

# ESTUDIO DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA CELULAR A TRAVÉS DEL LAVADO BRONCO ALVEOLAR EN ASMA ALÉRGICA, POR ASPIRINA Y EN LAS ALVEOLITIS ALÉRGICA EXTRÍNSECA

Juan C Muño<sup>1,2</sup>; Roberto Garnero<sup>1</sup>; Ricardo Caillet Bois<sup>3</sup>; María J Gregorio<sup>2</sup>; Mercedes Ferrero<sup>4</sup>; Marta Romero- Piffiguer<sup>4</sup>

1. Sección Alergia e Inmunología 2. Servicio de Clínica Médica  
3. Endoscopia - Hospital Misericordia 4. LIIDO

## Resumen

La respuesta inflamatoria asmática presenta diferentes tipos de células involucradas en este proceso, tales como: linfocitos, eosinófilos. En manos experimentadas el lavado broncoalveolar (LBA) es un procedimiento bien tolerado y con gran valor como herramienta para la investigación de los mecanismos básicos en asma y otras enfermedades respiratorias de origen inmunológico.

El propósito de este trabajo fue estudiar las diversas células involucradas en la respuesta inflamatoria asmática de pacientes alérgicos, o sensibles a aspirina y compararlos con aquéllos que padecen alveolitis alérgica extrínseca por medio del LBA. Hemos estudiados 27 pacientes asmáticos. Divididos por su etiología en 19 alérgicos (a) (9 de sexo masculino y 10 femeninos), demostrado por la caída del VEF 1  $\geq$  al 20 % de tipo reversible y dos o más pruebas cutáneas positivas para aéreo-alérgenos, comunes de la región; 8 sensibles a aspirina (b) (4 masculinos y 4 femeninos) demostrado por desafío progresivo con aspirina y caída del VEF 1  $\geq$  al 20 %. Ambos grupos de asmáticos se compararon con 9 pacientes que padecían Alveolitis Alérgica Extrínseca (8 masculinos y 1 femenino) demostrado por biopsia pulmonar (c). Se determinó en todos los pacientes, niveles de IgE sérica total. LAB en todos los pacientes según el procedimiento estándar. La células se contaron en el LBA y separadas en Eosinofilos, Linfocitos T totales por anti CD 3, linfocitos B por antiinmunoglobulinas de superficie G,M,A,E., Linfocitos CD 4 +, Linfocitos T CD 8 + por antimonoclonales respectivamente. Los niveles de IgE fueron para (a) 630 $\pm$ 350 kU/l, para (b) 85 $\pm$ 62 kU/l, para (c) 55  $\pm$  23 kU/l. p<.0005. Los porcentajes de eosinofilos fueron para (a)

25  $\pm$  13 %, para (b) 28 $\pm$  15 %, NS y para (c) 0. P<.0005. Los niveles de linfocitos T fueron para (a) 43  $\pm$  14 %, para (b) 32  $\pm$  15 % y para (c) 54  $\pm$  19 % (NS). Los linfocitos CD 4 fueron 30  $\pm$  10 % para (a), 24  $\pm$  11 % para (b) y 8 $\pm$ 6 % para (c) p<.005. Los linfocitos CD 8 +, fueron en (a) 8 $\pm$ 6 %, en (b) 7  $\pm$ 4 % y en (c) 44  $\pm$  15 %, p<.005. Los linfocitos B fueron 8  $\pm$  4 % en (a), 2. 9 $\pm$ 2.5 en (b) y 3  $\pm$  2 en (c), p <.025.

Los hallazgos descritos aquí sugieren fuertemente la importancia de los linfocitos CD 4 + y eosinófilos en el asma en general tanto para las formas alérgicas como para las inducidas por aspirina. Los pacientes con alveolitis alérgica extrínseca tienen otro claro perfil celular representado por la presencia dominante de CD8 +.

**Palabras Clave:** Asma - eosinófilos, linfocitos CD4+, alergia, IgE, Aspirina, alveolitis alérgica extrínseca, linfocitos CD8+.

## Abstract

The asthmatic inflammatory responses present different type of cells involved in this process, such as: Lymphocytes and Eosinophils. In experienced hands the bronchoalveolar lavage (BAL) is a well-tolerated and valuable tool for investigation of basic mechanisms in asthma and other immunological respiratory diseases. The purpose of this work was to study the different cells involved in asthmatic inflammatory responses in allergic and aspirin sensitivity patients and compared with Extrinsic Allergic Alveolitis patients (EAA) by BAL procedure. We studied 27 asthmatic patients. This group was divided by etiological conditions in: allergic asthmatic patients (a) (n: 19), (9 male and 10 female) demonstrated

by reversible fall of FEV<sub>1</sub> (3) 20% and 2 or more positive skin test for common aeroallergens. The aspirin asthmatic patients (b)(n: 8) (5 male and 3 female) demonstrated by progressive challenge with aspirin and fall of FEV<sub>1</sub> (3) 20%. The third group with compatible symptoms and signs of EAA, demonstrated by lung biopsy, (n: 9) (8 male and 1 female) (c). We determined in all patients: Total IgE serum level by ELISA test. BAL was performed by standard procedure in all patients. The cells count were performed in BAL and were separated in Eosinophils, T lymphocytes defined by monoclonal anti CD 3 antibody, Lymphocytes CD 4 and CD 8 by monoclonal anti CD 4 and CD 8 antibodies respectively. The B lymphocytes defined by surface immunoglobulin isotypes IgG, IgM, IgA and IgE. The IgE level was in (a) 630±350 kU/L, in (b) it was 85±62 kU/L and in EAA (c) 55±23 kU/L, p<.0005. Eosinophil percentage in (a) was 25±13 % of cells, in (b) was 28±15 % of cells, NS, and 0 in (c), p<.0005. Lymphocytes T level was 43±15 % of cells in (a), it was 32±15 % of cells in (b) and it was 54±19 % of cells in (c), NS. Lymphocytes CD 4 (+) level was 30±10 % of cells in (a), it was 24±11 % of cells in (b) and it was 8±6 % of cells in (c), p<.005. Lymphocytes CD8 level was 8±6 % of cells in (a), it was 7±4 % of cells in (b) and it was 44±15 % of cells in EAA (c), p<.005. Lymphocytes B level was 8±4 % cells in (a), it was 2.9±2.5 % cells in (b) and it was 3±2.7 % of cells in (c), p<.025.

