El CD-40L es miembro de la superfamilia de moléculas que engloba a los receptores del factor de necrosis tumoral (TNF) y a una proteínas llamada "Fas". Este ligando es necesario para la activación del linfocito B mediado por célula T. De hecho, en la activación del linfocito B se requieren de dos señales, la primera señal la proporciona la unión del antígeno a la inmunoglobulina de superficie, y la segunda señal la unión del CD-40 al CD-40L. Aunque el CD-40L se expresa principalmente en las células T activadas de fenotipo colaborador, se sabe ahora que el CD-40 se encuentran en muchos tipos de células, entre ellas células B, monocitos, células dendríticas foliculares, células epiteliales, fibroblastos entre otras. En todos los casos, la unión del CD-40L induce respuestas de activación en las células que expresan CD-40, como es la proliferación y el cambio de isotipo de las células B; la estimulación en los monocitos de la secreción de citoquinas y la actividad microbicida; y un aumento de la expresión de las moléculas de adhesión en células endoteliales.(17,18,19)

Especialmente importante en la activación de las células T, es la regulación positiva mediada por CD-40 de B7-1 y B7-2. Esto se produce en los tres tipos de "células presentadoras de antígenos" profesionales (células B, células dendríticas y monocitos). Por lo tanto, a través de las interacciones CD-40:CD-40L, las células T activadas pueden amplificar más aún las respuestas de células T al antígeno estimulando la función coestimuladora de las "células presentadoras de antígeno". Del mismo modo el reconocimiento del antígeno por las células B estimula la expresión de coestimuladores [B7-2 y B7-1 en orden de aparición (CD-86 y CD-80 en la nomenclatura actual)] que son reconocidos por el CD-28 en las células Th CD4+ que, al mismo tiempo, están interactuando con los complejos péptido-complejo de histocompatibilidad mayor de clase II de las células B, provocando de este modo una mayor activación de las células T.

La interacción entre las células T auxiliaadoras y las células B es bidireccional. Ya que la expresión de B-7 y CD-40L son dependientes de la estimulación mediada

por un antígeno, sólo los linfocitos específicamente estimulados por él mantienen la especificidad de la respuesta inmunitaria.(17,19)

Otro ligando importante es el descrito por Kanegane, conocido como L-selectina<sup>b</sup> (CD-62L) en células CD4+ el cual nos permite el discriminar clonas Th1 y Th2 ya que solo las células Th2 expresan este marcador.(20)

La selectina-L o CD-62L actúa como receptor de asentamiento para los linfocitos en las vénulas endoteliales altas de los ganglios linfáticos, sin embargo se expresa también en otros leucocitos. En los neutrófilos, sirve para unir a estas células a las células endoteliales que son activadas por las citoquinas (TNF- $\alpha$ , IL-1 e IFN- $\gamma$ ) que se encuentran en los focos inflamatorios. Se cree que el reconocimiento por la Selectina-L (CD-62L) de su ligando ocurre rápidamente pero esta unión es de baja afinidad; esta propiedad permite que el CD-62L medie la unión inicial y el posterior rodamiento de los neutrófilos en el endotelio en la cara de la corriente sanguínea. El CD-62L se localiza en los extremos de las proyecciones de las microvelocidades de los leucocitos, facilitando su interacción con ligandos del endotelio. El ligando de la célula endotelial CD-34, que es un proteoglucano de las células endoteliales y células de la médula ósea, puede unirse al CD-62L.(21)

La expresión de CD-62L en el endotelio puede requerir de una amplia exposición a la citoquina, típico de las vénulas endoteliales altas de los ganglios linfáticos. En los focos inflamatorios periféricos, el CD-62L de los neutrófilos puede contribuir indirectamente al rodamiento al presentar carbohidratos ácidos complejos como el Lewis-sialilado, a la selectina-E o a la selectina-P en la célula endotelial.

Existen diferencias entre las tres clases de selectinas (E, L y P), lo cual sirve para conferir diferencias tanto en la especificidad de unión como en la expresión tisular. Sin embargo se cree que las tres selectinas en conjunto median una rápida unión de baja afinidad de los leucocitos al endotelio, una fase precoz e importante en el aislamiento de los leucocitos. (15,21,22)

---

<sup>b</sup>.- Las selectinas, llamadas a veces moléculas de adhesión de tipo lectina son una familia de tres proteínas independientes pero muy relacionadas que media la adhesión de los leucocitos a las células endoteliales. Un miembro de esta familia de moléculas se expresa en los leucocitos y los otros dos miembros en las células endoteliales. Todos participan en el proceso de unión leucocito-endotelio.

Se han reforzado los conocimientos de las funciones fisiológicas de las selectinas gracias a los estudios en ratones con inhibición génica selectiva. En el caso de la inhibición selectiva de la selectina-L, los ratones poseen ganglios linfáticos pequeños y mal formados y muestran un defecto en la inducción de respuesta inmunitaria dependiente de células T y reacciones inflamatorias.(21) (Tabla 1).

Las células T producen varias citoquinas, que son una serie larga y creciente de mediadores solubles de carácter proteico que sirven fundamentalmente para regular el crecimiento y la diferenciación de diversas poblaciones de linfocitos desempeñando un papel importante en la fase de activación de la respuesta inmunitaria dependiente de células T; así como modulación de otras reacciones inmunológicas y la participación de otras células y sistemas durante el curso de una respuesta inmunitaria. Debido a que muchas de estas citoquinas son producidas por ciertas poblaciones de leucocitos -como respuesta a la interacción con un antígeno específico, un antígeno inespecífico o un producto estimulante soluble específico- a estas moléculas se les llama interleucinas. De estas es de importancia la interleucina 4 (IL-4) cuya función fisiológica principal es regular las reacciones inmunitarias mediadas por IgE y mastocitos /eosinófilos a través de su unión con su proteína receptora conocida como CD-124, esta unión se cree que permite una estimulación en la producción de IgE que desempeña un papel importante en la defensa frente a las infecciones por helmintos, desempeñando un papel crítico en las reacciones inflamatorias mediadas por IgE y eosinófilos.(17,20,23,24,25)

La interacción de antígenos y de linfocitos inmunocompetentes es el protagonista principal de una respuesta inmune. Generalmente un número de interacciones celulares es requerido para efectuarse una reacción por completo. Estas pueden ocurrir no solamente entre varias clases de linfocitos y células (leucocitos mononucleares y polimorfonucleares) (Tabla 2).

Otras interacciones incluyen:

- La presentación por los macrófagos de antígenos a linfocitos T o B.
- Aumento de la actividad microbicida de los macrófagos mediante células T activadas por antígenos en la resistencia celular a infecciones, y
- Reclutamiento de mononucleares y polimorfonucleares, nuevamente mediante células T activadas por antígeno, en reacciones mediadas celularmente semejante a la hipersensibilidad retardada.

La colaboración entre linfocitos se ha documentado tanto en la inmunidad celular como en la humoral, entre varias clases de linfocitos T así como entre linfocitos T y B.(Tabla 2)

En las personas que sufren de asma causado por una respuesta alérgica, una variedad de eventos que todavía no se entienden por completo, conduce a la inflamación y la hiperreactividad en las vías respiratorias. Los conductores de esta orquesta de factores del sistema inmunitario parecen ser los linfocitos T auxiliares (Th2) las cuales producen interleucinas (IL), que como ya explicamos, son un subgrupo de los factores inmunes conocidos como citoquinas. (12,13,25,26,27)

Uno de los mecanismos efectores más poderosos del sistema inmunitario es la reacción dependiente de IgE que involucra a los mastocitos tisulares y a los basófilos. Cuando el antígeno se une a las moléculas de inmunoglobulina E (IgE) previamente fijada a las superficies celulares, se produce una rápida liberación de una gran variedad de mediadores que, en conjunto, producen un aumento de la permeabilidad vascular, vasodilatación, contracción del músculo liso bronquial y visceral, e inflamación local. (1) Esta reacción se conoce como "hipersensibilidad inmediata."



