

11220



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE MEDICINA

**INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES
PARA LOS TRABAJADORES DEL ESTADO**

**EFICACIA Y SEGURIDAD DEL FACTOR DE TRANSFERENCIA
POR VÍA AÉREA EN PACIENTES CON ASMA BRONQUIAL**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:

DRA. MARÍA DE JESÚS GARCÍA DOMÍNGUEZ

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD

DE: ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA

ASESOR DE TESIS

DR. JOSÉ JESÚS LÓPEZ TIRO



AÑO 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

**A MI ESPOSO, COMPAÑERO, AMIGO E
INCONDICIONAL EN ESTE RECORRIDO.**

DR. JOSE RICARDO PARRA DAGER

**A MI HIJA
MARYEDITH MON TSERRAT PARRA GARCIA
POR SER EL IMPULSO EN MI VIDA**

A MIS MAESTROS:

DR MODESTO OREA SOLANO (qpd)

DR JAVIER GOMEZ VERA

DR JOSE JESUS LOPEZ TIRO

**POR COMPARTIR SU EXPERIENCIA Y
CONOCIMIENTOS.**

DR. SERGIO ESTRADA PARRA

M. EN C. SONIA MAYRA PÉREZ TAPIA

**GRACIAS POR SU APOYO INCONDICIONAL EN LA
REALIZACION DE ESTE TRABAJO**



DR. JULIO CÉSAR DÍAZ BECERRA
Coordinador de Capacitación,
Desarrollo e Investigación



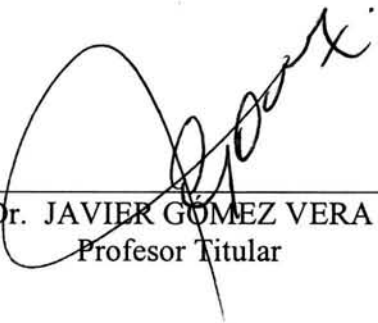


M.en C. HILDA RODRÍGUEZ ORTIZ
Jefe de Investigación




Dr. LUIS S. ALCÁZAR ALVAREZ
Jefe de Enseñanza

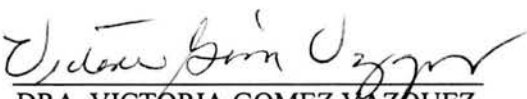




Dr. JAVIER GÓMEZ VERA
Profesor Titular



DR. JOSÉ JESÚS LÓPEZ TIRO
Asesor de tesis



DRA. VICTORIA GÓMEZ VAZQUEZ
Vocal de Investigación

INDICE

Resumen.....	1
Summary.....	2
Introducción.....	3
Objetivo.....	7
Material y Métodos.....	8
Resultados.....	17
Discusión.....	35
Conclusiones.....	37
Bibliografía.....	38
Anexos.....	40

RESUMEN

El asma es una enfermedad crónica relativamente común. Clínicamente se caracteriza por disnea, tos, opresión torácica y sibilancias, atribuibles a obstrucción reversible de la vía aérea, inflamación y exceso de secreción mucosa. El factor desencadenante del padecimiento es principalmente de tipo inmunológico, por lo que el estudio de inmunomoduladores reviste especial importancia. Entre los inmunomoduladores que han despertado el interés de los investigadores, se encuentra el Factor de Transferencia, obtenido a partir de un lisado de leucocitos. Estudios previos reportan una disminución en la frecuencia e intensidad de las crisis asmáticas, así como en las infecciones respiratorias asociadas, luego del uso de este inmunomodulador.

OBJETIVO Evaluar los parámetros inmunológicos y clínicos en pacientes con asma moderada persistente tratados con Factor de Transferencia

MATERIAL Y METODOS Estudio aleatorizado, doble ciego, control con placebo. Pacientes: hombre y mujer entre los 10 y 40 años de edad, con diagnóstico de asma moderado persistente, con IgE por arriba de 100 UI/ml y eosinofilia por arriba de 400 en números absolutos, con pruebas cutáneas positivas a *Dermatophagoides*.

Intervención: Se asignó a los pacientes al azar para recibir factor de transferencia nebulizado o placebo durante 12 semanas.

Comparación: Se evaluaron los síntomas de los pacientes mediante la Clasificación GINA. Se midió al inicio del estudio a las 6 y 12 semanas, espirometría, LT CD4, CD8, LT B, IL10, Linfocitos Nk y apoptosis.

RESULTADOS Se incluyeron 22 pacientes, con una media de 10 años de edad, 68% fueron mujeres y 32% hombres, con una mediana para IgE de 579 UI/ml, para la cuenta basal de eosinófilos en sangre periférica de 400 mm³ y para resultados de función respiratoria fue del 70%. Los resultados de citometría de flujo mostraron en el grupo tratado con factor de transferencia niveles basales de 6234; con una media de 2828 y eosinófilos de 409; posterior a la administración del factor de transferencia se observó una disminución de eosinófilos en un 44%. En el grupo tratado con factor de transferencia se encontró una diferencia estadísticamente significativa, disminución de CD4 (media grupo A 616, grupo B 1192, $p < 0.001$), una disminución de CD3 con un valor medio de 1309 a 2730 comparativamente con el grupo control ($p < 0.04$).

Los pacientes asmáticos tratados con factor de transferencia nebulizado, aumentaron sus niveles de INF gamma de 180.5 +/- 525 a 2191 +/- 406, así como sus niveles de IL 10 de 1580 +/- 1283 a 2173.1 +/- 391. Los resultados encontrados en relación a la apoptosis de linfocitos T se encontraron disminuidos al iniciar el tratamiento y aumentaron con el uso del factor de transferencia.

CONCLUSIONES : El factor de transferencia mejoró sus PFR de 70 – 80 %, con una disminución significativa de marcadores de citocinas, relacionándose con la mejoría clínica del paciente.

SUMMARY

The asthma is a chronic disease relatively common. Clinically it is characterized by shortness of breath, cough, oppression chest and wheezing, attributable to reversible obstruction of air way route, inflammation and excess of mucous secretion. The leading factor of suffering is mainly of immunological type; reason why it studies of it has special importance. Between the immunology therapy regulations that interest of the investigators, is transference factor obtained from leukocytes destroyer.

Previous studies report one diminution in the frequency and intensity of the asthmatic crises, as well as in the respiratory infections associates.

OBJECTIVE: To evaluate the utility of the factor of transference in the symptomatic improvement in asthmatic patients.

MATERIAL AND METODOS: This is a random study, double blind person, control with placebo; patients: man and woman between the 10 and 40 years of age, with diagnosis of persistent moderate asthma , with IgE by above of 100 UI/ml and eosinophilia by above of 400 in absolute numbers, with positive skin tests a Dermatophagoides.

Intervention: The patients were assignation at random to receive inhalation factor of transference or placebo during 12 weeks.

Comparison: The symptoms were evaluated of patients by means of one climb visual analogous. One was moderate at the beginning of study a the 6 and 12 weeks, espirometry, LT CD4, CD8, IL-10, Nk lymphocytes and apoptosis.

RESULTS 22 patients included themselves, with an average of 9 years of age, 68% were women and 32% men, with a medium one for IgE of 579 UI/ml, the basal account of eosinófilos blood peripheral of 400 mm³ and for results of respiratory function was of 70%. Results of citometric of flow showed in the group dealt with transference factor of basal levels of 6234; with an average of 2828 and eosinófilos of 409; later the administration of the transference factor is observed decrease of eosinófilos in a 44%. In the group dealt with transference factor was one significant difference statistic , decrease of CD4(average group A 616. group B 1192, p <0.001), a decrease of CD3 with an average value of 1309 to 2730 comparative with the group control (p <0.04). The treated asthmatic patients with inhalation factor of transference, they increased his levels of INFg of 180.5 +/- 525 to 2191 +/- 406, as well as its levels of 10 IL of 1580+ /- 1283 to 2173.1 +/- 391. The results found in relation to the apoptosis of lymphocytes T were diminution when to beging the treatment and increased with the use of the transference factor.

CONCLUSIONS: The transference factors improve its PFR of 70 - 80 %, with a significant diminution of markers of citocinas, being related to the clinical improvement of the patient.

