

**DETERMINACION DE LOS NIVELES SERICOS DE MOLECULAS  
ICAM-1s EN PACIENTES CON  
RINITIS ALERGICA**

**YADIRA MARTINEZ ROJAS  
FRANCY GUIOVANNA MORA SERNA**

**TRABAJO DE GRADO  
Presentado como requisito parcial para optar el título de**

**BACTERIOLOGA**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
CARRERA DE BACTERIOLOGIA  
Santa fe de Bogotá, D.C.  
Septiembre 4 del 2000**

## **NOTA DE ADVERTENCIA**

Artículo 23 de la resolución No 13 de julio de 1946: La universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus tesis de grado”

**DETERMINACION DE LOS NIVELES SERICOS DE MOLECULAS  
ICAM-1s EN PACIENTES CON RINITIS ALERGICA**

YADIRA MARTINEZ ROJAS  
FRANCY GUIOVANNA MORA SERNA

-----  
Dr. EDUARDO DE ZUBIRIA Jr. MD  
**DIRECTOR**

-----  
Dr. JULIO CESAR MARTINEZ.MSc  
**ASESOR**

-----  
Dr. ALBERTO GOMEZ. PhD  
**JURADO**

-----  
Dra CLAUDIA PARRA. MSc  
**JURADO**

**DETERMINACION DE LOS NIVELES SERICOS DE LA MOLÉCULA  
ICAM-1s EN PACIENTES CON RINITIS ALÉRGICA**

**YADIRA MARTINEZ ROJAS  
FRANCY GUIOVANNA MORA SERNA**

-----  
**Dr. CARLOS CORREDOR  
DECANO ACADEMICO  
FACUL TAD DE CIENCIAS**

-----  
**Dra. AURA ROSA MANACERO  
DIRECTORA DE CARRERA DE  
BACTERIOLOGIA Y MICROBIOLOGIA**

## **DEDICAMOS ESTE ESTUDIO**

*A nuestros padres: Gloria Serna, Eliécer Mora, Nohemy Rojas y Roberto Martínez, a nuestras hermanas y amigos, quienes fueron, son y serán siempre nuestra fuente de energía para seguir adelante, por los mejores caminos y alcanzar el éxito en nuestras vidas.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Damos gracias a **DIOS** quién es nuestro refugio, nuestra fuerza y nuestra ayuda en cada momento, por permitirnos culminar esta etapa de nuestras vidas y emprender un nuevo horizonte.

Agradecemos al **Dr. Eduardo de Zubiría Jr** médico Alergólogo del Instituto de Asma Alergia e Inmunología, por brindarnos la oportunidad de desarrollar este estudio, ofreciéndonos sus conocimientos y su colaboración incondicional para llevar a cabo el proyecto.

Al **Dr Julio Cesar Martínez** Bacteriólogo del Instituto de Genética de la Pontificia Universidad Javeriana, quien siempre estuvo dispuesto a prestarnos su ayuda, teniendo cada vez una solución ante un obstáculo y transmitiéndonos sus ideas, que mejoraron nuestro trabajo.

**A los Drs. Baéna y Bustillos** médicos neumólogos del Hospital Universitario De la Samaritana, por prestarnos su atención y disposición en la valoración de algunos pacientes cuando el estudio lo requirió.

A el **DR Fernando Rivadeneira**, médico, epidemiólogo del instituto de genética de la Pontificia Universidad Javeriana, quien a pesar de la distancia siempre tuvo un momento disponible para nosotras.

A todo el **personal que labora en el Instituto de Asma Alergia e Inmunología** por su amabilidad y profesionalismo con que siempre nos recibieron.

A nuestros jurados **Drs. Alberto Gómez y Claudia Parra**, Por atendernos y colaborararnos en la ultima etapa de este trabajo, ya que gracias a sus conocimientos y valiosos aportes pudimos mejorar y culminar con éxito.

Damos un sincero agradecimiento a todas las **personas y pacientes** quienes en sus diferentes estados, siempre nos prestaron su atención y creyeron en nosotras, pues fueron ellos nuestra fuente de trabajo.

**A nuestros maestros** de la facultad de ciencias básicas de la Pontificia Universidad Javeriana, a quienes agradecemos desde siempre por transmitirnos sus conocimientos, prestarnos su atención y ayuda hasta el último instante y guiarnos por el mejor camino hacia nuestra etapa profesional.

Por último agradecemos a nuestros **padres, hermanos, familiares y amigos** que siempre, estuvieron con nosotros y nos colaboraron en todo sentido, siendo un aliciente, dándonos la fuerza y recursos para desarrollar nuestro trabajo.

No podríamos olvidar decirles que gracias a la unión, comprensión, esfuerzo y dedicación nosotras pudimos llegar al final de una de nuestras metas anheladas y por ello también **nos damos las gracias.**

En general a todas las entidades y personas que nos apoyaron en grandes y pequeños pasos para que este proyecto llegara hoy a su culminación, solo nos resta decirles:

**Gracias.**

**Septiembre 4 del 2000**

## TABLA DE CONTENIDO

A. RESUMEN	10
B. INTRODUCCION	12
C. MARCO TEORICO	
1. Sistema Inmune	15
1.1. Componentes del Sistema inmune	15
1.1.1. Citoquinas	15
1.1.2. Células Leucocitarias	16
1.1.3. Inmunoglobulinas	18
2. Alergia	19
2.1. Definición	19
2.2. Clasificación	20
3. Respuesta Alérgica a Aeroalergenos	21
4. Sistema Respiratorio	27
4.1 Función	27
4.2 Inspiración	27
4.3 Espiración	28
4.4 Componentes del Sistema Respiratorio	29
5. Alérgenos	31
5.1 Factores productores de alergia	31
5.2 Diversidad y Abundancia de Alérgenos	32
5.3 Principales Aeroalergenos	33
5.3.1 Hongos	33
5.3.2 Pólenes	35
5.3.3 Aeroalergenos de Tipo Animal	35
5.3.4 Ácaros (polvo de casa y habitación)	36
5.4 Estudio de Alérgenos	38
6. Patologías del sistema respiratorio por síndromes alérgicos	39
6.1 Rinitis alérgica	39
6.1.1 Incidencia	39
6.1.2 Características clínicas	40
6.1.2.1 Signos y síntomas	40
6.1.2.2 Datos de laboratorio	41
6.1.2.3 Diagnóstico de la rinitis alérgica	41
6.1.2.4 Diagnóstico diferencial de la rinitis alérgica	42
6.2 Asma	42
6.2.1 Características clínicas	43
6.2.2 Diagnóstico del asma	44
7. ICAM-1s una molécula de adhesión	45
7.1 Moléculas de adhesión	45
7.1.1 Clasificación funcional	45
7.1.2 Clasificación químico estructural	47
7.1.2.1 Cadherinas	47
7.1.2.2 Integrinas	48
7.1.2.3 Selectinas	48
7.1.2.4 Superinmunoglobulinas	49
8. ICAM-1	50
8.1 ICAM-1s	51

D. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	53
E. OBJETIVOS	55
F. MATERIALES Y METODOS	56
1. Tipo de estudio	56
2. Hipótesis	56
3. Selección de grupos	56
3.1 Criterios de inclusión	56
3.2 Criterios de exclusión	57
4. Grupo control positivo	57
5. Grupo control negativo	57
6. Grupo experimental	58
7. Pruebas	58
7.1 Espirometría	58
7.2 Pruebas cutáneas	60
7.2.1 Procedimiento	61
8. Recolección de muestras	63
9. Procesamiento de muestra	65
9.1 Fundamento de la prueba de ELISA	65
9.2 Desarrollo de la técnica	66
G. METODOS ESTADÍSTICOS	70
H. RESULTADOS	70
I. DISCUSIÓN	81
J. CONCLUSIONES	84
K. RECOMENDACIONES	86
L. ANEXOS	87
M. BIBLIOGRAFÍA	90

## A. RESUMEN

Durante un proceso inflamatorio se desencadenan diversos eventos que permiten el desarrollo de la enfermedad. Uno de estos es la expresión de moléculas de adhesión, estimuladas por citoquinas que aumentan la quimiotaxis y por tanto el reclutamiento de células implicadas en la respuesta alérgica, que perpetúan la inflamación en el tejido afectado, en este proceso participa la molécula de adhesión intercelular **ICAM-1**, que se ha demostrado está envuelta en la patogénesis del asma y la forma soluble de la misma molécula (**ICAM-1s**) se encuentra en individuos normales en bajas concentraciones, pero en condiciones inflamatorias las concentraciones de la **ICAM-1s** aumenta en el suero de estos pacientes. En este estudio se determinaron los niveles séricos de **ICAM-1s** en 35 pacientes con rinitis alérgica en diferentes estadios, (leve, moderado y severo) y se compararon con 10 controles negativos (individuos normales que no presentaron diagnóstico de rinitis alérgica ni asma) y 10 pacientes asmáticos (con antecedentes de rinitis alérgica) como control positivo, En un rango de edad de 15 a 55 años. Con el objetivo de determinar si dicha molécula es un marcador de severidad de la enfermedad, y así facilitar el diagnóstico además de administrar un mejor tratamiento a estos pacientes. De la medición sérica de **ICAM-1s** en los grupos de estudio se obtuvieron absorbancias utilizando la técnica de ELISA sándwich, las cuales fueron convertidas a concentraciones ng/ml a las cuales se les aplicó un análisis de varianza, se halló la (P) probabilidad y se realizó una gráfica de progresión lineal encontrándose que existe un aumento progresivo de las concentraciones de **ICAM-1s** con respecto a la severidad de la enfermedad en estudio ( $P < 0.05$ ), la comparación intergrupala mostró también diferencias significativas con un ( $P < 0.05$ ). exceptuando la rinitis leve dado sus bajas concentraciones de **ICAM-1s**. En conclusión los niveles de **ICAM-1s**, tienen un

aumento progresivo cada vez que la rinitis alérgica se acentúa. Confirmado la hipótesis que **ICAM-1** es un marcador de severidad.

## **B. INTRODUCCION**

La rinitis alérgica es una de las enfermedades más comunes en nuestro medio, alrededor del 18% de la población colombiana padece esta enfermedad, caracterizada por estornudos, rinorrea, prurito y obstrucción de la vía nasal. Puede aparecer en cualquier etapa de la vida, afectando directamente la vía respiratoria, mediante la inhalación de alérgenos que por lo común se derivan de fuentes orgánicas naturales produciendo una respuesta inmune y que en la alergia es una consecuencia del efecto nocivo provocado por la reacción inflamatoria desencadenada contra antígenos ambientales que normalmente no son patológicos. Dándose entonces la activación celular y posterior liberación de mediadores, tanto preformados como recién sintetizados (37)

Algunas partículas como polvo, ácaros, polen, etc., penetran la mucosa nasal y son normalmente eliminadas mediante el reflejo del estornudo a través de terminales colinérgicas, mientras que las moléculas que permanecen en contacto con la mucosa son atrapadas por las células fagocíticas que habitan esta área y de los cuales se obtienen fragmentos que son presentados a linfocitos T, que al reconocer el antígeno producen una cascada de eventos que conducen a la formación de inmunoglobulinas (Ig) específicas o anticuerpos (Ac) contra los antígenos (Ag) por parte de las células plasmáticas. En la mucosa nasal predomina la síntesis de inmunoglobulina A (IgA), que impide que microorganismos y partículas penetren la mucosa, siendo eliminadas en la capa superficial de la nariz, sin producir ningún cuadro patológico pero si creando memoria inmunológica.

Luego de varios contactos con el alérgeno, generalmente de gran tamaño (2-4µm), las citoquinas producidas por los linfocitos B (LB), activan la IgE la cual se adhiere por su porción Fc a receptores de alta afinidad que encuentra en la membrana de mastocitos generalmente ubicados en el tejido nasal. (26,30).

Al pasar cierta concentración de alérgenos, se genera una estimulación intracelular en la superficie de mastocitos, basófilos y eosinófilos que induce la liberación de mediadores como la histamina, proteoglicanos, heparina y derivados del ácido araquidónico entre otros, algunos de los cuales son vasodilatadores que aumentan la permeabilidad vascular y facilitan el acceso de más células leucocitarias al tejido nasal, las cuales tienen receptores de membrana que se unen con moléculas de adhesión en el endotelio, como por ejemplo en el grupo de las integrinas la LFA-1 (función linfocitaria asociada al antígeno-1) de los neutrófilos que interactúan con **ICAM-1 (molécula 1 de adhesión intracelular)**, la cual se expresa en diferentes células, además del endotelio vascular, es mediadora de la inflamación y puede encontrarse en forma soluble al desprenderse del epitelio o endotelio, mediante clivaje de la membrana de **ICAM-1**, indicando el grado de infiltración o activación celular en diferentes fluidos. También se producen citoquinas y quimioquinas que consolidan la inflamación local logrando un número mayor de polimorfonucleares activados que pueden destruir sustancias en el tejido. (30)

El cuadro clínico se asocia con la liberación de estos mediadores y sus efectos, es así como la vasodilatación inducida se traduce en congestión nasal, el aumento de la permeabilidad vascular en rinorrea y la irritación del sistema nervioso adrenergico (SNA), en prurito y estornudos. (26)

Recientemente se ha encontrado que la activación y la expresión de moléculas de adhesión y sus ligandos incrementan en varios tipos de inflamación crónica. Un ejemplo de este es la rinitis alérgica y asma, en esta última se ha observado un aumento

en la expresión de moléculas de adhesión especialmente **ICAM-1** que perpetúan la inflamación. Se han realizado técnicas para evaluar el epitelio respiratorio, como la inmunofluorescencia y otras para evaluar la molécula (**ICAM-1**) en su forma soluble como lo es la técnica de ELISA la cual se realiza en suero, plasma o fluidos corporales, ofreciendo una sensibilidad del 98% y dando resultados confiables.(17).

En este estudio se midieron los niveles de **ICAM-1s** en pacientes con rinitis alérgica en diferentes grados (leve, moderada y severa) con el fin de observar si es un marcador de severidad, y se observó que existe una relación de progresión entre los niveles de **ICAM-1s** y el estado de la enfermedad, al encontrarse diferencias significativas entre los grupos con respecto a los controles. Además se pudo confirmar que es un marcador inflamatorio al demostrarse un aumento en la concentración de **ICAM-1s** en la población de estudio en general.

## **C. MARCO TEORICO**

### **1. SISTEMA INMUNE**

El sistema inmune tiene actividades importantes como mantener la homeostasia y la salud. Ejerce un control dentro del organismo en virtud de sus componentes circulantes capaces de actuar en sitios muy alejados de su lugar de origen. El mecanismo inmunitario regulador puede ampliar enormemente una respuesta dada o disminuirla de manera notable dependiendo de las necesidades inmunitarias del organismo. Un sistema inmunitario que funciona normal es una defensa eficaz contra partículas extrañas como los agentes microbianos patógenos y contra células propias que han sufrido una transformación neoplásica.(3,34)

#### **1.1 COMPONENTES DEL SISTEMA INMUNE**

##### **1.1.1. CITOQUINAS**

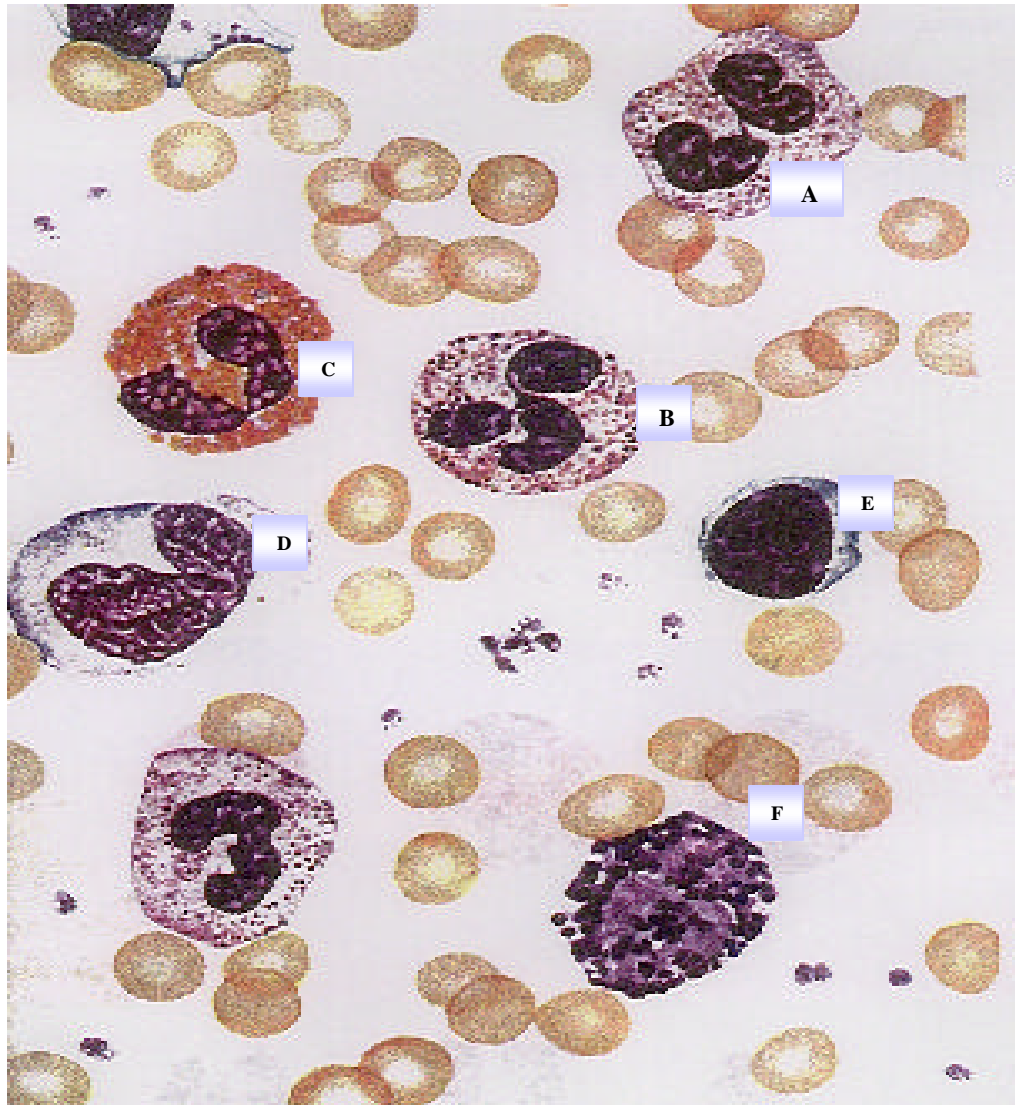
Son producidas por diversos tipos de células, que actúan en secuencia y sirven como señales secundarias endógenas que junto con los antígenos amplifican con rapidez los mecanismos de defensa local y sistémicos del huésped que incluyen macrófagos, linfocitos y otros tipos de células.(11)

