



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN  
MÉDICA**

**SECRETARÍA DE SALUD**

**HOSPITAL GENERAL DE MEXICO, O.D.**

**UNIDAD DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA**

**“LAVADO BRONCOALVEOLAR Y ESTUDIO  
HISTOPATOLÓGICO EN ASMÁTICOS DEL SERVICIO DE  
ALERGIA DEL HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO, O.D.”**

**TESIS DE POSGRADO  
PARA OBTENER EL TÍTULO  
DE LA ESPECIALIDAD DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA  
CLÍNICA**

**PRESENTA:**

**DRA. AIDA GONZÁLEZ CARSOLO**

**ASESORES:**

**DR. GUILLERMO VELÁZQUEZ SÁMANO  
DRA. ANDREA AIDA VELASCO MEDINA**



**HOSPITAL  
GENERAL  
de MÉXICO**

**MÉXICO D.F.**

**2012**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## TESIS

### **Título:**

“Lavado broncoalveolar y estudio histopatológico en asmáticos del Servicio de Alergia del Hospital General de México”

### **Unidad participante:**

Servicio de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital General de México O.D  
Unidad de Neumología, Servicio de Fibrobroncoscopía del Hospital General de México O.D.

Unidad de Medicina Experimental, UNAM

### **Presenta:**

Dra. Aida González Carsolio

Médico residente del segundo año en la Especialidad de Alergia e Inmunología Clínica, Hospital General de México, O.D.

Investigador principal

Alumno del curso universitario de Alergia e Inmunología Clínica, Universidad Nacional Autónoma de México

E-mail: aidacarsolio@yahoo.com

**“LAVADO BRONCOALVEOLAR Y ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO EN  
ASMÁTICOS DEL SERVICIO DE ALERGIA DEL HOSPITAL GENERAL DE  
MÉXICO, O.D.”**

**DRA. AIDA GONZÁLEZ CARSOLIO**

**PRESENTA**

**DR. GUILLERMO VELÁZQUEZ SÁMANO**

**DIRECTOR DE TESIS**

**JEFE DEL SERVICIO DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA**

**PROFESOR TITULAR DEL CURSO UNIVERSITARIO DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO, O.D.**

**DRA. ANDREA AIDA VELASCO MEDINA**

**MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA TESIS**

**PROFESOR ADJUNTO DEL CURSO UNIVERSITARIO DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO, O.D.**

## DEDICATORIA

A la Dra. Andrea Velasco por su paciencia, hacerme ver que la perseverancia es indispensable, sus constantes enseñanzas y consejos, además de brindarme su amistad.

Al Dr. Guillermo Velázquez por su confianza y darme la oportunidad de estudiar en su servicio, su apoyo académico y el impulso para la investigación.

A MI FAMILIA Porque siempre me han brindado su apoyo en todas las metas que me he propuesto:

A mi mamá por ofrecerme su ayuda incondicional, acompañarme estar a mi lado en los buenos y malos momentos, los desvelos y estar dispuesta a aprender conmigo.

A mi hija Zianya por ser mi inspiración para seguir y terminar mis estudios.

A mi esposo por apoyarme para terminar la especialidad y su disposición para el aprendizaje.

A mi hermano que es mi amigo y siempre está ahí cuando lo necesito y compartir conmigo los momentos importantes.

## **AGRADECIMIENTOS**

A los médicos de base del servicio de alergia, de quienes he adquirido los conocimientos de la especialidad, enseñarme el compromiso con los pacientes, la necesidad de aprendizaje continuo y por su apoyo.

A la Unidad de Medicina Experimental de la UNAM y su personal por facilitar sus instalaciones y el apoyo necesario para la realización de esta investigación.

A los residentes de Neumología por apoyarme en la realización de los procedimientos.

Protocolo aprobado por las Comisiones de Ética e Investigación del Hospital General de México, O.D., con clave de registro DIC/10/309/097.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	8
ANTECEDENTES.....	11
JUSTIFICACIÓN.....	26
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	26
OBJETIVOS.....	27
MATERIAL Y METODOS.....	27
RESULTADOS.....	35
CONCLUSIONES.....	39
REFERENCIAS .....	41
ANEXOS.....	44

## **RESUMEN:**

El asma es una enfermedad con un origen inmunológico en el que participan diversas poblaciones celulares. En su fisiopatología participan distintas poblaciones celulares, como las Th2 y Th17 (inducidas por IL-6 y TGF- $\beta$ , inhibidos por IFN- $\gamma$  e IL-4). Las Th17 liberan quimiocinas proinflamatorias produciendo reclutamiento de neutrófilos y macrófagos y puede inducir la producción de IgE por los linfocitos B; inactiva el receptor de glucocorticoides (GR- $\beta$ ) en las células epiteliales de asmáticos por lo que se ha asociado con el asma moderada-severa. En las infecciones hay liberación de IL-22 por los Th17 y estimula la producción de péptidos antimicrobianos como  $\beta$ -defensina 2 y  $\beta$ -defensina 3, psoriasina, calgranulina A y calgranulina B en sinergia con IL-17A.

El estudio de las muestras de lavado broncoalveolar de pacientes asmáticos es de utilidad para determinar el fenotipo inflamatorio y corroborar la presencia de Th 17 o presencia de patógenos, como hongos.

Asma bronquial; lavado broncoalveolar; citometría de flujo; Inmunoglobulina E; Linfocito T cooperador-17; Interleucina-17.

## **Planteamiento del problema**

¿Existen linfocitos T CD4+ productores de IL-17 en muestras de LBA de pacientes atópicos con asma bronquial en el Servicio de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital General de México, O.D.?

## **Objetivos**

- General: Cuantificar los linfocitos T CD4+ y la IL-17 en muestras de LBA de pacientes con asma bronquial

- Específicos: Determinación del tipo y porcentaje de células inflamatorias, Determinar la presencia de células inflamatorias por estudio citopatológico y la presencia de hongos en muestras de LBA de pacientes asmáticos.

## **Metodología**

Estudio clínico experimental y transversal. Se realizó en pacientes de 18 a 60 años de ambos sexos con asma que acudieron a consulta de Alergia del Hospital General de México, O.D. que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión. Previo consentimiento informado, se les realizó la fibrobroncoscopia con lavado broncoalveolar, la muestra obtenida fue procesada y analizada mediante citometría de flujo para la búsqueda de linfocitos T CD3+ CD4+ IL-17+.

## **Resultados**

De los 19 pacientes reclutados se realizó el lavado broncoalveolar a 10, el 80% son del género femenino (n=8), con un promedio de edad de 33.45 años, con un rango de 21 a 56 años. La IgE tuvo una media de 370.21 UI/ml, con un rango de 25.8 a 861 UI/ml.

Las células T CD4+ productoras de IL-17 se encontraron en un promedio de 3.3% con un rango de 0 a 12.1%.

El estudio de micología para búsqueda de hongos tanto en visión directa como en cultivo, fue negativo en el 100% de los pacientes.

En el estudio histopatológico, el 100% de las muestras presentó linfocitos y otras alteraciones inflamatorias inespecíficas. Sólo en uno de los pacientes (10%) se observaron neutrófilos.

Se realizó una regresión lineal para determinar la asociación entre el porcentaje de células productoras de IL-17 y la producción de IgE total, encontrando una P de -0.625 ( $p=0.027$ ).

## **Conclusiones**

Corroboramos la presencia de linfocitos T productores de IL-17 en muestras de lavado broncoalveolar en pacientes asmáticos, con valores muy distintos entre cada paciente. Encontramos que no existe relación entre la producción de IL-17 y de IgE, considerando que el tamaño de la muestra es pequeña y que la producción de esta inmunoglobulina depende además, de otros factores.

Se requiere de una muestra más grande y un estudio comparativo con un grupo control para determinar con precisión el papel de los linfocitos Th17 a nivel pulmonar.

## **DESARROLLO DEL PROYECTO.**

### **Antecedentes**

El asma es una enfermedad que se reconoció desde la época antigua. Maimónides escribió un tratado sobre la enfermedad, Thomas Willis sugirió que la enfermedad tiene un componente neural y John Floyer reconoció que es una enfermedad con varios desencadenantes y un componente hereditario. El componente alérgico del asma fue descrito, y fue John Bostock quien la relacionó con la rinitis alérgica. (1) Actualmente se sabe que es una patología de origen inmunológico en el que participan una gran variedad de poblaciones celulares. (2)

Es un problema de salud a nivel mundial, se calcula que alrededor de 300 millones de personas la padecen. (3) En México, su incidencia anual es de 2.78 por 1,000 habitantes. (4).

