

Categoría: Seminario Científico Metodológico de la Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río

ORIGINAL

Determination of non-IgE antibodies and expression of cytokine and FoxP3 genes in asthma

Determinación de anticuerpos no IgE y expresión de genes de citoquinas y FoxP3 en asma

Odalys Orraca-Castillo¹  , Tatiana Margarita Blanco Valdés², Ana Beatriz Pérez Díaz³ , Beatriz Sierra Vázquez³ , Carlos Alfredo Miló-Valdés² 

¹Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río. Facultad de Ciencias Médicas “Dr. Ernesto Guevara de la Serna”. Pinar del Río, Cuba.

²Hospital Pediátrico Provincial Docente “Pepe Portilla”. Departamento de Inmunología. Pinar del Río, Cuba.

³Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK). Departamento de Virología. La Habana, Cuba.

Citar como: Orraca-Castillo O, Blanco Valdés TM, Pérez Díaz AB, Sierra Vázquez B, Miló-Valdés CA. Determinación de anticuerpos no IgE y expresión de genes de citoquinas y FoxP3 en asma. Salud, Ciencia y Tecnología - Serie de Conferencias 2023; 2:500. <https://doi.org/10.56294/sctconf2023500>

Recibido: 09-06-2023

Revisado: 15-08-2023

Aceptado: 11-10-2023

Publicado: 12-10-2023

ABSTRACT

Introduction: the inflammatory cascade in asthma involves cells of the innate and adaptive response of the immune system, in addition to molecular mediators such as antibodies, cytokines, chemokines, and costimulatory and regulatory signals corresponding to each of the cellular subpopulations that orchestrate this process.

Objective: to determine the concentration of IgA, IgM and IgG antibodies and the expression of cytokine genes TNF α , IFN γ , TGF-B 1, IL-10, IL-1 α , IL-1 β and IL-6 and transcription factor FoxP3 in blood mononuclear cells stimulated in vitro, case-control studies were carried out in asthmatic children and adults respectively.

Methods: the study was conducted in Pinar del Río, Cuba, from 2015 to 2019. Samples were taken from 735 asthmatic children for antibody quantification. For the expression of cytokine genes, samples were taken from 18 adults from the Immunology clinic.

Results: significant differences were found in increasing order of IgM, IgA and IgG antibodies in favor of asthmatic children; and lower values of cytokine and FoxP3 expression in adult asthmatics. A predominance of a Th1 pattern was observed in controls compared to asthmatics, where the latter's predisposition to a Th2 response pattern is known. Therefore, the lower expression of non-Th2 cytokine genes suggests complex cellular and molecular interactions in asthmatic adults.

Conclusions: a lower expression of cytokines other than Th2 was evident in the blood mononuclear cells of adult asthmatics.

Keywords: Asthma; Antibodies; Cytokines.

RESUMEN

Introducción: la cascada inflamatoria en el asma involucra células de la respuesta innata y adaptativa del sistema inmunológico, además de mediadores moleculares como anticuerpos, citocinas, quimiocinas y señales coestimuladoras y reguladoras correspondientes a cada una de las subpoblaciones celulares que orquestan este proceso.

Objetivo: determinar la concentración de anticuerpos IgA, IgM e IgG y la expresión de genes de citocinas TNF α , IFN γ , TGF-B 1, IL-10, IL-1 α , IL-1 β e IL-6 y factor de transcripción FoxP3 en células mononucleares sanguíneas estimuladas *in vitro*, se llevaron a cabo estudios de casos y controles en niños y adultos asmáticos respectivamente.

Métodos: el estudio se realizó en Pinar del Río, Cuba, de 2015 a 2019. Se tomaron muestras de 735 niños asmáticos para la cuantificación de anticuerpos. Para la expresión de genes de citocinas se tomaron muestras de 18 adultos de la consulta de Inmunología.

Resultados: se encontraron diferencias significativas en orden creciente de anticuerpos IgM, IgA e IgG a favor de los niños asmáticos; y valores más bajos de expresión de citocinas y FoxP3 en asmáticos adultos. Se observó un predominio de un patrón Th1 en los controles respecto a los asmáticos, donde se conoce la predisposición de estos últimos a un patrón de respuesta Th2. Por lo tanto, la menor expresión de genes de citocinas distintas de Th2 sugiere interacciones celulares y moleculares complejas en adultos asmáticos.

