

# IL-33: SU ROL EN LA INFLAMACIÓN EN PACIENTES ASMÁTICOS

## IL-33: its role in inflammation in asthmatic patients

Susana de Barayazarra<sup>1</sup>, Claudia Sotomayor<sup>2</sup>, Juan Carlos Copioli<sup>3</sup>, Juan Carlos Muiño<sup>4</sup>

### RESUMEN

**Introducción.** El asma es una de las enfermedades crónicas no transmisibles más frecuentes, caracterizada por variables de síntomas respiratorios, que afecta a alrededor de 334.000.000 de personas en el mundo. Ella es una consecuencia de interacciones complejas entre las características genéticas del individuo y el medio ambiente, con heterogeneidad en la presentación clínica y el tipo e intensidad de inflamación. La interleucina 33 (IL-33) es una citocina nuclear; miembro de la familia de la interleucina 1 (IL-1) que se encuentra en el núcleo de las células epiteliales y endoteliales. Esta citocina promueve una gran variedad de acciones diferentes de tipos celulares como células Th2, (células T helper 2) mastocitos, linfocitos innatos tipo 2 (ILC2) células T reguladoras, Th1 y células Natural Killer (NK).

**Objetivo.** Evaluar y relacionar el rol de IL-33, eosinófilos e IgE en el desarrollo del asma bronquial en pacientes adultos.

**Material y métodos.** Se incluyeron 129 pacientes asmáticos y 59 controles sanos. Los pacientes asmáticos se separaron según su severidad en: leves (n: 25), moderadas (n: 69) y severas (n: 35).

**Resultados.** Se efectuaron los estudios de correlación entre IL-33 e IgE sérica total, presentando una correlación significativa entre ambos niveles, a mayor aumento de IL-33, mayor nivel de IgE sérica. ( $p=0,0016$ ). Los valores de IL-33 en pacientes con asma leve fueron de  $0,54\pm 0,10$  pg/ml; en pacientes con asma moderada:  $1,15\pm 0,11$  pg/ml; ( $p=0,0001$ ); en asma severa:  $0,23\pm 0,10$  pg/ml; y en controles sanos de  $0,14\pm 0,02$  pg/ml ( $p=0,0001$ ).

**Conclusiones.** En nuestra población desde jóvenes a adultos mayores predomina el sexo femenino. Su edad promedio fue de 38 años. Los niveles séricos de IL-33 estuvieron aumentados en pacientes con asma cuando lo comparamos con controles sanos. Se observaron mayores niveles de IL-33 en pacientes con asma leve y moderada, como también presentaron una correlación significativa entre los niveles de IL-33 e IgE, mientras que para la relación entre IL-33 con eosinófilos no fue significativa.

**Palabras claves:** IL-33, asma, alarmina, citocinas.

### ABSTRACT

**Introduction:** Asthma is one of the most common chronic non-communicable diseases, characterized by a variable of respiratory symptoms, which affects around 334,000,000 people worldwide. It is a consequence of complex interactions between the genetic characteristics of the individual and the environment, with heterogeneity in the clinical presentation and the type and intensity of inflammation. Interleukin 33 (IL-33) is a nuclear cytokine, a member of the interleukin 1 (IL-1) family, found in the nucleus of epithelial and endothelial cells. This cytokine promotes a wide variety of different actions of cell types, such as Th2 cells, (helper 2 T cells) mast cells, innate type 2 lymphocytes (ILC2) regulatory T cells, Th1 and Natural Killer (NK) cells.

**Objective:** To study the relevance of IL-33, eosinophils and IgE in the development of bronchial asthma in adult patients.

**Material and methods:** 129 asthmatic patients and 59 healthy controls were included. The asthmatic patients according to their severity were: mild, (n: 25), moderate (n: 69) and severe (n: 35).

**Results:** When the correlation studies between IL-33 and total serum IgE were carried out, there was a significant correlation between both levels, the higher the increase in IL-33, the higher the level of serum IgE. ( $p = 0.0016$ ). IL-33 values in patients with mild asthma: it was  $0.54 \pm 0.10$  pg / ml, patients with moderate asthma:  $1.15 \pm 0.11$  pg / ml, ( $p = 0.0001$ ), and in severe asthma:  $0.23 \pm 0.10$  pg / ml and in healthy controls  $0.14 \pm 0.02$  pg / ml. ( $p = 0.0001$ ).

**Conclusions:** In our population from young to older adults, the female sex predominates. Their average age was 38 years. Serum IL-33 levels were increased in asthma patients when compared to healthy controls. Higher levels of IL-33 were observed in patients with mild and moderate asthma.

**Keywords:** IL-33, asthma, alarmin, cytokines.

Archivos de Alergia e Inmunología Clínica 2021;52(3):98-108

### ABREVIATURAS

IgE: Inmunoglobulina E

IgM: Inmunoglobulina M

IL-1 $\beta$ : Interleucina 1 beta

IL-6: Interleucina 6

IL-13: Interleucina 13

IL-17: Interleucina 17

IL-18RacP: Proteínas accesorias e IL-18

IL-18: Interleucina 18

IL-18R1: Receptor de Interleucina 18

IL-1F11: Familia de Interleucina 1

IL-1RacP: Proteína accesoria del receptor IL-1

IL-1RL1: Receptor de Interleucina 1

IL-1 $\alpha$ : Interleucina 1 alfa

IL-1 $\beta$ : Interleucina 1 beta

IL-25: Interleucina 25

IL-2RB: Subunidad  $\beta$  del receptor de interleucina 2

1. Jefa del Servicio de Alergia e Inmunología del Hospital San Roque de Córdoba. Argentina. Especialista en Alergia e Inmunología, Especialista en Salud Pública. Doctora en Medicina.

2. Profesora Asociada de Inmunología. Investigadora independiente de CONICET, Dpto Bioquímica Clínica CIBICI-CONICET, Facultad de Ciencias Químicas Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

3. Especialista en Alergia e Inmunología. Doctor en Medicina. Universidad Nacional de Córdoba.

4. Especialista en Alergia e Inmunología. Doctor en Medicina. Director de la Carrera de Alergia e Inmunología, Universidad Nacional de Córdoba.

Correspondencia: Susana de Barayazarra. Tel. móvil: 054- 0351-5637255. subaraya@gmail.com

Los autores declaran no poseer conflictos de intereses.

Recibido: 30/08/2021 | Aceptado: 15/09/2021

IL-2RB9: Receptor de Interleucina 2  
 IL-33: Interleucina 33  
 IL-4: Interleucina 4  
 IL-5: Interleucina 5  
 IL-C2: Células linfoides innata tipo 2  
 kDa: kilodalton  
 LPS: Lipopolisacáridos  
 NK: Natural Killer  
 Th1: Del inglés T helper 1. T colaboradoras tipo 1  
 Th2: Del inglés T helper 2. T colaboradoras tipo 2  
 TIR: Del inglés Toll / Interleukin-Receptor  
 TNF $\alpha$ : Factor de necrosis tumoral  $\alpha$   
 TSLP: Linfopoyetina del estroma tímico  
 VEF1: Volumen espiratorio forzado en el primer segundo  
 VEMS: Volumen espiratorio máximo en el primer segundo