CITOQUINA	FUNCION
<u>IL-3 e IL-5</u>	Factor de crecimiento y activación de eosinófilos, que incrementan el potencial inflamatorio, aumentando la capacidad de producción de leucotrienos y superóxidos.(3,37)
<u>IL-4 e IL-13</u>	Son producidas por mastocitos, linfocitos T, basófilos y eosinófilos. Activan LT y LB. Es un switch de isotipo de IgG a IgE, estimula laproducción de LTh2, además de inducir la expresión de CD23 Y CD54. (16,37)
<u>IL-6 e IL-9</u>	Participan en la maduración de mastocitos efectores para la unión con la IgE. (24)

### 1.1.2 CELULAS LEUCOCITARIAS

CELULAS	CARACTERISTICA Y FUNCION
<u>Macrófago</u>	Células con capacidad de fagocitar microorganismos durante una respuesta inflamatoria y presentar sus fragmentos a los LT.Son de dos tipos: Polimorfonucleares que son células circulantes que migran a los sitios de inflamación y los mononucleares que recirculan en la sangre o se encuentran fijos en los tejidos y se acumulan en los sitios de inflamación.(3,34)
<u>Neutrófilo</u>	Son células que se degranulan localmente inactivando o matando al agente ingerido, sin dañarse a sí mismo. Tiene una vida media de 2 a 7 horas y participa en reacciones inflamatorias, en vías aéreas, aumentando la broncoconstricción y la inflamación.(20,32)
<u>Basófilo</u>	Células que miden de 5 a 7 u de diámetro, con un núcleo lobulado, se desplaza a los tejidos en condiciones patológicas como en reacciones alérgicas e inflamación. (8,37)
<u>Mastocito</u>	Célula que mide de 9 a 12 u, con núcleo redondo. Se encuentra principalmente en la superficie mucosa, pulmón, intestino y piel, alrededor de los vasos sanguíneos y en microcirculación. Contiene mediadores en sus granulos, liberados tras la unión con la IgE.(5,20)
<u>Eosinófilo</u>	Célula que mide de 10 a 15 u de diámetro, con núcleo bilobulado, su vida media es de 6 a 12 horas. Son las células más involucradas en la reacción alérgica y de parasitismo.(8,34)
<u>Linfocito</u>	Son pequeñas células mononucleares que miden de 6 a 10 u, tiene un núcleo único bien definido, sin gránulos citoplásmicos. Son importantes en el proceso inflamatorio. Tiene vida media de 100 días. Existen dos tipos: LT que se activan por la presencia de un antígeno específico, predominan en cuadros inflamatorios por la liberación de citoquinas y LB los cuales son la fuente celular de las inmunoglobulinas.(8,34)

**Figura No 1: Células que intervienen en la respuesta inmune**



En la figura se observan los diferentes tipos de células leucocitarias que intervienen en la respuesta inmune y reacción inflamatoria. A y B) Neutrófilos, C) Eosinófilo, D) Monocito, E) Linfocito, F) Basófilo

### 1.1.3 INMUNOGLOBULINAS (Ig)

Son moléculas proteicas que portan actividad de anticuerpos, es decir, la propiedad de combinarse específicamente con la sustancia que provocó su formación (antígeno). Se pueden hallar en proporción variable en líquidos extravasculares, en las secreciones exocrinas y sobre la superficie de algunos linfocitos.

Los anticuerpos son moléculas bifuncionales y se ligan de manera específica con el antígeno e inicia también toda una gama de fenómenos secundarios como la fijación del complemento y la liberación de la histamina por las células cebadas, que son independientes de su especificidad por el antígeno.

(37) .Existen 5 tipos de inmunoglobulinas:

INMUNOGLOBULINA	FUNCION
<u>IgG</u>  <u>IgM</u>  <u>IgA</u>	Es la única que puede atravesar la placenta en el humano. Es capaz de fijar complemento y se involucra en la respuesta secundaria.(37)  Predomina en la respuesta primaria, también fija complemento y se puede encontrar en la superficie de las células B.(37)  Predomina en las secreciones corporales como saliva, lágrimas, secreciones bronquiales, mucosa nasal, líquido prostático, secreciones vaginales y secreciones mucosas del intestino delgado. Su función es impedir el acceso de sustancias extrañas al sistema inmunitario.(37)
<u>IgE</u>	Son las responsables de la hipersensibilidad de tipo I, fabricada por plasmocitos localizados en amígdalas , adenoides, lámina de submucosa, aparato respiratorio y digestivo. Se liga a FcεR1 <b>participa en reacciones inflamatorias en vías aéreas.</b> (8,37)

## **2. ALERGIA**

### **2.1 DEFINICION**

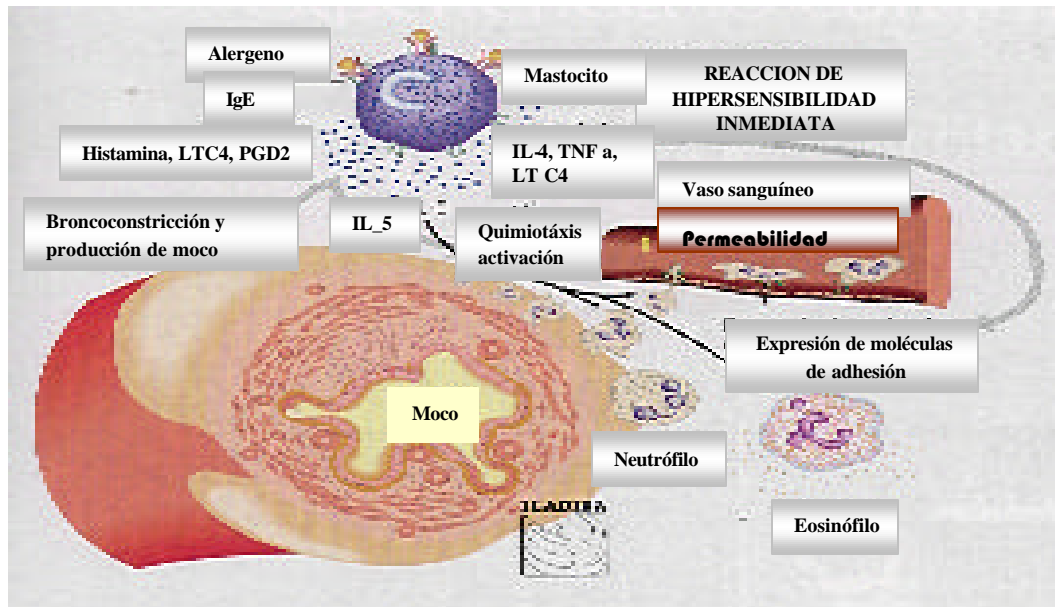
La alergia es una condición clínica caracterizada por el desarrollo de una de una reacción inmune disfuncional frente a un antígeno exógeno (alergeno) (14)

En 1906 Von Piquet emplea el término alergia para designar cuadros clínicos que implicaban una respuesta alterada de un organismo al ser expuesto a sustancias del medio ambiente.(8)

Es un término usado para definir la hipersensibilidad en seres humanos.

Una persona que es hiperreactiva a un antígeno se dice que es hipersensible (alérgica). Las alergias son el resultado de la repuesta inmune al polen, ácaros de polvo, moho, vitaminas, antibióticos, cosméticos y otras sustancias, como algunos alimentos, que son antígenos débiles a los cuales la mayoría de los individuos no reaccionan, pero en ciertos individuos esta sustancia actúa como antígeno, estimulando la síntesis de IgE por células plasmáticas específicas, como en la formación de células de memoria. Como resultado de la secreción de mediadores producidos por mastocitos y basòfilos (14,36) (figura No 2)

**Figura No 2: Reacción de hipersensibilidad inmediata**



En la reacción de hipersensibilidad inmediata la activación y degranulación del mastocito liberan sustancias que inducen broncoconstricción, edema, aumento de la permeabilidad de los capilares y quimiotaxis de otras células inflamatorias

## 2.2 CLASIFICACION

Las enfermedades alérgicas han sido clasificadas por Gell y Coombs en cuatro grupos basándose en la naturaleza de la reacción inmunológica:

**Tipo I: (anafilaxia).** Los anticuerpos IgE, fijados a las células cebadas, reaccionan con el antígeno, desencadenando la liberación de histamina, la activación de sustancias de liberación lenta (SRL-A) y el factor quimiotáctico de los eosinófilos (FQE-A). Este es el mecanismo responsable de la atopia, la anafilaxia, la urticaria y el angiodema.

**Tipo II :** Los anticuerpos IgE o IgM reaccionan con el antígeno sobre las células blanco activando el complemento, lo cual provoca la lisis de las células. Esto ocurre en ciertos tipos de reacciones medicamentosas.

**Tipo III:** Los anticuerpos IgG o IgM forman complejos con el antígeno y el complemento, generando factores quimiotácticos para los neutrófilos, con inflamación local del tejido. En la reacción de Arthus, la enfermedad del suero y las enfermedades pulmonares por hipersensibilidad interviene este mecanismo.

**Tipo IV:** los linfocitos T sensibilizados reaccionan con el antígeno, produciendo inflamación a través de la acción de las linfocinas. El ejemplo principal es la dermatitis por contacto. (37)

### **3. RESPUESTA ALERGICA A AEROALERGENOS**

La nariz contiene estructuras que captan partículas diversas, las que al acumularse en gran cantidad, son eliminadas al exterior mediante el reflejo del estornudo a través de terminales colinérgicas que estimulan al sistema nervioso autónomo (SNA). Este regula la secreción mucosa y el tono vascular. Mediante estimulación colinérgica se incrementa la producción de moco y se produce la vasodilatación, que genera congestión nasal, mientras que el estímulo alfa adrenérgico induce vasoconstricción, disminución de la secreción mucosa y aumento de la permeabilidad de las cavidades nasales. Algunas moléculas permanecen en contacto con la mucosa nasal, por lo cual las células fagocíticas que habitan en el área cerca al tejido epitelial, como los macrófagos atrapan dichas partículas denominadas antígenos y las disuelven en el citoplasma, mediante un arsenal enzimático con capacidad para destruir proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos.

Los fragmentos obtenidos son llevados a un tamaño suficiente para ser presentados a los linfocitos T, tanto por macrófagos como por las células

dendríticas que se encuentran haciendo parte de la mucosa o en tejidos linfoides vecinos que incluyen el anillo de Waldeyer en el contexto de moléculas de superficie de la membrana como el HLA de clase II, los linfocitos T al reconocer al antígeno inician una cascada de eventos que conducen a la formación de inmunoglobulinas específicas o anticuerpos contra los antígenos por parte de plasmocitos formados por linfocitos B. En la mucosa nasal predominará la síntesis de inmunoglobulina A con el fin de neutralizar al máximo el paso de microorganismos y para impedir que otras partículas entren a la mucosa. De esta forma las partículas son eliminadas en las capas superficiales de la nariz sin conducir a ningún cuadro patológico.

En algunas ocasiones debido al tamaño del antígeno se sintetiza IgE como ocurre con los pólenes provenientes de las plantas y glicoproteínas provenientes de insectos, conocidas como aeroalergenos, las que por sus características inducen la producción de IgE por parte de las citoquinas producidas por los linfocitos B. Luego de varios contactos con los aeroalergenos, la IgE va adhiriéndose por su porción Fc a receptores de alta afinidad (FcεRI), que para la IgE existe en los mastocitos, células normalmente encontradas en el tejido nasal, en un proceso conocido como sensibilización y que puede durar un tiempo variable dependiendo de la concentración del alergeno y de factores genéticos del individuo.(5) Luego de pasar una cierta concentración de alergenos, en la superficie del mastocito, se genera un estímulo intracelular que induce la degranulación y con ello la liberación de mediadores por parte del mastocito y de otras células que como basófilos y eosinófilos también tienen receptores de alta afinidad para IgE.

El mastocito posee en su interior moléculas preformadas como la histamina (Sustancia que produce vasodilatación de pequeñas vénulas y arteriolas terminales, con contracción de células endoteliales de vénulas poscapilares que se separan produciendo permeabilidad capilar aumentada y edema tisular), N-tosil-L, arginin metil esterasa, Triptasa (Enzima almacenada con grupos sulfatos de la heparina y el condroitínsulfato), kininas, citoquinas como el factor de necrosis tumoral alfa y la IL-4, además mediadores que son inducidos en el momento de la liberación como los derivados del ácido araquidónico, por la acción de la fosfolipasa A2, es decir, prostaglandinas, PGF2, leucotrienos como el LTB4, tromboxanos y el factor activador plaquetario (PAF).

Las prostaglandinas, la histamina y otros, generan vasodilatación y aumento en la permeabilidad vascular con el fin de facilitar el acceso de más células en el tejido nasal. Los polimorfonucleares neutrófilos aprovechan la vasodilatación e inician su migración al tejido gracias a la expresión de moléculas de adhesión en su superficie, como LFA-1 que le permite fijarse al endotelio a través de **ICAM-1**, gracias a la acción de citoquinas proinflamatorias que incluyen al TNF alfa, IL-1 e IL-8.

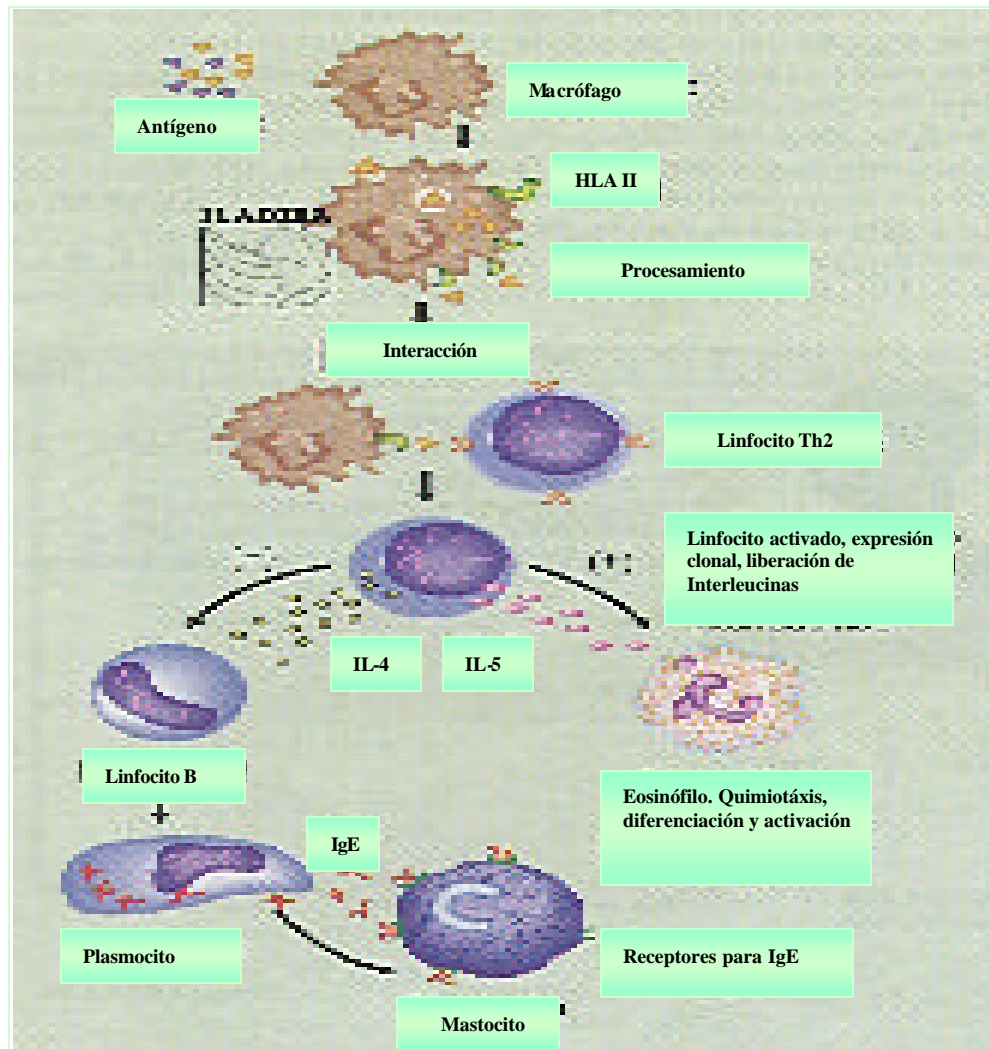
Estas citoquinas inducen a su vez la síntesis de proteínas quimiotácticas (quimioquinas) y demás citoquinas proinflamatorias en las células epiteliales las que consolidan la inflamación local logrando un mayor número de polimorfonucleares activados con la capacidad de destruir sustancias extrañas que aún se encuentren en el tejido circundante. Las quimioquinas y las moléculas de adhesión son pilares en el control específico de las células que llegarán a la mucosa nasal. Es así como la eotoxina, RANTES y PAF atraen especialmente a los eosinófilos al tejido, los cuales se expresan por la acción

de la IL-4 la molécula de adhesión VLA-4 y encuentran en la célula endotelial al VCAM-1 permitiendo así su migración tisular.