**Tabla 1.- Características de las moléculas CD a estudiar. (15,16,21,22)**

DESIGNACIÓN CD	ESTRUCTURA MOLECULAR	PRINCIPAL EXPRESIÓN CELULAR	FUNCIONES CONOCIDAS O PROPUESTAS
CD-11a	180 kD Se asocia al CD-18 para formar la integrina LFA-1	Leucocitos	Adhesión
CD-23 (FcεRIIB)	45 – 50 kD	Células B activadas, macrófagos.	Receptor Fcε de baja afinidad, inducido por IL-4; función desconocida.
CD-28	Homodímero de cadena de 44 kD	La mayoría de las células T. Algunas células plasmáticas.	Receptor de las células T para las moléculas coestimuladoras B7-1, B7-2.
CD-30	105 kD	Células T y B activadas; las células de Reed-Sternberg en la enfermedad de Hodgkin	Papel en la muerte celular por activación; miembro de la familia del TNF-R
CD-40	Heterodímero de cadenas de 44 y 48 kD	Células B, macrófagos, células dendríticas, células endoteliales, células epiteliales	Papel en la activación de la célula B y del macrófago inducido por el contacto con la célula T; receptor para el ligando CD40 de la célula T; miembro de la familia Fas/TNF-R
CD-62L	90 – 110 kD	Leucocitos (la expresión en células T es alta en células vírgenes, generalmente baja en células de memoria)	Acentamiento de células T vírgenes. Adhesión leucocito-endotelial; asentamiento de células T vírgenes en los ganglios linfáticos periféricos.
CD-124	130 kD	Células B Mastocitos Eosinófilos	Regular las reacciones inmunitarias mediadas por IgE y mastocitos/eosinófilos
CD-152		Células T	Regulador negativo de la coestimulación celular T. Ligando con CD-80 y CD-86.

**Tabla 2.- Interacción celular en Inmunología.(14,18,26,27,28)**

Tipo de Interacción (Células involucradas)	Dirección De la actividad	Modo De interacción.
Colaboración entre linfocitos	Célula T ↔ Célula T	Las células T promueven o suprimen funciones de otros linfocitos sean T o B.
	Célula T ↔ Célula B	
Interacción entre Linfocitos y células Accesorias	Macrófago ⇒ Célula T	Presentación de antígenos y reclutamiento de linfocitos
	Macrófago ⇒ Célula B	
	Célula T ⇒ Macrófago	Actividad microbicida
	Célula T ⇒ Polimorfonuclear	Reclutamiento de células inflamatorias.
	Célula T ⇒ Mononuclear	

En los últimos años se han estudiado ampliamente los mecanismos que regulan las síntesis de la IgE humana, una de estas es el de la colaboración de los subtipos de las células auxiliaoras (Th) CD4+ y las células B.(25) Durante un ataque alérgico la IgE se une a varias células en el sistema inmunitario, incluyendo a las células eosinófilas, basófilas y mastocitos, que se encuentran generalmente en los pulmones, la piel y las membranas mucosas. La unión con los mastocitos provoca la liberación de varios químicos, en particular aquellos conocidos como leucotrienos, que causan cambios inflamatorios en las vías respiratorias inferiores, con la consecuente reducción del diámetro de las vías respiratorias, incremento en la producción de moco y la estimulación de las terminaciones del nervio en el recubrimiento de las vías respiratorias.(29)

La IgE se encuentra ligada a la membrana del mastocito por un receptor de alta afinidad llamado receptor FcεRI, otro de baja afinidad denominado receptor FcεRII (CD-23). Este último receptor tiene dos isoformas, una el FcεRIIa que se encuentra solamente presente en las células B y el FcεRIIb que se expresa en células T, monocitos, macrófagos, células de Langerhans, células dendríticas, eosinófilos y plaquetas (25,30) y que estarían implicados en la regulación de las respuestas mediadas por IgE por parte de las células T (13). En el año de 1994 Hill y Cookson dieron a conocer que la variante Fcε RIIb estaba asociada a la

atopia y a la hiperreactividad bronquial. (31) Los anticuerpos IgE alérgico-específico se une a los receptores tipo I de alta afinidad (FcεRI) que están en la superficie de los mastocitos o basófilos y FcεRI alérgico-inducido; la unión cruzada provoca la liberación de mediadores vasoactivos, factores quimiotácticos y citocinas que, en turno, disparan la cascada alérgica.(32,33)

En años recientes se han estudiado intensamente las propiedades funcionales de las células T auxiliaoras (Th) en el mecanismo de unión de las células B productoras de IgE, las células cebadas o los basófilos y eosinófilos en reacciones alérgicas. Estos conceptos son conocidos en la actualidad en alergia como la teoría de la Th2.(12,13)

Con referencia a lo anterior, se conoce que las células Th se subdivide en una subpoblación Th1 que controla el desarrollo de la respuesta celular, y una subpoblación Th2 que controla el desarrollo de la respuesta humoral. Un desbalance en estas subpoblaciones predispondrá al desarrollo de una hipersensibilidad inmediata. La subpoblación Th2 se acumula en los órganos blanco de los pacientes atópicos; lo que explica que la exposición a los alérgenos reclute y active a las células Th2 en estos sujetos.(29)

Sergio Romagnani en 1991, con relación al papel de la Th y CD4 en la alergia determinó que las poblaciones de linfocitos CD4+ respondían a los antígenos funcionalmente como células Th1 productoras de IL-2, Interferon  $\gamma$ , Factor de necrosis tumoral que son primordialmente responsables de los fenómenos inflamatorios- y como una población Th2 productora de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 –involucradas en la formación de anticuerpos y la maduración y especificidad de los mismos y, análogamente, se estimulan en forma autócrina a través de la IL-4-, así como una población Th0 que produce ambos patrones de citocinas. (12)

Las células ThCD4+ provee a las células B con, al menos, dos señales: una de la producción de citocinas, como la interleucina 4 (IL-4) y la interleucina 13 (IL-13), derivadas de las células B(13,20,30) que pueden inducir expresión de línea germinal en las células B. La otra señal requerida para la síntesis de la proteína IgE está dada por una interacción física célula-célula, Th-célula B, esta

introducción ocurre en el CD40L, expresando en la célula Th activada y la molécula CD40 constituida, expresada en la célula B.(17,19)

Las células T pueden promover o suprimir la función de otros linfocitos, dependiendo de las circunstancias y el tipo de clonas Th: Th1 o Th2.

Por lo anterior muchos de los investigadores creen ahora que el asma debería considerarse como una enfermedad inflamatoria. Desde este punto de vista, la lesión primaria en el asma es la acumulación de células Th2 CD4+, basófilos y eosinófilos en la mucosa de las vías aéreas, un ejemplo de reacción de fase tardía. Se piensa que la hipertrófia de células musculares lisas y la hiperreactividad son el resultado de mediadores y citoquinas derivadas de los leucocitos. La secuencia fisiopatológica puede ponerse en marcha tras la activación de los mastocitos en respuesta a la unión del alérgeno con la IgE. Las citoquinas derivadas de los mastocitos producen el reclutamiento de eosinófilos, basófilos y células Th2.(10) Los mastocitos, basófilos y eosinófilos generan mediadores que contraen el músculo liso de las vías aéreas.

