

Original**Diferente expresión de CD45RA y CD45RO por linfocitos T CD4⁺ en asma intrínseca y extrínseca**

I. M. Sánchez-Guerrero Villajos, N. Herrero Hernández^a, R. P. Vegara Pérez^a,
M. Campos^b, A. M. García-Alonso^a y M. R. Álvarez López^a

Unidad de Alergia. Hospital Rafael Méndez. Lorca (Murcia)

^aSección de Inmunología. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

^bDepartamento de Bioestadística. Facultad de Medicina. Universidad de Murcia

Fundamento: CD45 es el antígeno leucocitario común que está implicado en la transmisión de señales intercelulares T-B. Existen diferentes isoformas de CD45 cuya expresión en la superficie de los linfocitos T cambia durante la diferenciación celular. La isoforma CD45RA, que caracteriza a las células T vírgenes, se pierde progresivamente al estimular los linfocitos y da paso a la expresión de CD45RO, asociada con los linfocitos T de memoria. El propósito del presente trabajo fue estudiar si los linfocitos T colaboradores (CD4⁺) procedentes de pacientes con asma intrínseca y extrínseca mostraban diferencias en la expresión de CD45RA y CD45RO en el momento del diagnóstico.

Métodos: Se han analizado células de sangre periférica de 30 pacientes con asma extrínseca, 30 con asma intrínseca y 30 voluntarios sanos. Las subpoblaciones CD4⁺CD45RA⁺ y CD4⁺CD45RO⁺ se determinaron por citometría de flujo, mediante técnicas de doble marcaje con anticuerpos monoclonales fluorescentes.

Resultados: En el grupo control se observó un aumento significativo en la proporción de linfocitos T CD4⁺CD45RA⁺ (19,4 %), con respecto a la de los pacientes con asma intrínseca (13,5 % $p < 0,01$) y extrínseca (16,8 % $p < 0,05$), mientras que la subpoblación de CD4⁺CD45RO⁺ experimentó una elevación significativa en asmáticos intrínsecos (33,5 %) con respecto a los asmáticos extrínsecos y al grupo control (27,6 % y 23,9 %, respectivamente; $p < 0,01$).

Conclusiones: Existe una diferente proporción de linfocitos CD4⁺CD45RA⁺ y CD4⁺CD45RO⁺ en el asma extrínseca e intrínseca, indicativa de un mayor grado de diferenciación de las células T colaboradoras en pacientes con asma intrínseca.

PALABRAS CLAVE: Asma intrínseca / Asma extrínseca / CD45RA / CD45RO / linfocitos CD4⁺.

Different expression of CD45RA and CD45RO by CD4⁺ lymphocytes in extrinsic and intrinsic asthma

Background: CD45 is the common leukocyte antigen involved in the transmission of T-B intercellular signals. There are various CD45 isoforms showing different expressions on the surface of T-lymphocytes at the time of cell differentiation. CD45RA isoform that characterizes virgin T cells, progressively disappears on lymphocyte stimulation changing into CD45RO expression. The aim of this study was to assess whether helper T-cells (CD4⁺) in patients with intrinsic and extrinsic asthma showed differences in CD45RA and CD45RO expression at the time of diagnosis.

Methods: Peripheral blood samples from 30 patients with extrinsic asthma, 30 with intrinsic asthma, and 30 healthy volunteers were analyzed. CD4⁺CD45RA⁺ and CD4⁺CD45RO⁺ subsets were determined by flow cytometry and double binding with fluorescent monoclonal antibodies.

Results: There was a significant increase in the proportion of T CD4⁺CD45RA⁺ lymphocytes (19.4%) in the control group as compared with patients with intrinsic (13.5%, $p < 0,01$) and extrinsic (16.8%, $p < 0,05$) asthma, whereas the CD4⁺CD45RO⁺ subset showed a significant increase in intrinsic asthmatics (33.5%) as compared with extrinsic asthma patients and controls (27.6 and 23.9%, respectively; $p < 0,01$).

Conclusions: There is a different proportion of CD4⁺CD45RA⁺ and CD4⁺CD45RO⁺ lymphocytes in extrinsic and intrinsic asthma which indicates a higher degree of helper T-cell differentiation in patients with intrinsic asthma.

