

INTRODUCCION

El asma es un síndrome clínico complejo caracterizado por obstrucción variable al flujo aéreo, hiperreactividad bronquial (HRB), edema e infiltración linfocítica y eosinofílica de la vía aérea. La inflamación asume un rol central en la patogénesis de la enfermedad, contribuyendo no sólo a la obstrucción al flujo aéreo, sino también a la HBR (1). El desafío alérgico, induce la activación de mastocitos y macrófagos con la consecuente liberación de múltiples mediadores proinflamatorios, entre ellos leucotrienos, factores quimiotácticos y citoquinas (2-3). El antígeno procesado por los macrófagos es presentado a las células T helper (LTC_{D4}), indiferenciados (TH₀), lo que induce su diferenciación al fenotipo TH₂ con la liberación de interleuquina 4 (IL₄) e interleuquina 5 (IL₅) y la consiguiente síntesis de inmunoglobulina (IgE) e infiltración eosinofílica (4). Las citoquinas derivadas de los macrófagos, como la interleuquina 1 (IL₁), el factor de necrosis tumoral α (TNF α) e interferón γ (IFN γ), activan las células endoteliales, suprarregulando la expresión de moléculas de adhesión como la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y la molécula de adhesión celular-vascular 1 (VCAM-1) permitiendo el paso de leucocitos desde la circulación hacia la mucosa de la vía aérea (5-6). Los mastocitos, eosinófilos y macrófagos, no sólo causan daño en la vía aérea, sino también sintetizan citoquinas que perpetúan el proceso inflamatorio. Este complejo juego entre células y mediadores inflamatorios provocan las clásicas características histopatológicas del asma, tanto en individuos sintomáticos como asintomáticos. Aquí radica la importancia de un reconocimiento temprano de los síntomas y consecuentemente un pronto inicio de la terapia anti inflamatoria (7).

En este trabajo se hará una revisión de los últimos conocimientos sobre ASMA, haciendo hincapié sobre los mecanismos inmunopatológicos y sus perspectivas futuras en el tratamiento de la enfermedad.

HISTORIA

Los conceptos acerca de la patogénesis del asma han cambiado radicalmente en los últimos años, focalizando la atención sobre la “inflamación” y “remodelamiento” de la vía aérea como principales características de la enfermedad. Sin embargo, este concepto no es nuevo, ya que en los inicios de la centuria pasada, autores como Austin Flint y William Osler, consideraban al asma como una especie de bronquitis, incluyendo a la inflamación como un componente del proceso (8). Se conocen descripciones del asma ya desde la antigüedad, Homero menciona la enfermedad en el siglo IX AC.

Hipócrates (siglo IV y V A.C.), dice que es un desequilibrio hacia la flema fría, relacionándola con la epilepsia y la humedad, no obstante creyó en la existencia de factores humorales.

Aretaeus de Capodocia (200 A.C.), considera la posibilidad de casos fatales. En la Edad Media, Moisés Maimónides (1135-1204) escribe un tratado sobre el asma y reconoce casos fatales.

En el siglo XVII, Thomas Willis (1671) describe por primera vez la broncoconstricción en el asma y casos fatales como “asthma morbos maxime terribiles” y Floyer en 1698 cuenta la muerte súbita de un niño de 18 meses. Este mismo autor, es el primero que describe la broncoconstricción inducida por el ejercicio en pacientes asmáticos y la tendencia hereditaria del asma. Ya en el siglo XVIII, Watson (1764), describe la autopsia de un enfermo de 28 años, fallecido por asma.

Muller (1769) utiliza criterios modernos para catalogar los asma susceptibles de ser fatales.

Cullen (1784) describe la muerte súbita resultante de una crisis severa de asma (mal asmático).

En el siglo XIX hasta casi fines del mismo, no se describen muertes por asma.

Henry Hyde Salter (1823-1871), es el autor que describe con más exactitud la enfermedad y el único que describe muertes por asma y reconoce sus causas.

Huber y Kessler en 1922 describen ampliamente las lesiones histopatológicas del asma en su clásico trabajo cuya importancia persiste hasta nuestros días.

Un concepto más moderno es el de la hiperreactividad o hiperrespuesta bronquial (HRB). Se define a la hiperreactividad bronquial como a una susceptibilidad aumentada de la vía aérea al estrechamiento por la acción de un agonista constrictor, indicado como la mínima concentración del mismo requerido para iniciar una respuesta broncoconstrictora.

Alexander y Paddock (1921) observaron por primera vez que la broncoconstricción ocurría más rápidamente en asmáticos que en no

asmáticos, luego de una exposición a agentes broncoconstrictores.(9).

Weiss y colab., (1932) confirman que pacientes asmáticos desarrollan broncoconstricción, medido por cambios en la capacidad vital, luego de la administración endovenosa de histamina, en relación a pacientes no asmáticos. (10)

En 1946 Curry observó que la misma respuesta ocurría durante la administración intramuscular, endovenosa y en nebulización de histamina, también en pacientes asmáticos (11).

Herxheimer, en el mismo año, hace la primera descripción cuidadosa de la hiperventilación en el ejercicio, como causa de broncoconstricción.(12)

Anderson y colab. ,(1975) en una revisión del tema “Asma y ejercicio”, reconocen que el mismo causa síntomas en los pacientes asmáticos, más intensos a mayor esfuerzo realizado.(13).

Jones y colab., (1963) demuestran la utilidad del ejercicio como herramienta clínica en el diagnóstico del asma.(14)

GENETICA DEL ASMA

La genética del asma se ha investigado durante años; la primera investigación sistemática la efectuaron Cooke y Vander Veer (15) en 1916. Aunque la heredabilidad del asma varía en el intervalo del 36 al 72%, no se ha establecido su modo de herencia (16). El riesgo relativo del asma

tampoco se encuentra bien definido, pero varía, en principio, entre 2 y 4 (16,17) . En conjunto, los datos acumulados sugieren que hay importantes componentes genéticos en el asma, pero aún se ignora el modo de herencia y los genes concretos.

Las técnicas de los genes candidatos y del cribado genómico se han aplicado para clarificar la importancia de los factores genéticos en la patogenia del asma. Se han propuestos diversos loci de sensibilidad genética basándose en la técnica de los genes candidatos. Entre éstos se encuentran 1) los del cromosoma 5 situados en la región del conglomerado de los genes de las citocinas; 2) los del cromosomas 6 en la región de los genes de HLA y TNF; 3) los del cromosoma 11 en el área del gen del receptor de gran afinidad (FceRI); 4) los del cromosoma 12 en las zonas de los genes del interferón γ y factor de crecimiento insulinoide 1; subunidad B del factor nuclear y factor de crecimiento de los mastocitos; 5) los del cromosoma 14 en la región del gen del receptor de linfocitos T, y 6) los del cromosoma 16 en la región del gen de IL-4R (18). Se ha propuesto, asimismo, que la gravedad del asma y la respuesta al tratamiento dependen de moduladores genéticos, como el polimorfismo del receptor β_2 (hallado en el cromosoma 5), que interviene en la respuesta broncodilatadora de los agonistas beta (19,20) .Otros genes examinados para conocer la respuesta del tratamiento son los de los receptores de los glucocorticoides y los de los receptores muscarínicos (21,22).

El cromosoma 5 ha sido objeto de amplios estudios relacionados con el ligamiento de posibles genes al asma. Se ha mostrado en diversos estudios que el gen IL-4 está ligado al fenotipo asmático. Se ha señalado un polimorfismo del promotor de la IL-4 (C-590T) en la región del gen que se une a los factores de transcripción y modifica la expresión genética (23,24). Se ha constatado en diversos estudios de asociación una mayor prevalencia de este polimorfismo entre las personas asmáticas, que no se ha podido confirmar en otras investigaciones (25, 26,27). Asimismo, se ha descrito, en relación con la IL-13, que la variante Arg130Gln se asocia con el asma (28). Más aún, la respuesta a ciertos fármacos parece aglomerarse en las familias. Las variantes del gen del receptor adrenérgico β_2 del cromosoma 5q, como Arg-16, GLy y GLn-27, influyen en la respuesta del receptor a los agonistas.

El cromosoma 6 también se ha investigado por la conocida relación del sistema HLA con la respuesta inmunitaria específica y del TNF- α con el asma. Pese a todo, hay muy pocos datos sólidos que demuestran un ligamiento de fenotipo del asma con el sistema HLA. El TNF- α es una citosina proinflamatoria, cuyo gen también se encuentra en el cromosoma 6p, dentro del complejo principal de histocompatibilidad. Se ha comprobado que las transiciones en la posición 308 del promotor de TNF- α (TNF-A-308-G) se

asocian con una mayor secreción in vivo de TNF- α . El alelo 308G se ha asociado con el asma en los dos estudios (29,30).

La relación entre Fc ϵ RI β y el asma se ha investigado como consecuencia de las observaciones iniciales de Cookson y colab, (31). Estos autores describieron el ligamiento entre el cromosoma 11q y la respuesta de IgE que subyace al asma y propusieron que se relacionaba con el gen codificador de Fc ϵ RI β .

Se han publicado algunos cribados genómicos sobre el asma. Esta claro que los cribados genómicos del asma sólo aportan, en principio, indicios estadísticos moderados de ligamiento para cualquier región cromosómica específica. Como las interacciones entre los genes y la heterogeneidad genética influye en los resultados, se están empleado otros métodos de análisis condicional partiendo de pruebas de ligamiento de una región para estudiar el ligamiento de otra (32)..

Van Eederwegh y colab. identificaron un gen asociado con asma e HRB. Este gen llamado ADAM 33 se halla localizado en el brazo corto del cromosoma 20, pertenece a la subfamilia de metaloproteinasas (MMP) de membrana y posee tanto un dominio metaloproteinasa como desintegrina, con una gran variedad de funciones (33) que incluyen fertilización, neurogénesis, miogénesis, liberación de TGF- α , embriogénesis y respuestas inflamatorias a través de las interacciones célula a célula, célula/matriz extracelular, migración celular, adhesión y traducción de señales. Existen variaciones entre los distintos miembros de las familias existentes: pro-metaloproteinasa (incluyen secuencia de unión al zinc), desintegrina rica en cisteína, factor de crecimiento epidermoideo, dominios citoplasmáticos y transmembrana. Otra función de las proteínas ADAM es la secreción de citoquinas específicas y factores de crecimiento.

La proteína ADAM 33 se halló en los fibroblastos en el músculo liso de la vía aérea, pero no así en los linfocitos ni otras células inflamatorias asociadas al asma. Esto conlleva la posibilidad de que el evento inicial en el desarrollo del asma, no sea sólo la inflamación. Anormalidades primarias en los fibroblastos o en las funciones de las células del músculo liso, podrían tener un rol sinérgico en la fisiopatología de la enfermedad (34).

Howard y colab., demostraron que el hallazgo repetido del gen ADAM 33, en diferentes poblaciones, fortalece la hipótesis de su participación en la patogénesis del asma.

Además de sus interacciones celulares, el gen ADAM 33 es importante en el desarrollo del asma por su acción proteolítica de la matriz extracelular, contribuyendo a la remodelación tisular. La integridad del tejido de la pared de la vía aérea es un aspecto esencial de su función de barrera para las partículas

inhaladas, por lo que las moléculas ADAM pueden tener un papel de vital importancia por sus funciones de adhesión y proteólisis (35).

INTERACCION ENTRE GENETICA Y MEDIO AMBIENTE

EXPOSICION A ALERGENOS

El aumento de la prevalencia del asma no es debido sólo a cambios cuantitativos y cualitativos en la susceptibilidad genética a padecer la enfermedad en distintas subpoblaciones. Las modificaciones en el medio ambiente ejercen sus influencias sobre individuos susceptibles genéticamente.

Las observaciones epidemiológicas de los últimos años indican que una de las causas de aumento de la prevalencia, es el aumento del nivel de exposición a aerolergenos interiores (36). Modificaciones en la estructura de los hogares modernos, como el uso de ciertos materiales para la construcción y la fabricación de muebles, pueden estimular el crecimiento de alergenios interiores como los ácaros del polvo doméstico. Otro punto a considerar, es la tendencia a permitir la permanencia de animales domésticos, (perros, gatos) dentro de la casa, pudiendo aumentar el riesgo de sensibilización a alergenios producidos por estas mascotas (37).

Sin embargo se observó que en zonas áridas, donde los alergenios interiores como los ácaros del polvo doméstico son infrecuentes, la prevalencia del asma no es menor que en zonas costeras, más húmedas, sugiriendo que la relación entre la exposición a alergenios comunes y asma no puede expresarse simplemente como una asociación causa-efecto (38).

Es de destacar, que en las zonas áridas del interior, el alergenio más frecuentemente asociado con asma son los hongos del género *Alternaria* (39). En zonas árticas de los países del Norte como Suecia, donde ni los ácaros ni los hongos se hallan presentes, la prevalencia del asma es similar a aquellas de las zonas más templadas del país (40).

PAPEL DEL DESARROLLO DEL SISTEMA INMUNE

Existen diferentes explicaciones para el aumento de la prevalencia del asma en este punto. Datos recientes sobre las características de la respuesta inmune durante los primeros años de vida, apoya la hipótesis de que los futuros asmáticos poseen una alteración de la respuesta inmune que no se halla limitada a ningún antígeno específico (41). Diversos estudios demostraron que la respuesta mediada por Ig E a aeroalergenos, ocurre tempranamente en la vida de los futuros asmáticos (42). Los niños que se sensibilizarán a los aeroalergenos muestran alteraciones importantes de la respuesta inmune durante los primeros doce meses de vida, mucho antes de la Ig E específica contra esos aeroalergenos, pueda ser detectada en la circulación. Estas alteraciones involucran citoquinas que responden a estímulos no específicos de células mononucleares de sangre periférica.(43). Incluyen tanto citoquinas Th1 como Th2, y principalmente respuesta alterada al IFN- γ . Como es sabido, el IFN- γ inhibe la producción de IL-4 e IL-13 por parte de los L Th2. Estas dos citoquinas son las únicas capaces de proveer la señal a las células B para producir Ig E.

Todos estos datos sugieren que la genética y los factores medioambientales interactúan, en niños y jóvenes, estableciendo los patrones de respuesta inmune que predisponen al desarrollo del asma.

Asma e infección viral

El rol que la infección viral juega como inductora de asma bronquial, ha sido tema de discusión creciente en los últimos años.

Si bien la asociación infección viral-asma bronquial parece más frecuente en niños también se ha observado en adultos.

La infección viral es capaz de incrementar de manera aguda la HRB, tanto en asmáticos como en individuos normales.

Algunos autores han surgerido enfáticamente que muchos niños, especialmente lactantes, comienzan a presentar episodios recurrentes de asma después de infección respiratoria por VRS. Estudios recientes realizados en Tucson por Martínez y colab., parecen indicar que este fenómeno está más vinculado con factores individuales, como el calibre de la vía aérea en lactantes y niños pequeños, y la alteración precoz de la función pulmonar. En definitiva, para este grupo de investigadores, el estrechamiento de la vía aérea del

lactante y la precoz alteración de la función pulmonar, sería el factor determinante para que la infección viral desencadene asma en la lactancia con más frecuencia que en otras edades de la vida.

Un importante estudio realizado en mucosa nasal humana ha demostrado un marcado efecto citopático seguido de destrucción celular en infecciones por adenovirus e influenza tipo A, si bien no pudo demostrarse el mismo grado de lesión con rino-virus ni coronavirus. Se ha observado que el epitelio respiratorio es una importante vía para la producción de proteínas y mediadores con rol protector, tal como el factor de relajación derivado del epitelio, o la prostaglandina E2 que juega un papel importante en el mantenimiento del equilibrio bronquial.

Los estudios realizados en los últimos años sobre la estructura y biología de los rinovirus demuestran que el ICAM-1, constituye su más importante receptor. Una especulación razonable, pero no demostrada, propone que una incrementada expresión de ICAM-1 en algunos individuos aumentaría la susceptibilidad a la infección viral respiratoria.

La replicación viral dentro de la célula epitelial es un evento central en la iniciación del proceso inflamatorio y la respuesta inmunológica de la vía aérea. Este fenómeno conduce a un marcado incremento en la secreción de múltiples citoquinas, quimioquinas y moléculas de adhesión celular. Es un área donde la inflamación inducida por virus y/o alérgenos superpone la acción de citoquinas (TNF-alfa, G-CSF, INF-gamma) con quimioquinas (IL-8, proteína inflamatoria de macrófagos, (44) las que están incrementadas en la vía aérea durante las infecciones virales y generan el reclutamiento y activación de células inflamatorias –neutrófilos, eosinófilos y células T activadas- que están fuertemente vinculadas con la fisiopatología del asma.

Freyer y colab., (45) advierten que la infección respiratoria por parainfluenza incrementa la respuesta contráctil de la vía aérea a la estimulación colinérgica. Este fenómeno se produciría por una disminución del receptor M2, modulador de la respuesta vagal inducido por la infección viral. El resultado final es una incrementada transmisión colinérgica con contracción del músculo liso bronquial.

Por otra parte, parece importante destacar las observaciones in Vitro de Buse (46) y de Buckner (47) quienes trabajando con animales de experimentación advierten una marcada disminución en la función de los beta-receptores después de infección viral con parainfluenza. Si bien estos resultados no pueden ser extrapolados directamente al hombre, sugieren una importante explicación fisiopatogénica para la inducción de HRB como consecuencia de la infección viral respiratoria.

Existe suficiente evidencia de que algunos virus pueden inducir la síntesis de IgE virus-específica, VRS es capaz de producir IgE específica para el virus, la

que es capaz de unirse a células del epitelio respiratorio exfoliado y generar una respuesta que se correlaciona con la disnea subsecuente, el incremento en la secreción nasal de histamina y el grado de hipoxia arterial.

La síntesis de IgE virus-específica ha sido también demostrada para el parainfluenza. Otros investigadores (48) han observado altos títulos de IgE específica para micoplasma pneumoniae en sujetos asmáticos o alérgicos.

Todo parece indicar que, sobre la predisposición genética individual, la aparición de un simple resfriado común puede originar una secuencia de eventos que conducen a situaciones clínicas diversas, incluyendo la posibilidad de una severa obstrucción de la vía aérea. Estudios recientes (49) sugieren que el mastocito protagoniza un rol central en los procesos inflamatorios vía liberación de mediadores – histamina, metabolitos prostaglandinas, LTC₄- y producción de diversas citoquinas, todas las cuales conducen a la amplificación de la inflamación en los procesos alérgicos de la vía respiratoria afectada por la infección viral. Desde las publicaciones de Ida (50) demostrando que la incubación de leucocitos con virus respiratorios producía un incremento en la liberación de histamina de basófilos IgE-dependiente, Lett-brown y colab., han demostrado además, que el parainfluenza no solo activa los mecanismos de la liberación de histamina sino que promueve la quimiotaxis de basófilos aumentando la población de células inflamatorias.

Sobre esta base se plantea la hipótesis de que la infección viral produce simultáneamente daño epitelial de la vía aérea e incrementa la presencia de células pro-inflamatorias. La suma de estos acontecimientos inducen el desarrollo de HRB y obstrucción subsecuente. Tanto la infección viral como el interferon incrementan la biosíntesis de macrófagos y prostaglandinas.

Diversos trabajos sugieren que, in vitro, la incubación de células mononucleares con rinovirus produce un importante incremento en la producción de IL-2 e interferon-gamma (51). Investigadores japoneses (52) observan en pacientes pediátricos que después de la infección por VRS los linfocitos adquieren sensibilidad específica a ácaros y antígenos alimentarios, y refieren que esta hipersensibilidad guarda correlación con la respuesta específica IL-2 detectada varios meses después de la infección por VRS.

Algunos virus, particularmente el VRS, rinovirus y parainfluenza, poseen la particular propiedad de inducir la producción de IL-11 desde estroma celular. IL-11 guarda estrecha relación con la intensidad de la obstrucción bronquial actuando como un potente inductor de hiperreactividad bronquial (53). Los virus respiratorios pueden estimular la secreción de IL-10; esta citoquina puede regular a su vez la presentación de antígenos por los monocitos (54). Ha sido detectado el antagonista del receptor de IL-1 (IL-1ra) en secreción nasal de voluntarios infectados por rinovirus (55). Estos hallazgos sugieren que el IL-1ra

puede ser muy importante regulador de los efectos inflamatorios mediados por el receptor de IL-1 durante las infecciones virales del resfriado común.

ASMA Y CARGA MICROBIANA DURANTE LOS PRIMEROS AÑOS DE VIDA

Estudios recientes realizados en los países del Oeste confirman que los niños que permanecen al cuidado en guarderías durante el día en los primeros años de vida, tienen una mayor incidencia de infecciones agudas de las vías respiratorias bajas en esos primeros meses, pero también un riesgo significativamente menor de desarrollar asma y de sensibilización a alérgenos durante el período escolar (56,57). Información obtenida de cuatro áreas distintas rurales de Europa (58,59) y Canadá (60) muestran que niños que viven en contacto directo con animales de granja tienen un muy bajo riesgo de sensibilización alérgica en relación a los niños que viven en la misma zona pero sin contacto directo con animales. Otros estudios demostraron que los niños que se hallan en contacto directo con los animales de granja se hallan mucho más expuestos a la endotoxina (61). Esta es un componente de la pared de las bacterias Gram negativas, muy abundante en la naturaleza y es un indicador adecuado de limpieza del medio interior en áreas urbanas (62). Gereda y colab., demostraron una relación inversa entre el nivel de endotoxina interior y la probabilidad de sensibilización a alérgenos durante los primeros 24 meses de vida en niños nacidos y crecidos en Denver (USA). También hallaron una relación directa entre la exposición a la endotoxina y la proporción de células T helper productoras de IFN- γ (63).

Uno de los factores que influyen en el nivel de endotoxina en el ambiente interior, es la presencia de mascotas. Es sabido que la endotoxina es un potente inductor de la producción de IL-12 por las células CPA (64), siendo esta interleuquina, una fuerte señal de desviación de la respuesta inmune hacia la producción de IFN- γ .

Estudios en animales de experimentación demostraron, que si la exposición a la endotoxina ocurre inmediatamente antes o después a la exposición alérgica, la respuesta Ig E mediada que sigue a la misma, se bloquea eficientemente (65). En cambio

si la exposición a la endotoxina ocurre varios días después de la exposición alérgica, se produce una potenciación de la respuesta Ig E mediada. Estos hallazgos pueden explicar por qué la exposición a la endotoxina puede aumentar la reactividad bronquial en asmáticos (66). De este hecho se deduce que la respuesta a la exposición a la endotoxina, dependerá del contexto en el cual ocurre dicha exposición (67).

Lo comentado anteriormente ofrece un atractivo paradigma para el estudio del tipo de interacción entre genética y medio ambiente, que puede ser crucial en el entendimiento de la patogénesis del asma. En la mayoría de los vertebrados, el sistema inmune tiene receptores exquisitamente sensibles a la endotoxina. Este sistema se centra en el CD14, que se halla presente tanto en circulación (sCD14) como en la superficie de macrófagos y de células mononucleares (mCD14). Aquellos animales que poseen bloqueada la expresión génica de CD14, se vuelven insensibles a la endotoxina al punto de ser resistentes a dosis masivas de la misma, las cuales usualmente provocarían el 100% de la muerte en las cepas salvajes (68). Martínez y Holt postularon que si la exposición a la endotoxina es un factor importante en la protección contra la sensibilización a alérgenos, una variante genética en el gen del CD14, podría tener implicancia en la modulación de la respuesta inmune (69)

Se realizó una búsqueda de polimorfismos en el gen del CD14, localizado en el cromosoma 5q, cerca del gen de IL-13 y muy cerca también de marcadores relacionados con los niveles plasmáticos de Ig E. Baldini y colab., demostraron que una variación (T alelo) del polimorfismo se halla asociada con mayor nivel de CD14, disminución de los niveles de Ig E sérica y un mayor número de test cutáneos positivos a aeroalérgenos en pacientes atópicos (70,71). Si bien otros dos grupos de investigadores confirman estos resultados, no todos alcanzaron las mismas conclusiones. Esto no es sorprendente ya que, como se explicó anteriormente, la expresión de determinantes genéticos y medio-ambientales de enfermedades complejas, depende del contexto en el cual se desarrollan las mismas.

INFLAMACION

El cambio de concepto en la fisiopatología y/o patogenia del asma, considerada primariamente como una enfermedad contráctil del músculo liso de la vía aérea, a una enfermedad generada por complejas interacciones entre mediadores inflamatorios y células efectoras, se arribó por múltiples y reiteradas observaciones de estudios histopatológicos de biopsias de pacientes con asma moderada y en aquellos asintomáticos; de pacientes fallecidos por asma severa y por la determinación de citoquinas y quimioquinas en el fluido del lavado broncoalveolar (BAL).

Se ha observado, desde tiempo atrás, evidencias de inflamación en autopsias de pacientes fallecidos por asma severa (72). Los hallazgos histopatológicos incluían: hipertrofia del músculo liso, “enfermedad de la membrana basal”, deposición de tapones mucosos en los bronquiólos terminales con hiperplasia glandular y la presencia de células inflamatorias en la lámina propia de múltiples estirpes, a predominio de eosinófilos (73).

Por lo antedicho, se concluyó que la inflamación representa el evento terminal en la progresión de la enfermedad. Actualmente, el método de fibrobroncoscopia óptica, nos permite observar que la inflamación no se halla restringida sólo al estadio severo de la enfermedad. Diversos investigadores hallaron los cambios antes descritos en biopsias de pacientes leves, que incluían denudamiento de la membrana epitelial, aumento de la deposición de colágeno debajo de la membrana basal e infiltración por células inflamatorias (74,75). Además de ser una característica importante en el asma, la inflamación puede contribuir al grado de HRB, de injuria crónica de la vía aérea y a la alteración de la función pulmonar.

Para comprender su verdadero impacto sobre la enfermedad, tanto en relación a su historia natural como a su patrón clínico, es importante destacar que la respuesta inflamatoria consta de diferentes fases. Para su mejor estudio se divide en tres etapas:

- 1- Aguda
- 2- Crónica
- 3- Remodelado de la vía aérea

La etapa aguda se inicia habitualmente asociado a la exposición y/o desafío alérgico, con activación de células residentes de la vía aérea y la inmediata liberación de mediadores, que llevan a la broncoconstricción y al edema, con la disminución del flujo aéreo. La intervención terapéutica resuelve la signo-sintomatología.

En la progresión hacia la etapa crónica, mayor cantidad de células son reclutadas y activadas iniciando así el daño tisular. Este proceso es perpetuado por modificaciones del micro-ambiente de la vía aérea, a través de la generación de citoquinas, quimioquinas y mediadores inflamatorios. Intervenciones terapéuticas tempranas, en las primeras fases de la inflamación crónica, podrían resolver los cambios descritos.

Actualmente se conoce que la remodelación de la vía aérea es muy importante en la patogenia del asma. La pérdida de función pulmonar puede ocurrir en las fases tempranas de la enfermedad. En esta etapa, a la injuria del epitelio, se asocia el probable depósito de productos del colágeno en la matriz extracelular.

Diversos estímulos pueden causar exacerbaciones del asma. Estos se dividen en *inductores* y *provocadores*. Los últimos causan un aumento temporario de los síntomas pero no modifica la inflamación subyacente. Por el contrario, los inductores, no solo aumentan los síntomas sino que incrementan la inflamación subyacente, causando mayor severidad en la enfermedad. Ejemplos de inductores son: alérgenos, infecciones por virus respiratorios, agentes ocupacionales. Entre los estímulos provocadores se hallan, el ejercicio, irritantes como el humo del cigarrillo y AINES como la aspirina (76).

CARACTERISTICAS DE LA RESPUESTA ALERGICA

Luego de la exposición alérgica, los individuos asmáticos, experimentan una obstrucción bronquial, que aparece en pocos minutos, con un máximo entre 20 y 30 minutos. Es debida a la liberación de mediadores por los mastocitos y su acción sobre el músculo liso bronquial.

La acción local de dichos mediadores sobre nervios y vasos sanguíneos cercanos al sitio de la injuria, amplifican la obstrucción aguda, provocando vasodilatación y estimulación de terminales nerviosas. En algunos casos esta reacción termina pronto con la caída en la concentración de los mediadores; pero en muchos otros, aparece una segunda fase de obstrucción- fase asmática tardía-, que ocurre entre 4 a 10 horas más tarde. Esta parece ser el resultado de la generación de citoquinas y quimioquinas específicas que promoverían el reclutamiento de células inflamatorias al sitio de la injuria, activación de células residentes de la vía aérea, mayor expresión de moléculas de adhesión sobre las células epiteliales que actúan como barrera selectiva del egreso celular (77).

El infiltrado hallado en la mucosa y en la matriz extracelular bronquial es pluricelular e incluye neutrófilos, monocitos, eosinófilos y linfocitos (fenotipo CD4 predominante), con la liberación de un perfil de citoquinas Th2(21).La activación de estas células y la liberación de mediadores preformados y otros sintetizados “de novo”, aumentan la HRB (78). Como resultado de esta reacción inicial, o bien, por estímulo antigénico repetido, el proceso agudo se torna persistente y se instala un patrón de inflamación crónica. En este punto se inicia la “reparación” de la vía aérea, concepto de “remodelación”, regulado por polipéptidos llamados factores de crecimiento, liberados por células de los tejidos afectados, como los fibroblastos (79), que tienen acción pro-fibrótica provocando aumento de la matriz extracelular y acumulación de colágeno, elastina, tenascina y fibronectina depositados debajo de la membrana basal. Esto conlleva a la pérdida de la distensibilidad del parénquima pulmonar; la presencia de cicatrices la rigidez de la pared y en conjunto a la pérdida de la capacidad pulmonar.

MEDIADORES DE LA INFLAMACION

MEDIADORES CELULARES

MASTOCITOS

Los mastocitos son células derivadas de la médula ósea, con un tamaño de 9 a 12 micras, con un núcleo generalmente redondeado y cromatina nuclear condensada; presenta ocasionalmente cuerpos lipoides, carentes de membrana y una cantidad heterogénea de gránulos específicos y abundantes prolongaciones citoplasmáticas en la superficie de la membrana.

Morfología de dos basófilos en sangre periférica (frotis)

Por tener su origen en células pluripotenciales, posee un marcador CD34+ (24); un receptor (Kit +) para el factor de crecimiento de dichas células (SCF), que protege al mastocito de mecanismos apoptóticos. Los progenitores de estas células migran a las superficies mucosas, donde se convierten en mastocitos maduros ricos en triptasa (MCt) bajo la acción de IL-4, o migran a la piel y las serosas donde completan su maduración bajo la acción de citoquinas producidas por el fibroblasto, y dan origen a un mastocito rico en triptasa y quimasa (MCtc).

El factor de crecimiento (SCF) es producido por las células del estroma de la médula ósea y por fibroblastos y células endoteliales. Expresa además numerosos receptores de membrana para C3a y C5a, Ig G (Fc γ R1), para citoquinas (IL-3R, IL-4R, IL-5R, IL-9R, IL-10R, GM-CSF) y quimioquinas (CCR3, CCR5, CXR2, CXR4 (80).