Conclusiones: se evidenció una menor expresión de citoquinas distintas de Th2 en las células mononucleares sanguíneas de asmáticos adultos

Palabras clave: Asma; Anticuerpos; Citocinas.

INTRODUCCIÓN

La inflamación de las vías respiratorias es la característica inmunológica más importante en la patogénesis del asma.^(1,2,3,4,5) Las células implicadas en la cascada inflamatoria del asma atópica son: las células epiteliales de las vías respiratorias, las diferentes subpoblaciones de células T y B, mastocitos, células dendríticas, eosinófilos, basófilos, macrófagos, células linfoides innatas y plaquetas, además a la red de citocinas, quimiocinas y señales y regulaciones coestimuladoras correspondientes a cada una de las subpoblaciones celulares que orquestan este proceso.^(1,3,6)

Durante muchos años, esta entidad ha sido considerada el prototipo de la enfermedad mediada por células T colaboradoras 2 (Th2). De hecho, ocurre frecuentemente en pacientes con atopia; Existe una tendencia genética a producir inmunoglobulina E (IgE) ante alérgenos comunes, debido al cambio en la clase de linfocitos B, bajo la influencia de la interleucina 4 (IL-4).⁽¹⁾ Por esta razón, la idea de que la inmunidad mediada por células Th2 contra los alérgenos dirige la patogénesis del asma en ratones y humanos ha dominado el razonamiento científico durante más de 30 años. Sin embargo, con el uso de tecnologías ómicas se ha demostrado la presencia de células no Th2 en el asma. Desde entonces, se sigue expandiendo la noción de que el asma es un síndrome mucho más complejo con diversos mecanismos fisiopatológicos o endotipos, que dan lugar a diversas formas de presentaciones clínicas (fenotipos) que requieren terapias específicas^(1,7) de respuesta innata, como los basófilos, los mastocitos y las células linfoides innatas tipo 2, producen citocinas asociadas a las células Th2 en el asma. Por lo tanto, la terminología cambió de asma con “células Th2” a asma “tipo 2 alta”.⁽⁷⁾

La diferenciación y especialización funcional de las células inmunitarias, especialmente de los linfocitos T CD4+, depende del patrón de citocinas. Un inductor antigénico inicia la estimulación celular,

y en este proceso influyen otras condiciones como la edad, la presencia de inflamación leve, infección, entre otras.^(8,9,10)

La distinción entre los fenotipos asmáticos eosinofílicos y no eosinofílicos dio como resultado un esquema de clasificación que dicotomiza la inflamación de las vías respiratorias en dos endotipos: 2 alto y 2 bajo.^(3,11)

Además, los anticuerpos IgA, IgG e IgM son moléculas de glicoproteínas que confieren protección contra patógenos y contribuyen a la patogénesis de otras enfermedades. La IgM está presente en la membrana de los linfocitos B, como su receptor de antígeno; y caracteriza la respuesta inmune primaria. La IgG predomina en la respuesta secundaria. La IgA, aunque presente en el suero, es característica de las secreciones, formando parte de los mecanismos de defensa asociados a las mucosas.⁽¹⁰⁾ La producción y las funciones efectoras de los anticuerpos se han estudiado en numerosos defectos genéticos relacionados con las inmunodeficiencias. Sin embargo, no se ha explorado en profundidad la base genética de su variabilidad en la población general y en enfermedades como el asma.⁽¹²⁾

La presente investigación tiene como objetivo determinar la concentración sérica de anticuerpos IgA, IgM e IgG y la expresión de genes de las citocinas TNF α , IFN γ , TGF β 1, IL-10, IL-1 α , IL-1 β e IL-6 y del factor de transcripción FoxP3 en células mononucleares sanguíneas estimuladas *in vitro* de personas con asma.

MÉTODOS

Se realizaron estudios de epidemiología tradicional con diseño de casos y controles, como parte de un proyecto de investigación básica, en la provincia de Pinar del Río de Cuba, entre 2015 y 2019. Se tomaron muestras de niños con asma de las 11 cabeceras municipales de la provincia para la cuantificación de anticuerpos. Para determinar la expresión de genes de citocinas, se tomaron muestras de adultos de la consulta de Inmunología.