KEY WORDS: Intrinsic asthma / Extrinsic asthma / CD45RA / CD45RO / CD4⁺ lymphocytes.

La molécula de CD45 es un antígeno de diferenciación panleucocitario, del que se conocen diferentes isoformas que permiten caracterizar subtipos de linfocitos T funcionalmente diferentes¹. Es un hecho aceptado que las isoformas de CD45 son generadas por un conjunto de tres exones (A, B y C) de un único gen; la designación como RA o RO se refiere a isoformas que contienen el exón A o que pierden los exones A, B y C, respectivamente².

El antígeno CD45 juega un papel clave en la superficie celular en la regulación de las señales mediadas por el receptor de la célula T (TCR)³. Básicamente, la mayoría de las células T neonatales y las células T adultas con poca capacidad de respuesta a la estimulación antigénica, llamadas células vírgenes, pertenecen a la subpoblación que expresa la isoforma de CD45 de elevado peso molecular, CD45RA, mientras que la isoforma de bajo peso molecular, CD45RO, la expresan las células T denominadas células de memoria que han sido previamente activadas por un antígeno y que responden bien a un antígeno de recuerdo. En experimentos *in vitro*, se ha observado que la expresión de isoformas de CD45 cambia durante la activación⁴ y que las células vírgenes, CD45RA⁺, se pueden convertir en células de memoria, CD45RO⁺, en respuesta a la activación no específica *in vitro*⁵. Además, se ha descrito que la subpoblación CD4⁺CD45RA⁻CD45RO⁺ prolifera bien en respuesta a estímulos antigénicos, mientras que no lo hace la subpoblación CD4⁺CD45RA⁺CD45RO⁻^{1,6}. Otros autores⁷ que han estudiado la expresión de la molécula de adhesión LFA-1 confirman la anterior subdivisión dentro de la población TCD4⁺, pues demuestran que las células CD45RA⁺ se corresponden con linfocitos T vírgenes y las células CD45RO⁺ con linfocitos T memoria, aunque opinan que dicho esquema no sería aplicable en el caso de los linfocitos TCD8⁺. Sin embargo, más recientemente esta simple interpretación ha sido cuestionada por algunos autores⁸⁻¹¹, que han demostrado un cambio reversible de las isoformas de CD45, al menos en determinadas circunstancias.

El asma es una enfermedad inflamatoria crónica de la mucosa bronquial, en la que los eosinófilos juegan un papel importante, que se caracteriza por la presencia de hiperreactividad bronquial. Clásicamente se ha subdividido en extrínseca o

alérgica e intrínseca o no alérgica¹². La etiología del asma intrínseca es desconocida por el momento, mientras que se sabe que el asma extrínseca está causada por un mecanismo mediado por IgE. Hay evidencia de que clones específicos de linfocitos T procedentes de pacientes atópicos y no atópicos expresan el fenotipo de células de memoria (CD45RA⁻); sin embargo, sólo los primeros producen cantidades considerables de interleucina 4 (IL-4), con valores indetectables de interferón γ (IFN- γ), hecho que favorece la producción de IgE¹³. El presente estudio se llevó a cabo con el fin de definir el fenotipo de las subpoblaciones TCD4⁺ en pacientes con asma bronquial extrínseca e intrínseca.

PACIENTES Y MÉTODOS

Pacientes. En el estudio se incluyeron 60 pacientes afectados de asma, seleccionados entre los que acudían por primera vez a la Consulta Externa de Alergia. El diagnóstico se realizó mediante la historia clínica, exploración física, resultados de prick test con una batería estándar de neumoaérgenos (ácaros, hongos, pólenes y epitelios de animales) y una espirometría forzada. Además, se realizó una radiografía de tórax y se analizó la presencia de eosinofilia en esputo, en aquellos pacientes que presentaban expectoración, con el fin de descartar la existencia de otras enfermedades pulmonares. Se seleccionaron pacientes con asma leve; ninguno presentaba insuficiencia respiratoria ni había requerido tratamiento con corticoides orales o parenterales por reagudización en los 6 meses previos. La medicación utilizada se reducía a la inhalación de β_2 -agonistas a demanda, que se suspendió al menos 12 horas antes de la extracción de la muestra sanguínea. Los pacientes asmáticos se clasificaron en dos grupos diferentes: con asma extrínseca o alérgica y con asma intrínseca o no alérgica. Los pacientes con asma extrínseca presentaban historia clínica de broncospasmo tras la exposición alérgica, concentraciones elevadas de IgE total y resultados positivos de prick test (7 pacientes presentaron pruebas cutáneas positivas a ácaros; 5 a ácaros y pólenes; 4 a ácaros y epitelios; 4 a hongos y pólenes; 3 a epitelios de animales; 3 a ácaros y hongos; 2 monosensibilizaciones a hongos y 2 monosensibilizaciones a póle-

