

STATE OF THE ART EM IMUNO-ALERGOLOGIA: Os Factores Libertadores da Histamina (HRF)

A. G. PALMA CARLOS

Serviço de Imuno-alerlogia. Hospital de Santa Maria. Lisboa

RESUMO

São discutidos os conceitos actuais sobre os factores libertadores de histamina (HRF), suas origens celulares, suas células alvo e implicações na imunoterapia da asma. Apresentam-se resultados pessoais da produção de HRF por macrófagos alveolares estimulados por antigénio e sua acção sobre basófilos de atópicos e não atópicos. Verificou-se que os macrófagos alveolares de asmáticos atópicos libertam HRF quando estimulados pelo antigénio específico e que estes HRF induzem num teste de desgranulação dos basófilos humanos a desgranulação dos basófilos de atópicos mas apenas em poucos casos a de basófilos de não atópicos. Estes resultados demonstram que o contacto dos alergénios com os macrófagos alveolares pode desencadear a desgranulação das células mediadoras com libertação de autácidos.

SUMMARY

The State of the Art in Immunology and Allergy: Histamina Releasing Factors

The present concepts on histamina releasing factors are discussed, their cellular origins, their effect on the target cells and its importance in asthma immunopathology. Personal results on the production of HRF by alveolar macrophages stimulated by allergen and its action on non atopic basophils are presented. Alveolar macrophages from atopic asthmatics release HRF in presence of allergen. Macrophage from non atopic do not. HRF has been tested in a Human Basophil Degranulation Test (HBDT) preparation, a significant degranulation induced by HRF from atopic patient being only observed when atopic basophils are used in HBDT. These results confirm that allergen could induce HRF production from alveolar macrophages and that this HRF could degranulate basophils in atopic and induce mediators release.

INTRODUÇÃO

Os mastocitos e basófilos — células mediadoras — constituem as células efectoras com maior capacidade de reacção nas reacções de hipersensibilidade imediata do tipo I da classificação clássica de Gell e Coombs, reacções alérgicas ou de hipersensibilidade imediata¹.

Estas populações celulares têm a capacidade de libertar mediadores pré-formados ou neo-formados libertados a partir respectivamente dos grânulos e dos fosfolípidos de membrana. Entre os mediadores pré-formados têm importância fundamental a histamina, entre os neo-formados o factor activador da plaqueta ou PAF, os leucotrienos, as prostaglandinas e o tromboxane².

Classicamente a libertação de mediadores por mecanismos imunológicos é mediada pela reacção de um antigénio — denominado alergénio nas reacções alérgicas — com um anticorpo IgE específico que se fixa aos receptores de alta afinidade para o fragmento Fc da IgE de mastocitos e basófilos¹⁻³.

Todavia trabalhos dos últimos anos demonstraram que outros mecanismos endógenos podem também desgranular mastocitos e basófilos. Também o frio e a hiperosmolaridade são susceptíveis de provocar a desgranulação das células mediadoras com a consequente libertação de mediadores farmacologicamente activos^{3,4}.

Entre os estímulos endógenos foi reconhecida a existência de um grupo de substâncias activas derivadas das células pró-inflamatórias que foi globalmente denominado de *Histamine Releasing Activities* ou seja actividades libertadoras de histamina⁵⁻⁸.

Esta actividade tem sido atribuída a linfocitos, monócitos, macrófagos, neutrófilos e plaquetas mas curiosamente as denominadas anafilotoxinas (C3a e C5a) não parecem levar à libertação de mediadores pelos mastocitos humanos^{4,9,10,11}. Thueson et al^{5,6} foram os primeiros a demonstrar que os linfocitos de indivíduos saudáveis podiam produzir após incubação com concanavalina A durante 24 h uma substância que libertava histamina dos basófilos humanos. Os linfocitos podem também apresentar esta actividade libertadora de histamina após estimulação com antigénios a que o dador de linfocitos esteja previamente sensibilizado. Estudos ulteriores demonstraram que os factores libertadores de histamina (HRF — Histamine Releasing Factors) eram produzidos por linfócitos T e que outras populações celulares, nomeadamente monócitos do sangue periférico ou macrófagos pulmonares em cultura podiam libertar histamina^{4,9,22}.

A acumulação de dados sobre os HRF levou a pensar que a pontagem entre 2 moléculas de IgE adjacentes não seria o único mecanismo possível de doenças atópicas humanas^{4,21,22}.

Na realidade diferentes citoquinas de origem celular diversa podem condicionar o mesmo tipo de reacções²³.

OS FACTORES LIBERTADORES DE HISTAMINA OU HISTAMINE RELEASING FACTORS (HRF)

Os HRF ou factores libertadores de histamina são factores diversos susceptíveis de induzir a libertação de histamina e provavelmente também de leucotrienos e outros mediadores a partir dos mastócitos do sangue e também, mas em geral de forma menos intensa dos mastócitos^{4,8,12,21}.

