

## Expertos Invitados

### ● LA TERAPIA CON AEROSOLES EN EL ASMA BRONQUIAL



Columnista Experta de SIIC  
**Dra. Sunita Sharma**

Lecturer in Pharmacology Department. Specialization field Pharmacology., Nagpur, India

#### Introducción

El asma es un trastorno inflamatorio crónico caracterizado por la hiperreactividad de la vía aérea a diferentes estímulos y se manifiesta a través de episodios de tos, sibilancias, rigidez torácica y dificultad para respirar. Es un problema de salud serio y afecta a más de 100 millones de personas a lo largo del mundo <sup>1</sup>.

La terapia con inhaladores es la vía lógica para el tratamiento debido a que presenta mayores ventajas que la vía oral e intravenosa.<sup>2</sup> La administración mediante aerosol permite transportar la droga hacia el órgano blanco y se obtiene un rápido comienzo de acción con dosis pequeñas y mínimos efectos sistémicos colaterales.<sup>3</sup> En la antigüedad, el humo que se obtenía quemando hojas de efedra, de datura e incluso de tabaco se utilizaba como remedio contra el asma. Pero con la disponibilidad de la adrenalina, desde fines de la década de 1920, la inhalación de vapores medicinales se convirtió en un tratamiento establecido.<sup>4</sup>

Un aerosol está compuesto por un grupo de partículas con baja velocidad de precipitación que permanecen suspendidas en el aire por largo tiempo. Para generar un aerosol se requiere energía para romper las fuerzas de cohesión entre las partículas y su posterior condensación o evaporación para obtener partículas del tamaño deseado.<sup>5</sup> Las partículas aerosolizadas avanzan hacia la superficie del tracto respiratorio por distintos mecanismos físicos<sup>6,7</sup> como impactación inercial, precipitación por gravedad, difusión browniana, intercepción y fuerzas electrostáticas.

El depósito del aerosol en el tracto respiratorio depende de la anatomía de éste (por ejemplo: el diámetro de la vía aérea, los ángulos de sus ramas y la distancia promedio hasta la pared alveolar)<sup>8</sup> y la selección de la vía de ingreso (respiración bucal o nasal). El factor más importante es el tamaño de las partículas debido a que los aerosoles terapéuticos contienen gotitas de diferentes tamaños. El diámetro aerodinámico mediano de masa (MMAD) (por ej.: la mitad de la masa del aerosol contenida en las partículas grandes y la otra mitad en las partículas pequeñas) se utiliza para describir estos aerosoles. Las partículas de 1 a 5  $\mu\text{m}$  se depositan principalmente en las vías aéreas pequeñas de conducción y en los alvéolos (intervalo respirable) y de esta forma se produce el efecto clínico, mientras que las partículas de 5 a 10  $\mu\text{m}$  tienen un pico de depósito en las vías aéreas superiores de conducción<sup>9,10</sup> y, a medida que se incrementa el tamaño de las partículas, aumenta el depósito en la orofaringe.<sup>11</sup> La higroscopicidad y la evaporación también afectan el depósito.<sup>12</sup> Los aerosoles volátiles pueden disminuir su volumen debido a la evaporación, mientras que los higroscópicos pueden aumentarlo en forma drástica.<sup>13</sup> Otro factor es la velocidad de la inhalación, si ésta es rápida aumenta la probabilidad de que la droga se deposite por impactación en la orofaringe y en las vías aéreas de conducción de mayor calibre; en cambio, si es

lenta y sostenida, el número de partículas que alcanzan las regiones periféricas del pulmón es mayor.<sup>14,15</sup> La retención del aire al final de la inhalación facilita que dichas partículas ingresen en la periferia pulmonar y se depositen en la vía aérea por efecto de la gravedad.<sup>16</sup> Por razones obvias, las enfermedades respiratorias pueden influir sobre la distribución de las partículas inhaladas.<sup>17,18</sup> Sin embargo, la obstrucción de la vía aérea no parece ser un obstáculo para el tratamiento con aerosoles, siempre y cuando ésta no se halle obstruida por mucosidad.

Los sistemas de administración de aerosoles son de dos tipos:

*Sistemas de administración activa:* generan y dirigen el aerosol hacia el paciente (nebulizadores e inhaladores de dosis medida [IDM] con espaciador o sin espaciador).

*Sistemas de administración pasiva:* el paciente primero produce el aerosol y luego lo inhala (inhaladores de polvo [IP]).

### *Nebulizadores*

Los nebulizadores tienen un compresor que bombea el aire a alta presión, un tubo conectado al compresor, una cámara nebulizadora donde se coloca la medicación y una cámara facial o pieza bucal para inhalar la droga. Existen dos tipos de nebulizadores: los nebulizadores "a chorro" y los ultrasónicos.<sup>4</sup>

En los nebulizadores a chorro, una corriente de aire comprimido u oxígeno es forzada a través de un tubo estrecho que cuyo extremo está apenas en contacto con la superficie del fluido para nebulizar. El líquido se eleva por el efecto Venturi y se fragmenta en gotitas por la alta velocidad del chorro de aire.<sup>19</sup> Durante la nebulización sólo un 10% de la droga alcanza los pulmones, un 80% queda atrapado en el reservorio, el tubo y la máscara; el resto es exhalado. Las ventajas de este tipo de nebulizador son que el rendimiento del aerosol es alto, el tamaño de las partículas es pequeño (por lo que la medicación alcanza la pequeña vía aérea más eficazmente), el paciente puede inhalar con respiración corriente y se puede administrar una mezcla de drogas.<sup>4</sup> Las desventajas son: que es grande, requiere una fuente de energía, tiene un costo inicial elevado, es ruidoso y se enfría durante la operación.<sup>5</sup>

En el nebulizador ultrasónico, un cristal piezoeléctrico genera vibraciones que transforman las oscilaciones eléctricas de alta frecuencia en oscilaciones mecánicas que a su vez se acoplan con el líquido a nebulizar.<sup>20</sup> La turbulencia de alta frecuencia crea un *spray* a partir del cual las gotitas del aerosol pueden ser impulsadas fuera del aparato a través de la corriente de aire. Las ventajas de este tipo de nebulizador son que los pacientes pueden inhalar durante la respiración corriente, se pueden administrar varias drogas en forma conjunta y se entibia durante la operación,<sup>4</sup> pero es más caro, requiere una fuente de energía, la administración de la droga consume más tiempo y el tamaño de las partículas es mayor.

Los nebulizadores pueden utilizarse en distintos pacientes, por ejemplo en los individuos con asma grave y con asma crónica que no pueden ser estabilizados con otros dispositivos de inhalación. También juegan un papel importante en pacientes ancianos y pequeños que no pueden manejar otros inhaladores. Pero ocupan mucho espacio, las dosis altas pueden provocar toxicidad y el tratamiento consume más tiempo, por se usan mayormente en la práctica hospitalaria.

Los nebulizadores convencionales desperdician el aerosol y contaminan el ambiente.<sup>21</sup> Para disminuir los efectos no deseados de los nebulizadores portátiles convencionales los nebulizadores con "salida abierta" son una opción y permiten que el aire ingrese durante la fase inspiratoria, favorecen que la cantidad de aerosol sea mayor y reducen el tamaño de las partículas. Esto conduce a la disminución en la duración de la nebulización.<sup>22,23</sup>

En un estudio, Fergusson y col.<sup>24</sup> encontraron que el tratamiento con salbutamol nebulizado en pacientes con asma grave se asoció con un aumento del 56.5% en el porcentaje medio del flujo máximo, mientras que Cook y col.<sup>25</sup> encontraron que la saturación media de oxígeno presentó un incremento del 2.6% luego de la terapia con salbutamol nebulizado. En nuestro estudio<sup>26</sup> encontramos que mediante la nebulización con salbutamol en niños la mejoría máxima (93.89%) del flujo espiratorio máximo (FEM) fue mayor que con IDM e IP debido a que este sistema no requiere la sincronización en la respiración ni depende del flujo inspiratorio. En otro estudio, la nebulización con dexametasona en el tratamiento de urgencia de niños asmáticos se asoció con una mejoría más rápida de los síntomas, con una administración de la droga más confiable y con

menos recaídas que las observadas con la prednisolona por vía oral.<sup>27</sup>

Otras drogas que se pueden administrar con nebulizador son terbutalina, fenoterol, bromuro de ipratropio, budesonida y cromoglicato de sodio.