## INTRODUCCIÓN

### ASMA

El asma bronquial es una de las enfermedades crónicas respiratorias no transmisibles más comunes, que afecta a alrededor de 334 millones personas en todo el mundo. La prevalencia global de asma, diagnosticada por un médico, en adultos es del 4,3% (IC del 95%)<sup>1-3</sup>, con amplia variación entre países, siendo más alta en los países desarrollados, por ejemplo: Australia 21%, y más baja en los países en desarrollo como China 0-2%<sup>1</sup>. Se observa una gran variación de síntomas y prevalencia en asma, existiendo una gran diferencia entre continentes, países y ciudades, como en Indonesia, que varía de entre 2,8% a 37%, y en Costa Rica, que es del 6%. Sin embargo, la prevalencia es subestimada en los países pobres en recursos y es estable o decreciente en países desarrollados y aumentando en los países en desarrollo con estilos de vida similar al de occidente<sup>2,3</sup>. La red global de asma (GAN: *The Global Asthma Network*), establecida en 2012, desempeña un papel crucial en la recopilación de datos estandarizados sobre el asma en adultos y niños a nivel mundial. GAN aportó información adicional a las últimas encuestas mundiales de asma, realizadas por el estudio ISAAC en niños (2002-3) y a la Encuesta Mundial de Salud en adultos (2002-4). La encuesta GAN comenzó en 2017; ya en junio de 2018 había incluido 353 centros de estudio en 135 países involucrados. GAN Fase I, con 127 centros en 53 países registrados, está operando sobre los principios de colaboración de ISAAC y la aplicación sistemática de metodologías estándar, adecuadas para su uso en todo el mundo, y ha agregado a ISAAC un enfoque en el estudio del asma en adultos<sup>3</sup>.

El asma bronquial causa discapacidad sustancial, deficiente calidad de vida y muertes evitables en niños y adultos jóvenes. El costo de padecer asma en la familia y en la so-

ciedad es desproporcionadamente alto, sobre todo en países con bajos y medianos ingresos, donde el acceso al tratamiento adecuado es limitado o nulo. A pesar de una reducción mundial de la mortalidad por asma en adultos y niños en los últimos 25 años, que en gran parte se puede atribuir al mayor uso de corticosteroides inhalados, aun existe una gran disparidad global observada en la pérdida de años de vida a causa del asma bronquial<sup>4</sup>.

La inflamación eosinofílica de las vías aéreas está presente en alrededor del 50% de los adultos con asma, pero los estudios de abstinencia de corticosteroides a menudo revelan aumento de eosinófilos e inflamación de las vías respiratorias, lo que sugiere que su prevalencia podría ser subestimada. La atopía está presente entre el 50 y 60% de los adultos y niños con asma, siendo más común en asma severa en niños y adultos con enfermedad de inicio en la infancia *vs.* enfermedad de inicio tardío. El asma se produciría luego de la sensibilización alérgica y consiguiente estimulación por células dendríticas en presencia de coactivadores tales como linfopoyetina del estroma tímico derivado del epitelio (TSLP)<sup>4,6</sup>.

Las células Th2 producen IL-5, IL-4 e IL-13. La IL-5 es una citocina fundamental para la supervivencia y maduración de los eosinófilos. En el asma eosinofílica no alérgica, las células linfoides innatas (ILC) producen IL-5 e IL-13 en respuesta a la prostaglandina D2 y alarminas derivadas del epitelio como: IL-33, IL-25 y TSLP liberadas después del daño epitelial por contaminantes y microorganismos<sup>7</sup>. Los mecanismos alérgicos independientes que impulsan la inflamación eosinofílica y el asma no eosinofílica pueden ocurrir en conjunto, lo que lleva a una inflamación granulocítica mixta o a cambios en el perfil inflamatorio a lo largo del tiempo. La hiperreactividad de las vías respiratorias es una característica presente en los fenotipos de asma con o sin inflamación granulocítica en niños y adultos. En el asma, el músculo liso de las vías respiratorias es hiperreactivo y la remodelación de las vías respiratorias puede presentarse temprano en la infancia, lo que sugiere que no es simplemente una consecuencia de la inflamación<sup>8</sup>. La remodelación se caracteriza por daño epitelial y disfunción ciliar, hiperplasia de células caliciformes, aumento del grosor de la lámina reticular y la membrana basal reticular<sup>9</sup>, aumento de la vascularización de miofibroblastos subepiteliales, fibrocitos y masa del músculo liso de las vías respiratorias. La masa del músculo liso de la vía aérea es el predictor más fuerte de la limitación del flujo de aire<sup>10</sup>. Estas características de remodelación conducen al engrosamiento de la pared de la vía aérea, al estrechamiento del lumen y el taponamiento mucoso, con obliteración de la pequeña vía aérea<sup>11</sup>.

### DEFINICIÓN Y PRESENTACIÓN CLÍNICA

El asma es una condición heterogénea caracterizada por

diversos síntomas respiratorios y limitación variable del flujo aéreo. Además de la inflamación, están asociados otros factores subyacentes, como la hiperplasia del músculo liso. Estas características pueden ser generadas por un gran número de mecanismos subyacentes que son típicos, pero no siempre asociados con la inflamación y remodelación de la vía aérea<sup>4</sup>.

### INTERLEUCINA 33

La interleucina 33 (IL-33) es una citocina nuclear considerada como el decimoprimer miembro de la superfamilia de la IL-1, que incluye a IL-1, IL-1 $\beta$  e IL-18<sup>12,13</sup>. A diferencia de las otras citocinas de la familia IL-1, excepto la IL-1 $\alpha$ , IL-33 se localiza en el núcleo de las células epiteliales y endoteliales. Los miembros de esta familia, juegan un rol crítico en la inmunidad y en la inflamación, seguido de daño o infección, estimulando la expresión de integrinas en células endoteliales y leucocitos, y así, regulando e iniciando la respuesta inflamatoria<sup>14,15</sup>.

Su liberación al espacio extracelular funciona como una señal de peligro endógeno o alarma nuclear que se produce después de una lesión celular para alertar al sistema inmunitario del daño tisular durante un trauma o infección<sup>16-18</sup>. Su expresión es constitutiva y abundante en tejidos humanos normales.

### FUNCIÓN DE IL-33

#### IL-33 como inductor de respuesta Th2

Fisiológicamente la IL-33 funciona como una alarma, es decir según se trate de un proceso de apoptosis o necrosis alertará al sistema inmune sobre daño tisular o estrés mediante su receptor ST2 y será clivada por caspasas cuando finaliza el proceso. Una variedad de estímulos, incluyendo bacterias, virus, hongos, alérgenos y contaminantes pueden desencadenar la liberación de IL-33, que es un potente activador del sistema inmune innato. Posteriormente, se demostró que la IL-33 también es un poderoso activador de mastocitos y basófilos, induciendo su desgranulación y maduración, además de promover la supervivencia y la producción de varias citoquinas proinflamatorias en estas células<sup>19</sup>.

A diferencia de los otros miembros de la familia de IL-1, IL-33 induce principalmente respuestas inmunes Th2 en varios tipos de células inmunitarias. Se demostró inicialmente que ST2L se expresaba de forma selectiva en células Th2, y no en otros tipos de células T. Estudios posteriores han demostrado que la IL-33 puede activar las células dendríticas murinas que conducen directamente a la polarización de las células T vírgenes hacia un fenotipo Th2<sup>20</sup>, y puede actuar directamente sobre las células Th2 para aumentar la secreción de citocinas Th2 como IL-5 e IL-13. Además, la IL-33

también puede actuar como un quimioatrayente para las células Th2<sup>21</sup>. Esta citocina puede activar las células B1 *in vivo*, induciendo la producción anticuerpos IgM, además de la producción de IL-5 e IL-13<sup>22</sup>.

Es probable que la función principal de los efectos de IL-33 en el sistema inmunológico en términos evolutivos fuera la defensa del huésped contra patógenos. También se ha demostrado que la IL-33 endógena es importante para la inflamación eosinofílica pulmonar y la producción de IL-5 en las ILC2<sup>23,24</sup>.