The features described here suggest the importance of the Eosinophils and CD 4+ Lymphocytes in asthmatic response of allergic asthmatic patients as well as in aspirin sensitivity asthmatic patients.

The LBA cellular profile of E.AA patients presented eosinophilia and CD8+ Lymphocyte predominance when compared with both asthmatic cellular profile.

**Key words:** asthma, eosinophils, CD4+ Lymphocytes, Allergy, IgE, Aspirine Extrinsic Allergic Alveolitis, CD8+ Lymphocytes.

### Introducción

El asma bronquial es una enfermedad obstructiva reversible de la vía aérea tanto en forma espontánea o por acción farmacológica.

(1) Ella se caracteriza por tres hechos centrales: 1° obstrucción de la vía aérea, 2° inflamación y 3° la hiperrespuesta de la misma. (1, 2, 3) Esta enfermedad está unida en la gran mayoría de los casos a la atopía (70%), es decir a la predisposición a manifestar enfermedades tales como rinitis, conjuntivitis, asma, eczema. Todas ellas están acompañadas de una elevación de la IgE sérica, y pruebas cutáneas positivas a aéro alérgenos comunes del medio ambiente. (3, 4, 5, 6, 7) Esta elevación de la IgE está correlacionada con la duración, intensidad, y multiplicidad de la respuesta asmática alérgica. (5, 6, 7, 8) Pero no todos los asmáticos responden con esta fisiopatogenia que implica inflamación bronquial IgE dependiente. Esto es lo que ocurre en el asma por aspirina o por antígenos ocupacionales de bajo peso molecular, donde el hecho crucial probablemente esta representado por la infiltración primero de neutrófilos y luego de eosinófilos. (4, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15) Además los linfocitos T CD 4+, aparecen tanto en asmáticos atópicos como en no atópicos. (4, 10, 12, 14, 16, 17) Como colorario, estos hallazgos indicarían que el asma bronquial es mediada por múltiples mecanismos de inflamación, donde la activación de los linfocitos es muy importante, aunque su exacta función no está definida en la actualidad. (16, 17) Por otra parte podemos comparar el asma bronquial con otras patologías inflamatorias pulmonares inmunológicas no mediadas por IgE, cuyo ejemplo más claro es la Alveolitis Alérgica Extrínseca (AAEx) o neumonitis por hipersensibilidad. En esta última patología podemos destacar un perfil inflamatorio absolutamente diferente al de los asmáticos, aunque con un elemento común la presencia de linfocitos en los bronquios y alvéolos. (7, 18, 19, 20)

El objetivo de este trabajo fue estudiar, por medio de la técnica del lavado broncoalveolar, la respuesta inflamatoria celular local en pacientes asmáticos atópicos con desarrollo espontáneo de su asma bronquial, así como asmáticos por aspirina luego de desarrollo progresivo, y compararlos con pacientes que presentan alveolitis alérgica extrínseca.

### Material y Métodos

Se realizó un estudio prospectivo desde agosto de 1999 hasta julio del 2001 con



pacientes que presentaban cuadros clínicos de asma alérgica inhalatoria, por aspirina y neumonitis por hipersensibilidad, que concurren a la Sección Alergia e Inmunología del Servicio de Clínica Médica del Hospital Misericordia.

A todos ellos se les realizó:

- 1° Historia clínica: donde se controló sexo edad, antecedentes familiares de atopía, tiempo de evolución de la enfermedad pulmonar. Examen físico completo con especial atención al tórax. Radiografía de Tórax
- 2° Nivel sérico de IgE por ELISA, según técnica previamente descrita (21), tomando como valor máximo normal para la ciudad de Córdoba, 154 kU/l. (22)
- 3° Pruebas intradérmicas para los siguientes aéro - alérgenos comunes de la zona de Córdoba: Dermatofagoides pteronossynnus, (Greer), 100 UA/ml, Gato 10 UBE (Greer), Celtis Tala 10 PNU/ml, Gramíneas 100 PNU/ml, Ambrosias 100 PNU/ml, Amaranthus 100 PNU/ml, Alternaria 100 PNU/ml, Hormodendrum 100 PNU/ml, Penicillium 100 PNU/ml, Aspergillus 100 PNU/ml, todos del Laboratorio Dr Cetti Córdoba. Se utilizaron como testigo positivo fosfato de histamina 2.75 mg/ml. Greer y testigo negativo líquido de dilución fosfato balanceado.

Los pacientes se dividieron por sus manifestaciones clínicas en:

- I: Asmáticos alérgicos (n:19)
- II: Asmáticos por aspirina (n:8)
- III: Alveolitis Alérgica Extrínseca (n:9)

Los pacientes con asma por aspirina fueron definidos según lo previamente descrito. (9, 23,24, 25)

Este grupo se caracteriza por:

- a) Pacientes asmáticos sin antecedentes familiares de atopía
- b) Niveles de IgE sérica por debajo de 154 kU/l
- c) Pruebas cutáneas negativas a aéro-alérgenos mencionados antes.

- d) Antecedentes de asma al tomar aspirina y o AINES, o cuadro compatible con ASA tríada. A todos ellos se les hizo un desafío progresivo con aspirina, según las indicaciones de Stevenson y Simon. (9, 23,24,25,26)

Las pruebas de provocación se efectuaron en pacientes totalmente libres de síntomas asmáticos, para poder comprobar el valor del procedimiento.

Los pacientes fueron desafiados en el mismo día con dosis progresivas de 10, 30, 50, 100, 250 y 500 mg de aspirina como dosis máxima total.