Del Prete señaló que el número de células Th2 de la mucosa de la vía aérea de pacientes alérgicos con alteraciones respiratorias reflejaba una respuesta de células T a los alérgenos inhalados. Para demostrar lo anterior obtuvo biopsias de bronquio o moco nasal de individuos con asma bronquial o rinitis inducida por polen de pasto 48 horas después de la exposición a extracto de polen. Las clonas de células T derivadas de éstos y de especímenes controles se evaluaron por su fenotipo, especificidad alérgica, perfil de secreción de citocinas y habilidad para proveer para la síntesis de la IgE a la célula B. Se encontró que una proporción del 14 a 22% de clonas de las células ThCD4+ derivadas de la mucosa estimulada fue específica para los alérgenos del pasto; muchas de ellas exhibieron una clara división del perfil Th2 y la inducción de la síntesis de IgE en las células B autólogas de la sangre periférica. En contraste, ninguna de las clonas de las células T derivadas de los tejidos controles fue específica para alérgenos de pasto, y sólo una minoría de ellas manifestó fenotipo Th2. Estos hallazgos proveen pruebas convincentes de que las células Th2 específicas para el alérgeno relevante aparecen pronto en la mucosa después de la inhalación del alérgeno. En

estas células, el perfil de citocinas puede jugar un papel disparador en el inicio de la cascada alérgica.(34)

Los eosinófilos también están involucrados en la patogénesis de los padecimientos alérgicos, ya que estas células se acumulan en los sitios de la inflamación alérgica y los productos tóxicos que se liberan contribuyen al daño tisular. La activación de los eosinófilos está bajo el control de las células T (subpoblación Th2) que regulan la síntesis de IgE. La acumulación preferencial de eosinófilos deriva de las acciones de la IL-3, IL-4, IL-5, y factores estimulantes de las clonas de granulocitos y macrófagos (GM-CSF).

Los eosinófilos activados por IgE liberan sustancias capaces de dañar directamente el tejido pulmonar como son los radicales libres y las proteínas granulares, entre las que destaca la proteína catiónica del eosinófilo, marcador específico de su activación. La activación eosinofílica también determina la liberación de otras citocinas (IL-3, IL-5, GM-CSF) que favorecen su propia quimiotaxis, activación y supervivencia.

La razón por la cual los alérgenos solubles y algunos componentes de helmintos promueven la diferenciación de células Th en fenotipo Th2 es menos clara. La aparición de microambiente de IL-4 con ausencia o bajas concentraciones de INF- $\gamma$  representa, al parecer, una situación favorable para el desarrollo de células Th2. El otro componente necesario para el desarrollo de dichas células, la aparición de IL-4, plantea la importante pregunta de la fuente celular de la IL-4. Desde que las células T parecen incapaces de diferenciar las células productoras de IL-4 en ausencia de IL-4, puede estar involucrada la producción de IL-4 por las células no-T. Las células no-T del bazo del ratón y la médula ósea humana probablemente correspondientes al linaje de mastocitos/basófilos pueden liberar IL-4. Esta producción de IL-4 de células del linaje de mastocitos/basófilos pueden muy bien reflejar un medio a través del cual las células Th2 pueden ser notablemente amplificadas in vivo durante la reacción alérgica y las infestaciones parasitarias. Si estas células juegan también un papel en la respuesta primaria a Th2, falta que sea establecida.(24)

En adición, muchos estudios puntualizan que la respuesta Th2 está comprometida en la patogénesis de las enfermedades alérgicas, principalmente a través de la secreción de IL-4/IL-3 e IL-5, las cuales son responsables de la síntesis de IgE y de la función de los eosinófilos. Existen datos que apoyan el papel patogénico de las células Th2 alérgeno-reactivas en padecimientos alérgicos como son las siguientes: (Tabla 3)(35)

**Tabla 3.- Características de las Células Th2**

- Los alérgenos preferentemente expanden células Th mostrando un perfil Th2
- Las células Th2 se acumulan en los órganos blanco de pacientes alérgicos.
- El reto con alérgenos resulta en la activación local y el reclutamiento de células Th2 alérgeno-específicas.
- Las células Th2 reactivas al alérgeno expresan en su membrana CD30 un marcador de activación preferente relacionado con la producción de citocinas tipo Th2; aparecen en la circulación de pacientes alérgicos durante la exposición estacional al alérgeno.
- El suceso específico de la inmunoterapia relacionada con la regulación negativa.
- De las células Th2 alérgeno-reactivas y/o con la regulación positiva de las células Th1 alérgeno-reactiva.

Basado en observaciones experimentales en roedores, se ha postulado que los diferentes tipos de respuesta inmune se encuentra mediada por la predominancia de una de los dos subtipos de células T auxiliaadoras (Th1 y Th2). Datos más recientes indican que la situación en los humanos es mucho más compleja con algunos misterios y constantes paradojas. No obstante se ha realizado una intensa investigación sobre la intervención de las células Th1/Th2 en las lesiones de varias enfermedades en un intento para comprender mejor la patogénesis y de esta manera planear terapias más efectivas: Por ejemplo, en el asma y los desordenes alérgicos se ha considerado un desorden predominante de las células Th2 con secreción predominante de citocinas IL-4 (con la estimulación de la secreción de IgE) e IL-5 (que activan y prolongan la vida de los eosinófilos). No

obstante, no se ha observado de manera directa a marcadores celulares para células Th2.(24,36)

## **2.- JUSTIFICACION:**

Al estudiar el papel de los subtipos de Th1 y Th2 en diferentes estados del padecimiento nos enfrentamos a la falta de marcadores auxiliares capaces de identificar estos subtipos celulares. Para superar este problema, se han diseñado algunas posibilidades como el propuesto por Pene y col. (32) al clasificar un panel de grandes clonas de las células ThCD4+ humanas con perfiles establecidos de secreción de citosina Th1, Th2 o Th0, para la expresión de diferentes antígenos de superficie que se conocen como "grupo de diferenciación" (CD: Cluster of differentiation). Se utilizó un anticuerpo monoclonal específico para CD30, un miembro de la también llamada superfamilia de factor de necrosis tumoral (TNF) (37), ya conocido por encontrarse en la superficie de la membrana de las células de Reed-Stemberg y de Hodgking (38). Algunos autores encontraron que las clonas Th1 mostraban baja o indetectable expresión de la proteína CD30, mientras que las clonas Th2 expresaban grandes cantidades de CD30 en su superficie y liberaban cantidades detectables de CD30 solubles. Las clonas Th0 mostraron un patrón intermedio de la expresión y liberación de CD30. Además esta expresión de CD30+ se ha observado en:

- El alérgeno de pasto Lolp I, que inducía una producción con la exposición estacional a polen de pasto y aparición de síntomas alérgicos (39,40).
- Individuos infectados con HIV (41) en donde se identificaron concentraciones elevadas de la forma soluble de CD30 en suero, y
- Pacientes alérgicos que mostraban una IgE sérica elevada.

