ANALISIS DE PROSTAGLANDINA E_2 Y PROSTACICLINA EN LOS LIQUIDOS DEL LAVADO BRONCOALVEOLAR DEL ASMA BRONQUIAL

Gabriel J. Caballero Rodríguez.

INTRODUCCION

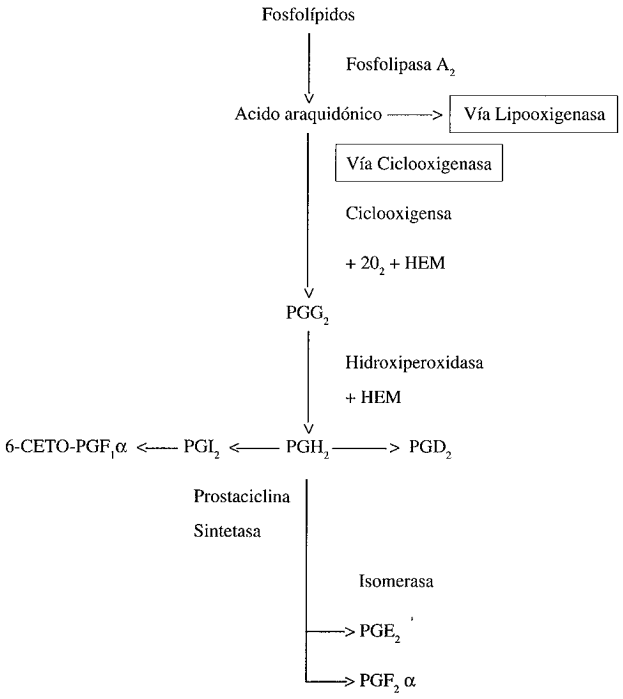
Actualmente se considera que el asma bronquial representa un tipo especial de inflamación que conduce a la contracción del músculo liso de las vías respiratorias, filtrado microvascular e hiperreactividad bronquial. La inflamación está presente incluso en pacientes con asma muy leve[1]. Biopsias del tejido bronquial de enfermos asmáticos demuestran que éste presenta alteraciones en el epitelio y está infiltrado por células inflamatorias[2-3], y los estudios realizados con LBA, cuyos fluidos recuperados son expresión de los cambios existentes en el parénquima pulmonar[4], confirman cada vez más la implicación del pulmón en el asma bronquial[5].

El mecanismo patogénico que explica las manifestaciones clínicas del asma, tanto inmediato como tardío, se basa en la liberación de mediadores[6]. Diversos datos sugieren que parte de los metabolitos del ácido araquidónico son mediadores secundarios de la anafilaxia pulmonar[7-8], y manifiestan un gran espectro de actividades biológicas. Sin embargo, es muy difícil determinar el papel de mediador aislado en una respuesta biológica, debido a la naturaleza interactiva de estos elementos. En la actualidad el mecanismo de las acciones a nivel pulmonar de estos metabolitos dista de estar resuelto, y el papel de estos productos, en la patogenia y en el tratamiento del asma bronquial sigue siendo muy teórico. Las prostaglandinas (PGs), cuyo nombre fue utilizado por primera vez por el fisiólogo sueco U.S. von Euler[9], son derivados cíclicos de ácidos grasos poliinsaturados de 20 átomos de Carbono. El eicosatetraenoico o ácido araquidónico es el más importante de la especie humana, y su metabolismo por vía ciclooxigenasa da lugar, entre otros, a prostaciclina (PGI_2) y prostagladina E_2 (PGE_2)[10-11]

Las PGs son consideradas como efectores locales o moduladores de la función celular, no son almacenadas, ejercen su acción y se degradan rápidamente, bien sea enzimática o espontáneamente. La prostaglandina E_2 es producida por el tejido bronquial[12] y de entre sus acciones destacan: relaja el músculo liso bronquial en el hombre[13] produciendo broncodilatación[14] inhibe la secreción de mucus en los cultivos pulmonares humanos[15], inhibe la función de linfocitos T[16], y aumenta ligeramente la permeabilidad microvascular y la exudación de plasma[17].

FIGURA 1

Biosíntesis de Eicosanoides



La prostaciclina (PGI_2) es producida en el endotelio y parénquima pulmonar[18]. Es ligeramente broncodilatora, bloquea a la histamina y a la PGF, en el músculo liso bronquial humano[19], es un poderoso vasodilatador pulmonar [20], aumenta la permeabilidad microvascular[21] y favorece la migración no dirigida de neutrófilos y eosinófilos humanos[22] . La actividad in vivo de la PGI_2 persiste durante 3 a 8 min., hasta que se hidroliza para dar el metabolito 6-CETO-PGF1α que, por su estabilidad, permite servir como indicador de la formación de su progenitor inestable[23] (Fig. 1). Tanto la PGE_2 COMO la 6-CETO-PGF1α son detectadas en los líquidos del LBA[24].

BASES DE CONOCIMIENTOS

I. Las PGs son mediadores secundarios en el Asma Bronquial (Goetzl, 1980).

II. En el asma bronquial leve existen alteraciones inflamatorias en vías aéreas distales y parénquima pulmonar (Laitinen, 1985).