Es un trastorno inflamatorio crónico de la vía aérea, donde participan un gran número de células del sistema inmune dando como resultado inflamación, hiperreactividad y obstrucción en el flujo de aire. Este proceso se inicia cuando el paciente asmático se expone a alérgenos (ácaros del polvo casero, epitelios de animales, cucarachas y polen del medio ambiente o aeroalergenos), sustancias químicas, humo de cigarro, infecciones respiratorias virales y ejercicio. (5)

La enfermedad se clasifica de acuerdo con la frecuencia de los síntomas, su nivel de control y tipo de medicamentos utilizados. Otro tipo de clasificaciones se basan en el patrón histológico, y se han descrito diversos fenotipos de acuerdo con las células que predominan.

El diagnóstico se realiza por la historia clínica y se confirma con pruebas de función respiratoria. El asma bronquial se caracteriza por la presencia de sibilancias, tos que empeora por la noche o con el ejercicio, disnea y opresión torácica. Se presentan exacerbaciones con las infecciones virales y con la exposición a epitelio de animales, cambios de temperatura, ácaros de polvo casero, medicamentos, ejercicio, pólenes, humo de tabaco. La espirometría es el método de elección para medir la limitación al flujo de aire y su reversibilidad de más del 12% en el FEV1 o más de 200ml posterior a la administración de broncodilatador. (3)

#### Clasificación histopatológica

El avance más importante en el tratamiento del asma es el establecimiento de que es una enfermedad con un origen inflamatorio. (5) Se han descrito por lo menos 3 fenotipos del asma de acuerdo con el tipo de célula que predomina, ya sea eosinofílica, neutrofílica o paucigranulocítica. (5, 6, 7, 8)

El tipo de asma eosinofílico es el mejor estudiado de los tres fenotipos. Se ha reportado la presencia de eosinófilos en expectoración, lavado broncoalveolar y biopsias endobronquiales de pacientes con asma. La presencia de estas células tiene correlación con el cuadro clínico del paciente,

se sugiere que la infiltración eosinofílica aumenta con la severidad de la enfermedad (llamada asma eosinofílica). (5) La infiltración por eosinófilos en el asma bronquial severa se asocia con un inicio tardío de la enfermedad y con sensibilidad a la aspirina. (9) En otros estudios se ha observado que los pacientes con inflamación eosinofílica con frecuencia tienen síntomas más severos y un mayor riesgo de exacerbaciones que los pacientes con otro fenotipo. (10, 11) Los mecanismos por los que se presenta la inflamación eosinofílica no se encuentran bien definidos pero se considera que la interleucina 5 y la eotaxina tienen relevancia en este proceso. (9)

En cuanto al fenotipo neutrofílico, la asociación entre el cuadro clínico y el infiltrado no es tan clara. Los neutrófilos juegan un papel esencial en el sistema inmune, al actuar en la defensa en contra de bacterias y hongos. Su papel en el proceso inflamatorio se pensó que estaba restringido a la fagocitosis y a la liberación de enzimas y otros agentes citotóxicos. Sin embargo, ahora se sabe que estas células pueden liberar diversos mediadores que tienen efectos sobre la vía aérea de los pacientes asmáticos. Cada vez se sabe más sobre la participación de los neutrófilos en los procesos alérgicos en general, y en el asma bronquial en particular. (12) Este fenotipo se observa también en pacientes con asma severo y entre los factores externos relacionados se encuentran el antecedente de tabaquismo, exposición ocupacional con irritantes o las infecciones virales. (13) Además, también se encuentra relación entre el infiltrado por neutrófilos y el uso previo de antiinflamatorios esteroideos debido a que estos fármacos disminuyen la apoptosis de los mismos. (14) Esto se traduce clínicamente en el hecho de que los pacientes con este fenotipo

tienen una pobre respuesta a los antiinflamatorios esteroideos. (12, 13) Además, se ha encontrado un mayor número de neutrófilos en aquellos pacientes que fallecieron en las primeras 2 horas del inicio de una crisis asmática, comparado con aquellos pacientes que presentan un cuadro clínico menos severo y en quienes había un predominio de eosinófilos. (12)

El tipo de asma paucigranulocítico, es un fenotipo en el cual las células inflamatorias están ausentes o muy disminuidas. No se ha identificado un biomarcador para este fenotipo. Es posible que predomine la remodelación, sobre la inflamación. (6)

### **Respuesta inmunológica en el asma**

Un balance entre el fenotipo Th1 y Th2 se presenta en personas sanas, sin embargo, cuando predomina el fenotipo Th2 se presenta enfermedad atópica “Paradigma Th1/Th2”.

Las enfermedades alérgicas son causadas por un desequilibrio de la respuesta inmune contra antígenos ambientales, asociado con un fenotipo Th2. En el curso de la enfermedad, se presenta inflamación crónica caracterizada por infiltración de eosinófilos, linfocitos T y mastocitos cuyos mediadores causan daño tisular. El fenotipo Th2 se caracteriza por inflamación intensa secundaria a la liberación de mediadores químicos de eosinófilos y linfocitos y se relaciona con la producción de IL-4, IL-5 e IL-13 como se muestran en la figura 1. (18). Sin embargo este paradigma no es suficiente para explicar

algunas enfermedades como asma y algunas enfermedades autoinmunes. Existen otros fenotipos relacionados, entre ellos el Th 17. Algunos estudios sugieren que los linfocitos T reguladores (T reg) y los linfocitos Th17 también tienen una participación central en el asma. (19).

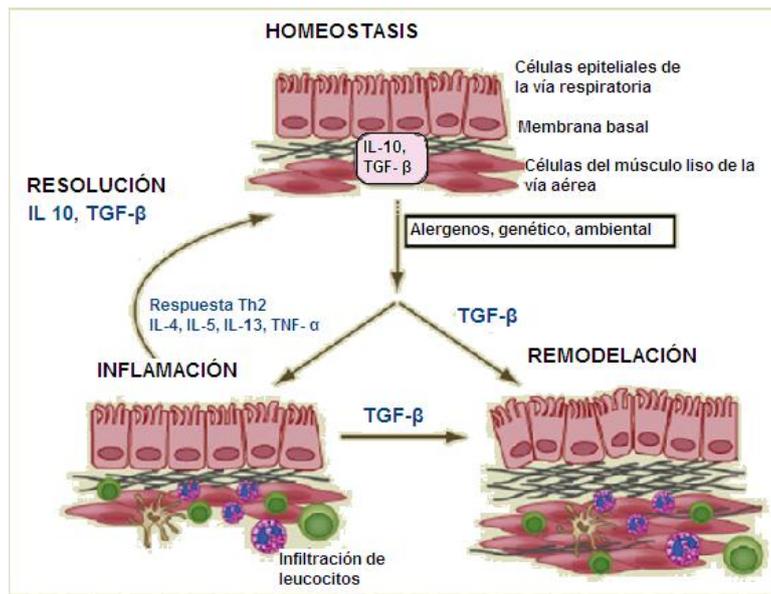


Fig. 1. En un individuo genéticamente susceptible, la sensibilización por exposición a antígenos estimula la liberación de mediadores por linfocitos y eosinófilos que causan daño tisular y liberación de citocinas proinflamatorias de fenotipo Th2.

Tomado de: C. Lloyd, Catherine M. Regulatory T Cells in Asthma. Immunity 31, Elsevier. Sep. 2009. 438-449.

### Diferenciación celular:

El linfocito T virgen se diferencia una vez estimulado, en T CD4+ y T CD8+. Los linfocitos T CD4+ se subdividen en Th-1, Th-2, Tres y Th-17 entre otros.

Los Linfocitos T CD4+ se diferencian en Th1 cuando la IL-2 activa el factor de transcripción STAT 4 que estimula la producción de IFN-γ e inhibe la expresión de IL-4 e IL-5; bloquean la inducción del fenotipo Th2 productor de

Inmunoglobulinas, entre ellas la IgE. El fenotipo Th1 es responsable de la respuesta inmune celular con protección contra patógenos intracelulares así como estimulación a los linfocitos B para la producción de IgG.

El fenotipo Th2 se diferencia cuando la IL-4 activa el factor de transcripción STAT 6 y GATA. (Fig. 2). Los linfocitos Th2 se caracterizan por la liberación de IL-4, IL-5 e IL-10 y estimula la producción de IgE, se involucra en la inflamación eosinofílica y en la respuesta alérgica así como con la protección contra helmintos. (5).