Por su parte, las citoquinas producidas por los mastocitos y las células dendríticas crean el ambiente propicio para que en el linfocito T CD4 predomine la función Th2, la cual incrementa la vida media de los eosinófilos por medio de la IL-5, aumenta la síntesis de IgE por medio de IL-4 e IL13 perpetuando así el fenómeno inflamatorio y comenzando a crear de esta manera la sintomatología propia del paciente con rinitis alérgica.

La liberación de mediadores y sus efectos se asocian directamente con la presencia del cuadro clínico. Así, la vasodilatación inducida se traduce en congestión nasal, el aumento de la permeabilidad vascular en rinorrea y la irritación del SNA en prurito y estornudos. (30) (Figuras No3, 4)

Figura No 3: etapa de sensibilización



La respuesta inflamatoria en la rinitis alérgica se inicia con la sensibilización. El alérgeno es degradado por el macrófago, el cuál presenta sus fragmentos al LT subtipo Th2. Este libera IL-4 que estimula la síntesis de IgE por las células B e IL-5 que participa en el reclutamiento y, maduración de eosinófilos.

Figura No 4: Respuesta alérgica

#### **4. SISTEMA RESPIRATORIO**

#### **4.1 FUNCION**

El sistema respiratorio tiene como misión fundamental realizar el intercambio de gases entre organismo y medio ambiente externo, para una adecuada captación de oxígeno, imprescindible para el funcionamiento de todos los sistemas del organismo y la eliminación del anhídrico carbónico que se produce durante su trabajo. (39)

La sangre sale de los capilares de la circulación general con disminución del contenido de oxígeno e incremento de dióxido de carbono. De allí llega al hemicardio derecho y de sus cavidades es impulsada al circuito menor de la circulación, en los pulmones. Estos últimos son dos grandes órganos esponjosos que contienen innumerables sacos pequeños con aire llamados alvéolos y un gran número de capilares en ellos, que permiten a la sangre de la circulación pulmonar estar en contacto íntimo con el aire alveolar, en el que se difunde oxígeno a la sangre y en dirección contraria, se hace la difusión del bióxido de carbono. El aire de los pulmones es cambiado por dos movimientos respiratorios, la inspiración que hace que pase aire al interior de los pulmones y la espiración que lo expulse. (8)

#### **4.2 INSPIRACION**

Mecanismo por el cual el aire es forzado a entrar en las vías respiratorias y pulmones. Este es un proceso activo en el que intervienen los músculos que modifican la capacidad de la cavidad torácica creando una presión negativa que obliga el aire a entrar. (41)

La jaula torácica por contracción de unos músculos y relajación de otros, puede aumentar de tamaño al volverse más profunda, larga y ancha y de esta

forma el aire penetra a los pulmones. También hace que la sangre pase adicional en los vasos pulmonares y extrapulmonares del tórax. Durante la inspiración el aire llega por la nariz o por la boca, luego es conducido a través del sistema respiratorio hasta los capilares pulmonares que están próximos a cada alvéolo en los cuales se realiza el intercambio de gases. Es así como el aire llega a su trayecto final. (7,39)

#### **4.3 ESPIRACION**

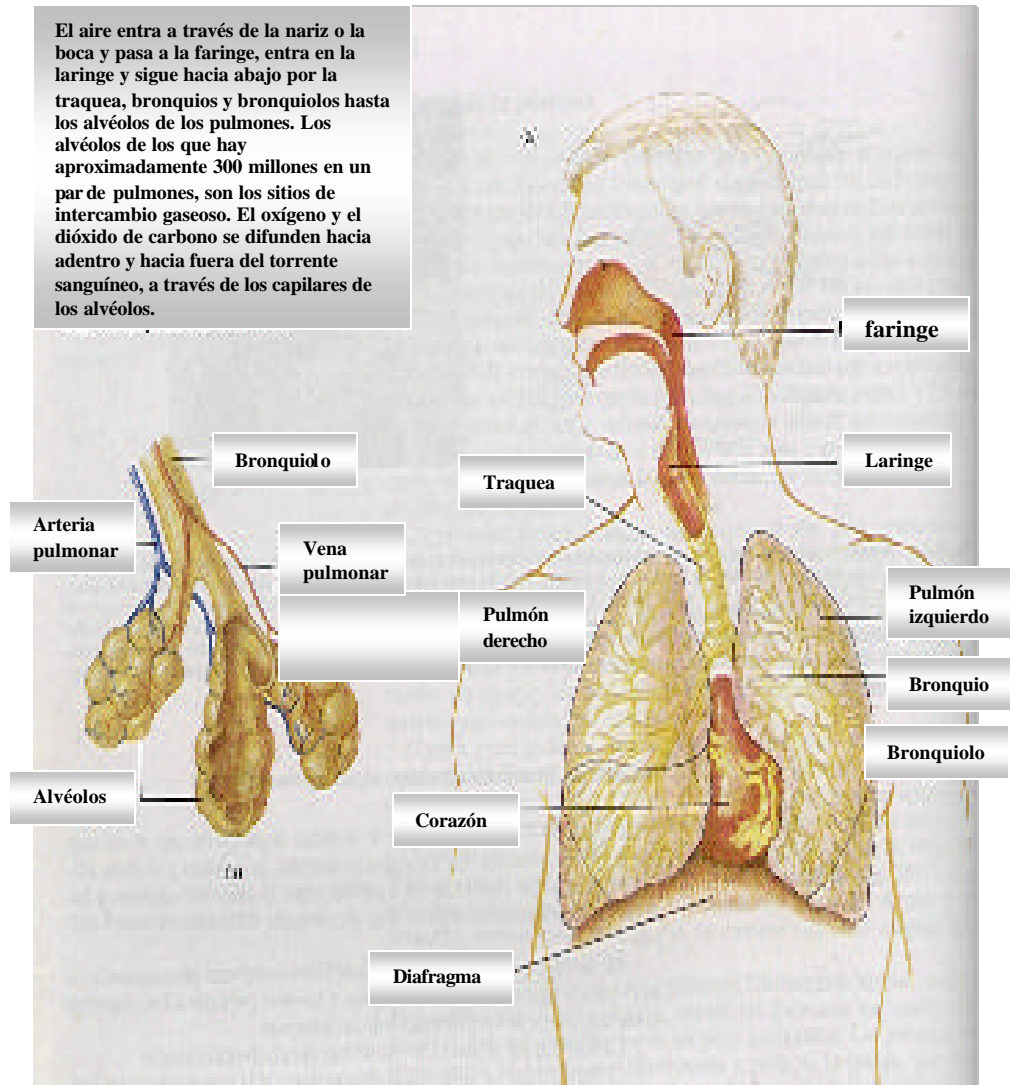
Al efectuarse el intercambio de gases entre alvéolos y capilares pulmonares, la sangre ya enriquecida con oxígeno, es recogida por las venas pulmonares, y dirigida a la parte izquierda del corazón para distribuirla a todo el cuerpo. Una vez los alvéolos contienen el gas carbónico, este es exhalado hacia el exterior. (39).

#### **4.4 COMPONENTES DEL SISTEMA RESPIRATORIO**

<b>ORGANO</b>	<b>FUNCION</b>
<b><u>Cavidades nasales</u></b>	Están separadas por un tabique, y cubiertas por una epidermis que contiene numerosos folículos pilosos y algunas glándula sebáceas y sudoríparas. Son ricas en elastina y poseen bastantes vasos que contribuyen a calentar el aire que entra

**Figura No 5: Esquema del aparato respiratorio**

El aire entra a través de la nariz o la boca y pasa a la faringe, entra en la laringe y sigue hacia abajo por la traquea, bronquios y bronquiolos hasta los alvéolos de los pulmones. Los alvéolos de los que hay aproximadamente 300 millones en un par de pulmones, son los sitios de intercambio gaseoso. El oxígeno y el dióxido de carbono se difunden hacia adentro y hacia fuera del torrente sanguíneo, a través de los capilares de los alvéolos.



## 5. ALERGENOS

Inicialmente el término alérgico se refería a lo que hoy llamamos fuentes de alérgicos, es decir, los pólenes, ácaros, mohos, alimentos, etc. Después de establecer que cada una de las fuentes tiene varios componentes (moléculas) alérgicos, estos últimos fueron designados como alérgicos.(4)

Los alérgicos son sustancias que producen reacción de hipersensibilidad inmediata dando lugar a dos procesos temporalmente distintos: una primera etapa de sensibilización en la cual el alérgico penetra al organismo generalmente por la vía de las mucosas y es presentado al sistema inmune donde es reconocido como extraño y en individuos sensibles, causa producción de inmunoglobulina E (IgE) específica. La segunda etapa es la producción de síntomas alérgicos, en donde semanas o años después del proceso de sensibilización, el alérgico es nuevamente internalizado y encuentra células blancas, que presentan IgE específica en la superficie de su membrana. Cuando dos moléculas IgE ligan alérgicos bivalentes o polivalentes, producirán activación de las células y liberación de los mediadores farmacológicos que darán lugar a la reacción alérgica(8)

## **5.1 FACTORES PRODUCTORES DE ALERGENICIDAD**

La mayoría de los alérgicos son proteínas, glicoproteínas o haptenos que no poseen propiedades fisicoquímicas que los diferencien de otros antígenos. Pueden existir ciertas características que facilitan el que una proteína se convierta en alérgico para un individuo susceptible, las más importantes son: la facilidad para penetrar los mecanismos físicos de defensa, la complejidad de la molécula y el tamaño, la diferencia genética con el huésped la cual parece ser el factor fundamental, así como la concentración ambiental del alérgico.(8)

## **5.2 DIVERSIDAD Y ABUNDANCIA DE ALERGENOS**

La mayoría de los alergenicos particulados tienen un diámetro de 2 a 6  $\mu\text{m}$  y sus constituyentes alergenicos más comunes son proteínas con un peso molecular de 10.000 a 40.000 Daltons.(26)

Los alergenicos pueden ser de naturaleza muy compleja como: hongos pólenes o ácaros, o de menor complejidad como: caspas animales, alergenicos de orina y haptenos. De las numerosas proteínas de estas fuentes, entre un 20 % y 60 % son alergénicas, cuando se hacen pruebas cutáneas en individuos alérgicos. Un paciente alérgico reconocerá generalmente más de un alergenico de una fuente dada, dependiendo de su constitución genética, de la complejidad de la fuente y del ensayo utilizado para la determinación de la alergenicidad, y no necesariamente reconoce los mismos alergenicos. Aquellos que son más frecuentemente reconocidos son denominados alergenicos mayores, en tanto que los poco frecuentes son denominados alergenicos menores.( 8)

Teóricamente, la respuesta IgE contra una molécula alergenica es la sumatoria de las respuestas específicas contra cada uno de sus epítipes alergénicos, los cuales varían en intensidad. Las personas sensibilizadas contra un epítipo reaccionarán contra los alergenicos que posean dicho epítipo, no importa su origen. (4)

## **5.3 PRINCIPALES AEROALERGENOS**

**TABLA N°1: LISTA DE ALERGENOS INHALANTES**

<b>POLVO</b>	<b>ANIMALES</b>	<b>HONGOS</b>	<b>ÁRBOLES</b>	<b>PASTOS</b>
Habitación	Epitelio de gato	<i>Alternaria</i>	Abedul	Bermuda
Casa	Epitelio perro	<i>Aspergillus</i>	Avellana	June grass
Ácaros	Plumas	<i>Fusarium</i>	Arce	Timothy grass
	Caballo	<i>Mucor</i>	Roble	Velvet grass
	Ratón	<i>Aureobasidium</i>	algodón	Gramma grass
	cucaracha	<i>Penicillium</i>	Fresno	
	Conejo	<i>Phoma</i>	Ciprés	
	mosca	<i>Pullularia</i>		

● Tipo de alergenico      ● Grupo al que pertenecen los alergenicos

### 5.3.1 HONGOS ALERGENICOS

Los hongos son organismos eucarióticos de paredes celulares rígidas, que requieren de carbohidratos externos para su nutrición, debido a que carecen de clorofila. Muchos de ellos se reproducen por esporas tanto asexuales como sexuales y a menudo se adaptan a la dispersión aérea.

Los hongos son capaces de colonizar cualquier hábitat y durante la evolución han desarrollado notable diversidad. En general requieren de la presencia de carbohidratos de plantas o alimentos, temperaturas de 18 a 32 grados centígrados y humedad por encima del 65%.

Por su constitución glicoproteínica pueden comportarse como materiales antigénicos o alérgicos y por ello han sido claramente implicados en rinitis, asma, aspergillosis broncopulmonar y alveolitis de hipersensibilidad inmediata

(8).

Los hongos ocupan una posición muy importante entre los antígenos inhalados, porque están presentes tanto en el ambiente doméstico interior como en el aire libre.

Los principales alérgenos del aire libre son la *Alternaria* y el *Cladosporium*. La roya roja o negriza ambas miembros de la clase Basidiomicetos, provocan problemas de alergia, especialmente en las cercanías de graneros. Los hongos con mayor prevalencia en sótanos, ropas de cama, y zonas interiores húmedas son: *Penicillium* y *Aspergillus*. *Rhizopus nigricans* (moho negro del pan), *Sacharomyces cerevisiae* (levadura de panadero), *Chaetomium*, *Curvularia*, *Helminthosporium*, entre otros son también alérgenos frecuentes de otros sitios. (8,37)

Cualquier proteína o glicoproteína soluble que sea un constituyente o producto metabólico de hongos, puede ser antigénica o también alérgica, si individuos genéticamente predispuestos son expuestos a ella. (3,27) (tabla No 1)

### **5.3.2 POLENES**

La mayoría de los pólenes aerotransportados son esféricos, amarillentos de 16 a 60  $\mu\text{m}$  cúbicos de diámetro en promedio, a menudo contienen lobulaciones de lípidos en su superficie. Están constituidos por una capa externa esculpida en forma visible y que contiene aperturas o poros de forma circular o surcos elongados generalmente en número de tres, con dos áreas polares en la terminación de los mismos. (8)

Debe notarse que la dosis inhalada requerida para producir síntomas en un individuo sensible varía notablemente; igualmente, las personas sensibles

expuestas a dosis diarias de polen, van requiriendo dosis cada vez menores del mismo para presentar los síntomas. (Tabla No1)

### **5.3.3 AEROALERGENOS DE TIPO ANIMAL**

Un gran número de individuos en la población general, experimentan reacciones cutáneas a epitelios animales, estudios realizados han demostrado que algunos pacientes asmáticos son alérgicos a una especie animal. (8)

Los principalmente implicados son:

**\*Alergenos de gato:** el alergeno más involucrado es el Felt I. Se ha observado que la saliva contiene los alergenios detectables en el pelo, posiblemente por la costumbre de lamerse. (8).

**\*Alergenos de perro:** por inmunoelectroforesis cruzada se han detectado 25 antígenos en la caspa del animal. Los componentes alergenicos mayores son: la albúmina sérica y una proteína no sérica denominada Ag13. El suero, la saliva y la orina son igualmente fuentes potentes de alergenios. (8)

**\*Alergenos de insectos:** Se ha demostrado que la alergia a la cucaracha es la más común en la población Americana, y se ha demostrado que las reacciones cutáneas positivas a extracto de cucaracha se presentan en un alto porcentaje de pacientes asmáticos en los Estados Unidos. El porcentaje de sensibilización aumenta en la población de baja condición económica, por una mayor exposición alérgica. (8)

### **5.3.4 ACAROS (Polvo de la casa y de la habitación)**

Durante mucho tiempo se ha venido atribuyendo al polvo de casa un carácter alergénico importante y responsable de un gran número de alergias respiratorias como el asma y la rinitis crónica.

Los ácaros del polvo de la casa y de el polvo de la habitación son piroglifidos que pertenecen a la familia de los artrópodos y pueden existir en grandes cantidades localizados en diferentes nichos. El lugar más propicio para el desarrollo de ácaros de polvo casero y la habitación es principalmente la parte superior de los colchones, a de mas se pueden encontrar en muebles, pisos, nidos de pájaros y mamíferos.