III. Las PGE_2 y 6-CETO-PGF1α son detectadas en los líquidos del LBA. (Liu, 1988).

En base a lo anteriormente expuesto, nos planteamos la siguiente hipótesis: dado que las prostaglandinas intervienen en el desarrollo del asma bronquial, y que éstas son detectadas en los líquidos del lavado broncoalveolar, de alguna manera debe existir relación entre su concentración en estos líquidos y los camibos celulares o bioquímicos del mismo, así como con el tipo de asma bronquial. Para ello nos marcamos los siguientes objetivos:

1º) Detectar y cuantificar PGE_2 6-CETO-PGF1α e histamina en las muestras procedentes de lavados broncoalveolares.

2º) Estudiar el componente celular de los mismos.

3º) Relacionar concentración de PGE_2 y 6-CETO-PGF1α con:

- predominio celular,
- histamina,
- IgE total,
- tipo de asma bronquial.

MATERIAL Y METODOS

Pacientes seleccionados. Hemos estudiado 68 pacientes, voluntarios, distribuidos en los siguientes grupos:

a) *Asma extrínseco*: Lo componen 29 enfermos, de los cuales 8 son jóvenes y 11 fumadores, con una media de edad de 28 años (límites: 17-54).

El diagnóstico fue realizado por una historia clínica sugerente de atopia, pruebas cutáneas con prick positivas a los neumoalergenos comunes, hiperreactividad bronquial, con PD20 a 300 Ul acumuladas de metacolina o test previo de broncodilatación supeior al 15 % FEV_1 [25], y por determinación de niveles de IgE en el suero[26].

b) *Asma intrínseco:* Formado por 11 mujeres, una de ellas fumadora, con una media de edad de 50 años (límites: 3162).

El diagnóstico fue realizado por ausencia de antecedentes familiares de atopia, test cutáneos negativos, presencia de hiperreactividad bronquial, e IgE en suero baja o normal`.

c) *Grupo mixto:* Lo componen 13 pacientes, de los cuales 1 es mujer y 6 fumadores actuales, con una edad media de 61 años (límites: 40-73). 9 están diagnosticados de bronquitis crónica obstructiva y 4 de enfisema pulmonar.

d) *Grupo control*: Formado por 15 pacientes, de los cuales 2 son mujeres y 8 fumadores, con edad media de 40 años (límites: 18-75). 6 no tenían patología pleuropulmonar y los 9 restantes fueron diagnosticados de lesiones pulmonares y/o pleurales residuales.

A todos los pacientes se les realizó historia clínica detallada y las siguientes exploraciones complementarias: sistemático de sangre, radiografías PA y L de tórax, estudio de coagulación, EKG, gasometría arterial y espirometría forzada. Además, a los enfermos asmáticos les fueron realizadas las técnicas diagnosticadas indicadas anteriormente. En todos ellos la situación clínica era estable, no habían sufrido infecciones respiratorias en las últimas 8 semanas, y el grupo extrínseco no presentaba antecedentes recientes de exposición a sus alérgenos específicos. Fueron seleccionados aquellos que para su control clínico sólo precisaban tratamiento con Beta-adrenérgicos inhalados y/o teofilinas orales. 48 h. antes del LBA se suprimió el consumo de tabaco y de alimentos o bebidas con xantinas, y las teofilinas orales y los Beta-adrenérgicos inhalados fueron suspendidos 24 h. y 8 h. antes, respectivamente.

Lavado broncoalveolar. Los lavados broncoalveolares se practicaron en el curso de una fibrobroncoscopia con premedicación, anestesia y técnicas habituales[28-29]. La falta de colaboración del paciente, un FEV_1 inferior al 80% del valor teórico de referencia en los grupos asmáticos o inferior al 60% en el grupo mixto, o la presencia de: insuficiencia respiratoria o cardiaca, angor inestable o IAM en los últimos 6 meses, o alteraciones de la coagulación, fueron causas de exclusión del estudio[30].

Aproximadamente 30 min. antes de la FB los pacientes fueron premedicados con 0'5 mgr. de Atropina y 5 mgr. de Diazepan i.m. La anestesia utilizada fue tópica con clorhidrato de Lidocaína al 2%, sin superar los 200 mgr. Sistemáticamente el fibrobroncoscopio (OLYMPUS BF-B10) fue enclavado en el bronquio del segmento medial del L.M., y se instilaron 150 mI. de suero salino isotónico, a temperatura ambiente[31], en bolos sucesivos de 50 ml, El líquido recuperado, por aspiración manual con la misma jeringa tras cada bolo, y desechado el correspondiente a los primeros 50 mI. instilados, fue introducido en frascos de plástico estériles[32]. Una vez terminada la fibrobroncoscopia se le administró a los enfermos asmáticos 0'2 mgr. de salbutamol por vía inhalatoria.

Procesamiento del fluido recuperado del LBA. El líquido extraido fue transportado inmediatamente al Laboratorio. Una vez medido el volumen, se centrifugó a 1.800 revoluciones por minuto (500 G) durante 15 minutos.