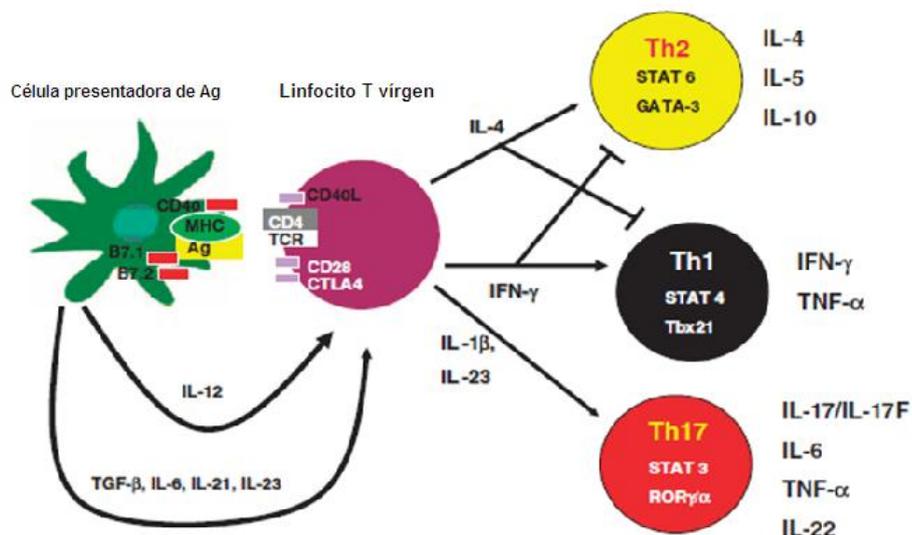


Fig. 2. Con la presentación de antígenos y activación del Linfocito T vírgen las citocinas activan factores de transcripción para su diferenciación: el factor de transcripción STAT 6 y GATA 3 induce la diferenciación del fenotipo Th2, el STAT 4 y Tbx a Th1 y STAT 3 con ROR Th17.

Tomado de: SA Khander, SL Gaffen, JK Kolls. Th17 cells at the crossroads of innate and adaptive immunity against infectious diseases at the mucosa. Mucosal Immunology, VOL 2 NUM 5 SEP 2009. 403-411

Los linfocitos T vírgenes también se pueden diferenciar en linfocitos T reguladores en presencia de TGF-β.

Los linfocitos Th17 se originan de precursores CD161+, CD4+ cuando el linfocito T virgen se activa en presencia de IL-1 $\beta$  e IL-23. Es un fenotipo diferente que no requiere ninguno de los factores de transcripción implicados en el desarrollo de los fenotipos Th1 o Th2, son esenciales para el establecimiento de inflamación órgano específica. El fenotipo Th17 se caracteriza por la producción de IL-23 e IL-17. La IL-23 es semejante a la IL-12, se produce principalmente por células de la respuesta inmune innata (células dendríticas, macrófagos tisulares) y su expresión puede inducirse por ciertos productos microbianos al activar células dendríticas con PGE2, ATP o con anticuerpos anti CD-40. (Fig 3).

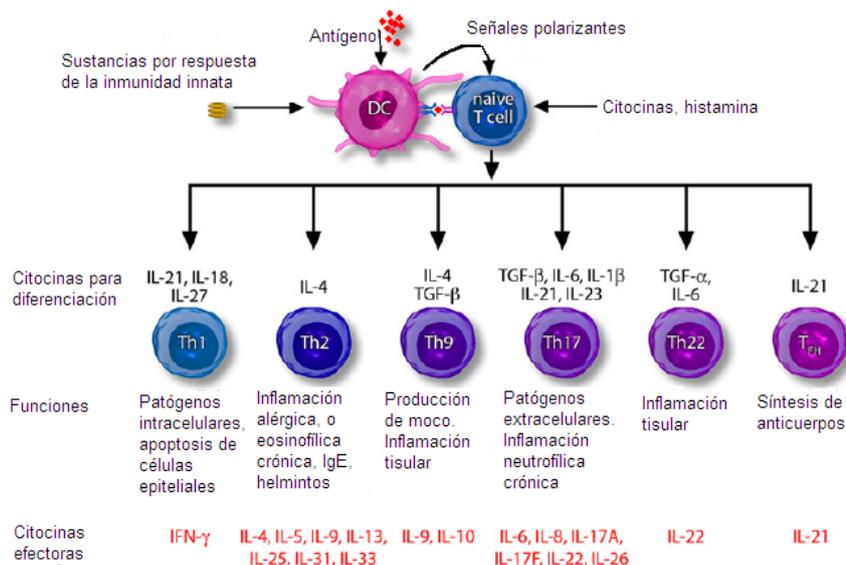


Fig 3. La presentación de antígenos a un Linfocito T virgen en presencia de citocinas ayudan a su diferenciación en Th con funciones específicas (inflamatorias, antimicrobianas, atópicas) con liberación independiente de citocinas por cada una de ellas. El TGF-B, IL 1B, IL-6, IL-21 e IL-23 estimulan la diferenciación en Th17 productor de cIL6/8/17/22/16) implicadas en la inflamación neutrofílica.

Tomado de: M. Akdis, O. Palomares, Willem van de Veen, et al. Th17 and Th22 cells: A confusión of antimicrobial response with tissue inflammation versus protection. J. Allergy Clin Immunol. 2012; 129(6):1438-1448

La expresión de IL-17 se incrementa sustancialmente cuando se agrega anti-IFN- $\gamma$  y anti IL-4 ya que IFN- $\gamma$  e IL-4 la inhiben por lo que se ha propuesto

que en ausencia de IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-21, la IL-6 y el TGF- $\beta$  inducen que las células T vírgenes se diferencien en linfocitos Th 17, productoras de IL-17.

Se ha demostrado un antagonismo entre las Th 17 y las T reg. En ausencia de IL-6, la IL-21 con el TGF- $\beta$  inhibe el desarrollo de Treg y promueve la diferenciación de Th 17. La IL-23 no participa en la diferenciación y función del linfocito Th-17 sin embargo, si participa en su regulación ya que en su ausencia no se desarrollan en células patógenas y se regulan por IL-10, los Th17 expresan factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos, TNF $\alpha$ , IL-2 e IFN $\gamma$ , pero no IL-10. (21).

Los linfocitos Th17 se caracterizan por la expresión del factor de transcripción RAR, receptor de IL-23, CCR6, CD161. Estos linfocitos tienen menor susceptibilidad al efecto antiproliferativo de TGF- $\beta$  (Factor de crecimiento transformante  $\beta$ ) que los linfocitos Th1 o Th2, se ha demostrado la disminución de la muerte por apoptosis de las Th17 en su presencia. Además, el TGF- $\beta$  inhibe la diferenciación de linfocitos T vírgenes en Th-17. Los linfocitos Th-17 expresan un único factor de transcripción ROR- $\gamma$ t que induce la transcripción del gen de IL-17 por parte de linfocitos Th vírgenes y se requiere para su diferenciación en este fenotipo, en presencia de TGF-  $\beta$  e IL-6. (Fig. 4). El ROR- $\gamma$ t también causa la expresión del receptor de IL-23 esencial para estabilizar el fenotipo Th17 y aumentar su número. (21). La coexpresión de receptores de quimiocinas CCR4 y CCR6 o la ausencia de CCR5 define a los linfocitos Th-17. (21).

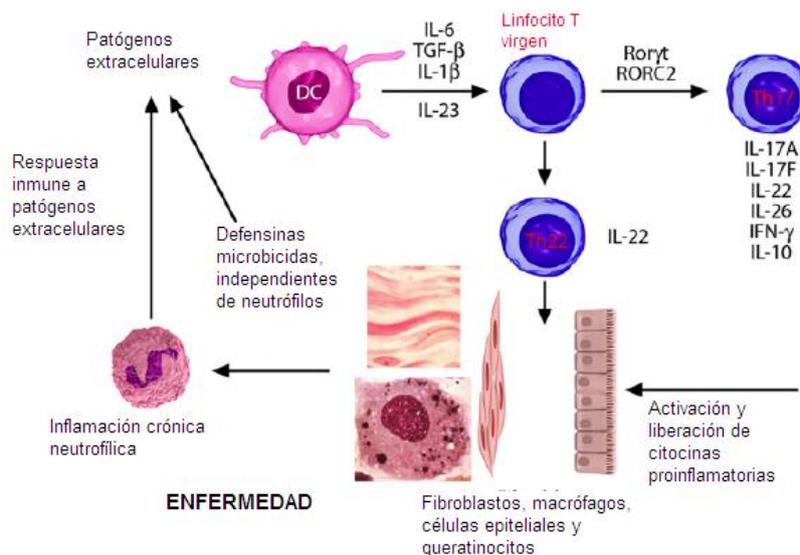


Fig 4. La activación del linfocito T vírgen ante patógenos extracelulares activa la expresión del ROR que induce la expresión del receptor para IL-23 para la sobrevivencia de los Th17 y evita su muerte por IL-6 y TGF-B. Con liberación subsecuente de citocinas proinflamatorias, inflamación neutrofílica y daño tisular.

Tomado de: M. Akdis, O. Palomares, W. Van de Veen, et al. Th17 and Th22 cells: A confusion of antimicrobial response with tissue inflammation versus protection. *J. Allergy Clin Immunol.* 2012;129(6): 1438-1448

El receptor de IL-17 (IL-17R) se expresa en la membrana celular de forma ubicua y su estimulación causa activación celular y la liberación de quimiocinas proinflamatorias (principalmente IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , CXCL1/2/3/5/6, CCL 7/20 y el factor estimulante de colonias de granulocitos ó G-CSF) produciendo como resultado reclutamiento de neutrófilos y macrófagos al área de inflamación, causando daño tisular con su activación y liberación de mediadores, También son capaces de estimular la producción de mucinas como MUC5AC, MUC5B y beta defensinas en células del epitelio bronquial. (24).