Para la cuantificación de anticuerpos: Se obtuvo 1 ml de suero fresco o congelado a partir de la extracción de 2 ml de sangre mediante punción venosa periférica de 735 niños asmáticos de 5 a 18 años (casos) y 1470 niños sin asma (controles), emparejados por edad y sexo de la misma población de la que se derivaron los casos. Cada extracto se colocó en un tubo seco para su centrifugación y obtención de suero. El suero se mantuvo estable durante 48 horas a una temperatura entre 2-8 °C. Si la prueba no se realizaba dentro de las 48 horas, el suero se congelaba hasta por 15 días, a -20 °C. Se evitaban las sucesivas congelaciones y descongelaciones hasta se realizó la cuantificación.

Las inmunoglobulinas séricas G, M y A se cuantificaron en la muestra problema mediante turbidimetría en el laboratorio provincial de Inmunología utilizando el procedimiento descrito y materiales del kit comercial Auto-chemistry Analyzer desarrollado por CMP Científica. tecnología Biomédica. Los resultados se expresan en g/L.

Recogida de muestras para determinar la expresión de los genes de las citoquinas TNF α , IFN γ , TGF β 1, IL-10, IL-1 α , IL-1 β e IL-6 y del factor de transcripción FoxP3 en células mononucleares sanguíneas estimuladas *in vitro*: Se extrajeron 5 ml de sangre mediante punción venosa periférica de seis individuos adultos asmáticos y 12 controles adultos aparentemente sanos (proporción 1:2), en tubos con anticoagulante ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).

Las células mononucleares se separaron de la sangre mediante gradiente de densidad aplicando centrifugación en Ficoll-Paque, se lavaron y se ajustaron a 2×10^6 /ml en un medio Roswell Park Memorial Institute (RPMI), suplementado con antibióticos, glutamina y suero fetal bovino. Las células se incubaron durante 24 horas en medio solo (Mock) o con fitohemaglutinina (PHA). Después de la incubación, se eliminó el sobrenadante y el botón celular se almacenó a -80°C, así la muestra quedó lista para la extracción de ARN.

La extracción de ARN de células mononucleares estimuladas se llevó a cabo utilizando el procedimiento descrito y los materiales del Mini kit comercial QIAamp RNA Blood (Qiagen). Cadena de

polimerasa en tiempo real Reacción (RT-PCR) utilizando el sistema de detección Light Cyler Carousel Based (instrumento LightCycler 2.0, Roche), aplicando cebadores específicos y el kit LightCycler RNA Master SYBR Green I (Roche). Las muestras fueron analizadas para la cuantificación de la expresión relativa de los genes de: TNF α , IFN γ , TGF- β 1, IL-10, IL-1 α , IL-1 β , IL-6 y el factor de transcripción Foxp3, con respecto a la expresión del gen constitutivo Hipoxantina-guanina-fosforribosiltransferasa (HPRT, Hipoxantina -guanina- fosforribosiltransferasa), mediante el método 2- $\Delta\Delta$ CT. Las muestras fueron analizadas en La Habana en 2015.

Se aplicó la prueba U de Mann-Whitney para determinar diferencias entre las medianas de las concentraciones de anticuerpos IgA, IgG e IgM y la expresión de genes de citoquinas TNF α , IFN γ , TGF- β 1, IL-10, IL-1 α , IL-1 β , IL-6 y factor de transcripción FoxP3 de casos y controles, demostrando la distribución no normal de las variables. La significación estadística se validó para $p < 0,05$.

El estudio se realizó con estricto cumplimiento de los protocolos aprobados por el Comité de Ética del Hospital de Pediatría de Pinar del Río y de conformidad con las Directrices del Ministerio de Salud Pública de Cuba.

RESULTADOS

El uso de la proteómica y la transcriptómica y su aplicación a la medicina clínica se encuentran en sus primeras etapas. Sin embargo, en la literatura abundan varios ejemplos de detección de proteínas implicadas en mecanismos inflamatorios en el asma.⁽¹⁾ En el presente estudio, se cuantificaron los anticuerpos IgA, IgG e IgM séricos y se estimuló in vitro el perfil de expresión de genes de citoquinas en células mononucleares, como parte de las utilidades de diagnóstico.⁽¹³⁾

Las concentraciones medias de anticuerpos fueron mayores en los casos que en los controles. Hubo diferencias significativas en orden creciente de IgM, IgA e IgG a favor de los casos. Los valores para cada clase de anticuerpo se ven en la Figura 1.