La certificación del asma fue realizada con la medición del flujo espiratorio forzado en un segundo (VEF1) antes y después de la realización del desafío y por un período de 6 horas. Una caída  $\geq$  al 20 % o más del VEF 1 con respecto al basal se consideró positiva. (24, 25)

El grupo control de 9 individuos sin enfermedad atópica aparente, que padecían A. A. Ex, definida de acuerdo a lo previamente descrito (20, 27)

1. Antecedente familiar negativo de atopía
2. Ningún hallazgo típico de enfermedad atópica
3. Niveles séricos de IgE por debajo de 154 kU/l
4. Pruebas cutáneas negativas para aéro-alérgenos comunes a la zona de su domicilio.

#### Procedimientos:

- A) Pruebas cutáneas: Se utilizó la técnica de la intradermoreacción, inyectando una cantidad suficiente de líquido para producir una pápula de 5mm. Los antígenos que fueron utilizados son la lista de aéro - alérgenos mencionados más arriba. La lectura de las pruebas se realizó a los 20 minutos desde el inicio del procedimiento de acuerdo con la escala de Norman para pruebas cutáneas (28) Se consideró como característica de atopía la presencia de dos o más pruebas positivas según lo definido previamente. (26)

## B) Escala de Norman para lectura (28):

Grado	Eritema (mm)	Pápula (mm)
0	< 5	< 4
±	5 - 10	5 - 10
1 +	11 - 20	5 - 10
2 +	<b>21 - 30</b>	<b>5 - 10</b>
3 +	31 - 40	11- 15 *
4 +	> 40	> 15 *

\* La presencia de Seudópodos eleva a 1 + más el grado obtenido por la pápula

\* Las lecturas 3 + y 4 + son consideradas positivas y 0, ±, 1+ y 2+ son consideradas negativas.

## A) Lavado Bronco alveolar (LBA)

Se realizó siguiendo lo descrito previamente. (29, 30, 31, 32) El procedimiento fue realizado con un fibroscopio flexibe con cámara de video Toshiba, en el Servicio de Endoscopia del Hospital Misericordia. A los pacientes previa anestesia local con xylocaína tópica al 4 % y luego de un tiempo prudencial entre 5 y 10 minutos de realizada la anestesia local, se le introduce el fibroscopio y se explora el árbol bronquial. En el lóbulo de la llingua (pulmón izquierdo) y medio ( pulmón derecho) se introducen en cada sector 120 ml de solu-

ción salina fisiológica estéril, en alícuotas de 20 ml, con reaspiración después de unos segundos con aparato de succión de uso clínico. El líquido recuperado de cada lóbulo fue analizado, consistiendo en: a) medición del volumen recuperado, b) recuento de células recuperadas en cámara de Neubauer, c) recuento diferencial de células obtenidas (500 células), de una preparación centrifugada y teñida con Papanicolau modificado, para diferenciar linfocitos, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos. (33)

## B-1

Recuento de Eosinófilos en LBA según la escala propuesta por Mygind (33)

Grado	% de Eosinófilos
0	< 5
± leve eosinofilia	6 a 9
+ moderada eosinofilia	10 a 49
++ marcada eosinofilia	> 50

+ y ++ son considerados como hallazgos que acompañan al asma bronquial

## B -2

El recuento de linfocitos T y B así como de las subpoblaciones respectivas CD 4 y CD8, fueron hechas del líquido del LBA recuperado y centrifugado 34, 35. **El pellet obtenido fue fijado en formol para evitar la destrucción por digestión enzimática. Los linfocitos así obtenidos fueron procesados para recuento de linfocitos T totales por CD3 y en sus dos subpoblaciones con anticuerpos monoclonales por inmunofluorescencia.(IF) Los reactivos usados se describen a conti-**

**nuación: Anticuerpo monoclonal de ratón anti-CD3 humano, Laboratorios DAKO. El anticuerpo monoclonal que se une al linfocito fue revelado por un anticuerpo IgG de cabra anti - ratón conjugado con fluoresceína obtenido del Laboratorio DAKO.**

Inmunofluorescencia: el análisis de la población de linfocitos fue realizado por medio de inmunofluorescencia indirecta. Los linfocitos son tratados con 5 ml de solución de

anticuerpo reconstituido y puesto sobre baño de hielo por 40 minutos. Las células fueron lavadas dos veces y suspendidas en 0,1 ml de dicho medio. Se le agregó 0,1 ml del anticuerpo de cabra anti monoclonal de ratón acoplado a fluoresceína en dilución 1:10. Después de 30 minutos las células fueron lavadas tres veces y suspendidas en medio de lavado, siendo puesta con un suplemento con 3mM de EDTA. Las células con fluoresceína fueron contadas con el microscopio de luz ultravioleta. (Zeiss) La posibilidad de background en la técnica de fluoresceína fue controlada incubando células de ascitis de peritoneo de ratón con anticuerpo anti-ratón de cabra acoplado con fluoresceína. La sub-poblaciones de linfocitos T CD4 y CD8 fueron estudiadas con el mismo método antes descrito y con anticuerpos monoclonales en anti CD 4 y anti CD 8 obtenidos en laboratorio Dako. (34,35)

**Linfocitos B:** Se utilizan anticuerpos anti-inmunoglobulinas humanas de cabra acoplado a isotiocianato, (Laboratorio Dako). Con ellos se determina la presencia de inmunoglobulinas en la superficie de los linfocitos. Los anti - sueros para los isotipos IgG, IgA, IgM e IgE fueron usados por separado. Además sueros anti cadena pesada se utilizaron para eliminar reactividad cruzada entre diversas clase de inmunoglobulinas.