En la actualidad se describen dos fenotipos de mastocitos que pueden ser identificados por técnicas de inmunohistoquímica, con anticuerpos monoclonales contra triptasa, quimasa o carboxipeptidasa.

Los *mastocitos MCt* son timo-dependientes para su maduración; se encuentran especialmente en la mucosa del aparato respiratorio y del intestino delgado; su proteasa característica que le sirve de marcador es la *triptasa*.

Los *mastocitos MCtc* de la piel y del tejido conjuntivo son timo-independientes; sus gránulos poseen un alto contenido de histamina y sus marcadores de proteasa son: la *quimasa* y la *carboxipeptidasa*; también contiene triptasa.

Desde el punto de vista bioquímico, la activación del mastocito, luego de la unión al Fc ϵ R1, desencadena señales de distinta naturaleza:

- a) *Señales de transducción*: por activación de proteasa estrechamente ligada a los receptores, y la activación de metil-transferasas de fosfolípidos que generan fosfatidil-colina (81).
- b) *Fosforilación de proteínas celulares*: realizadas por la tirosin-protein-cinasa (PTK), familia de proteínas asociadas a la superficie interna de la membrana plasmática, dependiente de cAMP y de GMP y Ca⁺⁺. Las más importantes son

la P56, proteína Lyn, asociada a la porción carboxi-terminal de FcεRI(), y laP72, proteína Syk asociada a la cadena gama (82)

Los sustratos sobre los que actúan las PTK son:1) el receptor de Ig E, es rápidamente fosforilado en sus cadenas beta y gama a través de ITAM (motivos de activación de tirosina del inmunorreceptor), iniciando múltiples vías de señalización que incluyen activación de fosfolipasas (FL), proteínas G y movilización de calcio. 2) fosfolipasa C (PLC), activadas por proteínas Syk, actúa sobre el fosfatidil 4-5 inositol generando inositol trifosfato (IP3) y diacil-glicerol (DAG (83) que actúan como segundos mensajeros; 3) señales de traslación y amplificación: ejecutadas por los segundos mensajeros: el IP3 aumenta la concentración de calcio de 10 a 100 veces por la apertura de los canales de la membrana. El DAG activa la PKC y la fosfolipasa A (FLA). Esta última genera ácido araquidónico (AA) a partir de la fosfatidil-colina. El AA es el sustrato obligado para la síntesis de prostaglandinas (PGs) y leucotrienos (LTs). La PKC activada por la fosfolipasa y el DAG fosforila proteínas de la cadena gama del receptor de Ig E (84).

El aumento de la concentración de calcio intracelular produce cambios en numerosas enzimas. Este ión ejerce su acción a través de una proteína ligadora de calcio, *calmodulina*, que posee receptores de alta afinidad para el mismo, formando un complejo capaz de interactuar con las PKs.

Mediadores preformados

La *histamina* es la sustancia fundamental implicada en la fase rápida de la respuesta alérgica; la duración de su efecto es muy corta, 1 ó 2 minutos en la circulación. Constituye entre el 5% y 10% del peso total del gránulo; su concentración plasmática es de 0,2 a 0,4 ng/ml. Sus principales acciones son: la contracción del músculo bronquial, el aumento de la permeabilidad capilar, la vasodilatación de pequeñas vénulas y arteriolas terminales, de vénulas postcapilares, con contracción de células endoteliales, que facilitan la salida de inmunoglobulinas y de células inflamatorias hacia los sitios de inflamación. Tiene acción angiogénica, por lo que es fundamental en la reparación de capilares y en el control de la microcirculación. En la periferia, la histamina tiene acción sobre casi todas las células del organismo por medio de receptores de membrana presentes en las mismas: receptores H1, H2, H3 H4 (85)

Las *proteasas neutras* constituyen la mayor parte de la proteína existente en los gránulos secretorios de los mastocitos humanos; las más importantes son: la *triptasa*, la *quimasa*, la *carbopeptidasa* y la *catepsina G*.

La tripsasa es almacenada en estrecha asociación a los grupos sulfatos de la heparina y el condroitín-sulfato, que parecen ser esenciales para mantener su actividad. Los mastocitos contienen 12 pg de esta proteasa, principalmente en los MCt. Pueden clivar componentes de la matriz tisular como el colágeno tipo IV y VI y la fibronectina; tiene capacidad de clivar el C3, generando anafilotoxinas; parece metabolizar el neuropéptido VIP y, al no tener acción sobre la sustancia P (SP), podría generar un desequilibrio en estos péptidos que favorecía la broncoconstricción (86).

Durante la reacción alérgica clásica, el antígeno unido a la Ig E a través del receptor de alta afinidad, estimula la degranulación del mastocito y la liberación de sus mediadores inflamatorios: histamina, serotonina y sustancias proinflamatorias como PAF, leucotrienos y otros (87). Muchos de éstos tienen profundos efectos sobre la expresión de moléculas de adhesión y reclutamiento de leucocitos *in vivo*. Una fuente alternativa de estos mediadores o de otros semejantes son las *plaquetas*. Estas son células enucleadas que contienen α y δ gránulos, que bajo estimulación, liberan una variedad de mediadores capaces de inducir permeabilidad vascular y reclutamiento celular (88).

Numerosos estudios han ayudado a delinear el rol de los mastocitos en el asma atópica y a definir su contribución celular a los eventos de la fase aguda y crónica después del desafío alérgico.

Los niveles de tripsasa en el lavado broncoalveolar (BAL) de sujetos asmáticos atópicos, se hallan elevados de base lo que sugiere la participación prolongada de los mastocitos con la liberación de sus mediadores, en asma crónica o persistente. Los niveles de tripsasa e histamina vuelven a los valores basales a las 48 hs, después del desafío alérgico; si persisten elevados luego de las 48 hs, se piensa que los basófilos los mantienen en esta etapa (89).

Ciertas prostaglandinas (PG D2) y leucotrienos (LT C4) también aumentan en la respuesta alérgica temprana.

Denice y colab., demostraron que la depleción de plaquetas circulantes, prevenía la fase tardía del reclutamiento leucocitario y demostraron que las plaquetas también liberan factores quimiotácticos. Uno de esos factores podría ser el PAF, que previamente se lo halló involucrado en la adhesión leucocitaria en vénulas mesentéricas de ratas, inducida por ovoalbúmina (OVA) (90).

Las plaquetas humanas expresan receptores de alta afinidad para la Ig E y pueden tener acciones sinérgicas en las reacciones clínicas de la hipersensibilidad. En el músculo esquelético juegan un rol compensatorio en el desarrollo de la respuesta alérgica inmediata, en ausencia de células mastoideas. El nivel de participación de las plaquetas depende del lecho vascular estudiado, ya que interacciona con el endotelio pero no en todos los tejidos; este hecho no se observa en la microvasculatura dérmica.

Christian Taube y colab., utilizaron un protocolo de desafío alérgico repetitivo con OVA, sin el uso de adyuvantes, durante 10 días, para caracterizar el rol de los mastocitos y su receptor de alta afinidad para la Ig E en el desarrollo de HRB, en cepas

de ratas deficientes de mastocitos unas, y otras deficientes de receptor. En este modelo la exposición alérgica lleva a la disfunción del receptor 2 muscarínico con aumento de la liberación de acetilcolina luego de la estimulación con campo eléctrico. Luego de la exclusiva exposición al agente aerosolizado, la Ig E alérgeno-específica y la Ig G1, se hallaron aumentadas en el suero de las ratas expuestas, siendo esencial la presencia de células B, para el desarrollo de la HRB. Luego de desafíos repetidos de la vía aérea, las ratas deficientes en mastocitos y en receptores, no pudieron desarrollar reactividad aumentada a la estimulación con campo eléctrico. La respuesta podría ser reconstituída transfiriendo suficientes mastocitos/receptores antes del desafío alérgico. Otro hallazgo significativo en las ratas deficientes de receptores de alta afinidad, fueron los niveles bajos de IL-13, en relación a las cepas salvajes expuestas, control.

La alteración de la función de la vía aérea y la hiperplasia de células mucosas, se hallan estrechamente ligadas a la expresión de IL-13 en el pulmón. Esta IL puede actuar directamente sobre las células epiteliales e inducir hiperplasia de las células mucosas e HRB. En este trabajo, demostraron el papel fundamental de los receptores de alta afinidad para Ig E en los mastocitos, los cuales ejercen sus efectos mediante la regulación de la producción de IL-13, en el desarrollo de la enfermedad de la vía aérea, luego de la exposición alérgica pulmonar, en ausencia de adyuvante (91).

Los mastocitos elaboran también su propio perfil de citoquinas como IL-3, IL-4, IL-5, TNF- α e IFN- γ . La producción de IL-4 tiene particular importancia en la conversión de células T *naive* (Th0), hacia el fenotipo Th2. Esta respuesta es fundamental para establecer el perfil Th2 en la inflamación alérgica de la vía aérea y la infiltración eosinofílica. La IL-13 favorece el crecimiento y desarrollo de los mastocitos a partir de progenitores de la médula ósea, acción potenciada por la IL-4 (92).

La producción de Ig E alérgeno-específica, en individuos alérgicos, probablemente dependa de las citoquinas liberadas por la cooperación de linfocitos T-B (93). Las citoquinas derivadas de las células T, pueden tener diferentes efectos sobre la producción de Ig E, y la cantidad sintetizada, está en relación a la cantidad de IL-4 liberada. Otras citoquinas como el factor de crecimiento de células B (BCGF) y la IL-2 pueden aumentar la producción de Ig E probablemente a través de mecanismos no específicos, como la proliferación de células B. Otras linfocinas como la IL-6, proveen señales adicionales para el aumento de la síntesis de Ig E (94).

La Ig E específica de antígeno juega un rol fundamental en los desórdenes alérgicos. Esta respuesta Ig E, usualmente es acompañada por la producción de IgG4, que no tiene acción sensibilizante, sino por el contrario, puede ser protectora. La inducción del cambio de isotipo a Ig E, requiere de dos señales. La primera dada por la IL-4 o IL-13 (95). La segunda, provista por el gatillado de CD 40/CD 40L, expresada en la membrana celular de diferentes tipos celulares, que incluyen células T activadas, que inducen la expresión de codones para la transcripción de Ig E (96,97).

La producción de Ig E es regulada por segundas señales provistas por mediadores solubles o por contacto directo de células T-B. Citoquinas como IL-2, IL-5, IL-6, IL-9 y

TNF- α , algunas quimioquinas, histamina y la unión de moléculas accesorias a linfocitos B (CD21, CD54, CD58, CD44 y CD86), aumentan la producción de IgG₄ (98).

Inversamente las PG E₂, IFN γ , IFN α , y TGF- β , disminuyen la producción (99,100).

Jeannin y colab., demostraron que las señales reconocidas para el switch de Ig E, también controlan la producción de IgG₄, siendo reguladas por mecanismos comunes, a través de la IL-10, con efectos opuestos sobre las mencionadas moléculas, según la naturaleza del estímulo.

La IL-10 es una linfoquina producida por numerosos tipos celulares que incluyen a las células T, mastocitos y macrófagos. También actúa sobre las células B activadas.

La IL-4 es un potente factor de crecimiento para los mastocitos (101) y se observó que induce la expresión del Fc ϵ R1 en dichas células humanas en desarrollo. La IL-10 ha sido considerada desde siempre, como una citoquina supresora, por su habilidad de inhibir la producción de otras citoquinas. Al igual que la IL-4, es producida por los mastocitos en cultivos (102). Recientemente hallaron que la IL-10 es un potente inhibidor de la expresión y función del Fc ϵ R1, efecto que está amplificado por la IL-4. Juntas estas interleuquinas pueden limitar la función del mastocito e inducir su apoptosis (103).

En presencia de IL-4, los macrófagos alveolares, producen un aumento de citoquinas inflamatorias como TNF α . El mecanismo por el cual lo realizan, aún no está definido. Una posibilidad podría ser a través de la modulación del receptor de baja afinidad para la Ig E (Fc ϵ R2) o CD 23. La estimulación de los Fc ϵ R2 en los monocitos, lleva a la expresión de citoquinas inflamatorias. En pacientes asmáticos, se observa un aumento de la expresión de receptores CD 23, en macrófagos alveolares y células monocíticas, probablemente inducidos por la IL-4. El CD 23 se expresa en un 5% en monocitos de sangre periférica de sujetos no atópicos, 20% en monocitos de SP de sujetos atópicos leves y en un 80% en monocitos de SP en atópicos severos, por lo que se deduce que la expresión incrementada guarda relación con la severidad de la enfermedad (104).

Las proteínas del shock térmico (HSPs), en particular la HSP 70, se halla aumentada en el BAL de pacientes asmáticos, como así también en monocitos de sangre periférica (105). La sobreexpresión de HSP 70 en el asma resulta de una variedad compleja de interacciones, entre el microambiente y antecedentes genéticos (106).

El mecanismo por el que favorece la inflamación en el asma no está definido pero una explicación podría ser el aumento de la expresión de CD 23 (107). Se conocen la gran variedad de efectos de la IL-4 que incluyen la estimulación de la expresión de los receptores Fc ϵ R en los mastocitos e inhibición de la producción de citoquinas como TNF- α , IL-1 e IL-6 (108,109). Los macrófagos alveolares de pacientes asmáticos, se hallan activados y producen cantidades aumentadas de CTQs inflamatorias como IL-6, IL-1, IL-8 y TNF- α , tanto en reposo como estimuladas por endotoxina (110,111).

La presencia de IL4 o IL-13 estimuladas por IFN γ no sólo aumenta la expresión del receptor CD 23, sino también la producción de TNF- α .

Se sabe que las HSPs estimulan los receptores inmunes. El aumento de la HSP 70 en el asma, puede deberse a la acción continua del TNF- α y al óxido nítrico, que estimulan su producción. La liberación extracelular de HSP 70 puede llevar a la estimulación continua de la respuesta inmune, vía regulación ascendente del CD 23 (112).

NEUTROFILOS

Los neutrófilos, también llamados leucocitos polimorfonucleares, tienen forma esférica de 12 a 15 micras de diámetro y un núcleo multilobulado. El citoplasma contiene gránulos de dos tipos; la mayoría son específicos y contienen lisozimas, colagenasa y elastasa, que se tiñen intensamente con los colorantes básicos, hecho que los diferencia de los basófilos y los eosinófilos. El resto de los gránulos se denominan azurófilos, siendo en realidad, lisosomas. Derivan de la célula madre en la médula ósea.

Morfología de un polimorfonuclear

El rol de los neutrófilos, en la patogenia de la inflamación en el asma, aún permanece incierto. En estudios recientes se ha comprobado, un número aumentado de neutrófilos en la vía aérea de pacientes con reagudizaciones tanto de origen infeccioso, (113,114) como no infeccioso, en el asma grave resistente a corticoides (115,116) y en caso de muerte por asma de instalación súbita (117). Probablemente contribuya a la patogenia de la enfermedad a través de la producción de mediadores lipídicos, productos intermedios del oxígeno y proteasa (118). Cl. NA p894

Aún en modelos de exposición antigénica, donde predominan los eosinófilos, los neutrófilos son reclutados por la vía respiratoria antes que los eosinófilos y representan las células predominantes en las primeras 6 horas (119,120). El leucotrieno B₄, la IL-8, el GM-CSF y el TNF- α atraen y activan los neutrófilos y reducen su apoptosis. Curiosamente, el número de neutrófilos, que aparecen seis horas después de la exposición alérgica local se corresponde con la cantidad de IL-8 en el líquido del BAL (121,122) por lo que esta citoquina desempeña un papel relevante en el reclutamiento de los neutrófilos. Paradójicamente, el tratamiento corticoide, sumamente útil para disminuir el número de eosinófilos, aumenta la actividad y el número de neutrófilos, al suprimir su apoptosis (123).

Los neutrófilos pueden causar estrechamiento de la vía aérea, secundario a la hipersecreción de moco por la producción de mediadores como la elastasa neutrofílica o directamente a través de la interacción neutrófilo/célula caliciforme, actuando en la activación del epitelio. Esto lleva al desencadenamiento de eventos de injuria crónica, por la liberación de citoquinas pro-fibróticas (124), pudiendo además activar a los eosinófilos (125).

LINFOCITOS

Los linfocitos son células derivadas de las precursoras pluripotenciales de la médula ósea, que luego de su maduración penetran en los tejidos linfoides periféricos. Morfológicamente los linfocitos no estimulados o vírgenes son pequeños, de 8 a 10 micras de diámetro con un núcleo de cromatina densa. Luego de la estimulación antigénica, aumentan su tamaño a 10, 12 micras, poseen más citoplasma con organelas y mayor cantidad de ARN citoplasmático. De acuerdo al lugar donde se produce su maduración, se denominan, linfocitos T (LT)- timo y linfocitos B (LB)- médula ósea. Los LT juegan un papel relevante en la generación, regulación y persistencia de la inflamación en la vía aérea. De acuerdo a sus marcadores de superficie, se dividen en LT CD4+ o linfocitos colaboradores (helper), y en LT CD8+ o citotóxicos.

Morfología de un linfocito granular grande

Morfología de un linfocito pequeño

Dentro de los LT CD4+, existen dos subtipos: Tipo 1 (Th1) y Tipo 2 (Th2). Los LTh1 se desarrollan en respuesta a infecciones virales y bacterias intracelulares y los LTh2 en respuesta a infestaciones parasitarias (126).

Las citoquinas producidas por los LTh1 son el IFN γ , IL-2, y TNF, promoviendo la opsonización y la fijación de complemento por las células B, la activación de macrófagos y la citotoxicidad celular.

Los LTh2 producen diversas citoquinas como IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13, que evocan una respuesta de anticuerpos, incluyendo a la Ig E, diferenciación y activación eosinofílica, inhibiendo varias funciones de las células fagocíticas, por lo que genera una inflamación independiente de los fagocitos.

Los patrones de citoquinas Th1 y Th2 no son los únicos posibles. Las células T que expresan citoquinas de ambos perfiles, se denominan Tipo 0 (Th0). Ambas subclases de LTs, producen citoquinas tales como GM-CSF, e IL-3. (127).

Factores genéticos y medioambientales juegan un rol determinante en el desarrollo del perfil de citoquinas al momento de la presentación antigénica a las células Th0. Entre los factores medioambientales conocidos, se encuentran: la ruta de entrada del antígeno, la forma física del inmunógeno, el tipo de adyuvante y la dosis del antígeno. Los factores genéticos, aún faltan dilucidar (128). Juntos influyen la diferenciación Th1/Th2 regulando, 1) factores dependientes del contacto, como la unión al receptor de la célula T (TCR) (129), y las señales liberadas por moléculas coestimuladoras (130); 2) el predominio de una citoquina dada en el microambiente de la célula naive (no imprimada) estimulada.

Generalmente, se acepta, que la expresión temprana de IL-4, durante una respuesta inmune, es crítica en la determinación del desarrollo de las células Th2. La unión de la IL-4 a su receptor, resulta en la fosforilación selectiva de la STAT-6 (transducción de señales) (131).

Se han identificado subpoblaciones de células TCD8 (Tc), que secretan citoquinas diferentes, similar a las subpoblaciones de LTs, designándose como Tc1 y Tc2 (132). La presencia de IL-4 favorece la diferenciación de las células CD8, in vitro, hacia la respuesta inmune, tipo Th2, con la producción de IL-4, IL-5 y la supresión de la producción de IFN- γ (133).

A diferencia del papel bien definido de la subpoblación TCD4, el rol de las células TCD8, en la regulación del asma, permanece sin aclarar.

En un trabajo, Lee y colab., obtuvieron mediciones simultáneas en el BAL de pacientes asmáticos y en sangre periférica, en una crisis aguda de asma. Ellos observaron, que los pacientes que sufrían una crisis moderada, tenían un porcentaje aumentado de L TCD8, en relación a los controles. Teniendo en cuenta que los LTCD8 son la mayor fuente de producción de IFN- γ (un factor regulador del asma), dicho

aumento podría ser un mecanismo fisiológico de prevención de la sobre-estimulación de los LTh2, durante las crisis de asma (134).

Contrariamente a su rol protector, otro grupo de investigación, demostró que las células TCD8 en ratas, tienen un papel crucial en el desarrollo de la HRB. Los antígenos exógenos pueden primariamente interactuar con las células CD4, pero existe la posibilidad de que dichos antígenos accedan al procesamiento a través del MCH tipo I (Complejo Mayor de Histocompatibilidad), con la consecuente presentación a los LT CD8 (135). Es interesante la diferencia de distribución de esta subpoblación entre la sangre periférica y la vía aérea de pacientes asmáticos, con mayor secuestro de LT CD8 en la vía aérea.

Se confirmó la habilidad de sintetizar IL-13 de los LT CD8 del pulmón, mediante tinción intracitoplasmática.

Esta capacidad había sido previamente reportada en clones de células T humanas específicas para EBV (Virus de Epstein Baar), y más recientemente en pacientes con dermatitis atópica (136). En esta patología las células T responden a un Superantígeno y producen tanto IL-13 como IL-5. Los resultados obtenidos sugieren, que se necesitan las células TCD8 primadas por el antígeno, para el desarrollo pleno de la HRB, e inflamación de la vía aérea, probablemente asociado a la producción de IL-13 por parte de las células T primadas (137).

MACROFAGOS

Los macrófagos son células residentes del, pulmón y las vías aéreas, que se hallan presentes en gran número en muestras de BAL y de tejidos de sujetos asmáticos, y poseen un rol importante como defensa del huésped. Actúan como células presentadoras de antígenos (CPA), interactuando con LTs, estimulando su proliferación y secreción de citoquinas (138). Liberan múltiples mediadores, citoquinas, entre ellas(IL-1, IL-6, IL-8, GM-CSF, TNF- α), mediadores lipídicos (TXA2, PGs, LTs, reactivos intermedios del O2, enzimas lisosomales, PAF, y factor liberador de histamina)(HRF).

En su superficie expresan receptores de baja afinidad para Ig E (139). Estos se hallan aumentados en pacientes con asma atópico.

Hay evidencia que los macrófagos de pacientes asmáticos, tienen una mayor capacidad inflamatoria.

Otra citoquina liberada por los macrófagos, es la IL-10, que puede regular en forma descendente, la producción de citoquinas Th2.

EOSINOFILOS

Los eosinófilos son granulocitos derivados de la médula ósea que abundan en los infiltrados inflamatorios de la fase tardía y contribuyen a muchos de los procesos patológicos de las enfermedades alérgicas. Tras su maduración pasan a la circulación. Miden aproximadamente entre 10 a 15 micras y contienen gránulos que se unen a colorantes ácidos como la eosina. El GM-CSF, la IL-3 y la IL-5 inducen la diferenciación de los eosinófilos a partir de los precursores mieloides.

Morfología del eosinófilo en sangre periférica

Están presentes normalmente en los tejidos periféricos, en especial en los revestimientos mucosos de los aparatos respiratorio, digestivo y genitourinario. Los gránulos contienen hidrolasas lisosómicas presentes en otros granulocitos y proteínas específicas como la proteína básica mayor (MBP) y la proteína catiónica del eosinófilo (ECP). Estos se hallan como mediadores preformados dentro de los gránulos junto con enzimas como peroxidasas, hidrolasas lisosómicas y lisofosfolipasas. Dentro de los mediadores lipídicos principales producidos tras la activación se halla el leucotrieno C₄ y dentro de las citoquinas la IL-4 y la IL-13. Todos estos mediadores contribuyen a la inflamación de la vía aérea (140)

La presencia de eosinofilia en los tejidos ha sido utilizada como un parámetro de la inflamación de tipo Th₂. Numerosos ejemplos en modelos animales, muestran una marcada eosinofilia pulmonar inducida por alérgeno, sumado a un aumento de la producción de moco y generación de citoquinas Th₂ (141).

El broncoespasmo y la HRB son inducidas tanto *in vivo* como *in Vitro* por la MBP (142,143). La mayoría de los modelos de provocación alérgica correlacionan la presencia de eosinofilia en la vía aérea con marcadores de enfermedad (144). La deposición de MBP en la vía aérea de asmáticos en muestras de biopsias y la habilidad de la peroxidasa y de la MBP para dañar el epitelio *in Vitro*, implica a los productos de la degranulación eosinófila en la patogénesis del asma (145)

El conocimiento de los marcadores de superficie se ha expandido notablemente en la última década. Los eosinófilos expresan numerosas moléculas de adhesión, receptores para citoquinas, quimioattractantes, e Igs.; miembros de la familia de las Igs.; y otras estructuras de transmembranas.

Ejemplos de estructuras de superficie recientemente identificadas incluyen moléculas co-estimuladoras CD 28 y CD 86 (146) la estructura pro-apoptótica lectina 8 símil, Ig unida al ácido siálico (Siglec-8) (147) el receptor de prostaglandina D2 CRTH2, (148) y varios miembros de la familia de receptores símil Igs de activación e inhibición de leucocitos (LIR 1, 2, 3 y 7) (149). Sin embargo ninguno de los mencionados se expresa únicamente en la superficie de los eosinófilos. Estos tienen un patrón de superficie que se asemeja más al basófilo que al neutrófilo.

Un amplio rango de moléculas han sido identificadas como quimioattractantes de eosinófilos pero sólo la subfamilia de la eotaxina (eotaxina 1,2 y 3) son selectivas para la quimiotaxis de los eosinófilos por la activación de los receptores 3 de quimioquinas (150). La eotaxina-1 fue identificada primero en el fluido del lavado broncoalveolar de la vía aérea de un modelo animal, observándose como un factor importante en la regulación del "homing" de los eosinófilos y un co-factor crítico en la inducción de eosinofilia por la IL-5 (151).

La identificación de las secuencias de nucleótidos y la posición cromosomal de los genes de la eotaxina, muestran que la Eotaxina-2 y -3 tienen entre un 30% a 40% de secuencias idénticas con la eotaxina-1 y están localizadas en el cromosoma humano 7q11.23, mientras que la eotaxina-1 está posicionada en 17q21.1 (152).

Las tres quimioquinas tienen funciones biológicas comunes. Tanto la eotaxina-1 como la eotaxina-2 inducen la suprarregulación de integrinas y modulan el estallido respiratorio en los eosinófilos. Además la producción de ambas es regulada por traductores de señal y activadores de la transcripción STAT 6 (153).

La inhibición de la actividad de la eotaxina-1 por anticuerpos neutralizantes, disminuye pero no inhibe totalmente la acumulación de los eosinófilos en el pulmón de los cobayos alérgicos (154).

Estudios clínicos sugieren que existe una utilización diferencial de la eotaxina-1 y -2 en el reclutamiento en los tejidos alérgicos (155). La eotaxina-1 está constitutivamente expresada en el timo, pulmón y en toda la extensión del aparato gastrointestinal (156). En contraste, la eotaxina-2 está primariamente expresada en el bazo y en el yeyuno. La expresión de eotaxinas-1 y-2 en el pulmón inducida por la IL-4 depende de la expresión de STAT-6 (157). La IL-4 también estimula la expresión de eotaxina-3 por las células endoteliales de la vena umbilical en humanos. Yang y colab., demostraron que la eotaxina-2 actúa como un importante cofactor junto a la IL-5 en la regulación de la eosinofilia pulmonar. Proponen, que una vez reclutados en el pulmón, los eosinófilos se convierten en una fuente de IL-13, induciendo a la HRB a través de la cadena alfa del receptor de IL-4 y de la STAT-6 (158)

Estudios en cobayos (159) y en humanos demostraron que a pesar de que el número de eosinófilos en sangre, fluido de BAL y médula ósea se redujeron entre el 70% y el 80% o más en cobayos deplecionados de IL-5 por tratamiento con anti-IL-5 por tres meses, los niveles de eosinófilos en el pulmón o en muestras de biopsia bronquial, sólo redujeron un 50%. Los niveles de proteína catiónica permanecieron invariables. En modelos de cobayos se observó que sólo en aquellos cobayos deplecionados de IL-5 y eotaxina se logró eliminar totalmente la eosinofilia y la HRB. Además parece que los eosinófilos humanos al entrar en la luz de la vía aérea, pierden sus receptores de superficie para IL-5, a la vez que exponen un elevado nivel de receptores para otra citoquina activadora: GM-CSF (160). Estudios *in Vitro* sugieren que la expresión en superficie de los receptores para IL-5 sufren regulación en menos a la exposición de citoquinas activadoras como IL-5 y GM-CSF (161). Esto último parece indicar que las estrategias focalizadas sobre la IL-5 podrían ser inefectivas en el asma, no porque el eosinófilo sea un blanco pobre, sino porque existen caminos redundantes para mantener la acumulación y activación de los eosinófilos en el parénquima pulmonar (162). Tanto la inmunidad innata como la respuesta inmune Th1 son capaces de generar eosinofilia pulmonar en ausencia de respuesta Th2.

El receptor preferencialmente expresado en el eosinófilo es el receptor de la familia de las eotaxinas, CCR3. Otras moléculas involucradas en el tráfico celular, no exclusivamente expresadas, son: receptores para C3a y C5a (163), receptores para LTB4 y LTD4 (164), CD44 (165), y el receptor para histamina H4 (166).

Dentro de las moléculas involucradas en la apoptosis se hallan las Siglecs, recientemente designadas, que son una subpoblación de la superfamilia de las Igs (167). En sus dominios citoplasmáticos contienen múltiples residuos de tirosina, como los “motivo de inhibición del inmunorreceptor vía tirosina” (ITIMs). Otras moléculas que los contienen son las LIR, por lo que la activación a través de estas estructuras de superficie, podría regular en menos la actividad del eosinófilo (168).

Durante mucho tiempo la eosinofilia ha sido correlacionada con la severidad del asma y la HRB de la vía aérea (169). Cuando Leckie y colab. hallaron que la anti-IL-5 no protegía contra el aumento de la hiperreactividad bronquial inducida por alérgeno, el papel de los eosinófilos en el asma comenzó a ser seriamente cuestionado (170). Sin embargo hay evidencia que relaciona la eosinofilia con las exacerbaciones. Pacientes que han reducido el número de eosinófilos en el esputo mediante el riguroso ajuste de dosis de corticoides inhalados, han tenido escasas exacerbaciones asmáticas y hospitalizaciones (171).

El asma crónica está asociada con la remodelación de la vía aérea y una pérdida de función pulmonar en un subgrupo de pacientes. La fibrosis se halla facilitada por la diferenciación miofibroblástica y la subsecuente producción por parte de los eosinófilos de factores de remodelado tisular. Estudios recientes con mepolizumab (anti IL-5), mostraron una reducción de la matriz tisular como tenascina y pro-colágeno III en la vía aérea de los sujetos tratados,(172) sugiriendo un relación causal entre los eosinófilos y la remodelación de la vía aérea en el asma.