Mientras que Sergio Romagnani y colaboradores en Florencia, Italia, han demostrado la presencia del CD30, una glicoproteína de superficie expresada predominantemente en las células Th2 (dependiente de IL-4) pero no expresada

por las células Th1. Sin embargo el CD30 es expresado en algunas células CD8+, células T y B activadas por ciertos virus. No obstante, en tejidos de ciertos lugares en particular la frecuencia de la expresión de CD30 es fuerte, tomándose como un indicador indirecto de la secreción de IL-4, y por implicación, si una respuesta predominantemente de células Th2 se encuentra presente en esos sitios comparados con una respuesta predominante de células Th1 vista en reacciones de hipersensibilidad retardada a antígenos como los de la tuberculina. En una revisión reciente, el grupo de Romagnani describe observaciones recientes de que la interacción de CD30 con su ligando (CD30L) puede aventajar la apoptosis de células que expresan CD30, jugando un papel en la selección negativa de algunos subgrupos de células T durante la maduración intratímica.(36)

El CD30+ parece involucrado en la vía de la diferenciación / activación de las células Th2 y puede representar un marcador para las células T productoras de citocinas tipo Th2. (39,40)

Por otra parte Kanegane propuso que el CD-62L en células ThCD4+ es capaz de discriminar clones Th1 y Th2 ya que las células Th2 son las que expresan este marcador.(42)

Como se ha mencionado ya anteriormente el CD-62L actúa como receptor de asentamiento para los linfocitos en las vénulas endoteliales altas de los ganglios linfáticos, sin embargo se expresa también en otros leucocitos.

Se han reforzado los conocimientos de las funciones fisiológicas de las selectinas gracias a los estudios en ratones con inhibición génica selectiva. En el caso de la inhibición selectiva de la selectina-L, los ratones poseen ganglios linfáticos pequeños y mal formados y muestran un defecto en la inducción de respuesta inmunitaria dependiente de células T y reacciones inflamatorias.(21)

Siendo la expresión de los grupos de diferenciación (CD) una manifestación del tipo celular al que pertenecen, y asumiendo que las células Th1 y Th2 se encuentran involucradas en el proceso inflamatorio, y que actualmente contamos con marcadores para detectar su expresión, como son los CD, cabe por analogía considerar que estos también se encuentran alterados en el asma agudo además de ser un proceso alérgico e inflamatorio.



Se propone este protocolo a fin de tratar de registrar si existen alguna relación entre los CD y el grado de severidad del proceso asmático.

### **3.- DEFINICIÓN DE TERMINOS UTILIZADOS.**

**Atopia.** Aquí es empleada para definir la exhibición, por un sujeto, de una o más pruebas reacciones dérmicas positivas para alergenios comunes.

**Asma.** Síndrome clínico que se caracteriza por una tríada clínico-patológica de obstrucción intermitente y reversible de las vías aéreas, inflamación bronquial crónica con eosinófilos e hiperreactividad de la célula muscular lisa bronquial a los broncoconstrictores.(11)

Los episodios de broncoconstricción son recurrentes, y las vías aéreas de los pacientes con asma muestran cambios crónicos, un gran aumento en la cantidad de células musculares lisas, mayor cantidad de células productoras de moco y un mayor depósito de tejido conectivo –membrana basal- por debajo del epitelio bronquial. (3,11)

**Asma atópico.** Padecimiento asmático que se acompaña de reacciones cutáneas positivas a uno o más alergenios.

**Asma leve.** Enfermedad inflamatoria caracterizada por aumento de la reactividad de la tráquea y bronquios a diversos estímulos, que da lugar a un difuso de las vías respiratorias, reversible, cuya gravedad cambia espontáneamente o como resultado a la terapéutica. Esta peculiaridad condiciona la evolución por crisis de la enfermedad. (11)

**Asma severo o estado asmático.** Se le define de distintas formas pero se puede resumir como evidencia de obstrucción persistente y grave de la vía aérea y síntomas asmáticos a pesar de una serie estándar de tratamiento para el asma agudo. Es la forma grave del asma agudo que se encuentra presente cuando los pacientes no mejoran después de media hora o una hora de intenso tratamiento con broncodilatadores. El asma severo agudo usualmente se desarrolla en paciente con un pobre control del asma con persistencia de la obstrucción de la

vía aérea. La respuesta a los  $\beta$ -agonista es pobre con frecuencia, pero la condición mejora con el empleo de esteroides. (11)

**Asma que pone en peligro la vida.** También denominada como asma fatal o asma potencialmente fatal. Se le puede definir como una obstrucción asmática de la vía aérea con insuficiencia ventilatoria que se manifiesta como hipercapnia relativa. El asma fulminante, hiperagudo, se desarrolla rápidamente, usualmente en individuos con limitación de la vía aérea o limitación crónica de la vía aérea. Esto puede amenazar la vida en minutos pero responde rápidamente a la terapia broncodilatadora agresiva. (11)

**“Grupo de diferenciación” o CD (Cluster of differentiation).** Proteínas antigénicas que sirven como marcadores fenotípicos de las diferentes poblaciones linfocitarias. CD significa “grupos de diferenciación” (del inglés *cluster of differentiation*) y se refiere a las moléculas reconocidas por un “grupo” de anticuerpos monoclonales que pueden utilizarse para identificar la estirpe o estadio de diferenciación de los linfocitos, y así distinguir una clase de linfocitos de otra.(12,13,29). Las moléculas de superficie celulares reconocidas por anticuerpos monoclonales se llaman “antígenos”, ya que se pueden crear anticuerpos contra ellos, o “marcadores”, cuando son reconocidas por anticuerpos específicos permitiendo el identificar y discriminar a las células entre diferentes poblaciones celulares.(43)

**IgE.** Es una proteína sérica, subclase de inmunoglobulina, que consta de una estructura tetrapeptídica básica en forma de Y, compuesta por dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas unidas por enlaces intercatenarios de tipo puente disulfuro. Cada una de estos tipos de cadenas constan de regiones constantes y regiones variables. Las regiones variables se encuentran situadas en los extremos distales de los brazos de la Y; reciben este nombre debido a la amplia diversidad de los aminoácidos que allí se encuentran, que determina a su vez, la capacidad de la inmunoglobulina para combinarse con el antígeno. La región constante contiene una secuencia de aminoácidos relativamente constante y distinta para toda clase de inmunoglobulina. (44)

Es un componente menor de las proteínas séricas y tiene el menor rango de síntesis de las diferentes clases de inmunoglobulinas conocidas. Circula como un anticuerpo bivalente y se encuentra normalmente presente en el plasma a una concentración menor de 1 mcg/ml. En condiciones patológicas como es la infección por helmintos y en las atopias graves, este nivel puede aumentar por encima de los 1,000 mcg/mL. Los anticuerpos de esta clase son los mediadores antígeno-específicos de las reacciones de hipersensibilidad de tipo inmediato y por lo tanto tienen efectos biológicos extremadamente potentes. (1,25) Existe una diferencia crucial en la producción de IgE entre los diferentes individuos atópicos y los normales: los primeros producen grandes cantidades de IgE en respuesta a determinados antígenos, mientras que los segundos generalmente sintetizan otros isotipos de Ig, como es la IgM y la IgG, y sólo pequeñas cantidades de IgE. Existen cuatro factores que interactúan entre sí contribuyen a la regulación de la síntesis de IgE:

- La herencia
- La evolución natural de la exposición al antígeno
- La naturaleza del antígeno y la forma de la respuesta
- Las células T colaboradoras y sus citoquinas.

**Eosinofilia periférica y tisular.** Los eosinófilos son granulocitos derivados de la médula ósea cuyos gránulos contienen proteínas básicas que fijan colorantes ácidos como la eosina. De hecho, las dos proteínas principales de los gránulos del eosinófilo se llama proteína mayor básica y proteína catiónica del eosinófilo. La proteína mayor básica es tóxica para los helmintos pudiendo también causar daño a los tejidos normales. (1,25,29). Por años se ha considerado que la presencia de eosinofilia es un indicador de que se ha sufrido lo que se ha determinado vagamente como “una diátesis alérgica” o una infestación parasitaria; y es verdad que la presencia de eosinofilia señala uno de esos estados en la mayoría de los pacientes. (45) La rinitis alérgica, el asma bronquial, la alergia gastrointestinal, y las reacciones a medicamentos pueden asociarse con eosinofilia en la sangre

periférica, en las secreciones corporales o en los tejidos. La presencia y el grado de eosinofilia se ha empleado en el diagnóstico diferencial y como un instrumento para valorar la severidad de la enfermedad.