La IL-17 y la IL-22 participan fundamentalmente en las enfermedades alérgicas, son citocinas con mayor impacto en células epiteliales de tejidos inflamados y aunque la IL-17 promueve citocinas proinflamatorias, la IL-22 tiene una función protectora y reguladora. La producción elevada de IL-23

puede exacerbar el asma al promover el desarrollo de Th17, por aumento y liberación de IL-22 cuando se incrementa la inflamación.

Se han descubierto 6 familias de IL-17: IL-17A (también llamada IL-17 y es el prototipo), IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (IL-25) e IL-17F. La IL-17A, E y F son citocinas proinflamatorias, de ellas, la más potente es IL-17A, que es el prototipo, las funciones del resto aún no son entendidas. Son importantes para la inflamación y respuesta contra bacterias extracelulares, hongos y parásitos. Se han identificado 5 receptores de IL-17: IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-17RD, UIL-17-RE, aunque el IL-17RA o IL-17R es el mejor caracterizado. (22)

La IL-17A puede inducir la producción de IgE por los linfocitos B directamente o en combinación de CD40 y rIL-4. (23). La IL-17A promueve la degradación de I $\kappa$ B $\alpha$  y del factor de transcripción nuclear  $\kappa$ B y transcripción de la línea germinal  $\epsilon$  ( $\epsilon$ GLT) que es necesaria para el cambio de isotipo para iniciar la producción de IgE. (24). En las células epiteliales de asmáticos, el receptor de glucocorticoides (GR-  $\beta$ ) se inactiva por la IL-17 A y la IL- 17F dando como resultado disminución de la reactividad de estos. El receptor de la IL-17 es el IL-17RA que es una proteína transmembrana tipo I que se expresa de manera ubicua en diversos órganos como pulmón, riñón y bazo. Otras células que expresan el receptor de IL-17 son leucocitos, células epiteliales, mesoteliales, endoteliales, queratinocitos y fibroblastos. (26).

Se ha asociado un incremento de los Th17 y disminución de Treg en el asma moderada y severa debido al incremento de los niveles de citocinas Th17 y deficiencia de células T reguladoras correlacionando con un descenso en el VEF1. (27).

### **Th17 y producción de Inmunoglobulina E**

La IgE sérica total está directamente involucrada en el desarrollo y severidad del asma. Se ha encontrado evidencia significativa de la asociación entre la IgE sérica total y el nivel de transcripción del receptor B de IL 17 (IL17RB) localizado en el cromosoma 3p21.1, se encuentra restringida en hombres y no en mujeres. Esto explica por qué las mujeres son más susceptibles a desarrollar un fenotipo Th1 después de la exposición a un antígeno, excepto en el embarazo en donde predomina el fenotipo Th2, lo que sugiere influencia hormonal. (28).

Se ha demostrado que los niveles de IL-5 e IL-17 A regulan positivamente la producción de IgE y disminuyen al administrar anti-IL-5 o anti IL-17A sin modificar la producción de IgG. El bloqueo de IL-17A afecta la producción de inmunoglobulinas por las células plasmáticas, los linfocitos Th17 son capaces de inducir un cambio de isotipo a IgG1, IgG2 e IgG3. El fenotipo Th2 está involucrado en el mantenimiento de la producción de IL-17A y de linfocitos Th17 y su supervivencia depende de IL-23. (29).

## Th 17 e infecciones respiratorias en asmáticos

Las infecciones respiratorias por diversos agentes son de importancia en el paciente asmático, al ser causa de exacerbaciones. Se plantea que éstas pueden también ser causa del inicio de la enfermedad. Las infecciones virales más frecuentes en niños asmáticos son causadas por el virus sincitial respiratorio (VSR) y parainfluenza, pero en jóvenes y adultos predominan los rinovirus. Se ha visto que cuando coexiste infección viral con otros factores como exposición al tabaco o alergia, la posibilidad de desarrollar sibilancias es mayor. El papel de las infecciones bacterianas es más controvertido, pero no parece tener un vínculo tan estrecho como los virus. Las bacterias más frecuentes encontradas son: *Haemophilus influenzae*, *S. pneumoniae*, *S. betahemolítico*, *S. aureus* y *Clamidia pneumoniae*. La aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), es otra infección relacionada con el asma causada por el *Aspergillus fumigatus*, sus esporas se encuentran en el suelo y en sustancia orgánica en descomposición, están presentes en el aire durante todo el año, salvo en los períodos de frío. (33) Su fisiopatología involucra a la IgE y la IgG en su mecanismo, caracterizada por una obstrucción reversible de las vías aéreas con infiltrados pulmonares transitorios, eosinofilia y fiebre; causada por la respuesta de hipersensibilidad contra los antígenos de *Aspergillus*, la severidad depende del cuadro clínico de la magnitud de la infección. Es muy raro aislar *Aspergillus* en muestras de expectoración, pero es factible aislarlo de muestras de lavado bronquial. La IgE específica suele estar elevada durante el ataque agudo y desciende rápidamente después de desaparecer éste. Las pruebas cutáneas por escarificación con antígenos de *Aspergillus* demuestran una reacción positiva inmediata. (34). Ante un proceso

infeccioso existe una respuesta de liberación de IL-22, una de las citocinas del fenotipo Th17, la cual juega un papel importante para la protección contra virus, bacterias y hongos) al estimular la producción de péptidos antimicrobianos como  $\beta$ -defensina 2 y  $\beta$ -defensina 3, psoriasina, calgranulina A y calgranulina B. Además actúa en sinergia con otras citocinas de este fenotipo como IL-17A e IL-17F (32). La IL-22 también participa en la defensa contra infecciones virales, sin embargo, se tienen resultados controversiales al respecto al encontrarse aumentada en infecciones por VIH o hepatitis (33). Su papel en infecciones por hongos no se ha comprobado pero se sugiere que la IL-22 participa en la defensa contra este tipo de infecciones al encontrarse disminuida en pacientes con candidiasis mucocutánea crónica. (23)

De acuerdo con lo anterior, las infecciones por diversos agentes pueden estimular la producción de citocinas de tipo TH17, relacionándose estrechamente en pacientes con asma bronquial. Se requieren más estudios al respecto para determinar con claridad esta relación.

### **Lavado broncoalveolar en pacientes asmáticos**

El estudio de las muestras de lavado broncoalveolar de pacientes asmáticos es de utilidad para determinar el fenotipo inflamatorio y corroborar la presencia de linfocitos T productores de IL-17. Además, se puede investigar la presencia microorganismos de diversos tipos como bacterias u hongos.

La broncoscopia y lavado broncoalveolar (LBA) que se ilustra en la figura 5 es un método utilizado para la recuperación de secreciones procedentes de la vía aérea. Se ha realizado en pacientes sanos y en aquellos con enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma y otras patologías pulmonares. Este procedimiento ha demostrado ser seguro para los pacientes con asma controlado. (15, 16) Como cualquier otro procedimiento invasivo, no está exento de complicaciones, las cuales se presentan en un 2% de los procedimientos, e incluyen hipoxemia, broncoespasmo, fiebre, dolor torácico, hemorragia y crisis asmática, entre las más frecuentes. Se pueden considerar como contraindicaciones requerimientos incrementados de oxígeno, hipercapnia, broncoespasmo, función pulmonar anormal, VEF 1 disminuido (< de 1 L), inestabilidad hemodinámica, arritmias, angina inestable, diátesis hemorrágica y paciente no cooperador.

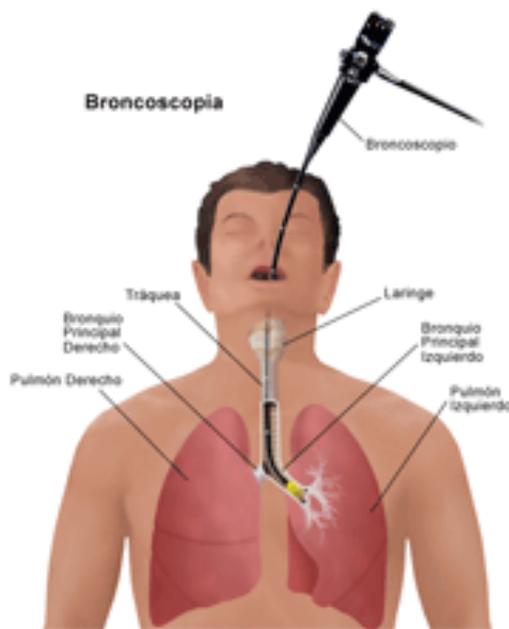


Fig. 5 . Ejemplo de fibrobroncoscopia.  
Tomada de <http://e.elobot/s/bot6/7540.jpg>

El estudio del líquido de LBA comprende tanto la celularidad como el componente acelular. El LBA en personas sanas muestra un predominio de macrófagos (80%) sobre los linfocitos (10-15%). Los neutrófilos, eosinófilos y células cebadas se observan ocasionalmente. Las inmunoglobulinas se encuentran en el componente acelular del LBA, se encuentra inmunoglobulina G, A, M y E. La inmunoglobulina E es importante en el asma bronquial. (17).