El asma alérgica se asocia con inflamación eosinofílica de las vías aéreas. Los eosinófilos están presentes en un mayor número dentro del lumen de las vías respiratorias y el tejido de los asmáticos alérgicos en comparación con los controles sanos, y la reducción de la eosinofilia de las vías respiratorias reduce las tasas de exacerbación del asma<sup>25</sup>. El papel importante de los eosinófilos en asma apoya la necesidad continua de desarrollar nuevos objetivos para reducir la función mediada por estas células<sup>26</sup>. En estudio previo, se demostró que la IL-33 indujo la producción de superóxido de eosinófilos y la desgranulación en niveles similares al control positivo de IL-5. Adicionalmente, IL-33 fue capaz de aumentar la supervivencia de eosinófilos e inducir producción de IL-8, que fue inhibida por anti-ST2L<sup>27</sup>.

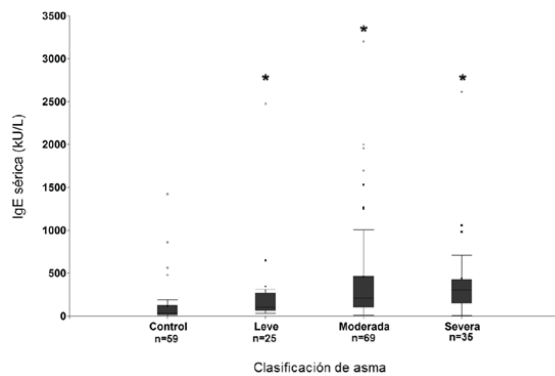
El asma bronquial constituye un problema grave en la salud pública a nivel mundial. Existen pocos datos actualizados de prevalencia de asma en adultos en Latinoamérica, Argentina y puntualmente en Córdoba, con sus aeroalérgenos locales; tampoco hay información publicada sobre la relación entre asma e IL-33, siendo estos últimos marcadores de inflamación y severidad. A pesar de los avances en esta patología, encontramos la necesidad de un mejor conocimiento en la fisiopatología del asma y de esta manera poder prevenir estadios de severidad, cronicidad y sus comorbilidades. Por lo anteriormente expuesto, se plantearon los siguientes objetivos:

### OBJETIVO GENERAL

- Evaluar y relacionar el rol de IL-33, en suero de pacientes asmáticos en todos sus estadios como marcador de severidad, evaluando su sensibilidad para el diagnóstico precoz y predictivo del asma.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Dosar la IL-33, sérica en pacientes con distintos estadios de asma bronquial, comparándolos con controles sanos.
- Evaluar y relacionar el rol de eosinófilos e IgE en el desarrollo del asma bronquial en pacientes adultos



**Figura 1.** Niveles de IgE sérica y severidad de asma. Determinación de niveles de IgE en pacientes con asma clasificados según su severidad en leve (n=25), moderada (n=69) y severa (n=35), comparados con controles sanos (n=59). Se muestra el número de pacientes que conforman cada grupo y los niveles de IgE sérica expresada en kU/L como valor de la media  $\pm$  error estándar. \*  $p < 0,0001$ .

## MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo fue prospectivo, transversal y analítico, basado en pacientes asmáticos que consultaron en forma espontánea o por derivación al Servicio de Alergia e Inmunología del Hospital San Roque, Córdoba, Argentina, durante el período comprendido entre el primero de diciembre de 2014 y el primero de octubre del año 2018.

### MUESTRA

En el presente trabajo la muestra fue conformada por 188 personas consecutivas asignadas a dos grupos: Grupo 1 (problema): 129 pacientes asmáticos. Grupo 2 (control): 59 personas sanas sin enfermedad aparente, no asmáticas. Para obtener esta cifra se realizó el cálculo de muestra por prevalencia. Según los datos de Copioli y cols. 2009<sup>28</sup>, la prevalencia de asma en la provincia de Córdoba alcanzó el 14,3% en su grupo de estudio, con un nivel de fiabilidad del 95% y un margen de error del 5%. El valor determinado por el test indica que una muestra representativa para la fiabilidad de los datos corresponde a la inclusión de al menos 100 pacientes con asma. Se determinó sexo, edad y características antropométricas de la muestra estudiada; donde a todos los participantes se les entregó el Consentimiento Informado para ser leído y firmado.

### METODOLOGÍA DE ESTUDIO

El presente estudio adopta los criterios de GINA (*Global Initiative for Asthma*)<sup>2-4</sup> donde el asma se define como una

enfermedad heterogénea caracterizada por inflamación crónica de la vía aérea. Se manifiesta con síntomas respiratorios tales como: sibilancias audibles a la auscultación, respiración corta, opresión torácica, tos que varía de intensidad y frecuencia asociada a variable limitación del flujo aéreo respiratorio. Según su severidad se clasifica el asma en: asma leve (intermitente y persistente), moderada y severa. Para la definición de los criterios de asma, se siguió el criterio del consenso colaborativo del *Nacional Heart, Lung, and Blood Institute* (Instituto Nacional del Corazón, los Pulmones y la Sangre). Estados Unidos de Norteamérica, y la Organización Mundial de la Salud (OMS-WHO), y al que se unen decenas de organizaciones de todo el mundo.

Se les realizó historia clínica con todos los datos personales, investigando enfermedad de asma, rinitis alérgica, etiología de la enfermedad, antecedentes familiares, antecedentes de tabaquismo. Examen físico e índice de masa corporal.

### CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

- **Criterios de inclusión:** pacientes de ambos sexos, mayores de 18 años con asma según criterios GINA.
- **Criterios de exclusión:** pacientes con enfermedades crónicas, tales como cardíacas, renales o gastrointestinales. Enfermedad aguda inflamatoria. Patología oncológica.

Se interrogó sobre medicación concomitante, dato relevante al momento de realizar los estudios requeridos para el proyecto. Ejemplo, el uso de antihistamínicos 7 días antes de la realización de test cutáneos. Con respecto a las pruebas funcionales respiratorias, los pacientes no debían recibir broncodilatadores hasta 12 horas antes del estudio.

### ESTUDIOS DE LABORATORIO

Se trabajó con sangre, obtenida por punción endovenosa, se realizaron estudios citológicos completos, por hemocitometría, con especial enfoque a los eosinófilos y neutrófilos. Los eosinófilos en sangre periférica se contaron según la técnica estándar de citometría de flujo.

#### *Determinación de inmunoglobulina E total*

Se realizó por la técnica de ELISA, utilizando un ensayo inmunométrico quimioluminiscente en fase sólida (ECLIA). Para obtener un funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos según lo definido en el manual del operador Cobas e 411 (Roche Diagnostics®).

Los niveles de IgE fueron determinados usando la curva con los calibradores provistos por el laboratorio productor del equipo de estudio e interpolando los valores obtenidos con los puntos de dicha curva. Rango de detección míni-

mo de 0,5 kU/l de IgE a 2000 kU/l, para concentraciones del primer estudio. En caso de mantener valores de  $\geq 2000$  kU/l al final de la determinación, se puede extender el rango de detección, usando diluyente para niveles altos y en el caso de ser menor a 0,5 kU/l se usa el ajustador para niveles bajos. Todos provistos por el laboratorio productor del *kit*. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado, con un cv 2% entre la primera y segunda determinación y 3,5% entre la primera y tercera determinación.

### Determinación de interleucina 33.

Las concentraciones de IL-33 fueron medidas con la técnica ELISA sándwich empleando suero diluido de pacientes siguiendo las indicaciones del laboratorio fabricante. En este trabajo se emplearon equipos de *ELISA Duo Set Kit*, para IL-33, Laboratorio *R&D Systems (Minneapolis, MN, USA)* Lote: P132285.