El antisuero fluorescente fue diluido a una concentración proteica total de 2mg/ml e incubado en alícuotas iguales de linfocitos en suspensión por 30 minutos a temperatura ambiente. Los extendidos son preparados con las células del pellet lavadas y examinadas en un

microscopio de luz ultravioleta. La fluorescencia fue observada en la membrana de los linfocitos como un casquete o con un patrón periférico difuso. El porcentaje de células que presentaban fluoresceína luego de la incubación fue determinado por separado con anti IgG, IgA, IgM, IgE. La suma total indica la cantidad total de linfocitos B. (34,35)

C- **Determinación de IgE total por ELISA, 21.** La cantidad de IgE es determinada por una curva estándar y se expresa en kU/l. El principio biológico consiste esencialmente en incubar con las muestras (estándar, control y de los pacientes) partículas recubiertas con anti - IgE humana de conejo, con posterior incubación, lavado y reacción enzimática.

D- **Metodología Estadística:** Test de correlación, y varianza de ANOVA.

Todos los pacientes dieron su consentimiento para el estudio y los procedimientos a realizar. El protocolo fue autorizado por el Comité de Capacitación Docencia e Investigación, así como del Comité de Ética del Hospital Ntra Sra de la Misericordia.

## Resultados

Los pacientes estudiados se agruparon en 19 asmáticos atópicos, 8 asmáticos por aspirina y 9 con Alveolitis Alérgica Extrínseca, ver tabla I

Tabla I: Sexo, Edad y tipo de patología de los pacientes estudiados

Patología	Masculino	Femenino	P	Edad en años	P
Asma Alérgica (n:19)(a)	9	10	NS	38 ± 15	a vs b < .01
Asma por AAS (n:8)(b)	4	4	NS	49±9.9	b vs c < .05
A.A.Ex. (n: 9) (c)	8	1	<.0005	41±14	a vs c NS

Los asmáticos alérgicos presentaron un nivel de IgE de  $630 \pm 350$  kU/L, en concordancia con su condición de atópicos, diferentes

fueron los niveles de los asmáticos por aspirina de  $85 \pm 62$  kU/L y en las Alveolitis Alérgicas Extrínsecas de  $55 \pm 23$  kU/L,  $p < .0005$ , fig. 1.

Fig. 1

Niveles de IgE sérica por ELISA en Asma Alérgica, por AAS y Alveolitis Alérgica Extrínseca

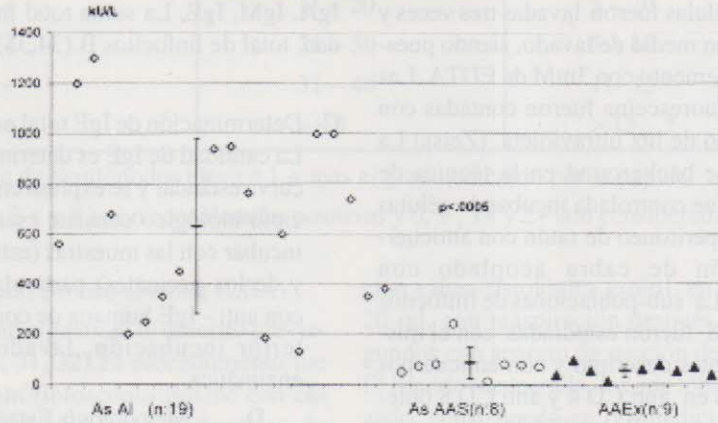


Fig. 2

Niveles de Eosinófilos en esputo de Asmáticos Alérgicos (n:18), por AAS (n:8) y AAEx (n:9)

