



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---

FACULTAD DE MEDICINA UNAM  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
CENTRO MEDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE  
ISSSTE

**“EXPRESIÓN DE PROTEÍNA FOX-P3 EN PACIENTES  
ASMÁTICOS”**

**T E S I S       D E       P O S G R A D O**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**ESPECIALISTA EN ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA**

P R E S E N T A:

DR. JESÚS GUILLERMO ESPINOZA CONTRERAS

TUTOR DE TESIS: DRA. MARÍA EUGENIA VARGAS CAMAÑO  
SERVICIO DE INMUNOLOGÍA CLÍNICA Y ALERGIA CMN 20 NOV



México, DF. AGOSTO

2010.



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.

**“EXPRESIÓN DE PROTEÍNA FOX-P3 EN PACIENTES ASMÁTICOS”**

## DEDICATORIA

Este trabajo debe de ser solo un pequeño paso de los muchos que me faltan por recorrer, en este complejo mundo de la inmunología clínica.

Le dedico este trabajo a la mujer que día a día se aferra a conseguir logros y que de ella he aprendido y por ella me aferro a ser mejor persona, que en el ayer y el hoy me ha dado la felicidad de ser su esposo y el día de mañana me va a dar la dicha de ser Papá, Gracias Amor. A mis padres, de los cuales aprendí que no hay objetivo que no se alcance y que el trabajo con amor es uno de los valores más preciados y a mis hermanos por poder compartir este tesoro.

A la Dra Vargas por su dedicación, paciencia y pasión para que nuestro aprendizaje este lleno de temas interesantes del maravilloso campo de la inmunología clínica.

A la Dra Castrejón por el gran apoyo y dedicación en la realización de este trabajo, y que me ha enseñado, a pensar que cuando uno anda por ahí o por allá... tal vez encuentre a Dios.

Claro al Dr Guido por creer un en mi un día y en apoyarme en convertir a este internista, en lo que yo espero muy pronto llegar a ser, un excelente Inmunólogo clínico.

A mis compañeros y amigos con los cuales he vivido bellas experiencias y que espero siempre contar con su amistad Y por último, pero no por ser menos importante, a los que nos apoyan en ocasiones incluso al fallarles, los que confían en nosotros como si fuéramos de su propia familia, a todos nuestros pacientes, sin ellos no soy algo que tanto me gusta ser... Médico.

**DR. MAURICIO DI SILVIO LOPEZ**

Subdirector de Enseñanza e Investigación  
Centro Médico Nacional 20 DE Noviembre  
ISSSTE

---

TUTOR DE TESIS

**DRA. MARÍA EUGENIA VARGAS CAMAÑO**

Prof. Titular curso de Inmunología Clínica y Alergia  
Facultad de Medicina UNAM  
Centro Médico Nacional 20 DE Noviembre  
ISSSTE

---

COTUTORES DE TESIS

**DRA. ISABEL CASTREJÓN VÁZQUEZ**

Prof. Adjunto Curso Inmunología Clínica y Alergia  
Facultad de Medicina UNAM  
Centro Médico Nacional 20 DE Noviembre  
ISSSTE

---

**Q.F.B. GUILLERMO GARCÍA CASTILLO**

Laboratorio de Estudios Especiales de Inmunología  
Centro Médico Nacional 20 DE Noviembre  
ISSSTE

---

## **CONTENIDO**

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. JUSTIFICACIÓN.....	6
3. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	7
4. HIPÓTESIS.....	7
5. OBJETIVOS.....	7
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
A. Universo de trabajo.....	8
B. Tipo de estudio. ....	8
C.1. Criterios de inclusión.....	8
C.2. Criterios de no inclusión.....	8
C.3. Criterios de exclusión.....	8
D. Selección de la muestra.....	8
E. Descripción de variables.....	10
F. Definición de las variables.....	10
G. Grupos de estudio. ....	15
H. Análisis estadístico.....	15
I. Consideraciones éticas.....	15
7. RESULTADOS.....	16
8. DISCUSIÓN.....	18
9. CONCLUSIONES.....	19
10. BIBLIOGRAFIA. ....	20
11. TABLAS Y FIGURAS.....	27
12. ANEXOS.....	34

## 1. INTRODUCCIÓN

Los aumentos dramáticos en la prevalencia de atopia y de asma se han producido durante las últimas décadas en los países occidentalizados y más recientemente en las naciones menos desarrolladas<sup>1,2</sup>. Las estimaciones sugieren que hasta 300 millones de personas están afectadas en todo el mundo<sup>3</sup>. Los recientes avances tanto en inmunología clínica y fenotipos de asma han planteado la posibilidad de que otros mecanismos puedan desencadenar la enfermedad en algunos pacientes con asma, o co-existir con la inflamación de tipo Th2 en otros, tanto en el análisis de conglomerados de los parámetros clínicos, patológicos como fisiológicos<sup>4</sup>. Los estudios de biopsia de los pacientes con asma grave, sugirió subtipos eosinofílicos y no eosinofílicos<sup>5</sup>.

Las células Th 17 son un subconjunto de células T recientemente descritas, derivan de la estimulación de TGF- $\beta$  e IL-6, y después por la acción de IL-23. Estas células producen IL-17 y están asociadas con inflamación neutrofílica<sup>6</sup>. La IL-17 que se produce en las células T y eosinófilos es mayor en la vía aérea asmática<sup>7</sup>, y en modelos animales, la IL-17 es necesaria durante la sensibilización alérgica inicial, pero reducida en la inflamación dependiente de Th2 en la enfermedad establecida<sup>8</sup>. Ahora hay evidencia de una variedad de células T supresoras o reguladoras (Treg) que se desarrollan como parte normal del sistema inmune (T reguladoras naturales, derivadas de timo) o en respuesta a exposición de antígenos (T reguladoras de adaptación)<sup>9</sup>.

Las células T reguladoras (Treg) mejor caracterizadas, son células T CD4 que expresan constitutivamente altos niveles de moléculas de superficie CD25 (el receptor de la IL-2 de una cadena: las células T CD25<sup>hi</sup>)<sup>10</sup>. A diferencia de las

células CD4<sup>+</sup> Th, estas células CD25<sup>hi</sup> no proliferan o producen citocinas cuando se estimula con antígeno en el laboratorio, pero activamente suprimen la proliferación y la producción de citocinas de células T (denominadas efectoras, Teff). Deben su fenotipo de supresión en gran parte a la expresión de altos niveles de factor de transcripción FOXP3, porque debido a la eliminación o reducción de FOXP3 anula su capacidad para suprimir y agregar FOXP3 a CD25 negativas que hace a estas, células efectoras T supresores <sup>11, 12, 13, 14</sup>.

Ya en la década de 1970, se propuso que las células T supresoras serían capaces de la inhibición de otras células T, y de ese modo mediar la tolerancia inmunológica y la discriminación de lo propio y no propio <sup>15, 16, 17</sup>. A mitad de los 90s una nueva subpoblación de células supresoras fue propuesta, éstas expresaban CD4 y fueron nombradas células T reg <sup>18</sup>. La función principal de las células T reg fue originalmente definida como la prevención de enfermedades autoinmunes manteniendo la auto tolerancia <sup>19</sup>. Con los años, varias funciones adicionales se han sugerido y será importante para aclarar lo que realmente hacen las células Treg en el sistema inmune, dentro de las funciones se ha observado también supresión de la enfermedad alérgica y entre ellas el asma <sup>20, 21, 22</sup>, inducción de la tolerancia contra antígenos de la dieta <sup>23, 24, 25, 26</sup>, inducción de tolerancia materna al feto <sup>27</sup>, supresión de patógenos inducida por Inmunopatología <sup>28, 29, 30</sup>, protección de bacterias comensales para eliminación por el sistema inmune <sup>31</sup>.