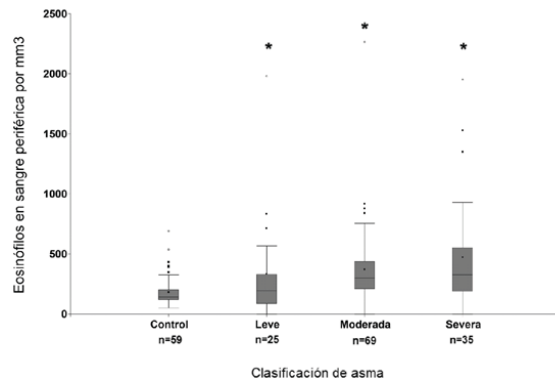
Brevemente, 4  $\mu$ g/ml de anticuerpo monoclonal de captura se añadió a una placa de 96 pocillos (*Nunc, Rochester, NY, USA*) y la placa se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente. Luego se incubó la placa con solución de bloqueo, tampón fosfato salino (PBS) conteniendo seroalbúmina bovina al 1% y 0,05% *Tween 20* (PBS-ASB-T20) durante 2 horas a temperatura ambiente. Todas las muestras de sueros fueron diluidas 1:2 con PBS-ASB-T20. Las curvas estándares también fueron diluidas con las mismas sustancias. Todas muestras y recombinantes estándar de IL-33 se añadieron a las placas, y cada placa se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente. La placa se lavó cuatro veces con PBS / *Tween 20*, se agregó 200 ng/ml de anticuerpos monoclonales de detección biotinilado y la placa se incubó por 2 horas a temperatura ambiente. La placa fue lavada 3 veces, luego se agregó estreptavidina-fosfatasa alcalina (*Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA*, diluido 1:2, 000) y la reacción continuó durante 2 horas a temperatura ambiente. La placa se lavó cuatro veces, y 1 mg/ml de p-nitrofenil fosfato disuelto en dietanolamina (ambos de *Sigma-Aldrich*) fue agregado para inducir la reacción de color, que fue detenida por añadiendo 50  $\mu$ l de 1 N NaOH. La densidad óptica se leyó a 405 nm se midió en un lector de microplacas automatizado. Se trazó una curva estándar mediante la representación de la densidad óptica *vs.* el registro de las concentraciones de IL-33. Las concentraciones fueron expresadas en pg/ml.

### APROBACIÓN ÉTICA

El estudio fue aprobado por el Comité Ético Científico del Hospital San Roque, por los Consejos de Evaluación Ética de la investigación en Salud y Comité Institucional de Ética en Salud (CIEIS) de la Provincia de Córdoba.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La carga de datos se realizó en planillas de cálculo de Excel. Para el análisis estadístico, las variables cualitativas



**Figura 2.** Eosinófilos y severidad de asma. Recuento de eosinófilos (Eo) en sangre periférica en pacientes con asma clasificados según su severidad en leve (n=25), moderada (n=69) y severa (n=35), comparados con controles sanos (n=59). Se muestra el número de pacientes que conforman cada grupo, y el número de Eo/ml expresada como valor de la media  $\pm$  error estándar. \* p=0,0001.

se trabajaron con frecuencias absolutas (número de casos) y con frecuencias relativas (porcentajes). Para las variables cuantitativas, se utilizaron el promedio y el error estándar como medidas descriptivas. También se utilizaron los valores máximos y mínimos para mostrar los rangos de dispersión. Se realizaron gráficos de torta, de barra, de puntos y de *box-plot*. Se utilizó el programa *Infostat Profesional* versión 2018 y *SPSS* versión demo para la realización de los gráficos y las pruebas estadísticas.

Para las variables categóricas, se realizaron análisis de Chi cuadrado. Para las variables numéricas, se realizaron en primer lugar, test de normalidad para evaluar su naturaleza: test de normalidad de Shapiro Wilks y de Kolmogorov Smirnov. Una vez definido eso, se utilizaron los test Wilcoxon y Kruskal-Wallis dependiendo de las hipótesis estadísticas planteadas. En el caso del test de Kruskal-Wallis, se realizó como análisis a posteriori comparación de a pares para ver las diferencias entre categorías de la variable. También se realizaron análisis de correlación de Spearman y análisis de regresión lineal. Para todos los análisis estadísticos, p-valor <0,05 se consideró significativo.

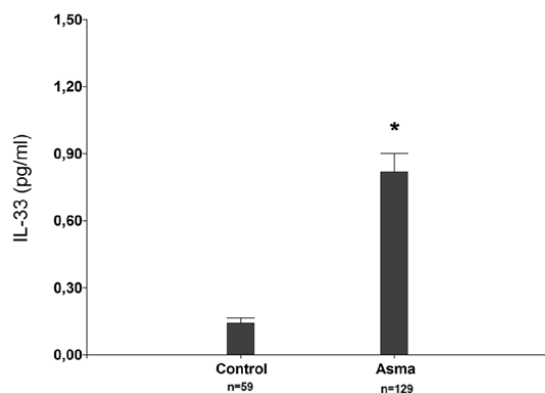
## RESULTADOS

### ASPECTOS CLÍNICOS Y CARACTERÍSTICAS GENERALES

#### Características de los pacientes

Se estudiaron 129 pacientes asmáticos y 59 controles sanos. El grupo asmático, estuvo constituido por 98 pacien-





**Figura 3.** Niveles de IL-33 sérica en asma bronquial y controles sanos. Niveles de IL-33 sérica en pacientes asmáticos (n=129) y controles sanos (n=59). Se muestra el número de pacientes que conforman cada grupo, y los niveles de IL-33 expresado como pg/ml como valor de la media ± error estándar. \*: p=0,0021.

tes de sexo femenino (76%) y 31 pacientes masculinos (24%). El grupo control (n=59) presentó 45 de sexo femenino (75%) y 14 de sexo masculino (25%) (p=NS). La edad promedio de los pacientes asmáticos fue de  $38,9 \pm 1,5$  años con rango entre 77 y 18. En los controles sanos, la edad promedio fue de  $34,4 \pm 1,5$  años, con un rango entre 63 y 18 años.

#### Niveles de IgE y severidad de asma

La IgE ha sido identificada como un factor central en el asma alérgica debido a su naturaleza específica para alérgenos. Muchos de los mecanismos de la cascada inflamatoria que subyacen al asma alérgica ya se han dilucidado, y se ha demostrado que la IgE desempeña un papel fundamental en el desencadenamiento, desarrollo y cronicidad de las respuestas inflamatorias dentro de la enfermedad<sup>13</sup>.

En la población de pacientes asmáticos estudiamos los niveles séricos de IgE, se observó un valor promedio de  $438,98 \pm 61,53$  kU/l con un rango de dispersión entre 3200-5 kU/l, mientras que en los controles sanos presentaron niveles de IgE sérica total de  $112,97 \pm 31,41$  kU/l con un rango de 1422-2 kU/l. La comparación de la concentración de IgE sérica total entre individuos sanos con pacientes asmáticos, presentó una diferencia estadísticamente significativa (p<0,0001).

Los niveles de IgE estuvieron asociados con la severidad del asma, así es que se pudo observar en pacientes con asma leve un nivel de  $342,71 \pm 169,9$  kU/l, en asma moderada de  $458,33 \pm 84,85$  kU/l, en asma severa de  $438,13 \pm 109,17$  kU/l. En controles sanos los valores obtenidos fueron de

$112,97 \pm 31,41$  kU/l, observándose una diferencia significativa al ser comparado con los diferentes grupos de pacientes asmáticos (p<0,0001) (Figura 1).