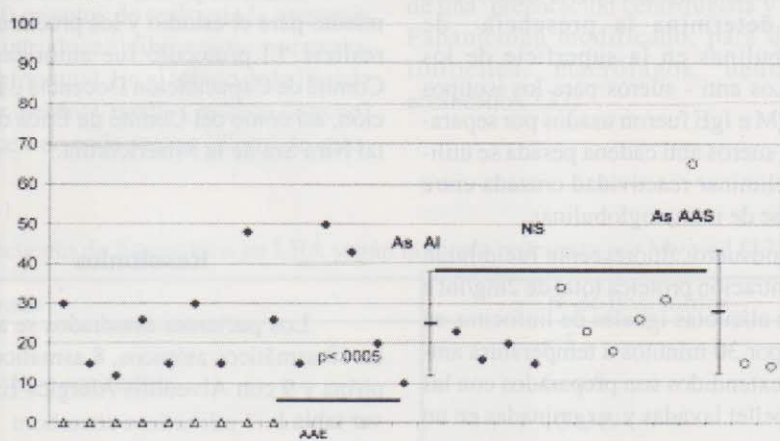


Fig. 3

Niveles de linfocitos T totales en esputo demostrados por anticuerpos anti CD3

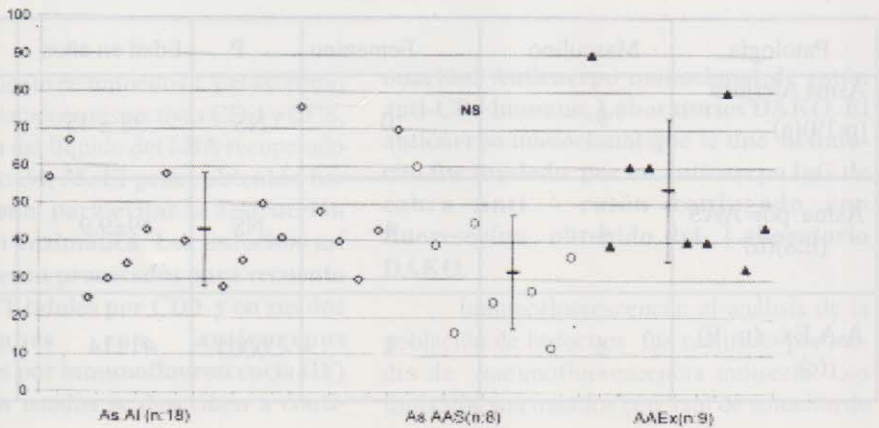


Fig. 4

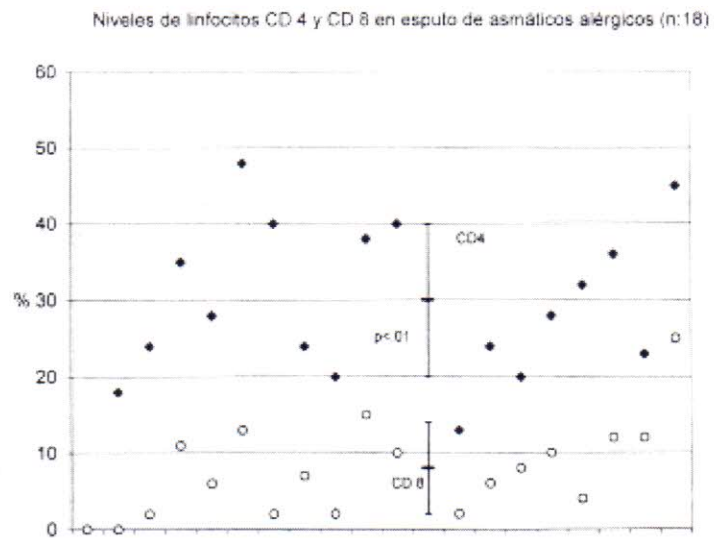


Fig. 5

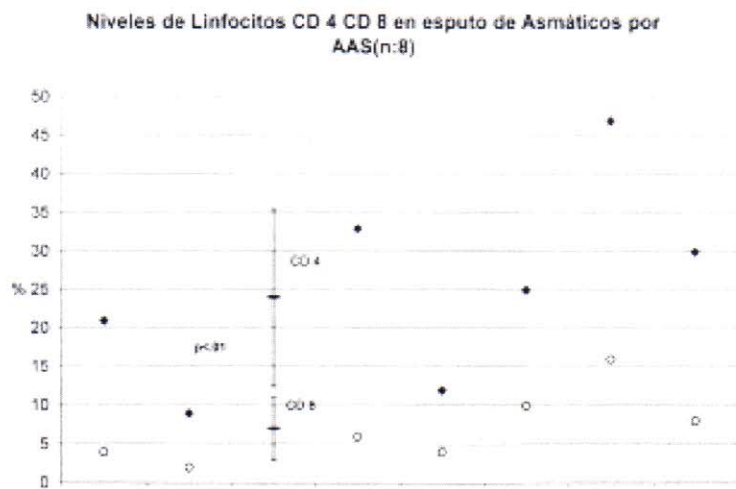


Fig. 6

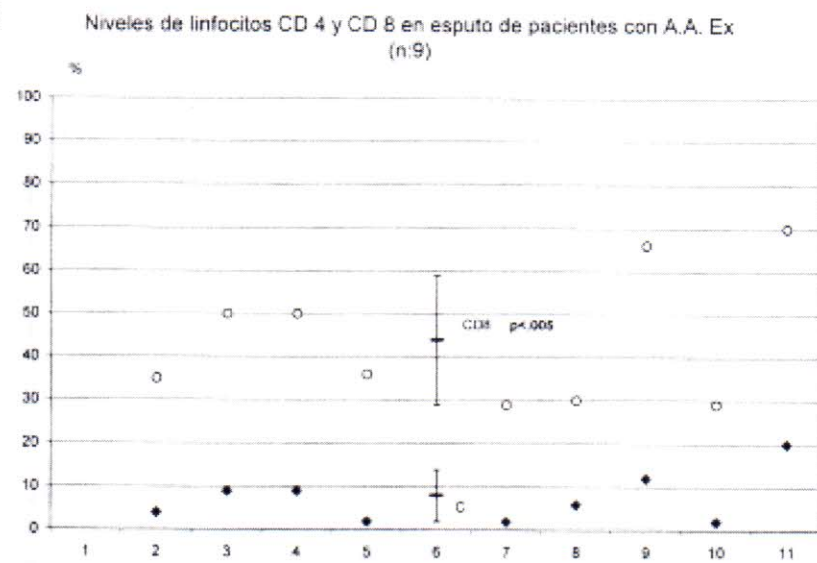
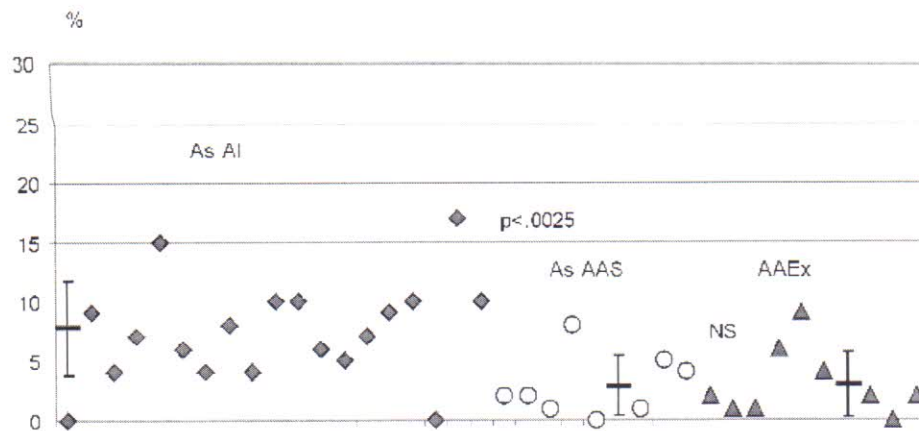


Fig. 7 Niveles de Linfocitos B en Esputo de Asmáticos Alérgicos (n:18), por AAS (n:8) y AAEx (n:9)



En el LBA, los eosinófilos presentaron en los Asmáticos Alérgicos  $25 \pm 13$  %, en los Asmáticos por Aspirina:  $28 \pm 15.5$  células %, mientras que en las alveolitis alérgica extrínseca no registraba eosinofilia, fig. 2.

Los estudiados de las células del LBA, presentaron para los Linfocitos T en asmáticos alérgicos  $43 \pm 15$  % de células, en asmáticos por AAS  $32 \pm 15$  %, y en Alveolitis Alérgica Extrínseca  $54 \pm 19$  %, NS, fig. 3.