INTRODUCCIÓN

El asma es una de las enfermedades crónicas más comunes de la infancia y en los adultos jóvenes. Actualmente se conoce que el asma constituye un problema de salud pública, afectando alrededor de diez millones de personas en Estados Unidos (1,2), habiéndose observado un incremento del 29 % en la edad pediátrica (3). Se sabe bien que en los pacientes el asma, esta asociada con atopia, caracterizada por un incremento en la síntesis de IgE contra alérgenos comunes.

Existen varios factores que incrementan la probabilidad de presentar asma, un factor involucrado es la información genética, para que los individuos tengan predisposición a responder en forma alterada, y sintetizar anticuerpos IgE (atopia), específicos contra alérgenos ambientales; otros factores predisponentes son la edad, el tabaquismo materno, la introducción temprana de fórmulas lácteas y la introducción de alimentos sólidos antes de los 4 meses de edad (4) de igual forma se han encontrado como coadyuvantes los contaminantes ambientales, infecciones virales y bacterianas (5,6).

La exposición de estos pacientes a aeroalérgenos específicos, inicia una serie de cambios inmunológicos que culmina en inflamación de la vía aérea. El proceso de inflamación se caracteriza por infiltración del tejido con leucocitos, entre los cuales los eosinófilos juegan un papel clave. Se considera que los eosinófilos causan daño al tejido lo que ocasiona ruptura del epitelio bronquial aumentando tanto la respuesta del mismo a estímulos, así como la obstrucción de la vía aérea.(7)

Las manifestaciones clínicas del asma dentro de las cuales la disnea es una característica principal, es el resultado de tres eventos fisiopatológicos dentro de la vía aérea : Obstrucción reversible, hiperreactividad bronquial, a una gran cantidad de estímulos físicos y químicos e inflamación (8).

Patológicamente el pulmón del asmático se caracteriza por infiltrado de eosinófilos, hipertrofia de las glándulas mucosas, de la musculatura lisa bronquial y descamación epitelial, todos estos factores interactúan activadamente a nivel de células, mediadores y productos celulares.(9)

Los síntomas pueden aparecer a los treinta y sesenta minutos posteriores a la exposición denominándose a esta etapa “fase de respuesta inflamatoria temprana” o cuando experimentan una exacerbación de los síntomas de cuatro a veinticuatro horas después de la exposición es la “fase de respuesta inflamatoria tardía”; en ambos casos los mediadores celulares involucrados son diferentes.

El asma, ha sido clasificada como una respuesta de hipersensibilidad tipo I, por Coombs y Gell que esta mediada por inmunoglobulina IgE (10).

Para que ocurran las reacciones características del asma es necesario el contacto directo entre el alérgeno y la mucosa respiratoria, sitio donde es captado y procesado el antígeno por las células presentadoras del antígeno (CPA), tales como: los macrófagos alveolares, células dendríticas, que son las que captan directamente al alérgeno. Una vez procesado el antígeno es presentado a los linfocitos T cooperadores y se da una respuesta inmunitaria lo que inicia un proceso de sensibilización. Una vez que ocurre la sensibilización en el individuo, este está en un estado asintomático hasta que existe una segunda exposición al alérgeno, lo que trae consigo la inducción de una respuesta inflamatoria, inducido por célula cebada IgE, con signos y síntomas de reacción alérgica. Los linfocitos cooperadores mencionados son los linfocitos T cooperadores 2 (TH2), (11), ya que sea demostrado una correlación fenotípica en el asma.

Se ha encontrado que el papel del receptor alfa para la citocina (IL-4) del linfocitos de TH2 es esencial en la estimulación de la producción de moco, mientras que no lo es la participación de eosinófilos, además se ha encontrado una correlación entre IL-4 e IL-5, como interleucinas importante para el desarrollo de las vías aéreas y de la hiperreactividad del asma, independientemente del mecanismo inductor. Por otra parte también se ha mencionado que algunos pacientes con asma, la producción de IL-12 e interferón gamma esta disminuida.

En relación al aspecto inmunológico, se ha dividido en primera instancia a los linfocitos en dos grandes grupos : los linfocitos B y linfocitos T, a su vez estos últimos se agrupan en cooperadores y citotóxicos, cuyas moléculas de diferenciación son CD19+ para los primeros y CD3+,CD2+ para los linfocitos T y CD4+, CD8+ para las subpoblaciones respectivamente. Por otro lado, los linfocitos T pueden determinarse sus niveles por su capacidad de unirse a glóbulos rojos de carneros (GRC) por poseer la molécula CD2+ y LFA-3 respectivamente, siendo esta última contra receptor de la primera. (12).

Dentro de los linfocitos T cooperadores se tienen múltiples evidencias que existen subgrupos celulares, dependiendo de su patrón o perfil de producción de citocinas, según observaciones iniciales hechas por Mosmann y Coffman (13), los que producen interleucina 2, interferón gamma y factor de necrosis tumoral beta son llamados linfocitos T cooperadores 1 (Th1), los que producen IL4, IL5, IL6, IL10, IL13 son los linfocitos T cooperadores 2 (Th2), y ambos producen IL 3, GM-CSF y TNF alfa.

El que se haya polarizado las estirpes Th1 TH2 no solo es una respuesta en la diferente participación en la protección, sino que también, puede promover diferentes reacciones inmunopatológicas. (14), esto se ha relacionado con las personas atópicas las cuales presentan una disregulación genética del nivel de producción IL4 y de los mecanismos que desarrollan TH2 (15).

Por lo tanto el aspecto inmunológico sin duda juega un papel crucial en la patogénesis del asma, de ahí la importancia del estudio de cada uno de sus componentes, así como la regulación entre ellos, son objeto de estudio para entender paulatinamente la naturaleza de esta enfermedad y así buscar soluciones prácticas para regular la respuesta inmune o evitar efectos adversos.

Por lo anterior se han establecido múltiples tratamiento farmacológicos (Beta-adrenérgicos, esteroides sistémicos, esteroides locales, cromonas, antileucotrienos, etc.) utilizados para el control del asma , por otra parte se están investigando algunos inmunomoduladores como anticuerpos monoclonales que inhiben citocinas (anti-IL5, anti-IL4, anti-IL13 y anti-TNF alfa) o que inhiben a los receptores de citocinas; El uso de citocinas que suprimen el proceso inflamatorio alérgico inhibidores de proteína-cinasa asociada a mitógeno (p38,MAP-K), anticuerpos contra IgE. (18,19).

La mayoría de estos inmunomoduladores aún están en proceso de investigación y los que se encuentran en el mercado tienen costos elevados y con ello elevados costos de tratamiento tanto en los pacientes como en las instituciones de salud pública nacional. Se espera que gracias a los conocimientos de los mecanismos moleculares de la alergia se puedan desarrollar tratamiento más específicos y con menor número de efectos colaterales. Para tal efecto se han desarrollado tratamientos con inmunomoduladores biológicos.

Dentro de los inmunomoduladores utilizados para el tratamiento de las enfermedades alérgicas, se encuentra el factor de transferencia (FT), en general, los resultados obtenidos con este inmunomodulador han sido buenos, en particular, con respecto al asma, se ha logrado la disminución de las crisis asmáticas. Además se ha demostrado disminución en la frecuencia de infecciones respiratorias en pacientes asmáticos (20.21)

EL FACTOR DE TRANSFERENCIA es el material dializable que se obtiene del lisado de células linfoides humanas, preparaciones que reciben en nombre de extractos leucocitarios dializables (ELD). La primera descripción de los efectos inmunológicos del FT la hicieron Lawrence y Pappenheimer en 1956, cuando en sus investigaciones descubrieron que leucocitos humanos de sangre

periférica lisados provenientes de individuos que tenían una hipersensibilidad cutánea de tipo tardío (DTH) aun antígeno o PPD, toxoide diftérico o proteína M del estreptococo podían transferir una respuesta positiva en los receptores, que anteriormente no eran reactivos a dichos antígenos. Estos efectos son específicos para cada antígeno. Los extractos obtenidos por el método de Lawrence contienen al menos 200 diferentes moléculas con pesos moleculares de 1 a 20 Kd. Dentro de estas moléculas se encuentra un conjunto de proteínas con pesos moleculares entre 3.5 y 5 Kd, que son específicas para antígeno, y que se denominan factores de transferencias o factores de transferencia específicos (FTs) (19-21). Los FT son péptidos hidrofílicos altamente polares con partes ácidas y que tienen dos regiones: una variable y una constante. La secuencia parcial de las regiones constantes de algunos de ellos ya se conocen (19,20). Además de transferir la respuesta inmune celular en forma específica los FT tienen efectos sobre los canales de calcio, estimulando el transporte de este ión en las células, probablemente activando la respuesta en células del sistema inmune (21).