Tabla I. Características de los individuos estudiados

Grupo	N.º de casos	Edad (años) ^a	Pruebas cutáneas	IgE sérica ^b (UI/ml)	Sexo (M/V)
Asma extrínseca	30	28 (15-47)	+	< 33	18/12
Asma intrínseca	30	45 (27-50)	-	219	21/9
Grupo Control	30	32 (18-48)	-	< 33	17/13

^aEdad media del grupo (intervalo); ^bValor medio correspondiente a cada grupo; M = Mujer; V = varón.

nes). Los pacientes con asma intrínseca generalmente presentaban una historia de reagudizaciones postinfección, sin historia de broncospasmo inducido por alérgeno, valores normales de IgE total y resultados negativos de prick test. Se excluyeron del estudio todos aquellos pacientes que precisaban corticoides de forma continua para su control. También se excluyeron los pacientes que presentaban el síndrome de ASA triada, constituido por asma intrínseca, poliposis rinosinusal e intolerancia a antiinflamatorios no esteroideos, ante la sospecha de que su comportamiento inmunológico pudiera ser diferente. Los pacientes con asma extrínseca no habían recibido previamente inmunoterapia. Como grupo control se utilizaron 30 individuos sanos, sin antecedentes familiares o personales de atopia o hiperreactividad bronquial. Ninguno de ellos había tomado medicación alguna en los 3 meses previos. Las características de los pacientes se muestran en la tabla I.

Extracción de muestras. A todos los individuos del estudio, se les extrajo sangre venosa en tubos que contenían EDTA como anticoagulante, fuera de la época de polinización. Parte de esta sangre se empleó para la realización de un hemograma, con el fin de descartar alteraciones en el recuento o la fórmula leucocitaria y en el resto se estudiaron las distintas poblaciones celulares.

Análisis citométrico. Para identificar las subpoblaciones celulares que expresaban las isoformas CD4⁺CD45RA⁺ y CD4⁺CD45RO⁺, que definen respectivamente a los linfocitos T colaboradores vírgenes y de memoria, las células totales de sangre periférica se tiñeron por la técnica de doble marcaje, mediante los anticuerpos monoclonales murinos anti-CD4, antiCD45RA y anti-CD45RO conjugados a ficoeritrina (PE) o fluoresceína (FITC), suministrados por Becton Dickinson (San José, Ca, EE.UU.). Antes de proceder al marcaje, las células procedentes de sangre periférica se

lavaron 3 veces con PBS para eliminar los anticuerpos citofílicos no específicos. Las células marcadas se representaron en diferentes gráficos según su tamaño y granularidad, lo que permitió diferenciar con gran precisión las diferentes poblaciones de linfocitos, monocitos y granulocitos en diferentes ventanas electrónicas para su posterior análisis. En todos los casos, se adquirió un mínimo de 10⁴ células totales de cada muestra y se comprobó que en la ventana electrónica correspondiente a los linfocitos hubiera siempre más de 2.000 células. Para el análisis celular se empleó un citometrador fluorimétrico FACScan (Becton Dickinson, San José, Ca, EE.UU.) y se utilizó como software de adquisición y análisis los programas LYSIS II y PAINT-A-GATE (Becton Dickinson). Tras analizar los datos, los resultados se expresaron como porcentaje de células positivas en la población seleccionada dentro de la ventana elegida que incluía los linfocitos para cada anticuerpo monoclonal.

Método estadístico. El análisis estadístico consistió en la realización de contrastes de igualdad de medias mediante un análisis de varianza de una vía, con el cual se comparaban los valores de las distintas variables entre los tres grupos. Este análisis se completó con la realización de contrastes de igualdad de medias entre pares de medias con el test de Tukey. Se han considerado significativas las diferencias asociadas con valores de probabilidad de *p* inferior a 0,05. Los datos se presentan como media más menos una desviación estándar.