#### Valor de eosinófilos en sangre y severidad de asma

Se determinó el número de eosinófilos (Eo) por  $\text{mm}^3$  en todos los individuos incluidos en este estudio (Figura 2). Los controles sanos presentaron un valor de  $181,13 \pm 16,69$  Eo/ $\text{mm}^3$  ( $690-50$  Eo/ $\text{mm}^3$ ), mientras que en pacientes con asma leve presentaron  $374,7 \pm 92,13$  Eo/ $\text{mm}^3$  ( $1980-0$  Eo/ $\text{mm}^3$ ), pacientes con asma moderada,  $371,64 \pm 43,34$  Eo/ $\text{mm}^3$  ( $2.266-0$  Eo/ $\text{mm}^3$ ), pacientes con asma severa  $471,09 \pm 75,26$  Eo/ $\text{mm}^3$  ( $1.953-0$  Eo/ $\text{mm}^3$ ) El análisis estadístico permite establecer que existe diferencia significativa entre los individuos sanos y los diferentes grupos de pacientes con asma (p <0,0001).

## INTERLEUCINA 33

#### Determinación de niveles IL- 33 sérica

La interleucina 33, considerada una alarmina, se libera posterior a alguna injuria tisular en el epitelio bronquial, pudiendo inducir las exacerbaciones de enfermedades alérgicas como el asma. Ésta, junto con IgE, eosinófilos y demás mediadores Th2 mantienen la hiper-respuesta de la vía aérea y el remodelamiento de la misma. En este estudio evaluamos los niveles séricos de esta citocina en grupos de pacientes asmáticos y controles sanos.

El valor obtenido para IL-33 en el grupo de pacientes asmáticos fue  $0,82 \pm 0,08$  pg/ml, rango entre 2,33 y 0 pg/ml. Los controles sanos fueron de:  $0,14 \pm 0,02$  pg/ml con un rango entre 1,17 y 0 pg/ml. Obteniendo una p=0,0021, estadísticamente significativa (Figura 3).

#### Valores de IL-33 y severidad de asma

Los niveles de IL-33 se obtuvieron en controles sanos (n=59) y en pacientes con diferentes grados de asma. Los controles sanos presentaron valores de  $0,14 \pm 0,02$  pg/ml, rango de 1,17 a 0,00 pg/ml, mientras que para los pacientes con asma leve (n=25) los niveles fueron de  $0,54 \pm 0,10$ , pg/ml con un rango de 1,51 a 0,00 pg/ml, los valores para pacientes con asma moderada (n=69) presentaron  $1,15 \pm 0,11$  pg/ml rango entre 2,23 a 0,00 a pg/ml (p=0,0001), y en pacientes con asma severa (n=35)  $0,23 \pm 0,10$  con rango entre 1,76 a 0,0 pg/ml. (Figura 4).

#### Niveles de IL-33 e IgE sérica

Cuando se efectuaron los estudios de correlación entre IL-33 e IgE total sérica presentaron una correlación significativa entre ambos niveles, a mayor aumento de IL-33, mayor nivel de IgE sérica. El índice de correlación fue estadísticamente significativo con una p=0,0016 (Figura 5 y 6).

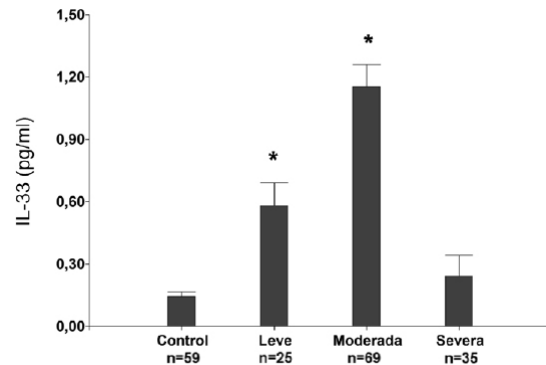
## DISCUSIÓN

El desarrollo de estudios en pacientes asmáticos dirigidos a evaluar la respuesta frente a aeroalérgenos y las distintas características de la población en la ciudad de Córdoba permite aumentar el conocimiento sobre la misma y sienta las bases para la realización de trabajos posteriores tendientes a definir las características regionales de una enfermedad frecuente, que constituye un grave problema en la salud a nivel global.

El presente trabajo aborda el estudio de diversos parámetros clínicos, bioquímicos e inmunológicos asociados a los diferentes estadios de severidad del asma, permitiendo una mejor comprensión de la enfermedad. En este escenario la búsqueda de marcadores biológicos de severidad y cronicidad con valor predictivo constituye un continuo desafío. Este trabajo proporciona sólida evidencia sobre la importancia del estudio sistémico de la IL-33 en pacientes con asma de diversas severidades y su correlación con otros parámetros de interés, tales como IgE sérica total y eosinofilia.

En nuestro estudio los pacientes asmáticos se clasificaron de acuerdo a la severidad del cuadro clínico siguiendo GINA: asmáticos persistentes leves en 25 casos, moderados 69 casos y con asma severa 35 casos. Estas proporciones de severidad han sido mostradas en varios trabajos previamente publicados, con los que coincidimos<sup>4,20</sup>. El número de pacientes incluidos en cada grupo proporciona solidez a nuestros hallazgos, siendo también importante destacar que en los otros estudios donde se asoció asma e IL-33 solo analizaron pacientes con asma leve<sup>1,20,25</sup>.

Con relación a los niveles de IgE sérica de los pacientes asmáticos, en nuestro estudio el valor promedio observado fue de 438,98 kU/l, siendo los asmáticos moderados y severos mayor de 450 kU/l y los asmáticos leves de 350 kU/l, mientras que los controles sanos presentaron niveles de IgE sérica total de 112,97 kU/l. Estas observaciones concuerdan con lo publicado por Gasiuniene y cols.<sup>29</sup> quienes reportaron niveles de IgE sérica total de 655 kU/l en pacientes asmáticos y 117,29 kU/l en controles sanos. Otros autores<sup>25,30</sup> observan valores promedio de esta IgE de 188 kU/l en asmáticos, mientras que Glück y cols.<sup>31</sup> obtuvieron niveles de 49 kU/l. En estudios realizados en Argentina, Muiño y cols.<sup>32,33</sup> hallaron valores superiores a 350 kU/l en asmáticos alérgicos. Por otra parte, se conoce que los niveles de IgE elevados son potencialmente causa de aumento del riesgo de padecer asma y también diversos grados de severidad; en acuerdo con este concepto, Burrows y cols.<sup>34</sup> reportaron correlación positiva entre niveles de IgE sérica y padecimiento de asma asociado a severidad. Otros autores como Watanabe y cols.<sup>30</sup> y Glück y cols.<sup>31,35</sup> no coinciden con esta observación.

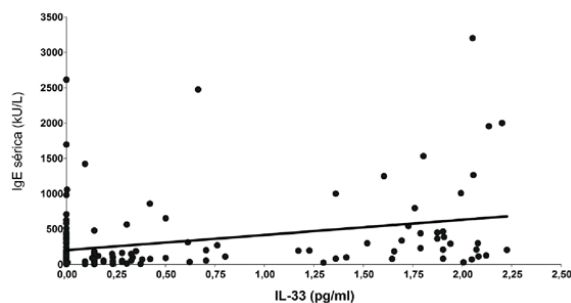


**Figura 4.** Valores de IL-33 sérica y severidad de asma. Niveles de IL-33 sérica en grupo control (n=59), y asma de acuerdo con la clasificación de severidad. Asma leve (n=25), asma moderada (n=69) y asma severa (n=35). Se muestra el número de pacientes que conforman cada grupo, y los niveles de IL-33 expresado como pg/ml como valor de la media ± error estándar:  $p=0,0001$ .