Componente celular. El recuento total de células se realizó en una cámara de Newbauer. El botón celular se resuspende con 2 ml. de solución de Hanks, y parte de esta resuspensión se vuelve a centrifugar a 500 G durante 5 minutos. Las extensiones fueron teñidas con May-Grün-wald-Giemsa y se realizó el recuento porcentual de células con microscopio óptico, sobre un mínimo de 300 células.

Líquido sobrenadante. Si no era- posible su análisis inmediato, se congelaba a -70ºC. Sistemáticamente fueron determinadas las proteínas totales por el método modificado de Lowry[33]. La histamina, 6-CETO-PGF1α y PGE_2 se cuantificaron por radioinmunoanálisis[34-35].

Análisis estadístico. El estudio estadístico se ha realizado en base a la cotej ación de las medias de cada grupo en función de las características de los mismos: sexo y hábito de fumar.

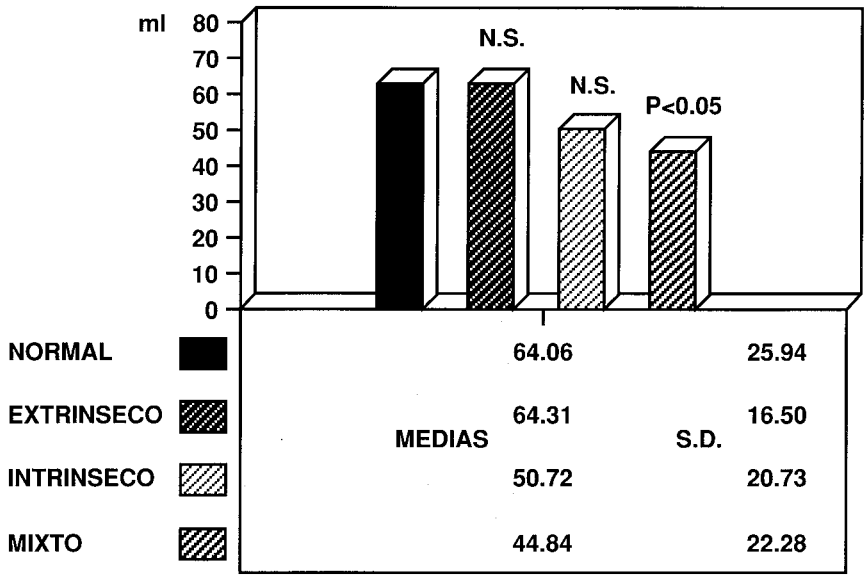
Nos hemos ajustado auna distribución normal de Gauss de desviación cuadrática media o standar. El estadístico utilizado ha sido la t de Student y se ha calculado el coeficiente de correlación de Pearson entre parámetros dentro de cada grupo. Valores de probabilidad de $P<0'05$ son aceptados como significativos.

RESULTADOS

Todos los datos son expresados como valores medios el error típico de la media (SE).

FIGURA 2

Volumen recuperado del LBA



El volumen recuperado en todos los pacientes estudiados, desechado con antelación los 50 ml. iniciales, ha sido de 58'33 ± 21'79 ml. En la figura 2 se refleja el volumen recogido en cada grupo: Control, Asma, Extrínseco, Asma Intrínseco y Mixto.

TABLA 1

Recuento celular de los líquidos del LBA

	Células totales nº x 10⁴/ml	*Macrófagos %*	*Linfocitos %*	*Neutrófilos %*	*Eosinófilos %*
Control	9'44 ± 9'20	86'80 ± 9'39	10'06 ± 7'63	1'78 ± 2'32	0'33 ± 0'61
Extrínseco	9'84 ± 6'50	89'82 ± 7'98	8'27 ± 7'75	0'96 ± 1'11	0'93 ± 1'94
Intrínseco	3'47 ± 2'31	80'63 ± 9'56	17'09 ± 10'61	0'70 ± 0'48	0'54 ± 0'93
Mixto	12'07 ± 13'06	90'23 ± 8'44	4'46 ± 5'73	1'54 ± 2'33	0'81 ± 0'98

El recuento total de células, agrupados los pacientes en fumadores (23 varones y 3 mujeres) y no fumadores (23 varones y 19 mujeres), ha sido de 12'30 ± 9'67 y 7'26 ±7'35 x 10000/ml. respectivamente. En las figuras 3 y 4 se muestran el recuento porcentual de macrófagos, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos de ambos grupos.

En la tabla 1 están expuestos estos mismos parámetros, pero referidos a los grupos Control, Extrínseco, Intrínseco y Mixto.