El Factor de Transferencia, ha sido utilizado en diversos padecimientos como :Infecciones, Herpes Zoster, Candidiosis, Tuberculosis pulmonar y extrapulmonar, coccidiomicosis, Lepra, Brucelosis, Leishmaniasis y Toxoplasmosis; en padecimientos que pueden tener un fondo infeccioso viral como el síndrome de fatiga crónica, en inmunodeficiencias como el síndrome de Wiskott-Aldrich y en pacientes con inmunodeficiencias que presentan candidiasis mucocutánea crónica; en padecimientos con fondo alérgico : asma y dermatitis atópica, en enfermedades autoinmunes como artritis reumatoide y psoriasis. En los pacientes con padecimientos neoplásicos como osteosarcoma y carcinoma nasofaríngeo se ha visto mejoría en la supervivencia (20).Las propiedades inmunológicas del FT que se han descrito son :

Conversión de la respuesta de la DTH aun determinado antígeno de negativa a positiva.

Capacitación de los linfocitos para producir linfocinas en respuestas a antígenos in vitro.

Proliferación de los linfocitos en respuesta a un antígeno in vitro.

Expresión de actividad citotóxica de los linfocitos.

Incremento de los niveles de interferon gamma (21).

OBJETIVO

En base a las propiedades inmunológicas del Factor de Transferencia y a los mecanismos moleculares del Asma, se determinará la eficacia y la seguridad de la respuesta terapéutica con este inmunomodulador administrado por vía aérea, evaluando la respuesta terapéutica del factor de transferencia inhalado en una población de pacientes asmáticos.

Objetivo general:

Evaluar los parámetros inmunológicos y clínicos en pacientes con asma moderada persistente tratados con Factor de Transferencia por vía nebulizada.

Objetivo específico:

A) Realizar la comparación de un grupo de pacientes asmáticos tratados con Factor de Transferencia por vía nebulizada (Grupo problema), contra un grupo de pacientes asmáticos con tratamiento nebulizado convencional (Grupo control) en relación a los siguientes niveles celulares y citocinas.

Medir los niveles de linfocitos LTCD4, TCD8, Linfocitos B, NKs, CD3,CD19, CD56.

Citocinas intracelulares como TNF alfa

Determinar si existen cambios en la apoptosis celular en pacientes tratados con Factor de Transferencia por vía nebulizada en relación a pacientes con tratamiento nebulizado convencional

B) Evaluar clínicamente a través del uso de medicamentos de rescate, antiinflamatorios y por espirometría, las diferencias entre el grupo de pacientes tratados con Factor de Transferencia por vía nebulizada en comparación con el grupo tratado convencionalmente.

MATERIAL Y METODOS

Pacientes:

Se estudiaron pacientes que acudieron a la consulta externa del servicio de alergia e inmunología clínica del Hospital Regional “Lic. Adolfo López Mateos” del ISSSTE en Mexico, D.F. con diagnóstico de Asma de tipo moderado persistente, con referencia al consenso latinoamericano sobre diagnóstico y tratamiento del Asma (GINA).

La selección de los pacientes fue de acuerdo con los siguientes criterios de inclusión :

- a) Pacientes hombres o mujeres con edad comprendida entre lo 10 y 40 años de edad.
- b) Pacientes con asma moderada persistente de acuerdo a los criterios del GINA.
- c) Pacientes con IgE elevada y eosinofilia .
- d) Pacientes con pruebas cutáneas positivas a Dermatophagoides, ptryonissinus o Dermatophagoides pharinae, más otro (s) aeroalergeno (s).

Los pacientes que no otorgaron su consentimiento por escrito para participar en el estudio fueron excluidos así como pacientes en estado de gravidez, enfermedades cardiopulmonares concomitantes y aquellos que abandonaron el estudio antes de su término.

Se incluyeron en el estudio a 22 pacientes, divididos en forma aleatoria simple en dos grupos. Un grupo A y otro B tratado por espacio de 12 semanas. La elección del factor de transferencia o placebo se realizó por aleatorización simple, mediante papeles que tenían una letra diferente para el placebo y el factor de transferencia, sin saber a cual correspondía cada uno, y se tomaron al azar por una sola persona. El factor de transferencia junto con los placebos del Instituto Politécnico Nacional, marcados con letras A y B, ambos diluidos en mismo líquido.

Los 3 meses de tratamiento se dividieron por semanas de la siguiente forma:

Semana 0 : La semana del diagnóstico no recibieron manejo y se tomaron muestras sanguíneas pre-tratamiento.

Semana 1 : se inicio manejo con factor de transferencia o placebo inhalado (1 unidad día).

Los pacientes de ambos grupos recibieron tratamiento farmacológico para asma moderado persistente con B2 agonista de larga duración, esteroide tópico inhalado, de acuerdo a las Guías establecidas por el Panel de Expertos en Asma del Nacional Heart, Lung and Blood Institute en su segundo reporte para el diagnóstico y tratamiento del asma.

Semana 2 a la 6 : Se administro 1 unidad de FT o placebo por semana realizando en la semana 6 toma de muestra sanguínea.

Semana 7 a 12 : Se administro 1 unidad de FT o placebo por semana y toma de muestra sanguínea al final de la semana 12.

VARIABLES

- Clasificación del asma
- Pruebas cutáneas
- Niveles de IgE
- Cuenta de eosinófilos totales
- Pruebas de función pulmonar
- IL-10 e IFN- γ

Definición operacional de diagnóstico de asma:

Síntomas típicos: tos, sibilancias, acortamiento de la respiración, y producción de esputo además de demostración de obstrucción de la vía aérea (por disminución del volumen espiratorio forzado en un segundo: FEV₁, o por *peak expiratory flow*. PEF) y reversibilidad en 12 % ó más después de la administración de broncodilatador . Si el paciente presentó crisis asmática con reversibilidad ante Beta-2 agonista también fue diagnosticado como asma.

Se realizó un cuestionario los primeros 5 días de iniciado el estudio, de la semana 1 a la semana 6 y posteriormente de la 1ª quincena a la quincena 6.

Cuestionando los siguientes síntomas:

Tos día Tos noche Sibilancias Síntomas al correr

Clasificación de asma:

Según el Panel de Expertos en su segundo reporte para el diagnóstico y tratamiento del asma del National Heart, Lung, and Blood Institute, se clasifica como: asma leve intermitente, asma leve persistente, asma moderada persistente y asma severa persistente con base en la frecuencia de síntomas (tos, sibilancias, esputo) en el día y en la noche; con base en el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV1), por pruebas de función pulmonar y /o con base en la variabilidad del flujo espiratorio pico (PEF: peak expiratory flow) medido por flujómetro .

Clasificación del asma:

Nivel	Síntomas Diurnos	Síntomas nocturnos	FEV1	Variabilidad PEF
severa persistente	Continuos	Frecuente	< 60 %	> 30 %
Moderada persistente	Diarios	> 5 por mes	>60/ <80%	> 30 %
Leve persistente	3-6 por semana	3-4 por mes	>80 %	20-30 %
Leve intermitente	<2 por semana	< 2 por mes	>80 %	< 20 %

Pruebas cutáneas:

Son pruebas diagnósticas *in vivo* de hipersensibilidad mediada por IgE para un alérgeno específico, realizadas en antebrazos, vía epicutánea por escarificación ("prick") con lanceta.

Se tomó la siguiente puntuación para graduar las respuestas

Grado	Habón (papula)	Eritema
0 (-)	< 3 mm	0-5 mm
1 +	3-5 mm	5-10 mm
2 ++	5-10 mm	5-10 mm
3 +++	10-15 mm	> 10 mm
4 ++++	> 15 mm o con pseudópodos	> 20 mm

Se consideraron positivas 3 y 4 +.