La supervivencia y reproducción de los ácaros depende de ciertos requisitos físicos y biológicos como son: luz, humedad, temperatura, perturbaciones mecánicas, parasitismo y competencia intra o inter específica. Viven básicamente por la ingestión de la caspa humana y de los hongos anemófilos.

Desde 1922 se ha especulado sobre la existencia de ácaros en el polvo de casa y su relación con las alergias. En 1924 se asocio el fenómeno alérgico del polvo a determinadas circunstancias climáticas, pues se observo mejoría en ambientes con poca humedad. En 1964 se demostró que el polvo de casa tiene una cantidad importante de ácaros de alto poder alergizante, y en 1966 se identificó el *D. pteronyssinus* como el responsable principal de las alergias respiratorias inducidas por la inhalación de polvo de casa.

Se reconoce que del 50% al 80% de individuos asmáticos desarrollan una marcada sensibilidad al polvo de casa. La actividad domestica pone en circulación estas pequeñas partículas (ácaros), que fácilmente se depositan en las fosas nasales donde sufren un proceso de disolución, produciendo la liberación de alérgenos y la absorción de estos antígenos por parte del

organismo. Se piensa que 100 ácaros por gramo de polvo constituye un factor de riesgo para la sensibilización y que de 100 a 500 ácaros por gramo son un factor de riesgo importante para el desarrollo de la sintomatología asmática.

(8,40) (Tabla No 1)

#### 5.4 ESTUDIO DE LOS ALERGENOS

El proceso de caracterización de un alérgeno comprende varias etapas que van desde confirmar su alergenicidad hasta definir su estructura y función, con el fin de explorar las posibilidades de eliminar la respuesta de IgE que induce o modifica la ya existente. Los enfoques y técnicas empleadas pueden variar, pero todas se sustentan en el desarrollo de la inmunología, la bioquímica y la biología molecular. Los pasos para la caracterización de un alérgeno son:

<b>PASOS</b>	<b>UTILIDAD</b>
<b><u>Demostración de la unión De la IgE</u></b>	Demostrar la capacidad de la molécula para inducir la respuesta de IgE en las personas o animales, ya sea in vivo o in vitro.
<b><u>Importancia clínica y Epidemiológica</u></b>	Indica el papel que juega un alérgeno como productor de enfermedades alérgicas.
<b><u>Purificación</u></b>	Sirve para analizar las propiedades físicas químicas, inmunológicas y funcionales de un alérgeno.
<b><u>Secuencia de aminoácidos</u></b>	Se realiza para comprobar que una proteína este lo suficientemente purificada.
<b><u>Reactividad cruzada</u></b>	Se observa la propiedad de una molécula alérgica para inducir la producción de anticuerpos IgE, capaces de reaccionar contra otras moléculas.
<b><u>Identificación de epítopes</u></b>	Se realiza para analizar en detalle la respuesta inmunológica contra los alérgenos.
<b><u>Utilidad diagnóstica</u></b>	En un extracto alérgico, esta se calcula por al correlación positiva entre las pruebas cutáneas, el RAST y la sintomatología clínica para dicho extracto.
<b><u>Potencial terapéutico</u></b>	Desde el punto de vista médico el objetivo principal dela caracterización de los alérgenos es su aplicación para el control de la enfermedades alérgicas.
<b><u>Determinación de la función Biológica</u></b>	La función que desempeña una molécula en su fuente natural esta relacionada con su potencial alérgico.

## **6. PATOLOGÍAS DEL SISTEMA RESPIRATORIO POR SÍNDROMES ALÉRGICOS**

### **6.1 RINITIS ALERGICA**

Es la más común de las enfermedades nasales, que constituye un tipo particular de manifestación de hipersensibilidad, que se produce como consecuencia de la exposición a antígenos, que generalmente ingresan por la vía de las mucosas. Es una inflamación crónica o aguda de la membrana mucosa de la nariz, considerada como tipo I de respuesta de hipersensibilidad y se caracteriza por una respuesta inmediata al contacto con el alérgeno, los síntomas se producen en los ojos, la nariz, las orejas y los sinusoides. (5,8) (Figura No2)

#### **6.1.1 INCIDENCIA**

La rinitis alérgica es la manifestación más común de una reacción atópica a los alérgenos inhalados. Alrededor del 10% de población Estadounidense y 18% de población Colombiana padecen esta enfermedad, que puede aparecer en cualquier etapa de la vida pero habitualmente comienza durante la niñez o la adolescencia.(37. (Tabla No2)

TABLA N°2 REACCIONES A AEROALERGENOS

<b>ALERGENO</b>	<b>N° de casos en la población Colombiana</b>	<b>PORCENTAJE</b>
Ácaros total	550	69.35%
Sensibilidad aislada	512	64.565
Pastos total	92	11.60%

Sensibilidad aislada	15	1.89%
Hongos total	54	7.06%
Sensibilidad aislada	6	0.75%
Árboles	8	1%
Malezas	5	0.63%
Epitelios animales total	47	5.92%
Otros		6.44%

## **6.1.2 CARACTERISTICAS CLINICAS**

### **6.1.2.1 SIGNOS Y SINTOMAS**

Un ataque típico presenta síntomas como: rinorrea acuosa profusa, estornudos paroxísticos y obstrucción nasal. El prurito de la nariz y del paladar es común.

Con frecuencia existe una blefaroconjuntivitis acompañada de prurito intenso de la conjuntiva y de los párpados. En algunos enfermos, la conjuntivitis puede ocurrir en ausencia de los síntomas nasales. Los ataques intensos a menudo van acompañados por síntomas generalizados de malestar y en ocasiones de dolor muscular después de periodos de intensa acción estornudatoria. La fiebre no existe, la hinchazón de la mucosa nasal puede provocar dolor de cabeza, debido a la obstrucción de los orificios de las cavidades paranasales.

La exploración física muestra una mucosa nasal, pálida, hinchada, con abundante secreción acuosa. La conjuntiva está enrojecida, y los párpados con frecuencia están congestionados e hinchados. Estos cambios se revierten a la normalidad cuando no hay exposición a los alérgenos y entonces el enfermo se encuentra asintomático (6,37)

### **6.1.2.2 DATOS DE LABORATORIO**

En la rinitis alérgica se observa: Eosinófilos numerosos en las secreciones nasales, pero la eosinofilia de la sangre es leve o normal. La IgE sérica está moderadamente elevada o normal. (37)

### 6.1.2.3 DIAGNOSTICO DE LA RINITIS ALERGICA

El diagnóstico esta basado en los antecedentes familiares y del paciente, los datos de la exploración física durante la etapa sintomática y la Eosinofilia nasal.

Los métodos diagnósticos utilizados para determinar los posibles agentes etiológicos pueden ser divididos en dos categorías: 1) in vivo, que incluye las pruebas cutáneas y de provocación en la mucosa, 2) in vitro, que incluye la medida de la IgE total y/o la específica en el suero del paciente. (8)

### 6.1.2.4 DIAGNOSTICO DIFERENCIAL DE LA RINITIS ALERGICA

OTRAS PATOLOGIAS	TIPOS DE RINITIS	RINITIS ALERGICA
<p><b><u>Resfriado común:</u></b> De origen infeccioso, los Síntomas perduran todo el día y la noche</p> <p><b><u>Sinusitis:</u></b> La descarga nasal es mucopurulenta y en ella predominan neutrófilos polimorfonucleares</p>	<p><b><u>Rinitis vasomotora crónica:</u></b> De origen Desconocido, hay obstrucción nasal con drenaje hacia la parte posterior de la nasofaringe. En esta no existe paroxismos de estornudos y la rinorrea es mínima, la congestión es unilateral o bilateral cambia con la posición del sujeto, la prueba cutánea es negativa.</p> <p><b><u>Rinitis medicamentosa:</u></b> La congestión se presenta, por uso excesivo de gotas nasales y nebulizaciones.</p>	<p>La rinitis alérgica es producida tras la exposición a un aeroalergeno, los Síntomas se presentan con más frecuencia en horas de la mañana. Se produce una descarga nasal acuosa con predominio de eosinófilos.</p> <p>Existe paroxismos de estornudos, rinorrea abundante, síntomas oculares. Las pruebas cutáneas son positivas. Tienen buena respuesta a los antihistamínicos.</p>

## **6.2 ASMA**

**Definición:** Es un desorden inflamatorio crónico de las vías aéreas, en el cual numerosas células juegan un papel importante; en particular, mastocitos, eosinófilos y linfocitos T.

En individuos susceptibles esta inflamación causa episodios recurrentes de sibilancias, disnea, tos, usualmente asociados con limitación variable pero generalizada del flujo aéreo, la cual es al menos parcialmente reversible, ya sea espontáneamente o con tratamiento, hay espiración alargada y sonora debido al estrechamiento generalizado, no localizado, de las ramificaciones bronquiales, sobretodo las de menor calibre, el paciente tiene problemas para exhalar y los alvéolos permanecen inflados durante la espiración. La inflamación produce hiperreactividad de la vía aérea. (8,22). El síndrome asmático reversible en forma espontánea o por acción de fármacos, tiene frecuentemente origen alérgico y es una condición multifactorial determinada por la interacción de factores genéticos y ambientales que conducen a un estado de inflamación crónico de las vías aéreas.(37)

### **6.2.1 CARACTERISTICAS CLINICAS**

#### **Signos y síntomas:**

Las crisis de asma típica aparecen con mayor frecuencia en las horas de la noche, muchas veces al amanecer, y comienzan generalmente con tos quintosa intensa, acompañada de sensación de opresión torácica, seguida de sibilancias, y posteriormente hay franca disnea de predominio espiratorio.

El paciente generalmente debe sentarse inclinado hacia delante, se ve pálido, moderadamente cianótico, angustiado, sudoroso, con los músculos espiratorios contraídos. Al cabo de un tiempo variable la tos se va haciendo productiva, con expectoración blanca, adherente, perlada, con lo cual se va produciendo alivio del cuadro y quedando el paciente exhausto.

Al realizar un examen físico encontramos un paciente disneico, con tórax insuflado, hiperresonante, con espiración prolongada; hay disminución generalizada del murmullo vesicular y de las vibraciones vocales y se auscultan sibilancias diseminadas.(1,25)

### **6.2.2 DIAGNOSTICO**

Los síntomas principales del asma son: sibilancias, disnea, opresión torácica, tos y expectoración; el diagnóstico varía según el momento en que se presentan los síntomas con más frecuencia: en la noche o al amanecer, desencadenados por estímulos como el aire, frío, alérgenos o estados catarrales. Igualmente otra probabilidad de diagnóstico de asma está dada por la mejoría de los síntomas por medicación antiasmática.

El examen físico ayuda a excluir otras enfermedades pulmonares, pero no agrega mayores pruebas diagnósticas. Las sibilancias son importantes, lo mismo que la hiperinflación, la disnea, la utilización de los músculos espiratorios.(29,37)

## **7. ICAM-1s UNA MOLÉCULA DE ADHESION**

### **7.1 MOLECULAS DE ADHESION**

Con el término moléculas de adhesión se designa a un grupo diverso de moléculas proteicas implicadas en la interacción física o de contacto entre dos

células. Las moléculas de adhesión adquieren una relevancia máxima durante la embriogénesis de los organismos pluricelulares ya que tienen un papel crucial en los procesos de morfogénesis, migración celular y organogénesis. Son ellas las responsables de la cohesión celular, de la segregación de las células en tejidos, de los plegamientos críticos y de la invasión ordenada y dirigida que llevan a cabo los diferentes tejidos para conformar los órganos. En la etapa adulta las moléculas de adhesión juegan un papel importante como mediadores de la interacción entre las células.

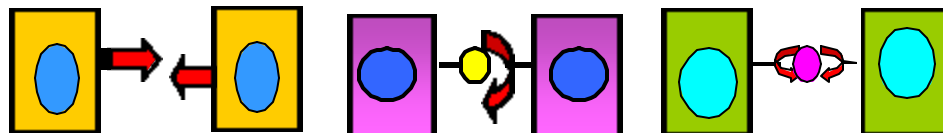
Las moléculas de adhesión realizan dos funciones principales:

- 1) se unen a contra-receptores específicos ubicados en otras células o la matriz extracelular, facilitando las interacciones celulares y la migración de ellas por los diferentes tejidos.
- 2) transducen señales reguladoras de la transcripción celular luego de la interacción con sus ligandos.

La interrelación entre un leucocito y una célula endotelial establece un tipo de unión transitoria entre dos tipos de células diferentes que usualmente interactúan a través de moléculas de adhesión distintas pero que conllevan a una rápida y transitoria activación de genes o vías metabólicas en las dos células, la interrelación entre dos células del mismo tipo establecen un tipo de unión por lo general permanente y estrecha a través de moléculas de adhesión del mismo tipo que llevan a la expresión de vías metabólicas estables que dan características constantes al epitelio.(13,25)

### **7.1.1. CLASIFICACION FUNCIONAL**

La expresión de las moléculas de adhesión esta determinada por múltiples factores en el entorno de cada célula como por ejemplo la composición iónica del medio (presencia de  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ), el tipo de matriz extracelular, el tipo de células presentes (del mismo o diferente tipo), la integridad del entorno celular (cuando hay lesión se exponen otras moléculas), la presencia de factores de crecimiento, hormonas, interleuquinas, neurotransmisores, factores inhibidores, presencia de estímulos específicos (eléctricos, fotoquímicos y mecánicos) a los que reaccionan determinados tipos de células. Existen dos tipos de interacciones generales a través de las cuales las moléculas de adhesión ejercen sus funciones en el desarrollo, diferenciación y regulación de la actividad celular. La primera es la mediación adhesión célula sustrato que implica la presencia de receptores en la membrana celular que permite la interacción activa con los componentes del sustrato y la segunda en la mediación de la adhesión célula- célula que implica la presencia de moléculas complementarias en la superficie de ambas células llamadas genéricamente CAM (Cell-Adhesión-Molecules). Se han descrito tres tipos de interacciones intercelulares: (figura No 3)



**Homofilica:** unión de dos Moléculas del mismo tipo

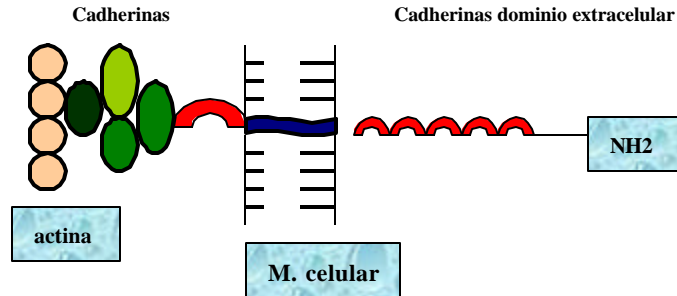
**Heterofilica:** unión de dos moléculas diferentes y complementarias

**Conexión:** puente formado por sustancias extracelulares secretadas

### 7.1.2. CLASIFICACION QUIMICO -ESTRUCTURAL

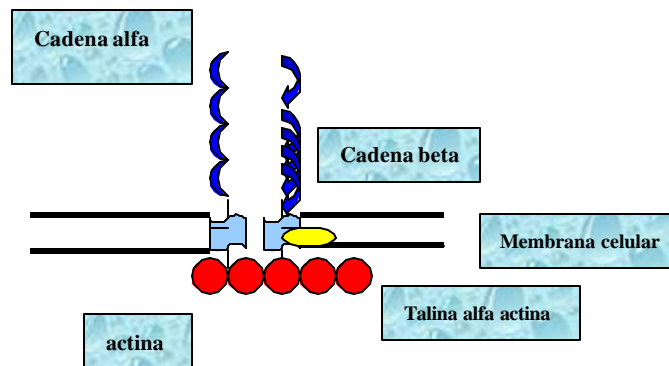
Según las características químico-estructurales, las moléculas de adhesión pueden dividirse en varias familias:

### 7.1.2.1 Familia de las Cadherinas



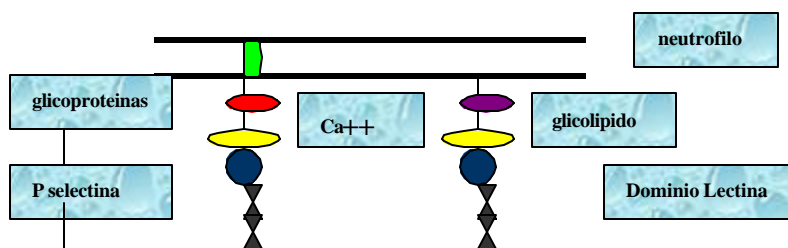
En el diagrama se observa el dominio extracelular, transmembrana e intracelular. Las cadherinas se fijan al cito esqueleto de la actina a través de un complejo de proteínas denominadas cateninas.

### 7.1.2.2. Familia de las integrinas



Integrinas son glicoproteínas transmembranales conformadas por subunidades alfa y beta. La subunidad alfa tiene los dominios ligadores de calcio o magnesio y la subunidad beta el dominio ligador de talina y alfa actina para la unión al citoesqueleto. Ambas son necesarias para la unión a los componentes de la matriz extracelular.