En cuanto a la presencia de eosinófilos (Eo), Watanabe y cols.<sup>30</sup> encontraron un promedio de 201 Eo/ $\mu$ l, con un rango de 128 Eo/uL a 334 Eo/ $\mu$ l, en los pacientes asmáticos estables, mientras que en los pacientes con riesgo (11 vs. 93) fue de 79 Eo/ $\mu$ l. Estos resultados muestran diferencias con los observados en nuestro estudio, ya que los pacientes asmáticos presentaron un promedio de 407,15 Eo/ $\mu$ l y los controles sanos de 181 Eo/ $\mu$ l. También observamos, que, al clasificar los pacientes asmáticos según severidad, la eosinofilia era más importante en asmáticos severos, intermedia en moderados y más baja en asmáticos leves. Todos estos resultados hallados indicarían el papel de esta célula en la patogenia del asma. En coincidencia con lo publicado con otros investigadores<sup>32,36,37</sup>, según Marthur y cols.<sup>38</sup> y Diver y cols.<sup>39</sup>, la eosinofilia puede ser considerada una herramienta para el diagnóstico de asma, asociado con la obstrucción bronquial reversible, debido a que el asma puede presentar niveles de eosinófilos aumentados, asociado a su característica en relación al perfil de respuesta Th2 y Th9<sup>40,41</sup>.

Recientes evidencias indican que el epitelio, y la citocina IL-33 secretada por el mismo, juegan un rol relevante en el desarrollo del asma alérgica<sup>28</sup>.

En nuestro estudio, que incluyó 129 pacientes asmáticos y 59 controles sanos, se demostró que todos los pacientes asmáticos presentaron niveles de IL-33 sérica incrementados y estadísticamente significativos, comparados con los controles sanos. La producción de esta citocina en los pacientes asmáticos fue 5,8 veces mayor a los observados en controles sanos. Nuestros resultados están en acuerdo con



**Figura 5.** Correlación entre los niveles de IgE e IL-33 séricas. Niveles de IgE expresados en KU/L y de IL-33 en pg/ml. Los puntos indican los valores individuales de las variables en estudio en cada paciente asmático. Rho de Spearman=0,26.  $p=0,0016$ .

el meta-análisis realizado por Riu Li y cols.<sup>42</sup> que incluyó un total de 633 pacientes con asma y 379 controles sanos, donde los pacientes del primer grupo tenían un nivel de IL-33 sérica mucho más alto que los controles sanos. Glück y cols.<sup>31</sup> estudiaron el nivel de IL-33 en suero de pacientes asmáticos adultos de una edad promedio de 43 años (rango 33-54 años) y controles sanos de similar edad; también en acuerdo con nuestros hallazgos, Glück y cols. reportaron que los niveles de IL-33 fueron elevados en los pacientes asmáticos comparados con los controles sanos. Interesantemente, cuando en nuestro estudio los pacientes con asma bronquial fueron clasificados en los diversos grados de severidad y comparados con controles sanos, los mayores niveles de la IL-33 se registraron en pacientes con asma moderada ( $1,15 \pm 0,11$  pg/ml), seguidos por pacientes con asma leve ( $0,54 \pm 0,01$  pg/ml). Los pacientes con asma severa mostraron una marcada diferencia en los niveles de IL-33, caracterizada por una baja concentración sérica ( $0,21 \pm 0,1$  pg/ml) que no mostró diferencia significativa respecto a los valores observados en controles sanos. De manera relevante, entre los resultados obtenidos y discutidos en esta sección se destaca los niveles aumentados de IL-33 en pacientes con asma moderada y leve y el nivel inferior de IL-33 sérica en pacientes con asma severa de varios años de evolución avalado por el análisis multivariado que fue significativo para esta correlación. En su conjunto, estos hallazgos se podrían explicar en relación a las características de las principales células productoras de esta citocina, a su capacidad funcional y al proceso de remodelación bronquial que experimentan estos pacientes por las intensas crisis y largos períodos de crisis sin resolver, lo cual lleva a claras manifestaciones clínicas y funcionales de la severidad del asma<sup>43-45</sup>. Por otra parte, el au-

mento de la musculatura bronquial, que se torna hipertrófica, la alteración de los neumocitos II y la producción de surfactante, son todos factores que influirían para remodelar el árbol bronquial, siendo el factor epitelial e IL-33 (alarmina) el que iniciaría el proceso, a continuación de la alteración epitelial donde aparecen otros mecanismos de agresión, los cuales perpetúan la respuesta inflamatoria del asma. En este contexto la IL-33 es un factor importante pero no único en la patogénesis del asma, sobre todo, en las formas iniciales, de características leves a moderadas, con un nivel de IL-33 elevado respecto a los controles. Los niveles de citocina observados en categoría severa, menores con respecto a los otros estadios, podrán ser interpretados en relación a la cronicidad del proceso y el disparo de otros múltiples factores además de IL-33<sup>46</sup>.

En este punto es importante destacar las observaciones reportadas por Ketelaar y cols.<sup>47</sup>, quienes indicaron que IL-33 sérica humana es difícil de detectar en suero por el método de ELISA. Según estos autores, esto se debería a la escasa sensibilidad y especificidad de los ensayos disponibles actualmente. Ante esta advertencia, se tomó en cuenta la observación efectuando un exhaustivo análisis de las diferentes marcas comerciales y su aval científico<sup>48-50</sup>. El equipo usado en nuestro estudio (*R&D Systems*) mostró alta reproducibilidad de los resultados y muy buena sensibilidad. Se logró un elevado nivel de detección al ampliar la curva de calibración y hacerla lo suficientemente extendida, lo cual aseguró la correcta lectura de los niveles de la misma IL-33 en suero. En nuestro trabajo no hubo relación entre los valores de eosinófilos en sangre e IL-33. Esta observación coincide con lo reportado por Porsbjerg y cols.<sup>51</sup>, en un estudio de pacientes asmáticos y controles sanos, en el que no encontraron asociación de eosinofilia e IL-33 en la vía aérea ni en sangre periférica de los pacientes. Por otra parte, Gasiuniene y cols.<sup>52</sup>, hallaron altos niveles de IL-33 en un grupo de asmáticos eosinofílicos comparados con el grupo de asma no eosinofílicos. De esta manera los estudios sobre eosinofilia e IL-33 en humanos no muestran un claro consenso. Por otra parte, Brannan y cols.<sup>53</sup> observaron que el nivel de IL-33 podría aumentar la eosinofilia de las vías respiratorias y la eosinofilo-poyesis de la médula ósea en ratones después de la exposición a un alérgeno como *Alternaria alternata*. En este fenómeno estaría involucrada la activación de los ILC2, que aumentan la producción de IL-5 e IL-33. Esta última citocina tiene también un potente efecto sobre la función de los eosinófilos e IL-5, al aumentar la producción de eosinófilo-superoxidasa, y desgranulación con prolongación de la supervivencia de los mismos. En nuestro estudio, coincidentemente con otros autores, los niveles de IgE sérica están generalmente relacionados con el estado alérgico de los su-