RESULTADOS

Estudios de función pulmonar. Se determinó la función pulmonar basal de los pacientes asmáticos previamente a la inclusión en el estudio. El volumen espiratorio logrado en el primer segundo

Tabla II. Porcentaje de linfocitos T colaboradores y subpoblaciones CD45RA⁺ y CD45RO⁺ en pacientes con asma extrínseca, asma intrínseca y sujetos sanos

Subpoblación linfocitaria	Asma Extrínseca	Asma Intrínseca	Grupo Control
CD4	48,95 ± 6,95**	47,28 ± 6,67	43,81 ± 5,56
CD4CD45RA	16,81 ± 6,85*	13,51 ± 6,57**	19,41 ± 5,99
CD4CD45RO	27,64 ± 7,37†	33,50 ± 6,69‡	23,94 ± 4,69

Los datos se presentan como porcentajes del total de linfocitos y representan el valor medio de todos los pacientes incluidos en cada grupo ± DE. * $p < 0,05$ respecto a controles; ** $p < 0,01$ respecto a controles; † $p < 0,01$ respecto a pacientes con asma intrínseca; ‡ $p < 0,001$ respecto a controles.

(FEV₁) expresado como porcentaje del valor previsto, se encontró entre el 71 % y 121 % (89 ± 4,6%). Estos valores no se diferenciaron significativamente de los hallados en individuos sanos (media 94,2 %).

Linfocitos T colaboradores en pacientes con asma. El análisis de los linfocitos T colaboradores se realizó valorando el porcentaje de células que expresaban la molécula CD4. La expresión de CD4 apareció aumentada en ambos grupos de asmáticos. Este aumento fue estadísticamente significativo en asma extrínseca [t (87) = 3,1; $P < 0,01$] respecto a los individuos sanos, mientras que en los pacientes con asma intrínseca presentaban cifras intermedias (diferencias que no alcanzaron significación estadística). Al comparar los dos grupos de asmáticos tampoco se apreciaron diferencias significativas (tabla II).

Isoformas de CD45 (CD45RA y CD45RO) en linfocitos T CD4⁺. Para tratar de entender el aumento de la población T CD4⁺ observado en los individuos asmáticos, se analizaron dos isoformas de CD45: CD45RA que define las células vírgenes (*naive*) y CD45RO que se expresa en células memoria. El porcentaje de células doble positivas CD4⁺CD45RA⁺ se hallaba más elevado en el grupo control (19,41 ± 5,99 %) que en los grupos de asma intrínseca (13,51 ± 6,57 %) [t (87) = 3,53; $p < 0,01$] y de asma extrínseca (16,81 ± 6,85 %) [t (87) = 2,97; $p < 0,05$]. Por el contrario, los pacientes asmáticos presentaron una mayor proporción de células memoria CD4⁺CD45RO⁺, especialmente los afectados de asma intrínseca, en los que estas células alcanzaron el 33,5 %, valor significativamente más alto que el detectado en asma extrínseca, 27,65 % [t (87) = 3,57; $p < 0,01$] y que el correspondiente a individuos sanos, 23,95 % [t (87) = 5,82; $p < 0,001$] (tabla II). El aumento

observado en la expresión de CD4CD45RO en el grupo de asma extrínseca no alcanzó significación estadística respecto al grupo control.