Cuando se estudiaron células de los pacientes con alergia atópica, los efectos supresores de las células T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> sobre las células T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> estimuladas por alérgenos se redujeron y se redujo aún más cuando los pacientes tenían rinitis alérgica (RA) activa durante la temporada de polinización <sup>32, 33</sup>.



Después de la estimulación con alérgeno in vitro, la producción de IL-10, IL - 4 y el IFN-  $\gamma$  de células T podría ser aislado de sangre periférica de donantes de alérgica atópica y los controles sanos <sup>34</sup>.

La producción de IL-10 de las células T tuvo la capacidad de suprimir la producción de citocinas derivadas de células Th2 estimuladas por alérgeno, como la producción de IL-4 de células T efectoras, a través de mecanismos que incluyen producción de IL-10, el TGF- $\beta$ , CTLA-4 y PD-1. En donantes de enfermedad alérgica la frecuencia de producción de IL-10 por células T reg se redujo y la producción de IL-4 por células aumento. La frecuencia de células Treg que producen IL 10 fue de 0,1-0,007% de la total de linfocitos T CD4<sup>+</sup>. Estos resultados sugieren que las células T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, productoras de IL-10 tienen la posibilidad de suprimir la respuestas Th2. Esta supresión puede ser defectuosa o se reemplaza en pacientes con enfermedad alérgica <sup>35</sup>.

Se reportó una reducción similar de la supresión por células T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> de la sangre periférica de niños alérgicos a ácaros del polvo doméstico (HDM) en comparación con los controles no alérgicos <sup>36</sup>.

Definiríamos como paciente asmático al paciente con enfermedad inflamatoria crónica de las vías respiratorias, en cuya patogenia intervienen diversas células y mediadores de la inflamación, condicionada en parte por factores genéticos y que cursa con hiperrespuesta bronquial y una obstrucción variable al flujo aéreo, total o parcialmente reversible, ya sea por la acción medicamentosa o espontáneamente.<sup>37</sup>

Entonces el diagnóstico de asma se debe considerar ante síntomas y signos clínicos característicos como disnea, tos, sibilancias y opresión torácica. Estos son habitualmente variables, de predominio nocturno o de madrugada, y están

provocados por diferentes desencadenantes (infecciones víricas, alérgenos, humo del tabaco, ejercicio). Las variaciones estacionales y los antecedentes familiares y personales de atopia son aspectos importantes que hay que considerar. Ninguno de estos síntomas y signos son específicos de asma, de ahí la necesidad de incorporar alguna prueba objetiva diagnóstica, habitualmente pruebas funcionales respiratorias. La exploración física puede ser normal, siendo las sibilancias el signo más característico, si bien no son específicas de asma e incluso pueden estar ausentes en las crisis graves. Las principales alteraciones funcionales del asma son la obstrucción del flujo aéreo, su reversibilidad, la variabilidad y la hiperrespuesta bronquial<sup>37</sup>.

La espirometría es la prueba diagnóstica de primera elección, tal y como recoge el algoritmo del proceso diagnóstico propuesto. Los principales parámetros que hay que determinar son la capacidad vital forzada (FVC) y el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV1). Los valores de referencia deben adecuarse a la edad y etnia/raza de cada paciente. La obstrucción se define como “un cociente FEV1/FVC por debajo del límite inferior de los valores de referencia, que arbitrariamente se sitúa en 0,7”. No obstante, este criterio puede originar una sobreestimación de la obstrucción en personas de edad avanzada. Un FEV1 reducido confirma la obstrucción, ayuda a establecer su gravedad e indica un mayor riesgo de exacerbaciones. No obstante, muchos enfermos con asma pueden tener una espirometría con valores en el margen de referencia o incluso con un patrón no obstructivo (restrictivo) por atrapamiento aéreo<sup>37</sup>.

Para la prueba de broncodilatación se recomienda administrar cuatro inhalaciones sucesivas de 100 µg de salbutamol, o su equivalente, mediante un inhalador presurizado con cámara espaciadora y repetir la espirometría a los 15 minutos. Se considera respuesta positiva (o broncodilatación significativa) un aumento del FEV1 del 12% o superior y de 200 ml o más respecto al valor basal (**Anexo 1**). Un criterio de broncodilatación alternativo es un aumento del flujo espiratorio máximo (PEF) superior a 60 l/minuto o 20%. La reversibilidad también puede ser identificada por una mejoría del FEV1 o del PEF tras dos semanas de tratamiento con glucocorticoides sistémicos (40 mg/día de prednisona o equivalente) o 2-8 semanas de glucocorticoides inhalados (1.500-2.000 mg/día de fluticasona o equivalente). Aunque característica del asma, la reversibilidad de la obstrucción bronquial no está presente en todos los pacientes. La variabilidad o fluctuación excesiva de la función pulmonar a lo largo del tiempo resulta esencial para el diagnóstico y control del asma. El índice de variabilidad diaria más recomendable es la amplitud del PEF con respecto a la media promediada durante un mínimo de 1-2 semanas y registrado antes de la medicación (tabla 2.2). Una variabilidad del PEF mayor del 20% resulta diagnóstica de asma.<sup>37</sup>

La severidad del asma será evaluada con la clasificación de severidad propuesta por guías internacionales (GEMA 2009) **anexo 2**.

## **2. JUSTIFICACION.**

En México no contamos con estudios acerca de la expresión del factor de transcripción FOXP3 en pacientes asmáticos, donde la variación de sus cifras podrían asociarse al control y pronóstico de estos pacientes, así como herramienta útil para evaluar la respuesta terapéutica y el riesgo de otras enfermedades del sistema inmune, situaciones en las que se observa un decremento en la expresión de esta proteína, por lo que además es importante ser pioneros de estudios de investigación que impliquen un reto a investigadores clínicos como a básicos, ya que debemos ser una institución líder en emanar este tipo de conocimiento al resto del país.

### **3. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.**

¿Cuál es la expresión de los linfocitos FOXP3<sup>+</sup> en los pacientes con asma alérgica comparada con pacientes con rinitis alérgica?

### **4. HIPÓTESIS.**

Los pacientes con asma tendrán niveles de expresión de FOXP3 significativamente menores en comparación con pacientes rinitis alérgica.

### **5. OBJETIVOS.**

#### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar los niveles de expresión de FOXP3 en linfocitos de pacientes con asma y compararlos con pacientes con rinitis alérgica.

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Conocer los valores de subpoblaciones de linfocitos CD3, CD4, CD8 para ambos grupos de pacientes.

Medir niveles séricos de IgE para el grupo de pacientes con asma y rinitis alérgica.

Conocer correlación entre FOXP3 y subpoblaciones de linfocitos

## **6. MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **A. Universo de trabajo.**

- Pacientes con diagnóstico de asma que acudan a la consulta del servicio de Inmunología Clínica y Alergia del CMN 20 de Noviembre ISSSTE.
- Pacientes con el diagnóstico de rinitis alérgica que acudan a la consulta del servicio de Inmunología Clínica y Alergia del CMN 20 de Noviembre ISSSTE

### **B. Tipo de estudio.**

Estudio transversal, observacional, analítico.