FIGURA 3

Recuento porcentual de células de los líquidos del LBA en fumadores

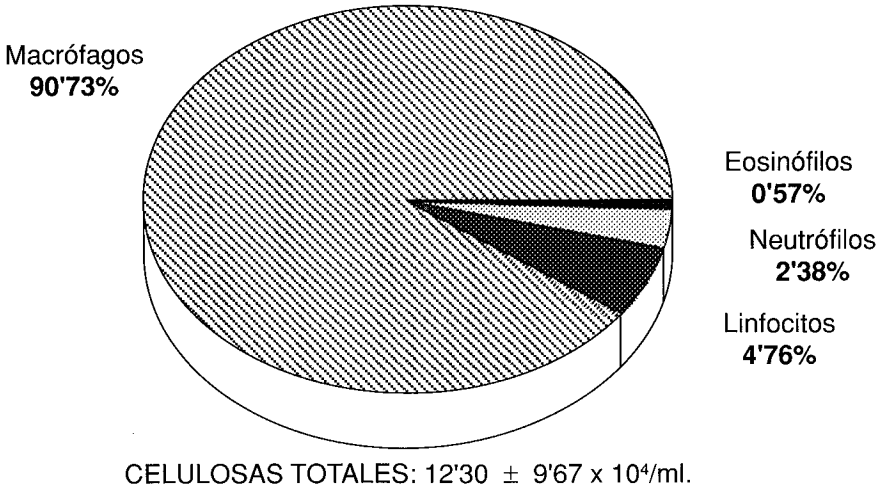


FIGURA 4

Recuento porcentual de células de los líquidos del LBA en no fumadores

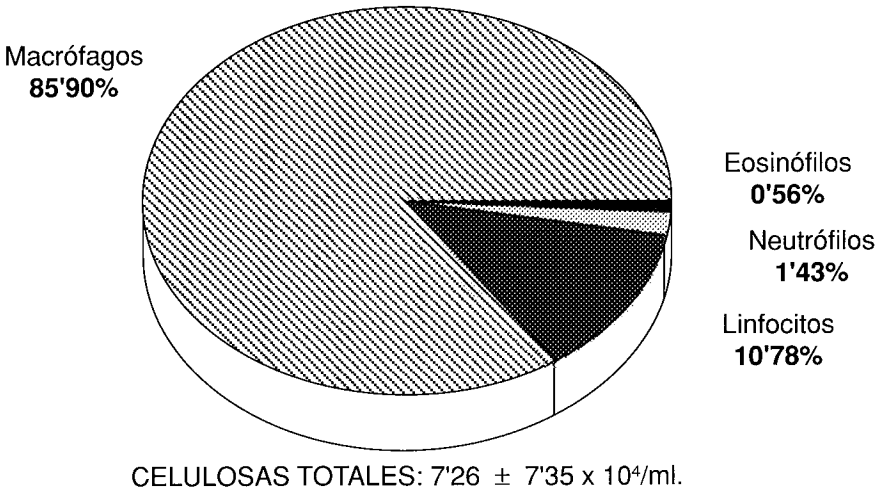
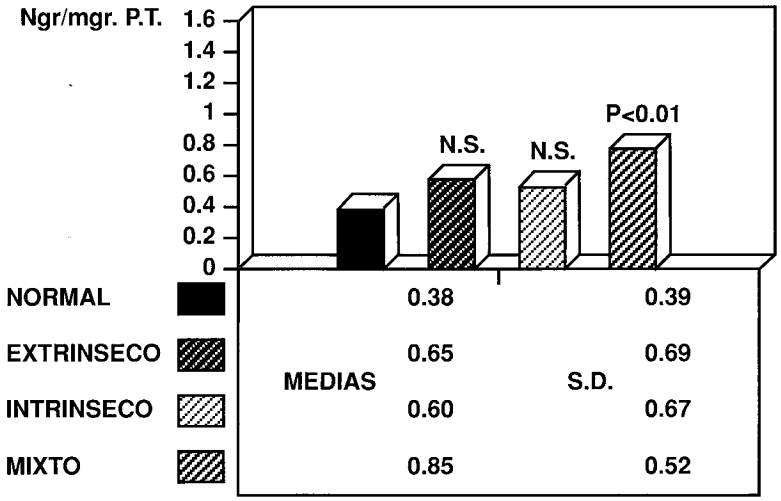


FIGURA 5

Niveles de histamina en los líquidos del LBA



La histamina fue medida en ngr/mgr. de proteínas totales. Su concentración, en cada grupo estudiado, se refleja en la figura 5.

Tanto la PGE_2 como la 6-CETO-PGF1α fueron medidas en pgr/mgr. de proteínas totales y, para facilitar su comparación y estudio, en pgr/ml. (Tabla 2).

TABLA 2

Concentración de prostaglandina E_2 y de 6-CETO-$PGF_2\partial$ en los líquidos del LBA de los cuatro grupos estudiados

	PGG_2		*6-CETO-$PGF_1\alpha$*	
	pgr./mgr. P.T.	*pgr./ml.*	*pgr./mgr. P.T.*	*pgr./ml.*
Control	18'05 ± 13'40	4'72 ± 3'10	3'58 ± 5'33	1'00 ± 1'71
Extrínseco	11'03 ± 10'31	2'94 ± 2'57	4'80 ± 5'28	1'33 ± 1'62
Intrínseco	19'15 ± 15'24	5'74 ± 3'62	1'84 ± 2'65	1'87 ± 2'59
Mixto	9'85 ± 8'29	2'34 ± 1'91	6'11 ± 6'48	2'11 ± 2'14

En el grupo asma bronquial extrínseco hemos obtenido un nivel medio en suero de IgE de 395'41 ± 375'73 Ul/ml., y en el intrínseco de 41'87 ± 26'79 Ul/ml.