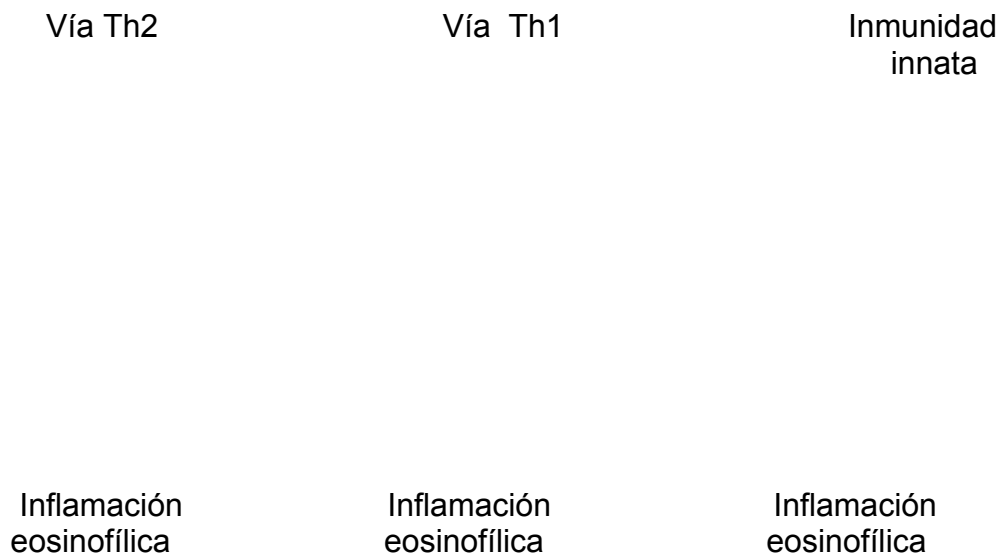
La acción tóxica de la MBP y de la neurotoxina derivada del eosinófilo sobre el epitelio ha sido ampliamente descrita con una buena correlación entre el depósito de los mediadores derivados del eosinófilo y el daño epitelial en pacientes asmáticos (173). Se sabe que la MBP es un antagonista de los receptores muscarínicos M2 en la vía aérea y por lo tanto podría contribuir al mecanismo neural de HRB (174). Los eosinófilos son la principal fuente de factores de remodelación tisular, como TGF- β , TGF- α , el factor de crecimiento epidermoideo unido a la heparina, factor de crecimiento β derivado de las plaquetas e IL-4 (175,176). La diferenciación miofibroblástica inducida por el eosinófilo es bloqueada por un anticuerpo antagonista del TGF- β , indicando un rol crucial de este factor de crecimiento en la remodelación de la vía aérea (177).

Los eosinófilos también interactúan con los linfocitos. Se los ha visto involucrados en la presentación antigénica, inmunomodulación y mantenimiento de la respuesta Th2. En modelos animales, son capaces de internalizar el antígeno y presentarlo bajo ciertas condiciones experimentales (178). Luego de la infusión intratraqueal de eosinófilos, se produce la migración de los mismos hacia el área paracortical de los ganglios linfáticos regionales (179), remediando a las células dendríticas. Este punto debe ser clarificado, si los eosinófilos pueden actuar como células presentadoras de antígenos en enfermedades alérgicas. Una explicación sería que el eosinófilo podría estar especializado en la presentación de antígenos parasitarios en una forma diferente a los antígenos comunes. Otra explicación es que las células dendríticas son las presentadoras iniciales de los alérgenos y antígenos parasitarios, pero la estimulación del sistema inmune por dichos antígenos en forma continua y sostenida en el tiempo, generaría un *switch* en la presentación antigénica, de las células dendríticas a los eosinófilos. Recientemente, se ha demostrado que la neurotoxina del eosinófilo es quimiotáctica para las células dendríticas (180) por lo que los eosinófilos podrían contribuir a la inflamación por el reclutamiento de las células dendríticas dentro de la vía aérea.

Los eosinófilos también producen una amplia variedad de citoquinas, (181) del tipo Th2 (IL-4, IL-5, IL-6 e IL-13), Th1 (IFN- γ , IL-12 ,GM-CSF), citoquinas no polarizantes IL-1, IL-2, IL-3, IL-16, TNF- α , GM-CSF, citoquinas

inmunomodulatorias (IL-10, IL-18) y quimioquinas (IL-8, RANTES, eotaxina, MIP-1 α) (182). Se sabe que la producción de IL-13 que es necesaria para mantener la inflamación alérgica, requiere de la presencia de eosinófilos en el medio (183). Las células Th2 provenientes de cobayos deficientes de IL-5 y eotaxina son capaces de producir IL-13. Los eosinófilos no son la fuente de IL-13 pero pueden producir IL-18, la cual es necesaria para la producción persistente de IL-13 por las células Th2.

Mecanismos de inflamación eosinofílica



Luego de las últimas revisiones, surge la pregunta ¿el papel y la contribución de los eosinófilos, son diferentes en enfermedades distintas? La observación más compleja en este nuevo paradigma es el vínculo emergente entre la sensibilización respiratoria al alérgeno y la esofagitis eosinofílica, por lo menos en los animales. El reporte de Garret y colab. indica que algunos pacientes con Síndromes Hipereosinofílicos responden a la IL-5, con la posibilidad de que diferentes órganos, ejemplo, esófago versus vía aérea puedan estar afectados por los eosinófilos y regulados por la IL-5, en distinta forma.(184).

Rol Putativo del Eosinófilo en el Asma

En cuanto a las señales de transducción, la mejor estudiada, son los receptores de citoquinas de la superficie para GM-CSF, IL-13 e IL-5. Estos receptores comprenden una cadena común β (β_c) unida no covalentemente a una cadena α específica de citoquina. La transducción de la señal es mediada predominantemente por la cadena β (185,186). Esta se halla constitutivamente asociada con la tirosina quinasa JAK2 a la región proximal del receptor (187). Se produce la fosforilación cruzada de diversos residuos de tirosina en la cadena β . junto con las JAKs, se activan las tirosinas quinasas de la familia SRC. Existen proteínas adaptadoras que no tienen actividad enzimática intrínseca, pero median la interacción específica entre la cadena β_c y una o más señales enzimáticas (187). Se incluyen como proteínas adaptadoras la Grb2 y Shc, que se unen a residuos de tirosina específicos en la β_c . Estas interacciones son esenciales para la activación de p21-ras/ERK, p38, JNK y las vías de PI3K/PKB (188). La combinación de los residuos de tirosina y las moléculas adaptadoras, proveen a la célula de un mecanismo de control para modular la señalización desde el receptor.

La fosforilación de diversos residuos de tirosina en la cadena β , también resulta en la activación de un dominio SH2 latente localizado en el citosol que contiene factores de transcripción llamados STAT (189) transductores de señal y activadores de transcripción. Tanto el STAT-1 como el STAT-5 pueden ser activadas por GM-CSF e IL-5 en los eosinófilos (190). Las proteínas STAT se traslocan al núcleo, donde activan la transcripción de genes. Esta vía de señalización provee a la célula de un mecanismo que combina la activación de los receptores de la superficie celular con la transcripción específica de genes. No toda la transducción de señales por estos receptores es mediada directamente por la tirosina quinasa y por la fosforilación de la tirosina de la cadena β . Trabajos recientes muestran señales de transducción independiente de la tirosina quinasa. Un ejemplo es la molécula RACK-1, asociada a la proteína quinasa activa.

Vía de transducción de señales en el eosinófilo humano iniciado por receptores de citoquinas y quimioquinas

De vital importancia para la homeostasis celular normal es la finalización de las señales intracelulares de transducción, llevadas a cabo por la activación de fosfatasa de tirosina y de fosfatasa de lípidos de membrana. La desfosforilación de los lípidos de membrana es una fuente de segundos mensajeros como PIP2 (191).

Dos tirosinas fosfatasa, denominadas SHP1 y SHP2 se hallaron asociadas a la cadena β después de la estimulación del receptor. Niveles elevados de SHP-1 *in vivo* resulta en una reducción de la fosforilación de la cadena β y en una reducción del crecimiento celular (192). Una segunda posibilidad es la inducción de genes que codifican proteínas “señuelos”. El miembro prototipo de la familia de SOCS (supresor de la señalización de citoquinas), es el CIS. El mecanismo de acción propuesto para esta molécula es la unión a los residuos fosforilados de tirosina en la cadena β , previniendo la unión y/o activación de los factores de transcripción STAT.

Si bien, el eosinófilo se ha vinculado con la patogénesis de la fase tardía de la inflamación alérgica, tanto en la vía aérea como en otros sistemas a través de la liberación de productos tóxicos y mediadores inflamatorios, en los últimos tiempos, se cuestiona el verdadero rol del eosinófilo en enfermedades como el asma, parasitosis, y síndrome hipereosinofílico. Hay evidencias recientes de que no sería el “verdadero” culpable en las citadas enfermedades. Hace falta más estudios para comprender “el camino de esta célula” en la fisiopatología de la enfermedad, para así emerger de la actual confusión (193)

CELULAS DENDRITICAS

Las células dendríticas (DCs) son las más potentes células presentadoras de antígenos (APCs) de las vías aéreas (194). Se hallan distribuidas a lo largo del organismo y actúan monitoreando la presencia de antígenos que presentarán a las células T (195). Las células dendríticas inmaduras captan y procesan antígenos activamente y migran hacia los nódulos linfáticos regionales, (al sitio de entrada del antígeno) donde aumentan su habilidad para estimular a las células T e iniciar respuestas inmunes variadas (196,197). Las DCs alterarán la polarización de las células Th con la producción de IL-12 y moléculas co-estimuladoras (198,199). Se demostró que existen DCs de origen linfocítico, mielocítico y plasmocitarias (200,201). Mediadores químicos como histamina, PGE2 y LTB4 pueden influenciar las funciones de las DCs (202,203).

Los cisteinil-leucotrienos LTC₄, LTD₄, y LTE₄ son sintetizados a partir del ácido araquidónico por activación de la 5-lipoxigenasa (5-LO) y la proteína activadora de la 5-LO (FLAP). Son mediadores primarios de la hipersensibilidad inmediata y se caracterizan por ser potentes broncoconstrictores y vasodilatadores (204,205). Son producidos por mastocitos, basófilos, eosinófilos y por las DCs (206,207). Las células de Langerhans, las APCs de la piel, utilizan los cisteinil-LTs para migrar de los sitios de inflamación hacia los nódulos linfáticos (208), pero aún se desconoce los efectos de los cisteinil-LTs sobre las funciones de las DCs de la vía aérea.

Machida y colab.,(209) demostraron los efectos inmunológicos de los cisteinil-LTs sobre el desarrollo y exacerbación del asma por modificación de la respuesta de las DCs de la vía aérea, hacia una de tipo Th2, en un modelo murino de asma .

CELULAS EPITELIALES

Actualmente el epitelio de la vía aérea es considerado mucho más que una simple barrera anatómica. El daño epitelial, es la principal característica del asma que puede observarse aún en los cuadros clínicos leves (210). Comienza con el inicio de la inflamación alérgica, pero luego genera una respuesta proliferativa con la consecuente remodelación, que cambia la estructura de la vía aérea.

Las células epiteliales (CEs), son también fuente de mediadores inflamatorios. Entre los factores derivados de las CEs, se hallan los mediadores lipídicos como PGEs, el ácido 5-HPETE y gran variedad de citoquinas como IL-1,IL-6 TGF- β , IL-11 y GM-CSF (211). La liberación de quimioquinas como IL-8, RANTES, y MIP-1 α , contribuyen al influjo celular de eosinófilos, neutrófilos, linfocitos y monocitos a la vía aérea, y determinan las interacciones con el epitelio.

Células epiteliales como fuente de mediadores

El papel del óxido nítrico (NO) sobre las funciones del epitelio es controvertido (212). Las células que lo producen en la vía aérea son: células epiteliales, eosinófilos, músculo liso, nervios sensoriales, células endoteliales y macrófagos. En sujetos normales, NO es sintetizado a bajas dosis en forma continua, siendo broncodilatador y vasodilatador, con efecto protector sobre la vía aérea. En asma, se hallan niveles elevados de NO (213). Este se sintetiza a partir de la arginina, por la enzima óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) bajo estimulación por citoquinas (214).

Estudios recientes indican que el NO exalado (eNO) puede informar acerca del estado asmático, siendo la primera técnica no invasiva capaz de brindar datos de importancia clínica en tiempo real, pudiéndose utilizar para la toma de decisiones terapéuticas aún en niños menores de 5 años. Se hallan niveles elevados en niños asmáticos en relación a los controles y tienen niveles más elevados los pacientes con asma y sensibilidad a aero-alérgenos (215, 216, 217). El tratamiento con corticoides orales o inhalados, disminuye el nivel de eNO tanto en niños con exacerbaciones agudas, como en aquellos con asma estable pero con síntomas persistentes. La sencillez del método de edición y su significativa correlación con otros marcadores de inflamación, sugieren que el eNO podría usarse para control de tratamiento y para ajuste de regímenes de medicación (218).

La apoptosis de los eosinófilos juega un rol crucial en el mantenimiento de la inflamación de la vía aérea en el asma. La actividad de la NOS (óxido nítrico sintetasa) se halla supra-regulada en los eosinófilos de pacientes asmáticos. La proteína-quinasa activada por mitógeno (MAPK) está implicada en la apoptosis de los eosinófilos, modulando la expresión de Bcl-2-la familia de proteínas Bcl-2 incluyen proteínas anti-apoptóticas como Bcl-2 y Bcl-x y proteínas pro-apoptóticas como Bax y Bak (219). Tanto el NO endógeno como el exógeno, induce apoptosis celular asociada a una inhibición de la expresión de Bcl-2 en líneas celulares megacariocíticas (220). Suh-Hwa y colab., demostraron que la supra-regulación de la Bcl-2 contribuye a la supervivencia de los eosinófilos en pacientes asmáticos. La expresión de Bcl-2 está regulada a través de vías de señalización de la p38 MAPK y ERK. La inhibición endógena de NO incrementa la expresión de Bcl-2 en eosinófilos de pacientes asmáticos a través de la p38 MAPK o ERK y, por lo tanto disminuye la apoptosis. El aumento concomitante de la actividad de la iNOS y de la producción de NO endógeno, por los eosinófilos de los asmáticos, podría tener un papel autolimitante en la regulación de la apoptosis (221).

Las células epiteliales también expresan mayor cantidad de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MCH) de clase II, luego del desafío

alergénico. Además expresan moléculas de adhesión intercelular (ICAM-1) las que interactúan con neutrófilos y eosinófilos, con la liberación de MMPS, oxidantes y gránulos proteicos (222), favoreciendo el proceso de remodelación de la vía aérea.

La interacción entre las moléculas de adhesión y sus receptores es importante en el diálogo cruzado entre el epitelio de la vía aérea y las células inflamatorias ya que pueden prolongar la activación y sobrevivencia del reclutamiento celular. En particular, el ICAM-1 parece jugar un papel relevante en la fisiopatología de la inflamación alérgica. Modelos animales de desafíos nasales y conjuntivales, demostraron la rápida expresión sobre el epitelio, luego de la estimulación alérgica, paralelamente a la infiltración celular (223). En los últimos años, se observó que la molécula CD 40 se expresa sobre la superficie de las células epiteliales bronquiales humanas. También *in Vitro*, se expresan sobre células epiteliales bronquiales transformadas por virus (224,225). Cognoni y colab., demostraron la expresión de CD40 sobre células epiteliales de la vía aérea en humanos tanto *in vivo* como *in Vitro* y su papel en la amplificación de la respuesta inflamatoria dentro del tracto respiratorio. Se investigó las señales de transducción del CD40, mostrando el interjuego entre el CD40 y la activación de las vías dependientes de kinasa Janus 3 (JAK3) y el TNFR asociado al factor 2 (TRAF-2), identificándose como posibles blancos terapéuticos (226).

Un hallazgo reciente es la sobre-expresión de un péptido de la hormona natriurética, en las células epiteliales de la vía aérea, que provoca un aumento en la producción intracelular de calcio y de óxido nítrico, con una concomitante reducción de la activación de los factores NFkB y ERK1 y 2. Esto trae aparejado una acción broncodilatadora y anti-inflamatoria de este péptido (227).

MEDIADORES INFLAMATORIOS

SOLUBLES

La activación de los mastocitos ocurre inmediatamente después de la exposición al antígeno con la liberación de mediadores inflamatorios.

Dentro de los mediadores pre-formados del mastocitos se hallan tres grupos.

- 1) Componentes vasoactivos (histamina y adenosina)
- 2) Enzimas (proteasas neutras e hidrolasas ácidas).
- 3) Proteoglicanos(heparina y condroitin sulfato)(228).

La histamina y las enzimas fueron descritas dentro de los mediadores de los MASTOCITOS.

ADENOSINA

La adenosina es producida por la hidrólisis del monofosfato de 5-adenosina como consecuencia de hipoxia o de activación celular. Ejerce sus efectos fisiológicos por la acción de receptores de membranas celulares, tanto en los mastocitos del tejido conectivo como en los de las mucosas, provocando la degranulación, efecto que es parcialmente antagonizado por la teofilina (229). Luego de la provocación alérgica, los niveles de adenosina en sangre de los pacientes atópicos, se hallan aumentados tres veces en relación a los niveles basales. Por otra parte, la inhalación de adenosina produce broncoconstricción en sujetos asmáticos, con aumento de la HRB (230).

PROTEOGLUCANOS

Los mastocitos humanos contienen 4 pg de heparina, y son la única fuente endógena de esta sustancia. Cuando las células están en reposo, el proteoglicano de heparina forma la matriz del gránulo secretorio.

Además de sus acciones de inhibición de antitrombina III, factor XIIa, Xa y IXa, la heparina, y en menor grado el condroitin sulfato, pueden afectar la estabilidad o la función de los otros mediadores del mastocito; estabiliza la triptasa, inactiva el complemento y tiene la capacidad de ligar MBP del eosinófilo (231).

Entre los mediadores neoformados, se hallan los derivados del ácido araquidónico, que a través de la vía de la cicloxigenasa, genera prostaglandinas como PG D₂, PG F₂ y tromboxano A₂ (TxA₂), y por la vía de la lipoxigenasa, leucotrienos como LT C₄, LT D₄ y LT E₄.

PROSTAGLANDINAS

PG D2

Es el producto más abundante de la cicloxigenasa, potente broncoconstrictor por acción directa sobre receptores de PGs e indirectamente estimulando la liberación de acetilcolina por los nervios parasimpáticos. Incrementa los efectos de la histamina y de la metilcolina en asmáticos (232)

Se halla aumentada en el BAL de sujetos asmáticos luego de la provocación alérgica. Produce aumento de la permeabilidad capilar en conjuntiva y piel a través de la acción de la SP y recluta eosinófilos a los tejidos y a la tráquea (233)

PG F2

Al igual que la anterior, provoca broncoconstricción. Luego de su inhalación los pacientes asmáticos presentan sibilancias y tos, y tres minutos después, expectoración serosa (234).

PG I2

También llamada prostaciclina es un potente vasodilatador e inhibidor plaquetario. No parece tener un rol importante en la fisiopatología del asma (235).

TROBOXANO A2

El Tx A2 es el producto dominante del metabolismo del ácido araquidónico (AA) en las plaquetas; es un potente agregador plaquetario y es rápidamente hidrolizado a TxB2. Existen evidencias de su producción aumentada en las crisis agudas de asma, luego de la provocación alérgica (236).

PG E2

La PGE2 es producida en grandes cantidades por el epitelio bronquial y el músculo liso, pero aún no se halla bien definido, si juega un rol protector o deletéreo en la

enfermedad asmática. Clásicamente se conoce que inhibe el músculo liso y la quimiotaxis de células mesenquimatosas (237), la miogénesis y la síntesis de colágeno. Regula negativamente el reclutamiento de leucocitos, factores de crecimiento, intermediarios del oxígeno, endotelina y leucotrienos (238), por lo que se piensa tiene un relevante papel en el control de la inflamación de la vía aérea y la activación de los fibroblastos.

Una producción disminuída de PGE2, puede incrementar la síntesis de leucotrienos por la macrófagos alveolares. Se ha comprobado, en modelos animales de asma, una capacidad reducida del epitelio bronquial para generar PGE2.

En un estudio reciente, se encontró que la PGE2 puede aumentar la sobrevida del eosinófilo *in vitro* (239), contribuyendo a la actividad inflamatoria de estas células en el asma (240) Profita Mirella y colab., en un estudio realizado en 30 asmáticos, midiendo la concentración de PGE2 en el sobrenadante del esputo inducido, concluyeron que la expresión de la enzima cicloxigenasa 2 (COx2) en los macrófagos alveolares, puede contribuir al incremento de la sobrevida de los eosinófilos, a través del aumento de la producción de PGE2, en respuesta a citoquinas inflamatorias o productos bacterianos como el lipopolisacárido (241).

Esquema de las vías de degradación del ácido araquidónico

LEUCOTRIENOS

La síntesis de los LTs, como la de los prostanoídes, se genera a partir del AA.

Los cisteinil leucotrienos actúan sobre dos tipos de receptores, ligados a la proteína G. Se hallan aumentados en respuesta al interferón en la respuesta asmática(35) y durante las infecciones virales de las vías aéreas, como así también por la acción de la IL5. Las células capaces de producir LTs son los neutrófilos, eosinófilos (242), mastocitos, macrófagos alveolares y células epiteliales bronquiales.

Se detectan concentraciones elevadas de los mismos en el BAL de asmáticos, luego del desafío alérgico (243), hallándose valores elevados de LTC4 en orina de asmáticos durante las exacerbaciones agudas.

Los cisteinil Lts son potentes constrictores de la vía aérea y aumentan la HRB. Son 3000 a 10.000 veces más potentes que la histamina y la metilcolina y su duración es 10

a 30 veces mayor que la de esos mediadores. Producen además aumento de la permeabilidad capilar en la microcirculación y aumento de la secreción de moco. Son poderosos atrayentes de eosinófilos y sus receptores se expresan en otras células sanguíneas como monocitos, macrófagos, basófilos y linfocitos B.

El LTB₄ es un importante quimiotáctico para los neutrófilos.

En los últimos años, hubo un creciente interés en la medición de componentes de la respiración concentrada exhalada (EBC), en pacientes con enfermedades pulmonares (244,245), principalmente en niños, tanto de tipo volátil como no volátiles, sin la necesidad de realizar fibrobroncoscopia con BAL. La recolección de la muestra fue exitosa en el 100% de los casos, a partir de los 4 años de edad (246).

Zanconato y colab., demostraron que la concentración de Lts y 8 isoprostanos en EBC, es mayor en niños asmáticos que en los controles sanos, y se eleva aún más luego del desafío alérgico (247).

Los isoprostanos son isómeros estables estructuralmente, derivados enzimáticos de las PGs, producidos *in vivo* por lipoperoxidación. Este proceso es una característica central del stress oxidativo implicado en la fisiopatología del asma (248).

FACTOR ACTIVADOR PLAQUETARIO (PAF)

Se produce por la hidrólisis de dos grupos alquil, por la fosfolipasa A₂ (FL A₂), de un fosfolípido de membrana. La hidrólisis inicial se acompaña de la liberación de AA libre que, a su vez, puede ser utilizado como sustrato para la producción de eicosanoides.

Es producido por los eosinófilos, macrófagos, neutrófilos, plaquetas y en menor proporción por los mastocitos (249); sus receptores, ligados a la proteína G, se hallan en esas mismas células y en el músculo liso bronquial (250).

El PAF posee acción quimiotáctica potente sobre los eosinófilos (251). Produce vasoconstricción pulmonar, aumento de la permeabilidad capilar en la microcirculación (252) y descamación del epitelio bronquial.

Los BAL de los pacientes asmáticos tienen concentraciones aumentadas de PAF(253). Su administración experimental produce aumento de la

HRB y broncoconsstricción, en sujetos normales (254). El efecto máximo se observa a los tres días de la inhalación y puede persistir por cuatro semanas. El PAF, es rápidamente inactivado *in vivo* y se piensa que ejerce sus efectos inflamatorios en forma indirecta, por su acción quimiotáctica sobre los eosinófilos (255).

OTROS MEDIADORES

BRADIQUININAS

Hay evidencias que estos péptidos actúan en la patogenia del asma, como activadores de los nervios sensoriales (256). Se producen durante la respuesta inflamatoria por acción de la enzima calicreína, a partir de cininógenos de alto y bajo peso molecular.

En la circulación, son rápidamente inactivadas por las α 1-antiproteasas, pero permanecen activas en los tejidos por largo tiempo. La bradicinina es metabolizada en la vía aérea por cininasas y en la circulación tiene efecto degradante la enzima convertidora de la angiotensina (ECA); por esta razón sus inhibidores pueden producir tos, al aumentar los niveles de bradicinina circulante (257). Existen abundantes receptores β 2 para la bradicinina en las células endoteliales de los vasos bronquiales y pulmonares, en las células epiteliales, el músculo liso bronquial, las glándulas mucosas y los nervios sensoriales. Es un potente constrictor de los bronquios en los asmáticos *in vivo*. Los estudios neurofisiológicos han demostrado que es un estimulador de las fibras C no mielinizadas en las vías aéreas (258). Además estimula la secreción de moco por las células caliciformes y glándulas mucosas y produce vasodilatación de los vasos bronquiales (259).

ESPECIES REACTIVAS DE OXIGENO

Incluyen el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno, los radicales hidroxil, que constituyen un mecanismo importante de defensa en las células fagocíticas y aportan al daño epitelial en el asma (260).

El peróxido de hidrógeno produce contracción del músculo liso de la vía aérea y en modelos animales contribuye a la HRB.

ENDOTELINAS

La endotelina-1 (ET-1) es un broncoconstrictor de acción prolongada; estimula los fibroblastos; se expresa en las células endoteliales de pacientes asmáticos y su concentración se halla aumentada en el BAL de dichos pacientes (261).

INTERLEUQUINAS

INTERLEUQUINA 4 (IL-4)

La IL-4 es un péptido de 24 aa producido por los linfocitos, también localizado en los mastocitos (262) y eosinófilos (263). La IL-4 promueve el cambio de isotipo a IgE. Regula en forma ascendente la expresión de la molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1) sobre el endotelio y los fibroblastos (264). Los eosinófilos pueden unirse a VCAM-1. Por este mecanismo la IL-4 promueve la migración eosinofílica dentro de la submucosa y de la luz de la vía aérea. Análisis de la expresión endotelial, por citometría de flujo, revela que la IL-4 induce la expresión de VCAM-1, no afectando la de otras moléculas de adhesión como ELAM-1 o ICAM-1, uniéndose a los basófilos y eosinófilos a través de VLA-4. La pérdida de expresión de VLA-4 sobre los neutrófilos, hace que la IL-4 no posea acción sobre estas células (265).

Hay evidencia suficiente en adultos, que la IL-4 se halla presente en exceso en la vía aérea de asmáticos en relación a controles no asmáticos. El ARNm de IL-4 se halla elevado tanto en la submucosa como en las células inflamatorias de los pacientes asmáticos (266). Ha sido medido en el fluido del BAL de pacientes asmáticos, hallándose elevada en relación a los pacientes control (267).

El receptor soluble de IL-4 α (IL-4sR α) es una forma trunca de receptor unido a la membrana (268). Se detecta en circulación tanto en individuos alérgicos como no alérgicos. Se cree que actúa como un inhibidor de la IL-4 en circulación y lo hace por la unión al sitio activo de la IL-4 (269). Contrariamente a lo esperado, los niveles de IL-4sR α en el BAL de pacientes asmáticos comparados con los de no asmáticos, fueron elevados, pudiendo representar un mecanismo limitante de la actividad pro-inflamatoria de la IL-4. Otra posibilidad sería considerarla como un rasgo negativo en la patogénesis

de la inflamación de la vía aérea, prolongando la actividad de la IL-4 en la misma (270).

INTERLEUQUINA- 5 (IL-5)

La función regulatoria de las células T CD4+ en la eosinofilia tisular parece estar mediada, en parte, por la expresión de IL-5, una citoquina que ejerce múltiples efectos sobre la biología del eosinófilo, tanto en su diferenciación, como en su activación y supervivencia (271, 272,273). Su importancia fue demostrada en modelos animales de asma. Ratones deficientes de IL-5 por modificación de su gen o por la infusión de un anticuerpo anti-IL-5, no mostraron tener eosinofilia. Estudios en BAL (271) y muestras de biopsias bronquiales de sujetos asmáticos, demostraron aumentos significativos en el número de células con ARNm para IL-5 y IL-5R (274,275). Paralelamente otros estudios mostraron que la remisión de síntomas dependientes de corticoides, se asoció con una abolición de la expresión del gen de IL-5 y una resolución de la eosinofilia de la vía aérea (276). La expresan primariamente las células T y en menor medida los mastocitos y eosinófilos (277,278)

La regulación del gen de IL-5, como la mayoría de los genes de citoquinas, se ejerce a través de la presencia de elementos regulatorios, en la regiones promotoras (279). Estudios realizados sugieren que son necesarios, elementos regulatorios específicos positivos, para la activación del promotor de IL-5: el AP-1 y el GATA (280,281). El factor AP-1 liga Jun B y Jun D y se halla presente tanto en extractos Th1 como Th2. En cambio el factor GATA-3 se expresa selectivamente en las células T con perfil de citoquinas Th2 (282,283).

Estudios realizados por Nakamura y colab., evidenciaron por primera vez, el aumento de la expresión del gen GATA-3 asociado a un aumento de células con ARNm para IL-5 en la vía aérea de asmáticos (284).

INTERLEUQUINA 6 (IL-6)

La IL-6 interviene tanto en la inmunidad innata como adaptativa. La sintetizan las células mononucleares, endoteliales, músculo liso y fibroblastos en respuesta a otras citoquinas como IL-1 y TNF. El receptor pertenece a la familia de receptores tipo I de citoquinas. Posee diferentes acciones. Estimula la síntesis de proteínas de fase aguda por las células hepáticas, en la inmunidad innata. En la Inmunidad adaptativa, actúa como factor de crecimiento de las células plasmáticas (plasmocito). La IL-6 induce la producción de colágeno por los fibroblastos y la proliferación e hiperplasia del músculo liso de las vías respiratorias (285).

INTERLEUQUINA 9 (IL-9)

La IL-9 es un miembro de la familia de citoquinas Th2 y en el genoma humano fue hallada junto a otras citoquinas de tipo Th2, como IL-4, IL-5 e IL-13.

Se la asocia a cuadros de HRB y con asma severa. Veinticuatro horas después del desafío alérgico, el nivel de IL-9 aumenta, lo que sugiere una fuerte asociación entre IL-9 y la aparición de eosinófilos en el BAL. Esto muestra que la IL-9 está especialmente suprarregulada en la vía aérea luego del desafío alérgico. El reclutamiento linfocítico, probablemente sea la mayor fuente de IL-9 y dadas sus características sería relevante en la inflamación asmática (286)

INTERLEUQUINA 11 (IL-11)

Es una citoquina producida por las células del estroma de la médula ósea. Utiliza la misma unidad de señalización que la IL-6 y traduce señales vía JAK/STAT. Contribuye a la acumulación de colágeno, por estimulación de los TIMPs, miocitos, fibroblastos y miofibroblastos. La producen los fibroblastos, eosinófilos y células epiteliales (287,288).