IgE:

Inmunoglobulina E: niveles séricos en rangos normales varían según la edad:

Recién Nacido:	1.5 Unidades Internacionales (UI)/ ml
Lactante 1er año de vida:	15 UI/ ml
1 - 5 años:	60 UI/ ml
6 - 9 años:	90 UI/ ml
10 - 15 años:	200 UI/ ml
> 16 años:	100 UI/ ml

Cuenta de eosinófilos totales:

Eosinófilos de biometría hemática valores altos (eosinofilia):

Mayores de 400 eosinófilos totales por milímetro³.

Pruebas de función pulmonar:

Método por el cual se determina la ventilación pulmonar, es decir, estudia el movimiento del volumen de aire que entra y sale de los pulmones. Se determina mediante espirómetro. La obstrucción de las vías aéreas (asma) se evalúa midiendo el flujo de gas en el curso de una maniobra de espiración forzada en el primer segundo (FEV1), midiendo el flujo espiratorio forzado al 25%, 50%, 75% y entre 25/75% de la capacidad vital forzada (FEF_{25/75}) o bien midiendo el flujo espiratorio pico (peak expiratory flow: PEF) por pruebas de función pulmonar con espirómetro, y/o éste último también mediante flujómetro, considerándose normal

un FEV1 o FEF₂₅₋₇₅ de 80 % o más del predicho para su edad, talla y superficie corporal, y una variación del PEF menor del 20% (6,19).

IFN-gamma, IL-10, Apoptosis

Se determinó por Citometria de flujo antes del tratamiento y después en pacientes del grupo que recibieron Factor de Transferencia y en el grupo placebo

A todos los pacientes se les determinaron parámetros inmunológicos en las muestras sanguíneas en las mismas fechas ya mencionadas. En la ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. IPN. De la siguientes manera :

1.-DETERMINACIÓN DE POBLACIONES CELULARES

A partir de sangre periférica con anticoagulante se realizan las siguientes determinaciones.

A.- Linfocitos B, T (CD4, CD8, CD25) y NK.

Colocar en cada tubo 5 uL de los siguientes anticuerpos monoclonales (Kit Simultest IMK, B-D):

- a) 1- FITC, 2-PE
- b) CD3-FITC, CD19-PE
- c) CD3-FITC, CD4-PE
- d) CD3-FITC, CD8-PE
- e) CD3-FITC, CD16-56-PE
- f) CD45-FITC, CD14-PE
- g) CD4-FITC, CD25-PE, CD3-PerCP (no incluido en el kit)

Adicionar 30 uL de la muestra de sangre, agitar e incubar durante 15 minutos en la oscuridad y después adicionar 300uL de reactivo de lisis, nuevamente incubar durante 10 minutos y centrifugar. Eliminar el sobrenadante. Lavar con PBS y guardar en 400 uL de PBS con paraformadheído. La muestra está lista para su lectura en el citómetro de flujo.

B.- Muerte celular. Apoptosis.

Técnica de Anexina-FITC y Yoduro de propidio. (Annexin-V-FLUOS. Roche)

Adicionar a 2mL de sangre, 1 mL de gelatina al 3% en Alsever, dejar sedimentar durante 40 minutos y recuperar el plasma rico en leucocitos. Lavar con PBS y ajustar la suspensión a 1×10^6 /mL. Colocar 200 uL de las células en cada tubo y mantenerlas en solución reguladora de enlace EBS. Adicionar a un tubo anti CD3 y el control de isotipo; a un segundo tubo adicionar anti CD3 y Anexina-FITC, se incuban a temperatura ambiente durante 15 minutos y después lavar con EBS.

El primer tubo se le adiciona 300 uL de EBS y se coloca en baño de hielo y está listo para su lectura en el citómetro de flujo.

El segundo tubo se le adiciona 300uL EBS y el Yoduro de propidio (PI), se coloca también en baño de hielo y está listo para su lectura en el citómetro de flujo.

C.- Linfocitos Th1 y Th2. Citocinas intracelulares.

Técnica.- Obtener muestra de sangre periférica con anticoagulante (heparina). Colocar 0.5 mL de la muestra en cuatro pozos estériles, de una placa de cultivo.

Adicionar, a cada pozo los siguientes reactivos:

- a) PMA y ionomicina
- b) PMA, ionomicina y brefeldina
- c) El estímulo antigénico (**D. pteronyssinus**).
- d) Solo brefeldina.

Incubar durante cuatro horas en atmósfera de CO₂. Transcurrido ese tiempo, tomar una muestra de 60 uL de cada pozo y colocarla en tubos a los cuales se les adicionó previamente el anticuerpo anti-CD3-PerCP. Incubar 15 minutos a temperatura ambiente y adicionar reactivo de lisis e incubar 10 minutos.

Centrifugar y después adicionar PBS, centrifugar y eliminar el sobrenadante. Adicionar la solución permeabilizadora de la membrana e incubar 20 minutos. Lavar con PBS y adicionar 5 uL de cada uno de los siguientes anticuerpos:

- a) Al primer tubo control de isotipo-CD3-PerCP, la muestra sanguínea se tomo del pozo a.
- b) 2º tubo, anti CD69-PE, la muestra sanguínea se tomó del pozo b
- c) 3er tubo anti IFN γ y anti-IL-10, la muestra sanguínea se tomó del pozo b.
- d) 4o tubo anti IFN γ y anti-IL-10, la muestra sanguínea se tomó del pozo c
- e) 5º tubo anti IFN γ y anti-IL-10, la muestra sanguínea se tomó del tubo d

Incubar 30 minutos a temperatura ambiente y lavar con PBS. Resuspender en solución de paraformaldeído en PBS.

Leer al citómetro de flujo con un software de tres colores.

Nota. Es necesario estandarizar tanto la concentración del antígeno, como el tiempo de incubación con este.

METODOLOGIA

Se realizaron pruebas de función pulmonar en todos los pacientes antes de tratamiento, a la mitad del estudio y al final de estudio. Las pruebas de función pulmonar se realizaron por el servicio de inhaloterapia en condiciones basales y con reto y/o en el servicio de alergia con flujometro de acuerdo a la edad del paciente.

TESTIGOS (5)

Se eligieron individuos sanos al momento de tomar la muestra, sin ningún desorden de tipo alérgico de uno u otro sexo, con edad entre los 10 y 45 años de edad, del área de la ciudad de México y zona conurbana.

ANALISIS ESTADISTICO

Para cada una de las variables se realizó el cálculo de frecuencias, medidas de tendencia central y dispersión. Para determinar la distribución de variables cuantitativas se estimó el sesgo, curtosis y se empleó la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se empleó la mediana (Md) y los límites intercuartílicos (liq) como medidas de resumen. La prueba utilizada fue T de students para comparar variables cualitativas.

RESULTADOS

Se incluyeron en total 22 pacientes del servicio de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital Regional Licenciado Adolfo López Mateos del ISSSTE; los cuales se dividieron en 2 grupos: Un grupo problema comprendido por 11 pacientes los cuales fueron tratados con Factor de Transferencia y un grupo control de 11 pacientes quienes fueron manejados con tratamiento convencional por vía nebulizada (tratamiento con placebo.)

GRUPO GENERAL

De los 22 pacientes, la mediana para la edad fue de 10 años con límites intercuartílicos (Liq) de 7.0 a 9.25 años.

En cuanto a la distribución de sexos, 7 (32%) pacientes fueron hombres y 15 (68%) mujeres.

Las medianas así como Liq para el resto de los parámetros fueron: En cuanto al recuento de eosinófilos en sangre periférica la mediana fue de 400/mm³ (Liq 285-800 mm³).

De la misma manera, las medianas así como el liq para el resto de los parámetros arrojaron los siguientes resultados: Para IgE total fue de 579 UI/ml (Liq 361-1051), para la severidad del asma fue de 5 (Md) (Liq 5-5) Finalmente para los resultados de las pruebas de función pulmonar fue del 70% (Md) (Liq 61-78%). Dichos resultados se enumeran en la tabla 1.