#### *Inhaladores de dosis medida*

La introducción de los IDM en 1950 fue el avance más significativo en el sistema de liberación de drogas en aerosol.<sup>28</sup> Las distintas partes de un IDM comprenden un frasco que contiene la droga (disuelta o en suspensión) junto con el propelente y el surfactante, una pieza bucal para poder administrar la medicación y un disparador para liberar la droga.<sup>4,5</sup> Los contenedores de aerosoles presurizados se venden con válvulas medidoras que al ser activadas liberan un volumen determinado (25-100 ml) de su contenido. El IDM es el sistema más utilizado en el presente.<sup>29-31</sup>

En general, el propelente es un compuesto clorofluorocarbonado (CFC), biológicamente inactivo y en estado líquido cuando es presurizado, que al ser liberado en la atmósfera se evapora rápidamente y hace que las partículas micronizadas de la droga que se encuentran suspendidas o disueltas en él sean despedidas a alta velocidad en forma de aerosol. El surfactante es el responsable del sabor característico, y el propelente, de la frescura. En condiciones ideales, la cantidad de droga que un aerosol presurizado libera en el pulmón es el 10% de la dosis medida.<sup>32</sup> El resto de la droga se deposita en la orofaringe y es ingerida y absorbida en el tracto gastrointestinal.

En un estudio se comparó la eficacia del salbutamol liberado por IP, IDM presurizados y nebulizadores en 9 pacientes con asma bronquial y se encontró que el volumen espiratorio forzado mejoró en forma significativa con los IDM presurizados.<sup>33</sup>

El problema es que muchos pacientes son incapaces de manejar el aerosol presurizado en forma eficiente debido a la falta de coordinación entre la activación y la inspiración. Por lo tanto, el interés se centra en diversos dispositivos de extensión (espaciadores) que "almacenan" el aerosol durante unos pocos segundos antes de la inhalación.<sup>34,35</sup> Los espaciadores permiten que las gotitas que se mueven rápidamente se enlentezcan y que las más grandes se evaporen y reduzcan su tamaño para facilitar la inhalación del aerosol. Este proceso intenta minimizar los efectos de la mala sincronización, reducir el depósito en la orofaringe y aumentar la dosis que ingresa en el pulmón.<sup>36</sup> Otra desventaja de los IDM al utilizar el espaciador es la sensación de frío que producen los CFC en la pared faríngea (el efecto freón, por ejemplo, impide respirar cuando el propelente es liberado en la boca).

Los espaciadores vienen en distintos tamaños (con un largo que varía entre 10 y 25 cm y volúmenes desde 120 ml hasta mayores de 1 000 ml) y formas (cilíndricos, cónicos o con forma de pera). La electricidad estática se acumula en muchos espaciadores de plástico o policarbonato y atrae las partículas de la droga, que se cargan al ser generadas por el IDM. Un método simple para reducir la carga en el espaciador es lavarlo y secarlo con aire. Para mejorar la administración de la droga con el IDM hay nuevos tipos de espaciadores con cámaras metálicas que almacenan temporalmente el aerosol<sup>37</sup> y espaciadores no electrostáticos<sup>38</sup> o cámaras de almacenamiento con una máscara facial adosada, para niños, y otros dispositivos como el "autohaler", accionado por la respiración.

Selroos<sup>39</sup> llevó a cabo un estudio para evaluar el efecto del dipropionato de beclometasona administrado con IDM con espaciador o sin espaciador y sugirió que los efectos adversos podrían minimizarse mediante la utilización de dispositivos espaciadores. Nuestra experiencia<sup>40</sup> también demuestra que el FEM mejora en forma notable cuando el salbutamol y la beclometasona se administran con IDM y espaciador, mientras que los efectos adversos como la hipokaliemia disminuyen.

En otro estudio reciente, los autores encontraron que a pesar de que no hubo diferencia significativa en el índice de admisiones hospitalarias entre los pacientes del grupo tratado con IDM con espaciador o del grupo tratado con nebulizador, la mejoría en el flujo máximo y en la saturación arterial de oxígeno fue estadísticamente mayor en el grupo con IDM con espaciador. Los pacientes de este grupo permanecieron menos tiempo en la sala de urgencias y recibieron dosis más bajas de salbutamol.<sup>41</sup>

Otro problema importante con el IDM es que los propelentes CFC participan en la reducción de la capa de ozono en la estratósfera terrestre que evita que el exceso de rayos UV alcance la superficie de la Tierra. Es por esto que se están evaluando extensamente otros propelentes como los hidrofluoroalcanos HFA134a y HFA227.<sup>43-48</sup> Otro problema con el IDM es que los individuos tienen dificultad para determinar cuándo es el momento de reemplazar su IDM<sup>49</sup> mientras que algunos encuentran el espaciador algo engorroso o inconveniente para el uso, lo que puede reducir la adhesión a la terapia.

Los IDM con agonistas beta-2 contienen salbutamol, sulfato de terbutalina, hipobromuro de fenoterol,<sup>50</sup> xinafoato de salmeterol,<sup>51</sup> formoterol,<sup>52</sup> pirbuterol y mesilato de bitolterol.<sup>53</sup> Los dos esteroides más utilizados en los IDM son el dipropionato de beclometasona y budesonida; otros son acetato de triamcinolona,<sup>54</sup> flunisolida,<sup>55</sup> y propionato de fluticasona.<sup>56</sup> Estas drogas presentan menor actividad sistémica cuando son administrados mediante IDM y espaciador que con los IP en dosis similares. Otros agentes antiasmáticos disponibles en IDM son el cromoglicato disódico, el nedocromil sódico, el bromuro de ipratropio y el bromuro de oxitropio. Aunque el IDM requiere buena coordinación entre la activación manual y la respiración y contiene CFC, en el presente es el sistema de liberación más utilizado porque es liviano, fácil de transportar, de bajo costo, administra la droga rápidamente, contiene varias dosis, tiene alto grado de aceptación por los pacientes<sup>57</sup> y la mayoría de las drogas contra el asma se encuentran disponibles en este sistema.

### **Inhaladores de polvo**

Los IP son otra forma de terapia con aerosoles y fueron introducidos alrededor de 1960. En estos dispositivos la droga se encuentra en forma de polvo finamente dividido con un transportador de glucosa o lactosa en una cápsula de gelatina. Una vez instalada en el aparato la cápsula se abre en forma mecánica al rotar el dispositivo y el polvo es liberado sólo cuando el paciente inhala.<sup>5</sup>

El dispositivo original que contenía una cápsula de cromoglicato de sodio se llamaba *spinhaler*. En 1970 aparecieron en el mercado IP que contenían betaestimulantes y corticoides.<sup>4</sup>

Croner<sup>58</sup> analizó el efecto clínico del salbutamol en polvo y en aerosol en 43 niños con asma bronquial y concluyó que el IP es una alternativa útil cuando el uso del aerosol es difícil o no es deseado.

Para superar el problema de cargar la cápsula en cada ocasión, como con el IP de dosis única, se encuentran disponibles los inhaladores de dosis múltiples como los "*diskhalers*" y "*turbuhalers*".<sup>4</sup> También se halló que con los inhaladores de dosis múltiples el índice de inhalación con una técnica "inadecuada" es menor, mientras que en los pacientes que utilizan *rotahaler* e ID

M es similar.<sup>59</sup> El estudio de Lodfdahl y col.<sup>60</sup> demostró que la respuesta que induce el salbutamol administrado mediante "*turbuhaler*" es mejor que la que provoca al ser administrado mediante IDM presurizado.