INTERLEUQUINA 13 (IL-13)

Es una citoquina derivada de los linfocitos Th2, semejante en su estructura a la IL-4 (20 a 25% de homología aminoacídica) y también en sus funciones biológicas sobre las células B y monocitos (289,290). Ambas promueven la proliferación de las células B; inducen la expresión en la superficie celular de integrinas, CMH II y CD 23. Inhiben la producción de ciertas citoquinas y promueven el cambio de isotipo a IgE e IgG4. También al igual que la IL-4, inducen la expresión de VCAM1 sobre las células endoteliales, no así de E-selectina o ICAM-1 (291), ambos efectos mediados vía señalización dependiente de JAK 3.

Los efectos sinérgicos entre la IL-13 y el TNF- α , sugieren una potenciación de la IL-13 en la sobre-expresión de eotaxina durante la inflamación pulmonar alérgica, bajo condiciones en las que el TNF- α se halle presente.

La IL-13 posee funciones pleiotrópicas en múltiples tipos celulares, compartiendo una cadena con el receptor de IL-4 (IL-4R). Mientras la vía de la JAK3 es utilizada por el IL-4R (292), la utilizada por la IL-13 parece ser variable, ya que el tipo de JAK fosforilada es diferente en los distintos tipos celulares involucrados. Por ejemplo, la IL-13 induce la fosforilación de JAK 3 en células T y NK (293) humanas; en las células B inmortalizadas por EBV (virus de Epstein Bar), se halla un aumento de Tyk2 (294) y en las líneas celulares de carcinoma de colon se induce la fosforilación de JAK 2 (295). Lili y colab., hallaron que la IL-13 podría inducir a la expresión de eotaxina en el pulmón de ratas deficientes de JAK3, en niveles semejantes a los de las ratas control, no provocando infiltración eosinofílica. Esto sugiere que la vía de señalización de JAK3, no sería utilizada en las células epiteliales de la vía aérea, solamente aplicado a la inducción en la expresión de eotaxina (296).

Tanto la IL-4 como la IL-13 tienen un receptor común y comparten similares vías de señalización. En células linfoides, el complejo-receptor, tipo I, consiste en una cadena de unión de alta afinidad- IL-4R α (297) y una cadena gamma común. El complejo-receptor tipo II, une tanto IL-4 como IL-13 y consiste en cadenas IL-4R α e IL-13 R α (298). La mayoría de los tipos celulares en el organismo expresan el tipo I, el tipo II o ambos. El complejo IL-4R se halla en células de pulmón, cerebro, músculo, riñón, placenta, epitelio y endotelio. Además, la mayoría de las células originadas en la médula ósea, que incluyen monocitos y eosinófilos, expresan ambos receptores (299,300).

Estudios recientes sugieren que el IL-4R α expresado en el epitelio pulmonar, es necesario para la diferenciación de células caliciformes mediado por Th2 y la hipersecreción de moco, en un modelo murino de enfermedad alérgica pulmonar (301).

Recientemente Kelley-Welch y colab., proponen que la vía de señalización de IL-4R α , en células derivadas de la médula ósea, contribuyen al grado de inflamación pulmonar, mientras que la señalización en el epitelio pulmonar regula la producción de moco (302).

[INTERLEUQUINA 15 \(IL-15\)](#)

La IL-15 es una citoquina expresada en varios tejidos, como placenta, pulmón y primariamente en monocitos de sangre periférica.(303,304) Promueve la activación, proliferación y liberación de quimioquinas de varias sub-poblaciones de células T (304), células NK (305), mastocitos (306) y células B (307). Es bien conocida la capacidad de esta IL de inducir la expresión de IFN- γ , por lo que, en sujetos sanos, favorece una respuesta de tipo Th1. En contraste, Mori y colab., (308) sugieren que la IL-15 promueve la producción de IL-5 en las células T humanas y que mostró ser un factor de crecimiento de células mastoideas (309), promoviendo una respuesta de tipo Th2.

Otros hallazgos recientes, muestran que la IL-5 tiene acción en la iniciación de la respuesta Th2, induciendo la producción de IL-4 por los mastocitos (310) y que puede perpetuar la inflamación alérgica por inhibición de la apoptosis de los eosinófilos. Esto demuestra que podría estar fuertemente asociada con el fenotipo asmático y posiblemente también con el atópico (311).

INTERLEUQUINA 17 (IL-17)

Es una citoquina derivada de los linfocitos CD4 de memoria activados (CD45+ RO+) y su expresión se observa en distintas enfermedades como esclerosis múltiple, dermatitis de contacto y artritis reumatoidea (312,313)

Varios estudios *in Vitro* demostraron que es capaz de inducir liberación de IL-6, IL-8 GM-CSF, óxido nítrico y PGE2 en varios tipos celulares (314,315). En un modelo animal de rata, se evidenció que es capaz de reclutar neutrófilos selectivamente, dentro de la vía aérea, probablemente, por la liberación de IL-8 (316,317). También se demostró el aumento de expresión de moléculas de adhesión ICAM-1, sobre queratinocitos humanos estimulados por la acción sinérgica con el IFN- γ (317,318).

En muestras de biopsias bronquiales de pacientes asmáticos, se hallaron un número aumentado de células que expresaban IL-17. Esto sumado al hecho de que los linfocitos CD4+ son la principal fuente de IL-17, sugiere su intervención en el reclutamiento leucocitario y por lo tanto, en la respuesta inflamatoria.

En suma, la IL-17, sola o en combinación con citoquinas Th1 (IFN- γ), o bien Th2 (IL-4, IL-13), modularía la función de las células epiteliales bronquiales por la activación de señales extracelulares reguladas por quinasas (319).

CITOQUINAS REGULATORIAS

INTERFERON GAMA (IFN- γ)

El IFN- γ es producido *in Vitro*, por linfocitos Th1 y ejerce una respuesta inhibitoria sobre la sub-población Th2, por lo que se cree que juega un papel inhibitorio en el estado asmático (320,321). Sin embargo diversos estudios han reportado niveles elevados de IFN- γ en pacientes asmáticos. Krug y colab., observaron un porcentaje alto de células T productoras de IFN- γ en el fluido del BAL de pacientes asmáticos en relación a pacientes no asmáticos (322). Conigan y colab., hallaron valores elevados de IFN- γ séricos en pacientes asmáticos agudos severos. Dichos niveles retornaron a los valores normales luego de terapéutica adecuada. Es interesante, que pacientes asmáticos no atópicos en este estudio, mostraron tener valores séricos más elevados de IFN- γ y de receptores solubles de IFN, que los pacientes alérgicos asmáticos, sugiriendo un papel prominente en la inflamación entre los sujetos no atópicos. Los valores elevados de IFN γ se asocian con HRB y aumento de la variación circadiana del pico flujo, en pacientes asmáticos (323). El reciente trabajo de Magnani y colab., (324) puede sugerir una respuesta. Ellos hallaron que los niveles de IFN- γ en sangre de pacientes asmáticos atópicos y no atópicos era significativamente elevado comparado con aquellos provenientes tanto de controles no asmáticos/no atópicos, como de controles no asmáticos/atópicos y probablemente fuera atribuible al aumento en la proporción de células CD8+ productoras de IFN- γ , en la sangre de pacientes asmáticos. Notaron además que esto se hallaba relacionado con la severidad del asma, la HRB y la eosinofilia en sangre. Esto es diferente de otras enfermedades atópicas caracterizadas por un viraje hacia la respuesta Th2, con producción aumentada de IL-4 e inhibición de la producción de IFN- γ por las células T CD4+ (325, 326,327). En modelos murinos, se demuestra que se necesita IFN- γ y células T CD8+ para el desarrollo de HRB (328). Estos resultados concuerdan con el creciente reconocimiento del enlace entre células T CD8+ generadoras de IFN y el asma (329,330).

En un estudio de Blic y colab., demostraron la heterogenicidad del perfil inflamatorio bronquial, en niños con asma de difícil tratamiento, que recibían altas dosis de corticoides inhalados y β 2 agonistas de acción prolongada. Los niños con síntomas persistentes, mostraban eosinófilos activados en el epitelio asociado a inflamación Th2, en cambio los niños con pocos síntomas presentaban valores altos de IFN- γ , por lo que las citoquinas Th1 podrían modular la respuesta inflamatoria local (331).

FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE BETA (TGF- β)

El TGF- β es una citoquina multifuncional que se halla implicada en la remodelación de la vía aérea y en la inmunorregulación del asma (332,333) Haneda y colab., demostraron que el TGF- β suprime la inflamación de la vía aérea en modelos animales de asma. La observación del aumento de los niveles de este agente, en el plasma de pacientes asmáticos, no atópicos pueden reflejar un mecanismo protector de supresión de la inflamación en la vía aérea (334), o bien podría simplemente ser el desarrollo del proceso de fibrosis y remodelación de la vía aérea. Se han reportado valores elevados de TGF- β , en el BAL y en muestras de biopsias bronquiales de pacientes asmáticos (335,336) y bajo ciertas circunstancias es un productor de fibrosis pulmonar (337).

Está comprobado que el TGF- β , puede reclutar y activar neutrófilos así como prolongar su sobrevivencia (338). También pueden inducir granulopoesis, por lo que `podría alterar el medio, en el sitio de inflamación, virando de uno eosinofílico a otro neutrofílico (339).

En estudios con animales se demostró una expresión aumentada de TGF- β , posterior a una infección de la vía aérea con virus de para-influenza (340). Por lo tanto, valores plasmáticos elevados de TGF- β en asma no atópico, puede reflejar un fenómeno post-infeccioso que sirve para regular en forma descendente la respuesta inmune del huésped (341).

Recientemente se ha demostrado que la leche humana contiene abundantes citoquinas (342). En un momento en que los sistemas orgánicos del neonato son inmaduros, estos componentes bioactivos, podrían ser importantes en el desarrollo neonatal.

El TGF- β 1 es una de las citoquinas más abundante en la leche humana (343). Se piensa que tiene implicancia en la morfogénesis pulmonar (344) en la primera infancia y actúa sobre la secreción de Ig A secretoria (345) en la mucosa intestinal de los niños (346), sirviendo en la defensa contra infecciones. Hay una variación considerable en las concentraciones de TGF- β en la leche humana (347) y su secreción disminuida puede contribuir al desarrollo de sibilancias (348,349). Otros factores presentes en la leche, que pueden estar asociados con sibilancias son la IL-10, TNF- α y la forma soluble del CD14 (350).

Oddy y colab., demostraron una fuerte relación entre el dosaje de TGF- β 1 en la leche materna y el desarrollo de sibilancias en el niño y concluyeron que el amamantamiento tiene un efecto protector en la prevención de las sibilancias (351).

INTERLEUQUINA 18 (IL 18)

La IL-18 es también llamada Factor inductor de IFN- γ . Es una nueva citoquina que participa en la respuesta inmune de tipo Th1, por su habilidad para inducir la producción de IFN- γ , potenciando la acción de la IL-12 (352,353). Un estudio realizado por Hofstra y colab., demostró que sólo el tratamiento combinado con IL-12 e IL-18, puede inhibir el desarrollo de células Th2, asociado con disminución de los niveles de IgE e inhibición de la HRB y la inflamación celular (354).

Más recientemente, estudios en animales, muestran un rol más complicado para la IL-18, con funciones pleiotrópicas, y se reportó que es capaz de inducir la producción de IgE y citoquinas del tipo Th2 (355,356).

El estudio de Mezzein y colab., claramente muestra que la secreción de IL-18 por las células mononucleares estimuladas de sangre periférica, se halla aumentado en pacientes con asma bronquial y dermatitis atópica. La cantidad de IL-18 secretada no varía sustancialmente, lo que implica que se halla relacionada con el estado alérgico *per se* más que con las características clínicas de la enfermedad alérgica.

Kumano y colab., (357) y Wild (358), demostraron *in vivo*, que la administración de IL-18 sola, aumenta el reclutamiento eosinofílico en el pulmón, inducido por el alérgeno, la producción de citoquinas Th2 y de IgE en ratones sensibilizados.

La IL-18 posee otras propiedades biológicas, como la suprarregulación de moléculas de adhesión, como ICAM-1 y FAS-L en mielo-monocitos humanos (359,360).

INTERLEUQUINA 21 (IL-21)

La IL-21 es una citoquina recientemente descrita del tipo Th1, producida por células T CD4 activadas, que afecta el crecimiento, supervivencia y activación de células T, B y NK en concomitancia con otras citoquinas estimuladas.

Estructuralmente es similar a la IL-2, IL-4 e IL-15 y media sus acciones biológicas a través de un nuevo receptor de citoquinas tipo I, IL-21R compartiendo la cadena gamma del receptor de ILs, IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 e IL-15. Al igual que las citoquinas que utilizan la cadena gamma común del receptor, la IL-21 induce la activación de la señalización a través de JAK-1 Y JAK-3, pero a diferencia de estas citoquinas, las señales de transducción activadas no es la STAT-5, sino la STAT-1 y STAT-3.

Dadas las características mencionadas, es una nueva citoquina, perteneciente a la familia de la IL-2, que participa tanto en la inmunidad innata como adaptativa, pudiendo ser importante en el desarrollo de la

respuesta inmune tipo Th1. Se demostró que la IL-21 administrada durante el curso de la inmunización con ovoalbúmina a ratas, disminuye el reclutamiento de eosinófilos inducido por el antígeno, en la vía aérea, luego del desafío con ovoalbúmina inhalada. Esto significa que podría tener efectos anti-inflamatorios beneficiosos en el tratamiento de pacientes asmáticos, de utilidad terapéutica en enfermedades IgE-dependientes (361)

La habilidad de la IL-21 de bloquear la infiltración eosinofílica y de regular en forma descendente, el cambio de isotipo a IgE, dependiente de IL-4 en células B, sugiere la probable utilidad, sola o en combinación con agentes anti-IL-4, en la fase inmediata y tardía de la respuesta inflamatoria en el asma alérgica (362).

MOLECULAS DE ADHESION

Las moléculas de adhesión son miembros de la familia de las Igs. Son polipéptidos de una sola cadena con número variable de dominios extracelulares (363). En la adhesión leucocitaria se hallan involucrados: moléculas de adhesión intercelular 1 y 2 (ICAM-1 e ICAM-2), y molécula de adhesión a la célula vascular (VCAM- 1).

ICAM-1 fue identificada primitivamente como un marcador de activación de las células B y un ligando para LFA-1 (363,365) (antígeno 1 asociado a la función leucocitaria). Se expresa constitucionalmente sobre el endotelio, epitelio y fibroblastos y es sobrerregulada por citoquinas y mediadores como IL-1, IFN- γ y TNF- α (366,367). ICAM-1 tiene la función tanto de adhesión como de migración de los leucocitos y está involucrada en los estadios tardíos de la migración leucocitaria, es decir en la adhesión firme.

VCAM-1 se halla en las células endoteliales y algunas células dendríticas; no se expresa constitucionalmente pero es inducida por la IL-1, IL-4, TNF- α y lipopolisacárido (LPS) (368). VCAM se halló primero en estructuras vasculares (369). Su ligando en los leucocitos es VLA-4 (CD49d/CD29) (antígeno muy tardío-4).

Se han hallado otras importantes funciones para las moléculas de adhesión. Por ejemplo, ICAM-1 parece ser el receptor para más del 90% de infecciones para rinovirus (370), que es un disparador clínico para el asma.

Se realizó un estudio, en el cual se le administró, a monos asmáticos, un anticuerpo monoclonal contra ICAM-1, observándose reducción tanto en la infiltración eosinofílica en el pulmón, como atenuación de la HRB de la vía aérea inducida por alérgeno (371).

En otro trabajo realizado por Cengizlier y colab., hallaron niveles elevados de ICAM-1 circulante en plasma de niños con asma atópica leve a moderada, revelando la presencia de inflamación y demostrando el descenso de los mismos, luego del tratamiento con corticoides inhalados (372).

**MIGRACION DE LAS CELULAS DESDE LA CIRCULACION HACIA LA VIA
AEREA**

Para causar daño en la vía aérea, las células inflamatorias deben migrar desde el torrente sanguíneo a la vía aérea. Esto está mediado por moléculas de adhesión, las que sirven como ligando para los receptores de superficie de los leucocitos, dirigiendo la migración celular a sitios específicos de inflamación (373,374).

El procesamiento antigénico por parte de los macrófagos en la vía aérea, resulta en la liberación de citoquinas tales como IL-1, TNF- α e IFN- γ , los cuales activan el endotelio sobre-expresando moléculas de adhesión (375) como ICAM-1, VCAM-1 y selectina E. la expresión de VCAM-1 parece estar regulada por la liberación de IL-4 por las células T. Durante una respuesta inflamatoria alérgica, los eosinófilos circulantes pasan a través del endotelio activado transitoriamente, unido a selectinas expresadas, que actúan reduciendo la movilidad del eosinófilo y permiten que rueden a lo largo del endotelio (376). La subsecuente unión de las integrinas del eosinófilo al ICAM-1 y VCAM-1 ancla firmemente la célula dentro de la vasculatura. Luego sigue la migración transendotelial e intersticial de los eosinófilos (377) y allí hace contacto con proteínas de la matriz extracelular. Esta compleja red de proteínas fibrilares tiene una profunda influencia sobre la función celular. A través de la interacción adhesiva con integrinas de la matriz extracelular, y en un medio de citoquinas favorables, el eosinófilo aumenta su capacidad como célula inflamatoria (378).

QUIMIOQUINAS

Las quimioquinas son proteínas de 8 a 10 KaD, que exhiben una estructura terciaria similar. Se dividen en cuatro subfamilias de acuerdo a la presencia de residuos de cisteína en el extremo amino-terminal. Los miembros de la subfamilia α tienen 2 cisteínas en el extremo amino-terminal, separado por un aminoácido, por lo que se denominan CXC. La subfamilia β , tiene 2 residuos de cisteína yuxtapuestos, llamados CC. Los miembros de la subfamilia γ , tienen una sola cisteína N Terminal llamados C, y los de la subfamilia δ , exhiben 2 cisteínas separadas por 3 aminoácidos, denominados CXXC (379,380).

Las quimioquinas son producidas por una amplia variedad de células dentro del organismo (381,382).

Mientras algunas quimioquinas como SDF-1 y eotaxina se hallan expresadas constitutivamente en los órganos linfoides y en el intestino respectivamente, la mayoría son inducidas y expresadas bajo activación celular por una variedad de estímulos inflamatorios (383). La quimioquina constitucional SDF-1, juega un rol importante en el desarrollo de la organogénesis y en el tráfico basal de leucocitos, mientras que las quimioquinas inducidas promueven a la respuesta inflamatoria inmune y a la angiogénesis en el huésped (384,385).

Todos los receptores de quimioquinas tienen siete dominios transmembrana α helicoidales. La transducción de señales se realiza por unión a la proteína G. Hay menos receptores de quimioquinas que ligandos. Una característica de la superfamilia de receptores de quimioquinas es su "promiscuidad". Mientras la mayoría de los receptores para quimioquinas interactúan con más de un ligando (receptor compartido), algunos interactúan con un solo ligando (386,387)(receptores específicos).

Las quimioquinas son relevantes tanto en asma como en alergia, no solo por el reclutamiento de leucocitos, sino por otras acciones como activación celular, liberación de mediadores, promoción de la respuesta inflamatoria Tipo Th2 y regulación de la síntesis de IgE.

La subpoblación de células Th1 expresa exclusivamente CCR5 y CXCR3 y la subpoblación Th2 expresa predominantemente CCR3, CCR4 y CCR8.

Hay estudios, en modelos murinos, que sostienen que las quimioquinas son importantes en el desarrollo del tipo de respuesta inmune Th1/Th2, influenciando la diferenciación inicial de la célula T.

Karpus y colab., reportaron que el TCR de linfocitos transgénicos imprimados *in Vitro* en la presencia de MIP1- α , mostró el desarrollo del patrón de citoquinas Th1, mientras que aquellos imprimados con MCP-1 exógeno, muestra un fuerte compromiso Th2 (388).

Se sabe que las quimioquinas regulan las respuestas de las células B, en particular la síntesis de IgE; así RANTES y MIP1 α , aumenta selectivamente la síntesis de IgE e IgG sin afectar otros isotipos de inmunoglobulinas (389).

Todas estas evidencias demuestran que las quimioquinas contribuyen a la respuesta alérgica no solo por facilitar el tráfico leucocitario, sino también por amplificar la respuesta inmune tipo Th2 subyacente en el huésped (390).

Un nuevo ligando de quimioquina (CXCL16) funciona como una molécula de adhesión de transmembrana sobre la superficie de las APCs y como un quimioattractante para las células T activadas. Es secretado por fibroblastos y células vasculares por acción sinérgica de IFN- γ y TNF- α que inducen la expresión de ARNm de CXCL16. La expresión constitutiva por las células endoteliales es inhibida por ADAM 10 (391).

Las quimioquinas responsables del reclutamiento selectivo de linfocitos varían de acuerdo a las subpoblaciones de linfocitos T, por ejemplo, las células Th2 expresan los receptores de quimioquinas CCR3, CCR4 y CCR8 (392) aunque, en el último tiempo se ha cuestionado que el CCR3 sea un marcador para las células T humanas (393). La expresión de CXCR3 es considerada como un marcador de células Th1. La expresión selectiva de CCR3 sobre eosinófilos y basófilos permite a estas células migrar a sitios donde se producen sus ligandos, como la eotaxina (394).

En un trabajo de Bochner y colab., en el cual se realizaron desafíos alérgicos con solución salina o alérgeno, en pacientes adultos con asma alérgica, encontraron que 20 horas después del desafío alérgico en el fluido del BAL, había un contenido aumentado de receptores CCR4 de quimioquinas como MDC (quimioquina derivada del macrófago) y TARC (quimioquina tímica regulada en activación). También se halló CXCR3, receptor para Ip-10 (proteína 10 inducida por IFN- γ). Estos autores concluyen que probablemente las quimioquinas, MDC y TARC, a través del CCR4, contribuyen a la fase tardía de la inflamación en respuesta al alérgeno (395).

A diferencia de otras citoquinas, la fractalkina (CX3C), se expresa en células epiteliales y endoteliales en una forma unida a membrana, pudiendo ser liberada en su forma soluble. Puede capturar leucocitos que expresan su receptor (CX3CR1), inclusive linfocitos T, en forma rápida y firme, independientemente de las integrinas. Otras células que la expresan son las dérmicas, células dendríticas y neuronas (396). Su ARNm, ha sido hallado en diversos tejidos y su expresión se encuentra aumentada en procesos inflamatorios. Su receptor CX3CR1, se expresa en monocitos, células T, mastocitos y células NK (397)

En el trabajo de Rimaniol y colab., demostraron una supraregulación de la fractalkina y su receptor a nivel bronquial y sistémico en asma alérgica y rinitis, contribuyendo al rápido reclutamiento de linfocitos T CD4+ circulantes en la vía aérea, luego de la exposición alérgica (398).

Otros investigadores, observaron que la IL-13 es un potente estimulador de la quimioquina C10/CCL6 y su receptor CCR1, siendo su producción un evento

crítico en la inducción de la inflamación y remodelación de la vía aérea, inducida por la IL-13. Esta promueve la producción de otras quimioquinas como MCP-1 α /CCL2 y MIP-1 α /CCL3 y proteasas como las MMPs 2 y 9 y catepsinas K, L, y S) y la inhibición de la α 1- antitripsina (399).

FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN

Los factores de transcripción regulan la expresión de los genes, al unirse a sitios específicos de reconocimiento de ADN, usualmente localizados en el gen, en la región promotora. En el asma se ha informado de un aumento de la expresión bronquial de c-fos, un componente de la proteína activadora-1 (AP-1) y del factor nuclear-kB (NF-kB) (400,401). Se considera que tanto el AP-1 como el NF-kB revisten vital importancia en el desarrollo del asma, porque son responsables de la generación de una amplia gama de citoquinas implicadas en el proceso asmático, incluidas IL-1 β , TNF- α , IL-2, IL-6, GM-CSF, MCP-1 y RANTES (402).

Los elementos de respuesta para el factor nuclear de las células T activadas (NFAT), están presentes dentro de los genes promotores tanto de la IL-4 como de la IL-13 (403,404). Se ha sugerido que este factor cumple una función en la producción diferencial de citoquinas Th1/Th2, ya que su actividad transcripcional se encontró elevada en clones de células Th2, y disminuida en los Th1 (405). Un polimorfismo dentro del gen promotor de IL-4 se asocia a una mayor afinidad por la AP-1 (406) la cual se requiere para que haya una actividad óptima de NFAT (407,408). Esto puede representar uno de los mecanismos que explican la producción excesiva de IL-4 que es característica de la alergia. Aunque originariamente se consideró que estaba restringido a las células T, el NFAT también se halla implicado en la transcripción del gen de la IL-4 en los mastocitos (409)

El factor de transcripción GATA-3 es necesario para la transcripción de la IL-5 (410,411) y está aumentado en la mucosa bronquial de pacientes asmáticos, en relación a los controles, y en la mucosa nasal de individuos con rinitis alérgica estacional (412,413). Este factor de transcripción parece ser fundamental para el desarrollo de las respuestas Th2, porque un negativo dominante, dio lugar a una reducción de varios aspectos de la inflamación alérgica (414). El GATA-3 se expresa abundantemente en los clones Th2 pero no en los Th1 (411).

El transductor de señales y activador de la transcripción (STAT- signal transducer and activator of transcription)-6, se expresa dentro de la mucosa nasal, luego de la exposición al alérgeno y en muestras de biopsia de bronquios de sujetos asmáticos (415,416). Se ha sugerido que la disregulación de la expresión del STAT-6 es un factor subyacente, en parte responsable, de las diferencias entre el asma atópica y la no

atópica (416). Se han encontrado elementos de respuesta al STAT-6 dentro de varios genes relacionados con alergia, incluido el de la IL-4 (417) y el promotor de Ig E (418,419). Los ratones con supresión del gen de STAT-6, no logran desarrollar respuestas Th2 y no expresan Ig. E (420,421). Se ha sugerido que se necesita el STAT-6 para la diferenciación de las Th2 porque las células deficientes en STAT-6 mostraron un claro defecto en el establecimiento de un locus de IL-4 competente desde el punto de vista transcripcional (422), lo que podría compensarse mediante una remodelación de la cromatina reforzada por medios farmacológicos (423)

NEUROPEPTIDOS

Existe considerable evidencia de que los mecanismos neuronales contribuyen a la fisiopatología y a la sintomatología del asma bronquial. El control neural de la inflamación en las vías aéreas es complejo y la comunicación entre el sistema inmune y el sistema nervioso autónomo es bidireccional (424).

El sistema nervioso autónomo (SNA) interviene, por ejemplo, en el control del tono del músculo liso bronquial, el flujo sanguíneo y la permeabilidad vascular, la secreción de moco y, a través de la liberación de neuropéptidos, puede regular varios pasos de la respuesta inflamatoria como la migración de células del sistema inmune (425).

El control neural de la fisiología pulmonar es complejo y la verdadera contribución de los mecanismos neurogénicos a la fisiopatología del asma es controversial.

Las vías aéreas están inervadas por el SNA aferente y eferente y regula varios aspectos de la función pulmonar.

El sistema nervioso parasimpático es la vía neuronal dominante que mantiene el tono del músculo liso bronquial. La estimulación de los nervios colinérgicos causa broncoconstricción, secreción de moco y vasodilatación bronquial. Normalmente la liberación de acetilcolina en los nervios colinérgicos es inhibida por los receptores M2 en los nervios, y se ha encontrado pérdida de la función de éstos receptores con el incremento de la reactividad bronquial; esta disfunción parece estar mediada por la proteína básica mayor del eosinófilo (MBP) (426).

Los nervios simpáticos controlan los vasos sanguíneos bronquiales, pero no parecen inervar el músculo liso. Los receptores β adrenérgicos se expresan en el músculo liso bronquial y su estimulación produce broncodilatación (427).

La tercera red neural en el pulmón se denomina sistema nervioso no adrenérgico no colinérgico (NANC). El NANC inhibitor contiene péptido intestinal vasoactivo (VIP) y óxido nítrico (NO) y probablemente es el único mecanismo neural broncodilatador en las vías aéreas (428).

También se han descritos vías sensoriales. Las fibras C son terminales nerviosas sensoriales conectadas a fibras vagales no mielinizadas con velocidad de conducción lenta. Se encuentran en la pared bronquial y en el parénquima pulmonar. Los que tienen importancia en el asma son los tipos C bronquiales. Las terminales nerviosas están dentro del epitelio, con ramas que se dirigen profundamente hacia la submucosa. Son receptores nociceptivos que corresponden a varios agentes que causan daño tisular y a mediadores liberados durante la inflamación, ya que pueden responder a irritantes mecánicos y físicos que no necesariamente están relacionados con el daño tisular. Son extremadamente sensibles a los estímulos químicos como los mediadores liberados durante las reacciones inflamatorias y alérgicas (histamina, bradicinina, 5-hidroxitriptamina y prostaglandinas) o a químicos externos como las capsaicinas o la fenil-diguanida (429).

Los receptores fibra C contienen neuropéptidos de la familia de las taquicininas como sustancia P (SP), neurocinina A (NKA) y péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) y en algunas especies, neurocinina B.

Más recientemente se descubrieron los nociceptores para fibras A δ . Presentan terminales en el epitelio y subepitelio con fibras aferentes mielinizadas vagales finas A δ . Son nociceptivos y responden también a una variedad de agentes químicos. Contienen neuropéptidos y participan en la inflamación neurogénica.

TAQUICININAS

Las taquicininas son una familia de neuropéptidos muy extensa. Desde el descubrimiento del VIP, primero en el pulmón e intestino y luego en el cerebro, muchos otros neuropéptidos fueron descritos en el pulmón. Son sintetizados en las neuronas y liberados desde las terminales nerviosas (430)

Las taquicininas SP y NKA son potentes sustancias broncoconstrictoras vasoactivas y proinflamatorias.

Las taquicininas han sido aisladas tanto en mamíferos como en especies anfibias. Las taquicininas de los mamíferos son también llamadas neurocininas.

Al presente se han identificado cinco taquicininas: SP, NKA, NKB, NKP y NPg.

La SP y la NKA son producidas por distintas subpoblaciones de nervios aferentes primarios caracterizados por su sensibilidad a la capsaicina. Las taquicininas y el CGRP son almacenados en grandes vesículas densas y transportadas a las terminales periféricas de los nervios sensoriales, donde son liberadas por un clásico proceso de exocitosis (431). Esta liberación responde a variados estímulos como: capsaicina, estimulación nerviosa eléctrica, de pH bajo, éter, formalina, óxido sulfúrico, tolueno, disocianato, histamina, bradiquinina, metacolina, prostaglandinas, leucotrienos, y humo de cigarrillo.