Figura 6. Fotografía tomada de la Unidad de Medicina Experimental, UNAM, Hospital General de México. O.D.

La celularidad obtenida del LBA puede estudiarse mediante sus marcadores de superficie y con ayuda de la citometría de flujo, con el propósito de determinar su fenotipo. De interés para este proyecto es la búsqueda de células CD3+, CD4+ y la producción de IL-17.

## **Planteamiento del problema**

El fenotipo inflamatorio en el paciente asmático es de importancia para la comprensión de la fisiopatología de la enfermedad, así como el tratamiento. Actualmente se considera que el fenotipo TH17 participa en el asma bronquial, como en otras patologías de origen inflamatorio.

¿Existen linfocitos T CD4+ productores de IL-17 en muestras de LBA de pacientes atópicos con asma bronquial en el Servicio de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital General de México, O.D.?

## **Justificación**

El asma bronquial es la segunda causa de consulta en el Servicio de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital General de México. La presencia de exacerbaciones ocasiona afección en la calidad de vida del paciente porque afecta su desempeño laboral, escolar y actividades físicas. El tratamiento adecuado de esta patología es importante para evitar las exacerbaciones y mantener un adecuado control de los síntomas. El estudio del fenotipo inflamatorio en pacientes con asma contribuye al conocimiento de su fisiopatología, lo cual ayuda a mejorar el tratamiento de la enfermedad.

## **Hipótesis**

Si los linfocitos de tipo Th17 participan en el asma bronquial, entonces se encontrarán elevados los linfocitos CD4+ y la IL-17 en muestras de lavado broncoalveolar de pacientes asmáticos.

## **Objetivos**

### **- General**

Cuantificar los linfocitos T CD4+ y la IL-17 en muestras de LBA de pacientes con asma bronquial

### **- Específicos**

Determinación del tipo y porcentaje de células inflamatorias

Determinar la presencia de células inflamatorias por estudio citopatológico

Determinar la presencia de hongos en muestras de LBA

## **Metodología**

Tipo y diseño del estudio

Estudio experimental, transversal.

## **Población y tamaño de la muestra:**

Se calculó que de acuerdo al número de consultas que se reciben en el Servicio de Alergia del Hospital General de México O.D., con diagnóstico de Asma bronquial, el tamaño de la muestra corresponde a 20 pacientes, muestra estadísticamente significativa, seleccionados aleatoriamente que acuden a consulta subsecuente y cumplan con los criterios de inclusión y exclusión.

## **Criterios de inclusión, exclusión y eliminación**

### **Inclusión**

Pacientes de ambos sexos entre 18 y 60 años

Antecedentes personales o familiares de atopia

Pacientes con asma bronquial controlada

Nivel de IgE sérica elevada

Espirometría con reversibilidad del VEF1 mayor del 12%

Pruebas cutáneas positivas para alérgenos inhalables

Eosinofilia nasal y sanguínea

Coproparasitoscópico negativo

Pruebas de coagulación normales

#### Exclusión

Pacientes embarazadas

Pacientes con tratamiento con antiinflamatorios esteroideos sistémicos e inhalados en el momento del estudio o treinta días previos al mismo

Pacientes en tratamiento con antihistamínicos en el momento del estudio o 10 días previos al estudio

Pacientes con infecciones respiratorias activas

#### Criterios de eliminación

- Pacientes a quienes no se puede realizar el LBA o no se tenga una muestra adecuada para su análisis.
- Pacientes quienes por algún motivo retiren su consentimiento para la realización del procedimiento.

## **Definición de las variables a evaluar y forma de medirlas**

Se tomarán en cuenta las siguientes variables:

### Variable independiente

- Pacientes asmáticos controlados

### Variables dependientes

- Porcentaje de linfocitos T CD4+, IL-17+. Cuantitativa continua.
- Celularidad de la muestra del LBA: presencia de eosinófilos (Positivo o negativo). Nominal dicotómica.
- Celularidad de la muestra del LBA: presencia de neutrófilos (Positivo o negativo). Nominal dicotómica
- Presencia de hongos en muestras de LBA. (Positivo o negativo). Nominal dicotómica

## **Procedimiento**

Se valoró a los pacientes con diagnóstico de asma que acudieron a consulta y cumplieron los criterios de inclusión y exclusión. Se evaluó el estadio clínico de la enfermedad, los resultados de laboratorio y el tratamiento recibido. Se explicó en qué consiste el procedimiento de la fibrobroncoscopía con el lavado broncoalveolar y los estudios a realizar, si el paciente lo aceptaba se solicitó su firma del consentimiento informado. La broncoscopía con lavado broncoalveolar se realizó en el Servicio de Fibrobroncoscopía de la Unidad de Neumología del Hospital General de México O.D.

- Procedimiento para fibrobroncoscopia:

Se explica al paciente acerca del procedimiento, previo al mismo se verifican probables contraindicaciones como laboratoriales y asma descontrolada. Se coloca acceso venoso periférico y se ingresa a quirófano (Fig. 7). Se monitorean signos vitales. En decúbito dorsal se aplica lidocaína en spray al 10% la cavidad oral, faríngea y mucosa nasal, se verifica permeabilidad con sonda nelaton 14-16 Fr. Se procede a introducir fibrobroncoscopio por la narina más permeable aplicando nuevamente anestesia al avanzar, se verifica la movilidad de las cuerdas vocales y se introduce verificando la morfología de las vías aéreas con una revisión sistemática del árbol bronquial, en caso de no encontrar anomalías se realiza lavado con 100cc de solución fisiológica en el bronquio del lóbulo medio, se aspira y se obtienen 60ml en promedio, se retira el fibrobroncoscopio dando por terminado el procedimiento. El FBC utilizado es pentax FB 18 P. En caso de requerir mayor sedación se utiliza dexmedetomidina.



Fig. 7. Fotografía tomada por cortesía del quirófano del Servicio de Neumología del Hospital General de México O.D.

Las muestras del lavado broncoalveolar se analizaron en el servicio de Patología para el estudio de la celularidad, lo que se realizó por un sólo patólogo. En el Departamento de Micología de la Unidad de Dermatología se cultivaron para hongos. En la Unidad de Medicina Experimental (UNAM) en el HIPAM, mediante citometría de flujo, se determinó el porcentaje de linfocitos T CD4+ CD3+ productores de IL-17.

- Procedimiento para citometría de flujo

La muestra obtenida de lavado broncoalveolar, que en promedio se obtuvo 33ml, se filtró con gasa estéril para separar la secreciones (correspondiente al factor surfactante y moco) de la celularidad en un tubo cónico, se centrifugó a 1500 rpm por 5 min, y se vertió en un tubo de 1.5 ml para centrifuga de congelación, se agregaron 500ul de PBS, se resuspendió y se centrifugó a 2000 rpm a 4°C por 5 minutos, se retiró sobrenadante y se resuspendió en 50ul de PBS, se procedió a realiza el marcaje extracelular con 2ul de anticuerpos anti-CD3 y anti-CD4 de superficie dejando en incubación por 10 minutos en oscuridad a 4°C. Se agregó 500ul de PBS, se resuspendió, se centrifugó a 2000 rpm por 5 minutos a 4°C y se repitió, se retiró el sobrenadante y se resuspendió en vortex para agregar 50ul de Citofix/citoperm para perforar la membrana celular, y se dejó incubando 10 minutos a 4°C en la oscuridad, se agregó 200ul de Permowash ,se resuspendió y se centrifugó a 2000 rpm a 4°C por 5 minutos, se retiró el sobrenadante para agregar 50ul de permowash, se resuspendió y se realizó el marcaje intracelular con 2ul de anticuerpo anti IL-17A, se envolvió en papel aluminio y se dejó incubando por 12-24 horas a 4°C: posteriormente se agregó 200ul de PW, se resuspendió

y se centrifugó a 200rpm a 4°C por 5 minutos 3 veces en total, se retiró el sobrenadante y se agregaron 200ul de PBS, se resuspendió y se centrifugó a 200rpm a 4°C por 5 minutos, se retiró el sobrenadante y se agregaron 150ul de PBS para analizarse por el citómetro de flujo en donde se realizan las mediciones de Linfocitos CD3+, CD4+ e IL-17+.



Figura 8. Centrifuga y Centrifuga en frío. Fotografías tomada de la Unidad de Medicina Experimental, UNAM, Hospital General de México. O.D.



Cyotfix/citoperm y Anticuerpos anti-CD3, anti CD4 y anti IL 17



Pipetas, puntas, vortex



Clitómetro de flujo. Fotografía tomada de la Unidad de Medicina Experimental,  
UNAM, Hospital General de México. O.D.