El problema con los IP es que no producen aerosoles con un tamaño de partículas selectivo como los IDM y que la liberación de la droga depende de varios factores externos entre los que se encuentran el tamaño inicial de las partículas respirables, la humedad ambiental, la presión inspiratoria generada por el paciente, la frecuencia del flujo inspiratorio y la resistencia al flujo aéreo del IP.<sup>61</sup> La aglutinación del polvo secundaria a la humedad o el tipo de excipiente puede reducir en forma notable el rendimiento de los IP.<sup>62</sup> Parece probable que en el futuro el uso de IP para el tratamiento del asma bronquial aumente debido a que son livianos, no requieren la coordinación entre la activación manual y la respiración, la administración de la droga es rápida y no contienen CFC. Los IP pueden ser utilizados con mayor facilidad por los niños y los ancianos que los IDM. Pero una desventaja considerable de estos dispositivos es que se necesita un flujo inspiratorio relativamente alto (30- 60 l/min) para suspender el polvo apropiadamente y que los pacientes con una exacerbación importante del asma pueden no ser capaces de generar tal flujo aéreo.<sup>63</sup> Además, los IP son caros y sólo una escasa cantidad de drogas contra el asma se encuentran disponibles en este sistema. Otro problema con los IP es la falta de sabor y que no se sienten, a diferencia de los IDM. Si el paciente no puede sentir el

sabor de la droga o cuándo es inhalada esto puede obstaculizar el cumplimiento de la terapia. Asimismo, si al paciente se le cae el dispositivo o exhala dentro de éste la dosis se pierde, y los IP no se pueden utilizar con cámaras de almacenamiento para reducir el depósito de la droga en la orofaringe.<sup>64</sup>

El salbutamol inhalado en polvo puede provocar tos en algunas ocasiones, pero se considera que es más aceptado que el IDM<sup>58</sup> mientras que al compararlo con el salbutamol nebulizado su eficacia fue equivalente.<sup>65</sup> El depósito de budesonida en los pulmones fue notablemente mayor (2 veces) al ser administrado con IP que con IDM, mientras que la biodisponibilidad sistémica de las drogas aumentó un 50% con el IP.<sup>66</sup> De manera similar, el grado de depósito en los pulmones analizado mediante centellograma o por parámetros farmacocinéticos específicos fue del 10% para los IDM presurizados y del 26% para los IP. Resulta interesante que en niños tratados con agonistas beta-2 mediante IP, la incidencia de efectos adversos (tos, temblor) fue menor comparada con la misma droga administrada mediante IDM con espaciador.<sup>68</sup>

En uno de nuestros estudios<sup>69</sup> encontramos que la hipokaliemia con salbutamol administrado mediante IP fue igual a la observada con IDM sin espaciador, en tanto que se produjo tos en 14.8% de los tratados con IP en comparación con 10.3% de los tratados con IDM sin espaciador y 3.4% de los tratados con IDM con espaciador (datos no publicados).

En la búsqueda de un dispositivo mejor, sin desventajas, en el mercado se introducen nuevos sistemas que se suman a los productos disponibles. El sistema de inhalación *Spiros* es semejante al IDM, no requiere sincronización y está libre de propelentes. También se puede ver cuándo cambiar el frasco y el inhalador.<sup>70</sup> *Clickhaler* es otro IP de dosis múltiple novedoso con eficacia similar al IDM y un número de características de seguridad como un contador de dosis y bloqueo luego de 200 dosis.<sup>71</sup>

La suma de nuevos dispositivos de liberación de drogas y la promoción por parte de la industria farmacéutica dificultan la elección. Además, los estudios antes mencionados documentan las ventajas de unos sobre otros mientras que otros sostienen que no existen diferencias entre los dispositivos<sup>72</sup> y que la técnica de inhalación es más importante que el dispositivo.<sup>73</sup> Como enuncia Cochrane, "es importante reforzar el concepto simple de que el fracaso en el entrenamiento del paciente en el uso del inhalador y la reafirmación de tales instrucciones podrían disminuir el cumplimiento del tratamiento independientemente de la droga o del dispositivo empleados".<sup>74</sup> Los factores a considerar para elegir entre los distintos sistemas de administración son: la edad del paciente, la destreza del paciente y su habilidad para cooperar, la gravedad del asma y los factores relacionados con el dispositivo –como su facilidad de uso y transporte–, la utilización con respiradores mecánicos, el costo y si un compuesto en particular se encuentra disponible en el tipo deseado de preparación en aerosol.

Un panel de expertos<sup>75</sup> tampoco recomendó un dispositivo de administración en lugar de otro. Sobre la base de distintos estudios, existe consenso general en que para los lactantes y niños menores de 5 años el inhalador podría ser el IDM con espaciador, con máscara facial o sin ésta. Si el niño no puede inhalar apropiadamente con el IDM o en el caso de una exacerbación aguda y grave del asma puede ser necesario un sistema nebulizador en el ámbito del hospital. En niños mayores de 5 años y en adultos el IDM con espaciador es el dispositivo de primera elección para administrar el aerosol. Si el cumplimiento con un dispositivo espaciador aparenta ser un problema y el flujo inspiratorio del paciente es adecuado entonces el IP es la mejor alternativa.<sup>76</sup>

Por lo tanto, la elección del dispositivo de administración de la droga podría estar limitada a estos tres sistemas; esto le permite al médico dedicar más tiempo para asesorar a sus pacientes, entrenarlos y poder centrar la atención en el cumplimiento. Y también podría ayudar a que el paciente pueda utilizar de la mejor manera estas herramientas tan importantes en el tratamiento del asma.

El autor no manifiesta conflictos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Jain P, Golish JA. Clinical Management of Asthma in the 1990s. *Drugs*, 1996; 52(Suppl 6):1-11.
2. Newman SP, Clarke SW. Therapeutic aerosols- Physical and Practical considerations. *Thorax*, 1983; 38:881-886.
3. Lemanske RF, Busse WW. Asthma. *JAMA*, 1997; 278:1855-1873.
4. Ariyananda PL, Agnew JE, Clarke SW. Aerosol delivery systems for bronchial asthma, *PMJ*, 1996; 72(845):151-156.
5. Rebeck AS, Braude AC. Assessment of drug disposition in the lung. *Drugs*, 1984; 28:544-553.
6. Newman SP. Aerosol deposition considerations in inhalation therapy. *Chest*, 1985; 88(2):152s-160s.
7. Brain JD, Valberg PA. Deposition of aerosol in the respiratory tract. *Am Rev Respir Dis*, 1979; 120:1325-1373.
8. Hounman RF, Morgan A. Particle Deposition, In *Respiratory Defense Mechanisms* (Brain JD, Proctor DF, Reid LM, eds.). New York, Dekker, 1977:125.
9. Stuart BO. Deposition of inhaled aerosols. *Arch Intern Med*, 1973; 131:60-73.
10. Gerrity TR, Lee PS, Hass FJ, et al. Calculated deposition of inhaled particles in the airway generations of normal subjects. *J Appl Physiol*, 1979; 47:867-873.
11. Swift DL. Generation and respiratory deposition of therapeutic aerosols. *Am Rev Respir Dis*, 1980; 122:71-77.
12. Brain JD, Valber PA. Models of lung retention based on the ICRP Task Group. *Arch Environ Health*, 1974; 28(1):1-11.
13. Scherer PW, Haselton FR, Hanna LM, et al. Growth of hygroscopic aerosols in a model of bronchial airways. *J Appl Physiol*, 1979; 47(3):544.
14. Lipmann M, Albert RE. The effect of particle size on the regional deposition of inhaled aerosols in the human respiratory tract. *Am Ind Hyg Assoc J*, 1969; 30:257-275.
15. Pavia D, Thomson ML, Clarke SW, et al. Effect of lung function and mode of inhalation on penetration of aerosol into the human lung. *Thorax*, 1977; 32:194- 197.
16. Palmes ED. Measurement of pulmonary air spaces using aerosols. *Arch Intern Med*, 1973; 131:76-79.
17. Goldberg IS, Laurenco RV. Deposition of aerosols in pulmonary disease. *Arch Intern Med*, 1973; 131(1):88-91.
18. Dolovich MB, Sanchis J, Rossman C, et al. Aerosol penetrance: a sensitive index of peripheral airway obstruction. *J Appl Physiol*, 1976; 40:468-471.
19. Kendrick AH, Smith EC, Denyar J. Nebulizers- fill volume, residual volume and matching of nebulizer to compressor. *Respir Med*, 1995; 89(3):157-159.
20. Mercer TT. Production of therapeutic aerosols: principles and techniques. *Chest*, 1981; 80(suppl):818-820.
21. Clay MM, Clark SW. Wastage of drugs from nebulizers-a review. *J R Soc Med*, 1987; 80:38-39.
22. Knoch M, Wunderlich E, Geldner S. A nebulizer system for highly reproducible aerosol delivery. *J Aerosol Med*, 1994; 7:229-237.
23. Newham DM, Lipworth BJ. Nebulizer performance, pharmacokinetics airways and systemic effects of salbutamol given via a novel nebulizer delivery system ('ventstream'). *Thorax*, 1994; 49:762-770.
24. Fergusson RJ, Stewart CM, Wathen CG, et al. Effectiveness of nebulized salbutamol administered in ambulances to patients with severe acute asthma. *Thorax*, 1995; 50(1):81-82.
25. Cook T, Stone G. Paediatric Asthma-a correlation of clinical treatment and oxygen saturation. *Hawai Med J*, 1995; 54(7):665-668.
26. Mahakalkar SM, Tibdewal S, Khobragade BP. Cardiopulmonary effects of various anti-asthmatic agents in patients of acute bronchial asthma. *The Indian Practitioner*, 2002, 55(2):79-85.