DISCUSION

El fluido recuperado en el conjunto de los pacientes estudiados, coincidiendo con los datos obtenidos por otros investigadores y apuntados por Xaubet y Agustíl[36], ha superado el 50% del volumen instilado. Si tenemos en cuenta el medido en cada grupo, vemos como en el intrínseco y mixto los valores son inferiores, existiendo diferencias significativas (p<0'05) entre este último y el grupo control. Estos datos sugieren lo indicado por Castella, el cual encontraba una buena correlación entre el volumen de líquido recuperado y el cociente entre el volumen espiratorio máximo en el P segundo y la capacidad vital[32].

El número de células totales encontradas en los líquidos del LBA de los fumadores es superior al de los no fumadores. Este incremento significativo (p<0'05), se produce sobre todo a expensas de macrófagos y neutrófilos, y coincide con los resultados obtenidos por Jiménez Ruiz y col.[37]. Al igual que en la mayoría de los estudios revisados, hemos encontrado un descenso significativo del porcentaje de linfocitos en fumadores con respecto a no fumadores (p<0'01)[38], y no han aparecido diferencias significativas en el recuento de eosinófilos entre ambas poblaciones[39]. Si tenemos en cuenta el número total de células, y recuento porcentual de macrófagos, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos, en relación a los grupos control, extrínseco, intrínseco y mixto, encontramos disminuciones significativas (p<0'05) en el n.º total de células en el grupo intrínseco y en el porcentaje de linfocitos en el grupo mixto, en comparación con el control. Todos los demás valores cuantitativos del componente celular para cada grupo, no han presentado diferencias significativas con el control. Llama la atención la escasa presencia de eosinófilos en los líquidos del LBA de este estudio, sobre todo cuando numerosos investigadores afirman que estas células están

elevadas en el LBA de los enfermos asmáticos. Independientemente de las diferencias que puedan existir entre las cifras dadas por estos autores, debidas a la aplicación de diferentes métodos de medida, una explicación lógica sería la apuntada por Bousquet, el cual dice que los eosinófilos se correlacionan con la gravedad del asma[40]. No olvidemos que la población de asmáticos incluidos en este estudio estaban considerados como leves, pues para su control clínico sólo precisaban metilxantinas orales y/o Beta-adrenérgicos inhalados y se encontraban estabilizados.

En cuanto a la presencia de histamina en los líquidos del LBA, tampoco existen claras cifras de referencia. Wenzel S.E. y col. obtienen una concentración media de 0'36 ± 0'22 mgr./ml. en un grupo de asmáticos extrínsecos, de 0'13 ± 0'03 mgr./ml. en un grupo de asmáticos intrínsecos, y 0'21 ± 0'07 mgr/ml. en el control[41]. El nivel medio de histamina de la población extrínseca de nuestro estudio, significativamente inferior al aportado por Wenzel, no presenta diferencias significativas con el obtenido en el grupo control. Al igual que en otras publicaciones[42-43], encontramos una alta correlación directa (r = 0'82, p<0'05) entre el valor porcentual de eosinófilos y la concentración de histamina; pensamos que las posibles causas indicadas anteriormente para explicar la baja presencia de eosinófilos serían extrapolables para la histamina, cuya concentración en los líquidos de los LBA de los enfermos asmáticos aparece generalmente elevada en numerosos trabajos de investigación[43-44]. El nivel de histamina en el grupo intrínseco no difiere significativamente del aportado por Wensel ni del medido en el grupo control. Sí hemos encontrado diferencias significativas (p<0'01) entre las concentraciones de histamina de las poblaciones mixta y control. Recordemos que el grupo mixto con cifras altas de histamina, está formado por bronquíticos crónicos obstructivos y enfisematosos, los cuales presentan una disminución del FEV2 e índice de Tiffeneau superior al objetivado en la población asmática. Estos datos confirman los hallazgos de Jarjour, que encontró una correlación inversa entre la concentración de histamina en el LBA y el FEV_1[42]. Estudiado el coeficiente de correlación de la histamina con los otros componentes celulares medidos y con la IgE total en suero, vemos que en todos ellos ha sido directa y muy baja.

TABLA 3

Niveles de PGE_2 y 6-CETO-$PGF_1\alpha$ en los líquidos de LBA de pacientes normales o grupos control[41, 45, 46]

		n.º	*PGE_2 (pgr./ml.)*	*6-CETO-$PGF_1\alpha$ (pgr./ml.)*
Wenzel	(1989)	6	> 110	> 100
Liu	(1990)	12	0'49 ± 0'09	0'001
Le Fever	(1990)	10	4'40 ± 3'40	—

TABLA 4

Niveles de PGE_2 y 6-CETO-$PGF_1\alpha$ en los líquidos de LBA de enfermos asmáticos extrínsecos[41, 46]

		n.º	*PGE_2 (pgr./ml.)*	*6-CETO-$PGF_1\alpha$ (pgr./ml.)*
Wenzel	(1989)	8	151 ± 27'9	> 110
Liu	(1990)	15	7'73 ± 1'51	0'91 ± 0'17