Tiene importancia en ciertas parasitosis y es la responsable de los síntomas de la alergia atópica. La rinitis alérgica, el asma bronquial, la alergia gastrointestinal, y las reacciones a medicamentos pueden asociarse con eosinofilia en la sangre periférica, en las secreciones corporales o en los tejidos. La presencia y el grado de eosinofilia se ha empleado en el diagnóstico diferencial y como un instrumento para valorar la severidad de la enfermedad. Desdichadamente, esto no es tan sencillo como se dice. Es posible, por instancia, para fundamentar una acumulación masiva de eosinófilos en la secreción nasal, cuando los eosinófilos circulantes se encuentran dentro de límites normales. En efecto, la cantidad de eosinófilos circulantes puede ser tan pequeño después de la administración de antígenos para sensibilizar al individuo. Es más, la eosinofilia, cuando se asocia con frecuencia a reacciones alérgicas, no provee *per se* ningún indicio de la naturaleza del antígeno.

#### **4.- HIPOTESIS:**

Al ser un estudio transversal exploratorio no se requiere de hipótesis. No obstante, proponemos que siendo la expresión de los grupos de diferenciación (CD) una manifestación del tipo celular al que pertenecen, y asumiendo que las células Th1 y Th2 se encuentran involucradas en el proceso inflamatorio, y que actualmente contamos con marcadores para detectar su expresión, como son los CD, cabe por analogía considerar que estos también se encuentran alterados en el asma agudo además de ser un proceso alérgico e inflamatorio.

Se propone este protocolo a fin de tratar de registrar si existen alguna relación entre los CD y el grado de severidad.

## 5.- DISEÑO DEL ESTUDIO:

Este es un estudio piloto inicial, de corte transversal analítico, para determinar si efectivamente el nivel de expresión de los "grupos de diferenciación" se correlaciona con la severidad del asma en un grupo de pacientes adultos (mayores de 18 años), que acudió al servicio de Urgencias Adultos del Hospital Regional "1° de Octubre" del I.S.S.S.T.E, durante un periodo de ocho meses.

## 6.- MATERIAL Y METODO:

De la población de pacientes que ingresaron al servicio de Urgencias Adultos, entre los meses de Noviembre de 1999 y Junio del 2000, por presentar cuadro asmático agudo, se escogieron a diez pacientes con historia de asma alérgica, presentando cinco de ellos cuadro asmático leve y cinco con cuadro asmático severo, y que tuvieran una edad mayor de 18 años. Todos los pacientes seleccionados presentaban clínicamente datos de broncoespasmo.

Los criterios de inclusión fueron los siguientes:

- Ser mayor de 18 años de edad, sin importar su genero.
- Habérsele diagnosticado asma alérgica en un periodo de 6 años a la fecha (no aplicándose para el grupo control de sujetos sanos).
- Al momento de su ingreso estar padeciendo de un cuadro de descontrol asmático leve o severo.
- No haber recibido esteroides de cualquier tipo en los últimos 20 días antes del descontrol agudo.
- No haber recibido inmunoterapia los últimos 6 meses.
- Presencia de pruebas cutáneas para alérgenos positivas para ácaros del tipo *pteronisus* y *farinae*.

Los criterios de eliminación fueron:

- Haberse tomado muestras sanguíneas después de tres horas de haber ingresado al servicio de urgencias.
- Pádecir una enfermedad psiquiátrica.
- Imposibilidad para efectuar espirometría.

El criterio de exclusión fue:

- Resultado positivo de coproparasitoscopia en serie de tres muestras para cualquier parásito.

Una vez que se reunieron los criterios de inclusión se formaron tres grupos con cinco sujetos cada uno, dichos grupos fueron los siguientes: (a) grupo de sujetos sanos, (b) grupo de pacientes con asma leve y (c) grupo de pacientes con asma severa.

La severidad del asma en un paciente fue juzgada individualmente por la frecuencia y la cronicidad de los síntomas, la presencia de limitación persistente de la vía aérea y la medicación requerida para mantener su control.

En este estudio se definió como paciente con asma leve si presentó los siguientes criterios: (10,11,44)

- Sintomatología presente más de una vez a la semana sin ser diariamente.
- Exacerbación que puede afectar la actividad o el sueño.
- Sintomatología por la noche más de 2 veces por mes.
- Dificultad para hablar sin poder articular una frase corta sin respirar a su ingreso.
- Diaforesis.
- Frecuencia respiratoria  $\geq 20$  respiraciones por minuto a su ingreso.
- Taquicardia  $\leq 110$  latidos por minuto a su ingreso.
- Utilización de los músculos accesorios respiratorios al momento de su exploración física.
- Grado I o grado II de insuficiencia respiratoria detectado por resultados de gasometría arterial.
- Un flujo espiratorio  $\geq$  a 200 l/min ( $\geq$  al 80% del valor predicable, con una variación del 20 al 30%).

El paciente con asma severo se consideró si reunía los siguientes criterios:

- Síntomas continuos con exacerbaciones frecuentes.
- Sintomatología frecuente de asma nocturno.
- Limitación de la actividad física debido a la sintomatología asmática.
- Frecuencia respiratoria  $> 25$  respiraciones por minuto al momento de su ingreso.
- Frecuencia cardiaca  $> 110$  pulsaciones por minuto al momento de su ingreso.
- Flujo espiratorio entre 60 a 100 l/min ( $\leq 60\%$  de la predicción normal, con una variable mayor del 30%).
- Grado III de insuficiencia respiratoria detectada por resultado de gasometría arterial.

Los grados de insuficiencia respiratoria se definieron de la siguiente manera: (10,11)

Grado I: PaCO<sub>2</sub> 20 -35 mmHg

PaO<sub>2</sub> > 80 mmHg

Grado II: PaCo<sub>2</sub> 35 – 45 mmHg.

PaO<sub>2</sub> 60 – 80 mmHg.

Grado III: PaCO<sub>2</sub> 35 – 45 mmHg.

PaO<sub>2</sub> 40 – 60 mmHg.

Una vez que se decidió ingresarlos de manera primaria al estudio se procedió a realizar los siguientes exámenes de laboratorio: biometría hemática completa, determinación de IgE sérica, pruebas cutáneas para detectar la presencia de alergia a los ácaros ya señalados, coproparasitoscópico en serie de tres y una espirometría a los tres días posteriores a su ingreso.

Además de lo anterior se tomaron 20 mililitros de sangre periférica que se colectó en un tubo de ensaye con E.D.T.A. y se enfriaron a 4°C, para transportarlos en un lapso no mayor de tres horas al laboratorio de Bioquímica del I.N.E.R.

La técnica de aislamiento de células T se realizó de la siguiente manera: (46)

- ❖ Una vez recibida la muestra de sangre periférica se le centrifugo a 1,500 r.p.m. a 4°C durante 10 minutos.
- ❖ Se suspendió el botón de células en solución salina con buffers de fosfato o Geys/Hankks (PBS) a 4°C.
- ❖ Utilizando un volumen 2:3 y un radio de separación media de linfocitos (LSM) (Ficoll-Hypaque), el estrato estabilizado con una interfase aguda entre dos estratos, se centrifugo esta mezcla por 35 minutos a 500 xg, sin freno, para obtener la suspensión final de células T. La suspensión final de células obtenidas utilizando este protocolo puede dar preparaciones conteniendo más del 98% de células T.