27. Scarfone RJ, Loisel JM, Wiley JF 2<sup>nd</sup>, et al. Nebulized dexamethasone versus oral prednisone in the emergency treatment of asthmatic children. *Ann Emerg Med*, 1995; 26(4):480-486.
28. Konig P. Spacer devices used with metered dose inhalers-Breakthrough or Gimmick? *Chest*, 1985, 88(2):276-284.
29. Barnes PJ. A new approach to the treatment of asthma. *N Engl J Med*, 1989; 321:1517-1527.
30. Newhouse MT, Dolovich MB. Control of asthma by aerosols. *N Engl J Med*, 1986; 315:870-874.
31. Summer W, Elston R, Tharpe L, et al. Aerosol bronchodilator delivery methods. *Arch Intern Med*, 1989; 149:618-623.
32. Newman SP, Pavia D, Moren F, et al. Deposition of pressurized aerosols in the human respiratory tract. *Thorax*, 1981; 36:52-55.
33. Zainudin BM, Biddiscombe M, Tolfree SE, et al. Comparison of bronchodilator responses and deposition patterns of salbutamol inhaled from a pressurized metered dose inhaler, as a dry powder and as a nebulized solution. *Thorax*, 1990; 45(6):469-473.
34. Epstein SW, Manning CPR, Ashley MJ, et al. Survey of clinical use of pressurized aerosol inhalers. *Canadian Med Asso J*, 1979; 120:813-816.
35. Demirkan K, Tolley E, Mastin T, et al. Salmeterol administration by metered dose inhaler alone vs metered dose inhaler plus valve holding chamber. *Chest*, 2000; 117:1314-1318.
36. Newman SP, Moren F, Pavia D, et al. Deposition of pressurized suspension aerosols inhaled through extension devices. *Am Rev Respir Dis*, 1981; 124(3):317- 320.
37. Bisgaard H. A metal aerosol holding chamber devised for young children with asthma. *Eur Respir J*, 1995; 8(5):856-860.
38. Bisgaard H, Anhoj J, Klug B, et al. A non-electrostatic spacer for aerosol delivery. *Arch Dis Child*, 1995; 73(3):226-230.
39. Selroos O, Halme M. Effect of a volumatic spacer and mouth rinsing on systemic absorption of inhaled corticosteroids from a metered dose inhaler and dry powder inhaler. *Thorax*, 1991; 46:891-894.
40. Sharma S, Godatwar P, Kulkarni LR. Salbutamol and Beclomethasone Dipropionate in Asthma. *Ind J Ped*, 2003, 70:129-132.
41. Newman KB, Milne S, Hamilton C. A comparison of albuterol administered by metered-dose inhaler and spacer with albuterol by nebulizer in adults presenting to an urban emergency department with acute asthma. *Chest*, 2002; 121:1036-1041.
42. Hauck HR. Do medical CFCs, threaten the environment? *J Aerosol med*, 1991; 4:169-174.
43. Leach CL. Approaches and challenges to use freon propellant replacements. *J Aerosol Med*, 1993; 6:231.
44. Juniper E, Buist S, The Study Group. Health related quality of life in moderate asthma. 400 µg hydrofluoroalkane beclomethasone dipropionate vs 800 µg chlorofluorocarbon beclomethasone dipropionate. *Chest*, 1999; 116:1297-1303.
45. Langley SJ, Hoden J, Derham A, et al. Fluticasone propionate via the diskhaler or hydrofluoroalkane-13a metered-dose inhaler on methacholine induced airway hyperresponsiveness. *Chest*, 2002; 122:806-811.
46. Clark DJ, Lipworth BJ. Lung bioavailability of chlorofluorocarbon free, dry powder and chlorofluorocarbon containing formulations of salbutamol. *Br J Clin Pharmacol*, 1996; 41(3):247-249.
47. Juniper EF, Price DB, Stampone PA, et al. Clinically important improvements in asthma-specific quality of life, but no difference in conventional clinical indexes in patients changed from conventional beclomethasone dipropionate to approximately half the dose of extra-fine beclomethasone dipropionate. *Chest*, 2002; 121:1824- 1832.
48. Tashkin DP. Extra-fine corticosteroid aerosols from hydrofluoroalkane-134a metered dose inhaler. *Chest*, 1999; 115:316-318.

49. Ogren RA, Baldwin JL, Simon RA. How patients determine when to replace their metered-dose inhalers. *Ann Allerg*, 1995; 75:485-489.
50. Wong CS, Pavord ID, Williams J, et al. Bronchodilator, cardiovascular and hypokalemic effects of fenoterol, salbutamol and terbutaline in asthma. *Lancet*, 1990; 336:1396-1399.
51. Barbato A, Cracco A, Tormena F. The first 20 minutes after a single dose of inhaled salmeterol in asthmatic children. *Allergy*, 1995; 50(6):506-510.
52. Van Noord JA, Smeets JJ, Raaijmakers JH, et al. Salmeterol versus formoterol in patients with moderately severe asthma: onset and duration of action. *Eur Respir J*, 1996; 9(8):1684-1688.
53. Bierman CW, Kemp JP, Nathan RA. Efficacy and safety of inhaled bitolterol mesylate via metered dose inhaler in children with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 1996; 76(1):27-35.
54. Brown PH, Blundell G, Greening AP, et al. Do large volume spacer devices reduce the systemic effects of high dose inhaled corticosteroids? *Thorax*, 1990; 45:736-739.
55. Pavord I, Knox A. Pharmacokinetic optimisation of inhaled steroid therapy in asthma. *Clin Pharmacokinet*, 1993; 25(2):126-135.
56. Holliday SM, Faults D, Sorkin EM. Inhaled fluticasone propionate: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in asthma. *Drugs*, 1994; 47(2):318-331.
57. Clark AR. Medical aerosol inhalers: past, present and future. *Aerosol Sci Tech*, 1995; 22:374-391.
58. Croner S, Hedenskog S, Kjellman, N, et al. Salbutamol by powder or spray inhalation in childhood asthma. *Allergy*, 1980; 35(7):589-592.
59. Cochrane MG, Bala MV, Downs KE, et al. Inhaled corticosteroids for asthma therapy. *Chest*, 2000; 117:542-550.
60. Lofdahl CG, Andersson L, Bondesson E, et al. Difference in bronchodilating potency of salbutamol in Turbuhaler as compared with a pressurized metered dose inhaler formulation in patients with reversible airway obstruction. *Eur Respir J*, 1997; 10:2474-2478.
61. Olsson B, Asking L. Critical aspect of the function of inspiratory flow driven inhalers. *J Aerosol Med*, 1994; 7(suppl):43-47.
62. Newman SP, Clarke SW. Inhalation devices and techniques-In: *Asthma*, (Clark T, Godfrey S, Lee T, eds.) 3<sup>rd</sup> edition, 1992, Chapman and Hall London, 469-502.
63. Serafin WE. Drugs used in the treatment of asthma. In: *Goodman and Gilman's The Pharmacological basis of therapeutics* (Hardman JG, Limbird LE, et al eds.) 9<sup>th</sup> edition, New York, Mc Graw Hill, 1996:659-682.
64. Wong CS, Cooper S, Britton JR, et al. Steroid sparing effect of nedocromil sodium in asthmatic patients on high doses of inhaled steroids. *Clin Exp Allergy*, 1993; 23:370-376.
65. Bronsky EA, Spector SL, Pearlman DS, et al. Albuterol aerosol versus albuterol rotacaps in exercised-induced bronchospasm in children. *J Asthma*, 1995; 32(3):207-214.
66. Thorsson L, Edsbacker S, Conrodson TB. Lung deposition of budesonide from turbuhaler is twice that from a pressurized metered dose inhaler. *Eur Respir J*, 1994; 7:1839-1844.
67. Newman S, Steed K, Hooper G, et al. Comparison of gamma camera scintigraphy and pharmacokinetic technique for assessing pulmonary deposition of terbutaline sulphate delivered by pressurized metered dose inhaler. *Pharm Res*, 1995; 12:231-236.
68. Fulsang G, Pederson S. Comparison of a new multidose powder inhaler with a pressurized aerosol in children with asthma. *Paediatr Pulmonol*, 1989; 7:112-115.
69. Tibdewal S, Mahakalkar SM, Khobragade BP, Khanzode SD. Effect of Various antiasthmatic agents on serum electrolytes and blood sugar levels- A clinical study. *Indian Medical Gazette*, 2000; 134(9):285-290.
70. Nelson H, Kemp JP, Bieler S, et al. Comparative efficacy and safety of albuterol sulfate spiro inhaler and albuterol metered dose inhaler in asthma. *Chest*, 199; 115:329-335.