DISCUSIÓN

Al analizar las subpoblaciones de linfocitos T se aprecia un aumento en el porcentaje de las células T colaboradoras CD4⁺ en los pacientes con asma, tanto en el caso de asma extrínseca como intrínseca. En un estudio previo, realizado por Kus *et al.*¹⁴ en el que se valoraban linfocitos B, linfocitos T y sus subpoblaciones CD4 y CD8 en sangre periférica de pacientes con asma, no se encontraron diferencias significativas en la población CD4 entre ambos tipos de asma, mientras que sí se demostró un aumento del cociente CD4/CD8 en el conjunto de pacientes asmáticos respecto a controles sanos, que no se interpretó como debido a un aumento de los linfocitos CD4⁺ sino a una relativa deficiencia de linfocitos T supresores CD8⁺. Se pensó que este hecho podría conducir a una producción exagerada de IgE, con el consiguiente posible papel en la patogenia del asma como grupo. Más recientemente, Walker *et al.*¹⁵ ratificaban un aumento significativo del cociente CD4/CD8 en asma intrínseca, debido tanto a un aumento no significativo de CD4 como a un descenso de CD8; en el asma extrínseca el aumento de CD4 era menor y no había descenso de CD8. Schauer *et al.*¹⁶ tampoco encontraron diferencias significativas en el porcentaje de células CD4⁺ en individuos asmáticos, respecto a controles. Sin embargo, estudios realizados en la mucosa bronquial muestran que el infiltrado celular que expresa CD4 está elevado en pacientes con ambos tipos de asma respecto a controles, aunque dicho aumento sólo sería significa-

tivo en el asma intrínseca¹⁷. Estos autores consideran que el prominente infiltrado celular inflamatorio observado en la mucosa bronquial de pacientes con asma intrínseca puede implicar una respuesta exagerada de los linfocitos T en bronquios, que permita llegar a establecer el mismo grado de síntomas e hiperreactividad bronquial que presentan los pacientes con asma extrínseca.

La observación en el presente estudio de un aumento en la población de linfocitos CD4⁺ hizo pensar que pudiera existir un alto grado de diferenciación T en estos pacientes, que podría conducir a un desequilibrio entre células vírgenes y células memoria. Después de analizar las células doblemente marcadas, se observó un mayor porcentaje de células CD4⁺CD45RA⁺ en sujetos sanos que en pacientes asmáticos, los cuales presentaban una expansión de la población T CD4⁺CD45RO⁺, más destacada en pacientes con asma intrínseca. Otros autores, en estudios realizados tanto en sangre periférica¹⁸ como en el órgano diana, por medio de lavado broncoalveolar (LBA) o biopsia endobronquial¹⁹, describen también un aumento de células CD4⁺CD45RO⁺ en individuos asmáticos, sin hacer distinción entre la existencia o ausencia de atopía. El aumento de células CD4⁺CD45RO⁺ observado en sangre periférica traduce una mayor diferenciación de los linfocitos T colaboradores hacia el fenotipo de memoria en los pacientes con asma, fundamentalmente en los efectos de asma intrínseca. Se ha observado que el tratamiento con corticoides disminuye la expresión de CD45RO en pacientes con asma^{18, 20}, lo que se corresponde con un menor grado de inflamación y de diferenciación celular. Por otra parte, se ha descrito la existencia de una correlación inversa entre la edad y la expresión de CD4⁺CD45RA⁺ tanto en asmáticos como en controles¹⁶, es decir, parece que se produce un aumento de células memoria con la edad. Los pacientes con asma intrínseca seleccionados para este estudio presentaban una edad superior a los incluidos en el grupo de asma extrínseca, por lo que se podría argumentar que el aumento de las células CD4⁺CD45RO⁺ pudiera ser secundario a la diferencia de edad entre los grupos; sin embargo, ello parece poco probable, ya que el curso de esta enfermedad suele ser más grave, gravedad que se puede traducir en una mayor infiltración celular, una mayor inflamación y, por tanto, una mayor diferenciación celular. Por otra parte, la media