### **C. Criterios para ingresar al estudio.**

#### C.1. Criterios de inclusión.

- Mayores de 3 años y menores de 70.
- Ambos sexos.
- Con diagnóstico de asma.
- Quienes acepten y firmen carta de consentimiento informado para participar en el estudio.

#### C.2. Criterios de no inclusión.

- Pacientes que estén recibiendo tratamiento con esteroides o tratamiento inmunomodulador (factor de transferencia, glicofosfopeptical u otros).

#### C.3. Criterios de exclusión.

- Pacientes de quienes no se cuente con los estudios inmunológicos completos.

### **D. Selección de la muestra.**

Se incluyeron a todos los pacientes que reunían los criterios de inclusión de manera consecutiva. A los pacientes con asma y rinitis se les realizó el diagnóstico en base a cuadro clínico, exámenes de laboratorio (determinación de inmunoglobulinas, biometría hemática), pruebas de función respiratoria (espirometría) y pruebas

cutáneas a alérgenos comunes, las cuales fueron positivas por lo menos a un alérgeno ya sea pólenes, caspas de animales u hongos.

Una vez que los pacientes hayan sido informados de la naturaleza del estudio y dar su consentimiento por escrito, se les tomó un muestra de sangre de 5 mL en un tubo con EDTA para determinación de biometría hemática, marcadores celulares y otra de 5 mL en un tubo sin anticoagulante para determinación de marcadores humorales.

Los marcadores celulares a determinar son CD3, CD4, CD8, y FOXP3, los cuales se cuantificarán mediante citometría de flujo. Esta técnica de análisis celular permite medir las características de dispersión de luz y fluorescencia que poseen las células conforme se las hace pasar a través de un rayo de luz. Para su análisis por citometría de flujo, las células deben encontrarse individualmente en suspensión en un fluido. Al atravesar el rayo de luz, las células interaccionan con éste causando dispersión de la luz, basándose en la difracción de la luz en sentido frontal, se puede evaluar el tamaño de las células que pasan y al medir la reflexión de la luz de manera lateral se evalúa la granularidad o complejidad de estas. Además de la dispersión de la luz, si previamente a su análisis se coloca a las células en presencia de anticuerpos monoclonales marcados con moléculas fluorescentes, se pueden evaluar que células poseen los antígenos complementarios a los anticuerpos monoclonales usados.

Los marcadores humorales a determinar son los que habitualmente se cuantifican en pacientes alérgicos, los cuales son IgE, IgG, subclases de IgG, IgA e IgM, los cuales

se cuantificaron mediante ELISA con equipo automatizado disponible en el laboratorio del hospital.

### **E. Descripción de variables.**

Marcadores serológicos:

- Subpoblaciones de linfocitos: CD4 y CD8
- Niveles de expresión de FOXP3
- Cuenta diferencial de leucocitos en biometría hemática
- Niveles de IgE
- Niveles de IgG total

### **F. Definición de las variables.**

F.1. Definición conceptual.

F.2. Definición operacional.

### **Severidad del asma:**

DEFINICIÓN CONCEPTUAL: Grado de obstrucción del flujo aéreo, reversibilidad, variabilidad y la hiperrespuesta bronquial.

DEFINICIÓN OPERACIONAL: Grado de severidad en base a la declaración propuesta por las guías internacionales (GEMA 2009).

ESCALA DE MEDICIÓN: Ordinal.

UNIDADES DE MEDICIÓN: Ver anexo 2

### **Volumen espiratorio forzado en el primer segundo (VEF1):**

DEFINICIÓN CONCEPTUAL: Es la cantidad de aire expulsado durante el primer segundo de la espiración máxima, realizada tras una inspiración máxima.

DEFINICIÓN OPERACIONAL: Determinación por pruebas de función respiratoria (espirometría)



ESCALA DE MEDICIÓN: Cuantitativa continua

UNIDAD DE MEDICIÓN: Litros/segundo

## **Alergeno**

DEFINICIÓN CONCEPTUAL: Un alérgeno es una sustancia que puede inducir una reacción de hipersensibilidad (alérgica) en personas susceptibles, que han estado en contacto previamente con el alérgeno.

DEFINICIÓN OPERACIONAL:

ESCALA DE MEDICIÓN: categórica

UNIDAD DE MEDICIÓN: pólenes, caspas de animales y hongos

## **MARCADORES SEROLÓGICOS**

### **- Subpoblaciones de linfocitos**

#### **CD3:**

DEFINICIÓN CONCEPTUAL: Grupo de diferenciación 3. Es un antígeno que pertenece al grupo de proteínas de diferenciación de las células del sistema inmune, forma parte del receptor de células T (TCR) en linfocitos T maduros.

DEFINICIÓN OPERACIONAL: Determinación de este antígeno por citometría de flujo.

ESCALA DE MEDICIÓN: Cuantitativa continua

UNIDAD DE MEDICIÓN: Número de células/ $\mu$ L

**CD4:**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** Grupo de diferenciación 4. Es una glicoproteína expresada en la superficie de los linfocitos T, células T reguladoras, los monocitos, macrófagos y células dendríticas. Es miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas, co-receptor que permite al receptor de células T (TCR) activar sus células T después de la interacción con células presentadoras de antígenos. Interactúa directamente con las moléculas MHC de clase II en la superficie de las células presentadoras de antígenos mediante su dominio extracelular.

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:** Determinación de este antígeno por citometría de flujo.

**ESCALA DE MEDICIÓN:** Cuantitativa continua.

**UNIDAD DE MEDICIÓN:** Número de células/mL.

**CD8:**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** Grupo de diferenciación 8. Es una glucoproteína transmembrana que sirve como co-receptor para el receptor de células T (TCR). Al igual que el TCR, CD8 se une al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de la molécula pero es específico para la proteína de MHC de clase I.

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:** Determinación de este antígeno por citometría de flujo.

**ESCALA DE MEDICIÓN:** Cuantitativa continua.

**UNIDAD DE MEDICIÓN:** Número de células/ $\mu$ L.

**RELACIÓN CD4/CD8:**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** Es el cociente de los niveles de los linfocitos CD4 entre los niveles de linfocitos CD8.

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:** Cociente de los niveles de CD4 entre los niveles de CD8.

**ESCALA DE MEDICIÓN:** Cuantitativa continua.

**UNIDAD DE MEDICIÓN:** No tiene.

### **FOXP3**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** FOXP3 (Forkhead box P3) es un gen implicado en las respuestas del sistema inmunológico. Es un miembro de la familia de proteínas FOX, funciona como regulador maestro en el desarrollo y función de las células T reguladoras. El mecanismo preciso de control aún no se ha establecido, las proteínas FOX pertenecen a la familia de reguladores transcripcionales forkhead/winged-helix y se asume que ejercen control a través de interacciones con un ADN similar durante la transcripción.

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:** Determinación de esta proteína por citometría de flujo.

**ESCALA DE MEDICIÓN:** Cuantitativa continua.

**UNIDAD DE MEDICIÓN:** Número de células/ $\mu$ L.

**Linfocitos:** Están comprendidos dentro de los agranulocitos. Son los leucocitos de menor tamaño (entre 7 y 15  $\mu$ m), y representan del 24 a 32% del total en la sangre periférica. Los linfocitos son células de alta jerarquía en el sistema inmune, principalmente encargadas de la inmunidad específica o adquirida.