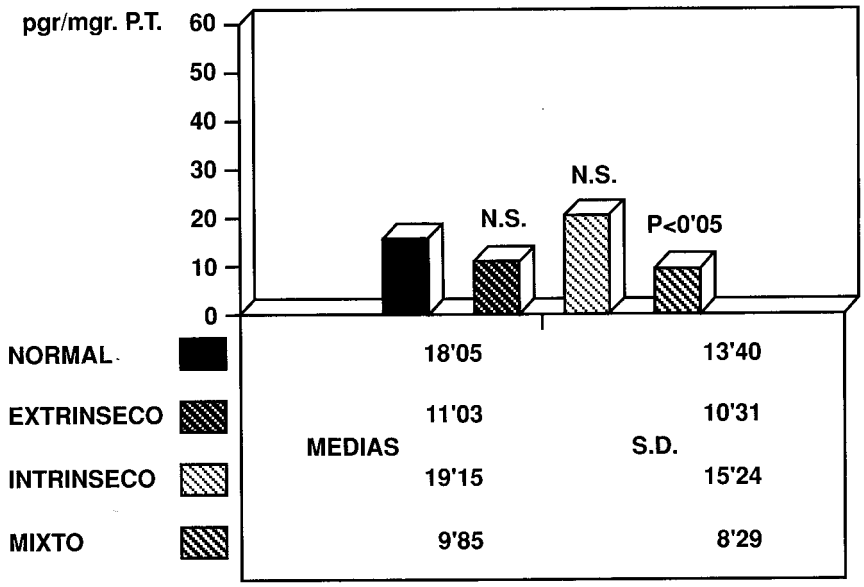
Las prostaglandinas han sido medidas en los líquidos del LBA de enfermos con asma bronquial, al contrario que en el estudio celular, en muy reducidas ocasiones. Cuando han sido analizadas, el número pequeño de la muestra y la variable metodológica para su cuantificación, han proporcionado unos resultados dispares que difícilmente se pueden comparar (Tablas 3 y 4).

Actualmente podemos afirmar que no existen valores de referencia, y que cada investigador compara sus cifras con los de su propio grupo control.

Coincidiendo con otras publicacione[41,46], los niveles de PGE_2 de los grupos extrínsecos e intrínsecos no han presentado diferencias significativas con el control (Fig. 6). Al contrario, este mismo parámetro en el grupo mixto es significativamente inferior (p<0'05) al control. Para explicar este hallazgo partimos de un nuevo dato que aparece en la población mixta: entre las concentraciones de PGE_2 y los volúmenes recuperacos existe una correlación directa de 0'55 (p<0'05). La escasa cuantía de este volumen, la correlación directa que encuentra Castella entre éste y el índice de Tiffeneau[32], y la afirmación de Adkinson de que el tejido bronquial produce PGE_2[12] nos hacen sospechar que en esta población mixta la concentración de la PGE_2 en los líquidos del LBA puede ser reflejo del grado de deterioro del

FIGURA 6

Concentraciones de PGE_2 en los líquidos del LBA de los grupos control, asma bronquial extrínseco, asma bronquial intrínseco y mixto



tejido bronquial. Hemos encontrado muy baja correlación entre la PGE_2 y las células totales, macrófagos, linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, histamína e IgE total del suero. Concretamente para esta última r = -0'21.

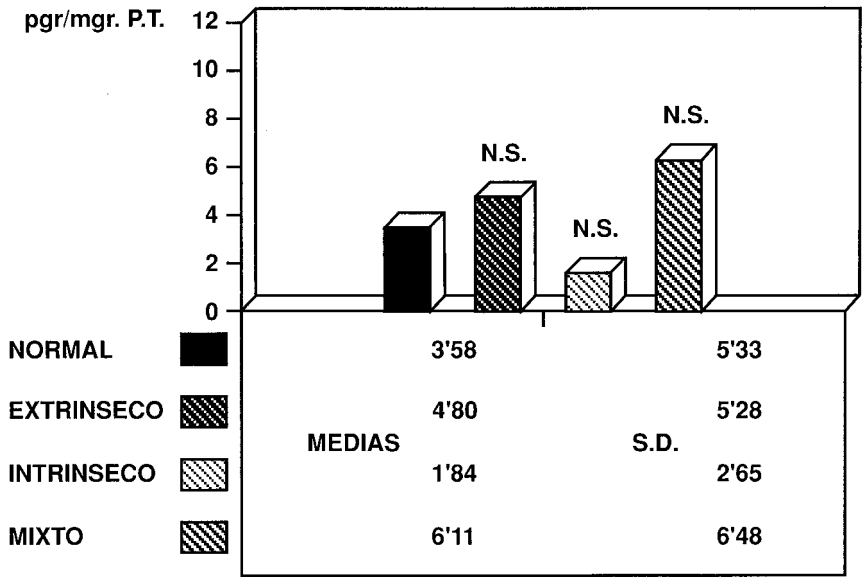
En cuanto a la 6-CETO-PGF1α, lo primero que nos llama la atención es la gran dispersión de sus valores.

Indudablemente la prostacielina (PGI_2) es influida por numerosas variables, algunas conocidas, como la dietarica en ácidos grasos poliinsaturados, principalmente el eicosapentaenoico (EPA) y el decosahexaenoico (DCHA)[47], y la mayoría desconocidas que no han podido ser controladas en el presente trabajo de investigación. Los niveles medidos de este metabolito de la prostaciclina, en los diferentes grupos del estudio, no difieren

significativamente de la población control (Fig. 7), coincidiendo con los hallazgos de otros autores[41,46]. Los coeficientes de correlación de este metabolito con las células totales, con los valores porcentuales celulares (macrófagos, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos) y con la IgE total del suero han sido muy bajos. De igual manera, este parámetro referido para la histamina ha sido inverso y muy pequeño.