Las citocinas desempeñan un papel crucial en el sistema inmunológico y en la respuesta inflamatoria en el asma.⁽¹⁴⁾ Por este motivo se incluyó la determinación de la expresión génica de las citocinas TNF α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6, importantes mediadores proinflamatorios que participan en el reclutamiento de células contra infecciones virales o bacterianas ; IFN γ , principal citocina del patrón Th1, y las citocinas antiinflamatorias IL-10, TGFB, responsables del control regulador de la respuesta proinflamatoria. Asimismo, se determinó el nivel de expresión del factor de transcripción FoxP3, característico de las células Treg, decisivo en la regulación de la respuesta proinflamatoria.⁽¹⁰⁾

Tabla 1. Expresión relativa de citoquinas y genes FoxP3 en células mononucleares de sangre periférica de pacientes asmáticos y controles, 2015			
Variables	Niveles de expresión (Mediana)		p
	Casos	Controles	
Citoquinas			
TNF α	0,80	7,66	0,000
IFN γ	0,58	3,76	0,000
IL-1 α	2,94	8,87	0,010
IL-1 β	47,12	128,25	0,032
IL-6	24,62	36,22	0,335
IL-10	0,45	3,57	0,001
TGFB	36,59	124,24	0,007
Factor de transcripción			
Foxp3	0,78	3,47	0,010

Nota: p: probabilidad ($\alpha < 0,05$), estadístico U de Mann-Whitney

Como se observó, las citocinas proinflamatorias TNF α , IL-1 α e IL-1 β se expresaron en niveles significativamente más altos en los controles que en los asmáticos. Asimismo, se encontró mayor

expresión del gen IFN γ en células mononucleares periféricas de controles en relación a los asmáticos (tabla 1).

Tanto los genes de las citoquinas antiinflamatorias IL-10 y TGF β como el FoxP3 se expresaron menos en los asmáticos que en los controles. Sólo el gen IL-6 (con menor expresión en los casos) no mostró diferencias significativas en los niveles de expresión entre casos y controles.

En el caso de IL-1 β y TGF- β , las diferencias en los niveles de expresión fueron muy altas; 47,12 en los casos y 128,25 en los controles para IL-1 β ; y 36,59 para los casos y 124,24 en los controles para TGF- β .

Era de esperar un predominio de un patrón Th1 en los controles con respecto a los asmáticos, ya que se conoce la predisposición de estos últimos a un patrón de respuesta Th2.

DISCUSIÓN

La realización de cuantificaciones de anticuerpos se considera una posibilidad para el diagnóstico de enfermedades alérgicas como el asma.^(15,16) El papel fisiopatológico de los anticuerpos IgA, IgG e IgM séricos en el asma está poco descrito.⁽¹²⁾ Aunque los estudios muestran que los niveles de IgE aumentan en el asma alérgica, también se puede obtener información sobre la gravedad de la enfermedad midiendo las concentraciones de IgG e IgA.^(15,17,18)

El hecho de que los asmáticos presenten concentraciones de IgG, IgA e IgM más elevadas que los controles podría explicarse por la participación de estos anticuerpos en el control de las infecciones, especialmente frecuentes en estos casos. Este enfoque se ve reforzado por un estudio en ratones, donde las concentraciones de IgG e IgA fueron mayores en ratones asmáticos con influenza.⁽¹⁹⁾

En otro estudio en el que se cuantificaron las inmunoglobulinas en pacientes asmáticos adultos de Ucrania, se registraron niveles más bajos de IgA e IgM en los casos en comparación con los controles, a diferencia de nuestro estudio. Sin embargo, la IgG estaba aumentada, como en el estudio presentado.⁽²⁰⁾ Otro estudio ucraniano refleja niveles más bajos de IgA en asmáticos obesos con mayor gravedad de la enfermedad.⁽²¹⁾

En consonancia con nuestros resultados, el estudio de Muñoz López de 100 niños y adolescentes mexicanos con asma muestra que los niños asmáticos con o sin antecedentes familiares de asma, presentaron concentraciones aumentadas de IgG, IgM e IgA con respecto a los valores de referencia.⁽²²⁾ Estos resultados están de acuerdo con nuestro presente estudio. Asimismo, se refleja en otro trabajo que hubo valores más altos de IgG e IgA en niños asmáticos en comparación con los lactantes con rinitis, mientras que la IgM mostró los mismos resultados entre ambos grupos.⁽¹⁵⁾

Estudios recientes en asmáticos muestran que el polen aumenta la producción de IgG.⁽²³⁾ Sin embargo, otros estudios no reflejan una relación entre las concentraciones de anticuerpos IgA, IgG e IgM con el asma.^(24,25) Por lo tanto, se observan resultados diferentes en los estudios analizados, si se tiene en cuenta que sus condiciones no son similares.