### 7.1.2.3. Familia de las selectinas



Selectinas son proteínas transmembrana que poseen un dominio lectina capaz de reconocer oligosacáridos específicos asociados a proteínas o a lípidos de membrana. Media uniones intercelulares dependientes de calcio, transitorias y débiles. En el recuadro se muestra la estructura de la P selectina, esta molécula de adhesión es expresada por células endoteliales activadas y produce la adhesión inicial de leucocitos circulantes a su superficie mientras que se activan mecanismos de unión más fuertes mediados por integrinas. Participan en procesos inflamatorios

#### 7.1.2.4. Superfamilia de las inmunoglobulinas (Ig- like CAMS)

Esta superfamilia comprende aquellas proteínas que tienen uno o más dominios extracelulares homólogos a las inmunoglobulinas. Estas moléculas median la adhesión celular no dependiente de calcio.. Se expresan en diferentes tejidos por lo que en su notación se usa un prefijo que denota el tipo de tejido en que se describieron o en el que predominan, por ejemplo:

- N- CAM: neuronal- cell- adhesion molecule
- Ng-CAM: neuroglia - cell- adhesion molecule
- **I-CAM : intercellular adhesión molecule**. (entre leucocitos y células diana)

La superfamilia de las inmunoglobulinas puede subdividirse en:

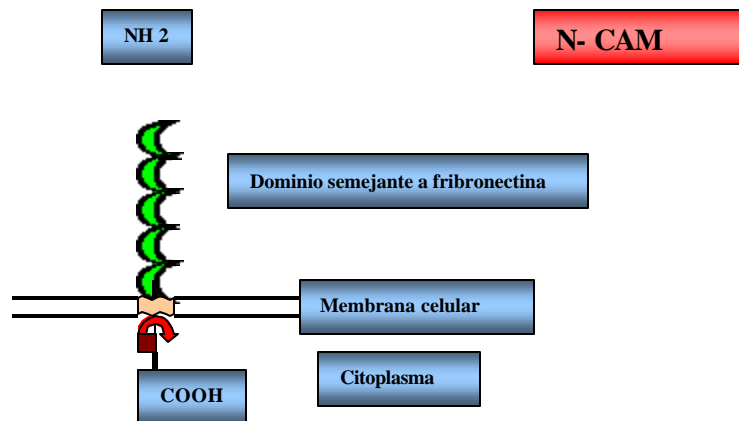
Tipo C1: involucradas en el reconocimiento de los antígenos; se incluye aquí los receptores antigénicos de los linfocitos T y B los anticuerpos, y las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad.

Tipo C2: Proteínas de adhesión celular y fijadoras de complemento; incluyen células de acción muy diversa, desde adhesión neuronal ( N-CAM), coestimulación celular ( CD28, CD80, CD86, CDLA-4 ) y moléculas de adhesión que en algunos casos son ligandos para las integrinas. Estas moléculas están involucradas en la circulación y tráfico de los leucocitos a los

órganos linfoides y a los sitios de daño tisular por medio de interacciones célula - célula o célula- matriz extracelular.

Cinco miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas están expresadas constitutivamente por las células endoteliales, y se encuentran involucradas en la adhesión firme de los leucocitos a ellas: **ICAM-1, ICAM-2; VCAM-1, PECAM-1, y MAdCAM-1**. La expresión de la mayoría de estas moléculas es regulada positivamente por varias citoquinas, llevando a un incremento en la unión fuerte de los leucocitos al endotelio durante los procesos inflamatorios. (24,25)

### Superfamilia de las inmunoglobulinas.



Esta moléculas están constituidas por un dominio extracelular con disposición en múltiples asas cicladas por puentes disulfuro (Ig-Like domain). En su parte proximal presenta partes semejantes a la fobronectina. El dominio intracelular es variable y es el encargado de producir señales intracelulares o mediar la adherencia al citoesqueleto.

## **8. ICAM-1 (intercellular adhesion molecule -1)**

También denominada CD54, es una molécula de adhesión de superficie que sirve como contrareceptor para la integrina LFA-1, también se liga a fibronectina y diferentes tipos de serovirus. En general sirven como receptoras o ligadoras, en la superficie de la célula endotelial, para las integrinas existentes en linfocitos, leucocitos, macrófagos y eosinófilos.

Es fuertemente glicosilada, y pesa de 90 a 115 kDa, es una molécula de cadena simple que expresa cinco dominios unidos por puentes disulfuro, como una inmunoglobulina. Se expresa sobre la superficie luminal, intercelular y subluminal en células del epitelio respiratorio y endotelio que irrigan a este sistema. Son mediadoras de la inflamación y pueden regular fuertemente la expresión en áreas locales, esta involucrada en la activación del neutrófilo, ya que por medio de ellas se une a las células del endotelio o el epitelio. Su expresión aparece de 16 a 24 horas después de ser estimulada por citoquinas como: Interleuquina 1 (IL-1), factor de necrosis tumoral (TFN), interferón gama (IF gama) e Interleuquina 4 (IL-4)(8,24)Figura No 8

### **8.1 ICAM-1s ( soluble intercellular adhesion molecule-1)**

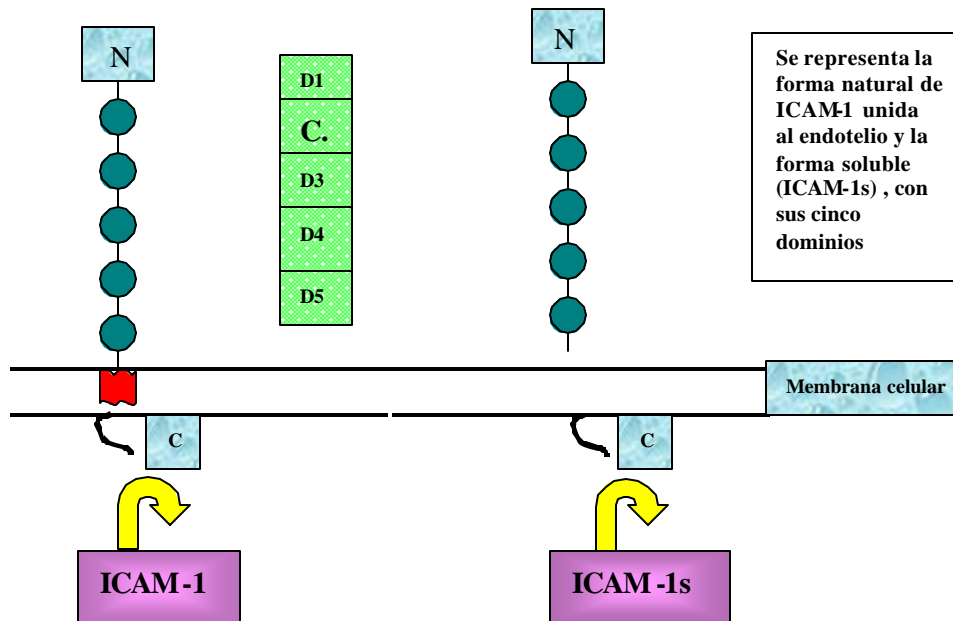
Los componentes solubles de **ICAM-1** son desprendidos de la superficie celular durante la unión a los ligandos, así esta concentración en suero o fluidos extracelulares refleja el grado de infiltración o activación celular.(10)

La presencia de varias formas de **ICAM-1** en circulación puede ser explicada por una formación de complejos consigo mismo y/o con otras moléculas en el plasma. (31). Esta forma soluble tiene procedencia a través de un clivaje proteolítico de membrana de la **ICAM-1** y es similar estructuralmente a esta,

por lo cual puede participar en reacciones de adhesión dependientes de LFA-1, (29), además su función es modulada por la asociación de dominios citoplásmicos con la actina del citoesqueleto. (18)

La forma soluble se empezó a detectarse bajo la hipótesis que existen varios receptores para leucocitos como la IL-2R y receptores de baja afinidad de IgE (CD23) en forma soluble en el suero,(29) para lo cual se realizaron técnicas de ELISA, encontrándose que **ICAM-1s** esta presente en individuos sanos pero que sus niveles se incrementan durante la inflamación o malignidad.(40)

### Estructura de ICAM-1 e ICAM-1s



## D. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

La constante permanencia de materiales orgánicos en el polvo domestico como los ácaros, el polen, esporas de hongos, emanaciones de insectos y otros animales, que actúan como alérgenos, penetrando directamente en la mucosa respiratoria por inhalación, son la causa más común de la rinitis alérgica, la cual se ha incrementado significativamente en los últimos años. De acuerdo con información epidemiológica cerca del 40% de la población general es atópica, como lo demuestran los resultados positivos de las pruebas cutáneas realizadas con alergenos específicos,(12) evidenciando un problema de salud que genera una gran morbilidad y afecta de manera importante la calidad de vida de los pacientes.(12)Estudios realizados han demostrado que en asma extrínseca en fase de activación o severa, que puede ser consecuencia de rinitis alérgica, existe un aumento en la expresión de las moléculas **ICAM-1** en el endotelio de la vasculatura del tracto respiratorio.(22). Además la **ICAM-1** puede desprenderse del epitelio o del endotelio convirtiéndose en soluble (**ICAM-1s**), y mostrándose como un marcador útil de inflamación.(10) Durante este proceso las moléculas de adhesión son reguladas positivamente por varias citoquinas, llevando un incremento en la unión fuerte de los leucocitos al endotelio y acentuando así la enfermedad. Demostrando que las enfermedades como rinitis alérgica y asma se deben tratar en un estado inicial para suprimir la inflamación. Al detectar un aumento en la expresión de **ICAM-1s** en pacientes con rinitis alérgica en estado moderado, severo y leve el tratamiento convencional con antihistamínicos debería combinarse con corticosteroides inhalados ya que son antiinflamatorios que intervienen en el metabolismo del ácido araquidónico, disminuye la síntesis de leucotrienos y prostaglandinas, reducen la permeabilidad aumentada en la microvasculatura, inhiben

la producción y secreción de citoquinas (IL-4, IL-5), previene igualmente la migración dirigida y la activación de células inflamatorias.(32) Disminuyendo así la hiperactividad bronquial, reduciendo los síntomas que mejoran la calidad de vida y evitando el riesgo de que el episodio progrese, no obstante para determinar si existe una mayor expresión de estas moléculas en la rinitis alérgica, se requiere de un análisis inmunológico que permita establecer si las moléculas **ICAM-1s** son un marcador de la inflamación y por ende de la severidad de la enfermedad.

## **E. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Determinar los niveles séricos de la molécula de adhesión intercelular soluble **ICAM-1s** en pacientes con rinitis alérgica.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

\*Observar si existe aumento de la expresión de moléculas **ICAM-1s** en el suero de pacientes con rinitis alérgica con respecto a los controles negativos

\*Determinar por el método de ELISA (sándwich) la expresión de moléculas **ICAM-1s** en pacientes con rinitis alérgica en sus diferentes grados de severidad

\*Analizar si existe un aumento progresivo de **ICAM-1s** proporcional con cada grado de severidad de la rinitis alérgica.

\*Determinar si **ICAM-1s** es un marcador de severidad en la rinitis alérgica.

## **F. MATERIALES Y METODOS**

### **1. TIPO DE ESTUDIO**

Es un estudio observacional analítico, que compara las concentraciones de ICAM-1s entre casos de rinitis alérgica, asma y controles..

### **2. HIPOTESIS**

En la respuesta inmune de pacientes con rinitis alérgica en fase aguda hay un aumento en los niveles séricos de las moléculas ICAM-1

### **3. SELECCIÓN DE GRUPOS**

Se trabajó con 55 pacientes de ambos sexos,16 hombres y 39 mujeres, 10 como control positivo,10 como control negativo y 35 con rinitis alérgica en diferentes niveles; con edades entre los 15 y 55 años. Todos sometidos a criterios de inclusión.

#### **3.1 Criterios de inclusión:**

- Examen físico: Descartar otras enfermedades inflamatorias o infecciosas
- Pruebas cutáneas: Positivo para alergenitos inhalados.
- Pacientes Asmáticos con antecedentes de rinitis alérgica
- Individuos para control negativo sin diagnóstico de enfermedades inflamatorias de las vías respiratorias
- Espirometría: obstrucción que responde a los broncodilatadores.

### **3.2 Criterios de exclusión:**

- Pacientes con tratamiento por vía oral con corticosteroides o antihistamínicos
- Menores de 15 años, no fueron incluidos en el estudio

### **4. GRUPO CONTROL POSITIVO**

Con la colaboración del personal médico de la unidad de neumología del Hospital Universitario de la Samaritana, fueron seleccionados 10 pacientes asmáticos, que tenían tratamiento con inhalantes o que no estaban en tratamiento.

Estos pacientes se sometieron a la espirometría con resultados que indicaban: leve, moderada o parcial alteración obstructiva con respuesta a broncodilatadores. Realizada para comprobar la existencia de asma en el paciente.

### **5. GRUPO CONTROL NEGATIVO**

Se eligieron 10 personas que asistieron a consulta médica al instituto de Asma, Alergia e inmunología, en los que no se encontraron signos ni síntomas de rinitis alérgica. Estos pacientes se sometieron a pruebas cutáneas por el método de Prick, las cuales resultaron negativas para los diferentes alérgenos. Esto con el fin de descartar pacientes sintomáticos.

### **6. GRUPO EXPERIMENTAL**

El personal médico del Instituto de Asma, Alergia e Inmunología asistió 35 pacientes con signos y síntomas de rinitis alérgica, según el examen físico, y

posteriormente les practicaron pruebas cutáneas por el método de Prick, obteniendo un test positivo para diferentes alérgenos. Se clasificó el estado de la enfermedad de cada paciente en rinitis alérgica: leve, moderada y severa según parámetros clínicos tales como: síntomas nasales que ocurren diariamente (cantidad de estornudos, obstrucción nasal, prurito y rinorrea) en una escala de cuatro puntos: cero = ausente, uno = leve, dos = moderado y tres = severo (38)(anexos)

## **7. PRUEBAS**

### **7.1 ESPIROMETRIA**

La espirometría consiste en determinar la actividad ventilatoria de un individuo, midiendo los volúmenes y capacidades pulmonares. Para realizar esta prueba se requiere de un espirómetro que se fundamenta en una campana llena de gas que flota dentro de un canal con agua. A este canal se conecta un tubo por uno de los extremos y el otro extremo se conecta con la boca del paciente. La espiración e inspiración se registran en un espirograma.(39) Existe la espirometría de circuito abierto frecuentemente utilizada, ya que es una técnica simple, de más fácil entendimiento para quien se realiza la prueba y a su vez disminuye el riesgo de infecciones, pues en esta el paciente inhala al máximo(capacidad total del pulmón. TLC) sin utilizar el tubo, hasta que se da la orden de exhalar que es el momento donde se coloca el tubo sobre la boca y exhala fuerte y completamente como sea posible, este esfuerzo produce un flujo que se traduce en una curva de tiempo - volumen.

En la espirometría de circuito cerrado, el paciente respira normalmente a través de un tubo conectado en la boca y cuando se le da la instrucción debe inhalar

profundamente y exhalar con fuerza por el mismo tubo durante seis segundos o hasta que finalice el test. (40)

El valor diagnóstico está en que evalúa la presencia o severidad de la enfermedad pulmonar y permite la monitorización de la efectividad de la terapia al medir la extensión de alteración pulmonar.(39)(Figura No6)

**Figura No 6: Espirómetro**



## **7.2 PRUEBAS CUTANEAS**

Las pruebas cutáneas son un método usado generalmente para confirmar la sensibilidad específica en pacientes con enfermedad atópica o con anafilaxia después de que sus antecedentes sugieren los alérgenos persistentes que deben ser probados. Minutos después de la introducción del alérgeno, la histamina liberada por las células cebadas de la piel provoca vasodilatación (eritema), edema localizado por aumento de la permeabilidad vascular (roncha) y prurito. La piel reacciona al alérgeno en casi todos los enfermos con alergia de tipo I, aun cuando sus síntomas ocurran en otros órganos blanco como la nariz, la

conjuntiva, los pulmones o el aparato digestivo. Muchas pruebas con alérgenos pueden ser ejecutadas simultáneamente.

Las pruebas cutáneas resultan confiables, convenientes y seguras, se ha demostrado que son útiles para el diagnóstico en pacientes con enfermedad alérgica.

Los antihistamínicos inhiben o disminuyen la respuesta a las pruebas cutáneas y por lo tanto, su administración debe suspenderse mínimo durante una semana, antes de la prueba. La hidroxicina es inhibidora hasta por una semana, las xantinas, los medicamentos simpaticomiméticos y los glucocorticoides no inhiben la reacción a las pruebas cutáneas y no necesitan ser suspendidos antes de la prueba.