SEGURIDAD: Dos pacientes del Grupo A, presentaron dolor abdominal al inicio del protocolo de estudio sin abandonar el estudio y del Grupo B una paciente al finalizar el estudio evoluciono de Asma Moderada a Asma Severa persistente (relacionado con factor de riesgo intrinseco, Alergia a salicilatos), Término el estudio.

Tabla 1.- Características del grupo general antes del tratamiento.

No. Pacientes	22
Sexo	15 mujeres, 7 hombres
Edad (años)	10(Md) 7-9.5 (Liq)
No. eosinófilos (mm ³)	400 (Md) 285-800 (Liq)
IgE total	579 (Md) 361-1051 (Liq)
Grado de severidad del asma	5(Md) 5-5 (Liq)
Pruebas de función pulmonar	70% (Md) 61-78% (Liq)

Md= mediana, Liq=límites intercuartílicos

COMPARACION ENTRE GRUPOS AL INICIO DEL ESTUDIO

Características básicas de ambos grupos (Tabla 2)

Tabla 2.- Características básicas de los pacientes en ambos grupos al inicio del tratamiento.

	Factor de Transferencia Mediana (Liq)	Placebo Mediana (Liq)	P
Edad	10 (10-40) años	10 (10-40) años	0.24
Severidad	5 (5-6)	5 (5-5)	0.47
IgE total	446 (290-943) U/ml	805 (549-1301) U/ml	0.22
Eosinófilos	645 (323-1530) totales	400 (200-700) totales	0.16
P. F. P.	70 (58-80) % FEF ₂₅ /75	70 (62-75) % FEF ₂₅ /75	0.60
Tratamiento	3 (3-3)	3 (3-3)	1

En esta tabla podemos apreciar que ambos grupos son comparables al inicio del estudio. Presentando una severidad del asma de 5(Md), Se muestra la mediana así como los límites intercuartílicos (Liq) y su significancia (p). P.F.P.= pruebas de función pulmonar, con p=0.60 y tratamiento p=1 (Md).

Tabla 3.- Resultados del grupo tratado con FT

	Severidad	IgE total UI/ml	Eosinófilos Totales	PFP	Tx
Antes	5 (5-6)	446 (290-943)	645 (323-1530)	70% (58-80)	3 (3-3)
1 semana	3 (1-4)	821 (311-1802)	400 (9-1092)	79% (67-1)	2 (2-3)
1 mes	1(1-3)	598 (252-1020)	585 (252-1020)	95% (92-1)	1(0-2)
3 meses	1(1-3) p=0.003	572 (304- 998) p=0.392	573 (378-714) p=0.026	94% (90-1) p=0.001	0 (0-1) p=0.000 1

En esta tabla se aprecian los cambios en los parámetros que se midieron Grado de severidad del asma, con una $p=0.003$ IgE total, eosinófilos $p=0.026$, pruebas de función pulmonar $p=0.001$ y necesidad de tratamiento $p=0.0001$. Antes del estudio y durante el tiempo del mismo en el grupo de pacientes que recibieron Factor de Transferencia.

GRUPO PLACEBO

Al igual que en el grupo tratado con FT, los mismos parámetros se determinaron antes del tratamiento, a la semana, al mes, y a los 3 meses.

Los resultados se muestran a lo largo del estudio en la tabla 4.

Tabla 4.-Resultados del grupo tratado con placebo

	Severidad	IgE total UI/ml	Eosinófilos Totales	PFP	Tx
Antes	5 (5-5)	805 (549-1301)	400 (200-700)	70% (62-75)	3 (3-3)
1 semana	3 (1-5)	702 (407-909)	650 (394-150)	90% (68-1)	3 (2-3)
1 mes	3 (1-5)	565 (372-894)	356 (150-500)	88% (73-1)	3 (1-3)
3 meses	3 (1-5) p=0.004	704 (272-886) p=0.506	520 (265-645) p=0.922	78% (76-1) p=0.013	2 (0-2) p=0.000 1

En esta tabla se aprecian los cambios en los parámetros que se midieron (grado de severidad del asma, IgE total, eosinófilos, pruebas de función pulmonar y necesidad de tratamiento) antes del estudio y durante el tiempo del mismo en el grupo de pacientes que recibieron placebo. Se aprecia un cambio significativo en el grado de severidad, en las PFP y en el uso de esteroides al final de los 3 meses de tratamiento. Se muestran la mediana así como los límites intercuartílicos (Liq). PFP=pruebas de función pulmonar. Tx= tratamiento.

COMPARACIÓN ENTRE LOS 2 GRUPOS

En la tabla 5 se muestra la comparación de estos valores entre los dos grupos, durante el tiempo del estudio y al final del tratamiento (3 meses) (ver figura 1 para eosinófilos)

Grado de Severidad

La mediana en el transcurso del tiempo así como al final del tratamiento, no fue diferente en forma significativa al comparar ambos grupos (ver tabla 5 y figura 2).

Tratamiento

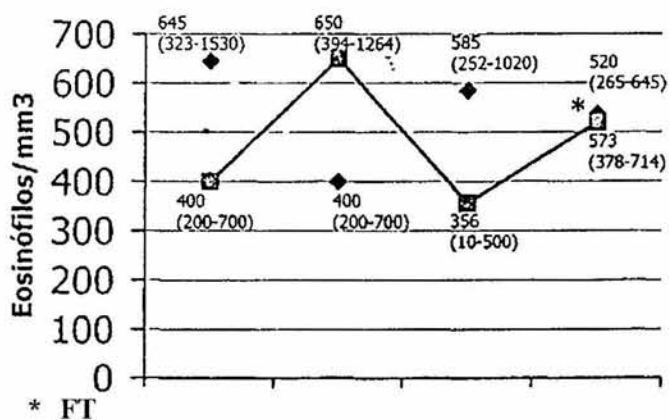
En la tabla 5 así como en la figura 3 se puede observar la diferencia entre ambos grupos para el requerimiento de tratamiento, durante el tratamiento y al final del mismo.

Tabla 5.- Comparación entre los 2 grupos al final del estudio

Tiempo	IgE UI/ml	Eosinófilos	PFP	Severidad	Tratamiento
1 sem.	0.69	0.28	1	0.65	0.69
1 mes	0.86	0.13	0.27	0.27	0.034*
3 meses	0.60	0.49	0.24	0.56	0.040*

En esta tabla se muestra la (p) por la prueba U de Mann-Whitney o por la prueba de Friedman para cada parámetro (IgE, eosinófilos, PFP, grado de severidad del asma y requerimiento de uso de esteroide) al comparar al grupo de pacientes que recibieron FT con el que recibió placebo, durante el tiempo del estudio.

Tabla 6.-Efecto del FT y placebo sobre eosinófilos



-3- Placebo

* = p 0.026 en el grupo FT

antes 1 semana, 1 mes, 3 meses

Tiempo

Figura 1. cambios en la cuenta de eosinófilos totales/mm³ en el grupo de pacientes asmáticos que recibieron FT y en el grupo de pacientes que recibieron placebo durante el tiempo del estudio. Se muestra el valor de la mediana así como los límites intercuartílicos (), de negro para el grupo tratado con FT y de azul para el grupo tratado con placebo.