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:** Determinación de estas células mediante biometría hemática por citometría de flujo.

**ESCALA DE MEDICIÓN:** Cuantitativa continua.

UNIDADES DE MEDICIÓN: Número de células/mm<sup>3</sup>.

### **Inmunoglobulina E:**

DEFINICIÓN CONCEPTUAL: Es un tipo de anticuerpo (o inmunoglobulina "isotipo") que sólo se ha encontrado en los mamíferos. Desempeña un papel importante en la alergia y se asocia sobre todo con el tipo 1 de hipersensibilidad. La IgE también se ha implicado en las respuestas del sistema inmune a la mayoría de los gusanos parásitos.

DEFINICIÓN OPERACIONAL: Determinación de esta glucoproteína mediante nefelometría.

ESCALA DE MEDICIÓN: Cuantitativa continua.

UNIDADES DE MEDICIÓN: Unidades Internacionales/mL.

### **Variables demográficas**

#### **Edad:**

DEFINICIÓN CONCEPTUAL: El número de años cumplidos, referidos por el paciente desde su nacimiento a la fecha de realización del estudio.

DEFINICIÓN OPERACIONAL: El número de años cumplidos, referidos por el paciente desde su nacimiento a la fecha de realización del estudio.

ESCALA DE MEDICIÓN: Cuantitativa continua.

UNIDAD DE MEDICIÓN: Años.

#### **Género:**

DEFINICIÓN CONCEPTUAL: Sexo de asignación del sujeto.

DEFINICIÓN OPERACIONAL: Sexo de asignación del sujeto.

ESCALA DE MEDICIÓN: Nominal dicotómica.

UNIDAD DE MEDICIÓN: Hombre o mujer.

### **G. Grupos de estudio.**

Dos grupos de estudio: 21 pacientes con asma y 23 pacientes con rinitis alérgica.

### **H. Análisis estadístico.**

Para la descripción de las características generales del grupo se utilizarán medidas de resumen (promedios, mediana y porcentajes) así como de dispersión, (desviación estándar, rangos). Para evaluar si existe diferencia estadística entre las variables cuantitativas se utilizará la prueba U de Mann–Whitney de acuerdo a la distribución muestral. Para evaluar si existe diferencia estadística entre las variables cualitativas se utilizó la prueba de Rho de Spearman, esta prueba estadística se emplea en el análisis de dos o más grupos y dos o más variables.

### **I. CONSIDERACIONES ÉTICAS.**

Este estudio representa un riesgo mayor al mínimo debido a la toma de muestras sanguíneas. Los pacientes serán incluidos en el estudio sólo después de ser informados acerca de la naturaleza del estudio y dar su consentimiento por escrito para la utilización de sus muestras sanguíneas en la investigación.

Se aplicarán las normas de seguridad necesarias de acuerdo a los principios del Código de Nuremberg, la Declaración de Helsinki, la Enmienda de Tokio y el Informe Belmont.

## 7. RESULTADOS

Se estudiaron un total de 44 pacientes, divididos en 2 grupos en base al diagnóstico, el grupo 1 conformado por 21 casos, corresponden a pacientes con diagnóstico de asma alérgica intermitente (Anexo 2), el grupo 2 constituido por 23 casos, considerados no asmáticos (rinitis alérgica).

Del grupo 1, fueron 8(38.1%) mujeres y 13 (61.9%) fueron hombres (Cuadro 2), (Tabla 1 y Gráfica 2). En el grupo 2, 17(73.9%) correspondieron al género femenino y 6 (26.1%) al género masculino (Cuadro 2), cuyos rangos de edad oscilaron entre 7 y 70 años, con media  $41.52 \pm 19.6$  años (Tabla 1 y Gráfica 1).

En el grupo 1, la expresión de FOXP3 fue en promedio 59.91 células/ $\mu$ l (Gráfica 4), que corresponde a 6.84% de la media de CD4 875 células/ $\mu$ l (Tabla 1), en mujeres fue media de 61.11 células/ $\mu$ l, en hombres la media de 59.18 células/ $\mu$ l, los valores registrados para ambos géneros fueron de 23.68 a 152.2 células/ $\mu$ l, con desviación estándar de 31.84 (Tabla 1). Para el grupo 2, la expresión de FOXP3 en promedio fue de 78.88células/ $\mu$ l (Gráfica 3), que corresponde a 8.9% de la media de CD4 886.04 células/ $\mu$ l (Tabla 1), en mujeres la media fue 67.8 células/ $\mu$ l y en hombres 110.29 células/ $\mu$ l, con valores que oscilaron entre 21 y 244.12 células/ $\mu$ l, con desviación estándar de 47.29 (Tabla 1).

Los pacientes del grupo 1, tuvieron una media de CD4 875 células/ $\mu$ l (Gráfica 10) (Tabla 1), la media en mujeres fue 1004.5 células/ $\mu$ l y en hombres 830.07 células/ $\mu$ l; en el grupo 2 la media de CD4 fue 886.04 células/ $\mu$ l (Gráfica 9) (Tabla 1), con media 868.58 células/ $\mu$ l en mujeres y 935.5 células/ $\mu$ l en hombres.

En los pacientes del grupo 1 tuvieron una media de CD8 669.38 células/ $\mu$ l (Gráfica 12) (Tabla 1), la media en mujeres fue 668.37 células/ $\mu$ l y en hombres 670 células/ $\mu$ l. En los pacientes del grupo 2 tuvieron una media de CD8 596.69 células/ $\mu$ l (Gráfica 11) (Tabla 1), en mujeres la media fue 577.52 células/ $\mu$ l y en hombres 651 células/ $\mu$ l. La relación CD4/CD8 en los pacientes de grupo 1 (Gráfica 6), tuvieron una media de 1.47 (Tabla 1), en mujeres la media fue de 1.41, para hombres fue 1.51. En el grupo 2 esta relación de CD4/CD8 presentó una media de 1.64 (Gráfica 5) (Tabla 1) media para mujeres de 1.6 y 1.74 para hombres.

En cuanto a los niveles séricos de IgE, los pacientes del grupo 1 tuvieron una media de 920 UI (Gráfica 14) (Tabla 1), con media de 174.01 y 1379.18 para mujeres y hombres respectivamente. En el grupo 2, la media de IgE sérica fue 155.72 UI (Gráfica 13) (Tabla 1), la media en mujeres 157.72 UI y para hombres 150UI.

Se aplicó la prueba U de Mann-Whitney para la segmentación del grupo 1 y 2, donde se analizan las variables de edad, FOXP3, CD3, CD4, CD8, relación CD4/CD8 e IgE, con una significancia estadística de 0.78, 0.124, 0.581, 0.972, 0.581, 0.329 y 0.001 respectivamente (Cuadro 1), con lo que se rechaza la hipótesis nula solamente para IgE.

Para ambos grupos se realizó prueba de correlación Rho de Spearman con coeficiente de relación estadísticamente significativo ( $p \leq 0.05$ ) en la mayoría de las variables, excepto para la edad e IgE (Tabla 2 y 3).