71. Newhouse MT, Nantel NP, Chambers CB, et al. Clickhaler (a novel dry powder inhaler) provides similar bronchodilatation to pressurized metered dose inhaler, even at low flow rates. *Chest*, 1999; 115:952-956.
72. Ram FSF, Wright J, Brocklebank D, et al. Systematic review of clinical effectiveness of pressurized metered dose inhalers versus other hand held inhaler devices for delivering beta<sub>2</sub>-agonists bronchodilators in asthma. *BMJ*, 2001; 323:901.
73. Giannini D, Franco AD, Bacci E, et al. The protective effect of salbutamol inhaled using different devices on methacholine bronchoconstriction. *Chest*, 2000; 117:1319-1323.
74. Cochrane GM. Compliance and outcomes in patients with asthma. *Drugs*, 1996; 52:12-19.
75. Barry PW, O'Callaghan C. Asthma drug delivery devices for children. *BMJ*, 200; 320:664.
76. Georgitis JW. The 1997 Asthma Management Guidelines and therapeutic issues relating to the treatment of asthma. *Chest*, 1999; 115:210-217.

---

## ● LINFOCITOS T COOPERADORES EN PACIENTES CON RINITIS ALERGICA Y ASMA EXTRINSECA TRATADOS CON INMUNOTERAPIA

**Columnista Experto de SIIC**  
**Dr. Daniel Aguilar Angeles**

Jefe de Departamento. Alergia e Inmunología Clínica, México D.F., México

### Introducción

La hiperfuncionalidad de los linfocitos Th2 es una característica inherente a las enfermedades alérgicas, en las que encontramos una elevación de las interleucinas (IL) proinflamatorias, entre ellas IL4, IL5, IL10, IL13 e IL18,<sup>1-5</sup> con una disminución de las interleucinas antiinflamatorias como la IL-2, interferón gamma (IFN-γ) e IL12, producidas por los linfocitos Th1.<sup>6-9</sup>

Esta disfunción celular se ha podido estudiar mejor en la alergia respiratoria, especialmente en la sensibilización a los ácaros del polvo casero<sup>10</sup> y al polen de abedul.<sup>11</sup> Los pacientes que presentan rinitis alérgica (RA) o asma alérgica o extrínseca (AA) sensibles a estos alérgenos han sido un buen modelo para estudiar los mecanismos celulares y moleculares que regulan estas alteraciones.

La inmunoterapia específica es una importante opción de tratamiento en pacientes cuyas medidas de control del medio ambiente son ineficientes. La eficacia de la inmunoterapia a largo plazo se demostró en diversos estudios clínicos.<sup>12,13</sup>

Se han logrado varias modificaciones en la respuesta inmune en enfermos sometidos a regímenes de inmunoterapia, se produce una estimulación de los linfocitos Th1 a expensas de una inhibición de los linfocitos Th2, lo que equilibra la inmunorregulación. Este efecto puede ser detectado midiendo la producción de sus respectivas citocinas.<sup>14-16</sup>

Las interleucinas 4 (IL-4) y 10 (IL-10) son las citocinas más relevantes producidas por los linfocitos Th2, cuyos efectos se ven reflejados principalmente en la hipergammaglobulinemia de IgE y la agresión eosinofílica a los tejidos de los órganos blanco.<sup>17-19</sup> El IFN-γ es uno de los más importantes mediadores de las células Th1, al estimular la proliferación y diferenciación de los linfocitos Th1 y neutralizar la hiperrespuesta Th2 que se presenta en este tipo de pacientes;<sup>20-24</sup> en los pacientes con RA y AA está disminuido el IFN-γ y con la inmunoterapia se restablece.

La inmunoterapia específica con el alérgeno es el único método curativo en la alergia también específica tipo I.<sup>25-27</sup> Los cambios en la respuesta en las células T ante sus antígenos respectivos en esta hipersensibilidad han sido ampliamente corroborados,<sup>28-30</sup> por lo cual nosotros quisimos sumarnos a estos hallazgos que nos indican la regulación entre los linfocitos.

### Objetivos

Contabilizar los niveles de linfocitos Th1 y Th2 inicialmente y evaluar la forma de regularse la

respuesta después del tratamiento con inmunoterapia mono-específica, mediante la cuantificación de citocinas intracelulares en pacientes con rinitis alérgica y asma extrínseca.

## Material y método

### *Pacientes*

Se seleccionaron 10 pacientes (6 con rinitis y 4 con asma) diagnosticados clínicamente y por análisis de laboratorio con edades entre 15 y 45 años, de uno u otro sexo, habitantes de la ciudad de México. Se incluyeron 10 testigos sanos, sin antecedentes de alergia, dentro del mismo rango de edad y sexo.

### *Tratamiento*

Al grupo de pacientes se le administró por vía subcutánea dosis crecientes del alérgeno *D. pteronyssinus* (10 000 AU/ml [Dome-Hollister Stier]) empezando con una dosis dos veces por semana de una dilución 1:10 000 hasta llegar a una dilución de 1:100, lo que logramos en 52 semanas sin que los pacientes tuvieran efectos adversos. Se tomó una muestra de sangre periférica con anticoagulante antes del tratamiento y al finalizar éste.

### *Evaluaciones inmunológicas*

Se midió la síntesis de citocinas intracelulares en los linfocitos T. Para los Th1 se midió IFN- $\gamma$  -FITC (B-D). Para los Th2 la IL4 -PE (B-D), IL-10-PE (Serotec) e IL13 -PE (B-D). También se evaluaron los linfocitos que sintetizaban IL-10, si expresaban CD4 (anti-CD4-FITC, B-D) o CD8 (anti-CD8-FITC, B-D). Se utilizó citometría de flujo y anticuerpos monoclonales para hacer estas evaluaciones.