Posteriormente estas células T fueron sometidas a citometría de flujo para detectar los CD de los linfocitos ThCD4+ de la siguiente forma: (47,48)

- ❖ Las células T fueron marcadas con fluorocromos isotiocinato de fluoroceína (FITC) (DAKO, Golstrup, Denmark), ficoeritina (PE) y PERCP (Becton & Dickinson, Immunocytometry, San José, CA).
- ❖ Se aplicaron anticuerpos monoclonales anti-CD-4, CD-11a, CD-30 y CD-62L.
- ❖ Se incubaron las células T durante 20 minutos a 4°C con el quit de separación de CD-4 magnéticamente conjugados a perlas magnéticas, se seleccionaron por medio de MIDI MACS (Magnetic Activated Cell Sorter), se recuperaron las células retenidas.
- ❖ Estas células retenidas se introdujeron a un FACScan (Becton & Dickinson), utilizando filtros FITC y PE.
- ❖ La lectura de fluoresceína se leyó de acuerdo a la longitud de onda de cada fluorocromo y se construyeron gráficas de puntos para el análisis estadístico de eventos celulares, contra unidades de fluorescencia relativa con el programa Cell Quest en Mac.

El análisis estadístico incluyó mediana, pruebas de ji cuadrada, prueba exacta de Fisher y las pruebas de hipótesis de diferencia se realizó en forma primaria con un análisis de Kruskal-Wallis y post hoc una prueba de U de Man Whitney con un nivel de significancia de 0.05 de dos colas. El paquete estadístico utilizado fue el SPSS 8.0 y EPI INFO 6.0

## **7.- RESULTADOS:**

Posterior a la invitación a participar en este estudio piloto se lograron reclutar un total de 16 pacientes distribuidos de la siguiente forma; cinco en el grupo control de sanos, cinco en el de asmáticos leves y seis en el de asmáticos graves, en este último grupo un paciente se eliminó por no reunir los criterios de inclusión.

Las características básicas de estos grupos se presentan en la tabla 4.

**Tabla 4.- Características básicas de los sujetos.**

Características	Grupo control	Grupo asma leve (n =5)	Grupo asma severa (n=5)	P
Sexo (H/M) §	3/2	4/1	2/3	NS
Edad*	23	19	47	NS
IgE UI/L*	5	295	126	0.002
Eosinófilos periféricos*	2.6	3.6	6.0	NS
Eosinófilos en moco nasal*	0	15	50	NS

\* Valores expresados en sus medianas.

§Relación hombre/mujer.

Los valores expresados de eosinófilos periféricos y de moco nasal son expresados en porcentaje.

Los resultados obtenidos por grupos se describen en las tablas 5,6, y 7; las cuales se presentan a continuación:

**Tabla 5.- Resultados obtenidos en los pacientes sanos:**

CD-62L	CD-30	CD-152	CD-11a	CD-124
75.1	1.6	0.07	99.0	0.3
66.5	2.6	0.04	99.5	0.9
60.7	2.6	0.16	96.9	0.1
59.0	1.3	0.21	99.5	0.3
67.7	2.9	0.07	96.1	0.8

**Tabla 6.- Resultados obtenidos en pacientes con asma leve:**

Paciente	CD-62L	CD-30	CD-152	CD-11a	CD-124
1	67.5	0.44	0.58	96.5	0.85
2	81.0	0.98	0.77	95.0	0.17
3	86.6	0.59	0.23	96.6	0.22
4	76.1	1.3	0.25	97.11	0.13
5	66.9	1.07	0.09	74.8	0.14

**Tabla 7.- Resultados obtenidos en pacientes con asma severa:**

Paciente	CD-62L	CD-30	CD-152	CD-11a	CD-124
1	14.5	5.5	1.77	97.7	0.89
2	18.3	4.2	4.30	99.1	0.08
3	10.0	2.4	0.93	99.4	1.06
4	14.0	3.1	0.61	99.6	1.02
5	13.4	0.2	1.07	99.8	0.80

Se observa un valor alto de CD-62L y CD-124 en los pacientes con asma leve, al mismo tiempo observamos valores disminuidos de estos mismos marcadores en los pacientes con asma grave. No obstante observamos valores disminuidos de CD-152 en los pacientes con asma leve y aumentado en los pacientes con asma grave, lo cual es paradójico con la teoría de este "grupo de diferenciación".

El CD-30 se encuentra elevado, predominantemente, en pacientes con asma grave, con valores disminuidos del CD-62 en el mismo grupo, mostrándose unos resultados de los mismos CD con valores invertidos en el grupo con asma leve.

Con relación a la determinación de IgE las diferencias entre todos los grupos fueron estadísticamente significativas con valores de p de 0.009.

Con relación a la determinación de CD en los grupos encontramos los siguientes resultados que se muestran en la tabla 8.

**Tabla 8.- Diferencias en la expresión de los CD en los grupos.**

Tipo de Ligando	Grupo control	Grupo de asma Leve	Grupo de asma Severa	Valor de p
CD-62L	66.5	76.1	14.0	0.004
CD-30	02.6	00.98	03.1	0.055
CD-152	7.00E-02	00.25	01.07	0.004
CD-11 <sup>a</sup>	99.0	96.5	99.40	0.021
CD-124	00.3	00.22	00.89	0.306

En las pruebas post hoc se encontró que las diferencias significativas se observaron entre sanos y leves fueron CD-152 ( $p=0.028$ ), entre sanos y graves CD-62L ( $p=0.009$ ) y CD-152 ( $p=0.009$ ) y entre leves y graves CD-62L ( $p=0.009$ ), CD-152 ( $p=0.016$ ) y CD-11a ( $p=0.009$ ).

## 8.- DISCUSIÓN:

En la literatura mundial no existen estudios epidemiológicos cuyo diseño permita conocer la prevalencia de la expresión de los ligandos entre los pacientes portadores de asma atópica. Por este motivo se decidió iniciar este estudio en los pacientes con asma alérgica como un compromiso institucional para la mejor atención de nuestros pacientes. En nuestro estudio no se valoró la prevalencia del asma aguda en nuestro hospital dado que este no era el objetivo de nuestro estudio, sin embargo la presencia de pacientes asmáticos en nuestra consulta diaria es elevada.

El presente estudio es un estudio piloto que pretendió encontrar alguna relación entre la expresión de los ligandos en un grupo de pacientes asmáticos.

Las características básicas se encontraron con respecto a la relación de sexo y edad distribuidos de manera homogénea, sin que esto represente, por lo tanto, algún factor que incrementara la respuesta inmunológica.

El estudio demuestra de manera inicial que sí existen diferencias en la expresión de determinados CD y que estos se pueden relacionar con la severidad del padecimiento, observándose los siguientes puntos:

**Tabla 8.- Diferencias en la expresión de los CD en los grupos.**

Tipo de Ligando	Grupo control	Grupo de asma Leve	Grupo de asma Severa	Valor de p
CD-62L	66.5	76.1	14.0	0.004
CD-30	02.6	00.98	03.1	0.055
CD-152	7.00E-02	00.25	01.07	0.004
CD-11 <sup>a</sup>	99.0	96.5	99.40	0.021
CD-124	00.3	00.22	00.89	0.306

En las pruebas post hoc se encontró que las diferencias significativas se observaron entre sanos y leves fueron CD-152 ( $p=0.028$ ), entre sanos y graves CD-62L ( $p=0.009$ ) y CD-152 ( $p=0.009$ ) y entre leves y graves CD-62L ( $p=0.009$ ), CD-152 ( $p=0.016$ ) y CD-11a ( $p=0.009$ ).