Siempre deberán hacerse pruebas cutáneas por el método del prick. Las pruebas se aplican en la espalda o en las superficies internas de los antebrazos, dependiendo del número de pruebas, estas deberán ir acompañadas por un diluyente que será el testigo, algunos alergólogos emplean histamina como testigo positivo.(8,37)

### **7.2.1. Procedimiento:**

Se toma la cara anterior del brazo y ante brazo en los pacientes, la piel se limpia con alcohol se seca al aire, se marca el lugar de cada antígeno a estudiar y se coloca una gota del extracto concentrado del mismo, se pinza (intradérmico) la piel en un ángulo de 90 grados, con una lanceta a través de la gota, después de 20 minutos, tiempo en el cual se produce el pico de mayor reacción, la gota es retirada y la reacción es medida y registrada por cruces

teniendo en cuenta el diámetro del eritema y el de la roncha en mm comparándolos con el control positivo.(8,40) tabla No3

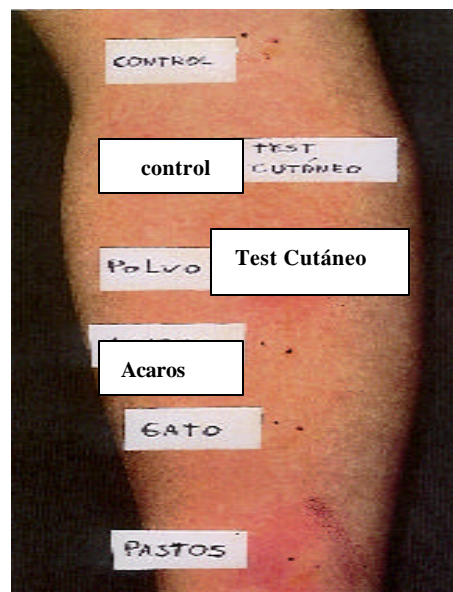
**Tabla No 3: Sistema graduado de lectura de pruebas cutáneas**

GRADO	RONCHA mm	ERITEMA mm
0	Menor de 4	Menor de 10
2+	5-10	21-30
3+	10-15,seudópodos	31-40
4+	Mayor de 15	Mayor de 40

Se emplea solución salina al 0,85% como control negativo e histamina como control positivo la cual aumenta la permeabilidad al favorecer la dilatación de los vasos sanguíneos, la diapédesis de las células, el quimiotactismo y la exudación plasmática iniciando así una reacción inflamatoria que se observa en la formación de una pápula, eritema y prurito en el área afectada.( Área de punción).(32)

Cuando la prueba esta bien hecha el testigo es negativo y un resultado de 2+ o mayor es significativo. Los alergenos que dan resultados negativos o 1+ con el prick deben ser confirmados por la vía subcutánea.(37) (figura No 7)

**Figura No 7: pruebas cutáneas**





Polvo

GATO

Pastos

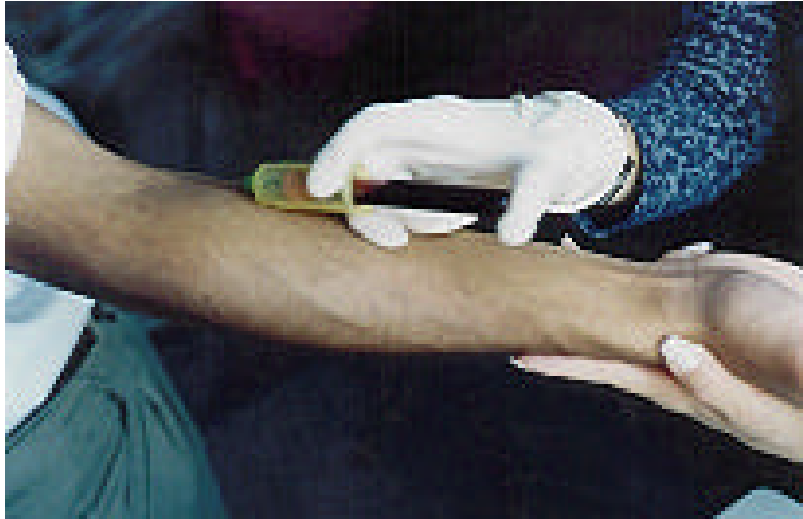
Aplicación de los alergenosen la superficie del brazo del paciente . Se observa la gota de alergenodispuesto a penetrar la piel.

Se muestran reacciones positivas para algunos alergenosen ( pastos y ácaros), se observa eritema y pápula.

## **8. RECOLECCION DE MUESTRAS**

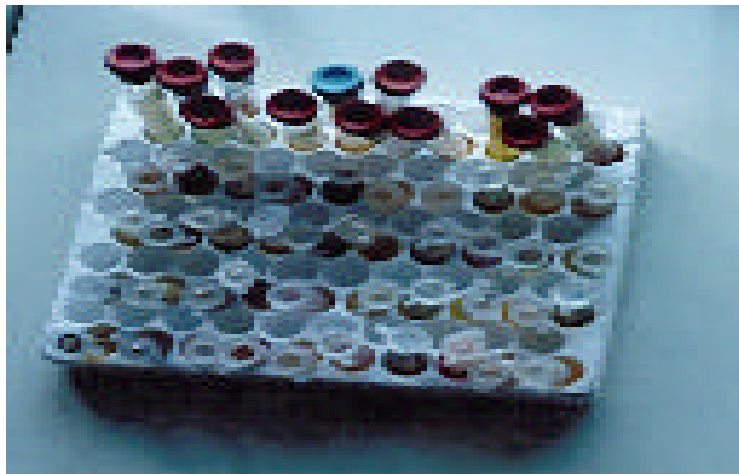
Una vez cumplidos los criterios de inclusión se completaron los grupos de trabajo y se procedió a recolectar las muestras de sangre de cada uno de los pacientes. En total asepsia se tomaron muestras de sangre venosa, en tubos secos (sin anticogulante), que luego fueron centrifugadas durante 15 minutos con el fin de obtener el suero de cada paciente, este fue separado y alicuotado, para posteriormente ser almacenado a  $-70$  grados centígrados, hasta ser estudiados. (Figura No 8,9 y 10)

**Figura No 8:toma de muestra**



En la figura observamos la obtención de las muestras de los pacientes que entraron al estudio. Se tomó una muestra de sangre sin anticoagulante, para la obtención de suero.

**Figura No 9: Muestras de suero de los pacientes**



Luego de la centrifugación se obtuvieron sueros que fueron alicuotados y almacenados A  $-70^{\circ}\text{C}$ , para luego ser analizados.

**Figura No10: Almacenamiento a menos 70°C**



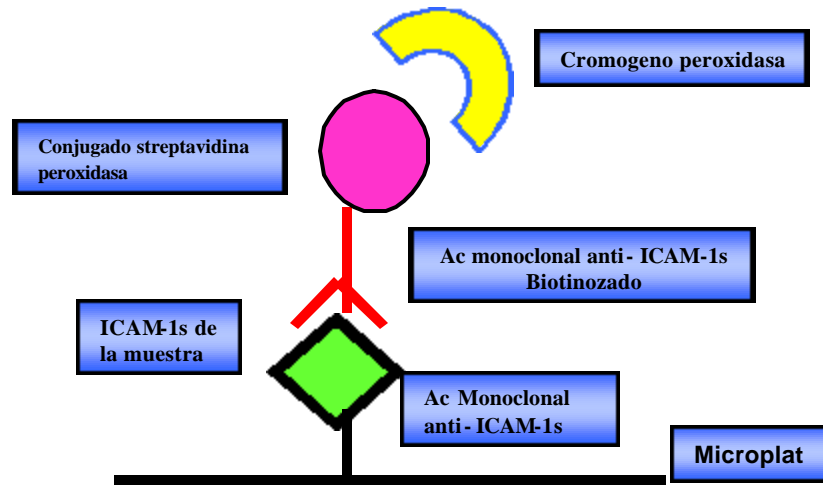
## **9. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS**

### **9.1. Fundamento de la prueba. Método de ELISA:**

Este es un ensayo inmunoenzimático de **ICAM-1s**, de tipo sándwich en la cual las moléculas **ICAM-1s** de la muestra son capturadas por un anticuerpo monoclonal anti-**ICAM-1s** que se encuentra en los pozos del microplato y por otro anticuerpo monoclonal anti-**ICAM-1s** el cual está biotinizado, siendo esta la fase sólida donde está el complejo Ag-Ac. Luego se agrega un conjugado de estreptavidina-peroxidasa que se une al Ac biotinizado pues la biotina es a fin con la estreptavidina, después de una incubación se agrega un cromógeno con peroxidasa ya que la peroxidasa reacciona con la estreptavidina y hace que se

produzca un color , el cual se mide por su intensidad que es proporcional a la cantidad de **ICAM-1s** que se encuentra en la muestra o el standard. (17)(figura No11)

**Figura No 11: fundamento técnica de ELISA sándwich**



## 9.2 Desarrollo de la técnica:

Se procedió a realizar la técnica según el inserto de la casa comercial (Beackman Coulter Company) para la identificación de moléculas **ICAM-1s** en suero, plasma y otros fluidos por el método de ELISA.

### a) Preparación de estándares:

Se hace una dilución seriada del patrón standard ya listo 160ng/ml, para obtener las diferentes concentraciones que luego serán graficadas para extrapolar las muestras en estudio. Según instrucciones de la casa comercial

**TABLA N°4: PREPARACION DE STANDAR**

Standard concentración	ICAM-1s	Diluyente
<b>16 ng/dl</b>	50ul stand 160 ng/ml	<b>450 ul</b>
<b>4 ng/ml</b>	100ul stand 16 ng/ml	<b>300ul</b>
<b>1ng/ml</b>	100ul stand 4ng/ml	<b>300ul</b>
<b>0.25 ng/ml</b>	100ul stand 1 ng/ml	<b>300ul</b>
<b>0</b>		<b>300ul</b>

- b) Se llenan los pozos del microplato con 50 ul del standard o la muestra y se agrega 50 ul del anticuerpo biotinizado. Se incuba durante 2 horas a temperatura ambiente en continuo movimiento a 350(rpm).(Figura No12)

**Figura No 12a**



**Placa de  
ICAM-1s  
Con los  
sueros y  
estándares**

- c) Se lavan los pozos con solución lavadora previamente preparada, tres veces descartando fuertemente en cada lavado el contenido de cada pozo.
- d) Se agregan 100ul de conjugado a todos los pozos exceptuando el blanco, se incuba durante 30 minutos a temperatura ambiente, y en continuo movimiento a 350 (rpm).(Figura No 12.b)

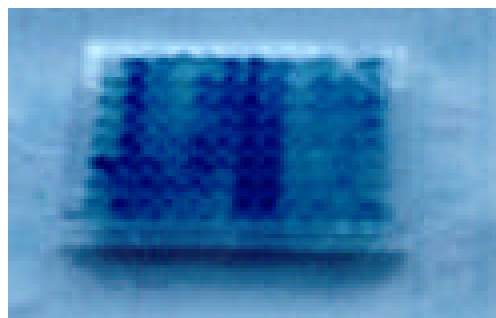
**Figura No12b**



**Placa de ICAM-1s  
con conjugado**

- e) Lavar tres veces con solución lavadora, descartando fuertemente el contenido de los pozos.
- f) Se agrega 100ul de cromógeno en todos los pozos y se incuba durante 15 minutos a temperatura ambiente y en constante movimiento 350(r.p.m.) (figura 12.c)

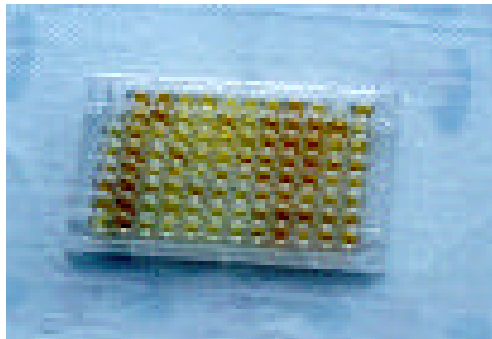
**Figura No 12 c**



**Placa de  
ICAM –1s  
con  
Cromógeno,  
luego de la  
reacción con  
el conjugado.**

g) Por último se añade 100ul de solución stop a todos los pozos incluyendo el blanco. (figura 12.d)

**Figura No 12d**



**Placa de ICAM -1s  
con la solución de  
frenado.**

h) Finalmente se lee la absorbancia de cada muestra y el standard a 450 nm. El equipo utilizado para leer esta técnica es un lector de ELISA, Multiskan Mcc/340. Que consiste en un fotómetro de 8 canales con un filtro de luz en la zona vertical y es designado para leer la absorbancia de líquidos donde la luz atraviesa la muestra. La longitud de onda (340-750nm) es seleccionada utilizando 8 filtros de interferencia sostenidos en una rueda, así la absorción de la luz es proporcional a la cantidad de luz absorbida en la sustancia. Se utilizan microplatos de 8x12 y las lecturas son procesadas y enviadas a un centro de impresión. Este equipo esta destinado para medir ensayos calorimétricos y turbidimétricos, típicos de inmunoensayos enzimáticos y trabajos microbiológicos.(figura No13)

**Figura No 13: Lector de ELISA**



Se observa un multiskan Mcc/ 340. Las muestras se leyeron a una absorbancia de 450 nm

## **G. METODOS ESTADISTICOS**

Los niveles de **ICAM-1s** en el suero de pacientes de los diferentes grupos de estudio fueron comparados usando un análisis de varianza (ANOVA). Se hallaron los intervalos de confianza alrededor del promedio de cada grupo, obteniéndose una probabilidad estadísticamente significativa, ( $P < 0.05$ ) la cual fue comprobada por el método de Bonferroni. Por último se realizó una gráfica de progresión lineal de las

concentraciones promedio, de **ICAM-1s**, de control negativo, rinitis alérgica leve, moderada, severa y asma con sus respectivos sus intervalos de confianza.

## H. RESULTADOS

Las concentraciones de **ICAM-1s** en los grupos de estudio se obtuvieron por extrapolación de las absorbancias de las muestras en una curva estándar hallada al graficar las absorbancias del estándar y las concentraciones dadas por el fabricante. (Tabla No1).

**TABLA No1: Concentraciones séricas ng/ml de ICAM-1s de cada grupo en estudio**

Número de pacientes	Control Negativo.	Rinitis Alérgica leve	Rinitis Alérgica moderada	Rinitis Alérgica severa	Control positivo asmáticos
1	5.40	4.90	5.20	7.23	9.20
2	5.00	6.69	6.65	7.51	7.10
3	5.30	6.61	6.68	6.93	6.90
4	5.31	7.18	8.49	5.29	9.25
5	5.85	6.10	6.52	6.12	6.50
6	5.60	5.95	6.70	6.70	6.70
7	5.20	5.80	6.54	6.40	6.80
8	0.20	4.30	6.52	5.80	6.60
9	0.10		6.40	6.69	4.50

10	3.70		6.51	6.08	7.00
11			6.43	5.16	
12			6.42	4.59	
13				8.60	
14				9.23	
15				8,7	

Los promedios obtenidos del grupo en general (rinitis leve, moderada, severa y asma) mostraron un aumento de las concentraciones de **ICAM-1s** en relación con el control negativo. Por lo cual se realizó un análisis de varianza que mostró una  $P = 0.0013$  entre los grupos. (Tabla No 2 y 3)

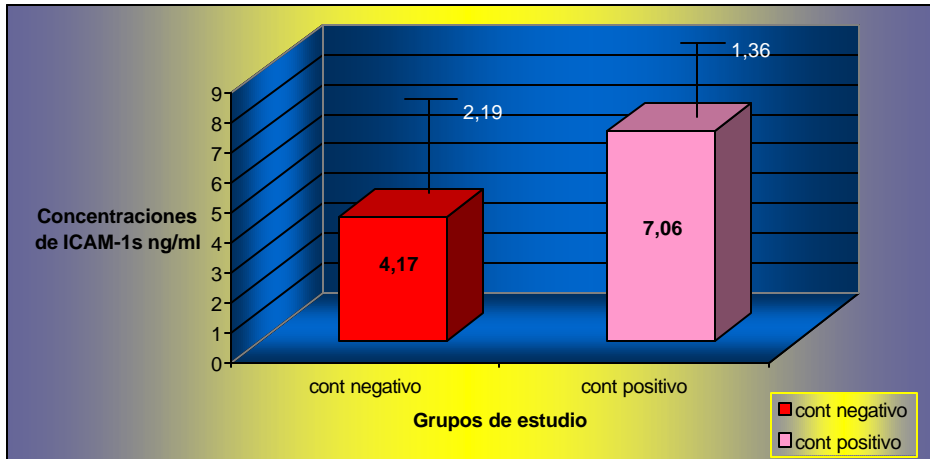
**TABLA No 2: Determinación de varianza**

Análisis de varianza de un factor				
RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
C_controles	10	41.66	4.17	4.81
C_LevRin	8	47.53	5.94	0.91
C_ModRin	12	79.06	6.59	0.52
C_SevRin	15	101.03	6.74	1.82
C_asma	10	70.55	7.06	1.85

**Tabla No 3: Test de ANOVA**

Origen de variaciones	sum cuad	° de liber	1/2 cuad	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	55.30089	4	13.8252	7.09781	0.00013	2.557179357
Dentro de los grupos	97.39072	50	1.94781			
Total	152.6916	54				

**Gráfica No: 1 Comparación de promedios de las concentraciones (ng/ml) de ICAM-1s Control positivo Vs control negativo.**



**Tabla No 4: Valores ng/ml de ICAM -1s y datos estadísticos de control positivo Vs control negativo.**

	cont negativo	cont positivo
[ ]ICAM -1s ng/ml		
	5,40	9,20
	5,00	7,10
	5,30	6,90
	5,31	9,25
	5,85	6,50
	5,60	6,70
	5,20	6,80
	0,20	6,60
	0,10	4,50
	3,70	7,00
<b>Media</b>	<b>4.16</b>	<b>7.06</b>
<b>Desv standard</b>	<b>2.19</b>	<b>1.36</b>
<b>probabilidad</b>		<b>0.0023</b>