### *Técnica para medir citocinas intracelulares*

- 1 - Obtener muestra de sangre periférica con anticoagulante (heparina).
- 2 - Colocar 0.5 ml de la muestra y 0.5 ml de medio de cultivo AIM-V en cuatro pozos estériles de una placa de cultivo.
- 3 - Adicionar a cada pozo los siguientes reactivos:
  - a) PMA (Phorbol 12 Myristate 13 Acetate), (25 ng) e ionomicina (1  $\mu$ g)
  - b) PMA, ionomicina y brefeldina (10  $\mu$ g)
  - c) El estímulo antigénico (*D. pteronyssinus*), previamente estandarizado.
  - d) Solo brefeldina (basal).
- 4 - Incubar durante cuatro horas en atmósfera de CO<sub>2</sub>.
- 5 - Transcurrido ese tiempo, tomar una muestra de 60  $\mu$ l de cada pozo y colocarla en tubos a los cuales se les adicionó previamente el anticuerpo anti-CD3- PerCP.
- 6 - Incubar 15 min a temperatura ambiente.
- 7 - Adicionar el reactivo de lisis e incubar 10 minutos.
- 8 - Centrifugar y después adicionar PBS, centrifugar y eliminar el sobrenadante.
- 9 - Adicionar la solución permeabilizadora de la membrana e incubar 20 minutos.
- 10 - Lavar con PBS y adicionar 5  $\mu$ l de cada uno de los siguientes anticuerpos:
  - a) Al primer tubo control de isotipo  $\gamma$ -1-FITC,  $\gamma$ -2 PE (B-D) y CD3 - PerCP (B-D), la muestra sanguínea se tomó del pozo a.
  - b) Al segundo tubo, anti-CD69-PE (B-D), la muestra sanguínea se tomó del pozo b.
  - c) Al tercer tubo, anti-IFN- $\gamma$ -FITC y anti-IL-10 -PE, la muestra sanguínea se tomó del pozo b.
  - d) Al cuarto tubo, anti-IFN- $\gamma$ -FITC y anti-IL-10-PE, la muestra sanguínea se tomó del pozo c.
  - e) Al quinto tubo, anti-IFN- $\gamma$ -FITC y anti-IL-10-PE, la muestra sanguínea se tomó del pozo d.
- 11 - Incubar 30 minutos a temperatura ambiente y lavar con PBS.
- 12 - Resuspender en solución de paraformaldehído al 1 % en PBS.
- 13 - Leer en el citómetro de flujo con un programa de tres colores.

## Resultados

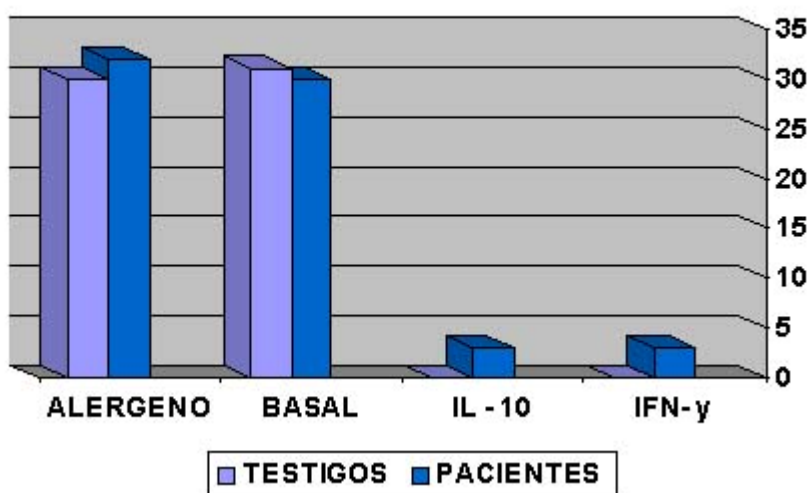
Los linfocitos Th2 de los pacientes –después de estimularlos con el alérgeno sin haber sido

sometidos a inmunoterapia- no sintetizaron IL-4 ( $0.89 \pm 1.4$ ) ni IL-13 ( $0.80 \pm 1.3$ ), únicamente IL-10 e IFN- $\gamma$ , la IL-10 obviamente no se sintetizó en el grupo de testigos sanos. Los Th1 sólo produjeron bajas concentraciones de IFN- $\gamma$  (Tabla I, Gráfica I).

**TABLA 1. IL-10 E IFN- $\gamma$  EN PACIENTES CON ASMA Y RINITIS ANTES DEL TRATAMIENTO.**

	ALERGENO	BASAL	IL - 10	INF- $\gamma$
TESTIGOS	30.2	30.4	-0.2	0.0
PACIENTES	33.1	30.0	3.1	2.8

**GRAFICA I. IL - 10 E INF  $\gamma$  CON RINITIS Y ASMA EXTRINSECA ANTES DEL TRATAMIENTO.**

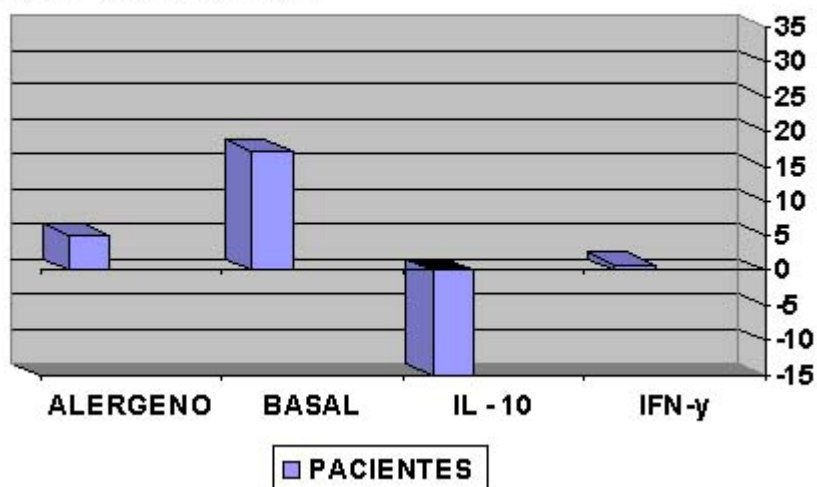


En ambas subpoblaciones de linfocitos T después de empleo de la inmunoterapia específica encontramos que la IL-10 disminuye hasta en un 28.3% en comparación con el valor de estimulación con el alérgeno (Tabla II, Gráfica II).

**TABLA 2. IL-10 E IFN- $\gamma$  EN PACIENTES CON ASMA Y RINITIS DESPUES DEL TRATAMIENTO.**

	ALERGENO	BASAL	IL - 10	INF- $\gamma$
PACIENTES	4.8	18.1	-13.5	0.01

**GRAFICA II. IL - 10 E INF  $\gamma$  CON RINITIS Y ASMA EXTRINSECA DESPUES DEL TRATAMIENTO.**



Observamos que INF- $\gamma$  se detectó en niveles bajos antes del tratamiento y disminuyó aun mas después de la inmunoterapia (tabla I, Gráfica II, tabla II, Gráfica II).

Al realizar estudios *in vitro* estimulando los linfocitos con PMA encontramos que los pacientes tienen clones capaces de responder a un estímulo que los induzca a dividirse y sintetizar citocinas (Tablas III y IV) (Gráficas III y IV).

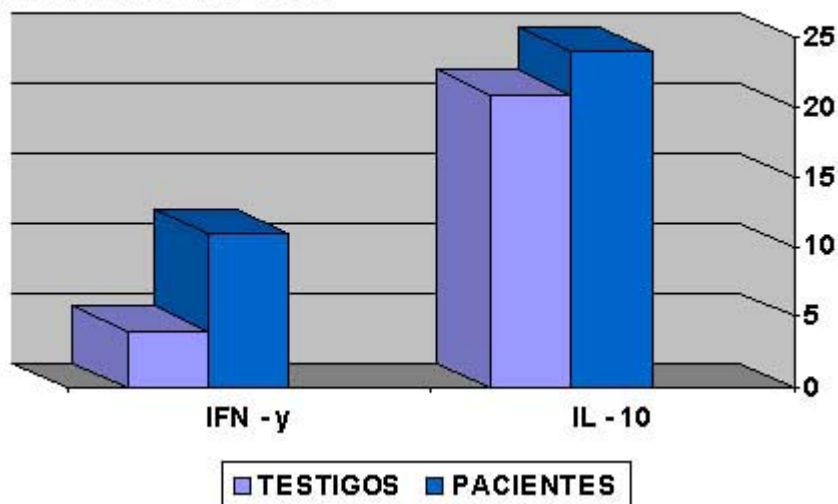
**TABLA 3. ESTIMULACION DE LINFOCITOS COM PMA ANTES DEL TRATAMIENTO.**

	INF- $\gamma$	IL - 10
TESTIGOS	4.4 $\pm$ 5	21.8 $\pm$ 23
PACIENTES	11.4 $\pm$ 8	24.3 $\pm$ 18