## **8.- DISCUSIÓN:**

En la literatura mundial no existen estudios epidemiológicos cuyo diseño permita conocer la prevalencia de la expresión de los ligandos entre los pacientes portadores de asma atópica. Por este motivo se decidió iniciar este estudio en los pacientes con asma alérgica como un compromiso institucional para la mejor atención de nuestros pacientes. En nuestro estudio no se valoró la prevalencia del asma aguda en nuestro hospital dado que este no era el objetivo de nuestro estudio, sin embargo la presencia de pacientes asmáticos en nuestra consulta diaria es elevada.

El presente estudio es un estudio piloto que pretendió encontrar alguna relación entre la expresión de los ligandos en un grupo de pacientes asmáticos.

Las características básicas se encontraron con respecto a la relación de sexo y edad distribuidos de manera homogénea, sin que esto represente, por lo tanto, algún factor que incrementara la respuesta inmunológica.

El estudio demuestra de manera inicial que sí existen diferencias en la expresión de determinados CD y que estos se pueden relacionar con la severidad del padecimiento, observándose los siguientes puntos:

1. Llama la atención que los niveles de IgE se encuentran disminuidos en los pacientes con asma severa ( $p=0.002$ ) y las diferencias intergrupales demuestran diferencias significativas ( $p=0.0009$ ). Este hecho resulta paradójico ya que lo que se esperaba era el encontrar un incremento mayor en los niveles de IgE en los pacientes con asma severa, creemos que esta observación haya sido como resultado del "agotamiento" en la producción de IgE por la intensidad de la reacción. No obstante, a pesar de haber encontrado estas diferencias estadísticas, esta observación deberá de corroborarse en estudios posteriores donde el tamaño de la muestra sea mayor.
2. Con relación a la expresión de los "grupos de diferenciación" (CD) resultó ser estadísticamente diferente el CD-62L, el cual se encontró disminuido en el grupo de asma grave, con una gran diferencia intergrupar ya que se expresó de una forma mayor en los pacientes con asma leve, lo que no se encuentra acorde con la teoría, ya que se esperaba que se encontrara con mayor expresión en los pacientes con asma grave y que permitiera el asentamiento de los linfocitos en las vénulas endoteliales y de los neutrófilos a las células endoteliales de los focos inflamatorios.
3. Del mismo modo encontramos que el CD-152 se encontraba aumentado en su expresión en los pacientes con asma, y de estos presentaron mayor expresión los pacientes portadores de asma severa, en comparación con los pacientes portadores de asma leve, lo que también resulta contrario a su función de regulador negativo de la coestimulación de las células T al unirse a B7-1 (CD-80) y B7-2 (CD-86) con mayor afinidad que el CD-28 que tiene una función reguladora positiva de la coestimulación celular T. Observándose que tampoco concordaba con los conocimientos teóricos de la molécula.

4. Se observó que el CD-30 se encontraba elevada en los pacientes portadores de asma severa, en comparación con los pacientes con asma leve, pero al mismo tiempo se observó aumentado en los pacientes controles en comparación con los pacientes con asma leve. La literatura refiere que la expresión de CD-30 es una respuesta predominante de las células Th2, presentando también un comportamiento paradójico ya que era de esperarse una expresión mayor en los pacientes de asma leve que en el grupo control, siendo congruente su expresión en los pacientes con asma severa.
5. La expresión de CD11a no mostró diferencia estadística significativa en ninguno de los tres grupos. Esta molécula no es un coestimulador pero permite la adhesión entre las células, lo que facilita la expresión de la respuesta inmune lo que demuestra que los pacientes podían manifestar las respuestas inmunológicas buscadas.
6. La molécula CD-124 presentó mayor expresión en el grupo con asma severa, pero no presentó diferencia estadística entre el grupo control y el grupo de asma leve. Esta molécula es tomada como un indicador indirecto de la IL-4, (49,50) siendo su receptor lo que permite las reacciones mediadas por IgE, esto nos indica que la capacidad de respuesta a las reacciones mediadas por la inmunoglobulina es mayor en los pacientes con asma severa, y a la vez nos confirma la consideración de que la disminución relativa de la concentración de IgE en los pacientes con asma severa fue consecuencia de un "agotamiento" en la producción de la inmunoglobulina.

## CONCLUSIÓN:

El significado clínico de este trabajo redunda en los siguientes puntos:

a).- Clínicamente la expresión de las moléculas, en este momento, no puede ser valorables ya que se han medido en un estado de descontrol. Dada la complejidad de la medición no podemos sugerir que estos sean utilizados como marcadores de severidad ya que contamos con otros patrones clínicos y de laboratorio más sencillos y no costosos en su realización.

b).- Los hallazgos de este trabajo abren la posibilidad de generar otras rutas de investigación como es la de demostrar el comportamiento de la expresión de CD en pacientes asmáticos en estado intercrítico para predecir la predisposición de sufrir un estado grave de la enfermedad.

c).- Resulta obvio que el número reducido de pacientes es una limitante, por lo que necesitamos realizar más estudios en que se incluya un número mayor de pacientes e incluso medir otros marcadores de respuesta inflamatoria como son las interleucinas.



## REFERENCIAS

- 1.- Van Nerven J, Wilborg T, Lund G, Jacobsen B, Brinch-Nielsen A, Arnved J, Pisen H. Bloncking Antibodies induced by specific allergy vaccination prevent the activation of CD4+ T cells by inhibiting serum-IgE-facilitated allergen presentation. *J. Immunol* 1999; 163:2944.
- 2.- Braman SS. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades del pulmón. 2ª. Edición, Capítulo 4: 191. Edit. Aurouch. 1998, Barcelona, España.
- 3.- Cuthbert OD. The incidence and causative factors of atopic asthma and rhinitis in an orkney farming community. *Clinical Allergy* 1981;11:217-225.
- 4.- Hallas TE. The biology of mites, *Allergy* 1990 (Supl) 11;6-9.
- 5.- Stankus P, O'neil Ce. Antigenic/Allergic characterization of american and german cockroach extract. *J Allergy Clin Immunol* 1988;81:563-570.
- 6.- Fernández-Caldas E, Fox RW. Enviromental control of indoor air pollution. *Med Clin North Am.* 1992;70:935.
- 7.- Neas LM, Dockery DN, Ware JH, Spengler JD, Speiser FE, Ferris BG. Assotiation of indoor nitrogen dioxide with respiratory symptoms and pulmonary function in children. *Am J Epidem* 1991;134:204-219.
- 8.- Murria AB, Ferguson AC, Morrison DJ. Sensitization to house dust mite in different climate areas. *J Allergy Clin Immunol.* 1985;76:108-112.
- 9.- Kivity S, Solomon A, Soferman R. Mite asthma in childhood: A study of the relationship between exposure to house dust mite and disease activity. *J Allergy Clin Immunol.* 1993;91:884-889.
- 10.-Bulletin Who. Dust mite allergen and asthma a world wide problem. *J Allergy Clin Immunol.* 1989;83:416-427.
- 11.- Dold S, Wjst M, Von Mutius E, Reitmer P, Stiepel E. Genetic risk for asthma, allergic rhinitis, and atopic dermatitis. *J Allergy Clin Inmmunol* 1991, 88: 433.
- 12.- Romagnani S. Human Th1 and Th2: Doubt no more. *Immunol Today* 1991;12;256:326.