superior de edad en el asma intrínseca refleja la historia natural de esta enfermedad. Apoyando esta interpretación, Robinson *et al*²¹ afirman que la activación selectiva de las células de memoria CD4⁺CD45RO⁺ contribuye a la acumulación de eosinófilos, a la hiperreactividad bronquial y a la aparición de síntomas asmáticos. En la actualidad, es bien conocido que los linfocitos T regulan la síntesis de IgE y actúan como colaboradores o supresores de acuerdo con su capacidad para promover o inhibir la diferenciación, proliferación y producción de inmunoglobulinas por los linfocitos B. Inicialmente, se describió que células con actividad inductora de la colaboración, definidas por reaccionar con el anticuerpo monoclonal 4B4, hoy conocidas como CD4⁺CD45RO⁺, cooperaban en la síntesis de inmunoglobulinas en cultivos estimulados con PWM²², mientras que las inductoras de supresión, definidas por reaccionar con el anticuerpo monoclonal 2H4, actualmente CD4⁺45RA⁺, inducían a las células CD8⁺ a suprimir la producción de inmunoglobulinas⁷. Así, el aumento de células CD4⁺CD45RO⁺ observado en asma extrínseca podría justificar el que estos pacientes tuvieran una mayor capacidad para sintetizar IgE. Como se ha expuesto en resultados, los pacientes con asma intrínseca presentaban el mayor aumento de esta subpoblación. En estudios previos, nuestro grupo demostró que las células mononucleares de sangre periférica de pacientes con asma intrínseca eran capaces de sintetizar *in vitro*, en respuesta a IL-4 e IL-6 exógenas, inmunoglobulina E en cifras incluso superiores a las producidas por asmáticos extrínsecos²³, hecho que quizá pueda estar influenciado por el aumento de la subpoblación CD4⁺CD45RO⁺. Alternativamente, Kawano *et al*²⁴, al no observar una disminución significativa de los linfocitos T CD4⁺CD45RA⁺ en pacientes alérgicos y/o con asma bronquial respecto a sujetos sanos, tras ser sometidos a estímulos con OVA o *Dermatophagoides farinae*, consideraron que probablemente el estado de hiperreactividad observado en los linfocitos de estos pacientes podría estar condicionado por una deficiente actividad supresora de este subtipo de células.

Ya se ha apuntado anteriormente que el estudio histopatológico de biopsias de la mucosa bronquial de asmáticos ha mostrado que la respuesta inflamatoria característica de esta enfermedad está dominada por linfocitos T, muchos de los cuales

expresan el fenotipo de células inmunopatológicamente activadas²⁵. También se ha observado, al comparar con sujetos control, un aumento en estos pacientes de células T con fenotipo de memoria, CD4⁺CD45RO⁺ en LBA^{19,21} y biopsias bronquiales^{20,26} procedentes de pacientes con asma, aumento que se corrige tras el tratamiento con corticoides²⁰.