Las subpoblaciones de linfocitos CD4 fueron en los Asmáticos alérgicos de  $30 \pm 10$  células % y los linfocitos CD 8:  $8 \pm 6$ , células %,  $p < .01$ , fig 4. Este perfil es similar a los asmáticos por aspirina, donde CD 4 es  $24 \pm 11.5$  células % y CD 8 de:  $7 \pm 4$  células %,  $p < .01$ , fig. 5. En estos dos grupos de asmáticos si comparamos los niveles de linfocitos CD 4 y CD8 no había diferencia significativa entre ambos. El perfil de los pacientes con Alveolitis Alérgica Extrínseca fue para linfocitos CD 4 de:  $8 \pm 6$  células % y para CD 8:  $44 \pm 15$  células %,  $p < .005$ , fig. 6.

Los linfocitos B presentaron en los asmáticos alérgicos un nivel de  $7.8 \pm 4$  %, en los asmáticos por AAS  $2.9 \pm 2.5$  % de células,  $p < .0025$  y las Alveolitis Alérgicas extrínsecas similares a los asmáticos por AAS  $3 \pm 2.7$ , NS, pero diferente a los asmáticos alérgicos,  $p < .0025$ , fig. 7.

Se debe destacar que un paciente asmático alérgico incluido en la primer parte del estudio, presentó falta de células de inflama-

ción y sólo se hallaron células epiteliales, por que los resultados presentados en asmáticos alérgicos respectos a las células corresponden a 18 casos.

### Discusión.

Este estudio fue realizado por el método del lavado broncoalveolar, el mismo a pesar de ser invasivo es bien tolerado y tiene la virtud de ser muy exacto. Dicho método permite estudiar las poblaciones de células que integran la inflamación del árbol bronquial en diversas patologías respiratorias, entre ellas el asma 29, 30, 31, 32.

Así es que en nuestros dos grupos de asmáticos, tanto alérgicos como por Acido acetil salicílico, el eosinófilo está aumentado significativamente en los bronquios, indicando la clara relación de la enfermedad asmática con el mismo. En este importante hecho se coincide con diversos autores. 7, 10, 11, 12, 14, 15, 35, 36, 37, 38, 39, 40 El hecho que todos los LBA se realizaron en individuos que presentan un VEF1  $\geq$  al 60 % del valor predicho nos indica que dicho estudio se focaliza en individuos con asma moderada 1, 2, 41, 42.

Es interesante destacar que la eosinofilia está ligada a diversas formas etiológicas de asma, tanto en asma alérgica, por aspirina y/o TDI 11, 12, 14, 15, 35, 36, 37, 38, 42. La presencia de eosinofilia en estos pacientes, está asociada con la fase retardada de su asma, he-



cho que se encuentra 6 a 12 horas después de haber comenzado la crisis de asma o luego de ser provocada 14, 29, 30, 43, 44. Por ello los asmáticos por aspirina fueron desafiados y el estudio se realizó luego de las 8 horas del inicio de la prueba. La presencia de eosinofilia corrobora este hallazgo cardinal. La vía precisa por la cual los eosinófilos son reclutados en el pulmón y luego activados es controvertida, pero probablemente esta regulada por linfocitos CD 4 Th2, tanto para alérgicos atópicos como por aspirina, hecho que hemos encontrado en nuestra investigación 14, 16, 17, 42. A pesar de que estos hallazgos son coincidentes con los de otros autores, no podemos en la actualidad dejar establecida una clara explicación del modo en que dichos linfocitos orquestan esta inflamación. Por ello es que los linfocitos Th 2 desempeñan un papel más importante que lo previamente dicho sobre el asma bronquial, sugiriendo que el aumento del porcentaje de linfocitos T CD 4 está en relación probable con la magnitud de la obstrucción del árbol bronquial 14, 44, 45.

Por otra parte estudios de Romagnani (46), han demostrado que factores genéticos y del ambiente pueden influir en la diferenciación de las células T CD 4 en Th1 y Th2. Así es que la presencia de IL4 en el sitio de presentación antigénica induce localmente la producción de IgE en un perfil Th2 de los linfocitos. Esto es seguido por la liberación de IL5 y acúmulo de eosinófilos que probablemente sea la célula más importante de la inflamación asmática. Aunque en los asmáticos por aspirina no hay niveles elevados de IL 4, existe una liberación al medio de IL 5. Esta citocina es un factor que promueve la maduración, quimioquinesis y quimiotactismo de los eosinófilos que se localizan en el árbol respiratorio de los asmáticos por AAS y en el asa triada 11, 12, 23, 24, 25, 36, 37, 42, 43, 44.

El asma así caracterizada por una persistente inflamación de la vía aérea, está asociada con la hiperrespuesta de la misma a numerosos estímulos, cuyo efecto final es la limitación del flujo respiratorio.

La respuesta inflamatoria alérgica inducida por alérgenos en asma atópica incluye el escape de IL4/IL5 y FNT a (45), ellos reclutan al eosinófilo, el cual desde la microvasculatura llega al pulmón, donde es activado y produce

la liberación de sus gránulos, cuyo efecto tóxico provoca la agresión del epitelio del árbol bronquial. Así es que en la forma crónica pueden llegar a re-modelar el árbol bronquial con activación de los fibroblastos, angiogénesis y depósito de colágeno alterado, cuyo efecto final es la fibrosis 10, 11, 14, 47, 48, 49.

Por otra parte en los pacientes asmáticos alérgicos existe un aumento de los linfocitos B si se comparan con el LBA de aquellos pacientes con asma por AAS y los que padecían alveolitis alérgica extrínseca. Este hallazgo se puede explicar por la importancia de la activación de los linfocitos B en forma local para la producción de IgE in situ que tienen todos los pacientes alérgicos, riniticos y asmáticos, hecho en el que coincidimos con diversos autores 6, 7, 16, 17, 50.

Otro aspecto a analizar en los resultados de este estudio es el perfil celular de las A.A.Ex, donde las células predominantes son los linfocitos TCD8 +, sin eosinófilos y con escasa cantidad de linfocitos B (20).