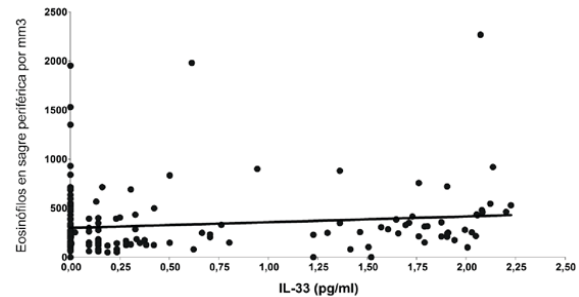


jetos y encontramos la correlación entre el nivel de IgE y los niveles séricos de IL-33 en pacientes asmáticos. Estos hallazgos, reafirman la asociación entre la IL-33 y la producción de IgE. El epitelio de las vías respiratorias representa la interfaz entre el medio ambiente y el sistema inmune (inmunológico), y se está acumulando evidencia creciente para respaldar su papel en la inmunopatología del asma. Esto refuerza la teoría epitelio/mesénquima, con lo cual se coincide<sup>54-59</sup>. En las últimas dos décadas se focalizó el estudio sobre IL-33 como importante factor de inicio de la respuesta inmunológica. Los estudios recientes de varios autores ponen en evidencia que existe un eje IL-33, sST2 e ILC2 como base central de la patogénesis de la inflamación alérgica del asma bronquial<sup>7</sup>. Sobre este punto en especial se aporta en el presente estudio la importancia de IL-33 y respuesta Th2 en la gran mayoría de nuestros asmáticos estudiados. Los hallazgos encontrados en este trabajo aportan sólidas evidencias sobre el rol de la IL-33 en asma, sentando las bases de la importancia de su modulación. En el transcurso de los últimos años, en plena fase de desarrollo del presente estudio, han surgido nuevas estrategias de inmunointervención en esta patología a través del desarrollo de anticuerpos monoclonales dirigidos contra la IL-33. Su objetivo es negativizar a esta citocina y disminuir el daño del epitelio que implica la inflamación del asma o enfermedades alérgicas. Ser capaz de identificar el fenotipo de los pacientes de cada grupo utilizando biomarcadores y síntomas clínicos nos acercaría al objetivo de la medicina de precisión y permitiría utilizar el tratamiento adecuado para cada tipo de paciente.

## CONCLUSIONES

Este es un trabajo sobre asma bronquial, una enfermedad crónica inflamatoria que presenta una patogenia intrínca con diversos factores previamente estudiados, pero no bien definidos. Nuestro objetivo fue correlacionar varios de estos parámetros y el factor epitelial, especialmente representado por IL-33.

Los hallazgos más importantes de la presente investigación son:



**Figura 6.** Valor de Eosinófilos en sangre e IL-33 sérica. Niveles de Eosinófilos en sangre expresados como célula/mm<sup>3</sup> y de IL-33 en pg/ml. Los puntos indican los valores individuales de las variables en estudio en cada paciente asmático. Rho de Spearman=0,02. p=0,8587(NS).

- La definición de asma es de tipo clínico, refrendado por hiperreactividad bronquial, con reversibilidad de diversos grados. Esto se ha encontrado en todos nuestros asmáticos.
- En nuestra población desde jóvenes a adultos mayores predomina el sexo femenino. Su edad promedio fue de 38 años.
- Los niveles séricos de IL-33 estuvieron aumentados en pacientes con asma cuando lo comparamos con controles sanos. Se observaron mayores niveles de IL-33 en pacientes con asma leve y moderada.
- Hacen falta más trabajos de investigación para mejorar el conocimiento, con el único fin de llevar a cabo una medicina personificada y de precisión.

## AGRADECIMIENTOS

Nuestro mayor agradecimiento a la Dirección del Hospital San Roque de Córdoba, a la Bioquímica Inmunóloga Valeria Pedano por la realización de las determinaciones. A Lourdes Aparicio por la realización del estudio estadístico. El estudio fue autofinanciado. No tengo conflictos de intereses.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Atlas mundial de asma. Academia Europea de Alergia e Inmunología clínica. Editorial Board. 2013.
2. Mallol J, Sole D, Acher I. Prevalence of asthma symptoms in Latin America: The International Study of asthma and allergies in childhood (ISSAC). *Pediatric Pulmonology* 2000;30:439-44.
3. Ellwood P, Asher MI, Billo NE, et al. Rationale and Method for Fase 1 Global Surveillance: Prevalence, Severity, Management and Risk Factors *Eur Respir J* 2017;49:1601-5.
4. Papi A, Brogthling C, Pedersen S, Reddel H. Asthma. *The Lancet* 2018;391:783-800.