Se han hallado taquicininas en nervios sensoriales y en secreciones recogidas de la vía aérea de seres humanos, con valores elevados en pacientes asmáticos.

Por técnicas de inmunohistoquímica, se ha hallado SP, NKA y CGRP en fibras nerviosas desde la faringe hasta los bronquiolos, incluso a veces hasta dentro de los alvéolos. Ellos están localizados entre y dentro del epitelio respiratorio, entre los haces del músculo liso; alrededor de los vasos sanguíneos, glándulas submucosas y ganglios traqueobronquiales locales (432)

El contenido de SP en el pulmón humano puede variar de acuerdo a la edad; se ha hallado relativamente menor cantidad de SP y CGRP en fibras nerviosas en los bronquios de adultos que en los de los niños (433).

Uno de los factores conocidos que provocan el aumento de la expresión de la SP es el factor de crecimiento nervioso (NGF). A pesar que la SP es considerado un péptido de origen neuronal, hay evidencia de su producción por eosinófilos, macrófagos-monocitos, linfocitos, neutrófilos y células dendríticas (434).

Es interesante notar que la neurotoxina capsaicina, reportada como liberadora de taquicininas por parte de los nervios sensoriales, es capaz de liberar SP tanto de monocitos como de macrófagos humanos (435).

Se reconocen tres tipos de receptores para taquicininas de acuerdo al grado de potencia de las mismas: la SP se liga al receptor de neurocinina 1 (NK1), NKA se une al receptor de neurocinina 2 (NK2) y NKB se une al receptor de neurocinina 3 (NK3) (436). Estos receptores son glicoproteínas con siete segmentos putativos transmembrana alfa helicoidal, con un extremo amino-terminal extracelular y una cola carboxílica intracelular (437).

El receptor NK1 se encuentra localizado en el músculo liso de la vía aérea de menor calibre y son responsables de la contracción transitoria y de baja intensidad. El NK2 está presente en el músculo liso de bronquios y bronquiolos y media parte del efecto broncoconstrictor de las taquicininas (438). El receptor NK3 se descubrió en las vías aéreas de cobayos (439).

El hábito de fumar incrementa la expresión de NK1, y en los asmáticos, aumenta el ARNm para receptores de taquicininas (440).

Se ha demostrado que las taquicininas son potentes broncoconstrictores tanto *in vitro* como *in vivo* en modelos animales como en humanos.

La SP contrae bronquios y bronquiólos pero es menos potente que la histamina o la acetilcolina. La neurocinina A es más potente que la SP y dos a tres veces más potente que la histamina o la acetilcolina (441)

El término “inflamación neurogénica” fue utilizado por primera vez por Jancsó y colab. para describir el aumento de la permeabilidad ,extravasación plasmática y tumefacción tisular que ocurre en la piel y la conjuntiva cuando los nervios sensoriales son estimulados por la administración tópica de irritantes como capsaicina, solución salina hipertónica, formaldehído o por estimulación eléctrica antidrómica (442).

Las taquicininas tienen efectos moduladores amplios que contribuyen a los procesos inflamatorios en las vías aéreas. Se conoce que la SP puede desgranular las células cebadas en los modelos animales y en humanos, y causar la liberación de histamina, serotonina y TNF alfa. Esto lo producen a través de mecanismos dependientes e independientes del receptor NK1 (443)

En los cobayos, los receptores NK1 participan en el desarrollo de hiperreactividad de las vías aéreas a la histamina inducida por el antígeno y la infiltración de eosinófilos, neutrófilos y linfocitos (444). Los receptores NK2 intervienen en la fase tardía de la inflamación.

Las acciones fisiológicas de los neuropéptidos normalmente finalizan por metabolismo extracelular. Se ha prestado atención al papel de la endopeptidasa neutra, también llamada NEP, y a la acción de la enzima convertidora de la angiotensina.(ACE) En animales (cerdos de Guinea), se vió que tanto la NEP como ACE participan en el metabolismo de SP cuando se administra por vía intravascular , mientras que cuando las taquicininas se administran en aerosol, son degradadas solo por NEP (445). Esta se halla presente en las células basales del epitelio, células alveolares tipo II, glándulas submucosas, neutrófilos, músculo liso de la vía aérea, vénulas postcapilares y nervios (446) Existe evidencia directa de la suprarregulación de la expresión de NEP por el uso de corticoides (dexametasona y budesonide) en cultivos de células epiteliales traqueales modificadas. La expresión de NEP se halla significativamente aumentada en el epitelio de la vía aérea de pacientes que utilizan corticoides inhalados (447).

Dentro de los efectos inmunomoduladores, las taquicininas causan adherencia y quimiotaxis de neutrófilos humanos (448). Se halló un efecto potenciador de la SP sobre la quimiotaxis del eosinófilo inducido por PAF(factor activador de plaquetas),leucotrieno B4 e interleuquina 5 (449). La SP también induce la liberación de ECP y anión superóxido por los eosinófilos humanos (450)

Diversos estudios tanto *in vitro* como *in vivo* han demostrado que la SP es capaz de modular la activación, proliferación y quimiotaxis de linfocitos (451)

Las taquicininas tienen también efectos estimulatorios sobre monocitos y macrófagos.

Se ha comprobado que la SP provoca la producción de anión superóxido, (452), aumenta la fagocitosis (453) y estimula la producción de IL-1 e IL-12 por los macrófagos (454).

Dado los efectos de las taquicininas en los leucocitos circulantes y tisulares, son capaces de activar a las células mesenquimatosas de la vía aérea, participando así en el proceso de remodelamiento de la misma, característico del asma.

Harrison y colab. demostraron que la SP y NKA estimulan la proliferación de fibroblastos humanos pero solo NKA estimula la quimiotaxis de los mismos (455).

Nakagawa y colab. encontraron que la SP aumenta la expresión de ICAM-1 sobre células endoteliales humanas(456).

NEUROTROFINAS

Las neurotrofinas constituyen una familia de neuropéptidos que incluye al factor de crecimiento nervioso (NGF), al factor neurotrófico derivado del cerebro y las neurotrofinas (457).

NGF

Pertenece a la familia de las neurotrofinas. Es un polipéptido de 118 aminoácidos, formado por tres subunidades (alfa 2, beta y gama 2) con un peso moléculas de 130 kda. Lo producen varios tipos celulares y se acumula en diversos tejidos (458). Interactúa con dos receptores, uno tirosina-cinasa que es específico y otro de baja afinidad que es común para otras neurotrofinas (459).

Se ha demostrado la producción de NGF por células cebadas, basófilos, linfocitos, monocitos y macrófagos. A su vez el NGF actúa de forma autócrina sobre las células que lo producen y sobre fibroblastos, células endoteliales y de músculo liso. El NGF promueve la maduración y la supervivencia de las células cebadas (460).

Se postuló la participación del NGF en las enfermedades alérgicas cuando se detectaron niveles plasmáticos elevados en pacientes con querato conjuntivitis correlacionándolos con los niveles de SP, de Ig E total y eosinófilos en la conjuntiva (461).

Posteriormente se hallaron niveles plasmáticos elevados en pacientes con asma, urticaria y rinoconjuntivitis alérgica (462).

El NGF participa activamente en los procesos reparativos y en la fibrosis (463). Los fibroblastos de la piel, el pulmón y el tejido conjuntivo expresan constitutivamente el receptor de alta afinidad. El NGF aumenta la migración de los fibroblastos humanos de pulmón, piel y conjuntiva y su diferenciación a miofibroblastos, lo que indica un papel importante en las etapas iniciales y finales de la reparación tisular (464). Estos efectos podrían sugerir que el NGF participa en el proceso de remodelación de las vías aéreas (465).

PÉPTIDO RELACIONADO CON EL GEN DE LA CALCITONINA.

El péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) es un neuropéptido que se localiza en los terminales nerviosos NANC localizados en las vías aéreas. Es un péptido de 37 aminoácidos, producto del procesamiento alternativo del ARNm para la calcitonina.

El CGRP se localiza y almacena junto con la SP en los nervios aferentes y puede ser liberado por estímulos eléctricos y químicos. Los receptores para CGRP son proteínas de siete dominios transmembrana (466).

El CGRP es un broncoconstrictor *in Vitro*. El CGRP contrae el músculo liso bronquial humano en una forma dependiente de la dosis.

Uno de los principales efectos del CGRP es la vasodilatación pulmonar *in Vitro* por acción directa sobre receptores presentes en el músculo liso vascular. En los vasos bronquiales del tracto respiratorio humano se ha demostrado una gran cantidad de receptores para CGRP.

Las células secretoras de moco muestran pocos receptores para el CGRP, pero este neuropéptido puede incrementar indirectamente la secreción de moco al aumentar el flujo sanguíneo en las glándulas submucosas.

El CGRP estimula la migración de eosinófilos probablemente por fragmentos proteolíticos derivados del CGRP (467). También estimula la adhesión de linfocitos T a la fibronectina de la matriz extracelular (468). Puede inhibir la secreción de productos de macrófagos y la capacidad de éstos de activar a los linfocitos T, lo que indica un potencial efecto antiinflamatorio (469). Es capaz de suprimir la producción de IL-2 y la proliferación de linfocitos T murinos.

En otros tipos celulares tiene efectos contrarios, ya que estimula la liberación de citocinas inflamatorias en una línea de células epiteliales bronquiales humanas, donde demostró síntesis de IL-6, IL.8 TNF alfa.

Sin embargo, como mencionábamos anteriormente, tienen efectos supresores sobre la activación linfocitaria, por lo que se requieren estudios más profundos para conocer la contribución en el asma, sobre todo en los humanos.

REMDELACION DE LA VIA AEREA

La remodelación de la pared de la vía aérea, es una serie compleja de cambios estructurales que incluyen la alteración del músculo liso por hiperplasia e hipertrofia, activación de miofibroblastos, con aumento de la deposición subepitelial de colágeno en la membrana basal, angiogénesis con un incremento de los vasos sanguíneos de la submucosa, y un aumento de las células caliciformes en el epitelio de la vía aérea (470).

Diversos estudios han demostrado, una relación importante entre aspectos de la remodelación y el grado de severidad del asma (471). El engrosamiento subepitelial de la membrana basal parece ser mayor en cuadros asmáticos severos (472), guardando relación inversa con la variación del FEV1 y el PEF (volumen espiratorio forzado en el primer segundo y flujo espiratorio pico) (473). Se han hallado signos de fibrosis en niños asmáticos (474) como así también adultos asmáticos de reciente diagnóstico (475).

Diversos estudios sugieren que el tratamiento con corticosteroides en inhalación pueden tener el potencial de controlar o revertir las anomalías descritas.

Estudios ultraestructurales de biopsias bronquiales y de fluido de BAL de pacientes asmáticos, demostraron el daño epitelial, aún en casos de asma leve, con la pérdida selectiva de las células epiteliales columnares (476).

La causa del daño de la vía aérea, es la liberación de productos secretados por los eosinófilos y los mastocitos como proteínas ricas en argininas (MBP) y enzimas proteolíticas, que incluyen a las metaloproteinasas (MMPs) (477) y las triptasas y quimasas, liberadas por las células mastoideas (478).

Estímulos ambientales como los alérgenos, también pueden tener efectos directos sobre la integridad del epitelio, a través de su actividad de proteasa asociada (479,480). El resultado del daño es la pérdida de la función de barrera del epitelio, con profundos trastornos en la permeabilidad, permitiendo el pasaje de moléculas desde la luz hacia la pared de la vía aérea.

El daño resulta no sólo en cambios estructurales de la vía aérea, sino también en una alteración del fenotipo que refleja un aumento de la injuria y de la reparación. Un ejemplo, es el perfil alterado de la expresión de moléculas de adhesión, incluyendo a las integrinas (481), E-caderina (482), e ICAM-1(483), como así también un aumento local de CD44+ de las células epiteliales de las áreas dañadas (484). El daño conduce a cambios funcionales, transformando al epitelio en una fuente de autacoides, citoquinas, quimioquinas y factores de

crecimiento (485) que promueven la inflamación, la proliferación del músculo liso y de los fibroblastos y la deposición en la matriz.

Muchos estímulos endógenos y exógenos incluidos alérgenos (486) proteasas (487), oxidantes (488), virus (489), bacterias (490) e hiperoxidos, han demostrado activar a las células epiteliales, probablemente mediante un proceso específico vía-receptor (491) o por la inducción de una respuesta a la injuria que involucra reactivos del oxígeno y la activación de factores de transcripción pro-inflamatorios como NFkB y AP-1 (492). Esto resulta en la expresión de una variedad de citoquinas como IL-6, eotaxina, IL-8, TNF- α y GM-CSF.

La respuesta a la injuria, en el asma, hace al epitelio bronquial responsable de proveer los estímulos que sostienen el ciclo de la inflamación crónica y pueden perpetuar el daño.

Los fibroblastos son un grupo heterogéneo de células dinámicas. Proveen integridad estructural al tejido a través de la síntesis de una red de soporte de la matriz extracelular (ECM). Primariamente, se los consideraba como una célula meramente estructural, pero actualmente se conoce su activo rol tanto en la inflamación como en el proceso de reparación. A los fibroblastos se los describió como células "centinelas" del sistema inmune; definen el micro-ambiente tisular por la síntesis de citoquinas, quimioquinas, y ECM y en la participación directa en el "diálogo cruzado" entre linfocitos por la vía del CD-40/CD40L (CD-154) (492). Se ha visto que los fibroblastos expresan CD-40 funcional. Fibroblastos de diferentes tejidos humanos responden a la unión del CD-40, con la traducción de señales y la activación de la traslocación nuclear de factores de transcripción (NFkB) (493).

Los fibroblastos tienen un papel central en el proceso de cicatrización normal y en el desarrollo de fibrosis en el pulmón, piel y otros tejidos. La cicatrización es un complejo proceso de eventos ordenados que normalmente resultan en la restauración del tejido con una mínima pérdida de función. Se divide en tres etapas sucesivas: inflamación, remodelamiento y reparación (494). La fibrosis ocurre como resultado de un proceso de cicatrización progresivo e incontrolado (495). Los fibroblastos activados por diversos estímulos, migran hacia el interior de la matriz, comienzan a proliferar, y depositan componentes en la matriz extracelular, especialmente colágeno (496). Hay amplia evidencia que los fibroblastos derivados de tejidos injuriados, poseen un patrón alterado de citoquinas, quimioquinas y de síntesis de componentes de la ECM en relación a los obtenidos de tejidos sanos del mismo origen anatómico (497). Kaufman y colab., demostraron que los fibroblastos del pulmón humano son una fuente de CD-154 (CD 40L) en dicho órgano y propusieron que una disregulación de la expresión de CD-154 por los fibroblastos residentes, podría resultar en su activación crónica, llevando a la fibrosis pulmonar (498). Linfocitos y plaquetas activadas pueden liberar CD-154 soluble; de hecho las plaquetas son la principal

fuelle de CD-154 en la circulaci3n, generada por el clivaje proteol3tico de CD-154 desde la membrana celular (499). El receptor para el CD-154, CD 40, se halla sobrerregulado sobre los fibroblastos durante la inflamaci3n y las plaquetas lo expresan constitutivamente (500). As3 los fibroblastos CD-154, en combinaci3n con las plaquetas, pueden perpetuar el estado inflamatorio y conducir a la fibrosis.

Se observ3 que la activaci3n de los fibroblastos de la v3a a3rea, que se ponen en contacto con eosin3filos activados, pueden potenciar la degranulaci3n de estos 3ltimos; en parte dependiente del GM-CSF de los fibroblastos y, dependiente de ICAM-1/CD-18 y CD29, para la adhesi3n de los fibroblastos a los eosin3filos. (501)

Otro factor que influye en el remodelamiento, por estimulaci3n de los fibroblastos, es el Factor de crecimiento transformante β (TGF- β). Se origina en los eosin3filos, particularmente en el asma, c3lulas epiteliales, macr3fagos y en los mismos fibroblastos, pudiendo regular el inicio y el fin de la inflamaci3n. El factor de crecimiento epidermoideo (EGF) tiene un rol importante en la reparaci3n del epitelio luego de la injuria. Lo expresan tanto el epitelio como el endotelio, macr3fagos, plaquetas, m3sculo liso y gl3ndulas mucosas (502). El receptor del EGF ocupa un lugar prominente como un regulador primario de las funciones de las c3lulas epiteliales, con gran variedad de repuestas, desde la inducci3n de la s3ntesis de ADN, alteraciones en la adhesi3n y motilidad celular, y en la regulaci3n de la funci3n de c3lulas diferenciadas (503). Todos los miembros de la familia de ligandos de EGF, son sintetizados como precursores de transmembrana. Tanto la forma asociada a membrana como la soluble, tienen bioactividad, pero con potencias significativamente diferentes (504). La esfera de acci3n de los ligandos de EGFR pueden ser regulados por mecanismos aut3crinos y par3crinos. El clivado de los precursores de transmembrana involucra a las MMPs de la matriz (505), y pueden ser reguladas por mecanismos dependientes de la PKC o por el influjo de calcio extracelular (506).

Si bien ha sido hallado un aumento de la inmunorreactividad del EGF en la submucosa de pacientes asm3ticos (507), el n3mero total de c3lulas que lo expresan, no se correlaciona con el grado de da3o de la membrana basal o con el n3mero de fibroblastos. En contraste, estudios de las c3lulas del m3sculo liso de la v3a a3rea, mostraron un potencial rol del EGF en la hiperproliferaci3n del mismo. La endotelina-1, cuya producci3n se halla aumentada en el asma, no es mit3gena para el m3sculo liso, pero puede potenciar el efecto mit3geno del EGF (508). Los leucotrienos tambi3n pueden potenciar el efecto mit3geno del EGF, (509) por lo que su efecto sobre las c3lulas del m3sculo liso de la v3a a3rea, lo ejerce a trav3s de la interacci3n con otros p3ptidos y mediadores lip3dicos.

Numerosos estudios identificaron marcadores adicionales de inflamaci3n en la v3a a3rea. Por ejemplo, Nakao y colab., hallaron que la expresi3n de SMAD-7, un antagonista citoplasm3tico de la se3alizacion del TGF- β , se correlaciona

inversamente con el daño de la membrana basal y la HRB, en muestras de biopsia bronquial de pacientes asmáticos, en relación a los controles (510)).

Asai y colab., estudiaron la endostatina y el factor de crecimiento para la célula vascular endotelial (VEGF), una citoquina que induce la proliferación endotelial, migración y otras funciones (511). Wen y colab., utilizando células de músculo liso de la vía aérea humana en cultivo, demostraron que las citoquinas Th2 y el TGF- β , aumentaban la producción de (VEGF) (512)

Las células del músculo liso de la vía aérea (ASMC) fueron consideradas primitivamente, como una estructura celular pasiva, pero ahora, se considera que participa en forma activa en la patogénesis del asma. Las moléculas de la superficie celular tienen gran importancia en la respuesta inmune. Las células T activadas se adhieren a las ASMC a través de integrinas y del CD44 e inducen la síntesis de ADN de las ASMC, por un mecanismo dependiente del contacto. Se ha hallado la presencia de CD40 L en las ASMC tanto de pacientes asmáticos como no asmáticos. Un estudio de Janette y colab., luego de estimular la expresión de CD40L, mediante la utilización de un fragmento recombinado de CD40, obtuvieron una liberación significativamente aumentada de IL-6 por parte de las ASMC de los pacientes asmáticos, en relación con los no asmáticos. La cascada de señalización de CD40/CD40L y la liberación de IL-6, demuestran el activo rol de las ASMC en el mantenimiento de la respuesta inflamatoria local dentro de la vía aérea (513)).

Una de las características del remodelamiento tisular, es el aumento del volumen del músculo liso de la vía aérea. Este incremento es debido, en parte, a la combinación de un depósito aumentado de proteínas de ECM e hiperplasia del ASM. (514,515).

En estudios histológicos de vías aéreas de asmáticos, se halla alterado el perfil general de proteínas de la ECM. Están aumentados el colágeno I, III, y V, la fibronectina, tenascina, hialurónico, versicano y laminina α 2 y β 2 (516,517), mientras que el colágeno IV y la elastina, se hallan disminuídos.(518,519). La intrincada red de trabajo de las macromoléculas que forman la ECM no sólo actúa como soporte mecánico, sino que puede influir en una gran variedad de funciones que incluyen la proliferación (520).Se ha demostrado que las células del ASM obtenidas de pacientes asmáticos poseen una tasa de proliferación mucho mayor que aquellas obtenidas de pacientes no asmáticos (521).

La hipertrofia del músculo liso y el daño de la membrana basal subyacente al epitelio, está controlado por una compleja interacción entre factores de crecimiento mesenquimales, como el TGF- β , EGF, (522,523), IGF (Factor de Crecimiento parecido a la insulina), y sus receptores, (524) y el balance entre enzimas degradativas como las MMPs y sus inhibidores de tejido (TIMP-1) (525,526)

Las MMPs son una gran familia de proteínas con similitudes funcionales y estructurales. Se cree que su función es crítica para múltiples procesos biológicos, (527) como el clivaje de la mayoría de las proteínas de la matriz extracelular incluido el colágeno y la elastina, además de otras proteínas circulantes, de la superficie celular y pericelulares. Estos mecanismos incluyen alteración de la matriz celular, interacciones célula/célula; liberación, activación, o inactivación de moléculas de señalización autócrina o parácrina, y de receptores de superficie. (528). Lo anteriormente descrito lleva a la digestión de proteínas estructurales y a la modificación de funciones celulares.

Para minimizar el daño tisular producido por la activación excesiva de las MMPs, el proceso se halla estrechamente regulado. Normalmente, los tejidos no almacenan MMPs y su expresión constitutiva, es mínima (529). La transcripción de las MMPs está regulada por múltiples factores que incluyen factores de crecimiento, citoquinas y componentes de la matriz extracelular. (530) Las MMPs son secretadas como pro-enzimas inactivas, y su actividad proteolítica se halla regulada dentro de los tejidos por activación de zimógenos e inhibición por enzimas como los TIMPs o por unión a proteínas plasmáticas, como las α 2-macroglobulinas (531).

Dentro de las MMPs, la MMP-9 en particular, (gelatinasa B) es una colagenasa tipo IV de 92-kDa, que se halla presente en baja concentraciones en el pulmón normal, siendo supra-regulada en enfermedades inflamatorias pulmonares, como el asma (532). Se han encontrado valores elevados de MMP-9 en el fluido del BAL, en sangre y en esputo de pacientes con asma alérgica (11,13). La expresión de esta MMP se halla aumentada en pacientes con exacerbaciones espontáneas o en respuesta a la instilación local de antígeno en la vía aérea (533). Cuando la inflamación aguda se resuelve, los niveles de MMP-9, retorna a los valores basales. Se ha visto que los corticoides regulan en menos la expresión de la MMP y aumentan los niveles de los inhibidores tisulares de las MMPs (534). La MMP-9 se expresa en muchas células inflamatorias y en múltiples células residentes pulmonares, tales como células endoteliales, epiteliales, células del músculo liso y fibroblastos, luego de la estimulación (535). La MMP-9 podría potencialmente promover el pasaje de células a través de la membrana basal, por su habilidad de clivar el colágeno IV (536). También participa la MMP-2, gelatinasa A, degradando el colágeno IV y V (537). La MMP-9, existe bajo cuatro formas diferentes: una pro-forma biológicamente inactiva de PM 92, una forma activa de PM 88, una forma de alto PM (125), y un homodímero de PM 220. Se cree que la forma de alto peso

molecular (HMW) es un heterodímero y una proteína del neutrófilo, una gelatinasa asociada a la lipocalina (NGAL), (538) y que es más fácilmente activada que los monómeros o los heterodímeros de la MMP-9 (539). Se ha observado que los neutrófilos se hallan aumentados en los tejidos BAL, y esputo en pacientes con asma severa, frecuentemente corticoide-dependiente, pero los mecanismos implicados aún se desconocen.(540) Se sabe que los corticoides previenen la apoptosis de los neutrófilos, por lo que el aumento de los mismos, podría ser secundario a las altas dosis de corticoides utilizados por los pacientes con asma severa(541). El estudio de Cundall y colab., sugiere que el aumento de la MMP-9 en el BAL de pacientes con asma severa, deriva primariamente de los neutrófilos más que de los monocitos y macrófagos u otras células (542)

La familia de los TIMPs son proteínas solubles, TIMP-1 y TIMP-2, que inhiben la actividad enzimática de las MMPs formando complejos 1-1 con la forma activa o latente de la MMP-9 y MMP-2. El TIMP-1 se une a la MMP-9 y el TIMP-2 se une a la MMP-2 (543,544). Los TIMPs pueden inducir la proliferación de fibroblastos (545,546). El TIMP-1 puede inhibir también la actividad de la elastasa de la MMP-9 y aumentar el depósito de elastina.(547). Por lo tanto, las MMPs y los TIMPs contribuyen a la inflamación de la vía aérea y al subsecuente proceso de reparación normal u anormal del tejido, que lleva a la fibrosis y/o a la elastosis observada en el asma. El papel que juegan estas moléculas, en el daño subepitelial de la membrana basal, aún no está aclarado.(548,549)

Se observó, el aumento de los niveles nocturnos de MMP-9 y de la tasa MMP-9/TIMP en el BAL de pacientes con asma nocturna. Los cambios circadianos en el balance de estos mediadores pueden tener un rol importante en el aumento de la inflamación de la vía aérea a la madrugada (04 hs), contribuyendo a la elastosis y a la progresión hacia un componente fijo de obstrucción en la enfermedad (550).

La remodelación del tejido también incluye un incremento de la inervación neural, neurotrofinas, NGF, implicados en la regulación ascendente de neuropéptidos, SP y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina, en las neuronas sensoriales primarias que inervan los tejidos inflamados (551)(ver apartado neuropéptidos)

De todos modos, se necesitan más estudios, para aclarar la densa red de mediadores de la inflamación de la vía aérea en el asma, sus funciones e implicancias, en el grado de remodelación y obstrucción al flujo aéreo en la enfermedad.

Tratamiento Generalidades

Si bien es cierto que la respuesta inflamatoria que se observa en el asma obra en respaldo de una etiología alérgica, en el asma no atópica o intrínseca también se observa una patología inflamatoria similar. En efecto, la gravedad, del asma se correlaciona con el grado de inflamación de la vía aérea.

El tratamiento médico del asma tiene que incluir tanto agentes antiinflamatorios como broncodilatadores para que se alivien efectivamente los síntomas de la enfermedad.

Los agentes antiinflamatorios más eficaces son los corticosteroides, los cuales están disponibles tanto para uso oral como inhalatorio. El tratamiento con estos agentes da lugar a una disminución de la reactividad de la vía aérea y a una mejora sintomática que se correlaciona con reducciones de los marcadores de inflamación.

AGONISTAS BETA

Los agonistas β se han utilizado en el tratamiento del asma, desde que en 1903 se introdujera la epinefrina en inyección. En 1924 se descubrió que la efedrina era el principio activo de la hierba medicinal china tradicional Ma Huang y se propuso su tratamiento para el asma. En 1941 se introdujo la isoprenalina como el primer broncodilatador adrenérgico β de síntesis. Desde entonces se han descubierto agonistas β selectivos, con menos efectos secundarios. En la actualidad, los agonistas β_2 de acción corta se emplean, como medicación de rescate en el asma aguda, y los de acción prolongada se utilizan para prevenir y controlar los síntomas de asma.

FARMACOLOGIA

Los receptores β_2 se encuentran prácticamente, en todos los tejidos, pero principalmente en el músculo liso, células epiteliales, células inflamatorias, glándulas y paredes alveolares de los pulmones (552).

Pertenecen a la superfamilia de los receptores de la superficie celular acoplados a la proteína G. Tras la unión del agonista al receptor, cambia la conformación de la proteína G acoplada, que activa la adenilato ciclasa; ésta cataliza la conversión del ATP en AMPc. El AMP cíclico modifica luego la respuesta fisiológica, específica de cada tipo celular. Dentro de los pulmones, los agonistas β_2 , se unen a los receptores β_2 , activan las proteínas G y la adenilato ciclasa de las células del músculo liso y determinan una activación de la PKC A y una relajación del músculo liso bronquial (553).

El receptor β_2 humano se codifica en el cromosoma 5q31-32. Se han descrito varios polimorfismos genéticos que tienen una función variable. Los estudios, tanto con animales como con seres humanos, han demostrado efectos funcionales de esas variantes como por ejemplo, correlación con el asma nocturna, grado de HBR, aumento de la IgE y grado variable de regulación descendente de los receptores tras su exposición prolongada al agonista (554).

EFFECTOS DE LOS AGONISTAS β

El principal efecto terapéutico de los agonistas β es la mejoría de la función respiratoria por la relajación del músculo liso bronquial.

Reducen la permeabilidad vascular, disminuyen el edema de la mucosa (555); reducen la adherencia de los neutrófilos y de los eosinófilos (556).

Aumentan de la depuración mucociliar por aumento de la frecuencia de la batida ciliar (557).

Reducen la liberación de histamina a partir de los basófilos y los mastocitos (558) y la liberación de PGD₂ (559).

Suprimen la actividad oxidativa y la liberación de Tx y LTC₄ por los eosinófilos (560).

Inhibe la liberación de citoquinas por los monocitos (561) y linfocitos (562). Los receptores β_2 de los macrófagos alveolares se desensibilizan con el tratamiento con agonistas β en inhalación (563). Estos compuestos inhiben la función oxidativa de los neutrófilos y la liberación de mediadores (564).

INTERACCION ENTRE LOS CORTICOIDES Y LOS AGONISTAS BETA

Según los estudios sobre el tema, los corticoides y los agonistas β ejercen acciones complementarias. Los glucocorticoides aumentan la transcripción de los receptores β_2 en los pulmones (565). Los agonistas β y los glucocorticoides manifiestan una inhibición sinérgica *in Vitro* de la liberación de citoquinas inflamatorias desde las células del músculo liso de la vía respiratoria humana (566). Estas interacciones pueden explicar los efectos beneficiosos que aporta el tratamiento de combinación.

TOLERANCIA

La administración regular de agonistas β de acción corta, puede seguirse de tolerancia. Se produce tolerancia a los efectos generales del tipo taquicardia, hipopotasemia, hiperglucemia, temblor y palpitaciones (567). La tolerancia se explica por la desensibilización de los receptores, que obedecen a tres mecanismos: 1) fosforilación de los receptores, 2) secuestro o internalización y 3) regulación descendente (552). La regulación descendente se establece en el

curso de días o semanas de administración repetida y puede acortar el período de broncodilatación inducido por un agonista de acción corta (568).

Se ha examinado en muchos estudios la administración regular o a demanda de los agonistas β de acción corta. En algunos se ha comprobado que el uso regular y continuo de estos agentes de acción corta, como el salbutamol, terbutalina y fenoterol, produce un pequeño aumento de la HRB, que persiste durante algunos días después de suspender la medicación (569).