Por todo lo expuesto, los linfocitos T CD 4 Th2 y los eosinófilos son realmente importantes en la fisiopatología inflamatoria del asma bronquial. Podemos inferir que la presencia de eosinófilos precede a una exacerbación aguda del asma, como lo encontramos en los casos provocados con aspirina. Además se conoce que el asma nocturna está unida a un aumento de los eosinófilos en el esputo en horas de la madrugada, esto sugiere fuertemente que la inflamación de la vía aérea por el eosinófilo, tiene un efecto final que se caracteriza por la caída del VEF 1 10, 38, 39, 43.

## Conclusiones

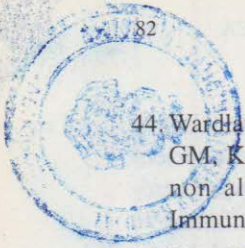
1. Las células implicadas en la respuesta inflamatoria asmática tanto alérgica como por aspirina, son los eosinófilos y los linfocitos T CD 4 +.
2. Este método es relativamente agresivo a pesar de ser invasivo y muy sensible para determinar la respuesta inflamatoria del asma, la cual es de un perfil muy diferente a otras inflamaciones pulmonares, como es el caso de la Neumonitis por Hipersensibilidad o Alveolitis Alérgica Extrínseca.
3. Todos estos hallazgos probablemente per-

miten afirmar que la severidad del asma está unida a niveles elevados de CD 4 con perfil Th2 y de eosinófilos, siendo esto un elemento apropiado para establecer una metodología de tratamiento que inhiba dicha inflamación y por lo tanto la severidad del asma.

### Bibliografía

1. Woolcock A, Barnes PJ. Asthma an Overview. In Asthma. Barnes, Grunstein, Leff, Woolcock Editors. Lippincot - Raven. Philadelphia. 1997; pp 3-8
2. Busse WW, Parry DE. The Biology of Asthma. In Asthma. Barnes, Grunstein, Leff. Woolcock editors. Lippincot - Raven. Philadelphia. 1997; pp 721 - 33
3. Lefrak SS, Senior RR. Pathophysiology of Asthma in Allergy Theory and Practice. Korenblat, Wedner editors. 2<sup>nd</sup> edition, WB Saunders Philadelphia. 1992. Pp387-95.
4. Lind P, Læwenstein H. Characterization of asthma associated allergens. Baillière's Clin. Immunol. Allergy. 1988; 2: 67 - 89.
5. Meyers DA, Blecker ER. Genetics of Allergy Disease. In Allergy Principles and Practice. Edited by Middleton E, Reed Ch E, Ellis E, Adkinson NF, Yunginger JW, Busse WW. Mosby St Louis, 1998; pp 40-45..
6. Leung DYM. Allergic Immune Response In Allergy, Asthma & Immunology, from Infancy to Adulthood. 3<sup>rd</sup> edition. Bierman, Pearlman, Shapiro, Busse, Editors. WB Saunders, Philadelphia, 1996; pp68-78.
7. Muño, Wolff EG, Castro CC, Garip E, Gagliardi RJ, Rodríguez Saá R, Rey AE, Minervini C. Ferrero M., Romero - Piffiguer M. Estudio de los niveles de CD 23 soluble, IgE y eosinofilia en la respuesta inflamatoria del asma bronquial. Arch Arg Alergia e Immunol Clin. 1994; 25: 25-33.
8. Romagnani S. Ricci M. Present View on the regulation of Human IgE Synthesis. ACI News, 2:192196, 1990.
9. Manning ME, Stevenson DD, Mathison DA. Reactions to Aspirin and other anti-inflammatory drugs. Immunol. Allergy Clin North Am, 1992; 12: 611-31.
10. Adachi M, Miyamoto M, Minoguchi K. Induced Sputum and Eosinophilic Inflammation. ACI International 1998; 10: 176 -80.
11. Gleich GJ. Mechanisms of eosinophil-associated inflammation. J Allergy Clin. Immunol. 2000; 105; 651-63..
12. Fabbri LM, Maestrelli P, Sietta M, Mapp CM. Mechanisms of occupational asthma. Clin. Exp. Allergy. 1994; 24: 628 -35.
13. Wenzel SE. The significance of neutrophils in asthma? Clin Exp Allergy, 2001, 31 (S2) 89 -2.
14. Kay AB/ Mechanism in allergic and chronic asthma which involve eosinophils, neutrophils, lymphocytes and other inflammatory cells. Baillière's Clin. Immunol. Allergy. 1988; 2: 1- 14.
15. Sampson AP. Eosinophils: provokers or bystanders in asthma?. Clin Exp Allergy 2001; 31 (S2): 73 -6
16. Hofstra CL, Van ARK I, Savelkoul HFJ, Cruikshank WW, Nijkamp FP, Van Oosterhout AJM. Vβ8 + T lymphocytes are essential in regulation of airway hyperresponsiveness and bronchoalveolar eosinophilia but not in allergen - specific IgE in a murine model of allergic asthma. Clin. Exp Allergy, 1998; 28 : 1571 -80.
17. Anderson GP Lymphocytes: arbiters of airway inflammation. Clin Exp Allergy, 2001 (S2) 80 -4
18. Romagnani S, Del Pretee GF, Maggi E, Ricci M. Th1 and Th2 cells and Their Role in Disease. ACI New, 1993; 5: 19 -22.
19. Carrasco O, Undurraga A, Rojas L S. Comparación de resultados entre lavados broncoalveolares línula y lóbulo medio en enfermedad pulmonar intersticial. Enf. Resp y cirugía torácica. 1988; 4: 184 - 9.
20. Fink JN, Zacharisen MC. Hypersensitivity Pneumonitis. In Allergy Principles and Practice. Edited by Middleton E, Reed Ch E, Ellis E, Adkinson NF, Yunginger JW, Busse WW. Mosby St Louis, 1998 ; pp 994- 1004...
21. Nieto A, Carbonetto Ch. Enzimoinmunoensayo. En Inmunología e Inmunoquímica. 4<sup>a</sup> edición. Margni Editor. Panamericana. Bs As 1989; pp 571 - 86.