Los datos aquí presentados muestran una diferencia en las poblaciones de linfocitos T CD4⁺CD45RA⁺ y CD4⁺CD45RO⁺ en asma extrínseca e intrínseca, con una mayor diferenciación de las células T colaboradoras hacia el fenotipo de memoria en pacientes con asma intrínseca, que puede observarse en sangre periférica. Por tanto, puede orientar sobre el grado y diferencias de la enfermedad sin necesidad de recurrir a pruebas invasivas y más complejas como la biopsia o el LBA.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido financiado por una beca concedida por la Fundación de la Sociedad Española de Alergia e Inmunología Clínica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Smith SH, Brown MH, Rowe D, Callard RE, Beverley PCL. Functional subsets of human helper-inducer cells defined by a new monoclonal antibody, UCHL1. *Immunology* 1986; 58: 63-7.
- Streuli M, Hall LR, Saga Y, Schlossman SF, Saito H. Differential usage of three exons generates at least five different mRNAs encoding human leucocyte common antigens. *J Exp Med* 1987; 166: 1548-66.
- Alexander D, Shiroo M, Robinson A, Biffen M, Shivnan E. The role of CD45 in T-cell activation-resolving the paradoxes? *Immunol Today* 1992; 13: 477-81.
- Bottomly K, Luqman M, Greenbaum L, et al. A monoclonal antibody to murine CD45R distinguishes CD4 T cell populations that produce different cytokines. *Eur J Immunol* 1989; 19: 617-23.
- Serra HM, Krowka JF, Ledbetter JA, Pilarski LM. Loss of CD45R (Lp220) represents a post-thymic T cell differentiation event. *J Immunol* 1988; 140: 1435-41.
- Morimoto C, Letvin NL, Distaso JA, Aldrich WR, Schlossman SF. The isolation and characterization of the human suppressor inducer T cell subset. *J Immunol* 1985; 134: 1508-15.
- Okumura M, Fujii Y, Inada K, Nakahara K, Matsuda H. Both CD45RA⁺ and CD45RA⁻ subpopulations of CD8⁺ T cells contain cells with high levels of Lymphocyte Function-associated Antigen-1 expression, a phenotype of primed T cells. *J Immunol* 1993; 150: 429-37.
- Bell EB, Sparshott SM. Interconversion of CD45R subsets of CD4 T cells in vivo. *Nature* 1990; 348: 163-6.
- Rothstein DM, Yamada A, Schlossman SF, Morimoto C. Cyclic regulation of CD45 isoform expression in a long term human CD4⁺CD45RA⁺ T cell line. *J Immunol* 1991; 146: 1175-83.
- Fujii Y, Okumura M, Inada K, Nakahara K. Reversal of CD45R isoform switching in CD8⁺ T cells. *Cell Immunol* 1992; 139: 176-84.
- Helbert MR, L'age-Stehr J, Mitchison NA. Antigen presentation, loss of immunological memory and AIDS. *Immunol Today* 1993; 14: 340-4.
- Danielle RP. Pathophysiology of the asthmatic syndromes. En: Danielle RP, ed. *Immunology and immunological diseases of the lung*. Boston: Blackwell Scientific Publications, 1988: 503-16.
- Wierenga EA, Snoek M, de Groot C, et al. Evidence for compartmentalization of functional subsets of CD4⁺ T lymphocytes in atopic patients. *J Immunol* 1990; 144: 4651-6.
- Kus J, Tse KS, Vedal S, Chan-Yeung M. Lymphocyte sub-populations in patients with allergic and non-allergic asthma. *Clin Allergy* 1985; 15: 523-9.
- Walker C, Virchow JC Jr, Buijnzeel PLB, Blaser K. T cell subsets and their soluble products regulate eosinophilia in allergic and nonallergic asthma. *J Immunol* 1991; 146: 1829-35.
- Schauer U, Jung T, Heymanns J, Rieger CHL. Imbalance of CD4⁺CD45R⁺ and CD4⁺CD29⁺ T helper cell subsets in patients with atopic diseases. *Clin Exp Immunol* 1991; 83: 25-9.
- Bentley AM, Menz G, Storz CHR, Robinson DS, Bradley B, Jeffery PK, et al. Identification of T lymphocytes, macrophages and activated eosinophils in the bronchial mucosa in intrinsic asthma. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 500-6.
- Corrigan CJ, Haczku A, Gemou-Engesaeth V, Doi S, Kikuchi Y, Takatsu K, et al. CD4 T-lymphocyte activation in asthma is accompanied by increased serum concentrations of interleukin-5. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 540-7.
- Poulter LW, Norris A, Power C, Condez A, Schmekel B, Burke C. T-cell dominated inflammatory reactions in the bronchi of asthmatics are not reflected in matched bronchoalveolar lavage specimens. *Eur Respir J* 1992; 5: 182-9.

20. Burke C, Power CK, Norris A, Condez A, Schmekel B, Poulter LW. Lung function and immunopathological changes after inhaled corticosteroid therapy in asthma. *Eur Respir J* 1992; 5: 73-9.
21. Robinson DS, Bentley AM, Hartnell A, Kay AB, Durham SR. Activated memory T helper cells in bronchoalveolar lavage fluid from patients with atopic asthma: relation to asthma symptoms, lung function, and bronchial responsiveness. *Thorax* 1993; 48: 26-32.
22. Morimoto C, Letvin NL, Boyd AW, et al. The isolation and characterization of the human helper inducer T cell subset. *J Immunol* 1985; 134: 3762-9.
23. Sánchez-Guerrero IM, Herreno N, Muro M, et al. Intrinsic asthmatic patients produce high levels of IL-4-dependent IgE upon co-stimulation of cultured PBMC with exogenous recombinant IL-6. *Eur Respir J* 1997; 10: 2091-6.
24. Kawano Y, Noma T, Maeda K, Yata J. CD4⁺CD45RA⁺ T cells modulate allergen-induced interleukin 2 responsiveness in human lymphocytes. *Clin Immunol Immunopathol* 1992; 62: 327-35.
25. Poulter LW, Power C, Burke C. The relationship between bronchial immunopathology and hyperresponsiveness in asthma. *Eur Respir J* 1990; 3: 792-9.
26. Poulter LW, Norris A, Power C, et al. T cell dominated inflammatory reactions in the bronchioles of asymptomatic asthmatics are also present in the nasal mucosa. *Postgrad Med J* 1991; 67: 747-53.

Dra. I. M. Sánchez-Guerrero
Ricardo Gil, 26, 2º B
30002 Murcia.