## 8. DISCUSION

Existe información importante sobre las funciones de las células T reguladoras, dentro de estas la supresión de la respuesta alérgica,<sup>20, 21, 22</sup> lo que motivó este protocolo de investigación partiendo de la hipótesis en que los pacientes con asma presentan niveles bajos de FOXP3 en comparación con pacientes con rinitis alérgica. Se encontró significancia estadística en la variable de IgE ( $p=.001$ ), es decir para los grupos de asma y rinitis alérgica la distribución de los niveles de IgE no fue la misma. En el análisis de medias el grupo 1 (asma) presentó una media de IgE mayor que grupo 2 (rinitis) y el resultado de media de FOXP3 en el grupo 1 fue menor que grupo 2, esto ya se ha observado de forma experimental en donde animales que presentan la mutación en gen de FOXP3 o la deficiencia del mismo, en los cuales se induce la hiperproducción de IgE<sup>38</sup> lo que tal vez explicaría este fenómeno. Al realizar prueba de Rho de Spearman no se demostró correlación significativa entre las variables de IgE. Pero si se presentó correlación significativa de FOXP3 en ambos grupos en relación a las variables de CD3, CD4, CD8 y relación entre CD4/CD8 siendo la más importante de FOXP3 para grupo 1 con CD3 y para grupo 2 con CD4, dado que el valor de FOXP3 se obtiene de las cuentas totales de CD4, es posible que a esto se deba esta correlación, para lo cual se debió contar mayor número de muestras, así como controles sanos, tales objetivos no se cumplieron. Se tienen ya cifras en porcentaje de FOXP3 como parámetros normales estos oscilan en un rango de 5 al 10% en sangre periférica pero estas cifras pueden tener variaciones por muchos factores externos,<sup>38</sup> por lo que se deberán tomar con cautela estos resultados y realizar estudios con un mayor número de muestra, así como tener estandarizada la prueba de cada centro con sus propios controles.



## 9. CONCLUSIONES

Se cumplió el objetivo de analizar la expresión de FOXP3 en pacientes asmáticos, pero no se pudo corroborar si estos pacientes presentaban niveles significativos estadísticamente en comparación con el grupo de rinitis, además de que el método para su cuantificación en el Centro Médico Nacional 20 de Noviembre deberá de tener mejor estandarización de la prueba de FOXP3 así como determinar otras variables en el mismo momento, como sería niveles de subpoblaciones de linfocitos, y tener una base de controles sanos para disponer de parámetros considerados normales, que en nuestra investigación se tenía como objetivo y fue una de las limitantes. Dentro del análisis se observó una relación significativa al correlacionar variables sobre todo con subpoblaciones de linfocitos CD3, CD4 y CD8. Sería interesante poder tener una relación más constante entre las subpoblaciones de linfocitos y la expresión de FOXP3, con lo que podríamos darnos una buena idea de cómo se encuentran los niveles de FOXP3, en base a como se modifiquen dichas variables, ya que el método es mucho menos complejo que medir esta expresión de factores nucleares, sin embargo en este momento con los resultados obtenidos, estamos lejos de tener una herramienta clínica que pueda usarse como parte del estudio inmunológico básico en el paciente asmático, aunque es un examen que puede utilizarse para continuar con estudios de investigación básica en donde se pueden controlar las distintas variables que pueden modificar su expresión y esperar que en un futuro la tecnología simplifique a través de medios automatizados la obtención de estos resultados, convirtiéndose en un método de evaluación más objetivo sobre el nivel de control de la enfermedad en cada paciente.

## 10. BIBLIOGRAFIA.

1 Wilson DH, Adams RJ, Tucker G, Appleton S, Taylor AW, Ruffin RE. Trends in asthma prevalence and population changes in South Australia, 1990-2003. *Med J Aust* 2006;184:226-229

2 Pearce N, Ait-Khaled N, Beasley R, et al. Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax* 2007;62:758-766

3 Beasley R. The Global Burden of Asthma Report. In: Global Initiative for Asthma (GINA). 2004.

4 Haldar P, Pavord ID, Shaw DE et al. Cluster analysis and clinical asthma phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 178:218–24.

5 Wenzel SE, Schwartz LB, Langmack EL et al. Evidence that severe asthma can be divided pathologically into two inflammatory subtypes with distinct physiologic and clinical characteristics. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160:1001–8.

6 Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med* 2005; 201:233–40.

7 Molet S, Hamid Q, Davoine F et al. IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108:430–8.

8 Schnyder-Candrian S, Togbe D, Couillin I et al. Interleukin-17 is a negative regulator of established allergic asthma. *J Exp Med* 2006; 203:2715–25.

9 Bluestone JA, Abbas AK. Natural versus adaptive regulatory T cells. *Nat Rev Immunol* 2003; 3:253–7.

10 Sakaguchi S, Wing K, Miyara M. Regulatory T cells – a brief history and perspective. *Eur J Immunol* 2007; 37 (Suppl. 1):S116–23.

11 Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003; 299:1057–61.

12 Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells. *Nat Immunol* 2003; 4:330–6.

13 Khattri R, Cox T, Yasayko SA, Ramsdell F. An essential role for Scurfin in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T regulatory cells. *Nat Immunol* 2003; 4:337–42.

- 14 Wan YY, Flavell RA. Regulatory T-cell functions are subverted and converted owing to attenuated Foxp3 expression. *Nature* 2007; 445:766–70.
- 15 Gershon RK, Kondo K. Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes. *Immunology* 1970;18:723–37.
- 16 Gershon RK, Kondo K. Infectious immunological tolerance. *Immunology* 1971;21:903–14.
- 17 Gershon RK, Cohen P, Hencin R, Liebhaber SA. Suppressor T cells. *J Immunol* 1972;108:586–90.
- 18 Sakaguchi S, Wing K, Miyara M. Regulatory T cells – a brief history and perspective. *Eur J Immunol* 2007;37 (Suppl. 1):S116–23.
- 19 McGonagle D, Georgouli T. The importance of ‘Mechnikov’s thorn’ for an improved understanding of 21st century medicine and immunology: a view from the eye. *Scand J Immunol* 2008;68:129–39.
- 20 Curotto de Lafaille MA, Muriglan S, Sunshine MJ et al. Hyper immunoglobulin E response in mice with monoclonal populations of B and T lymphocytes. *J Exp Med* 2001;194:1349–59.

- 21 Akbari O, Freeman GJ, Meyer EH et al. Antigen-specific regulatory T cells develop via the ICOS-ICOS-ligand pathway and inhibit allergen-induced airway hyperreactivity. *Nat Med* 2002;8: 1024–32.
- 22 Zuany-Amorim C, Sawicka E, Manlius C et al. Suppression of airway eosinophilia by killed *Mycobacterium vaccae*-induced allergen-specific regulatory T-cells. *Nat Med* 2002;8:625–9.
- 23 Chen Y, Kuchroo VK, Inobe J, Hafler DA, Weiner HL. Regulatory T cell clones induced by oral tolerance: suppression of autoimmune encephalomyelitis. *Science* 1994;265:1237–40.
- 24 Weiner HL. Oral tolerance: immune mechanisms and treatment of autoimmune diseases. *Immunol Today* 1997;18:335–43.
- 25 Zhang X, Izikson L, Liu L, Weiner HL. Activation of CD25(+)CD4(+) regulatory T cells by oral antigen administration. *J Immunol* 2001;167:4245–53.
- 26 Karlsson MR, Rugtveit J, Brandtzaeg P. Allergen-responsive CD4 + CD25 + regulatory T cells in children who have outgrown cow's milk allergy. *J Exp Med* 2004;199:1679–88.