RESULTADOS DE PACIENTES CON ASMA MODERADA
 PERSISTENTE OBTENIDOS MEDIANTE CITOMETRIA DE FLUJO
 (Tabla 7)

	PACI.	CUEN	LINFO	CD3	CD19	CD4	CD8	CD56	CD69/	CD69/	CD25/
	TA	S					+16	4/3	8/3	4/3	
P	1	10150	5481	3031.6	1305.3	2346.4	1165.4	453.85	1156.6	716.04	822.3
R	2	7500	4050	1849.2	293.22	1865.4	134.05	521.64	525.69	626.13	431.32
I	3	9000	4320	2220.4	589.2	1525.8	1233.3	502.84	954.72	1278.7	239.76
M	4	7800	3432	2140.8	436.2	1967.9	1313.0	134.87	689.14	364.47	530.24
E	5	8600	3612	2919.2	278.84	1698.7	1053.6	920.33	686.28	470.64	171.2
R	6	6000	2820	1925.2	245.34	1226.4	696.54	629.42	578.1	611.65	98.41
A	7	6600	3564	2029.3	176.41	1297.6	779.44	1211.04	948.73	437.3	614.79
	8	5400	2214	1254	149.22	811.2	486.41	781.32	555.04	360.8	229.81
M	9	5850	1813.5	1454.9	101.01	824.7	1410.1	218.34	83.42	133.29	230.13
U	10	6300	3276	2561.5	219.16	1981.9	1139.0	453.39	167.4	171.74	231.28
E	11	2950	914.5	665.48	170.73	435.02	248.74	26.24	464.56	227.34	69.86
S	12	2150	516	339.12	68.62	180.49	129.41	93.13	25.8	26.41	40.29
T	13	3450	1380	911.9	284.55	539.71	321.26	114.81	113.02	133.86	36.98
R	14	4750	1805	1240.3	356.84	992.2	198.18	124.54	132.12	210.1	114.97
A	15	3850	1116.5	910.8	250.7	730.9	146.01	138.02	57.16	46	90.5
	16	5550	2775	1694.1	415.97	922.41	588.85	213.95	54.11	50.22	241.98
	17	4850	2667.5	1537.8	235.27	486.01	374.25	333.43	373.45	392.38	307.82
	18	6900	3450	867.33	212.17	417.79	741.4	341.55	554.41	459.88	530.61
	19	6300	2961	1528.9	207.86	619.73	561.4	750.31	360.35	344.36	253.75
	20	8000	4320	1802.3	447.98	698.94	926.64	1213.48	525.74	502.41	370.22
	21	6100	2379	737.72	90.4	463.39	199.83	205.3	299.75	123.47	154.39
	22	9100	3367	1899.6	150.5	640.74	552.86	599.32	225.25	767.67	481.74
ME		6234.0	2828.8	1614.6	303.89	1030.6	654.54	453.68	433.22	384.31	286.01
DIA		909	1818	2727		1409	77273	7	36364	27273	59091
DE		2033.3	1210.9	702.26	252.12	601.1	411.2	341.24	313.81	293.86	202.1
SVI		2	4								
A.											

Los resultados de citometría de flujo, mostrarán niveles de leucocitos basales de 6234, con una media de linfocitos de 2828 y eosinófilos de 409. Lo que significa que al inicio del estudio los valores para ambos resultados se mantuvieron estables.

RESULTADOS DE PACIENTES CON ASMA MODERADA
PERSISTENTE Y TRATAMIENTO "A" OBTENIDOS
MEDIANTE CITOMETRIA DE FLUJO
(Tabla 8)

	PACI. TA	CUEN LINFO S	CD3 CUEN TA	CD4	CD8	CD56+16	CD69/ 4/3	CD69/ 8/3	CD25/ 4/3		
GRUPO A	1	4950	2623.5	885.16	363.35	470.13	566.93	385.91	114.12	393.5	163.96
	2	2800	1736	739.7	236.09	362.3	250.15	196.51	69.44	173.6	192.86
	3	4050	2592	1196.2	336.7	918.6	222.91	308.18	123.12	670.8	317
	4	4900	2449	1804.7	357.1	981.35	406.58	626.74	131.44	175.42	198.42
	5	3800	1617	1096.3	228.32	327.92	288.31	65	36.38	47.8	392.76
	6										
	7	7050	2820	1889.4	346.86	710.35	1106.5	434.28	229.83	206.98	158.48
	8	6050	2904	1573.6	237.83	717.86	1002.4	393.2	302.59	348.18	254.96
	9										
	10	3950	2054	1288.0	214.64	442.2	727.32	317.34	227.99	107.21	331.72
	11										
MEDIA DE SVIA		4693.7 5	2349.4 375	1309.1 6	290.11 12	616.33 875	571.40 25	340.895	154.36 375	265.43 625	251.27
		1267.4 870	457.28 5703	345.23 2512	61.652 28	235.36 1987	321.80 9804	166.113679 3	84.661 41313	187.05 66962	81.596 21805
	T	0.6925	0.2832	0.0429	0.7586	0.0011	0.3284	0.94204134	0.0304	0.8906	0.2143
		884	9026	0306	51	2569	42151	5	15453	60408	25814

Posterior al tratamiento se observa disminución de los niveles de CD4 $p = < 0.001$ y disminución de los niveles de CD3 $p = < 0.04$

**RESULTADOS DE PACIENTES CON ASMA MODERADA
PERSISTENTE Y TRATAMIENTO "B" OBTENIDOS
MEDIANTE CITOMETRIA DE FLUJO**

(Tabla 8b)

	PACI.	CUEN TA	LINFO S	CD3	CD19	CD4	CD8	CD56+16	CD69/ 4/3	CD69/ 8/3	CD25/ 4/3
	12										
G R U P O B	13	6250	3062.5	1979.6	759.8	1545.3 3	316.35	486.01	332.89	342.69	192.63
	14	5850	3042	2102.3 2	283.51	949.71	1928.9 3	496.45	314.23	335.53	137.8
	15	5800	2552	1519.2	359.32	837.56	395.81	483.34	296.03	279.44	121.22
	16										
	17	3800	2546	1722.3 6	359.49	1278	559.61	213.6	208.77	117.62	447.58
	18	3850	1501.5	1188.5 8	203.6	994.89	187.68	235.58	214.71	134.88	74.17
	19	3400	2006	1349.0 3	201.8	928.37	487.65	333.19	386.55	500.09	532.99
	20	3550	1952.5	1354.0 5	172.21	962.58	388.54	315.71	308.1	230.78	490
	21	5800	3596	2964.6 9	190.21	1449.9	1441.9 9	221.87	47.1	104.64	1007.5 9
	22	6250	4312.5	2752.3	266	1785.9 8	1824.1 8	234.6	267.8	451.08	495.07
ME DI A		4950	2730.1 1111	1881.3 4777	310.66	1192.4 8	836.74 88889	335.594444 4	264.02	277.41 66667	388.78 33333
DE SV IA.		1179.9 2	827.68	592.2	171.98	315.67	651.51	114.86	92.97	135.55	279.03

El tratamiento B corresponde al grupo placebo, donde se observa una desviación estandar para CD4 de 315.65 y para CD3 de 592.2. Sin significancia estadística.

TABLA 9

	PACI.	CUEN TA	LINFO S	CD3	CD19	CD4	CD8	CD56+16	CD69/ 4/3	CD69/ 8/3	CD25/ 4/3
T E S	1	11225	2918.5	2121.7 4	489.14	1224.0 1	831.48	216.84	207.79	356.05	612
	2	6400	1216	835.14	132.42	458.79	291.35	134	9.72	54.59	126.34
	3	5376	1881.6	1269.1 3	216.94	708.98	444.99	341.8	15.99	113.46	358.14
TI G O S	4	4500	1440	1147.8	149	583.2	452.16	152.92	30.96	158.25	189.21
	5	4900	1715	1264.1 2	189.16	616.02	537.13	201.16	42.36	56.42	210.08
ME DI A		6480.2	1834.2 2	1327.5 86	235.33 2	718.2	511.42 2	209.344	61.364	147.75 4	299.15 4
DE SV I.		2455.8 9	588.17	1327.5 8	130.2	265.28	178.58	72.83	74.09	111.08	173.91

En el grupo testigo se observa una desviación estandar para CD3 de 1327.58 y para CD4 de 265.28, con $p = < 0.08$

TABLA 10

	PACI.	CUEN TA	LINFO S	CD3	CD19	CD4	CD8	CD56+16	CD69/ 4/3	CD69/ 8/3	CD25/ 4/3
IN TE R ME	5B	5070	2281.5	1772.0 4	310.28	1444.4 1	312.79	434.16	70	120	305
	8B	3800	1634	1275.8	162.25	647.55	473.04	117.32	110	260	200
DI OS		4435	1957.7 5	1523.9 2	236.26	1045.9 8	392.9	275.74	90	190	252.5
ME DI A		635	323.75	248.12	60	398.43	80.1	158.42	20	70	52.5
DE SV IA.											