## Cronograma de actividades

ENERO	FEBRERO	MARZO –JUNIO	JUNIO	JULIO
Elaboración del protocolo	Evaluación por parte de comité de investigación y ética	Recolección de datos clínicos y de laboratorio /gabinete	Procesamiento de muestras y análisis de resultados	Entrega de reporte final

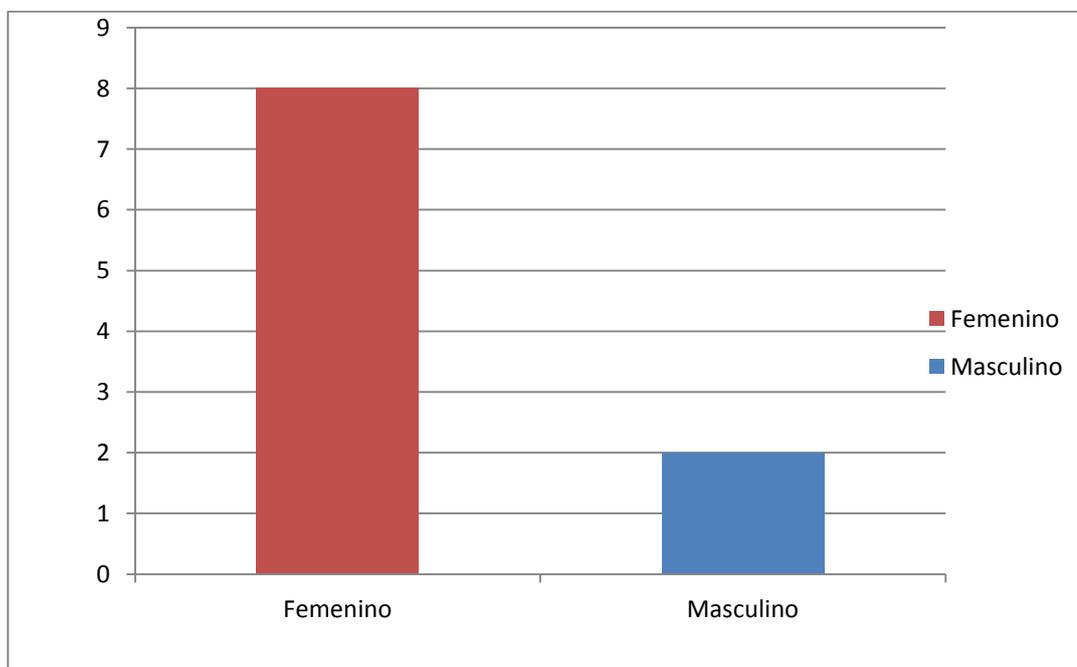
## Aspectos éticos y de bioseguridad

La fibrobroncoscopia es un procedimiento que se realiza de rutina en el Servicio de Fibrobroncoscopia en el Servicio de Neumología del Hospital General de México O.D. Todos los pacientes incluidos en el estudio proporcionaron su consentimiento informado para la elaboración del lavado broncoalveolar y para el estudio de la muestra obtenida.

## Resultados

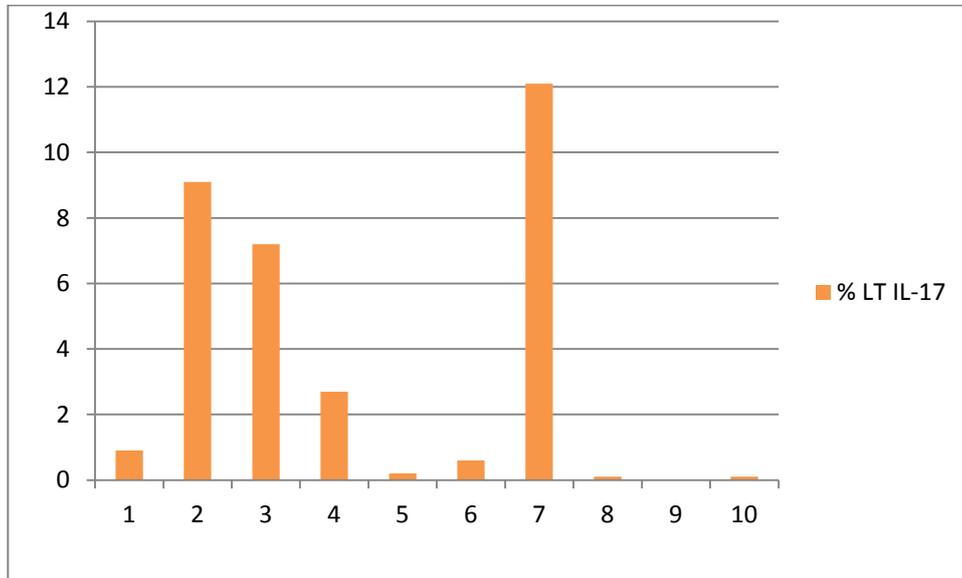
Se reunieron 19 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión. Se eliminaron 6 pacientes por retirar su consentimiento informado durante la realización de la fibrobroncoscopía, un paciente tuvo exacerbación del asma y en dos pacientes no se logró procesar la muestra por exceso de moco y no permitir su procesamiento por el clitómetro.

Se realizó el lavado broncoalveolar en 10 pacientes, sin presentar complicaciones durante el procedimiento. De estos 10 pacientes el 80% son del género femenino (n=8), como se observa en la Gráfica 1. El promedio de edad fue de 33.45 años, con un rango de 21 a 56 años. La IgE tuvo una media de 370.21 UI/ml, con un rango de 25.8 a 861 UI/ml.



Gráfica 1. Pacientes de acuerdo al género. (Elaboración propia)

Las células T CD4+ productoras de IL-17 se encontraron en un promedio de 3.3% con un rango de 0 a 12.1%, en la Gráfica 2 se muestran los resultados de linfocitos T productores de IL-17 de cada uno de los pacientes.



Gráfica 2. Linfocitos T CD4+ productores de IL-17 de cada uno de los pacientes.

En la figura 1 se muestra un ejemplo de los resultados de la citometría de flujo donde se señalan las células T CD3+ CD4+ IL-17+.

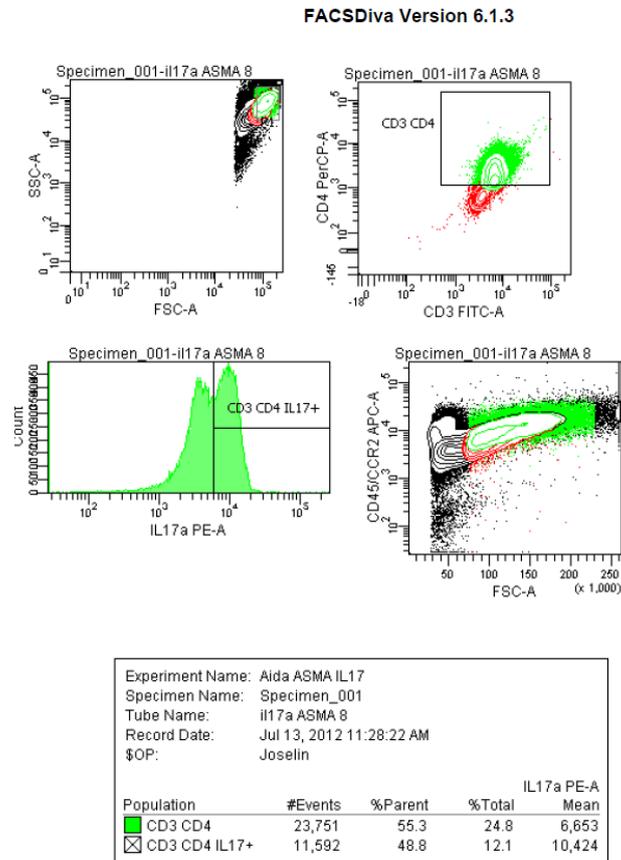
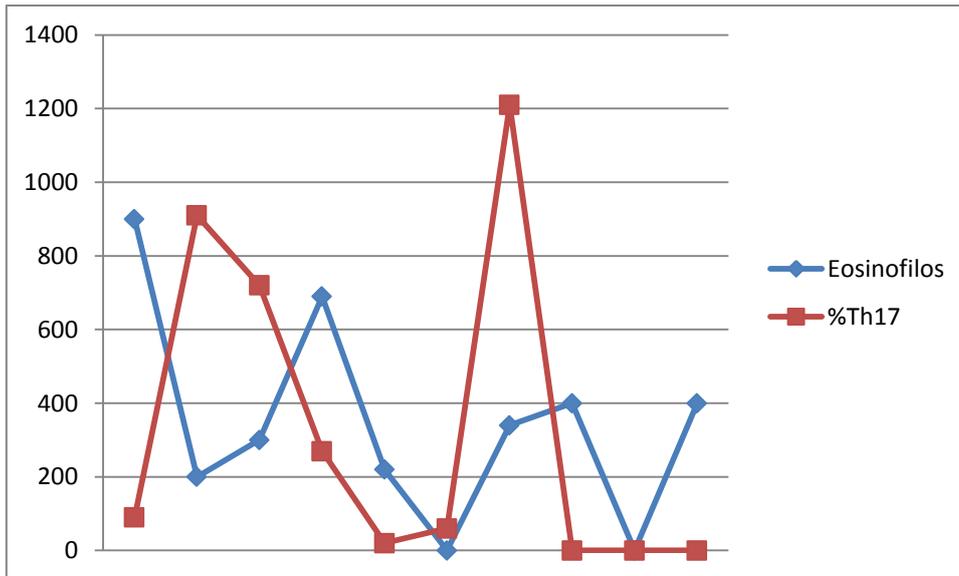


Figura 1. Ejemplo de reporte del citómetro de flujo.