- 13.- Del Prete GF, De Carli M, Ricci M, Romagnani S. Helper activity for immunoglobulin synthesis of Th1 and Th2 human T cell clones: The help of Th1 clones is limited by their cytolytic capacity. *J Exp Med* 1991; 174:809.
- 14.- Cantor H, Boyse EA. Development and function of subclasses of T-cells. *J Reticuloendothel Soc.* 1975;17:1115.
- 15.- Mondino A, Khorutis A, Jenkins M. The anatomy of T-cell activation and tolerance. *Proceed Nat Academ Scien.* 1996; 93: 2245-2252.
- 16.- Williams IR, Kupper TS. Immunity at the surface: homeostatic mechanism of the skin immune system. *Life Sciences.* 1996;58:1485-1507.
- 17.- Jabara HH, Fu SM, Geha RS, Vercelli D. CD40 and IgE: Synergism between anti CD40 monoclonal antibody and interleukin 4, in the production of IgE synthesis by highly purified human B cells. *J Exp Med* 1990;172:1861.
- 18.- Katz DH, Benacerraf B. The regulatory influence of activated T-cell on B-cell responses to antigen. *Adv Immunol.* 1972;15:1
- 19.- Fuleihan R, Ruamesh N, Loh R, Jabara HH, Roses FS, Chatila T, et al. Defective expression of CD40 ligand in chromosome linked immunoglobulin deficiency with normal or elevated IgM. *Proc Natl Acad sci USA* 1993;90:2170.
- 20.- Kanegane HY, Kasahar Y, Niida Y, Yachie A, Suggi S, Takatsu K, et al. Expression of L-selection (CD62L) discriminates Th1 and Th2 like cytokine producing memory CD4+ T cells. *Immunology* 1996;87:186.
- 21.- Shaw S, Ebneth K, Kaldjian E, Anderson A. Orchestrated information transfer underlying leukocyte endothelial interactions. *Annual Rev Immunol.* 1996;14:155-177.
- 22.- Bevilacqua M. Endothelial-leukocyte adhesion molecules. *Annual Rev Immunol.* 1993;11:767-804.
- 23.- Punnonen J, Aversa G, Cocks BG, McKenzie ANJ, Menon S, Zurawsky G, et al. Interleukin 13 induces interleukin 4-independent IgG4 and IgE synthesis and CD23 expression by human B cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:3730.
- 24.- Van der Heijden FL, Wierenga EA, Bos JD, Kapsenberg ML. High frequency of IL-4 producing CD4+ allergen-specific T lymphocytes in atopic dermatitis lesional skin. *J Invest Dermatol* 1991; 97:389.

- 25.- Vercelli D, Geha RS. Regulation of IgE síntesis in humans: A tale of two signals. *J. Allergy Clin Immunol* 1991; 88:285.
- 26.- Mackaness GB. The monocyte in cellular immunity. *Semm Hematol.* 1970;7:172.
- 27.- Miller JFAP. Lymphocyte interactions in antibody responses. *Int Rev Cytol.* 1972;33:77.
- 28.- Bloom BR, Bennett B. Macrophages and delayed type hipersensitivity. *Semm Hematol.* 1970;7:215.
- 29.- Kay A. "Helper (CD4+) T cells and eosinophils in allergy and asthma. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:S22.
- 30.- Muranaka M, Suzuki S, Koizumi K, et al. Adjuvant activity of diesel exhaust particulates for the produccion of IgE antibody in mice. *J Allergy Clin Immunol* 1986;77(4):616-623.
- 31.- Hill Mr.; Cookson W.O. A new variant of beta subunit of the highaffinity receptor for immunoglobulin E (Fc $\epsilon$  RII $\beta$ ) associations with measures of atopy and bronchial hyper-responsiveness. *Hum Mol Genet.* 1996; 5(7):959-962.
- 32.- Pene JF, Rousset F, Briere F, Chretien I, Bonnefoy JY, Spits H, et al. IgE production by normal human lymphocytes is induced by interleukin 4 and supressed by inerferon G and a prostaglandin E2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85:6880.
- 33.- Del Prete GF, Maggi E, Parrochi P, Chretien I, Tiri A, Macchia D, et al. IL-4 is an essential factor for the IgE síntesis induced in vitro by human T cell clones and their supernatansts. *J Immunol* 1988;140:4193.
- 34.- Del Prete GF, De Carli M, D'Ellios MM, Maestrelli P, Ricci M, Fabri L, et al. Allergen exposure induces the activation of allerge-specific Th2 cells in the airway mucosa of patientes with allergy resiratory disorders. *Eur J Immunol* 1993;23:1445.
- 35.- Rojas R, Martínez J. Participación de los linfocitos Th2 en la enfermedad alérgica. *Med Int Mex* 199;15(5):204.
- 36.- Van Reijssen FC, Buijnzeel-Koomen CAFM, Kalthoff FS, Maggi E, Romagnani S, Westland JKT, et al. Skin-derived aero-allergen specific T cell clones of Th2

phenotype in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1991, 88: 422.

37.- Durkop H, Latza U, Hummel M, Eitelbach F, Seed B, Stein H. Molecular cloning and expression of a new member of the nerve growth factor receptor family which is characteristic for Hodgkin's diseases. *Cell* 1992;68:1.

38.- Stein H, Masson DY, Gerdes J, O'Connor N, Wainscoat J, Pallesen G, et al. The expression of the Hodgkin's disease associated antigen Ki-1 in reactive and neoplastic lymphoid tissue. Evidence that Reed-Stemberg cells and histiocytic malignancies are derived from activated lymphoid cells. *Blood* 1985;66:848.

39.- Del Prete GF, De Carli M, Almerigogna F, Daniel CK, D'Elia MM, Zancuoghi G, et al. Preferential expression of CD30 by human CD4+ T cells producing Th2 cytokines. *FASEB J* 1995.

40.- Mannetti R, Annunziato F, Biagiotti R, Giudizi MG, Piccini MP, Ginnarini L, et al. CD30 expression by CD8+ CD30+ T cell clones in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *J Exp Med* 1991; 174: 1554.

41.-Pizzolo G, Vinante, Morosato L, Nadali G, Chilosi M, Gandini G, et al. High serum levels of the soluble form of DC30 molecule in early phase of HIV-1 infection as an independent predictor of progression to AIDS. *AIDS* 1994;8:741.

42.- Gauchat JF, Lebam DA, Coffman RL, Gascan H, de Vries JE. Structure and expression of germline transcripts in human B cells induced by interleukin 4 to switch to IgE production. *J Exp Med* 1990;172:463.

43.- Roit I. *Inmunologia fundamentos*. 1ª. Edición. Capítulo 11. La respuesta inmunitaria adquirida: 209-216. Edit. Panamericana 1997, Barcelona, España.

44.- Lemanske RF, Busse WW. Asthma. *Jama* 1997; 278: 1855-1873.

45.- Del Prete GF, Tiri A, De Carli M, Macchia D, Parronchi P, Rossi ME, et al. Defective in vitro production of interferon gamma and tumor necrosis factor- $\alpha$  by circulating T cells from patients with hyper-IgE syndrome. *J Clin Invest* 1989;84:1830.

46.- Feisher TA, Marti GE. *Diagnostic Immunology*. Chapter 14 Flow Cytometry. McGraw-Hill 1999, U.S.A.

- 47.- Avunduk AM, Avunduk MC, Dayanir V, Tekelioglu Y. Further studies on the immunology of atopic keratoconjunctivitis using flow cytometry. *Exp Eye Res.* 1997;65:803-808.
- 48.- Landsteiner K. The specificity of serological reactions (2a. Ed.) Cambridge: Harvard University Press, 1945.
- 49.- Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtna, Jordan S. Pober. *Inmunología Celular y Molecular*, 3ª. Edición. Cap. 12: Citoquinas. pp. 296-297. Editorial Interamericana-McGraw Hill, México, 1999.
- 50.- Luis M. Teran. Chemokines and asthma. *Immunology today.* 2000;21:235-242.

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**