Se realizo desviación estandar a un grupo de pacientes intermedios con resultado para CD3 de 248.12 y para CD4 de 398.43 con $p = < 0.038$

RESULTADOS DE PACIENTES DE ASMA MODERA PERSISTENTE
CON TRATAMIENTO A O B OBTENIDOS MEDIANTE CITOMETRIA
DE FLUJO (Tabla 11)

PA CI EN TE S		CUEN TA	LINFO S	LINFOS T	LINFO S B	CD4	CD8	NK
TE ST IG OS	MEDIA	6480.2	1834.2 2	1327.5 8	235.33	718.2	511.42	209.36
	DESV.	2455.8	588.17	1327.5	130.2	265.2	178.58	72.83
PR IM ER M UE ST RE O	MEDIA	6234.0 91	2828.1 8	1614.6 27	303.89	1030.6 14	654.54	453.68
	DESV.	2033.3 2	1210.9 4	702.26	252.12	601.1	411.2	341.24
GR UP O "A"	MEDIA	4693.7 5	2349.4 3	1309.1 6	290.11	616.33	574.4	340.89
	DESV.	1321.2	458.94	289.68	61.65	235.37	321.8	155.63
GR UP O "B"	MEDIA	4950	2730.1 1	1881.3 48	310.66	1192.4 8	836.74	335.59
	DESV.	1179.9 2	827.68	592.2	171.98	315.67	651.51	114.86
IN TE R M. DE L "A"	MEDIA	4435	1957.7 5	1523.9 2	236.26	1045.9 8	392.9	275.74
	DESV.	635	323.75	248.12	60	398.43	80.1	158.42

Tabla 11

Grupo Testigo con administración de Factor de Transferencia y placebo.

PA CI EN TE S		CUEN TA	LINFO S	CD69/ 4/3	CD69/ 8/3
TE ST IG OS	MEDIA	6480.2	1834.2 2	61.36	147.75
	DESV.	2455.8	588.17	74.09	111.08
PR IM ER M UE ST RE O	MEDIA	6234.0 91	2828.1 8	433.22	384.31 2
	DESV.	2033.3 2	1210.9 4	313.81	293.86
GR UP O "A"	MEDIA	4693.7 5	2349.4 3	154.36	265.43
	DESV.	1321.2	458.94	84.66	186.7
GR UP O "B"	MEDIA	4950	2730.1 1	264.02	277.41 6
	DESV.	1179.9 2	827.68	92.97	135.55
IN TE R M. DE L "A"	MEDIA	4435	1957.7 5	90	190
	DESV.	635	323.75	20	70

En el grupo Testigo observamos disminución de CD69/8/3 $p= 0.018$

Tabla
11b

PACIENTES		CUENTA	LINFOS	CD25/4/3	NK
TESTIGOS	MEDIA	6480.2	1834.2	299.15	209.36
	DESV.	2455.8	588.17	173.91	72.83
PRIMER MUESTREO	MEDIA	6234.0	2828.1	286.01	453.68
	DESV.	2033.3	1210.9	202.1	341.24
GRUPO "A"	MEDIA	4693.7	2349.4	251.27	340.89
	DESV.	1321.2	458.94	81.59	155.63
GRUPO "B"	MEDIA	4950	2730.1	388.78	335.59
	DESV.	1179.9	827.68	279.03	114.86
INTERM.	MEDIA	4435	1957.7	252.5	275.74
DEL "A"	DESV.	635	323.75	52.5	158.42

Observamos resultados para NKs con $p = < 0.0052$

RESULTADOS SOBRE LA EXPRESION DE mRNA

En las siguientes tablas se puede observar el efecto del FT sobre la expresión de los mRNA de las diferentes citocinas que se midieron.

TABLA 12. NIVELES DE LEUCOCITOS, LINFOCITOS Y EOSINÓFILOS EN PACIENTES CON ASMA, TRATADOS CON FT NEBULIZADO.

	Leucocitos/mm ³	Linfocitos /mm ³	Eosinófilos /mm ³
TESTIGOS	6480±2455	1834±588	127±
PAC. ANTES	6234±2033	2828±1210	409±217
PAC. DESP. FT	4693±1321	2349±458	181±97
PAC. DESP. PLAC.	4950±1179	2730±827	76±86
PAC. INTERM.	4435±635	1957±323	278±168

TABLA 13. IFN-gamma,e IL-10 EN PACIENTES CON ASMA EXTRÍNSECA TRATADOS CON FT NEBULIZADO.

	IFN-gamma	IL-10
Testigos	0.0	1642.9 +/- 683
Pacientes antes del tratamiento	180.5 +/- 525	1580 +/- 1283
Pacientes después FT	2191.3 +/- 406	2173.1 +/- 391
Pacientes después Placebo	1594.7 +/- 1176	2412 +/- 761

En el grupo de pacientes que recibió tratamiento con FT, se encontraron más aumentados los niveles de IFN gamma que el grupo que no recibió tratamiento.

TABLA 14. LINFOCITOS T QUE SINTETIZA IL-10 EN PACIENTES CON ASMA TRATADOS CON FT NEBULIZADO.

	IL-10	CD ₄	ambos	IL-10	CD ₈	ambos
Testigos	736.21 +/- 313	102.28 +/- 99	670 +/- 250	1144.7 +/- 270	206.4 +/- 232	238.2 +/- 171
Pacientes antes	1788.7 +/- 1394	52.12 +/- 160	347.2 +/- 616.8	1467.7 +/- 854	91.1 +/- 196	371.6 +/- 538
Pacientes después FT	1879.7 +/- 430	0.0	354.8 +/-158	1805.1 +/- 458	0.0	560.5 +/- 457
Pacientes después Placebo	1193.5 +/- 660	0.0	1109.5 +/- 726	1415.7 +/- 514	0.0	975.3 +/- 500

Los resultados encontrados demuestran que en el grupo testigo, los linfocitos que sintetizan la IL-10 son los T cooperadores, expresan CD4; en cambio en los pacientes se encuentra un mayor número de linfocitos T citotóxicos que elaboran la IL-10.

TABLA 15. APOPTOSIS EN LOS LINFOCITOS DE PACIENTES CON ASMA, TRATADOS CON FT NEBULIZADO.

	Linfos Totales /mm ³	Linfos T /mm ³	Apop. Linfos /mm ³	Apop. Linfos T /mm ³
Testigos	2349.4±	1327.5±132	353.6±113	612.1±117
Pac. Antes	2527±1237	1614±702	920.5±782	544.5±358
Pac. Después FT	2479.1±570	1309±	817.9±168	862.8±358
Pac. Después Place.	2690.9±870	1881±592	896.5±332	1239±590

Los resultados encontrados indican que la apoptosis de los linfocitos totales se encuentra aumentada y con el tratamiento tiende a normalizarse. Se observa de forma cuantitativa Posterior al tratamiento con Factor de Transferencia: 817.9±/ - 168, y antes del tratamiento con Factor de Transferencia 920.5 ±/ - 862 ±/ -782.

DISCUSION

En este estudio se evaluó de forma aleatoria la eficacia y seguridad del Factor de Transferencia en pacientes asmáticos con fondo alérgico.

Nuestros resultados no mostraron cambios en las cifras de IgE total en el transcurso del tiempo, los niveles de eosinófilos totales disminuyeron sobre todo en el primer mes en el grupo de pacientes que recibieron Factor de Transferencia, al comparar ambos grupos no se observaron diferencias significativas ($p=0.37$).

Las Pruebas de función Pulmonar mostraron una mejoría que fue estadísticamente significativa, con una mediana arriba del 80% (91%), mientras que los del grupo placebo fue de 78% ($p=0.022$).

El grado de severidad disminuyo en ambos grupos, ya que ambos grupos se encontraban con manejo farmacológico para asma moderada según las normas establecidas (10), Posteriormente al finalizar el estudio se observo disminución en el grado de severidad.

Durante el estudio en la medición de celularidad , se encontro que las células activadas y el aumento de estas, correlacionan con la severidad de la enfermedad, aunque dicho aumento no se encontro estadísticamente significativo, sin embargo el total de linfocitos y macrófagos no difieren en pacientes asmáticos de los no asmáticos.

Los pacientes asmáticos Nebulizados con Factor de Transferencia, aumentaron sus niveles de INF gamma, demostrando una tendencia a la expresión de Linfocitos TH1. En cambio el aumento de IL-10 nos desplaza la respuesta hacia TH2, por lo que sugerimos que quizá no únicamente sean los Linfocitos T cooperadores los que expresen CD4 si no los citotóxicos Tc2. (19, 21).