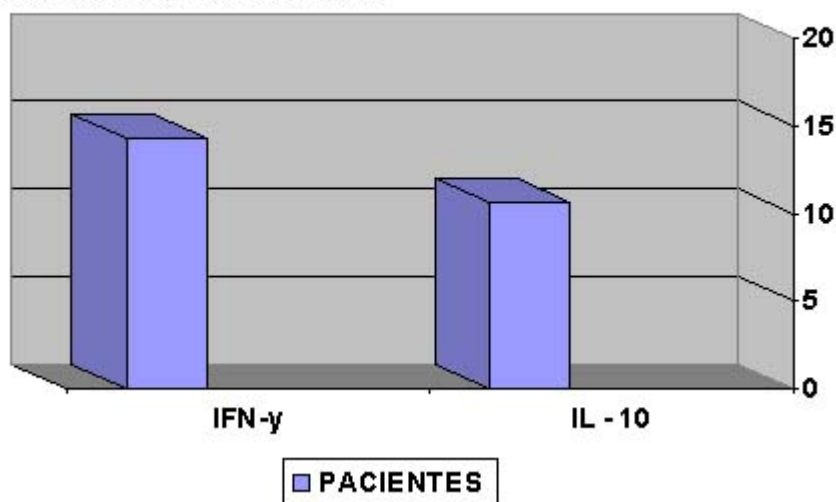
**TABLA 4. ESTIMULACION DE LINFOCITOS COM PMA DESPUES DEL TRATAMIENTO**

	INF- $\gamma$	IL - 10
PACIENTES	14.3 $\pm$ 8	10.6 $\pm$ 15

**GRAFICA III. ESTIMULACION DE LINFOCITOS T CON PMA ANTES DEL TRATAMIENTO.**



**GRAFICA IV. ESTIMULACION DE LINFOCITOS T CON PMA DESPUES DEL TRATAMIENTO.**

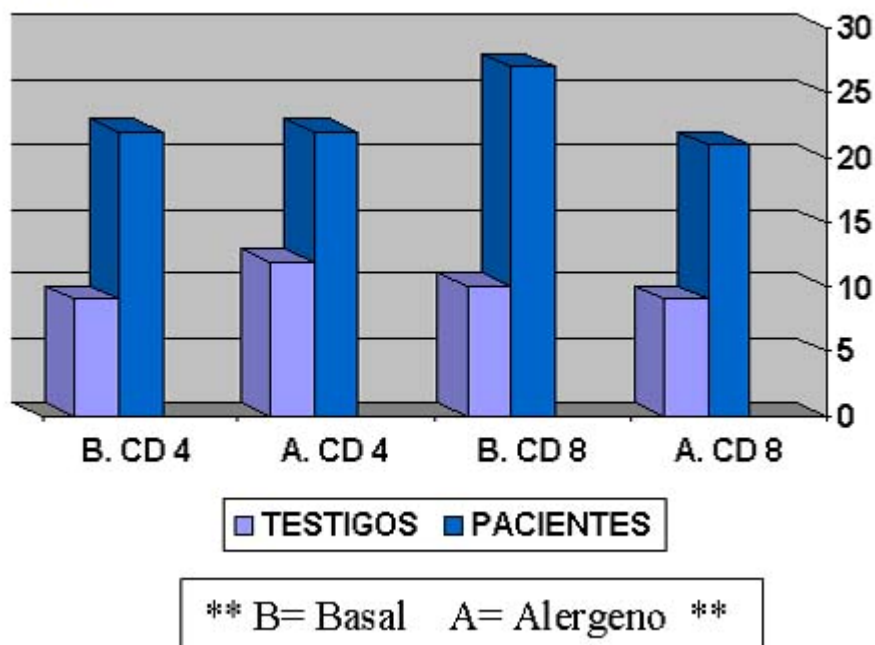


Lo que nos llamó la atención es encontrar que los linfocitos CD8 sintetizaron también IL-10 antes de iniciar la inmunoterapia (Tabla V, Gráfica V).

**TABLA 5. SINTESIS DE IL - 10 POR LINFOCITOS T CD4 Y T CD8.**

	CD 4	CD 4	CD 8	CD 8
	BASAL	ALERGENO	BASAL	ALERGENO
TESTIGOS	9.3 ± 3	12.7 ± 0.9	10.8 ± 6	9.3 ± 5
PACIENTES	22.1 ± 10	21.7 ± 17	28.8 ± 20	20.4 ± 13

## GRAFICA V. SINTESIS DE IL – 10 POR LINFOCITOS TCD 4 TCD 8.



La diferencia que se encontró en el grupo de los pacientes respecto de los testigos sanos es notoria, tanto para los linfocitos T CD4 (diferencia basal 12.8%, alérgeno 9.0%); como para los T CD8 (basal 18.0%, alérgeno 11.1%); no así, cuando se compara con la basal del mismo grupo. Estos niveles no se midieron después de la inmunoterapia.

### Discusión

De acuerdo con lo propuesto por Mosmann y Cofman,<sup>31,32</sup> los linfocitos T cooperadores se pueden dividir en linfocitos T cooperadores (Th) 1 y 2, los resultados obtenidos por estos investigadores en modelos murinos también han sido aceptados y demostrados en humanos.<sup>30,31</sup>

En los pacientes alérgicos se demostró la participación de linfocitos Th2 sintetizando principalmente las citocinas IL-4, IL-10, IL-13. La forma de evaluar la síntesis de estas citocinas ha sido por medio de la técnica de ELISA en suero, por ARNm (PCR); sin embargo, una forma más precisa de hacerlo es mediante la medición intracelular de las mismas en los linfocitos T usando citometría de flujo. Los resultados obtenidos en este estudio mediante citometría de flujo indican que la respuesta obtenida por los linfocitos Th2 se pudo medir únicamente mediante la síntesis de IL-10; se encontró que la IL-10 es sintetizada en forma basal y con el estímulo antigénico, tanto en el grupo de testigos sanos como en el de los pacientes.

En los linfocitos Th1 se demostró su funcionalidad únicamente por la presencia del IFN- $\gamma$ , que se encontró en bajas concentraciones. No se encontraron niveles basales o de fondo de IFN- $\gamma$ , como sucedió para la IL-10.

En el grupo de los pacientes, la IL-10 antes del tratamiento por hiposensibilización con *D. pteronyssinus*, no se encuentra en niveles altos, sin embargo, después del tratamiento su síntesis disminuye en forma notoria; si comparamos la lectura anterior al tratamiento con inmunoterapia y posterior a ello, para la IL-10 tenemos una diferencia de 28.3%, atribuimos esta diferencia al efecto de la inmunoterapia que lleva a una hipofuncionalidad de los linfocitos Th2. En cambio, para el IFN- $\gamma$  producido por los linfocitos Th1, aunque está disminuido al inicio, nos llamó la atención que no se observaron cambios notorios, como los obtenidos para la IL-10. Estos datos nos hacen plantear la hipótesis de que el proceso de regulación de la respuesta inmunológica hacia el alérgeno, después de la inmunoterapia específica, se lleva a cabo a través de la disminución de la síntesis de la IL-10 (disminuye la participación de los linfocitos Th2); no pudimos demostrar la síntesis del IFN- $\gamma$  y con esto la participación de los linfocitos Th1.<sup>3,13,14,21</sup>

Uno de los controles de veracidad de la técnica fue el estimular los linfocitos de los pacientes y de los testigos con PMA e incubar bajo las mismas condiciones que con el alérgeno; se obtuvo una buena respuesta tanto para el IFN- $\gamma$  como para la IL-10. Esto indica que los linfocitos T de los individuos sanos incluidos en este estudio son capaces de responder a ese estímulo.