FIGURA 7

Concentraciones de 6-CETO-PGF$_1\alpha$ en los líquidos de LBA de los grupos control, asma bronquial extrínseco, asma bronquial intrínseco y mixto



Existe una buena correlación entre las PGE_2 y las prostaciclinas en el grupo control ($r = 0'55$, $p<0'05$), y esta cifra disminuye a 0'32 cuando este coeficiente es medido en el total de la población asmática (extrínsecos e intrínsecos). La edad, sexo y hábito de fumar no han influido significativamente en las concentraciones de estas dos prostaglandinas.

CONCLUSIONES

Quedan resumidas en los siguientes apartados:

1. Es de una gran importancia, para el estudio de prostaglandinas en los líquidos del LBA, la redacción de una normativa que unifique la metodología de estudio.

2. Debido a que estos mediadores son de acción corta, y a que sus concentraciones en los líquidos del LBA de los enfermos asmáticos es variable según el momento evolutivo de los mismos, consideramos importante que en las publicaciones al respecto se reflejen con claridad los criterios de estabilización de los pacientes.

3. La edad, sexo y hábito de fumar, no alteran las concentraciones de PGE_2 ni de prostaciclina en los líquidos de los LBA del asma bronquial.

4. Los niveles de PGE_2 y de 6-CETO-PGF1α alcanzados en los líquidos del LBA de los enfermos con asma bronquial leve y estabilizados, grupos extrínsecos e intrínsecos, no han tenido diferencias significativas con sus respectivos grupos control.

5. El coeficiente de correlación entre cada prostaglandina (PGE_2 y PGI_2) y el número de células totales, valores porcentuales de distintos tipos celulares (macrófagos, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos) e histamina, analizados en los líquidos del LBA del asma bronquial, ha sido sistemáticamente bajo.

6. En la población con asma bronquial extrínseco, las PGE_2 y prostaciclina de los líquidos del BAL han evidenciado una baja correlación con la IgE total del suero.

7. Hemos encontrado una buena correlación entre las concentraciones de PGE_2 y de 6-CETO-PGF1α de los líquidos del LBA del grupo control.

BIBLIOGRAFIA

1 . Laitinen LA et al. Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. Am Rev Respir Dis 1985; 131: 599.

2. Salvato G. Some histological changes in chronic bronquitis and asthma. Thorax 1968; 23: 168.

3. Ratko, D et al. The safety aspects of Fiberoptic bronchoscopy, bronchoscopy, bronchoalveolar lavage, and endobronchial biopsy in asthama. Am Rev Respir Dis 199 1; 143: 772.

4. Daniele RP et al. Bronchoalveolar lavage: role in the pathogenesis, diagnosis and management of interstitial lung disease. Arm Intern Med 1985; 102: 93.

5. Kirby JG et al:. Bronchoalveolar cell profiles of asthamatic and nonasthmatic subjects. Am Rev Respir Dis 1987; 136, 2: 379.

6. Cochrane GM. Asma. Patogenia y tratamiento. Arch Bronconeumol 1991;27:295.

7. Austen KF et al. Mast-cell derived mediators: structural and functional diversity and regulation of expression. In Johansson S.G.D. et al: Molecular and biological aspects of the acute allergic reaction.

8. GoetzI E.I. Mediators of immediate hypersensitivity derived from Arachidonic acid. New Engl J Med 1980; 303, 14: 822.

9. Von Euler US. History and development of Prostaglandins. Gen Pharmac 1983; 14: 3.

10. Bergstrom Set al. The enzymatic formation of Prostaglandin E_2 from arachidonic acid. Prostaglandins and related factors. Biochim Biophys Acta 1974; 90: 207.

11. Yamamoto S et al. Enzymological studies on prostaglandin biosynthesis. In N. Kharasch and J. Freid (eds): Biochemical aspects of prostaglandins and thromboxanes. Academic, New York 1977.

12. Adkinson NF et al. Anaphylactic release of Prostaglandins from human lung in vitro. Am Rev Respir Dis 1980; 121: 911.

13. Karim SMM et al. Prostaglandins and human respiratory tract smooth muscle: structure activity relationship. In B. Samuelsson et al (eds). Advances in prostaglandin and thromboxane research. New York: Raven 1980.

14. Moncada Set al. Pharmacology and endogenous roles of Prostaglandin endoperoxides, thromboxane A2 and prostacyclin. Pharmacol Rev 1979;30:293.

15. Marom Z et al. Effects of arachidonic acid, monohydroxyeicosatetraenoic acid and Prostaglandins on the release of mucous glycoproteins from human airways in vitro. J Clin Invest 1981; 67: 1695.

16. Goodwin JS et al. Regulation of the immune response by Prostaglandins. Clin Immunol Immunopathol 1980; 15: 106.

17. Williams JT. Prostaglandin E_2, Prostaglandin I2 and the vascular changes of inflammation. Br J Pharmacol 1979; 65: 517.