22. Fernández E, Chiotti G, Gallino N, Rosenblum N. Valores normales de la IgE sérica total en la población de Córdoba, Experiencia Médica 1983;1: 1-12.
23. Geba GP. Aspirine and Exercise induced Asthma. In Fishman's Pulmonary Diseases Fishman AP, Elias JA, Fishman JamGrippi MA, Kaiser LR, Senior RM, Editors. McGraw-Hill. New York. 1998; 745 - 55.
24. Dahlén B, Zetterström, Dajlén SE. Specific problem : asthma induced by aspirin and and other non - steroidal anti inflammatory drugs. In Manual of Asthma Management. O'Byrne P, Thomson NC Editors. Saunders, Spain, 2001. 452-62.
25. Stevenson DD, Simon RA Sensivity to Aspirin and Nonsteroidal antiinflammatory drugs, in Allergy, Principles and Practice. Edited by Middleton E, Reed Ch E, Ellis E, Adkinson NF, Yunginger JW, Busse WW. Mosby St Louis. 1998. 1225- 34.
26. Muiño JC, Castro CC, Gagliardi JR, Wolff EG, Gómez RM, Guglielmone H, Alé AM, Ferrero M, Romero MD. Regulación de la respuesta inflamatoria de la Aspergilosis alérgica broncopulmonar por antigenos clase III del CMH, (C4, C2, FB) CD 23 soluble y fallas de la fagocitosis. Rev Med de Córdoba . 1997; 85: 2-12.
27. Muiño JC, Castro CC, Gagliardi JR, Wolff EG, Romero MD, Garzón M, Gallino N. Extrinsic Allergic Alveolitis by Occupational Antigens. ACI International, 1999;11: 73 -8.
28. Norman PS. Pruebas cutáneas en Laboratorio en Inmunología Clínica. Rose/Friedman editores. Panamericana. Bs As, 1984 pp 878 -82.
29. Tonnel AB, Joseph M, Wallaert B. Bronchoalveolar lavage in the study de allergic asthma. Baillière's Clin. Immunol. Allergy. 1988;2: 177 - 95.
30. González C, Díaz P, Galleguillos F, Ansic P, Cronwell O, Kay AB. Allergen - induced recruitment of bronchoalveolar Helper (OKT 4) and suppressor (OKT8) cells in asthma. American Review of Respiratory Disease, 1987; 136 ; 600 -4.
31. Muiño JC, Georggiett OC, Avalos S, Gómez RM, Ferrero M, Romero- Piffiguer DM. Estudio de los linfocitos totales, linfocitos T, linfocitos CD 4, linfocitos CD 8 y linfocitos B en sangre periférica de pacientes con cáncer de pulmón o bronquitis crónica. Rev Med Córdoba. 2000; 88: 25 -30
32. Ädelroth E. Bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies. In Manual of Asthma Mangement 2 ° edition. O'Byrne PO, Thomson NC. Saunders; Spain. 2001 119 -4.
33. Mygind N. Eosinophils leucocytes in Allergy. Blackwell Scientific Publications. London. 1978: 170-181.
34. Leung DYM, Rodhes AR, Geha RS. Enumeration of T cells subsets in atopic dermatitis using monoclonal antibodies. J. Allergy Clin. Immunol. 1981;67:450-5.
35. Neiburger RG, Neiburger JB, Dockhorm RJ. Distribution of peripheral blood T and B lymphocytes markers in atopic children and changes during immunotherapy. J Allergy Clin Immunol. 1978;61:88-2.
36. Frigas E, Gleich GJ. The eosinophils and pathophysiology of asthma. J Allergy Clin Immunol. 1986;77:527-37.
37. Walker Ch, Kaegi M, Braun P, Blaser K. Activated T cells and Eosinophilia in Bronchoalveolar lavages from subjects with disease severity. J. Allergy Clin Immunol. 1991; 88:935-42.
38. Sampson AP. IL5 priming of eosinophil function. Clin Exp Allergy 200; 31:513 - 7.
39. Jacoby DB, Castello RM, Fryer AD. Eosinophils recruitment to airway nerves. J Allergy Cin Immunol .2001; 107: 211-8.
40. Malo JL, Chang -Yeung M Occupational Ashma J Allergy Clin Immunol 2001;108: 317-28.
41. O'Byrne PM. Allergy and airway hyperresposiveness. Baillière's Clin. Immunol. Allergy. 1988;2: 127 - 42.
42. Juniper EF. Assessment of asthma control: Quality of Life. In Manual of asthma management. PO'Byrne, Thomson NC, Editors. Saunders. Spain 2001; 135 - 42.
43. Parameswaran K, Hargreave F. Assessment of asthma control, markers of inflammation. Manual of Asthma Management O'Byrne PM, Thomson NC Editors. Saunders, Spain; 2001: 143 -7.



- 44. Wardlaw AJ, Kurihara K, Moqbel R, Walsh GM, Kay AB. Eosinophils in allergic and non allergic asthma. *Baillière's Clin. Immunol. Allergy.* 1988;2: 15-36
- 45. Fahy JB. Reducing IgE levels as a strategy for treatment of asthma. *Clin Exp Allergy.* 2000; 30, Supplement 1: 16-21.
- 46. Romagnani S. " The Th2 Hypothesis in Allergy. *ACI International.* 1998; 10: 158-64.
- 47. Sampson AP. The role of eosinophils and neutrophils in inflammation. *Clin Exp Allergy.* 2000; 30, Supplement 1: 22-27.
- 48. Holgate ST. The role of mast cells and basophils inflammation. *Clin Exp Allergy.* 2000; 30, Supplement 1: 28-32.
- 49. Redington AE. Fibrosis and airway remodeling. *Clin Exp Allergy.* 2000;30, Supplement 1: 42-45 .
- 50. Djukanovic R. The role of co-stimulation in airway inflammation. *Clin Exp Allergy.* 2000;30, Supplement 1: 46-50.