Durante muchos años se ha explorado en profundidad el papel de las citocinas Th2 en el asma. Sin embargo, indagar sobre las citocinas de otros patrones contribuye al conocimiento de otros endotipos y fenotipos.^(1,26,27,28)

En la fisiopatología del asma se describen las interacciones celulares y su interconexión con las citocinas de los endotipos 2 alto y 2 bajo. Las citocinas son clave en el desarrollo del asma, tanto para las células innatas como para las adaptativas. Sin embargo, las citocinas Th2 son las que mejor se han estudiado en el papel de estas moléculas. De hecho, las citocinas Th2 son las responsables del asma alérgica, que es el fenotipo más frecuente.^(10,29) Esto podría explicar la diferencia en la expresión de citocinas en este estudio entre casos y controles; mayor en los controles. Es evidente que el endotipo 2 bajo no predominó en los asmáticos de esta investigación, lo que sugiere un endotipo 2 alto en ellos.

Existen muchos estudios que exploran los niveles de citoquinas en estudios de casos y controles. En un artículo que relaciona la producción de citoquinas durante el embarazo con el asma en niños, se encontraron niveles más altos de IFN γ en los controles en comparación con los casos, aspecto que coincide

con esta investigación; Sin embargo, no hubo diferencias significativas para la IL-10, en contraste con nuestros hallazgos.⁽³⁰⁾ Resultados similares se reflejan en un estudio de casos y controles en adultos con respecto a la IL-10.⁽³¹⁾ En otra investigación de niños asmáticos con y sin rinovirus, se encontraron valores más altos de IFN γ en los controles (similar a nuestros hallazgos), que también mostraron niveles más bajos de TNF α , a diferencia de este estudio.⁽³²⁾

A su vez, este artículo coincide con lo reportado por Teixeira et al. en que los asmáticos presentan una producción de IFN γ significativamente reducida en comparación con los individuos sanos. Muchos hallazgos experimentales apoyan firmemente la idea de que la patogénesis de las enfermedades alérgicas está relacionada con el desequilibrio de los patrones de respuesta Th1 y Th2 mutuamente excluyentes. Se sugiere que el IFN γ podría intervenir en la normalización, o no, de los patrones de respuesta inmune. Además, se ha informado de una asociación inversa entre la respuesta inmune dominada por IFN γ contra patógenos intracelulares en la infancia y la incidencia de asma.⁽³³⁾

La comparación de los resultados de las investigaciones sobre la expresión de citoquinas se vuelve más compleja, ya que las condiciones de los pacientes estudiados varían en cuanto a edad, estado de gestación, presencia de comorbilidades infecciosas y otras relacionadas con inflamación sistémica de bajo grado (obesidad, hipertensión arterial, diabetes mellitus, etc). Estas condiciones influyen en los niveles de expresión de estos mediadores.^(27,34,35,36,37,38)

La poca diferencia entre las concentraciones de IL-6 en casos y controles podría deberse a que el estudio se realizó en adultos, donde tienden a establecerse procesos inflamatorios de bajo grado, con progresión a un endotipo alto de IL-6.^(6,39,40,41,42,43,44) Varias investigaciones exploran asociaciones de polimorfismos de IL-6 en pacientes asmáticos, encontrando resultados divergentes entre ellos, sin esclarecer los mecanismos bioquímicos causales en la etiología, desarrollo y endotipos de la enfermedad.⁽⁴⁵⁾ Por lo tanto, la menor expresión de genes de citocinas distintas de Th2 sugiere interacciones celulares y moleculares complejas en adultos asmáticos.

En esta investigación, el hallazgo novedoso es el estudio de marcadores de respuesta inmune, como abordaje inmunológico de la enfermedad. Concentraciones más altas de Ig G, M y A séricas podrían indicar la respuesta inmune humoral contra los microorganismos presentes en estos pacientes. Por tanto, se puede suponer que el asma podría constituir un factor de riesgo de procesos infecciosos.