En el grupo de pacientes asmáticos las concentraciones de **ICAM-1s** aumentaron ( $X=7.06$ ) con respecto al control negativo ( $X=4.17$ ), tal como se esperaba además de encontrar una probabilidad significativa ( $p < 0.05$ ). (Gráfica No 1, tabla No 4)

**Gráfica No 2: Comparación de promedios de las concentraciones (ng/ml) de ICAM-1s Control negativo Vs rinitis alérgica leve**

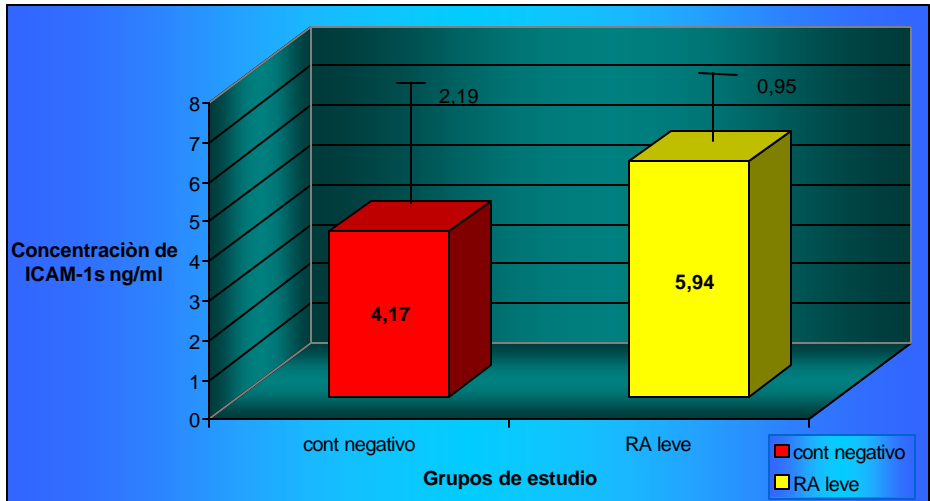
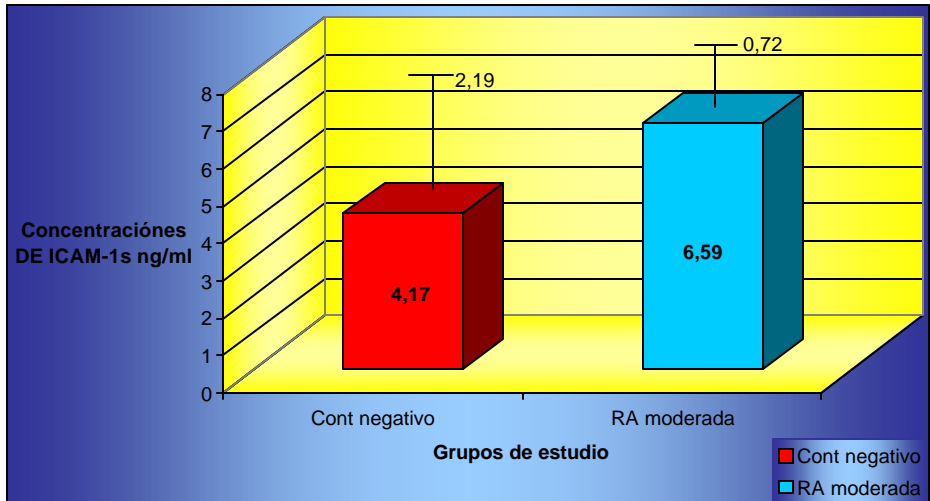


Tabla No 5: Valores ng/ml de ICAM-1s y datos estadísticos de Rinitis alérgica leve Vs control negativo.

	cont negativo	RA leve
[ ] ICAM -1s ng/ml		
	5,40	4,90
	5,00	6,69
	5,30	6,61
	5,31	7,18
	5,85	6,10
	5,60	5,95
	5,20	5,80
	0,20	4,30
	0,10	
	3,70	
Media	4,16	5,94
Desv standard	2,19	0,95

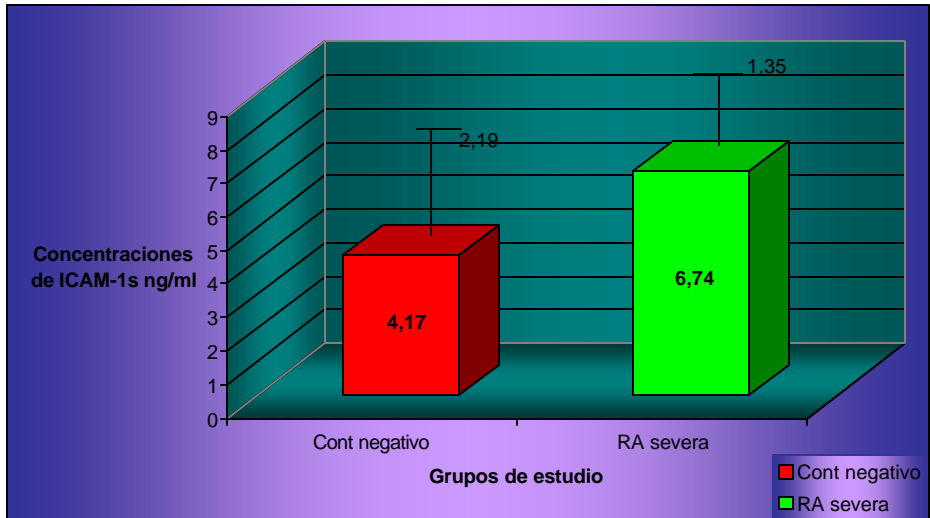
Gráfica No 3: Comparaci3n de promedios de las concentraciones (ng/ml) de ICAM -1s Control negativo Vs rinitis alérgica moderada



**Tabla No 6: Valores ng/ml de ICAM-1s y datos estadísticos de Rinitis alérgica moderada Vs control negativo**

	cont negativo	RA moderada
[ ] ICAM -1s ng/ml		
	5,40	5,2
	5,00	6,65
	5,30	6,68
	5,31	8,49
	5,85	6,52
	5,60	6,7
	5,20	6,54
	0,20	6,52
	0,10	6,4
	3,70	6,51
		6,43
		6,42
<b>Media</b>	<b>4.16</b>	<b>6,59</b>
<b>Desv standard</b>	<b>2,19</b>	<b>0,95</b>

**Gráfica No 4: Comparación de Promedios de las concentraciones (ng/ml) de ICAM-1s control negativo Vs rinitis alérgica severa**



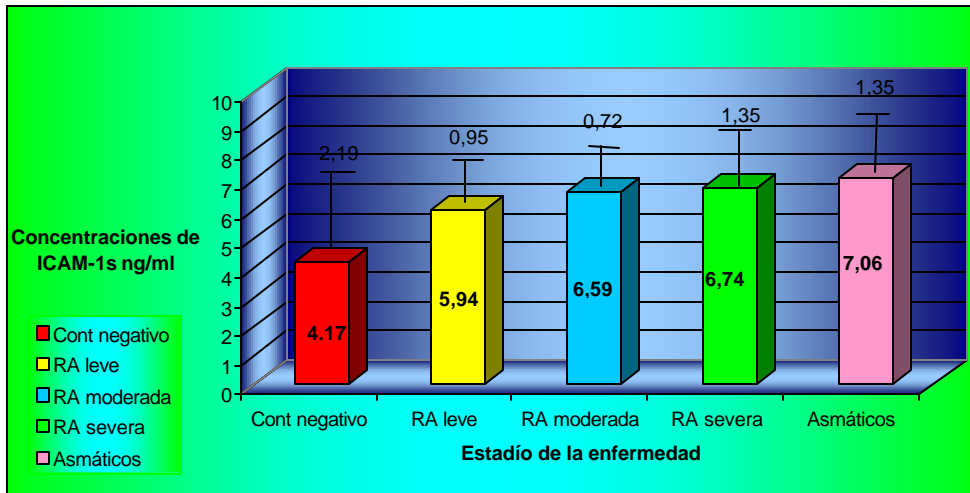
**Tabla No 7: Valores ng/ml de ICAM-1s y datos estadísticos de Rinitis alérgica Severa Vs control negativo**

	Control negativo	Rinitis alérgica severa
[ ] ICAM-1s ng/ml		
	5,40	7,23
	5,00	7,51
	5,30	6,93
	5,31	5,29
	5,85	6,12
	5,60	6,7
	5,20	6,4
	0,20	5,8
	0,10	6,69
	3,70	6,08
		5,16
		4,59
		8,6
		9,23
		8,7
<b>Media</b>	<b>4.16</b>	<b>6,74</b>
<b>Desv standard</b>	<b>2,19</b>	<b>1,35</b>

En el grupo experimental (rinitis alérgica en diferentes grados de severidad), se halló que las concentraciones de la molécula **ICAM-1s** aumentaron en general con respecto al control negativo y este fue progresivo entre cada estadio de la enfermedad.

(Gráficas No 2,3 y 4 )

**Gráfica No 5: Comparación de la media de las concentraciones (ng/ml) de ICAM-1s en los grupos de estudio.**

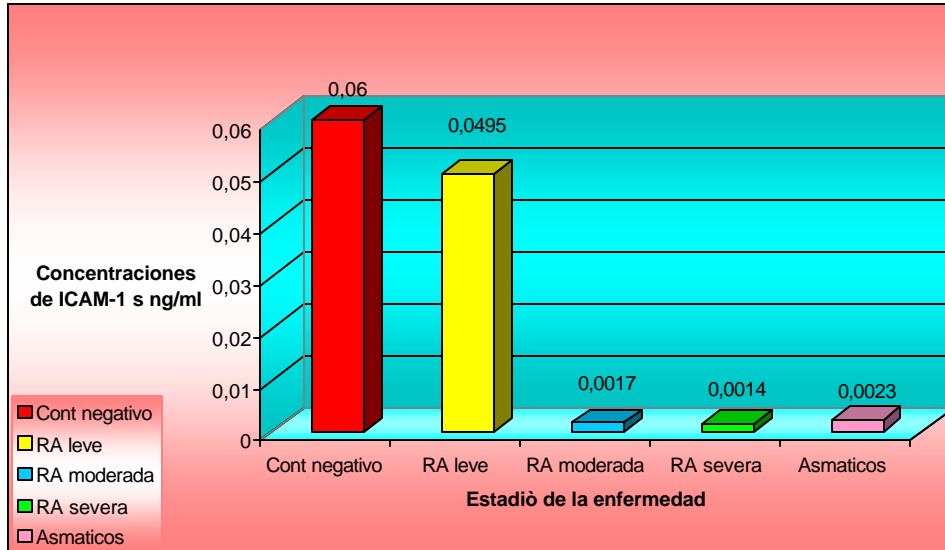


**TABLA No 8: Valor de las medias y desviación standard de las concentraciones de ICAM-1s obtenidas encada grupo de estudio**

	cont negativo	Cont positivo	R,alerg leve	R alerg mode	R alerg severa
promedio ng/ml	4.17	7.06	5.94	6.59	6.74
Desv standard	2.19	1.36	0.95	0.72	1.35

Los niveles de **ICAM-1s** en el suero de pacientes con rinitis alérgica progresaron de acuerdo al estadio de la enfermedad. Rinitis leve ( $X=5.94$ ) < rinitis moderada ( $X=6.59$ ) < rinitis severa ( $X=6.74$ ) < asmáticos ( $X=7.06$ ) con respecto al control negativo. ( $X=4.17$ ). (Tabla No8 Gráfica No 5)

**Gráfica No 6 : probabilidad del evento con respecto al control negativo**



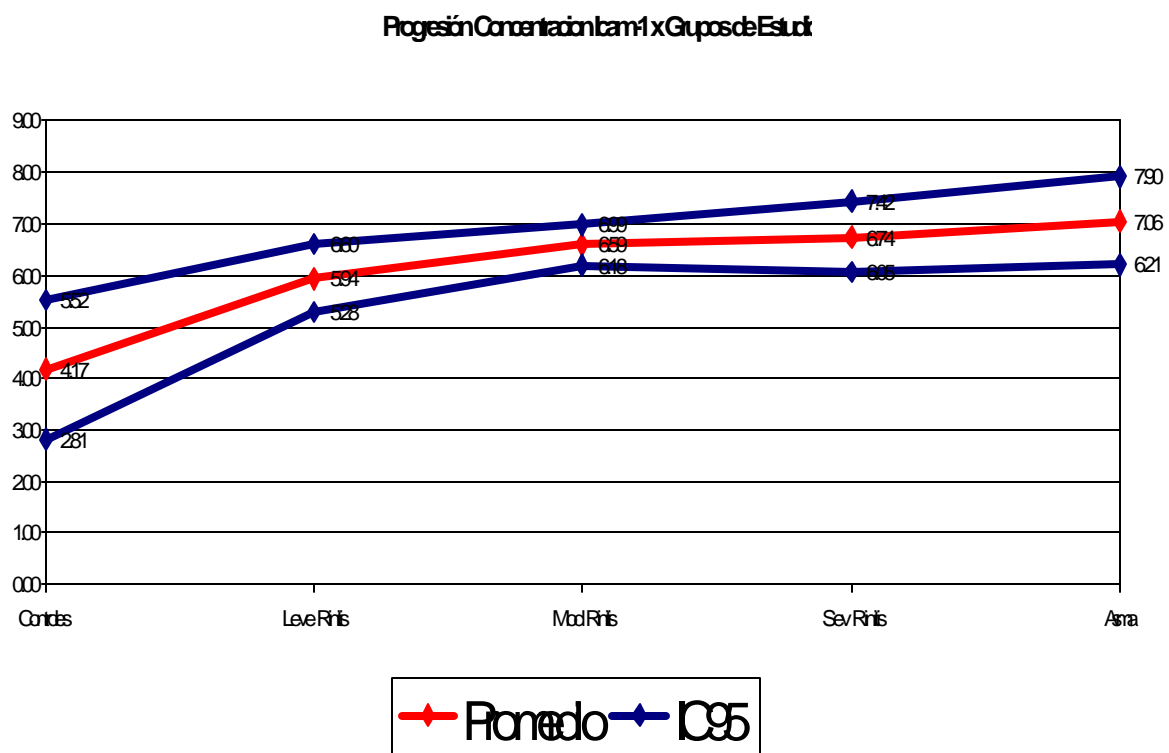
**TABLA No 9: Corrección de probabilidades (bonferroni)**

P	Bonferroni	RA leve	RA moderada	RA severa	Asmáticos
		0.1838	0.0069	0.0054	0.0093
	Alfa	0.0495	0.0017	0.0014	0.0023
	Tests	4	4	4	4

Al hallar por el método convencional la probabilidad de que el evento (expresión de moléculas **ICAM-1s**) no sucediera, se observó que a medida que progresa la enfermedad dicha probabilidad disminuye, significando esto que la expresión de la molécula si aumenta al acentuarse la enfermedad. Las diferencias fueron estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre las concentraciones de **ICAM-1s** en cada grupo de estudio a medida que progresa la enfermedad y el control negativo, Rinitis moderada ( $p = 0.0017$ ), rinitis severa ( $p = 0.0014$ ) y asma ( $p = 0.0023$ ), excepto en la rinitis leve ( $p = 0.0495$ ). (Gráfica No 6)

Estas probabilidades fueron corregidas por el método de Bonferroni (Múltiples pruebas), que arrojaron los mismos datos de probabilidad ( $P < 0.05$ ) (tabla No 9)

**Gráfica No 7: Progresión lineal de las concentraciones de ICAM-1s en los grupos**





## I. DISCUSIÓN

En la rinitis alérgica se ha destacado el papel de las moléculas de adhesión en el reclutamiento de las células inflamatorias. Una de estas moléculas es la **ICAM-1** la cual eleva su expresión en el endotelio luego de la activación celular y producción de citoquinas inflamatorias que atraen y acumulan leucocitos estimulando los receptores de adhesión en la superficie celular. (2) De manera que al estimular el endotelio vascular se desencadena la expresión de la selectina endotelial, la cual causa que los leucocitos circulantes exhiban una adhesión de rodamiento al endotelio. Algunos leucocitos se adhieren firmemente al endotelio y migran al espacio perivascular. El rodamiento de los leucocitos es seguido por un aumento de la expresión endotelial de los miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas (**ICAM-1**, **ICAM-2** y **VCAM-1**), junto con sus correspondientes integrinas en la superficie de los leucocitos las cuales permiten una interacción entre leucocitos y células endoteliales. (24)

Se ha encontrado que **ICAM-1** posee una forma soluble (**ICAM-1s**) que es estructural y funcionalmente similar a **ICAM-1**, por lo que también participa en reacciones de adhesión a LFA-1,(43) convirtiéndose así en un marcador inflamatorio. Estudios han demostrado que la molécula **ICAM-1s** se aumenta en pacientes asmáticos y en pacientes con rinitis alérgica (16), pero no demuestran el aumento de la expresión de **ICAM-1s** relacionado con la severidad de la enfermedad, por lo cual en este estudio se quiso observar si esta molécula

(**ICAM-1s**) se puede tomar como un marcador de severidad de la rinitis alérgica.