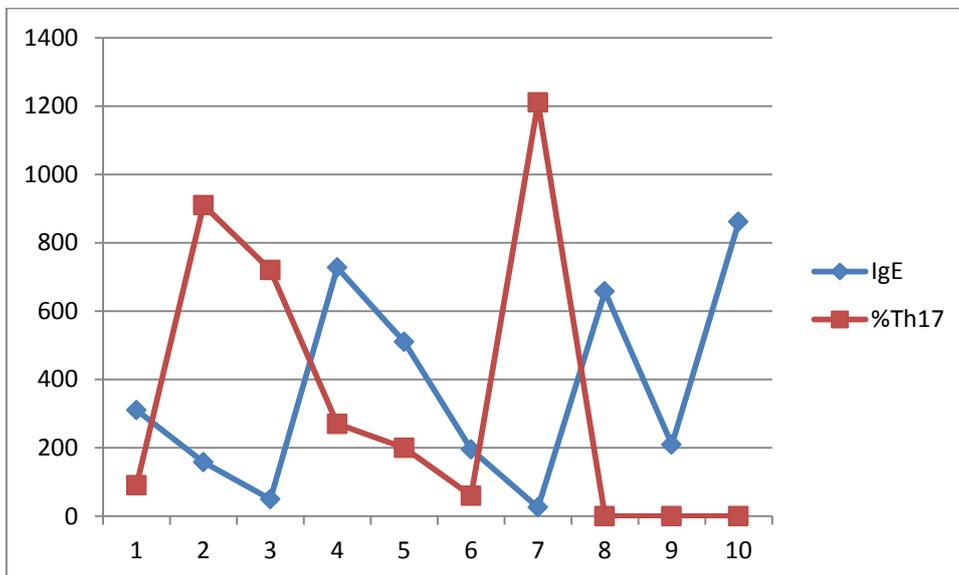
El estudio de micología para búsqueda de hongos tanto en visión directa como en cultivo, fue negativo en el 100% de los pacientes.

En el estudio histopatológico, el 100% de las muestras presentó linfocitos y otras alteraciones inflamatorias inespecíficas. Sólo en uno de los pacientes (10%) se observan neutrófilos.



Gráfica #: Relación entre Eosinófilos en sangre y porcentaje de Linfocitos Th 17.

Se realizó una regresión lineal para determinar la asociación entre el porcentaje de células productoras de IL-17 y la producción de IgE total, encontrando una P de -0.625 ( $p=0.027$ ). Gráfica 3.



Gráfica 3. Se ilustra la relación de los niveles de IgE sérica contra el %Th17.

## Conclusiones

El asma bronquial es una patología con un componente inflamatorio importante, de ahí que la base del tratamiento sea el uso de antiinflamatorios de tipo esteroideo. Tradicionalmente se la ha considerado una enfermedad con un predominio de células TH2, sin embargo, actualmente se sabe que otras poblaciones celulares participan en la patogenia del asma. Las células Th17 se caracterizan por propiciar un ambiente proinflamatorio al estimular el reclutamiento de neutrófilos a los tejidos, causando daño tisular.

Corroboramos la presencia de linfocitos T productores de IL-17 en muestras de lavado broncoalveolar en pacientes asmáticos, con valores muy distintos entre cada paciente. Es necesario comparar este parámetro con sujetos sanos para determinar su participación en la fisiopatología del asma.

En este estudio encontramos que no existe relación entre la producción de IL-17 y de IgE, considerando que el tamaño de la muestra es pequeña. Se ha considerado al fenotipo Th17 dentro del desequilibrio inmunológico del asma, y que se encuentra elevado en esta patología de componente inflamatorio, sin embargo se ha observado que la liberación de IL-17 incrementa en base a otros estímulos como infecciones por lo que se puede encontrar en niveles bajos al no haber desencadenantes. La producción de IgE depende de diversos mediadores por lo que no se encuentra una relación lineal entre la producción de IL-17 y la de IgE total.

No se encuentra una relación lineal entre la producción de IL-17 y el número de eosinófilos al depender su producción de múltiples mediadores.

Es recomendable, en un futuro, tener un grupo control para establecer las diferencias entre la cantidad de linfocitos T productores de IL-17 de pacientes asmáticos y sujetos sanos.

La comparación entre los niveles de IL-17 en muestras de lavado broncoalveolar y sangre en asmáticos es relevante en estudios posteriores para determinar si se producen sólo a nivel local o sistémico.

## Referencias

1. Barry A et al. Allergy and Allergic Diseases. Wiley-Blackwell, 2008; Vol. 1. Inglaterra. pp 3-20
- 2.
3. GINA 2011 <http://www.ginasthma.com>
4. H: Vargas-Becerra. Neumología y cirugía de tórax. 2009; 68: 591-597.
5. Bousquet J. Eosinophilic inflammation in asthma, N Eng J Med 1990; 323: 1033-1039
6. Zhang J. Tissue and BAL Based Biomarkers in Asthma, Immunol Allergy Clin N Am 2007; 27: 623-632
7. Wenzel S. Evidence that sever asthma can be divided pathologically into two inflammatory subtypes with distinct physiological and clinical characteristics, Am J Respir Crit Care Med 1999; 160: 1001-1008
8. Handoyo S. Asthma phenotypes, Curr Allergy Asthma Rep; 2010; 9: 439-445
9. Wenzel S, Asthma: defining of the persistent adult phenotypes, Lancet, 2006; 368: 804-813
10. Gibson P. Relationship between induced sputum eosinophils and the clinical pattern of childhood asthma, Thorax 2003; 58: 116-121
11. Green R. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial, Lancet 2002; 360: 1715-1721
12. Monteseirín J. Neutrophils and asthma, J Investig Allergol Clin Immunol 2009; 19 (5): 340-354

13. Thomson N. Asthma and cigarette smoking, *Eur Respir J* 2004; 24: 822-833
14. Nguyen LT. Increase in airway neutrophils after oral but not inhaled corticosteroids therapy in mild asthma, *Respir Med* 2005; 99: 200-207
15. Elston W. Safety of research bronchoscopy, biopsy and bronchoalveolar lavage in asthma *Eur Respir J* 2004; 24: 375-377
16. Rankin J. Bronchoalveolar lavage. Its safety in subjects with mild asthma, *Chest*, 1984; 85: 723-728
17. Yuri Souwer, Krisztina Szegedi, Martien L Kapsenberg et al. IL-17 and IL-22 In atopic allergic disease. *Curr opinion in immunol* 2010. 22:821-826
18. Shi Yu-Heng, Shi Guo-chao, Wan Huan-ying et al. Coexistence of Th1/Th2 and Th1/Treg imbalances in patients with allergic asthma. *Chin Med J* 2011; 24 (13):1951-1956.
19. Alexandre S. Basso, Hilde Cheroutre, Daniel Mucida. More stories on Th 17 cells. *Cell Research* (2009) 19:399-411
20. Pierre Miossec, Thomas Korn and Vijay K. Kuchroo. Interleukin-17 and Type 17 Helper T Cells. *N. Engl J Med* 2009;361:888-98
21. L. Cosmi, F. Liotta, E. Maggi, et al. Th17 cells, new players in asthma pathogenesis. *Allergy* 66 (2011) 989-998
22. Cailin Moira Wilke, Keith Bishop, David Fox, et al. Deciphering the role of Th17 cells in human disease. *Trends in Immunology* 889 (2011), 1-9
23. M. Akdis. O. Palomares, W. Van de Veen, et al. Th17 and Th22 cells: A confusion of antimicrobial response with tissue inflammation versus protection. *J. Allergy Clin Immunol.* 2012; 129 (6): 1438-1448