Contrariamente a los agonistas de acción corta, los de acción prolongada, se recomiendan para el uso regular, pese a los indicios de tolerancia frente a alguno de los efectos beneficiosos. El uso continuo de salmeterol puede reducir el efecto broncoprotector frente al ejercicio (570) o a la exposición bronquial a los alérgenos (571) o la metacolina (572). Este efecto se manifiesta durante la primera semana de tratamiento regular.

CORTICOIDES

La inflamación de la vía respiratoria y la disfunción del músculo liso son objetivos esenciales del tratamiento del asma. Las estrategias terapéuticas actuales se basan en la combinación de corticoides en inhalación y agonistas beta de acción prolongada para aprovechar sus efectos complementarios.

Los corticoides en inhalación han permanecido como una de las modalidades terapéuticas más importantes contra el asma en los últimos 50 años y sigue considerándose el *patrón oro*.

IMPORTANCIA DE LOS CORTICOIDES PARA EL TRATAMIENTO DEL ASMA

La respuesta inflamatoria altera la integridad epitelial y produce anomalías del control nervioso autónomo respiratorio, hipersecreción de moco, cambios de la función mucociliar y una hiperreactividad del músculo liso respiratorio (573).

Se ha recomendado la introducción temprana de los corticoides en inhalación para tratar el asma. Esta intervención puede reducir la reacción inflamatoria general de la vía respiratoria, mejorar la estructura del epitelio y reducir el número de eosinófilos de las paredes bronquiales (574,575). El tratamiento con corticoides en inhalación disminuye la gravedad de los síntomas asmáticos y la HRB, mejora los parámetros espirométricos y el flujo máximo, evita las crisis asmáticas y previene o revierte la remodelación de la pared de la vía aérea (576).

El tratamiento con corticoides en inhalación puede reducir la morbimortalidad del asma al disminuir el número de crisis con necesidad de nuevos corticoides (577), el riesgo de hospitalización (578), la tasa de descenso de la función pulmonar (579), y el riesgo de muerte por asma (580).

MECANISMO DE ACCION DE LOS CORTICOIDES

Los corticoides en inhalación penetran en el citoplasma celular por dos supuestos mecanismos: difusión pasiva o transporte facilitado. Una vez dentro, el corticoide libre interacciona con el receptor correspondiente. El complejo que forma el corticoide libre con el receptor del glucocorticoide sufre un cambio en su conformación y se activa antes de entrar al núcleo celular.

La expresión génica mediada por el complejo GC-GCR es, en principio, el mecanismo fundamental por el que se modifica el estado inflamatorio.

RESISTENCIA A LOS CORTICOIDES

Si bien la mayoría de los pacientes responde a dosis moderadas de glucocorticoides inhalados, algunos cursan con una severidad del cuadro respiratorio que no es adecuadamente controlado, incluso con altas dosis orales de prednisona. Estos pacientes con asma grave, se definen como resistentes o insensibles a los corticoides. Se han sugerido por lo menos dos mecanismos que explican la resistencia a los esteroides. Los glucocorticoides median su actividad anti-inflamatoria a través de receptores citoplasmáticos específicos ($RG\alpha$) que inhiben las vías de la AP-1 y del Nf-kB (581,582). La activación de la AP-1 parece estar elevada en los pacientes resistentes a los corticoides y pueden secuestrar al $RG\alpha$ activado (583). En un trabajo paralelo se ha demostrado que los pacientes asmáticos resistentes a los esteroides tienen niveles persistentemente elevados de IL-2 e IL-4, dentro de las células recuperadas del líquido del BAL, luego del tratamiento con corticoides (584). *In vitro*, se ha demostrado que la combinación de IL-2 e IL-4 reduce la afinidad de unión al RG (585). Se ha descrito el empalme alternativo del transcrito de pre-ARNm del RG, que da lugar a un receptor señuelo que no fija glucocorticoides ($RG\beta$) (586). Gagliardo y colab., (587) mostraron que el $RG\alpha$ se expresa en niveles similares en el asma dependiente de esteroides, en el asma leve y en sujetos normales de control. Se ha informado del

aumento de la expresión de $RG\beta$ en sangre periférica, líquido del BAL y muestras de biopsias

de bronquio, en pacientes con asma resistentes a los corticoides, comparados con los que tienen asma sensible a los mismos, asma leve o en el tejido pulmonar normal (588,589). No se ha examinado si la combinación de IL-2 e IL-4 también media el secuestro de la AP-1 por el $RG\alpha$, ni si esos dos mecanismos operan juntos en la creación de un fenotipo resistente a los corticoides. Se ha sugerido que el $RG\beta$ es un marcador de la resistencia a los esteroides.

Efectos antiinflamatorios de los corticosteroides

Disminución de la reactividad de la vía aérea

Disminución del ARNm de IL-5, IL-3 y GM-CSF en las células T CD4+ circulantes, así como en las PCE séricas

Efectos en los bronquios: aumento de las células positivas para ARNm de IFN- γ , disminución de las células positivas para ARNm de IL-4 e IL-5, las células T CD3+, los mastocitos de mucosa y los eosinófilos activados

No hay efecto sobre las moléculas de adhesión (590, 591, 592, 593).

Efectos celulares de los glucocorticoides

Apoptosis de los eosinófilos (mediada por células T)

Disminución de las citoquinas de la célula T

Disminución del número de mastocitos y células dendríticas

Disminución de las citoquinas de los macrófagos

Disminución de las citoquinas y otros mediadores de la célula epitelial

Disminución del escape de las células endoteliales

Aumento de los receptores B² en el músculo liso de las vías aéreas

Disminución de la secreción de moco por las glándulas mucosas (594)

TEOFILINA

La teofilina se ha empleado en el tratamiento del asma durante más de setenta años y tradicionalmente se la ha considerado como una droga broncodilatadora. Su mecanismo de acción no se ha definido con precisión y cada vez hay más interés por investigar sus efectos anti-inflamatorios. Estudios recientes indican que la teofilina puede tener propiedades a la vez antiinflamatorias e inmunomoduladoras (595). La acumulación y la supervivencia de los eosinófilos están mediadas por varias citoquinas, en especial la interleucina (IL-5) y se ha demostrado que la teofilina inhibe la prolongación de la supervivencia del eosinófilo mediada por IL-5 *in Vitro*. Un estudio doble ciego con teofilina a dosis bajas, disminuyó la acumulación de eosinófilos inducida por antígenos en biopsia de bronquio de pacientes con asma atópica leve pero no en los que recibieron placebo (596). En pacientes asmáticos tratados con teofilina se observó una reducción significativa de los niveles de proteínas catiónicas en los eosinófilos del esputo (597). La teofilina ejerce múltiples efectos sobre los linfocitos T y la producción de citoquinas: se ha demostrado la reducción *in vitro* de la proliferación de las células T estimuladas por antígenos y por mitógenos (598). La relevancia clínica de la reducción de la infiltración bronquial con células asociadas con la respuesta asmática tardía en pacientes que reciben teofilina fue una mejoría en las pruebas de función pulmonar (599).

Las normas actuales sobre el manejo del asma sugieren que la teofilina es una de las varias opciones en los pacientes cuyo asma no se controla adecuadamente con los corticosteroides inhalados. En dos estudios multicéntricos, aleatorios, doble-cego, controlados con placebo se ha considerado el interrogante de si la adición de teofilina a los esteroides inhalados en dosis bajas iguala la mejoría de la función pulmonar que se obtiene con los esteroides inhalados en dosis altas en pacientes con asma no controlada (600). Evans comparó los efectos de la adición de teofilina a dosis bajas en pacientes con asma sintomática, que a la vez estaban recibiendo 800 a 1000 microgramos de budesonida al día y otro grupo de pacientes asmáticos que recibían dosis altas de budesonida, 1600 microgramos al día. Las dosis de teofilina (250/375 mg dos veces al día) que se emplearon en estos estudios, fue bien tolerada (601) En ambos estudios se observaron mejoras sostenidas en la función pulmonar medida en relación al valor basal y no hubo diferencia entre los grupos de tratamiento.

No sólo se demostró que la teofilina tiene un efecto ahorrador de corticoides en los estudios clínicos, sino que también puede favorecer el cumplimiento del tratamiento por parte de los pacientes y, en relación a los agentes anti-inflamatorios, es probable que reduzcan los costos globales del tratamiento.

CROMOGLICATO SODICO

El cromoglicato disódico es un agente profiláctico que no ejerce una acción broncodilatadora. Si bien se piensa que este fármaco actúa principalmente como un estabilizador de los mastocitos, el mecanismo de acción exacto se desconoce. Es probable que impida la desgranulación de los mastocitos a través de una interferencia en el flujo intracelular de calcio, sin ejercer efectos directos sobre la reacción antígeno-anticuerpo. El cromoglicato disódico previene con eficacia las acciones asmáticas tempranas y tardías después de la provocación con el antígeno, correlacionándose con una disminución de la liberación de mediadores. Se conoce, además, que este agente ejerce un efecto vagolítico dependiente de la dosis y un efecto antiinflamatorio indirecto (602).

ESQUEMA DE TRATAMIENTO ESCALONADO DEL ASMA DE ACUERDO A LA SEVERIDAD DE LOS SINTOMAS

NIVEL 1 : *INTERMITENTE*

- Síntomas intermitentes < 1 vez a la semana
- Exacerbaciones (pocas horas, pocos días)
- Síntomas asmáticos nocturnos < de 2 veces por mes.
- Función pulmonar normal entre las exacerbaciones.
- PEF o VEF1 \geq al 80% pronosticado.
- Variabilidad < 20 %

Tratamiento

Broncodilatadores de acción corta: β 2 agonistas inhalado según lo requieran los síntomas.

La intensidad del tratamiento dependerá de la gravedad de la exacerbación.

Agonista β 2 inhalado o cromoglicato antes de ejercicios o exposición a alérgenos.

NIVEL 2: *PERSISTENTE LEVE*

- Síntomas > 1 vez a la semana pero < de 1 vez por día
- Exacerbaciones que pueden afectar la actividad y el sueño.
- Síntomas asmáticos nocturnos > 2 veces al mes.
- PEF o FEV1 \geq al 80 % pronosticado.
- Variabilidad del 20% al 30%

Tratamiento

Corticoesteroides inhalados 200/500 mcg, cromoglicato o teofilina de liberación lenta. Si es necesario aumentar dosis de corticoesteroide inhalado o agregar broncodilatador de acción prolongada.

Para aliviar síntomas, agonista β_2 inhalado de acción corta, según necesidad, no más de 4 veces por día.

NIVEL 3: *PERSISTENTE MODERADA*

- Síntomas diarios
- Exacerbaciones que afectan la actividad y el sueño
- Síntomas asmáticos nocturnos > 1 vez a la semana
- Uso diario de β_2 agonistas inhalados de corta duración
- PEF o FEV1 pronosticado > 60% y < 80 %.
- Variabilidad > 30%.

Tratamiento

Broncodilatador de acción corta

Corticoesteroides inhalados 800 a 2000 mcg o más

Broncodilatador de acción prolongada, para síntomas nocturnos, β_2 de acción prolongada, teofilina de liberación lenta.

Para aliviar síntomas: agonista β_2 inhalado de acción corta, según necesidad, no más de 4 veces por día.

NIVEL 4: *PERSISTENTE SEVERA*

- Síntomas continuos.
- Exacerbaciones frecuentes.
- Frecuentes síntomas nocturnos.
- Actividades físicas limitadas y perturbación del sueño.
- PEF o FEV 1 < o = 60% del pronosticado.
- Variabilidad > 30%.

Tratamiento

Corticosteroides inhalados 800/2000 mcg ó más

Broncodilatador de acción prolongada, teofilina de acción lenta.

Corticoesteroides orales a largo plazo.

Para aliviar síntomas, β 2 de acción corta inhalado, según necesidad.

(603)

FARMACOS NOVEDOSOS PARA EL TRATAMIENTO DEL ASMA

Introducción

La introducción de terapias para el alivio del asma comenzaron con remedios herbolarios, de los cuales se deriva la terapia moderna con broncodilatadores (604).

En el año 1000 AC, los antiguos chinos trataban el asma con "ma huang", un extracto de plantas que contiene efedrina y que tiene propiedades broncodilatadoras adrenoceptoras. Desde la Segunda Guerra Mundial, el tratamiento del asma ha estado dominado por el uso de químicos sintéticos inhalados que imitan a las hormonas endógenas: los broncodilatadores agonistas del β_2 adrenoceptor (simpaticomiméticos parecidos a la adrenalina) y los corticosteroides antiinflamatorios. Hace poco tiempo se ha reconocido que la terapia "sumatoria" o adjunta con dosis moderada de corticosteroides inhalados constituye una opción mejor que aumentar las dosis de corticosteroides inhalados; esta terapia adjunta puede comprender agonistas β_2 (605), antagonistas de los leucotrienos (606) o teofilina. Además, varios compuestos de bajo peso molecular se han probado en el asma, incluidos antihistamínicos, antagonistas del factor activador de las plaquetas, endotelina y antagonistas de la neuroquinina, inhibidores de la fosfodiesterasa (PDE phosphodiesterase) y franqueadores de los canales de potasio.

El advenimiento de la biotecnología ha traído consigo una amplia variedad de proteínas derivadas del ADN recombinante y anticuerpos monoclonales con potencial para el tratamiento del asma. Estos agentes antiinflamatorios altamente específicos están en la actualidad en fase de pruebas clínicas, pero dado que son proteínas de alto peso molecular, tienen la desventaja de no ser eficaces por la vía oral. La aceptación por parte del paciente supone un problema serio para la administración de agentes proteínicos, aunque las terapias modificadoras de la enfermedad, el tratamiento del asma grave y de las crisis asmáticas serían aceptables en formas inyectadas. Los primeros estudios en seres humanos con agentes terapéuticos proteínicos que tienen como objetivo el control de la inflamación se están usando en ocasiones a manera de "prueba del concepto" y un estudio exitoso justificaría un programa de investigación con miras a identificar un compuesto oral de bajo peso molecular para el seguimiento.

Broncodilatadores Novedosos

El más importante avance reciente en la terapia con broncodilatadores ha sido la introducción de los agonistas β_2 inhalados de acción prolongada, salmeterol y formoterol, los cuales ofrecen broncodilatación durante más de 12 horas. El formoterol (605), y el salmeterol han probado ser de gran utilidad clínica, por cuanto ofrecen un control adicional del asma cuando se añaden a los corticosteroides inhalados. Un excelente nuevo desarrollo es poder tener agonista β_2 (salmeterol o formoterol) y un corticosteroide (fluticasona o budesonida) disponibles en un solo inhalador, porque esto es de provecho para los pacientes en términos de conveniencia y cumplimiento (607). Hace poco tiempo se lanzó al mercado el R-salbutamol (albuterol), fundamentado en que la eliminación del anantiómero, no broncodilatador de la mezcla racémica convencional del RS-salbutamol, puede hacer que el anantiómero R-broncodilatador purificado tenga mejor seguridad y eficacia (608). Otros compuestos con actividad broncodilatadora potencial incluyen los franqueadores de los canales de potasio (609) Los canales de potasio desempeñan un importante papel en la recuperación de las células excitables y en el mantenimiento de la estabilidad celular. En consecuencia, cuando se abren los canales de potasio, el resultado es la relajación del músculo liso y la inhibición de la secreción. Estos fármacos también inhiben el tono espontáneo e inducido del músculo liso de la vía aérea *in Vitro* y pueden cumplir una función en el alivio de la hiperreactividad de la vía aérea.

Entre los otros broncodilatadores candidatos, se encuentran los antagonistas de la endotelina y de la neuroquinina (NK1, NK2R) (610).

Por último, los péptidos auriculares natriuréticos (por ejemplo, el urodilatín) son broncodilatadores que incrementan el monofosfato cíclico de guanosina y pueden tener una función en el tratamiento del asma aguda grave.

Esteroides Novedosos

La comprensión de la base molecular de la acción de los esteroides permite el diseño racional de nuevos esteroides y otros fármacos que actúan sobre los factores de transcripción. Los esteroides actúan en el nivel molecular uniéndose al receptor citoplásmico de glucocorticoides (RG), lo que va seguido de interacciones con cascadas de activación de enzimas, factores peptídicos de transcripción y elementos nucleares de respuesta a los glucocorticoides. Se piensa que casi toda la acción antiinflamatoria de los esteroides, tiene lugar a través de la inhibición de los factores de transcripción por parte de genes inflamatorios, es decir la proteína activadora-1 (AP-1-activador protein-1), el factor nuclear-kb (NF-kb-nuclear factor-kB) y el factor nuclear de las células T activadas (NF-AT – nuclear factor of activated T cells)(611) Los esteroides de nueva generación con menos potencial de eventos adversos, sistémicos y dosificación, una vez al día están en fase de desarrollo: palmitato de roleponida, ciclesonida (612), furoato de mometasona, GW 215864 y GW 250495. Los esteroides disociados (RU 24858) interfieren con la interacción entre el RG, AP-1 Y NF-kb, pero el RG no se une al ADN; de tal suerte que el riesgo de efectos secundarios se minimiza porque la mayoría de ellos surge de la unión al ADN. Esto se consigue separando la transactivación (el enlace del fármaco al ADN) de la transrepresión (inhibición de los factores de la transcripción) (613).

Antagonistas de los Mediadores

Los anti-leucotrienos, entre los que se incluyen los antagonistas del receptor del cisteinil-leucotrieno y los inhibidores de la 5'-lipooxigenasa, son los primeros componentes de una nueva clase de agentes antiasmáticos que van a introducirse después de 30 años de intensa investigación (614).

Los anti-leucotrienos se administran en forma de tableta, una o dos veces al día y se ha demostrado que tienen efectos clínicos útiles en el asma, pero son menos eficaces que los corticosteroides inhalados. Algunos pacientes responden mejor que otros, pero no es posible predecir quienes lo harán. El

montelukast añadido a la beclometasona inhalada permite alcanzar un mejor control del asma (615), pero el salmeterol inhalado ofrece mayor mejora en el control del asma que el zafirlukast (616).

Los antagonistas del factor activador de las plaquetas y los inhibidores de la síntesis de tromboxano han sido probados en el asma con resultados decepcionantes (617,618).

Con todo, los inhibidores de la sintetasa inducible de óxido nítrico han entrado en estudios de fase 2 (619). Dado que el óxido nítrico puede desempeñar un importante papel en la inflamación que implica la vasodilatación y la exudación de plasma, éste podría ser un objetivo prometedor. No se ha demostrado que los inhibidores de la triptasa de los mastocitos (APC366) sean útiles en el asma, pero en la actualidad se están desarrollando más inhibidores (620). Los efectos de la triptasa de los mastocitos pueden estar mediados a través del receptor activado de la proteinasa, el PAR2 y también se están desarrollando antagonistas contra este receptor (621).

Inmunosupresores

Ciclosporina A

Uno de los aspectos más importantes en el desarrollo de las nuevas terapias antiinflamatorias es la capacidad de inhibir de forma específica un elemento del sistema inmunológico sin ocasionar vulnerabilidad a las infecciones y las enfermedades malignas. La ciclosporina A tiene efectos específicos sobre la transcripción de los genes en las respuestas específicas al alérgeno de los linfocitos T e impide la liberación de mediadores de los mastocitos (622).

La proteína fijadora de ciclosporina (ciclofilina) y la proteína fijadora FK506 están implicadas en las señales que emite la célula T en respuesta al alérgeno. Se están llevando a cabo estudios clínicos con dosis bajas de metotrexate y ciclosporina A en el asma grave, pero ninguno de estos agentes ha alcanzado un uso clínico extendido (623), aunque sí se ha demostrado que el metotrexate tiene un significativo efecto ahorrador de esteroides (624).

El tacrolimus inhalado (FK506; Fujisawa) y la ciclosporina inhalada (IMM 125) pueden hacer que estos fármacos sean eficaces en el pulmón a la vez que minimizan la inmunosupresión sistémica. El mecanismo de acción opera a través del bloqueo del factor de transcripción NF-AT, con lo que se suprimen las interleucinas (IL)-2, IL-4, IL-5 y la producción del factor estimulante de las colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) (625).

Inhibidores de las quinasas

Otros tratamientos que actúan sobre las quinasas intracelulares y los factores de transcripción implicados en el sistema de señales de la célula incluyen los inhibidores de la $\text{I}\kappa\text{B}$ quinasas, los cuales suelen activar el NF- κB (inhibidores IKK- α e IKK- β), los inhibidores de las quinasas de la proteína p38 activada por mitógenos (MAP – mitogen-activated protein) (SB 203580), los inhibidores del NF- κB (SP 100030) y AP-1 (626) .Se ha demostrado que los inhibidores de la quinasa de la p38 MAP inhiben la síntesis de citoquinas y quimioquinas inflamatorias, y disminuyen la supervivencia de los eosinófilos al activar las vías de apoptosis (627).

Los inhibidores de la tirosina quinasa son importantes en la emisión de señales del receptor de IgE de alta afinidad en los mastocitos (628), las señales del receptor de antígenos de los linfocitos B y T, y la supervivencia del eosinófilo (629) .De esta suerte, la inhibición de la tirosina quinasa puede ser un objetivo importante.

El GATA-3, es un factor de transcripción que se encuentra en las células Th2, también es una terapia potencial (630).

Acetilación y desacetilación de la cromatina

Los estados de disrupción y acetilación de la cromatina se asocian con la regulación transcripcional por parte de numerosos y diversos activadores y represores (631).

Hoy sabemos más sobre el papel que desempeñan las histonas individuales en el mantenimiento de la arquitectura de la cromatina en relación con las acetiltransferasas de histona. Las desacetilasas de histona, las cuales revierten las acetiltransferasas de histona, con lo cual inhiben la transcripción de genes inflamatorios, constituyen un objetivo novedoso para el desarrollo de fármacos antiinflamatorios.

Inhibidores de la fosfodiesterasa

Las fosfodiesterasas son enzimas de amplia distribución responsables de la descomposición de los segundos mensajeros intracelulares monofosfato cíclico de adenosina y monofosfato cíclico de guanosina (632).

Dado que las fosfodiesterasas se componen de 10 familias con casi 50 isoenzimas, existe el potencial de lograr la inhibición específica de la inflamación eosinofílica y neutrofílica con broncodilatación. Sin embargo, pocos inhibidores de la PDE4 han pasado más allá de los estudios de fases 1 a 2 debido a que producen náuseas y vómitos (633).

Recientemente se ha reconocido que la PDE4 tiene dos conformadores: la HPDE4 (con unión de alta afinidad al rolipram) y LPDE4 (con unión de baja afinidad al rolipram) (634).

Después de hacer la pesquisa para identificar la inhibición selectiva de la LPDE4, se ha desarrollado un inhibidor de la PDE4 de segunda generación (SB 207499) (635). Este combina propiedades antiinflamatorias y broncodilatadoras, es bien tolerado en dosis hasta 15 mg dos veces al día y produjo mejoras de la función pulmonar en un estudio de 6 semanas en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). En efecto, con el reconocimiento de que los inhibidores de la PDE4 inhiben la producción del factor α de necrosis tumoral (TNF)- α y el influjo de neutrófilos (636) estos compuestos están siendo considerados para el tratamiento de la artritis reumatoidea y de la EPOC y no para el asma. El SB 207499 está en estudio clínico de fase 3 en EPOC y se ha informado que es bien tolerado; se está considerando su uso en el asma (637).

Anti-IgE

La inmunoglobulina E es esencial para la liberación de mediadores tóxicos de los mastocitos; por tanto, el bloqueo de la unión de la IgE es un posible tratamiento (638).

Se han terminado los estudios de fase 3 de las inyecciones subcutáneas de anti-IgE humana recombinante (rhuMAb-E25) en el asma de moderada a grave (639) ,y en la rinitis alérgica estacional inducida por polen de abedul (640).

La anti-IgE causa una reducción de las fases temprana y tardía luego de la exposición al alérgeno y de los recuentos de eosinófilos en el esputo (641).

La reducción inesperada de la respuesta de fase tardía puede deberse a un bloqueo de los receptores de IgE de baja afinidad (Fc ϵ RII, CD23) sobre las células presentadoras de antígenos. A manera de precaución, los complejos de hexámeros de IgE y anti-IgE podrían contribuir a disminuir los recuentos de plaquetas. Se ha demostrado que el anticuerpo anti-CD23 inhibe la liberación de

IL-4 e IL-5 de las células Th2, por lo cual se están desarrollando posibles terapias con el uso de anticuerpos contra CD23 (642).

Terapia con Inhibidores de las Citoquinas

Interleucina-4 e interleucina-13

La interleucina-4 es vital para la síntesis de IgE por los linfocitos B. Las terapias anti-IL-4 (como la que se hace con el receptor de la IL-4 soluble, el cual fija la IL-4 antes de que ésta se pueda ligar al receptor celular) suprimen la producción de IgE por las células B. La IL-13 imita los rasgos del asma en un modelo murino (643), y emite señales a través de la cadena α de la IL-4 donde activa el transductor de señal del factor de transcripción y activador de la transcripción (STAT – signal transducer and activator of transcription)-6 (644).

La delección del gen del STAT-6 se ha asimilado a una supresión del gen de la IL-4 (645). En consecuencia, la posibilidad de inhibir el STAT-6 mediante el supresor 1 de las señales de citoquinas está en investigación (646). Una variante en el locus promotor del gen de la IL-4 en el cromosoma 5 se ha asociado recientemente con un leve aumento del volumen espiratorio forzado en el primer segundo en pacientes asmáticos (647), y por ello podría constituir un objetivo adicional para los tratamientos.

Interleucina-5

La interleucina-5 es importante en la producción y liberación de eosinófilos de la médula ósea. Los anticuerpos humanizados contra IL-5 tienen el impresionante efecto de suprimir la eosinopoyesis y la eosinofilia de la sangre; sin embargo, no tienen efecto sobre las respuestas a los alérgenos inhalados o la hiperractividad de la vía aérea, lo que hace pensar que la eliminación de los eosinófilos de las vías aéreas puede no ser suficiente para tratar el asma (648).

Se están realizando otros estudios en pacientes con asma más grave. Los antagonistas no peptídicos del receptor de IL-5 serían una alternativa y se está

usando la estructura de la cadena α del receptor de IL-5 a fin de identificar posibles compuestos. Las investigaciones sobre los mutantes de IL-5 (649), y las vías de transducción de señales (650) pueden llevar a un mejor desarrollo de estos compuestos.

Factor α de necrosis tumoral (TNF- α)

El factor α de necrosis tumoral puede desempeñar un papel importante en la inflamación del asma mediante la activación de factores de transcripción, al causar la regulación ascendente de los genes y la producción de mediadores inflamatorios. Moléculas como las estructuras del receptor del TNF y los anticuerpos monoclonales humanizados contra TNF- α son interesantes candidatos para el asma grave y las crisis asmáticas, aunque puede haber problemas con el desarrollo de anticuerpos, y contra el TNF- α , después de la administración repetida. Este problema se puede solucionar con el uso de una pequeña molécula inhibidora del TNF y los inhibidores de la enzima convertasa del TNF- α muestran resultados prometedores. Se ha desarrollado un anticuerpo bloqueador del TNF- α que se ha usado en la enfermedad intestinal inflamatoria y en la artritis reumatoidea con resultados alentadores (651).

Terapia con Citoquinas

Interleucina-10

La IL-10 humana recombinante es una citoquina que tiene potencial en el tratamiento del asma. Es un factor inhibidor de las síntesis de citoquinas que inhibe la producción de TNF- α , GM-CSF, sintetasa inducible de óxido nítrico y quimioquinas (652).

La secreción de IL-10 puede estar disminuida en pacientes asmáticos, en especial en el asma grave (653). En consecuencia, la terapia con IL-10 puede ser un tratamiento antiinflamatorio útil a través del receptor de IL-10. Sin embargo, la IL-10 se debe administrar inyectada, de modo que las moléculas pequeñas que activan las mismas vías de transducción de señales pueden ser un abordaje más prometedor en el futuro.

Interleucina-12

En el asma se presenta una perturbación en el equilibrio entre las células Th1 y Th2 que se caracteriza por una disminución en la actividad de la Th1 y aumento de la actividad de las Th2. La IL-12 es vital en la alteración del sistema inmunológico para producir un perfil de Th1 y disminuir las células Th2 que son responsables de la producción de citoquinas inflamatorias; por tanto, es un blanco potencial para nuevas terapias dirigidas a restablecer el equilibrio de las células T en los pacientes asmáticos (654).

La principal desventaja de la terapia del asma disponible en la actualidad es que los agonistas β_2 y los esteroides son paliativos, sólo ofrecen alivio temporal, pero no son curativos. No obstante, la historia natural del asma, con su aparición en la infancia y el fenómeno de que los niños al crecer "salen" de su enfermedad, ilustra el potencial para la modificación farmacológica de la enfermedad a través de la inmunomodulación (655).

La IL-12 humana recombinante tiene la capacidad de alterar el equilibrio de las poblaciones de linfocitos T, disminuyendo las células Th2 que median la enfermedad alérgica y aumentando las células Th1 (656).

Las preparaciones de que disponemos hoy en día, tienen varios efectos secundarios tóxicos en las dosis usuales (657), pero en un estudio de los efectos de la IL-12 en el asma humana se demostró una reducción de los eosinófilos de la sangre y el esputo, sin efecto en la reacción asmática tardía (658).

Se ha postulado que la IL-12 puede ser más útil como un adyuvante de la terapia con alérgenos aplicada al comienzo de la enfermedad, por ejemplo en niños que pueden tener una susceptibilidad genética al asma (659).

Con todo, es preciso realizar más investigaciones sobre la alteración del equilibrio entre células Th1 y Th2 porque todavía no se conoce del todo las consecuencias (660).

Interleucina-18

Se piensa que esta citoquina actúa en sinergia con la IL-12, inhibiendo la producción de células Th2 a través de una potente inducción de la producción de interferón- γ , el cual inhibe la producción de IL-4 e IgE (661). En consecuencia, puede tener un papel potencial en el tratamiento del asma. Tiene otros varios efectos proinflamatorios posibles a través de otras citoquinas.

Interferón- γ

El interferón- γ inhibe las células Th2, pero no mostró efecto significativo sobre el reclutamiento de los eosinófilos hacia el interior de las vías aéreas cuando se administró en forma de nebulización a pacientes asmáticos (662).

Antagonistas de las Moléculas de Adhesión

La adhesión de los leucocitos al endotelio es vital para el reclutamiento de estas células hacia áreas de inflamación. Esta adhesión depende de la regulación ascendente de ciertas moléculas de adhesión sobre la superficie celular y el endotelio y esto puede suceder en respuesta a estímulos inflamatorios como las citoquinas. En consecuencia, si es posible bloquear estas moléculas de adhesión, se puede evitar la infiltración de leucocitos. Un blanco actual es la molécula selectina fijadora de azúcar que se encuentra en los eosinófilos; se están desarrollando moléculas antagonistas glucomiméticas, que se parecen a la estructura sialil Lewis X (663).