Los resultados obtenidos confirmaron nuestra hipótesis al obtener diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de **ICAM-1s** y el avance de la enfermedad. Para lograr esto tomamos pacientes con rinitis alérgica en estado leve, moderado y severo al medir sus niveles moleculares de **ICAM-1s** y obtener sus concentraciones marcaron diferencias significativas entre cada estadio de la enfermedad, mostrando un aumento progresivo de la molécula al evolucionar la rinitis alérgica y estabilizándose al llegar a la fase severa existiendo una aproximación de las concentraciones de **ICAM-1s** de rinitis alérgica con respecto a los pacientes asmáticos tomados en este caso como control positivo, además se encontró que en el estado leve de la enfermedad la expresión de **ICAM-1s** no fue significativa, ya que el daño endotelial aún no es severo y la proliferación leucocitaria no alcanza concentraciones que conlleven al aumento de las moléculas de adhesión, mientras que en los estados moderado y severo el aumento en la expresión de moléculas **ICAM-1s** es más significativo debido a que en estas, la respuesta inmunológica hacia la fagocitosis de los microorganismos es mayor y por tanto hay un aumento en la extravasación de polimorfonucleares quienes también aumentan llegando al sitio de inflamación y

provocando mayor daño tisular como consecuencia de la degranulación, consolidando así la inflamación local.(42).

Debido a que los pacientes asmáticos no estaban clasificados por grados de severidad de su enfermedad por lo cual la expresión de moléculas **ICAM-1s** difiere, obteniéndose así una mayor varianza(32)

Se observó que la probabilidad de que no exista un aumento de la expresión de la molécula fue mayor en los pacientes con asma que en rinitis moderada y severa, sin embargo en la rinitis alérgica la probabilidad de que no suceda el evento disminuye con la severidad de la enfermedad.

La confirmación que la rinitis alérgica es un marcador inflamatorio, se obtuvo de la probabilidad  $p < 0.05$  en el grupo de rinitis alérgica en general. pues aunque el aumento de expresión de la molécula no es constante en el grupo experimental total, la expresión se aumenta en todos los grados de la enfermedad.

Los intervalos de confianza hallados y representados en la gráfica de progresión lineal muestran al inicio (Control negativo) un amplio rango, lo que significa que en este estado la expresión de las moléculas **ICAM-1s** es constante puesto que son individuos que no presentan ninguna enfermedad inflamatoria. Al continuar la progresión lineal de la gráfica se encontró que los valores cada vez se van acercando más hacia el valor medio, lo que indica que la variabilidad entre las concentraciones de las moléculas de estos pacientes es menor dándole un valor más específico y al finalizar se observa nuevamente una amplitud entre los intervalos de confianza de las concentraciones de **ICAM-1s** la cual se hace constante y estable debido a que este es el estado más crítico de la enfermedad inflamatoria de las vías respiratorias en donde se encuentran los pacientes asmáticos.

Todos los datos analizados permiten afirmar que la molécula **ICAM-1s**, es de ayuda diagnóstica, en la rinitis alérgica en estado moderado y severo, siendo un indicador del estado inflamatorio.

## CONCLUSIONES

- La molécula **ICAM-1s** es un marcador de severidad de la rinitis alérgica ya que en el estado severo de estos pacientes se produce un marcado aumento sérico de los niveles de dicha molécula.
- Se confirmó que **ICAM-1s** es un marcador inflamatorio, debido a que las concentraciones de **ICAM-1s** muestran un aumento en una reacción inflamatoria (rinitis alérgica) en general.
- En la rinitis alérgica leve la concentración de la molécula no es un dato significativo para el diagnóstico, debido a que la probabilidad de que no

aumente la expresión de la molécula **ICAM-1s** es mayor que en los estadios moderado y severo de la enfermedad.

- En pacientes con rinitis alérgica en estado moderado y severo la medición de la molécula **ICAM-1s**, es de ayuda diagnóstica y además permite la adecuada administración de un tratamiento que disminuya la progresión del episodio.
- Los resultados de este estudio brindan la posibilidad de mejorar la calidad de vida de los pacientes con rinitis alérgica, gracias a un rápido diagnóstico, dirigido a combatir la inflamación que es el punto clave de la enfermedad.
- Los valores de referencia de las concentraciones de **ICAM-1s**, hasta el momento pueden estar guiados por el valor promedio obtenido en cada grupo, en la población Colombiana en edades entre 15 y 55 años.

## K. RECOMENDACIONES

- Los avances en el estudio de la rinitis alérgica han permitido revelar algunos pasos de la cascada inflamatoria. Sin embargo, no es claro porque la enfermedad es leve en algunos pacientes pero severa y persistente en otros. En el futuro deben investigarse los factores que determinen la severidad y cronicidad de la enfermedad.
- Se sugiere hacer un estudio que confronte los niveles de la molécula **ICAM-1s** con la administración de corticosteroides para observar si se disminuyen los niveles de expresión de la **ICAM-1** y así la hiperactividad bronquial y los síntomas.
- Se propone un nuevo estudio con una población mayor, para el establecimiento de valores de referencia de las concentraciones de **ICAM-1s**

que definan los niveles de la molécula en cada estadio de la rinitis alérgica en la población Colombiana.

- Se recomienda investigar más específicamente sobre la rinitis alérgica leve, para poder establecer un método efectivo de diagnóstico, ya que en este estudio los datos obtenidos de este grado de la enfermedad no fueron lo suficientemente significativos.

## I. ANEXOS

### **Reactivos utilizados para el desarrollo de la técnica de ELISA**

#### **ICAM-1s. Inmunotech. Beckman coulter company**

Los reactivos deben ser almacenados de 2 a 8°C. En el kit se provee de:

- 1) Un microplato y cubierta: 96 pozos con un anticuerpo monoclonal anti-**ICAM-1s**. el microplato es de 12 x 8 pozos, listo para usar.
- 2) Un standard de **ICAM-1s**: Liofilizado, contiene aproximadamente 160 ng/ml de **ICAM-1s** humano recombinante, se encuentra en presencia de suero y azido de sodio (mayor de 0.1%). Se debe reconstituir el standard liofilizado con el volumen del diluyente 1 hasta el nivel indicado. La concentración del estándar debe ser de 160 ng/ml luego de ser reconstituido. Después de esta reconstituido el standard es estable un mes almacenado de 2 a 8°C antes de la fecha de expiración cuando es

aliquotado en tubos plásticos y almacenado a  $-10^{\circ}\text{C}$ . Las diluciones del standard deben prepararse para cada ensayo y no deben ser almacenadas.

- 3) Un anticuerpo monoclonal biotinizado anti- **ICAM-1s**: Un vial de 6ml, listo para usar. Este contiene el Ac monoclonal anti-**ICAM-1s**, proteínas y preservativos. La solución es estable de  $2$  a  $8^{\circ}\text{C}$  antes de la fecha de expiración.
- 4) Diluyente 1: dos viales de 25 ml, listo para usar. Contiene proteínas y ácido de sodio (mayor de 0.1%), es usado para la preparación del standard y la dilución de las muestras con concentraciones de **ICAM-1s** mayores de 16ng/ml. La solución es estable de  $2$ - $8^{\circ}\text{C}$  antes de fecha de expiración.
- 5) Conjugado de estreptavidina -HRP: un vial de 12ml listo para usar. Este contiene un conjugado de estreptavidina- peroxidasa, proteínas y preservativos. Es estable de  $2$ - $8^{\circ}\text{C}$  antes de la fecha de expiración.
- 6) Solución de lavado (20X): un vial de 50ml, La solución stock debe ser diluida con 950ml de agua destilada antes de su uso, la solución es estable un mes de  $2$ - $8^{\circ}\text{C}$  o hasta la fecha de expiración sí es alícuotada y almacenada a  $-10^{\circ}\text{C}$ .
- 7) Cromógeno TMB: un vial de 12ml listo para usar, estable de  $2$ - $8^{\circ}\text{C}$  antes de la fecha de expiración.
- 8) Solución stock: un vial de 6ml listo para usar, contiene ácido sulfúrico 2n. Es un producto irritante y debe tenerse cuidado con el calor, la solución es estable de  $2$ - $8^{\circ}\text{C}$  antes de la fecha de expiración

**FORMATO DE CLASIFICACIÓN DE PACIENTES (LEVE, MODERADO Y SEVERO) CON RINITIS ALERGICA SEGÚN EXAMEN FÍSICO.**

Nombre(s) y apellidos \_\_\_\_\_

Identificación No: \_\_\_\_\_

Edad \_\_\_\_\_

Sexo \_\_\_\_\_

**Examen físico:**

Conjuntiva:

Mucosa nasal:

Oído:

FC:

FR:

**Sintomatología por día**

	<b>Ausente</b>	<b>+</b>	<b>++</b>	<b>+++</b>	<b>++++</b>
Estornudos					
Prurito					
Rinorrea					
Obst nasal					

**Prueba cutánea:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Frecuencia con que se presentan los síntomas:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Estado de la enfermedad del paciente:** \_\_\_\_\_

## M. BIBLIOGRAFIA

- 1) BALLCES Alfonso. La clínica en el laboratorio. Barcelona. Ed:  
Manson S.A,1997;427-432.
- 2) BENTLEY Andrew, MD, DURHAM stephen, MD, ROBINSON Douglas,  
MD. Et al. Expression of endothelial and leucocyte adhesion molecules  
intercellular adhesion molecule 1, E- selectin and vascular cell and allergen  
– induced asthma. Journal clinical immunology. 1993; 92:857-868.
- 3) BERNARD Jhon. Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. .  
Barcelona.Ed:Salvat.1993.
- 4) CARABALLO Luis. M.D. Análisis inmunológico y estructural de los  
alergenos. Asociación Colombiana de alergia , asma e inmunología.1999.8 :  
9-11.
- 5) CRIEP Leo. Clinical immunology allergy. New York. Ed: Grune &  
Statton.1982.
- 6) CRIEP Leo. Elementos de alergia. Buenos Aires. Ed: Procmo.1987.
- 7) CORMARCK David H. Histología de Ham. Mexicana.Mexico. Ed.:1990.
- 8) DE ZUBIRIA C Eduardo, DE ZUBIRIA S Eduardo, DE ZUBIRIA S  
Alberto. Conceptos básicos en asma bronquial. Santafède Bogotá Ed:  
multiletras.1999.
- 9) DIAMOND Michael, STANTON Donald, DE FOUGEROLLES Antonin,  
et al. ICAM-1 (CD 54): A counter-receptor for Mac-1 (CD11b/Cd 18).  
The journal of cell biology,1990;111: 3129-3139.
- 10) DONG Soon Kim, MD, SANG HUON Park, MS,CHAE Man Lim,

M D, et al..Value of ICAM-1 expression and soluble ICAM-1 level a marker of activity in sarcoidosis. Chest. 1999.115:1059-1065.

- 11) DUSTIN Michael, ROBERT Rothlein, ATULK Bhan, CHARLES Dinarellu, and TIMOTHY Springer. Induction by IL-1 and interferon gamma and tissue distribution, biochemistry, and function natural adherence molecule ICAM-1. Journal of immunology ., 1986; 137:245-254.
- 12) HARNING Roanld, MAINOLFI Elizabeth, BYSTRYN Jean Claude, HENN Milagros, MERLUZZI Vincent and ROTHLEIN Robert. Serum levels of circulating intercellular adhesion molecule 1 in human malignant melanoma. Cancer research, 1991;51: 5003-5005
- 13) HENAO Julieta; MONTROYA Carlos. Moléculas de adhesión bases fisiológicas y modelos fisiopatológicos para su estudio. Asociación Colombiana de Alergia, asma e inmunología. 1999.8:34-40.
- 14) ILADIBA. Nociones básicas acerca de a las enfermedades alérgicas. Ed: Iladiba. 1998.13:20-23.
- 15) ILADIBA. Nuevas expectativas en la fisiopatología y el tratamiento del asma. Ed: Iladiba. 1998.12:7-14.
- 16) ILJA Striz, TADASHI Mio, YUICHI Adachi, et al. IL-4 induces ICAM-1 expression in human bronchial epithelial cells and potentiates TFN $\alpha$ . Clinical immunology. 1999.277:58-56
- 17) INMUNOTECH. ICAM-1s. Beckman coulter company. 2000
- 18) LEENA Heiska, KAIJA Alftan, MICAELA Gronholm, PEKKA Vilja, ANTTI Vaeri and OLLI Carpen.. Asocoation of ezrin with intracellular adhesion molecule-1 and 2 (ICAM-1 and ICAM-2). Journal of biological chemistry, 1998;273:21893-21899.

- 19) L Pastore, PhD, A.Tessitore, PhD, S.Martiniti MD.et al. Angiotensin II stimulates intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) expression by human vascular endothelial cells and increases soluble ICAM-1 release in vivo.American Heart association,1999;100: 1646-1652.
- 20) L.W.Diggs, STURM Dorothy and BELL Ann. Morfología de las células de la sangre humana.Chicago U.S.A. Ed: Abbot. 1998.
- 21) MARLIN Stevens, DONALD Stauton, TIMOTHY springer, CHRISTIAN stratowa, WOLFGANG summergruber and VI NCENT jmerluzzi. A soluble form of intercellular adhesion molecule-1 inhibits rhinovirus infection nature, 1990; 344:70-72.
- 22) MASASHI KATO,Weil u;ISUTAKU Hattori IZUMI, Nakashima .Evidence of potential regulation by IL-4 of the solubleintercellular adhesion molecule -1 level in patients with seasonal allergic rhinitis under provocation by a small amount of natural allergen. Otorhinolaryngological.1998.107:232-235.
- 23) M Takamoto, M Isobe & K Sugane. The role of ICAM-1/LFA-1 and VCAM-1/VLA-4 interaction on T helper 2 citokine producte by lung T Cells of *toxocara cannis* infectemice.Inmunology ,1998;95:419-426.
- 24)M.THIRUMALA Krishna, A. Noop J Chauhan, and STEPHEN Holgate. Mediadores moleculares del asma :Conocimientos actuales. Hospital practice,1997; 1: 27- 38.
- 25) MESA Hector, JIMENEZ Martha. Moléculas de adhesión. Universitas médica, 1996;37:135-141.

- 26) OPS. Compendio de enfermedades alérgicas e inmunológicas. Washintong. Ed: OPS. 1989.
- 27) OPS. Rinitis y asma. Compendio de enfermedades alérgicas e inmunológicas. Washintong. Ed: OPS. 1989.
- 28) RASSNER Gernot. Atlas de dermatología . España. Ed: Doyma. 1984.
- 29) REYES Marco. Factores precipitantes del asma. Santafè de Bogotá. Asociación Colombiana de asma, alergia e inmunología,1999; 8: 47-50.
- 30) RODRIGUEZ Jairo. Fisiopatología de la rinitis alérgica. Asociación Colombiana de Alérgia, asma e inmunología,1999;8:27-28.
- 31) ROTHLEIN Robert, MAINOLFI Elizabeth, CZAJKOWSKI Michel and MARLIN Steven. A form of circulating ICAM-1 in human serum. Journal of Immunology, 1991; 147: 3788-3793.
- 32) SANCHEZ Carlos, MD. Asma una enfermedad inflamatoria. Tribuna Médica.1996.93:121-130.
- 33) SERRANO Javier. VILLEGAS Margarita.Introducción a la estadística. Bogotá, Ed: Universitaria América. 1980.
- 34) SETH R Rhaymond, FD, MAKGOBA Mw. Circulating ICAM-1 isoforms: Diagnostic prospects for inflammatory and immune disorders. The lancet, 1991; 338:8384.
- 35) SHELDON Spector, BARANIUK, James, STEPHEN Brunoil, MELTZERLI. Redefiniendo la rinitis.Dialogos,1999:1:1-15.
- 36) SRIRAM Neelamegham, ANDREW D Taylor, BURNS Alan, WAYNE Smith and SCOTT Simon Hydrodynamic shear, Shows distinct roles for LFA-1 and Mac-1 in neutrophil adhesion to intercellular adhesion molecule-1.Blood, 1998; 92:1526-1538.

- 37) STITES Daniel. Inmunología básica y clínica. Mexico. Ed: El manual moderno, 1990.
- 38) S.VITTORIO Ricca, MD, MASSIMO Landi, MD, FERRERO Paola, BS, et al. Asthma, Rh, other respiratory diseases. Journal of allergy and clinical immunology, 2000; 105:1-6
- 39) TORTORA Gerard, ANAGNOSTAKOS Nicholas. Principios de anatomía y fisiología. México. Ed: Harla. 1998.
- 40) VIRANT Franks, MD. Immunology and allergy clinics of north america. New York . Ed: W.B. Saunders company. 1999.
- 41) WILSON Jean. Principios de medicina interna España .Ed: MacGraw-Hill. 1992.
- 42) YING feng, CHUNG Diana, GARRARD Lisa, et al. .Molecules derived from the complementary-determining region of anti mac-1 antibodies block intercellular adhesion molecule –1 interaction with mac-1. Journal of biological chemistry. 1998; 273:5625-5630.
- 43) YUTARO Shiota, MD, JAMES Wilson, MD, MASAUMI Marakawa, MD TETSUYA Ono, MD, MASARU Kaji, MD. Soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) antigen in sera of bronchial asthmatics, 1995; 109:1-11.