CONCLUSIONES

Se evidenció una menor expresión de citoquinas distintas de Th2 en las células mononucleares sanguíneas de asmáticos adultos, lo que sugiere un endotipo 2 alto en estos pacientes. A su vez, la disminución en la expresión de genes de citoquinas reguladoras observada en la muestra de estudio podría explicar la limitación en el desarrollo de otros patrones como consecuencia del predominio Th2.

REFERENCIAS

1. Díaz Amor P. Origen e historia natural del asma. *Rev Chil Enferm Respir* 2019;35:169-72.
2. GEMA. Guía española para el manejo del asma. Madrid: Luzan5; 2019.
3. Kalchier-Dekel O, Yao X, Levine SJ. Meeting the Challenge of Identifying New Treatments for Type 2-Low Neutrophilic Asthma. *CHEST* 2020;157:26-33. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2019.08.2192>.
4. Castillo OO, Sánchez MAL, Castillo MO, Ferrer RL, Valdés CAM. Modelo de regresión logística binaria para el cálculo de riesgo de asma en Pinar del Río. *Rev Cienc Médicas Pinar Río* 2021;25:5301.

5. Castillo OO, Castillo MO, Ferrer RL, Hernández AL, Sixto DB, Corrales SG. Exploración epidemiológica de la contribución materna y paterna en el asma en Pinar del Río. *Rev Cienc Médicas Pinar Río* 2022;26:5450.

6. Sze E, Bhalla A, Nair P. Mechanisms and therapeutic strategies for non - T2 asthma. *Allergy* 2020;75:311-25. <https://doi.org/10.1111/all.13985>.

7. Gómez-Bastero A, Serra J. Inmunoterapia en asma. *Rev Asma* 2019;4:26-30.

8. Abbas A, Lichtman A, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*. 9th ed. Elsevier; 2018.

9. Choy DF, Arron JR. Beyond type 2 cytokines in asthma - new insights from old clinical trials. *Expert Opin Ther Targets* 2020;24:463-75. <https://doi.org/10.1080/14728222.2020.1744567>.

10. Punt J, Stranford S, Jones P, Owen J. *Kuby Immunology*. 8th ed. Mc Graw-Hill/Interamericana Editores, S.A. de C.V.; 2019.

11. Gómez-Tejeda JJ, Dieguez-Guach RA, Tamayo-Velázquez O, Iparraguirre-Tamayo AE, Perez-Abreu MR. Intervención educativa sobre la medicina natural y tradicional como terapéutica en el asma bronquial. *Univ Médica Pinareña* 2020;17:609.

12. Jonsson S, Sveinbjornsson G, De Lapuente Portilla AL, Swaminathan B, Plomp R, Dekkers G, et al. Identification of sequence variants influencing immunoglobulin levels. *Nat Genet* 2017;49:1182-91. <https://doi.org/10.1038/ng.3897>.

13. Frigolet M, Gutiérrez Aguilar R. Ciencias “ ómicas ”, ¿ cómo ayudan a las ciencias de la salud? *Rev Digit Univ* 2017;18:0-15.

14. Lin S, Shi L, Ye Y. Advanced Molecular Knowledge of Therapeutic Drugs and Natural Products Focusing on Inflammatory Cytokines in Asthma. *cells* 2019;8:1-24.

15. Guiddir T, Saint-Pierre P, Purenne-Denis E, Lambert N, Laoudi Y. Neutrophilic Steroid-Refractory Recurrent Wheeze and Eosinophilic Steroid-Refractory Asthma in Children. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2017.02.003>.

16. Osquel A, Madruga EA. Repercusión social de los métodos para el tratamiento preventivo en las enfermedades alérgicas. *Rev Cuatrimest “Conecta Lib* 2018;2:1-12.

17. Kim J, Ye Y, Ban G, Shin Y, Lee HY, Nam Y, et al. Effects of Immunoglobulin Replacement on Asthma Exacerbation in Adult Asthmatics with IgG Subclass Deficiency. *Allergy Asthma Immunol Res* 2017;9:526-33.

18. Sugimoto M, Kamemura N, Nagao M, Irahara M, Kagami S, Fujisawa T, et al. Differential response in allergen-specific IgE , IgGs , and IgA levels for predicting outcome of oral immunotherapy. *Pediatr Allergy Immunol* 2016;27:276-82. <https://doi.org/10.1111/pai.12535>.

19. Doorley LA, Lemessurier KS, Iverson AR, Palipane M. Immunobiology Humoral immune responses during asthma and in fl uenza co-morbidity in mice. *Immunobiology* 2017;0-1. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2017.08.002>.