18. Schulman ES et al. Anaphylactic release of Thromboxane A2, Prostaglandin D2 and Prostacyclin from human lung parenchyma. Am Rev Respir Dis 198 1; 124: 402.

19. Hutas I et al. Relaxation of human isolated bronchial smooth muscle: role of Prostacyclin and ProstaglandinF2α on muscle tone. Lung 1981; 159: 153.

20. Hyman AL et al. Pulmonary vasodilator activity of Prostacyclin (PGI_2) in the Cat. Circ Res 1979; 42: 404.

21. Davidson EM et al. Prostacyclin (PGY: A potential mediator of inflammation. Br J Pharmacol 1978; 64: 437.

22. GoetzI EJ et al. Biochemical and functional bases of the regulatory and protective roles of the human eosinophil. In Weissman et al eds: Advances in inflammation research, vol 14, New York, Raven Press 1979; 157.

23. Dusting GJ et al. Prostacyclin (PGx) is the endogenous metabolite responsible for relaxation of coronary arteries induced by arachidonic acid. Prostaglandins 1977; 13: 3.

24. Litt MC et al. Profiling of bisenoic Prostaglandins and Thromboxane B, in bronchoalveolar fluid from the lower respiratory tract of human subjects by combined capillary gas chromatographymass spectrometry. Prostaglandins 1988; 35 (1): 67.

25. Sevillano C. Valoración de la reactividad bronquial inespecífica. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid, 1990.

26. Johansson SGO. The clinical significance of lgE. In E.C. Franklin (ed): Clinical Immunology. Update. New York: Elsevier 1981.

27. Kenneth FM y col. Diagnóstico diferencial del Asma. En Weiss E.B. y col (ed): Asma Bronquial: Mecanismo y Terapéuticas. 2ª edic, Intermédica Española, Madrid 1986.

28. Summary and recommendations of a workshop on the investigative use of fiberoptic bronchoscopy and bronchoalveolar lavage in asthmatics. Am Rev Respir Dis 1985; 132: 180.

29. Godard P et al. Lavage broncho-alveolaire de I'Asthmatico. Bull Europ Physiopathol Respir 1987; 23: 73.

30. Castela J y col. Normativa sobre la práctica del lavado broncoalveolar (BAL). Grupo de trabajo de la SEPAR, n.º8. Ediciones Doyma. Barcelona 1989.

31. Pingleton SK et al. Effect of location, pH and temperature of instillate in bronchoalveolar lavage in normal volunteers. Am Rev Respir Dis 1983; 128: 1.035.

32. Castella J. Lavado alveolar en la clínica neumológica. Arch Bronconeumol 1986; 22: 274.

33. Markwll MA et al. A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. Anal Biochem 1978; 87: 206.

34. Shaff RE et al. Increased sensitivity of the enzymatic isotopic assay of histamine in plasma and serum. Anal Biochen 1979; 94: 425.

35. Pradelles P et al. Enzyme immunoassays of eicosanoids using acetylcholine esterase as label: an alternative to radioimmunoassay. Anal Chern 1985; 57: 1.170.

36. Xaubet A, Augstf C. Lavado broncoalveolar. Arch Bronconeumol 1991;27:134.

37. Jiménez Ruiz C y col. Celularidad del lavado broncoalveolar en fumadores. Arch Bronconeumol 1989; 255: 69.

38. Costabel U et al. Alterations in immunorregulatory T-cell subsets in cigarette smokers. Chest 1986; 90: 39.

39. De la Cruz Ríos JL y col. El lavado broncoalveolar. Estudio de parámetros celulares y bioquímicos en personas no fumadoras y fumadoras. Med Clin (Barce) 1984; 83: 842.

40. Bousquet J et al. Eosinophilic inflammation in asthma. New Engl J Med 1990; 323, 15: 1.033.

41. Wenzel SE et al. Spectrum of Prostanoid release after bronchoalveolar allergen challenge in atopic asthmatics and in control groups. Am Rev Respir Dis 1989; 139: 450.

42. Jarjour NN et al. Elevated bronchoalveolar lavage fluid Histamine levels in allergic asthmatics are associated with increased airway obstruction. Am Rev Respir Dis 1991; 144: 83.

43. Casale TB et al. Elevated bronchoalveolar lavage fluid histamine levels in allergic asthmatics are associated with Methacholine bronchial Hyperresponsiveness. J Clin Invest 1987; 79: 197.

44. Rankin JA et al. Histamine levels in bronchoalveolar lavage from patients with asthama, sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis. J Allergy Clin Immunol 1987; 79: 37 1.

45. Le Fever A et al. Elevated Prostaglandin E_2 levels in bronchoalveolar lavage fluid of patients with bronchogenic carcinoma. Chest 1990; 98: 1.397.

46. Litt MC et al. Evidence for elevated levels of Histamine, Prostaglandin D2, and other bronchoconstricting Prostaglandins in the airways of subjects with mild asthma. Am Rev Respir Dis 1990; 142: 126.

47. Arm JP et al. Effect of dietary supplementation with fish oil lipido on mild asthma. Thorax 1988; 43: 84.