Al calcular la relación cooperación/citotoxicidad (CD4/CD8), el valor antes del tratamiento es de 1.92 (932/489), conforme al valor después del tratamiento de 1.56 (789/432), el valor del grupo testigo es de 1.72 (725/453), lo que indica un ligero aumento hacia la cooperación.

En relación a la apoptosis de los linfocitos Totales observamos que esta se encuentra aumentada en los pacientes asmáticos y con la administración del Factor de Transferencia tiene una tendencia a la normalización. Por otro lado la apoptosis de los linfocitos T se encuentra disminuida al iniciar el tratamiento y después de este aumenta, pero el aumento es mayor en el grupo tratado con placebo.

Esto refleja la importancia de las células TH2 en este tipo de desordenes y aumenta cada vez más el interés, por el estudio de todo lo que involucra a la respuesta TH2.

CONCLUSIONES

Nuestro estudio es el primer trabajo reportado con Factor de Transferencia por Vía Aérea (Nebulizado), en un doble ciego placebo controlado, con un grupo de pacientes asmáticos alérgicos, de características homogéneas, en el que se valora la mejoría clínica con base al nivel de severidad según criterios ya establecidos (10), con Pruebas de Función Pulmonar , mediciones de celularidad y apoptosis.

Los pacientes que recibieron Factor de Transferencia redujeron la severidad del asma.

Los pacientes que recibieron Factor de Transferencia mejoraron sus PEP de 70 a 80%

El Factor de Transferencia actúa como un excelente inmunomodulador, sugiriendo se incluya en el tratamiento integral del paciente con Asma .

BIBLIOGRAFÍA

1. The International study of asthma and allergies in childhood steering committee. *Lancet* 351:1225-32.
2. Terán L.M. CCL Chemokines and asthma. *Immunology Today* 2000;21: 235-42
3. Holgate S. The epidemic of allergy and asthma. *Nature* 1999; **402**, supp:B2-B4.
4. Lemanske R; Creen C. Asthma in Infancy and Childhood. In Middleton E Jr, Reed CE, Ellis EF, Adkinson F, Yunginger J, Busse W, Editors. *Allergy principles and practice, 5**, St Louis, 1998, Mosby, p 877-900.
5. H.Holt P; Macaubas C; Stumbles P.'The role of allergy in the development of asthma. *Nature* 1999; 402, supp:B12-B17.
6. Teramoto T; Fukao T; Tashita H; Inoue R; Kaneko H; Takemura M; Kondo N. Serum IgE level is negatively correlated with the ability of peripheral mononuclear cells to produce Interferon- γ : evidence of reduced expression of Interferon- γ mRNA atopic patients. *Clin Exp Allergy* 1998; 28:74-82.
7. National Heart, Lung, and Blood Institute: Expert panel report 2: guidelines for the diagnosis and management of asthma, NIH Publ 1997; No. 97: 4051.
8. Salazar RM; Mejía Ortega J. Uso del Factor de Transferencia en el Asma
9. Bronquial Alérgica. *Revista de Alergia de México* marzo-abril 1993; XL: 42-
10. Estrada-Parra S; Cabezas-Q R: El Factor de Transferencia como inmunomodulador en el asma bronquial extrínseca II. Estudio de 150 casos. *Investigaciones Médico-quirúrgicas*, 1997. 1:36-40.
11. Enciso JA; Serrano E; Gómez-Martínez J; Portugués-Díaz A; Badillo M; Orea M; Gómez-Vera J; Flores-Sandoval G; Estrada-Parra S. Cytokine and lymphocyte levels in extrinsic asthma patients treated with Transfer Factor. XI th International Congress on Transfer Factor. Monterrey Nuevo León, México, 1999: 26.
12. Kirkpatrick Ch. Peptide sequences that are common to transfer factors. XI th International Congress on Transfer Factor. Monterrey Nuevo León, México, 1999: 20.

13. Fadeenko N.P; Davidovska T.L; Lyubchenko T.A.; Goleva E.G.; Kholodna L.S; Shuba M.F. Transfer Factor role in signal transduction. XI th International Congress on Transfer Factor. Monterrey Nuevo León, México, 1999: 18.
14. Hana I; Vrubel J; Pekarek J; Cech K. The influence of age on transfer factor treatment of cellular immunodeficiency, chronic fatigue syndrome and/or chronic viral infections. *Biotherapy* 1996; 9: 91-5.
15. Fundenberg H. Dializable Transfer Factor in the treatment of human osteosarcoma: An analytic review. *Ann N Y Acad Sci* 1976; 277: 545-57.
16. Estrada-Parra S; Nagaya A; Serrano E; Rodríguez O; Santamaría V; Ondarza R; Chávez R; Correa B; Monges A; Cabezas R; Calva C; Estrada-García I. Comparative study of Transfer Factor and acyclovir in the treatment of herpes Zoster. *Int J of Immunopharmacol* 1993; 20: 521-35.
17. Harold S.N. Asthma guidelines and outcomes. In Middleton E Jr, Reed CE, Ellis EF, Adkinson F, Yunginger J, Busse W, Editors. *Allergy principles and practice*, 5*, Ed, St Louis, 1998, Mosby, p 927-37.
18. Guyton A; Hall J. Ventilación pulmonar, volúmenes y capacidades pulmonares. En tratado de fisiología médica. 9ª Edición, Interamericana McGraw-Hill 1997; p 519-31.
19. Lu FM; Chou Ch; Chiang BL; Hsieh KH. Immunologic changes during immunotherapy in asthmatic children: increased IL-13 and allergen specific IgG antibody levels. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998; 80: 419-23.
20. Mosmann TR; Cherwinski H; Bond MW. Two types of murine helper T cell clone. *J Immunol* 1986; 136: 2348-57
21. Robinson DS; Qutayba H; Ying S. Predominant Th2-like bronchoalveolar T lymphocyte population in atopic asthma. *N Engl J med* 1992; 326:298-304.

ANEXOS

MANUAL DE PROCEDMIENTOS

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO, SERVICIO DE ALERGIA E
INMUNOLOGÍA CLÍNICA.
POR LA PRESENTE CONFIRMO

(Nombre del paciente) QUE HE SIDO INFORMADO POR EL

DR. _____

(Nombre del medico)

ACERCA DE LA ESENCIA, SIGNIFICADO Y EL PROPOSITO DEL
ESTUDIO INMUNOALERGICO QUE SE VA A REALIZAR PARA
LLEGAR A UN DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO ADECUADO SE
ME HA EXPLICADO DEBIDAMENTE EL PROCEDIMIENTO QUE SE
REALIZARA ASI COMO EL RIESGO QUE REPRESENTA.

FIRMA DEL PACIENTE:

FIRMA DEL MEDICO:

FIRMA DEL TESTIGO:

LUGAR Y FECHA:

EFICACIA Y SEGURIDAD DEL FACTOR DE TRANSFERENCIA POR VÍA AEREA EN PACIENTES CON ASMA BRONQUIAL

CÉDULA DE RECOLECCIÓN DE DATOS:

NOMBRE DEL PACIENTE

EXPEDIENTE (CÉDULA):

DIRECCIÓN:

NUM. DE TELEFONO:

Pruebas cutáneas:	Eritema	mm.	Rocha	mm
Diagnósticos 1)_			2).	
	3).		4).	

	Semana 0	Semana 6	Semana 12	Semana 24
Tratamiento				
IgE total				
Eosinófilos T				
PEF				
Variabilidad PEF				
100% PEF				
80% PEF				
50% PEF				
FEF ₅₇₅				
% Broncodilatador				
Tos día				
Tos Noche				
Sibilancias				
Sx correr				

Semana 1 (fecha)	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5				
Tos día									
Tos noche									
Sibilancias									
Sx correr									
PEF									
	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6				
Tos día									
Tos noche									
Sibilancias									
Sx correr									
PEF									
	1Q	2Q	3Q	4Q	5Q	6Q	7Q	8Q	9Q
Tos día									
Tos noche									
Sibila									
SxC									
PEF									

Q= quincena, Sx correr= Síntomas al correr