5. Holgate ST. The sentinel role of the airway epithelium in asthma pathogenesis. *Immunol Rev* 2011;242:205-19.
6. Fitzpatrick AM, Baena-Cagnani C, Bacharier LB. Severe asthma in childhood: recent advances in phenotyping and pathogenesis. *Current Opin Allergy Clin Immunol* 2012;12:194-201.
7. Roan F, Obata-Ninomiya K, Ziegler SF. Epithelial cell-derived cytokines: more than just signaling the alarm. *J Clin Invest* 2019;29:1441-51.
8. Foo Yew Liew, Girard JP, Turnquist HR. Interleukin-33 in health and disease. *Nature Reviews Immunology* 2016;16:676-89.
9. Lloyd CM. IL-33 family members and asthma- bridging innate and adaptive immune responses. *Curr Opin Immunol* 2010;22:800-6.
10. Prefontaine D, Lajoie-kadach S, Foley S, Audusseau S, Olivenstein R, Olivenstein R. Increased expression of IL-33 in severe asthma: evidence of expression by airway smooth muscle cells. *J Immunol* 2009;183:5094-103.
11. Gabrylska A, Kuna P, Antezak A. IL- 33 Mediated inflammation in Chronic Respiratory Diseases- Understanding the role of de member of IL-1 Superfamily. *Frontiers in Immunology* 2019;10:1-9.
12. Annesi-Maesano I. Atlas mundial de asma.EACCI. Factores de riesgo ambientales para asma. Editorial:EACCI 2013;36-8.
13. di Giovine FS, Duff GW. Interleukin 1: the first interleukin. *Immunology today* 1990;1:13-20.
14. Schindler R, Dinarello CA "Interleukin 1". En: Habenicht A (ed.) *Growth factors, differentiation factors and cytokines*. Berlín. Heidelberg: Springer. 85-102.1990.
15. Oltz EM. Editor-in-Chief. Revised nomenclature for antigen- non specific T cell proliferation and helper factors. *The Journal of Immunology* 1979;123: 2928-9.
16. Cayrol C, Girard J. IL-33: an alarmin cytokine with crucial roles in innate immunity, inflammation and allergy. *Curr Opin Immunol* 2014;31:31-7.
17. Kearley J, Silver J, Sanden C, et al. Cigarette smoke silences innate lymphoid cell function and facilitates an exacerbated type I interleukin-33-dependent response to infection. *Immunity* 2015;4:566-79.
18. Lefrancais E, Roga S, Gautier V, et al. IL-33 is processed into mature bioactive forms by neutrophil elastase and cathepsin G. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109:1673-8.
19. Allakverdi Z, Smith DE, Corneau M. Cutting Edge: The ST2 Ligand IL-33 Potently Activates and Drives Maturation of Human Mast Cells. *J Immunol* 2007;179:2051-4.
20. Rank MA, Kobayashi T, Kuzaki H. IL- 33 activated dendritic cells induce and atypical TH2- type response. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123:1047-54.
21. Komai-Koma M, Xu D, Li Y, Mc Kenzie A. IL-33 is a chemoattractant for human Th2 cells. *J Exp Med* 2007;205:339-46.
22. Miller A, Xu D, Asquith D. Role of IL-33 in inflammation and disease. *J Exp Med* 2008;205:339-46.
23. Spooner J, Lesch D, Yan A, et al. Specification of type 2 innate lymphocytes by the transcriptional determinant Gfi1. *Nat Immunol* 2013;1:1229-36.
24. Yasuda T, Muto T, Kawagoe M, et al. Contribution of IL-33-activated type II innate lymphoid cells to pulmonary eosinophilia in intestinal nematode-infected mice. *Nat Acad Sci USA* 2012;109:3456.
25. Komai-Koma M, Xu D, Li Y, Mc Kenzie AN. Interleukin-33 promoting Th1 lymphocyte differentiation dependence. *J Exp Med* 2008;205:339-46.
26. Ruiz-Sánchez PB, Cruz Zárate D, Estrada-García I, Wong-Baeza I. Las células linfoides innatas y su papel en la regulación de la respuesta inmune. *Rev Alerg Méx* 2017;64:347-63.
27. Tarsukuni O, Morita H, Arae K, Matsumoto K. IL-33 in allergy. *Allergy* 2012;67:1203-14.
28. Kaur R, Chupp G. Phenotypes and Endotypes of adult asthma: Moving toward precision medicine. *J Allergy Clin Immunol* 2019;144:1-12.
29. Haenuki Y, Matsushita K, Futatsugi-Yumikura S, et al. A critical role of IL-33 in experimental allergic rhinitis. *J. Allergy Clin Immunol* 2012;130:184-94.
30. Watanabe M, Nakamoto K, Intui T, et al. Serum ST2 levels predict severe exacerbation of asthma. *Respiratory Research* 2018;19:169. doi: 10.1186/s12931-018-0872-2.
31. Tasa de obesidad realizada por la Secretaría de Gobierno de Salud y el INDEC, y presentada hoy por sus máximas autoridades, ante representantes de OPS, UNICEF, FAO, sociedades científicas, integrantes de la Defensoría del Pueblo de la Nación y Universidades. 2019.
32. Burrows B, Martinez FD, Halonen M, Barbee RA, Cline MG: Association of asthma with serum IGE levels and skin test reactivity to allergens. *N Engl J Med* 1989;320:271-7.
33. Muiño J, Wolff E, Castro C, et al. Estudio de niveles de CD 23 soluble, IgE y eosinofilia en la respuesta inflamatoria del Asma Bronquial. *Arch Arg Alergia e Inmunología* 1994;25:25-33.
34. Smith P, Ownby D. Clinical significance of Immunoglobulin E in Middleton's Allergy Principles and Practice 8th edition. Adkinson NF, Bochner BS, Burks AW, Busse WW, Holgate St T, Lemaske RF, O'Heir RE. Editors, Elsevier, Saunders. Philadelphia. 1108-18. 2014.
35. Wu T, Brigham E, Keet C, Brown T, Hensel N, Mc Cormack M. Association between Prediabetes/diabetes and asthma exacerbations in a Claims-Based Obese Asthma Cohort. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019;7:1868-73.
36. Muiño J, Juárez C, Luna J, et al. The Importance of specific IgG ad IgE autoantibodies to retinal S antigen. *Total Serum IgE and s CD 23 levels in autoimmune and Infectious Uveitis*. *Journal Clinical Immunol* 1999;19:215-22.
37. Slavin RG. Pruebas diagnósticas en alergias. En: Atlas de Alergia 2ª Edición. Fireman Ph, Slavin RG Editores. Harcourt Brace editorial. Madrid, 43 -56. 1997.
38. Klyon A, Weller PF. Eosinophilia and Eosinophil-related disorders. In: Middleton's Allergy Principles and Practice Elsevier Saunders 8th, edition,2014., Adkinson NF, Bochner BS, Burks AW, Busse WW, Holgate St T, Lemaske RF, O'Heir RE. 1205-23.
39. Mathur SK, Busse W. Asthma diagnosis and management. *Med Clin NA* 2006;90:39-60.
40. Yao W, Zhang Y, Jabeen R, et al. Interleukin-9 is required for Allergic Airway Inflammation Mediated by the Cytokine Thymic Stromal Lymphopoietin. *Immunity* 2013;38:360-72.
41. Kerzhero J, Maazi H, Speak A, et al. Programmed cell death ligand 2 regulates TH9 differentiation and induction of chronic airway hyperreactivity. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:1048-57.
42. Tooba Momen A, Reisi M, Shamsdin S. Comparison of Interleukin-33 Serum Levels in Asthmatic Patients with a Control Group and Relation with the Severity of the Disease. *Int J Prev Med* 2017;31: 8-65.
43. Cayrol C, Girard J. The IL-1-like cytokine IL-33 is inactivated after maturation by caspase-1. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106:9021-6.
44. Luthi A, Cullen S, Mc Neel E, Dueriz P, Afonina I. Suppression of interleukin-33 bioactivity through proteolysis by apoptotic caspases. *Immunity* 2009;31:84-98.
45. Talabot-Ayer D, Lamacchia, C, Gabay C, Palmer G. Interleukin-33 is biologically active independently of caspase-1 cleavage. *J Biol Chem* 2009;284:19420-6.
46. Klyon A, Weller P. Eosinophilia and Eosinophil-related disorders. In: Middleton's Allergy Principles and Practice Elsevier Saunders 8th edition; 2014, Adkinson NF, Bochner BS, Burks AW, Busse WW, Holgate St T, Lemaske RF, O'Heir RE. 1205-23.
47. Riu Li, Gang Y, Xiaoxing P, Ping L. Interleukin -33 and receptor ST2 as indicators in patients with asthma: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med* 2015;8:14935-43.
48. Dreborg S, Frew A, Position paper: allergen standardization and skin test. *Allergy* 1993;48:9-82.
49. Salter B, Oliveira J, Nusca G, Smith S, Tworek D. IL-25 and IL-33 induce Type 2 inflammation in basophils from subjects with allergic asthma. *Respir Res* 2016;17:5.
50. Ketelaer M, Nawijn D, Shaw D, Koppelman G, Sayers I. The challenge of measuring IL-33 in serum using commercial ELISA: lesson from asthma. *Clinical Experimental Allergy* 2016;46:884-7.
51. Porsbjerg C, Baines K, Gibson P, Bergqvist A, Erjefall JS. IL-33 is related to immune activation and sensitization to HDM in mild steroid-free asthma *Clin Exp Allergy* 2016;46:546-74.

52. Gasiuniene E, Janulaityte L, Zemeckiene Z, Barkauskiene D, Sitkauskiene B. Elevated levels of interleukin-33 are associated with allergic and eosinophilic asthma. *Scand J Immunol* 2019;89:E12724.
53. Backer V, Sverrild A, Porsberg C. Treatment of Exercise Induced Bronchoconstriction. *Immunol Allergy Clin NA* 2013;33:347-62.
54. Peters M, John V, Fahy. Type 2 Immune Responses in Obese Individuals with Asthma. *A J Respiratory Critical Care Medicine* 2013;188(6):1535-4970.
55. Diver S, Russel R, Chr E. Cough and Eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019;7:1740 -7.
56. Hervé A, Meghan S, Fishwick K, Bronner-Fraser M, Nieto A. Review series Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease. *J Clin Invest* 2009;119:1438-49.
57. Killian K. Pulmonary functions tests. In: *Manual of Asthma Management*, second edition. O'Byrne PM, Thomson NC editors WB Saunders. London. 81-89. 2001.
58. Xu X F, Dai H, Wang Ch. Epithelium – dependent profibrotic milieu in pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. Current status and future directions. *Clin Respir J* 2016;10:133-41.
59. Drazen JM. ASTHMA. *Goldman's Cecil Medicine*, 24th Edition 2012. Goldman L, Schaffer AI, Arend, Armitage, Clemons, Drazen, Griggs Landry, Levinson, Rustgi, Scheld editors, Elsevier, Saunders. Philadelphia. (1) pp 531-37.