27 Aluvihare VR, Kallikourdis M, Betz AG. Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nat Immun* 2004;5:266–71.

28 Asseman C, Fowler S, Powrie F. Control of experimental inflammatory bowel disease by regulatory T cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:S185–9.

29 Hori S, Carvalho TL, Demengeot J. CD25 + CD4 + regulatory T cells suppress CD4 + T cell-mediated pulmonary hyperinflammation driven by *Pneumocystis carinii* in immunodeficient mice. *Eur J Immunol* 2002;32:1282–91.

30 Kullberg MC, Jankovic D, Gorelick PL et al. Bacteria-triggered CD4(+) T regulatory cells suppress *Helicobacter hepaticus*-induced colitis. *J Exp Med* 2002;196:505–15

31 Dembic Z. Beginning of the end of (understanding) the immune response. *Scand J Immunol* 2008;68:381–2.

32 Ling EM, Smith T, Nguyen XD et al. Relation of CD41CD251 regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. *Lancet* 2004; 363:608–15.

33 Grindebacke H, Wing K, Andersson AC, Suri-Payer E, Rak S, Rudin A. Defective suppression of Th2 cytokines by CD4CD25 regulatory T cells in birch allergics during birch pollen season. *Clin Exp Allergy* 2004; 34:1364–72.

34 Akdis M, Verhagen J, Taylor A et al. Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T regulatory 1 and T helper 2 cells. *J Exp Med* 2004; 199:1567–75.

35 D.S. Robinson. Regulatory T cells and asthma *Clinical & Experimental Allergy*, 39, 1314–1323

36 Lin YL, Shieh CC, Wang JY. The functional insufficiency of human CD41CD25 high T-regulatory cells in allergic asthma is subjected to TNF-alpha modulation. *Allergy* 2008; 63:67–74.

37. Guías Españolas para Manejo del Asma 2009 (GEMA 2009)

38. Makoto Miyara MD, PhD, Kajsia Wing PhD, Shimon Sakaguchi MD, PhD. Therapeutic approaches to allergy and autoimmunity based on FOXP3 regulatory T cell activation and expansion. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 749-755.

## CUADROS

**CUADRO 1**

### Resumen de contrastes de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de EDAD es la misma entre categorías de ASMA.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	,078	Conserve la hipótesis nula.
2	La distribución de FOX-P3 es la misma entre categorías de ASMA.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	,124	Conserve la hipótesis nula.
3	La distribución de CD3 es la misma entre categorías de ASMA.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	,581	Conserve la hipótesis nula.
4	La distribución de CD4 es la misma entre categorías de ASMA.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	,972	Conserve la hipótesis nula.
5	La distribución de CD8 es la misma entre categorías de ASMA.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	,581	Conserve la hipótesis nula.
6	La distribución de REL 4/8 es la misma entre categorías de ASMA.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	,329	Conserve la hipótesis nula.
7	La distribución de IGE es la misma entre categorías de ASMA.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	,001	Rechace la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

**CUADRO 2**

### SEXO POR GRUPO

GRUPOS			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
<b>Rinitis</b>	Válidos	Fem	17	73.9	73.9	73.9
		Masc	6	26.1	26.1	100.0
		Total	23	100.0	100.0	
<b>Asma</b>	Válidos	Fem	8	38.1	38.1	38.1
		Masc	13	61.9	61.9	100.0
		Total	21	100.0	100.0	



## TABLAS

**TABLA 1**

GRUPO		N	Rango	Mínimo	Máximo	Suma	Media	Desv. Std	Varianza
<b>2</b>	EDAD	23	63	7	70	955	<b>41.52</b>	19.600	384.170
	<b>FOX-P3</b>	<b>23</b>	<b>223.12</b>	<b>21.00</b>	<b>244.12</b>	<b>1814.39</b>	<b>78.8865</b>	<b>47.29082</b>	<b>2236.421</b>
	REL 4/8	23	2.58	.53	3.11	37.80	<b>1.6435</b>	.65717	.432
	CD3	23	1838.00	701.00	2539.00	35503.00	<b>1543.6087</b>	534.65671	285857.794
	CD4	23	1138.00	362.00	1500.00	20379.00	<b>886.0435</b>	334.67087	112004.589
	CD8	23	844.00	234.00	1078.00	13724.00	<b>596.6957</b>	258.54759	66846.858
	IGE	23	1064.21	5.79	1070.00	3581.69	<b>155.7257</b>	237.51111	56411.526
	N válido (según lista)	23							
<b>1</b>	EDAD	21	61	4	65	668	<b>31.81</b>	18.057	326.062
	<b>FOX-P3</b>	<b>21</b>	<b>128.52</b>	<b>23.68</b>	<b>152.20</b>	<b>1258.25</b>	<b>59.9167</b>	<b>31.84067</b>	<b>1013.828</b>
	REL 4/8	21	2.52	.70	3.22	30.97	<b>1.4748</b>	.62234	.387
	CD3	21	2671.00	409.00	3080.00	34555.00	<b>1645.4762</b>	622.82458	387910.462
	CD4	21	1799.00	281.00	2080.00	18827.00	<b>896.5238</b>	358.29047	128372.062
	CD8	21	1561.00	113.00	1674.00	14057.00	<b>669.3810</b>	362.72089	131566.448
	IGE	21	2973.60	16.40	2990.00	19321.50	<b>920.0714</b>	1033.50721	1068137.153
	N válido (según lista)	21							

TABLAS 2 CORRELACION DE SPEARMAN (GRUPO ASMÁTICOS)

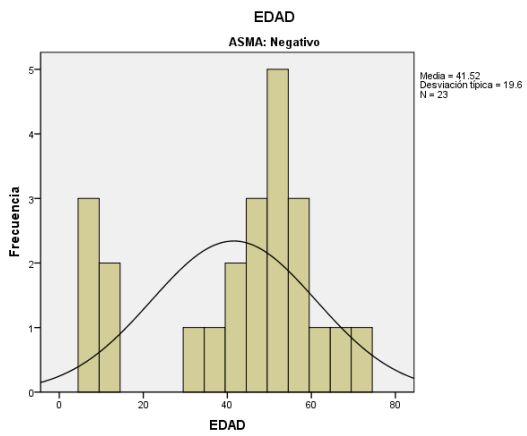
		FOXP3	REL 4/8	CD3	CD4	CD8
FOXP3	COEFICIENTE CORRELACION	1	-.073	<b>.526</b>	<b>.518</b>	.283
	SIG. (BILATERAL)		.752	<b>.014</b>	<b>.016</b>	.214
	NUMERO	21	21	21	21	21
REL 4/8	COEFICIENTE CORRELACION	-.073	1	<b>-.444</b>	-.022	<b>-.691</b>
	SIG. (BILATERAL)	.752		<b>.044</b>	.924	<b>.001</b>
	NUMERO	21	21	21	21	21
CD3	COEFICIENTE CORRELACION	<b>.526</b>	<b>-.444</b>	1	<b>.845</b>	<b>.873</b>
	SIG. (BILATERAL)	<b>.014</b>	<b>.044</b>		<b>.000</b>	<b>.000</b>
	NUMERO	21	21	21	21	21
CD4	COEFICIENTE CORRELACION	<b>.518</b>	-.022	<b>.845</b>	1	<b>.568</b>
	SIG. (BILATERAL)	<b>.016</b>	.924	<b>.000</b>		<b>.007</b>
	NUMERO	21	21	21	21	21
CD8	COEFICIENTE CORRELACION	.283	<b>-.691</b>	<b>.873</b>	<b>.568</b>	1
	SIG. (BILATERAL)	.241	<b>.001</b>	<b>.000</b>	<b>.007</b>	
	NUMERO	21	21	21	21	21