24. Youcun Qian, Zizhen Kang, Caini Liu, et al. IL-17 signaling in host defense and inflammatory diseases. *Cellular and Molecular Immunology* 2010; 7, 328-333
25. SA Khander, SL Gaffen y JK Kolls. Th17 cells at the crossroads of innate and adaptive immunity against infectious diseases at the mucosa. *Mucosal Immunology* 2009;2 (5) 403-409
26. Camille Doe, Mona Bafadhel, Salman Siddiqui, et al. Expression of the T Helper 17-Associated Cytokines IL-17A and IL-17F in Asthma and COPD. *Chest* 2010;138 (5):1140-1147.
27. Rose A. Bronchoalveolar Lavage as a Research Tool, *Semin Respir Crit Care Med* 2007; 28: 561-574
28. G. Hunninghake, J. Chu, S. Sharma, et al. The CD4+ T-cell transcriptome and serum IgE in asthma: IL17RB and the role of sex. *BMC Pulmonary Medicine* 2011, 11:17
29. L. Zito Grund, E. Naname Komegae, M López-Ferreira, et al. IL-5 and IL-17A are critical for the chronic IgE response and differentiation of long lived antibody-secreting cells in inflamed tissues. *Cytokine* 2012;59: 335-351.
30. Burgel P. Updates on the roles of distal airway in Asthma, *Eur Respir Rev* 2009; 18 (112): 80-95
31. Asma e infecciones, *Acta Médica* 2000;9(1-2):29-33
32. Ma Hl, Liang S, LI J, et al. IL-22 is required for Th17 cell-mediated pathology in a mouse model of psoriasis like skin inflammation. *J Clin Invest* 2008;118:597-607

33. Glimp RA, Bayer SA. Fungal pneumonias. *Patr* 3: Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Chest* 1991;80: 85-94.
34. Greenerger PA. Late sequelae of allergic broncho-pulmonary aspergillosis. *J Allergy Clin Immunol* 1990;66: 327-35.
35. Meheechotesuwan K. Formoterol attenuates neutrophilic airway inflammation in asthma, *Chest* 2005; 128: 1936-1942
36. Sindi A. Antiinflammatory effects of long acting B2 agonists in patients with asthma, *Chest* 2009; 36; 145-154
37. Van de Kant K. Early diagnosis of asthma in young children by using non-invasive biomarkers of airway inflammation and early lung function measurements: study protocol of a case-control study. *BMC Public Health* 2009, 9;210- 224
38. Bradding P. Subclinical phenotypes of asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010; 10: 54-59
39. Khor Y. et al. Airway cell and cytokine changes in early asthma deterioration after inhaled corticosteroid reduction. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 1189-1198.
40. Murugan A. Biomarkers in asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009; 15:12-18
41. Haldar P. noneosinophilic asthma: a distinct clinical and pathologic phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 1043-1052.

## HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PROTOCOLO ASMA

NOMBRE DEL PACIENTE:

\_\_\_\_\_

EXPEDIENTE : \_\_\_\_\_ EXP ALERGIA:

\_\_\_\_\_

<b>Diagnósticos</b>	
<b>Exploración física</b>	
<b>BH</b>	
<b>Citología nasal</b>	
<b>CPS</b>	

<b>PFR</b>	
<b>Pruebas cutáneas</b>	
<b>IT</b>	
<b>Medicamentos</b>	
<b>Comentarios</b>	

## REPORTE DE LAVADO BRONCOALVEOLAR

<b>FECHA DE TOMA</b>	
<b>HONGOS</b>	
<b>CITOLOGÍA</b>	
<b>TH17</b>	
<b>COMENTARIOS</b>	

## HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del protocolo: **“Lavado broncoalveolar y estudio histopatológico en asmáticos del servicio de alergia del Hospital General de México”**

Investigador principal: Dr. Guillermo Velázquez Samano

Sede donde se realizará el estudio: Hospital General de México, O.D.

El proyecto de investigación corresponde a: **Investigación con riesgo mayor al mínimo**

Nombre del Paciente: \_\_\_\_\_

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

### I. Justificación y objetivos del estudio

Las células que se encuentran en el pulmón son importantes en el desarrollo de enfermedades como el asma bronquial. Estas células se pueden obtener mediante un estudio conocido como fibrobroncoscopía y lavado broncoalveolar (los cuales se describirán más adelante) que son procedimientos seguros en pacientes con asma bronquial. El estudio de estas células no ayuda a tener mayor información sobre esta enfermedad y a elegir el tratamiento más adecuado para usted.

A usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como objetivos el tomar una muestra de líquido de lavado broncoalveolar para su estudio en búsqueda de células del sistema inmune y relacionadas con enfermedades alérgicas, así como búsqueda de bacterias y hongos.

### II. Procedimientos

En caso de que acepte participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre usted, sus hábitos y sus antecedentes médicos, y se realizará un estudio llamado fibrobroncoscopía. Este estudio se realiza de la siguiente manera. Se requiere de un quirófano o sala de operaciones. El paciente se le colocará en una mesa de operaciones. Se le administra medicamentos anestésicos para facilitar la elaboración del estudio. Se introduce el fibrobroncoscopio por la boca hasta el pulmón y se introducen 40 ml de solución estéril. Se aspira dicho líquido y se coloca en frascos estériles. Se retira el fibrobroncoscopio. Se envían las muestras al laboratorio para su estudio. Se vigila al paciente en la sala de recuperación hasta recuperar su estado previo al estudio.

**Título del protocolo: “Lavado broncoalveolar y estudio histopatológico en asmáticos del servicio de alergia del Hospital General de México”**

- Riesgos esperados.

El de fibrobroncoscopía y lavado broncoalveolar es seguro, y se tiene amplia experiencia en el servicio de broncoscopía. Se puede realizar en pacientes con asma controlada. Se realiza por personal capacitado para el mismo. A pesar de ellos, se pueden llegar a presentar complicaciones en algunos pacientes. Estas complicaciones pueden ser: falta de aire, crisis de asma, fiebre, hemorragia pulmonar, neumotórax (salida de aire del pulmón hacia el tórax).

En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario o requiera otro tipo de atención, ésta se le brindará en los términos que siempre se le ha ofrecido.

• Beneficios del estudio

Con este estudio se conocerá de manera más clara que tipo de célula predomina en el pulmón y que se relaciona con el asma bronquial que usted padece. Los estudios al respecto, realizados en otros centros hospitalarios, reportan que se puede encontrar en pacientes con asma un predominio de células llamadas eosinófilos (células del sistema inmune que participan de manera primordial en enfermedades alérgicas), un predominio de neutrófilos (células del sistema inmune que participan en infecciones o inflamación de un tejido) o escasas células del sistema inmune.

El conocimiento de las células del sistema inmune que predominan en el pulmón de pacientes con asma nos ayuda a comprender la intensidad de los síntomas y cual va a ser la respuesta al medicamento administrado.

Este estudio permitirá que en un futuro otros pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido

Procedimientos alternativos

Se pueden utilizar otras técnicas para obtener muestras de secreciones producidas en el pulmón como lo es la recolección de expectoración, sin embargo se tienen complicaciones como la contaminación de la muestra y alteraciones en la cantidad de células que se quiere estudiar.

- Garantía de recibir respuestas y aclaraciones

En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo al investigador responsable. Todas sus preguntas e inquietudes serán contestadas en el momento en que usted las solicite.

VII. Libertad de retirar su consentimiento

Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria y usted puede retirarse del mismo en el momento que lo desee informando las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad y sin que esto afecte su atención subsecuente en este servicio.

1. Privacidad

La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.

**Título del protocolo: “Lavado broncoalveolar y estudio histopatológico en asmáticos del servicio de alergia del Hospital General de México”**

**IX. Información actualizada**

El equipo de investigadores se compromete a que en caso de obtener información actualizada con respecto al estudio, ésta se le proporcionará, aunque esta pudiera afectar su voluntad para continuar participando en el mismo.

**X. Indemnización**

En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario no previsto, tiene derecho a una indemnización, siempre que estos efectos sean consecuencia de su participación en el estudio.

**XI. Gastos adicionales**

En caso de existir gastos adicionales, estos serán absorbidos por el presupuesto de la investigación.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado anexa a este documento.

Título del protocolo: **“Lavado broncoalveolar y estudio histopatológico en asmáticos del servicio de alergia del Hospital General de México”**

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

\_\_\_\_\_  
Firma del participante o representante legal

\_\_\_\_\_  
Dirección del participante

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Firma del testigo

\_\_\_\_\_  
Relación con el participante

\_\_\_\_\_  
Dirección del testigo

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Firma del testigo

\_\_\_\_\_  
Relación con el participante

\_\_\_\_\_  
Dirección del testigo

\_\_\_\_\_  
Fecha

Esta parte debe ser completada por el investigador (o representante):

He explicado al Sr.(a) \_\_\_\_\_ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar estudios con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuesta, se procedió a firmar el presente documento.

\_\_\_\_\_  
Firma del Investigador

\_\_\_\_\_  
Fecha

En caso de dudas o de requerir información adicional en relación con el proyecto de investigación, usted puede contactar al Dr. Guillermo Velázquez Samano Jefe de Servicio de Alergia e Inmunología Clínica en el número de teléfono 2789-2000 extensión 1265; o bien a la Dra. Carlos Ibarra Pérez Presidente de la Comisión de Ética del Hospital General de México al teléfono 2789-2000 extensión 1368.

4/4