El resultado esperado es que los linfocitos T CD4<sup>+</sup> sean los únicos que sintetizan la IL-10, sin embargo, en esta investigación se encontró que los linfocitos TCD8<sup>+</sup> la sintetizan también; esto nos lleva a la reflexión de que la producción de diversas citocinas no es exclusiva de un clon celular y que estamos trabajando en un terreno muy lábil como es el de la inmunorregulación, donde pueden intervenir diversos factores y en diferentes pasos de la respuesta inmune que influyan de tal manera que produzcan los resultados que estamos informando.

Nos surge otra pregunta que consideramos más importante:

¿Cuál es la participación de los linfocitos T CD8<sup>+</sup>, tanto en los individuos sanos como en los alérgicos?

Probablemente sean linfocitos TCD8<sup>+</sup> en la subpoblación Tc-2 los que sintetizan la IL-10. Se puede atribuir este resultado a que los linfocitos TCD8 citotóxicos, también se pueden dividir en Tc1 y Tc2, sobre la base de las citocinas que sintetizan; de acuerdo con los informes de la literatura son las mismas que para los linfocitos T cooperadores.

Aun así, queda la incógnita acerca de la presencia y la posible participación de los linfocitos TCD8<sup>+</sup> en los individuos alérgicos, cuyos niveles se encuentran aumentados tanto en el nivel basal, como al estimularlos con el alérgeno.

### **Conclusiones**

Los linfocitos Th2 participan en la rinitis y el asma alérgica.

La inmunoterapia de hiposensibilización disminuye la síntesis de la IL-10.

El IFN- $\gamma$  no se expresa después del tratamiento.

Los linfocitos de los pacientes responden al PMA.

Los linfocitos T cooperadores y citotóxicos, elaboran IL-10.

La inmunoterapia produce cambios muy complejos en la inmunorregulación, que requieren estudios posteriores.

Los autores no manifiestan "conflictos de interés".

### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Lee Ch, Rhee CS, Oh SH et al. Increase in expression of IL-4 and IL-5 mRNA in the nasal mucosa of patients with perennial allergic rhinitis during natural allergen exposure. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1997; 106:215-19.
2. Yasdanbak HSH, Van Den B, Maizels RM. Th2 responses without atopy: immunoregulation in chronic helminth infections and reduced allergic diseases. *Trends Immunology* 2001; 22:372-77.
3. Akdis CA, Blaser K. Mechanisms of interleukin-10 mediated immune suppression. *Immunology* 2001; 103:131-36.
4. Jung T, Shauer U, Heusser C, Neuman C, Reiger C. Detection of intracellular cytokines by flow cytometry, *J Immunol Methods*, 1993; 159: 197-207.
5. Pedotti R, De Voss JJ, Steinman L, Gallis J. Involvement of both "allergic" and "autoimmune" mechanisms in EAE MS and other autoimmune diseases. *Trends Immunology* 2003; 479:84.
6. Kay AB. T Lymphocytes and their products in atopic allergy and asthma. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1991; 94:189-93.
7. Robinson DS, Hamid Q, Yings S, Tscopoulos A, et al. Predominant Th2 like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. *N Eng J Med*, 1992; 326:298-304.
8. Bochner BS, Hudson SA, Yiao HQ, Liu MC. Release of both CCR4-active and CXCR3-active chemokines during human allergic pulmonary late-phase reactions. *J Allergy Clin Immunology* 2003; 112:930-34.

9. Christodoulopoulos P, Cameron L, Durham S et al. Molecular pathology of allergic diseases. II: Upper airways disease. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:211- 23.
10. Secrist H, Chelen CJ, Wen Y et al. Allergen immunotherapy decreases interleukin 4 production in CD4+T cells from allergic individuals. *J Exp Med* 1993; 178:2123-30.
11. Klimek L, Dormann D, Jarman ER et al. Short-term preseasonal birch pollen allergoid immunotherapy influences symptoms, specific nasal provocation and cytokine levels in nasal secretions, but not peripheral T-cell responses in patients with allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 1999; 29:1326-35.
12. Akdis CA, Blaser K, Akdis M. Genes of tolerance. *Allergy*; 2004: (in press).
13. Jutel M, Akdis M, Budak F, Aebischer-Casaulta C, Wrzyszczyk M, Blaser K, Akdis CA. IL-10 and TGF- $\beta$  cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy. *Europ J Immunol* 2003; 33:1205-14.
14. Akdis CA, Blesken T, Akdis M, Wuthrich B, Blaser K. Role of IL-10 in specific immunotherapy. *J Clin Invest* 1998; 102:98-106.
15. Fleisher TA, Oliveira JB. Functional and molecular evaluation of lymphocytes. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114:229-34.
16. Elson LH, Nutman TB, Metcalfe DD, Prussin C. Flow cytometric analysis for cytokine production identifies T helper 1, T helper 2, and T helper 0 cells within the human CD4+CD27- lymphocyte subpopulation, *J Immunol* 1995; 154:4294-301.
17. Bochner BS. Systemic activation of basophils and eosinophil markers and consequences. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106 (suppl):S292-302.
18. Moneret-Vautrin DAS, Sainte-Laudy J, Kanny G, Fremont S. Human basophil activation as measured by CD63 expression and LTC4 release in IgE mediated food allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 82:33-40.
19. Bochner BS, Sterbinsky SA, Saini SA, Columbo MM, MacGlashan DW. Studies of cell adhesion and flow cytometric analyses of degranulation, surface phenotype and viability using human eosinophils, basophils and mast cells. *Methods* 1997; 13:61- 8.
20. Chen YCH, Bieneman AJ, Creticos PS, Chichester KL, Schroeder J. IFN-  $\gamma$  inhibits IL-3 priming of human basophil cytokine secretion but not leukotriene C4 and histamine release. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112:944-50.
21. Munthe-Kaas MCH, Carlsen KHG, Elms PJ, Gerritsen J et al. CTLA-4 polymorphisms in allergy and asthma and the Th1/Th2 paradigm. *J. Allergy Clin Immunol* 2004; 114:280-87.
22. Maggi E, Biswas P, Del Prete M, Parronchi P et al. Accumulation of Th-2 like helper T cells in the conjunctiva of patients with vernal conjunctivitis. *J. Immunol* 1991; 146:1169-74.
23. Borish L, Aarons A, Rumblyrt J, Cvietusa P, Negri J, Wenzel S. Interleukin-10 regulation in normal subjects and patients and patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97:1288-96.
24. Bousquet J, Becker WM, Hejjaoui A et al. Differences in clinical and immunologic reactivity of patients allergic to grass pollen and to multiple pollen species. II Efficacy of a double-blind, placebo-controlled, specific immunotherapy with standardized extracts. *J Allergy Clin Immunol*, 1991; 88:43-53.
25. Akdis CA, Blaser K. IL-10 induced anergy in peripheral T cell and reactivation by microenvironmental cytokines: Two key steps in specific immunotherapy. *FASEB J* 1999; 13:603-9.
26. Durham SR, Till SJ. Immunologic changes associated with allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102:157-64.
27. Walker SM, Varney VA, Gaga M et al. Grass pollen immunotherapy: efficacy and safety during a 4-year follow-up study. *Allergy*, 1995, 50:405-13.
28. Keskin G, Inal A, Ali Sari R et al. Serum IFN-gamma and IL-10 levels before and after specific immunotherapy in patients with allergic rhinitis. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 1999; 27:261-64.
29. Kakinoki Y, Ohashi Y, Nakai Y et al. Pollen immunotherapy inhibits T helper 1 and 2 cell responses, but suppression of T helper 2 cell response is a more important mechanism related to the clinical efficacy. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*



2000; 126:63-70.

30. Benjaponpitak S, Oro A, Maguire P et al. The kinetics of change in cytokine production by CD4+T cells during conventional allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103:467-75.
31. Mosmann TH, Coffman RL. Two types of mouse helper T cell clones: implications for immune regulation, *Immunol Today*, 1987; 8:223-27.
32. Mosmann TR, Coffman RI. Th1 and Th2 cells: different functional properties. *Ann Rev Immunol* 1989; 7:145-73.

---

Trabajos Distinguidos, Serie Alergia e Inmunología, integra el Programa SIIC de Educación Médica Continuada