TABLAS 3 CORRELACION DE SPEARMAN (GRUPO RINITIS ALÉRGICA)

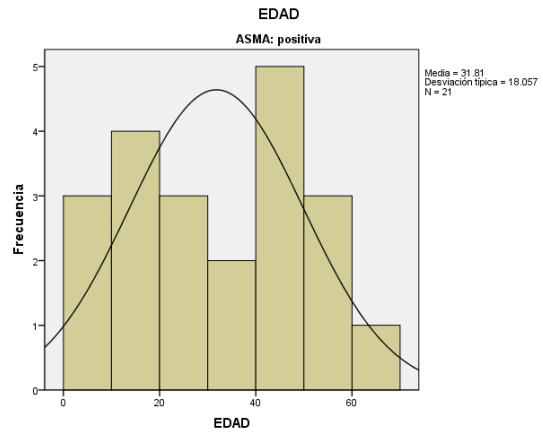
		FOXP3	REL 4/8	CD3	CD4	CD8
FOXP3	COEFICIENTE CORRELACION	1	<b>.434</b>	<b>.509</b>	<b>.620</b>	.179
	SIG. (BILATERAL)		<b>.039</b>	<b>.013</b>	<b>.002</b>	.414
	NUMERO	23	23	23	23	23
REL 4/8	COEFICIENTE CORRELACION	<b>.434</b>	1	-.149	.252	<b>-.621</b>
	SIG. (BILATERAL)	<b>.039</b>		.497	.247	<b>.002</b>
	NUMERO	23	23	23	23	23
CD3	COEFICIENTE CORRELACION	<b>.509</b>	-.149	1	<b>.895</b>	<b>.841</b>
	SIG. (BILATERAL)	<b>.013</b>	.497		<b>.000</b>	<b>.000</b>
	NUMERO	23	23	23	23	23
CD4	COEFICIENTE CORRELACION	<b>.620</b>	.252	<b>.895</b>	1	<b>.558</b>
	SIG. (BILATERAL)	<b>.002</b>	.247	<b>.000</b>		<b>.006</b>
	NUMERO	23	23	23	23	23
CD8	COEFICIENTE CORRELACION	<b>.179</b>	<b>-.621</b>	<b>.814</b>	<b>.558</b>	1
	SIG. (BILATERAL)	<b>.414</b>	<b>.002</b>	<b>.000</b>	<b>.006</b>	
	NUMERO	23	23	23	23	23