Se ha demostrado que estos antagonistas inhiben la fijación de selectinas E, P y L, y también inhiben las reacciones de fase tardía y la hiperreactividad bronquial en ovejas sometidas a exposición de alérgenos. Se están llevando a cabo estudios de fase 2 en seres humanos con el uso de preparaciones intravenosas e inhaladas. También se ha demostrado que las selectinas distinguen entre la fijación de los subgrupos de las células T, de suerte que seleccionan las células que se reclutan hacia las áreas de inflamación (664).

También están en desarrollo los anticuerpos monoclonales contra la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), que se encuentra sobre el endotelio, pero todavía no han sido probados en el asma humana (665).

Se están investigando los fármacos de sentido contrario (oligonucleótidos), que impiden la transcripción del gen de la ICAM-1, (Iisis) pero tampoco se han probado en el asma humana (666).

Los anticuerpos monoclonales humanizados contra el antígeno muy tardío-4 (VLA-4 [$\alpha 4\beta 1$]) que se encuentra en los eosinófilos y que se liga a la molécula de adhesión-1 a la célula vascular (VCAM) sobre el endotelio, se encuentran en estudios de fase 2 (667).

Los peptidomiméticos contra la parte 1 del segmento conector de la fibronectina, la cual también se encuentra sobre el endotelio y se liga al VLA-4, están en la actualidad en estudios de fase 2 (668). Otros inhibidores del VLA-4 en desarrollo son inhibidores de pequeñas moléculas, las cuales se fijan directamente al VLA-4, e impiden que se ligue a los ligandos del endotelio (669).

Antagonistas de las quimioquinas.

El receptor CCR3 es el receptor común en los eosinófilos de las quimioquinas de cisteína/cisteína (CC) como la eotaxina, las RANTES (expresadas y segregadas por células T, reguladas al tiempo de su activación), la proteína quimioatrayente de los monocitos (MCP)-3, y la MCP-4, las cuales son importantes para que los eosinófilos se liberen de la médula ósea hacia la circulación y para el reclutamiento de los eosinófilos de la sangre hacia el interior de los tejidos (670). En consecuencia, los antagonistas Anti-CCR3 pueden desempeñar un papel importante en la disminución de la eosinofilia pulmonar en pacientes asmáticos y se están desarrollando en la actualidad (671).

Los antagonistas de CCR3 también pueden tener actividad clínica basada en la inhibición de CCR3 expresado sobre las células Th2 activadas y los basófilos circulantes, porque estas células también expresan el receptor CCR3 (672).

Las células Th2 también expresan CCR3 y las Th1 expresan CXCR3 y CCR5 (673), lo cual convierte a estos receptores en blancos potenciales para uso terapéutico. Dado que el receptor CCR3 es un receptor acoplado de la proteína G, se pueden desarrollar inhibidores de molécula pequeña que se puedan administrar por la vía oral. La quimioquina modificada met-RANTES también bloquea al receptor CCR3, con lo que se reduce la respuesta de los eosinófilos a otras quimioquinas (674).

Estrategias preventivas: Inmunomoduladores e Inmunoterapia con Péptidos

Moléculas co-estimuladoras

La actividad co-estimuladora desplegada por las moléculas sobre las células presentadoras de antígenos incrementa la activación de las células T. Esto implica la transmisión de señales entre los receptores situados sobre las células T (CD28) y los situados sobre células presentadoras de antígenos (CD80/B7-1 o CD86/B7-2) (675). Estas señales se necesitan para la producción de citoquinas por la célula T y aumentan la respuesta de la célula T al alérgeno. La CTLA4 es una molécula que se encuentra sobre las células T que inhibe los receptores CD80 y CD86 situados sobre las células presentadoras de antígeno y, por ende, puede tener una función terapéutica en la prevención de este efecto co-estimulante (676). Hasta el momento no se han hecho estudios con esta molécula en seres humanos.

Oligodesoxinucleótidos Citosina-guanosina

El ADN de los plásmidos bacterianos contiene motivos no metilados de oligodesoxinucleótidos de citosina-guanosina, los cuales son capaces de inducir citoquinas de tipo Th1 (677).

Se han desarrollado formas sintéticas de estos oligodesoxinucleótidos y se ha encontrado que inhiben la inflamación de tipo Th2 en modelos animales después de la exposición a metacolina y alérgenos (678). Se halló que este efecto era de larga duración y por tanto, tiene potencial como terapia modificadora de la enfermedad en el asma.

Mycobacterium vaccae

El *Mycobacterium vaccae* es un saprofito ambiental capaz de reforzar los mecanismos de las células Th1 y disminuir las respuestas de las Th2. Esta vacuna se está probando en la actualidad en la tuberculosis (679) y, a causa de sus propiedades inmunomoduladoras, ha entrado en estudios clínicos en asma.

Inmunoterapia con alérgenos y péptidos

La inmunoterapia con alérgenos sigue siendo objeto de grandes esfuerzos de investigación clínica (680). Hoy se cuenta con una amplia gama de alérgenos disponibles como productos derivados de ADN recombinante y péptidos (681).

Los péptidos sintéticos contienen epitopes que les pueden ser presentados específicamente a las células T por las células presentadoras de antígenos, ocasionando una alteración en la respuesta de la célula T (682).

Numerosos péptidos superpuestos de alérgeno de gato (Fel d 1) pueden inducir una respuesta tardía aislada al alérgeno pero también pueden bloquear las respuestas cutáneas a los alérgenos (683).

Terapia Génica

Con la identificación de ciertos genes que son responsables del asma, ha surgido el potencial de manipulación de estos genes a fin de tratar de prevenir la enfermedad, en especial a través de definir como blancos a los mediadores inflamatorios, moléculas de adhesión y vías intracelulares de transducción (684).

No obstante, primero hay que establecer la terapia génica en enfermedades respiratorias monogénicas potencialmente mortales como la fibrosis quística. Dado que las enfermedades atópicas son poligénicas, es poco probable que la terapia monogénica tenga algún valor. Los defectos en los genes RG pueden ser responsables de algunos tipos de asma resistente a los esteroides y éste puede ser un campo propicio para el desarrollo terapéutico (685).

CONCLUSION

El asma fue definida primitivamente como una enfermedad contráctil del músculo liso bronquial. En la actualidad, gracias a los avances en el conocimiento de su patogenia, es considerada como una enfermedad inflamatoria de la vía aérea, parcialmente reversible, causada por una compleja red de interacciones entre mediadores de la inflamación, capaces de provocar intenso daño tisular, con la consecuente rigidez de la pared y pérdida de sus funciones. La instauración de una terapia anti-inflamatoria adecuada, puede prevenir o atenuar las modificaciones de la vía aérea.

El descubrimiento de nuevos parámetros productores o adyuvantes del proceso inflamatorio, aporta nuevos sustratos para la intervención terapéutica, en el intento de frenar la prosecución de la injuria crónica.

FLOYER en 1695 expresó: “Ya que la cura del asma, es observada por todos los médicos que han intentado erradicar esa dolencia crónica, como muy difícil y frecuentemente insatisfactoria, puedo inferir que la verdadera naturaleza de esta enfermedad, no está plenamente comprendida por ellos o que no han encontrado el remedio por el cual se pueda curar.”

ASMA....., la historia continúa...

BIBLIOGRAFIA

1. **Bousquet J, Chanez P, Campbell A** Inflammatory processes in asthma. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1991; 94: 227-232.
2. **Holgate ST.** Mediator and cytokine mechanisms in asthma: the Altounyan Address. *Thorax* 1993; 48: 103-110.
3. **Bentley AM, Qui Meng, Robinson DS, Hamid Q, Kay AB, Durham SR.** Increases in activated T lymphocytes, eosinophils and cytokine messenger RNA for IL-5 and GM-CSF in bronchial biopsies after allergen inhalation challenge in atopic asthmatics. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993; 8: 35-42.
4. **Robinson DS, Hamid Q, Bentley A, Ying S, Kay AB, Durham SR.** Activation of CD4+ T cells, increased Th2-type cytokine mRNA expression, and eosinophil recruitment in bronchoalveolar lavage after allergen inhalation challenge in atopic asthmatics. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92: 313-324.
5. **Dustin MI, Rothlein R, Bhan AK, Dinarello CA, Springer TA.** Introduction by IL-1 and interferon-gamma: tissue distribution, biochemistry and function of natural adherence molecule(ICAM-1). *J Immunol* 1986; 137: 245-254.
6. **Thornhill MH, Wellicome SM, Mahiouz DL, Lanchbury JS, Kyan- AungU, Haskard DO.** Tumor necrosis factor combines with IL-4 or IFN- γ to selectively enhance endothelial cell adhesiveness for T cells. The contribution of vascular cell adhesion molecule-1- dependent and independent binding mechanisms. *J Immunol* 1991; 146: 592-598.
7. **Sheffer AL.** Guidelines for the diagnosis and management of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88: 427-438.
8. **William W Busse, Randy J. Horwitz Charles E.Reed.** Definition and pathogenesis. *Asthma. Chapter 59 . Middleton*
9. **Alexander HL, Paddock R:** Bronchial asthma: response to pilocarpine and epinephire, *Arch Intern med.* 1921; 27: 184-191.
10. **Weiss S, Robb GP, Ellis LB.** The systemic effects of histamine in man. *Arch Intern Med.* 1932; 49: 360-396.
11. **Curry JJ.** The action of histamine on the respiratory tract in normal and asthmatic subjects. *J Clin Invest.* 1946; 25:785-591.
12. **Anderson SD, Silverman , Godfrey S.** Exercise- induced asthma: a review. *Br J Dis Chest* 1975; 69: 1-39.
13. **Herxheimer H.** Hyperventilation asthma. *Lancet* 1946; 1: 83-87.
14. **Jones PS, Whaton MJ, Buston MH.** Place of physical exercise and bronchodilator drugs in the assessment of the asthmatic child.
15. **Cooke RA, Vander Veer A .** Human sensitization. *J Immunol* 1916; 1: 201-305
16. **Blumenthal MN,** Epidemiology and genetics of asthma and allergy: In Kaplan A. editor *Allergy.* Philadelphia:WB Saunders;1997 p. 407-420
17. **Blumenthal MN.** Principles of genetics . In Middleton E Reed C. *Allergy: Principles and practices* 1998.p 28-39.
18. **Varadarajulu S, Helm T, Mellen BG.**Relative risk for asthma in first degree relatives. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: s280.
19. **Blumenthal MN,** What we now about the genetics of asthma at the beginning of the 21st.century. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2002; 22: 11-32.
20. **Liggett S.** β 2- Adrenergic receptor pharmacogenetics. *AmJ Respir Crit Care Med.* 2000;3: 197-201.
21. **Liggett S.** The pharmacogenetics of β 2-adrenergic receptors: relevance to asthma. *J Allergy Clin Immunol.*2000; 105: 487-492.
22. **Hall I.** Genetics factors in asthma severity. *Clin Exp Allergy.* 1998; 28: 16-20.

23. **Lane S, Arm J, Staynov D, Lee T.** Chemical mutational analysis of the human glucocorticoid receptor cDNA in glucocorticoid-resistant bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1994; 11: 42-48.
24. **Rosenwasser LJ, Klemm DJ, Dresback H.** Promoter polymorphisms in chromosome 5 gene cluster in asthma and atopy. *Clin Exp Allergy* 1995; 25: 74-78.
25. **Noguchi E, Shibasaki M, Arimani T.** Association of asthma and the IL-4 promoter gene in Japanese. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 449-453.
26. **Dizier M, Sandford A, Walley A.** Indication of linkage of serum Ig.E levels to the IL-4 gene and exclusion of the contribution of the (-590 C to T) IL-4 promoter polymorphism to Ig.E variation. *Genet Epidemiol* 1999; 16: 84-89.
27. **Hijazi Z, Haider MZ.** Interleukin-4 gene promoter polymorphism (C509T) and asthma in Kuwaiti Arabs *Int Arch Allergy Immunol.* 2000; 122: 190-194.
28. **Ober C, Leavitt SA, Tsalenko A.** Variation in the IL-4 receptor alpha gene confers susceptibility to asthma and atopy in ethnically diverse populations. *Am J Hum Genet.* 2000; 66: 517-526
29. **Heinzmann a, Mao XQ, Akaiwa M.** Genetics variants of IL-13 signaling and human asthma and atopy. *Hu Mol Genet* 2000; 9: 549-559.
30. **Albuquerque RV, Hayden CM, Palmer LJ.** Association of polymorphisms within the tumor necrosis factor (TNF) genes and childhood asthma. *Clin Exp allergy* 1998; 28: 578-584.
31. **Moffatt MF, Cookson WOC.** Tumor necrosis factor haplotypes and asthma. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 551-554.
32. **Cookson WOC, Sharp PA.** Linkage between Ig.E responses underlying asthma and rhinitis and chromosome 11q. *Lancet* 1989; 1: 1292-1295.
33. **Ober C, Cox N, Abney M.** The collaborative study on the genetics of asthma: genome wide search for asthma susceptibility loci in a founder population. *Hum Mol Genet.* 1998; 7: 1393-1398.
34. **Yoshinaka T, Nishii K, Yamada K, Sawada H, Nishiwaki E, Smith K.** Identification and characterization of novel mouse and human ADAM 33s with potential metalloprotease activity. *Gene* 2002; 282: 227-236.
35. **Howard T, Dirkje S, Postma M y colab.** Association of a disintegrin and metalloprotease 33 (ADAM33) gene with asthma in ethnically diverse populations. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 717-722.
36. **Peat JK, Van Der Berg RH, Green WF, Mellis CM, Leeder SR, Woolcock AJ.** Changing prevalence of asthma in Australian children. *BMJ* 1992; 308: 1591-1596.
37. **Custovic A, Simpson BM, Simpson A.** Manchester Asthma and Allergy Study: low allergen environment can be achieved and maintained during pregnancy and in early life. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 252-258.
38. **Peat JK, Tovey E, Mellis CM, Leeder SR, Woolcock AJ.** Importance of house dust mite and *Alternaria* allergens in childhood asthma: an epidemiological study in two climatic regions of Australia. *Clin Exp Allergy* 1993; 23 :812-820.
39. **Halonen M, Stern DA, Wrigth AL, Taussing LM, Martinez FD.** *Alternaria* as a major allergen for asthma in children raised in a desert environment. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1356-1361.
40. **Perzanowski MS, Ronmark E, Nold B, Lundback B, Platts-Mills TA.** Relevance of allergen from cats and dogs to asthma in the northernmost province of Sweden: schools as a major site of exposure. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 1018-1024.
41. **Martinez FD.** Maturation of immune responses at the beginning of asthma. *J allergy Clin Immunol* 1999; 130: 355-361.

42. **Peat JK, Salome CM, Woolcock AJ.** Longitudinal changes in atopy during a 4-year period: relation to bronchial hyperresponsiveness and respiratory symptoms in a population sample of Australian schoolchildren. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:65-74.
43. **Holt PG, Jones CA.** The development of the immune system during pregnancy and early life. *Allergy* 2000;55: 688-697.
44. **Croce V, Croce JS.** Asma e infección viral . *Alerg Inminol Clin* 2001; 18: 6-11
45. **Lemanske RF, Jr and Green CG.** Asthma in infancy and childhood In Middleton : *Allergy Principles and Practice*.sh 62 pag. 877-900.
46. **Johnston SL, Pattermore PK, Sanderson G.** Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children. *Br Med J* 1995;310:1225-1228
47. **Johnston SL, Pattermore PK, Sanderson G.** The relation slip between upper respiratory infections and hospital admission for asthma:a time-trend analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 154: 654-660, 1996
48. **Shaheen SO, Abay P, Hall AJ.** Measles and atopy in Guinea-Bissau, *Lancet* 1996; 347: 1792-1796.
49. **Shaheen SO:** Changing patterns of childhood infections and the risk in allergic disease, *Clin Exp Allergy* 1995;25: 1034-1037.
50. **Holt PG, Sly PD.** Allergic respiratory disease:strategic targets for primary preventions during childhood , *Thorax* 1997; 52:1-4.
51. **Holt PG.** Environmental factors and primary T cell sensitization to inhalant allergens in infancy: reappraisal of the role of infections and air pollutions 1995;6:1-10
52. **Nagy A, Kozma GT, Keszei M, TreszIA,Falus A, Szalai C.** The developolment of asthma in children infected with *Cdhlamydia Pneumoniae* is dependent on the moddidfdying effect of mannose binding lectin. *J Allergy Clin Immunol* 2003;11: 1227-1231.
53. **Kotaniemi-Syrjanen A, Vainiionpaa R, Reijonen TM,Waris M.** Rhinovirus-induced wheezing in infancy- the first sign of childhood asthma? *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:66-71
54. **Kim Ck, Kim SW, Park CS, Kim BI, Kang H, Koh YY.** Bronchoalveolar dlavage cytosine profiles in acute asthma and acute bronchiolitis. *J Allergie Clin Immunol* 2003;112: 64-71
55. **Apter Aj, and Szeffler Stanley J.** Advances in aduddt and pediatric asthma 2003;113:407-414
56. **Kramer U, Heinrich J, Wirst , Wichmann HE.** Age of entry to day nursery and allergy in later childhood. *Lancet* 1999;353:450-454.
57. **Ball TM, Castro-Rodríguez JA, Griffith KA, Holdberg CJ, Martinez FM, Wrigth AL.** Siblings, day-care attendance, and risk of asthma and wheezing during childhood. *N Engl J Med* 2000; 538-543.
58. **Kilpelainen M, Thero EO, Helenius H, Koskenvuo M.** Farm environment in childhood prevents the development of allergies. *Clin Exp Allergy* 2000; 30:201-208.
59. **Braun-Fahrlander C, Gassner M, Grize L.** Prevalence of hay fever and allergic sensitization in farmers' children and their peers living in the same rural community. SCARPOL team. Swiss Study on Childhood Allergy and Respiratory Symtompms with respect to Air Pollution. *Clin EXpAllergy* 1999 ;29: 28-34.
60. **Ernst P, Cormier Y.** Relative scarcity of asthma and atopy among rural adolescents raised on a farm. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161: 1563-1566.
61. **Matricardi P, Franzinelli F, Franco A, Caprio G, Murru F, Cioffi D, Ferrigno L, Palermo A, Ciccarelli N, Rosmini F.** Sibship size, birth order, and atopy in 11.371 Italian young men. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 439-444.
62. **Park JH, Spiegelman DL, Burge HA, Gold DR, Chew GL, Milton DK.** Longitudinal study of dust and airborne endotoxin in the home. *Environ Health Perspect* 2000; 108:1023-1028.
63. **Gereda JE, Leung DYM, Thatayatikon A.** Relation between house-dust endotoxin exposure, type 1 T-cell development, and allergen sensitization in infants at high risk of asthma. *Lancet* 2000;355: 1680-1683.

64. **Svanes C, Jarvis D, Chinn S, Burney P.** Childhood environment and adult atopy: results from the European Community Respiratory Health Survey. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103: 415-420.
65. **Hesselmar B, Aberg N, Aberg B, Eriksson B, Bjorksten B.** Does early exposure to cat or dog protect against later allergy development? *Clin Exp Allergy* 1999;29:611-617.
66. **Martinez FD, Holt PG.** Rol of microbial burden in etiology of allergy and asthma. *Lancet* 1999;354.Suppl 2:12-15.
67. **Tulic MK, Wale JL, Hole PG, Sly PD.** Modification of the inflammatory response to allergen challenge after exposure to bacterial lipopolysaccharide. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000;22: 604-612.
68. **Michel O, Kips J, Duchateau J.** Severity of asthma is related to endotoxin in house dust. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154: 1641-1646.
69. **Haziot A, Ferrero E, Kontgen F.** Resistance to endotoxin shock and reduced dissemination of Gram negative bacteria in CD14-deficient mice. *Immunity* 1996;4: 407-414.
70. **O'Donnell AR, Hayden CM, Laing IA.** Association study of CC16 and CD14 polymorphisms in an unselected population assessed at age 8 and 25. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161: A928.
71. **Patiño CM, Martinez FD.** Interactions between genes and environment in the development of asthma. *Allergy* 2001;56: 279-286.
72. **Cardell BS.** Pathological findings in death from asthma. *Int Arch Allergy.* 1956; 9: 189.
73. **Dunnill S.** The pathology of asthma, with special reference to changes in the bronchial mucosa. *J Clin Pathol* 1960; 13: 27.
74. **Beasley R, Roche WR, Roberts JA.** Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 806.
75. **Jeffery PK, Wardlaw AJ, Nelson FC.** Bronchial biopsies in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140: 1745.
76. **Weersink EJM, Postma DS, Dalbers R.** Early and late asthmatic reaction after allergen challenge. *Respir Med* 1994; 88: 103-114-
77. **Smith DI, de Shazo RD.** Bronchoalveolar lavage in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993;148: 523-532.
78. **Sedgwick JB, Calhoun WJ, Gleich GJ.** Immediate and late airway response of allergic rhinitis patients to segmental antigen challenge. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 1274-1281.
79. **Roche WR.** Fibroblasts and asthma. 1991;141: 545-548.
80. **Church MK, Holgate ST, Shute JK, Walls AF, Sampson AP.** Mast cells derived mediators. In Middleton E, Reeds CE, Ellis EF, Busse WW editors. *Allergy principles and practice.* 5th ed. St Louis Mosby; 1998, p. 146-167.
81. **E de Zubiria Consuegra, E de Zubiria Salgado, A de Zubiria Salgado.** Asma Bronquial. 2da Ed. 2004 Ed Panam cap La respuesta alérgica pag 201
82. **Benhamou M, Ryba Njp, Kiara H** :Proteine Tyrosine Kinase P72 Syk in high affinity IgE receptor signaling. Identification of a component of P72 and association with the receptor gamma chain. *J Biol Chem* 1993; 268: 233
83. **Beaven MA, Cunha-Melo Jr.** Membrane phosphoinositide activated signals in mast cells and basophils. *Allergy* 1998; 42:123.
84. **Schartz LB.** Neutral proteases of mast cells. Basel Karger 19990
85. **Foster B, Schwartz LB, Devouassoux G, Metcalf DD, Prussin C.** Characterization of mast-cell tryptase-expressing peripheral blood cells and basophils. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109: 287-293.
86. **Koshino T, Aria Y, Miyamoto Y.** Mast cell and basophil number in the airway correlate with the bronchial responsiveness of asthmatics. *Arch Allergy Immunol* 1995; 107: 378-379.

87. **Wenzel SE, Fowler AAI, Schwartz LB.** Activation of pulmonary mast cells by bronchoalveolar allergen challenge. In vivo release of histamine and tryptase on atopic subjects with and without asthma. *Am Rev Respir Dis* 1998 137: 1002.
88. **Metcalfe D.D, D Baram , and Y.A. Mecori .**Mast cells. 1997. *Physiol Rev* 77:1033.
89. **Sedgwick JB, Calhoun WJ, Gleich GJ.** Immediate and late reponse of allergic rhinitis patients to segmental antigen challenge. *Am Rev Respir Dis* 1991;144: 1274-1281.
90. **Denise C Cara, Kirsten VJ, Ebbert and Donna-Marie Mc Cafferty.** Mast- cell independent mechanisms of immediate hypersensitivity: a Role for platelets. *The J of Immunol* 2004; 172: 4964-4971.
91. **Christian Taube, Xudong Wei, Christina H Swasey, Anthony Joetham, Simona Zarini et al.** Mast cells, Fc ϵ RI, and IL-13 are required for development of airway hyperresponsiveness after aerosolized allergen exposure in the absence of adjuvant. *The J of Immunol* 2004, 172: 6398-6406.
92. **Bradling P, Okayama Y, Howarth PH.** Heterogeneity of human mast cells based upon cytokine content. *J Immunol* 1995;155: 297-307.
93. **German RD, Goodwin W, Luisser AM.** The allergen specific T-cell responses of atopic and non atopic individuals. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 85:2000 (A).
94. **Sheila R Gillespie, Randall R De Martino, Jingfang Zhu, Carlos Ramirez et al.** IL-10 inhibits Fc ϵ RI expression in Mouse mast cells . *The J of Immunol* 2004; 172:3181-3188.
95. **Punnonen J, G Aversa B G, Cooks and JE de Vries.** Role of IL-4 and IL-13 in synthesis of IgE and expression of CD23 by human B cells. *Allergy* 1994;49: 576.
96. **Jabarah,H H, S M Fu, R S Geha, and D Vercelli.** CD 40 and IgE: synergy between anti-CD40 monoclonal antibody and IL-4 in dthe induction of IgE synthesis by highly purified human B cells. 1990. *J Exp Med* ;172: 1861.
97. **Spriggs MK, RJ Armitage, L Strockbine, KN Clifford, BM Macduff, TA Sato, CR Maliszewski, and WC Fanslow.** Recombinant human CD40 ligand stimulates B cell proliferation and IgE secretion. *J Exp Med* 1992; 147:1543.
98. **Jeannin P, Y Delneste,S Lecoanet-Henchoz, JF Gauchaht, J Ellis and J Y Bonnefoy.** CD 86 (B7-2) on human B cells: a functional role in proliferation and selective differentiation into IgE and IgG4- producing cells. *J Biol Chem* 1997; 272:15613
99. **Gauchat JF, G Aversa, H Gascon, and JE de Vries.** Modulation of IL-4 induced germline epsilon RNA synthesis in human B cells by TNF- α , anti CD40 monoclonal antibodies or TGF- β correlates with levels of IgE production. *Int Immunol* 1992; 4:397.
100. **Kiniwa M, Gately M, Gubler r, Chizzonite C Fargeas and G Delespesse.** Recombinant IL-12 supresses the syntesis of IgE by IL-4 stimulated human lymphocytes *J Clin Invest* 1992;90:262.
101. **Jeannin P, Delneste J,Tiulli- Leblond B, et al.** Abnormal IgG4 antibody response to aeroallergens in allergy patients. *Arch Allergy Immunol* 1994;104: 191.
102. **Moore KW, O'Garra, R de Waal Malefyt, P Vieira and Mosmann .** IL-10. *Annu.Rev Immunol* 1993. 11:165
103. **Jeannin P, Lecoanet S, Delneste Yves, Gauchat JF and Bonnefoy Jy.** IgE versus IgG4 production can be differentially regulated by IL-10.*J of Immunol* 1998; 160: 3555-3561.
104. **Willians J, Johnson S, Mascali JJ.** Regulation of low affinity IgE receptor (CD23) on mononuclear phagocytes in normal and asthmaticas subjects. *J Immunol* 1992;149: 2823-2829.
105. **Tong W, Luo W.** Heat Shock proteins' mRNA expression in asthma. *Respirology*.2000;5: 227-230.
106. **Busson AY, Polla BS, Dusser D.** Analysis of hsp70 gene polymorphism in allergic asthma. *Allergy* 1999;54:165-170.
107. **Mouri T.** Induction of Ig.E-Fc receptor (Fc ϵ RII/CD23) expression on stimulated monocytes by mite allergen in patients with asthma. *Jpn J Allergol* 1993; 42: 1683-1691.

108. **Takeshita S, Gage J, Kishimoto T.** Differential regulation of IL-6 gene transcription and expression by IL-4 and IL-10 in human monocytic cell lines. *J Immunol* 1996;156:2591-2598.
109. **Hallsworth MP, Soh CP, Lane SJ.** Selective enhancement of GM-CSF, TNF- α , IL-1 β and IL-8 production by monocytes and macrophages of asthmatics subjects. *Eu Respir J* 1994;7: 1096-1102.
110. **Zurawski G, de Vries JE,** IL-13 and IL-4 like cytokine that acts on monocytes, B cells, but not T cells. *Immunol Today*. 1994; 15: 19-26.
111. **Chanez P, Vignola AM, Paul Eugene N.** Modulation by IL-4 of cytokine release from mononuclear phagocytes in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94:997-1005.
112. **Harkins MS, Moseley PL, Iwamoto GK.** Regulation of CD23 in the chronic inflammatory response in asthma: a role for IFN- γ and heat shock protein 70 in the Th2 environment. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003;91: 567-574.
113. **Jarjour NN, Gern JE, Kelly EA.** The effect of an experimental rhinovirus 16 infection on bronchial lavage neutrophils. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105: 1169-1177.
114. **Kraft M, Cassell GH, Henson JE.** Deletion of *Mycoplasma pneumoniae* in the airways of adults with chronic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:998-1001.
115. **Sur S, Crotty TB, Kephart GM,** Sudden-onset asthma: a distinct entity with few eosinophils and relatively more neutrophils in the airway submucosa? *Am R Respir Dis* 1993;148:713-719.
116. **Jatakanon A, Uasuf C, Maziak W.** Neutrophilic inflammation in severe persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160: 1532-1539.
117. **Stirling RG, Chung KF.** Severe Asthma: definition and mechanisms. *Rev Article. Allergy* 2001; 56: 825-840.
118. **Ordoñez CL, Shaughnessy TE, Matthay MA.** Increased neutrophil numbers and IL-8 levels in airway secretions in acute severe asthma: clinical and biologic significance. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161: 1185-1190.
119. **Wenzel SE, Szewfler SJ, Leung DY.** Bronchoscopic evaluation of severe asthma. Persistent inflammation associated with high dose glucocorticoids. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156: 737-743.
120. **Woodruff PG, Fahy JV.** A role for neutrophils in asthma? *Am J Med* 2002;112: 498-500.
121. **Nocker RE, Out TA, Weller FR.** Influx of neutrophils into the airway lumen at 4 h after segmental allergen challenge in asthma. *Arch Allergy Immunol* 1999;119: 45-53.
122. **Teran LM, Carroll MP, Frew AJ,** Leucocyte recruitment after local endobronchial allergen challenge in asthma. Relationship to procedure and to airway IL-8 release. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154: 469-476.
123. **Meagher LC, Cousin JM, Seckl JR.** Opposing effects of glucocorticoids on the rate of apoptosis in neutrophilic and eosinophilic granulocytes. *J Immunol* 1996;156: 4422-4426.
124. **Busse WW, Banks- Schlegel S, Wenzel SE.** Pathophysiology of severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106: 103-1042.
125. **Woodruff PG, Khashayar R, Lazarus SC, Janson S, Avila P, Boushey HA; Segal M, Fahy JV.** Relationship between airway inflammation, hyperresponsiveness, and obstruction in asthma *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 753-758.
126. **Abbas AK, Murphy KM, Sher A.** Functional diversity of Helper T lymphocytes. *Nature* 1996; 383:227-257.
127. **Bonecchi R, Bianchi G, Bordignon Panina P.** Differential expression of chemokine receptors and chemotactic responsiveness of Th1 and Th2 cells. *J Exp Med* 1998;187: 129-134.
128. **Nagata K, Tanaka T, Ogawa .** Selective expression of a novel surface molecule by human Th2 cells in vivo. *J Immunol* 1999;162:1278-1286.
129. **Constant SL, Bottomly K.** Induction of Th1 and Th2 CD4+ T cell response: the alternative approaches. *Annu Rev Immunol* 1997; 15:297-322.