20. Mizhiritskaya T V, Galyna Y, Nation- K. State of humoral immunity in patients with asthma combined with obesity. *INTER COLLEGAS* 2017;4:123-7.

21. Lahoda D, Velychko V. Dynamics of changes in the level of IgA in patients with bronchial asthma against the background of excessive body weight or obesity. *Eur J Clin Exp Med* 2019;17:203-8. <https://doi.org/10.15584/ejcem.2019.3.1>.

22. Muñoz-López F. Asthma: endotypes and phenotypes at a pediatric age Asma: endotipos y fenotipos en la edad pediátrica. *Rev Alerg México* 2019;66:361-5. <https://doi.org/10.29262/ram.v66i3.596>.

23. Falcón-Rodríguez CI, Rosas-Pérez I, Segura-Medina P. Relación de los mecanismos inmunológicos del asma y la contaminación ambiental. *Rev Fac Med* 2017;65:333-42. <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v65n2.59954>.

24. Martínez Ramos S. Estudio de las inmunoglobulinas séricas en pacientes pediátricos con bronquitis crónica y recurrente y/o asma. Universidad de Cádiz, 2020.

25. Pita Rodriguez G, Molina Esquivel E, Christian López L, Monterrey Gutiérrez P. Asociaciones entre concentraciones de inmunoglobulinas en niños, factores ambientales de riesgo y morbilidad respiratoria. *Rev Cuba Hig Epidemiol* 2001;39:101-9.

26. Lambrecht BN, Hammad H. The immunology of asthma. *Nat Immunol* 2015;16:45-56. <https://doi.org/10.1038/ni.3049>.

27. Lambrecht BN, Hammad H, Fahy J V. The Cytokines of Asthma. *Immunity* 2019;50:975-91. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.018>.

28. Narendra D, Blixt J, Hanania NA. Seminars in Immunology Immunological biomarkers in severe asthma. *Semin Immunol* 2019;46:10. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2019.101332>.

29. Halwani R, Sultana A, Vazquez-Tello A, Jamhawi A, Al-Masri AA, Al-Muhsen S. Th-17 regulatory cytokines IL-21, IL-23, and IL-6 enhance neutrophil production of IL-17 cytokines during asthma. *J Asthma* 2017;54:893-904. <https://doi.org/10.1080/02770903.2017.1283696>.

30. Rothers J, Stern DA, Lohman IC, Spangenberg A, Wright AL, Devries A, et al. Maternal Cytokine Profiles during Pregnancy Predict Asthma in Children of Mothers without Asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2018;59:592-600. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2017-0410OC>.

31. Al-Ghamdi BR, Koshak EA, Omer FM, Awadalla NJ. Immunological Factors Associated with Adult Asthma in the Aseer Region , Southwestern Saudi Arabia. *Int J Environ Res Public Health* 2019;16:1-12.

32. Nguyen-Thi-Dieu T, Le-Thi-Thu H, Le-Thi-Minh H, Pham-Nhat A, Duong-Quy S. Study of Clinical Characteristics and Cytokine Profiles of Asthmatic Children with Rhinovirus Infection during Acute Asthma

Exacerbation at National Hospital of Pediatrics. *Can Respir J* 2018;2018:8. <https://doi.org/10.1155/2018/9375967>.

33. Teixeira LK, Fonseca BPF, Barboza BA, Viola JPB. The role of interferon- γ on immune and allergic responses. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005;100:137-44.

34. Bai Ya, Zhou Q, Fang Q, Song L, Chen K. Inflammatory Cytokines and T-Lymphocyte Subsets in Serum and Sputum in Patients with Bronchial Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Med Sci Monit* 2019;2206-10. <https://doi.org/10.12659/MSM.913703>.

35. Kuruvilla ME, Lee FE-H, Lee GB. Understanding Asthma Phenotypes, Endotypes, and Mechanisms of Disease. *Clin Rev Allergy Immunol* 2019;56:219-33. <https://doi.org/10.1007/s12016-018-8712-1>.Understanding.

36. Lachowicz-Scroggins ME, Dunican E, Charbit A, Raymond W, Looney M, Peters M. Extracellular Dna, Neutrophil Extracellular Traps, and Inflammasome Activation in Severe Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2019:1-37.

37. Ray A, Kolls JK. Neutrophilic Inflammation in Asthma and Association with Disease Severity. *Trends Immunol* 2017;38:942-54. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.07.003>.