# GRÁFICOS

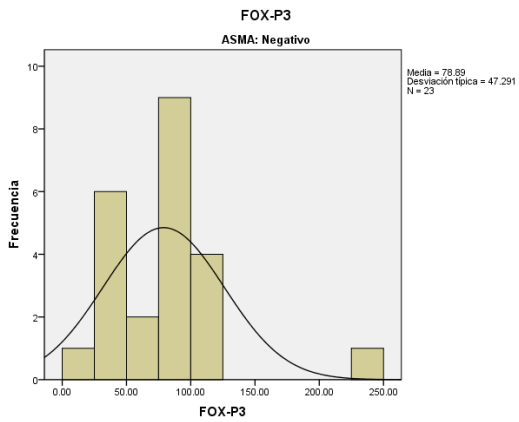
1



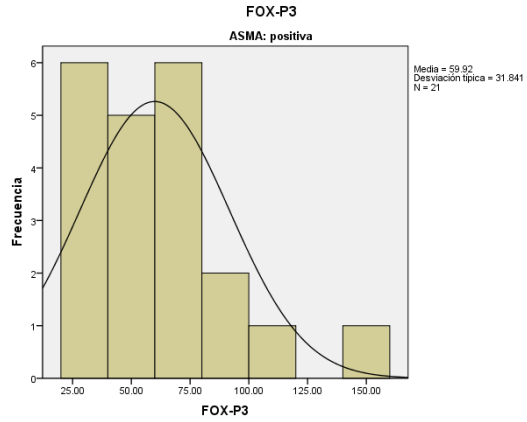
2



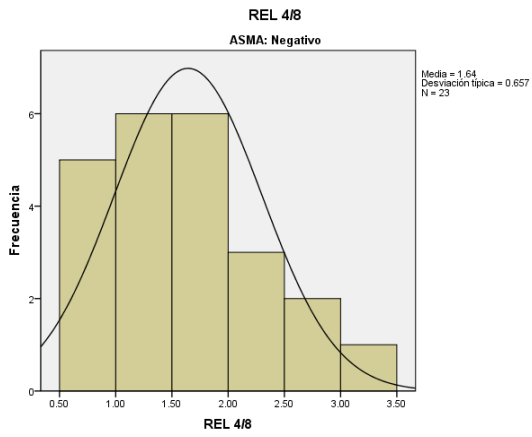
3



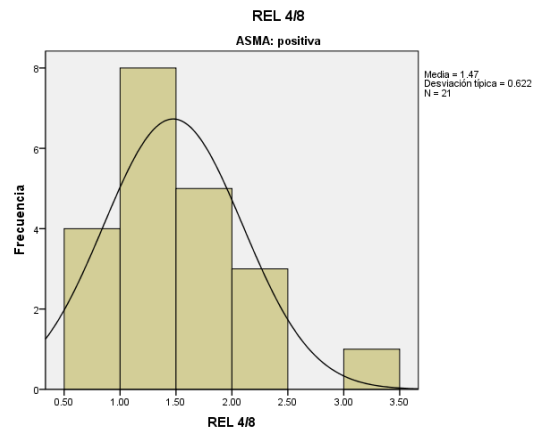
4



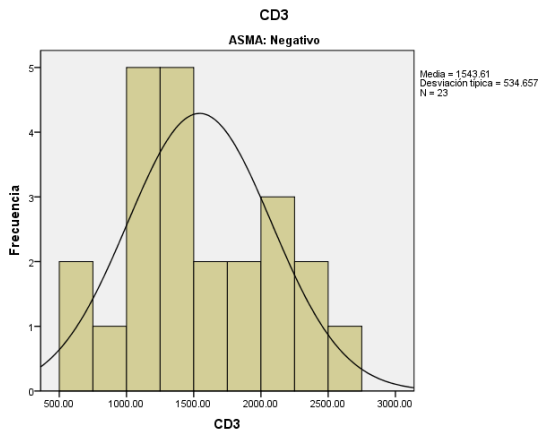
5



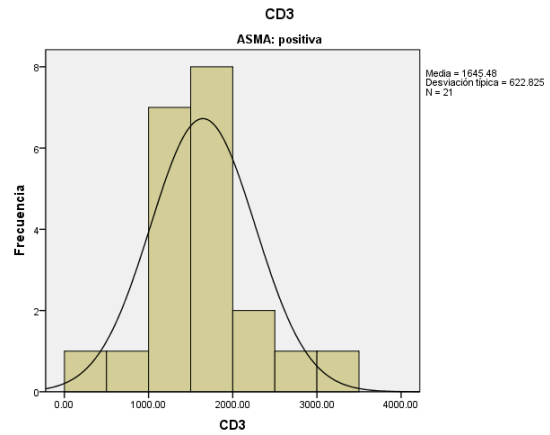
6



7

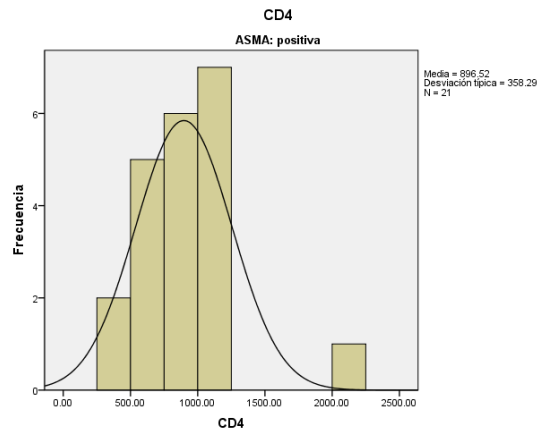
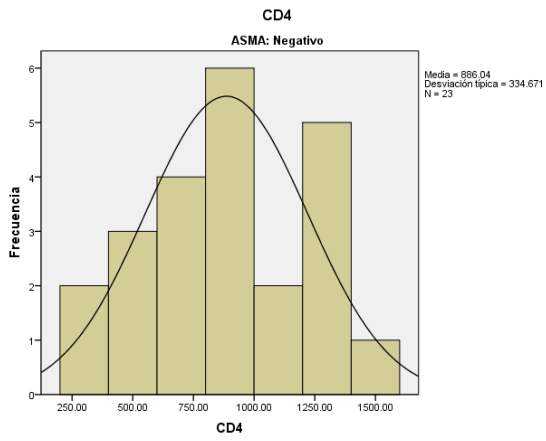


8



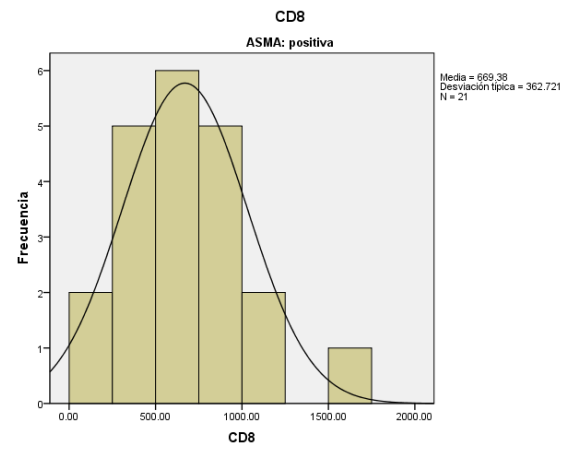
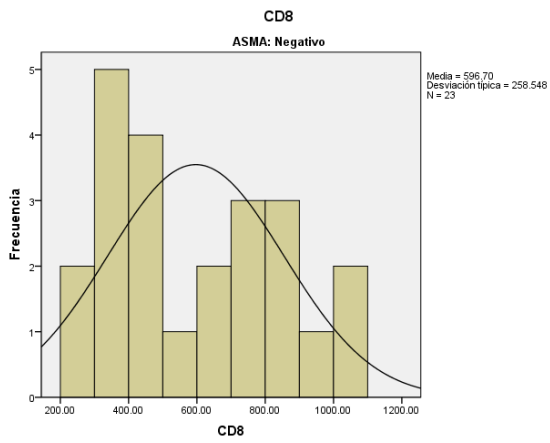
9

10

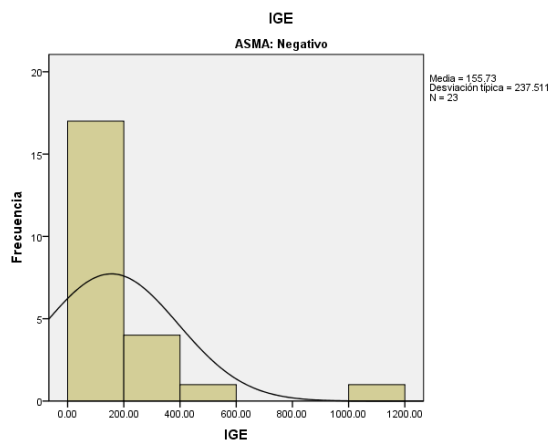


11

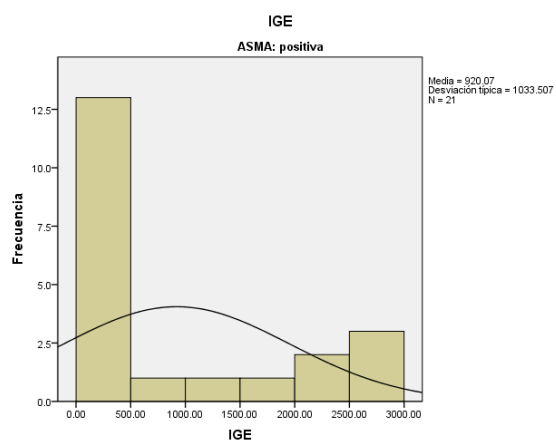
12



13



14







## Anexos

### Anexo 1

**Tabla 2.2 Criterios de reversibilidad y variabilidad diaria recomendados para el diagnóstico de asma**

<b>Reversibilidad</b>	$FEV_1 \text{ post-Bd} - FEV_1 \text{ pre-Bd} \geq 200 \text{ ml}$ <p>y</p> $\frac{FEV_1 \text{ post-Bd} - FEV_1 \text{ pre-Bd}}{FEV_1 \text{ pre-Bd}} \times 100 \geq 12\%$
<b>Variabilidad diaria</b>	$\frac{\sum \left( \frac{PEF \text{ máximo} - PEF \text{ mínimo}}{PEF \text{ máximo} + PEF \text{ mínimo} / 2} \right)}{n.^\circ \text{ de días}} > 20\%$

FEV<sub>1</sub>: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; PEF: flujo espiratorio máximo; Bd: broncodilatación.

### Anexo 2

**Tabla 2.5 Clasificación de la gravedad del asma en adultos**

	<b>Intermitente</b>	<b>Persistente leve</b>	<b>Persistente moderada</b>	<b>Persistente grave</b>
<b>Síntomas diurnos</b>	No (2 días o menos a la semana)	Más de dos días a la semana	Síntomas a diario	Síntomas continuos (varias veces al día)
<b>Medicación de alivio (agonista β<sub>2</sub> adrenérgico de acción corta)</b>	No (dos días o menos/semana)	Más de dos días a la semana pero no a diario	Todos los días	Varias veces al día
<b>Síntomas nocturnos</b>	No más de dos veces al mes	Más de dos veces al mes	Más de una vez a la semana	Frecuentes
<b>Limitación de la actividad</b>	Ninguna	Algo	Bastante	Mucha
<b>Función pulmonar (FEV<sub>1</sub> o PEF) % teórico</b>	> 80%	> 80%	> 60% - < 80%	≤ 60%
<b>Exacerbaciones</b>	Ninguna	Una o ninguna al año	Dos o más al año	Dos o más al año

FEV<sub>1</sub>: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; PEF: flujo espiratorio máximo.