130. **Romagnani S.** T- cell subsets (Th1 versus Th2). Rev Article Ann Allergy, Asthma and Immunol 2000; 85: 9-21.
131. **Salgame P, Abrams JS, Clayberger C.** Differing lymphokine profiles of functional subsets of human CD4 and CD8 T cell clones. Science 1991;254: 279-282.
132. **Erard F, Wildd MT, Garcia Sanz JA, Le Gros G.** Switch of CD8 T cells to noncytolytic CD4-CD8 cells that make Th2 cytokines and help B cells Science 1993; 260:1802-1805.
133. **Croft M, Carter L, Swain SL, Dutton RW.** Generation of polarized antigen-specific CD8 effector populations: reciprocal action of IL-4 and IL-12 in promoting type 2 versus type 1 cytokine profiles. J Exp. Med 1994;180:1715-1728.
134. **Hamelmann E, Oshiba A, Paluh J.** Requirement for CD8+ T cells in the development of airway hyperresponsiveness in a marine model of airway sensitization. J Exp Med 1996;183:1719-1729.
135. **Cohn L, Tepper JS and Bottomly.** IL-4 independent induction of airway hyperresponsiveness by Th2, but not Th1 cells. J Immunol 1998;161: 3813.
136. **Hogan SP, Koskinen A, Matthaehi KI, Young IG, Foster PS.** IL-5-producing CD4+ T cells play a pivotal role in aeroallergen-induced eosinophilia, bronchial hyperreactivity, and lung damage in mice. Am J Respir Crit Care Med 1998;157:210.
137. **Miyahara N, Takeda K, Kodama T, Joetham A, Taube C, Park JW, Miyahara S, Balhorn A, Dakhama A and Gelfand EW.** Contribution of antigen-primed CD8+ T cells to the development of airway hyperresponsiveness and inflammation is associated with IL-13. J Immunol 2004;172:2549-2558.
138. **Lane SJ, Sousa AR, Lee TH.** The role of the macrophage in asthma. Allergy 1994;49:201-209.
139. **Stein M, Keshav S.** The versatility of Macrophages Clin Exp Allergy 1992;22:19-27.
140. **Gleich GJ.** Mechanisms of eosinophil-associated inflammation. J Allergy Clin Immunol 2000;105:651-663.
141. **Woerly G, Roger N, Loiseau S, Capron M.** Expression of Th1 and Th2 immunoregulatory cytokines by human eosinophils. Arch Allergy Immunol 1999;118:95-97.
142. **Howarth PH.** The airway inflammatory response in allergic asthma and its relationship to clinical disease. Allergy 1995;50:13-21.
143. Idem al anterior.
144. Idem al anterior.
145. Idem al anterior.
146. **Woerly G, Roger N, Loiseau S, Dombrowicz D, Capron A, Capron M.** Expression of CD 28 and CD86 by human eosinophils and role in the secretion of type 1 cytokines (IL-2 e IFN- γ): Inhibition by IgA complexes. J Exp Med 1999;190:487-495.
147. **Nutku E, Aizawa H, Hudson SA, Bochner BS.** Ligation of Siglec-8 a selective mechanisms for induction of human eosinophils apoptosis. Blood 2003;101:5014-5020.
148. **Ing S, Meng Q, Zeibecoglou DS, Robinson A, Macfarlane M, Humbert and Kay.** Eosinophil chemotactic chemokines and chemokine receptor 3 expression in bronchial biopsies from atopic and non atopic asthmatics. L Immunol 163:6321.
149. **Bochner BS.** Verdict in the case of therapies versus eosinophils: The jury is still out. J Allergy Clin Immunol 2004;113:3-9.
150. **Jose, PJ, DA Griffiths-Johnson, PD Collins, DT Walsh, R Moqbel et al.** Eotaxin: a potent eosinophil chemoattractant cytokine detected in a guinea pig model of allergic airway inflammation 1994 J Exp. Med 179:881.
151. Idem al anterior.
152. **Forssmann U, Ugucioni M, Loetscher P, Dahinden CA, Langen H, Thelen M.** Eotaxin -2, a novel CC chemokine that is selective for the chemokine receptor CCR3, and acts like eotaxin on human eosinophil and basophil leukocytes. J Exp Med 1997;185:2171-2176.

- 153. Yang Ming, Hogan SP, Mahalingam S, Pope SM, Zimmermann N, Fulkerson P, et. al.** Eotaxin-2 and IL-5 cooperate in the lung to regulate IL-13 production and airway eosinophilia and hyperreactivity. *J Allergy Immunol* 2003;112:935-943.
- 154.** Idem al anterior.
- 155.** Idem al anterior.
- 156.** Idem al anterior.
- 157. Zimmermann N, Hogan SP, Mishra A, Brandt EB, Bodette TR, Pope SM, Finkelman FD and Rothenberg ME.** Murine eotaxin-2: a constitutive eosinophil chemokine induced by allergen challenge and IL-4 overexpression. *J Immunol* 2000;165:5939-5846.
- 158.** Idem a 153.
- 159. Mattles J, Yang M, Mahalingam S, Kuehr J, Webb DC, Simson L.** Intrinsic defect in T cell production of IL-13 in the absence of both IL-5 and eotaxin precludes the development of eosinophilia and airway hiperreactivity in experimental asthma. *L Exp Med* 2002;195:1433-1444.
- 160. Lui LY, Sedwick JB, Bates ME, Vrtis RF, Gern JE, Kita H.** Decreased expression of membrane IL-5 receptor alpha on human eosinophils: I. Loss of membrane IL-5 receptor alpha on airway eosinophils and increased soluble IL-5 receptor alpha in the airway after allergen challenge. *J Immunol* 2002;169:6459-6466.
- 161.** Idem al anterior.
- 162. Gregory B, Kirchem A, Phipps S, Gevaert P, Pridgeon C, Rankin SM,.** Differential regulation of human eosinophil IL-3, IL-5 and GM-CSF receptor alpha chain expression by cytokines: IL-3, IL-5 and GM-CSF down regulate IL-5 receptor alpha expression with loss of IL-5 responsiveness, but up-regulate IL-3 receptor alpha expression. *J Immunol* 2003;170:5339-5366.
- 163. Di Scipio RG, Daffern PJ, Jagels MA, Broide Dh, Srimarao P.** A comparison of C3a and C5a-mediated dddd stable adhesion of rolling eosinophils in postcapillary venules and transendddhotelial migration in vitro and in vivo. *J Immunol* 1999;162:1127-1136.
- 164. Katoh S, Matsumoto N, Kawakita K, Tominaga A, Kincade PW, Matsukura S.** A role for CD44 in an antigen-induced murine model of pulmonary eosinophilia. *J Clin Invest* 2003;111:1563-1570.
- 165.** Idem a 149.
- 166.** Idem al anterior.
- 167. Aizawa H, Plitt J, Bochner BS.** Human eosinophils express two siglec-8 splice variants. *J Clin Immunol* 2002;109:176.
- 168.** Idem al anterior.
- 169.** Idem al 149.
- 170. Leckie MJ, Brinke A, Kdhan J, Diamant Z, O'Connor BJ, Walls CM et al.** Effects of an IL-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyperresponsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* 2000;356:2144-2148.
- 171.** Idem al anterior.
- 172. Flood-Page P, Menzies-Gow A, Phipps S, Ying S, Wangoo, Ludwing MS.** Anti-IL-5 treatment reduces deposition of ECM proteins in the bronchial subepithelial basement membrane of mild atopic and non atopic asthmatoics. *J Clin Inves* 2003;112:1029-1036.
- 173. Yang D, Rosenberg HF, Chen Q, Dyer KD, Kurosawa K, Oppenheim JJ.** Eosinophil-derived neurotoxin (EDN), an antimicrobial protein with chemotactic activities for dendritic cells. *Blood* 2003;102:3396-3405.
- 174. Rafeul Alam, and Busse, WW.** The eosinophil- Quo vadis? *J Allergy Clin Immunol* 2004<, 113:38-42.
- 175.** Idem al anterior.
- 176.** Idem al anterior.

177. Idem al anterior.
178. **Mc Kenzie JR, Mattes J, Dent LA, Foster PS.** Eosinophils promote allergic disease of the lung by regulating CD4+ Th2 lymphocyte function. *J Immunol* 2001;167:3146-3155.
179. **Shi HZ, Humbles A, Gerard C, Jin Z, Weller PF.** Lymph node trafficking and antigen presentation by endobronchial eosinophils. *J Clin Invest* 2000;105:945-953.
180. **Van Rijt LS, Vos N, Hijdra D, De Vries VC, Hoogsteden HC, Lambrecht BN.** Airway eosinophils accumulate in the mediastinal lymph nodes but lack antigen-presenting potential for naïve T cells. *J Immunol* 2003;171:3372-3378.
181. **Weller PF.** Human eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:283-287.
182. Idem al anterior.
183. Idem al anterior.
184. **Garret JK, Jameson SC, Thomson B, Collins MH, Wagoner LE, Rothenberg ME, et al.** Anti-IL-5 (mepolizumab) therapy for eosinophilic syndromes. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113:115-119.
185. **Koenderman L, Coffey PJ.** Controlling allergic inflammation by of eosinophils. *Allergy* 2001;56:204-214.
186. **Pazdrak K, Stafford S, Alam R.** The activation of the Jak-STAT1 signaling pathway by IL-5 in eosinophils. *J Immunol* 1995;155:397-402.
187. Idem 185.
188. Idem al anterior.
189. **Pazdrak K, Adachi T, Alam R.** Src homology 2 protein tyrosine phosphatase (SHPTP2)/ Src homo.logy 2 phosphatase 2 (SHP2) tyrosine phosphatase is a positive regulator of the IL-5 receptor signal transduction pathways leading to the prolongation of eosinophil survival *J Exp Med* 1997;187:6396:6407.
190. Idem 185.
191. Idem al anterior.
192. Idem al anterior.
193. Idem al 174.
194. **Banchereau J, and RM Steinman.** Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998;392:245.
195. **Machida I, Matsuse H, Kondo Y, Kawano T, Saeki S, Tomari S, Obase Y, Fukushima C, and Kohno S.** Cysteinyl Leukotrienes regulate dendritic cells functions in a murine model of asthma. *J Immunol* 2004;172:1833-1838.
196. **Lambrechit B, RA Pauwels, and B Fazekas.** Introduction of rapid T cells activation, division and recirculation by intratraqueal injection of dendritic cells in TCR-transgenic model. *L Immunol* 2000;164:2937.
197. Idem 195.
198. **Kalinski P, CM Hilkens, EA Wierenga and ML Kapsenberf.** T cell priming by type1 and type 2 polarized dendritic cells: the concept of a third signal. *Immunol today* 1999;20:561.
199. Idem 195.
200. **Rissoan MC , V Soumelis, N Kadodwaki, G Grouard, F Briere, R de Waal Malefyt and YJ Liu.** Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation. *Science* 1999;283:1183.
201. Idem 195.
202. **Caron G, Delneste Y, Edith E, Duez C, Bonnefoy J, Pestel J and P Jeanin.** Histamine polarizes human dendritic cells into Th2 cell-promoting effector dendritic cell. *J Immunol* 2001;167:3682.
203. Idem 195
204. **Chu SJ, Tang LO, Watney E, Chi EY, Henderson WR,Jr.,** In situ amplification of 5-lipoxygenase and 5-lipoxygenase-activating protein in allergic airway inflammation and inhibition by leukotriene blockade. *J Immunol* 2000;165:4640.

205. Idem 195.
206. Idem al anterior.
207. Idem al anterior.
208. **Robbiani D F, Finch RA, Jager D, Muller WA, Sartorelli AC and Randolph GJ.** The leukotriene C4 transporter MRP1 regulates CCL19-dependent mobilization of dendritic cells to lymph nodes. *Cell* 2000;103: 757.
209. Idem 195.
210. **Tomee JF R van Wiessenbruch, GR de Monchy, and HF Kauffman.** Interactions between inhalant allergen extracts and airway epithelial cells: effect on cytokine production and cell detachment. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:75.
211. **Busse WW et al.** In Middleton E, Reed C. *Allergy: Principles and Practice* 1998; pag 843.
212. **Kharitonov SA; Rajakulasingam K, O'connor B, Durhasm SR, Barbes Pj.** Nasal nitric oxide is increased in patients with asthma and allergic rhinitis and be made modulated by nasal glucocorticoids. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:58-64.
213. **Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, et al.** Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatics dpatients, *Lancet* 1994;343: 133-135.
214. **Hamid Q, Springall Dr, Riveros-Moreno V, et al.** Induction of oxide nitric synthase in asthma. *Lancet* 1993;342: 1510-1513.
215. **Little SA, Chalmers GW, Mc Leod KJ, Mc Sharry C, Thomson NC.** Non invasive markers of airway inflammation as predictors of oral steroid responsiveness in asthma. *Thorax* 2000;292:1182-1183.
216. **Szeffler SJ, Martin RJ, King TS, Boushey HA, Cherniak RM, Chinchilli VM et al.** Significant variability in response to inhaled corticosteroid for persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:410-418.
217. **Strunk RC,, Szeffler SJ, Phillips BR, Zeiger RS, Chinchilli VM et al.** Relationship of inhaled nitric oxide to clinical and inflammatory markers of persitent asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:883-892.
218. **Mahut B, Declaux C Tillie-Leblond I, Gosset P, Delacout C et al.** Both inflammation and remodeling influence nitric oxide output in children with refractory asthma.
219. **Adachi T, Choudbury BK, Stafford S, Sur S, Alam R.** The differential role of extracellular signal-regulated kinase and p-38 mitogen-activated protein kinase in eosinophil functions. *J Immunol* 2000;15:2198-2204.
220. **Kankaanranta H,Lindsay MA, Giembycz MA, Zhang X, Moilanen E, Barbes PJ.** Delayed eosinophil apoptosis in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:77-86.
221. **Suh-Hwa Maa, Wang Chun-Hua, Chien-Ying Liu, et al.** Endogenous nitric oxide downregulates the Bcl-2 expression of eosinophils through mitogen-activates protein kinase in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:761-767
222. Idem a 211.
223. **Canonica GW, Ciprandi G, Passalacqua G, Pesce G, Scordamaglia A, and Banagsco M.** Molecular events in allergic inflammation: experimental models and possible modulation. *Allergy* 1997;52:25.
224. **Cagnoni F, Oddera S, Giron-Michel J, Riccio AM, Olsson S, Dellacasa P, Melioni G, Canonica GW and Azzarone B.** CD40 on adult human airway epithelial cells: expression and proinflammatory effects. *J Immunol* 2004;172:3205-3214.
225. **Propst SM, Denson R, Rothstein E, Estell K, and Schwiebert LM.** Proinflammatory and Th2-derived cytokines modulate CD40-mediated expression of inflammatory mediators in airway epithelia: implications for the role of epithelial Cd40 in airway inflammation. *J Immunol* 2001;165:2214.
226. Idem a 224.

- 227. Hellermann, G, Xiaoyuan K, Gunnarsdóttir J, San Juan H, Singam R, Behera S, Zhang W, Lockey RF, Mohapatra SS.** Mechanisms of bronchoprotective effects of a novel natriuretic hormone peptide. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:79-85.
- 228. Zubiría Consuegra E de, Zubiría Salgado E de, Zubiría Salgado A de.** Asma Bronquial. 2da Ed. 2004 Edit Panam. Cap Mediadores Inflamatorios, pag 115-125.
- 229.** Idem al anterior.
- 230.** Idem al anterior.
- 231. Church MK, Holgate ST, Shute JK, Walls AF, Sampson AP.** Mast cell derived mediators. In Middleton E, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NF. *Allergy: principles and practice.* 5th Ed 1998 p.146-167.
- 232. Kalliner M.** Asthma and mast cells activation. *J Allergy Clin Immunol* 1989;85:510-520.
- 233.** Idem a 228.
- 234.** Idem a 231.
- 235.** Idem a 238.
- 236. Smith WL, Dewitt DI, et al.** Thromboxane A2 biosynthesis in acute asthma and following antigen challenge. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:119-125.
- 237.** Idem a 228.
- 238. Gauvreau GM, Watson RM, O'Byrne PM.** Protective effects of inhaled PGE2 on allergen-induced airway responses and airway inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:31-36.
- 239.** Idem a 220.
- 240.** Idem a 228.
- 241. Profita Mirella, Sala A, Bonanno A, Riccobono L, Siena L, Melis M, Di Giorgi R, Mirabella F, Gjomarkaj M, Bonsignore G, and Vignola AM.** Increased prostaglandin E2 concentrations and cyclooxygenase-2 expression in asthmatic subjects with sputum eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:709-716.
- 242. Owen WF Jr, Soberman RJ, Yoshimoto T, Sheffer AI, Lewis RA, Uusten KF.** Synthesis and release of leukotriene C4 by human eosinophils. *J Immunol* 1987;138:532-538.
- 243. Wenzel SE, Larsen GL, Johnson K et al.** Elevated levels of leukotriene C4 in bronchoalveolar lavage fluid from atopic asthmatics after allergen challenge. *Am Rev Respir Dis* 1990;142: 112-119.
- 244. Kharitonov SA, Barbes PJ.** Exhaled markers of pulmonary diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1693-1722.
- 245. Hunt J.** Exhaled breath condensate : an evolving tool for noninvasive evaluation of lung disease. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:28-34.
- 246.** Idem 228.
- 247. Zanconato S, Carraro S, Corradi M, Alinovi R, Pasquale MF, Piacentini G, Zacchello F, Baraldi E.** Leukotrienes and 8-isoprostane exhaled breath condensate of children with stable asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:257-263.
- 248. Dworski R.** Oxidant stress in asthma. *Thorax* 2000; 55:S51-53.
- 249.** Idem a 231.
- 250.** Idem a 231.
- 251.** Idem a 228.
- 252.** Idem a 228.
- 253. Chan-Yaung M, Lam S, Chan H, et al.** The release of platelet-activating factor into plasma during allergen-induced bronchoconstriction. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:667-673.
- 254. Cuss F, Dixon CMS, Barnes PJ.** Effects of inhaled platelet activating factor on pulmonary function and bronchial responsiveness in man. *Lancet* 1986;2:189-192.
- 255.** Idem a 228.

- 256. Proud D, Kaplan AP.** Kinin formation mechanisms and role in inflammatory disorders.. *Annu Rev Immunol* 1988;6:49-83.
- 257.** *Idem* a 228.
- 258. Evans TW, Rogers DF, Aursudjig B et al.** Inflammatory mediators involved in antigen-induced airway microvascular leakage in Guinea Pigs. *Am Rev Respir Dis* 1998;138:395-399.
- 259.** *Idem* a 231.
- 260. Postma Ds, Rankema TEJ, Noordhoeck JA, Fabel H, Slutler HJ, Kauffman H.** Association between nonspecific bronchial hyperreactivity and superoxide anion production by polymorphonuclear leucocytes in chronic air-flow obstruction. *Am Rev Resp Dis* 1988;137:52-61.
- 261.** *Idem* a 231-
- 262. Nonaka M, Nonaka R, Wooley K,et al.** Distinct immunohistochemical localization of IL-4 in human inflamed airway tissues. IL-4 is localized to eosinophils in vivo and is released by peripheral blood eosinophils. *J Immunol* 1995;155:3234-3244.
- 263.** *Idem* al anterior.
- 264. Fitch PS, Brown V, Schock BC, Ennis M, and Shields MD.** IL-4 and IL-4 soluble receptor alpha levels in bronchoalveolar lavage from children with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003;90:429-433.
- 265. Schleimer RP, Sterbinsky Sherry A, Kaiser J, Bickel CA, Klunk DA, Tomioka K, Newman W et. al.** IL-4 induces adherence of human eosinophils and basophils but not neutrophils to endothelium. *J Immunol* 1992;148:1086-1092.
- 266.** *Idem* a 264.
- 267.** *Idem* al anterior.
- 268. Schauer U, Schmitt M, Muller S et al.** Soluble IL-4 receptor in atopic children. *Aech Allergy Immunol* 1995;108:46-54.
- 269. Renz H, Bradley K, Enssle K, et al.** Prevention of the development of immediate hypersensitivity and airway hyperresponsiveness following in vivo treatment with soluble IL-4 receptor. *Arch Allergy Immunol* 1996;109:167-176.
- 270.** *Idem* a 264.
- 271. Hamid Q, Azzawi M, Ying S, Moqbel R, Wardlaw AJ, Corrigan CI, et al.** Expression of mRNA for IL-5 in mucosal bronchial biopsies from asthma, *J Clin Invest* 1991; 87:1541-1546.
- 272. Nakamura Y, Ghaffar O, Olivenstein R, Taha Ra, Soussi-Gounni A, Zhang DH, Ray A, Hamid Q,** Gene expression of the GATA-3 transcription factor is increased in atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:215-222.
- 273.** *Idem* a 271.
- 274. Robinson Ds, Ying S, Bentley AM, Meng Q, North J, Durham SR, et al.** Relationships among numbers of bronchoalveolar lavage cells expressing messenger ribonucleic acid for cytokines, asthma symptoms, and airway methacholine responsiveness in atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:397-403.
- 275.** *Idem* a 272.
- 276.** *Idem* a 272.
- 277.** *Idem* a 231.
- 278.** *Idem* a 228.
- 279.** *Idem* a 272.
- 280. Prieschl EE, Gouilleux- Gruart V, Wlaker C, Harrer NE, Baumruker T.** A nuclear factor activated T cell-like transcription factor in mast cells is involved in IL-5 gene regulation after IgE plus antigen stimulation. *J Immunol* 1995;154:6112-19.
- 281.** *Idem* a 272.
- 282. Zheng WP, Flavell RA.** The transcription factor GATA -3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells. *Cell* 1997;89-587-596.

283. Idem a 272.
284. Idem a 272
285. **Abbas** . Inmunología y biología molecular Cap . Citoquinas pag.
286. **Bochner Bruce S, Busse WW**. Advances in mechanisms of allergy. L Allergy Clin Immunol 2004; 113:868-875.
287. **Rogmagnani S**. T cell subsets (Th1 versusTh2). Ann Allergy Asthma Immunol 2000;85:9-21.
288. Idem a 231.
289. **Malefyt RD, Figdor CG, Huijbens R, Mohan-Peterson S, Bennett B, Culpepper J et al**. Effects of IL-13 on phenotype, cytokine production, and cytotoxic function of human monocytes: comparison with IL-4 and modulation by IFN- γ or IL-10. J Immunol 1993;151:6370
290. **Bochner B, Klunk DA; Sterbinsky A, Coffman RL, and Schleimer RP**. IL-13 induces vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial selectively cells.J Immunol 1995;154:799-803.
291. Idem al anterior.
292. **Li LI, Xia Y, Nguyen A, Lai YH, Feng Lili, Mosmann TR and Lo D**. Effects of Th2 cytokines on chemokine expression in the lung:IL-13 potently induces eotaxin expression by airway epithelial cells. J Immunol1999;162:2477-2487.
- 293 a 296. Idem al anterior.
- 297 a 302. **Kelly Wech AE, Melo MEF, Smith E, Ford AQ, Haundenschild C, Noben-Trauth N, and Keegan AD**. Complex role of the IL-4 receptor alpha in a murine model of airway inflammation: expression of the IL-4 receptor alpha on nonlymphoid cells of bone marrow origin contributes to severity of inflammation. J of Immunol 2004;172:4545-4555.
- 303 a 306. **Tagawa Y, Bamford RN, DeFillipis AP, et al**. IL-15 a pleiotropic cytokine with diverse receptor/ signaling pathways whose expression is controlled at multiple levels. Immunity 1996;4:329-336.
307. **Armitage RJ, Macduff BM, Eisenman J, Paxton R, Grabstein KH**. IL-15 has stimulatory activity for the induction of B cell proliferation and differentiation. J Immunol 1995;154:483-490.
- 308 y 309. **Mori A, Suko M, Haminuma O, Ohmura T, Nishizaki Y, et al**. IL-15 promotes cytokine production of human T helper cells. J Immunol 1996;156:2400-2405.
- 310 y 311. **Kurz T, Strauch K, Dietrich H, Braun S, Hierl S, Jerkic SP, Wienker TF; Deichmann KA, Heinzman A**. Multilocus haplotype analyses reveal association between 5 novel IL-15 polymorphisms and asthma. J Allergy Clin Immunol 2004;113:896-901.
312. **Yao Z, Painter SI, Fanslow WC, Ulrich D, Macduff BM, Spriggs MK et al**. Human IL-17: a novel cytokine derived from T cells. J Immunol 1995;155:5483-5486.
313. **Kotake S, Udagawwa N, Matzusaki K, Itoh K, Ishiyama S et al**. IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. J Clin Invest 1999;103:1345-1352.
- 314 a 319. **Kawaguchi M, Kokubu F, Kuga H, Matsukura S, Hoshino H, Ieki K, Imai T, Adachi M and Huang SK**. Modulation of bronchial epithelial cells by IL-17. J Allergy Clin Immunol 2001;108:804-809.
- 320 a 322. **Kenyon NJ, Kelly EA, and Jarjour NN**. Enhanced cytokine Generation by peripheral blood mononuclear cells in allergic and asthma subjects. Ann Allergy Asthma Immunol 2000;85:115-120.
- 323 a 331. **Litonjua AA, Sparrow D, Guevarra L, O'Connor GT, Weiss ST, and Tollerud DJ**. Serum interferon gamma is associated with longitudinal decline in lung function among asthmatic patients: the Normative Aging Study. Ann Allergy Asthma Immunol 2003;90:422-428.
- 332 y 333. **Joseph J, Benedict S, Badrinath P, Wassef S, Joseph M, Abdulkhalik S and Nicholls MG**. Elevation of plasma transforming growth factor beta 1 in stable nonatopic asthma. Ann Allergy Asthma Immunol 2003;91:472-476.

- 334. Haneda K, Sano K, Tamura G, Sato T, Habu S, Shirato K.** TGF- β induced by oral tolerance ameliorates tracheal eosinophilia. *J Immunol* 1997;159:4484-4490.
- 335 a 337.** Idem a 332.
- 338. Chu HW, Trudeau JB, Balzar S, Wenzel SE.** Peripheral blood and airway tissue expression of transforming growth factor beta by neutrophils in asthmatic subjects and normal control subjects *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:1115-1123.
- 339 a 341.** Idem a 332.
- 342 a 351. Oddy WH, Halonen M, Martinez FD, Lohman IC, Stern DA, Kurzius M, Guerra S and Wright A.** TGF- β in human milk is associated with wheeze in infancy. *J Allergy Immunol* 2003;112:723-728.
- 352 y 353- El-Mezzein REH, Matsumoto T, Nomiya H, and Miike T.** Increased secretion of IL-18 in vitro by peripheral blood mononuclear cells of patients with bronchial asthma and atopic dermatitis. *Clin Exp Immunol* 2001;136:193-198.
- 354 y 355. Hofstra CL, Van Ark I, Hofman G, Kool M, Nijkamp P, and Van Oosterhout AJM.** Prevention of Th2-like cell response by coadministration of IL-12 and IL-18 is associated with inhibition of antigen-induced airway hyperresponsiveness, eosinophilia, and serum IgE levels. *J Immunol* 1998;161:5054-5060.
- 356 y 357. Wong CK, Ho CY, KO WS, Chan CH, HO SS; HUI SC, and Lam CWK.** Proinflammatory cytokines (IL-17, IL-6, IL-18 and IL-12) and Th cytokines (IFN- γ , IL-4, IL-10 and IL-13) in patients with allergic asthma. *Clin Exp Immunol* 2001;125:177-183.
- 358. Wild JS, Sigounas A, Suir N et al.** IFN- γ inducing factor (IL-18) increases allergic sensitization, serum IgE, Th2 cytokines, and airway eosinophilia in a mouse model of allergic asthma. *J Immunol* 2000; 164:2701-2710.
- 359 y 360.** Idem a 356.
- 361 y 362. Habib T, Nelson A, and Haushansky K.** IL-21: a novel IL-2 family lymphokine that modulates B, T, and natural killer cell response. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:1033-1045.
- 363 a 369. Busse WW, Horwitz RJ, and Reed C.** In Middleton; Allergy: Principles and Practice ; Rol of adhesion molecules in asthma pag 846 5th Ed. 1998.
- 370. Björnsdóttir US, Cypcar DM.** Asthma: an inflammatory mediator soup. *Allergy* 1999;54:55-61.
- 371. Wegner Cd, Gundel RH, Reilly P, Haynes N, Letts LG, Rothlein R.** Intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in the pathogenesis of asthma. *Science* 1990;247:456-459.
- 372. Cengizlier R, Demirpolat E, Túlek N, and Çakmak F.** Circulating ICAM-1 levels in bronchial asthma and the effect of inhaled corticosteroids. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000;84:539-541.
- 373 a 375.** Idem a 370.
- 376 y 377. Wardlaw Aj, Walsh GM, Symon FA.** Mechanisms of eosinophil and basophil migration. *Allergy* 1994;49:797-807.
- 378.** Idem a 370.
- 379 a 385. Gangur V, DVM, and Oppenheim JJ.** Are chemokines essential or secondary participants in allergic response? *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000 ;84:569-581.
- 386 y 387. Bochner BS, Hudson SA, Xiao HQ, and Liu MC.** Release of both CCR4-active and CXCR3-active Chemokines during human allergic pulmonary late-phase reactions. *J Allergic Clin Immunol* 2003;112:930-934.
- 388 a 390.** Idem a 379.
- 391. Abel et al.** The transmembrane CXCL16 chemokine ligand. *J Immunol* 2004
- 392 a 394.** Idem 379.
- 395. Bochner BS, and Busse WW.** Advances in mechanisms of allergy . *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:868-875.

- 396 a 398. Rimaniol AC, Till SJ, Gilles Garcia, Capel F, Dodot V,,Balabanian K, et al.** The CX3C chemokine fractalkine in allergic asthma and rhinitis J Allergy Clin Immunol 2003;112:1139-1146.
- 399. Ma Bing, Zhu Zhou, Homer RJ, Gerard C, Strieter R and Elias JA..** The C10/CC10 chemokine and CCR1 play critical roles in the pathogenesis of IL-13-induced inflammation and remodeling. J Immunol 2004;172:1872-1881.
- 400 a 402. Hart LA, Krishnan VL, Adcock IM et al.** Activation and localization of transcription factor, nuclear factor-kappa B in asthma. Am J Res`pir Crit Care Medd 1998;158:1585-1592.
- 403 Zimmermann N, Mishra A, King NE, Fulkerson PC et al.** Transcript Signature in experimental asthma: Identification of STAT 6-dependent and Independent pathways. J Immunol 2004 172:1815-1824.
- 404 y 405. Weeb DC, McKenzie AN, Yang M, Mattes J and Foster PS.** Integrated signals between IL-13, IL-4, and IL-5 regulate airways hyperreactivity J Immunol 2000;165:108
- 406 a 409. Luo C, Burgeon E, Rao A.** Mechanisms of transactivation by nuclear factor of activated T cells-1. L Exp Med 1996;184:141-147.
- 410.** Idem a 404
- 411.** Idem a 282.
- 412 a 414. Ghaffar O, Christodoulopoulos P, Lamkhioued B et al.**