38. Thibeault A-AH, Laprise C. Cell-Specific DNA Methylation Signatures in Asthma. *Genes* 2019;10:2-26.

39. Chu DK, Al-Garawi A, Llop-Guevara A, Pillai RA, Radford K, Shen P, et al. Therapeutic potential of anti-IL-6 therapies for granulocytic airway inflammation in asthma. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2015;11:1-6. <https://doi.org/10.1186/s13223-015-0081-1>.

40. González Galván MA. Factores genéticos compartidos entre la obesidad y el asma. Univesidad de La Laguna, 2019.

41. Hasegawa K, Tsugawa Y, Chang Y, Camargo CA. Risk of an asthma exacerbation after bariatric surgery in adults. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136:288-294.e8. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.12.1931>.

42. Hsiao HP, Lin MC, Wu CC, Wang CC, Wang TN. Sex-Specific Asthma Phenotypes, Inflammatory Patterns, and Asthma Control in a Cluster Analysis. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019;7:556-567.e15. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2018.08.008>.

43. Van Huisstede A, Rudolphus A, Cabezas MC, Biter LU, Van De Geijn GJ, Taube C, et al. Effect of bariatric surgery on asthma control, lung function and bronchial and systemic inflammation in morbidly obese subjects with asthma. *Thorax* 2015;70:659-67. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2014-206712>.

44. Soya VL, Lezana VN, Silva AP. Obesidad infantil y asma bronquial. *Neumol Pediatr* 2019;14:200-4.

45. Babusikova E, Jurecekova J, Jesenak M, Evinova A. Asociación entre polimorfismos genéticos de la interleucina 6 y el asma bronquial en niños. *Arch Bronconeumol* 2017;53:381-6. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2016.09.012>.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

FUENTES DE FINANCIACIÓN

Los autores no recibieron financiación para el desarrollo de la presente investigación.

CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA

Conceptualización: Odalys Orraca-Castillo, Tatiana Margarita Blanco Valdés, Ana Beatriz Pérez Díaz, Beatriz Sierra Vázquez, Carlos Alfredo Miló-Valdés.

Curación de datos: Odalys Orraca-Castillo, Tatiana Margarita Blanco Valdés, Ana Beatriz Pérez Díaz, Beatriz Sierra Vázquez, Carlos Alfredo Miló-Valdés.

Análisis formal: Odalys Orraca-Castillo, Tatiana Margarita Blanco Valdés, Ana Beatriz Pérez Díaz, Beatriz Sierra Vázquez, Carlos Alfredo Miló-Valdés.

Investigación: Odalys Orraca-Castillo, Tatiana Margarita Blanco Valdés, Ana Beatriz Pérez Díaz, Beatriz Sierra Vázquez, Carlos Alfredo Miló-Valdés.

Metodología: Odalys Orraca-Castillo, Tatiana Margarita Blanco Valdés, Ana Beatriz Pérez Díaz, Beatriz Sierra Vázquez, Carlos Alfredo Miló-Valdés.

Administración del proyecto: Odalys Orraca-Castillo, Tatiana Margarita Blanco Valdés, Ana Beatriz Pérez Díaz, Beatriz Sierra Vázquez, Carlos Alfredo Miló-Valdés.

Supervisión: Odalys Orraca-Castillo, Tatiana Margarita Blanco Valdés, Ana Beatriz Pérez Díaz, Beatriz Sierra Vázquez, Carlos Alfredo Miló-Valdés.

Validación: Odalys Orraca-Castillo, Tatiana Margarita Blanco Valdés, Ana Beatriz Pérez Díaz, Beatriz Sierra Vázquez, Carlos Alfredo Miló-Valdés.

Visualización: Odalys Orraca-Castillo, Tatiana Margarita Blanco Valdés, Ana Beatriz Pérez Díaz, Beatriz Sierra Vázquez, Carlos Alfredo Miló-Valdés.

Redacción - borrador original: Odalys Orraca-Castillo, Tatiana Margarita Blanco Valdés, Ana Beatriz Pérez Díaz, Beatriz Sierra Vázquez, Carlos Alfredo Miló-Valdés.

Redacción - revisión y edición: Odalys Orraca-Castillo, Tatiana Margarita Blanco Valdés, Ana Beatriz Pérez Díaz, Beatriz Sierra Vázquez, Carlos Alfredo Miló-Valdés.