O tempo necessário para a libertação de histamina desencadeada pelos HRF é intermédia entre a reacção rápida desencadeada pela anafilotoxina C5a apenas em algumas populações celulares e a resposta mais lenta desencadeada pelo alergénio ou anti IgE^{4,8,12,22}. Os HRF têm origens celulares diversas, linfócitos T, linfócitos B, monocitos do sangue periférico, macrófagos cultivados a partir de fragmentos de pulmão ou obtidos por lavado bronco-alveolar, neutrófilos, plaquetas e células endoteliais. Tanto os linfócitos CD4+ como os CD8+ produzem HRF. Os HRF podem ser recuperados a partir de diversos líquidos biológicos; vesículas cutâneas, lavados nasais e bronco-alveolares^{4,8,10,12,21,23-26}.

Físico-quimicamente os HRF parecem ser heterogéneos tanto quanto ao peso molecular como quanto às características imunoquímicas^{4,24-26}.

A identidade ou heterogeneidade dos HRF em relação a outras citocinas tem sido muito controversa²¹⁻²³.

Subramanian, Kaplan e Frenschko^{18,21,23} demonstraram que a interleuquina 1 (IL-1) podia libertar histamina dos basófilos humanos. No entanto as características físico-químicas da IL-1 não corresponde às dos vários HRF descritos^{8,12,18,21,24}.

Também foram atribuídas actividade HRA ao factor de estimulação das colónias de granulócitos e macrófagos GM-CSF⁴.

Grant e coll. ensaiaram as propriedades histaminolibertadoras das citocinas IL-1,2,3,4,5 e 6 do interferon γ do GM-CSF e G-SF e do factor de necrose dos tumores (TNF) não tendo encontrado actividade histaminolibertadora apreciável para nenhuma destas citocinas senão em raros casos para a IL-3 e GM-CSF em concentrações elevadas⁴.

CÉLULAS ALVO DOS HRF

Os HRF têm em geral uma actividade mais marcada sobre basófilos do que sobre mastócitos humanos e mais sobre basófilos de atópicos que sobre basófilos de não atópicos. Habitualmente os basófilos dos atópicos libertam mais histamina e desgranulam mais intensamente do que os de não atópicos mas há certa sobreposição. A resposta dos basófilos parece ser em parte IgE dependente mas depende também da forma do HRF estudado^{9,8,12,21,26-29}.

Os HRF derivados de linfócitos desencadeiam libertação de histamina de células de dadores atópicos ou não atópicos enquanto que os HRF derivados de macrófagos ou outras células só induzem desgranulação e libertação de mediadores de células de alérgicos^{4,7,8}. A libertação de histamina provocada pelos HRF é maior para basófilos de asmáticos do que para os de doentes com rinite alérgica e maior para estes do que os de indivíduos normais.

Os basófilos de indivíduos normais ou não atópicos não são habitualmente sensíveis aos HRF. Lichenstein sugeriu que as diferentes respostas das células alvo aos HRF dependeria de heterogeneidade da IgE todavia estes achados não têm sido comprovados por outros autores²¹⁻²³.

O HRF seria assim um dos factores do grupo de factores de ligação à IgE (IgE-binding factors). Todavia Kaplan e Delespesse puderam separar a actividade HRF da capaci-

dade de ligação à IgE e nomeadamente diferenciar o HRF da fracção solúvel do marcador linfocitário CD23, receptor de activação dos linfócitos B. Estes factos sugerem uma provável heterogeneidade dos HRF^{17,23}.

FUNÇÕES DOS HRF

Tendo a maior parte das citocinas múltiplas funções, seria lógico que também o ou os HRF desempenhassem mais de um papel na resposta imunitária¹⁴. THUESON et al demonstraram que a actividade do HRF e dos factores quimotácticos para os basófilos se encontravam na mesma fracção cromatográfica. É possível que estas duas actividades correspondam a um só factor e que o HRF tenha também acção quimotáctica para os basófilos^{5,6}.

EFEITO DOS HRF IN VIVO

A injeção intradérmica de HRF antólogo não purificado desencadeia na pele uma reacção imediata de pápula e eritema que muitas vezes se prolonga em reacção tardia durante horas e ultrapassando os limites da reacção imediata⁷. A inalação dos sobrenadantes de preparações celulares que produzem HRF desencadeia broncoconstricção na maioria dos indivíduos estudados^{4,7}. Também o HRF derivado das plaquetas provoca na pele uma reacção imediata de pápula e eritema nos asmáticos alérgicos mas não nos asmáticos intrínsecos não alérgicos ou em controlos normais¹⁵.

PRODUÇÃO DE HRF

A produção de HRF parece ser como a de outras citocinas uma capacidade inerente de diversas populações celulares^{4,5,6,21,22,26,27}. A incubação das células em meios de cultura apropriados leva regularmente à produção de HRF. Estímulos não específicos que activem as células T ou macrófagos parecem também poder conduzir à produção de HRF. Todavia a produção de HRF pode ser aumentada por incubação de células monócito-macrófágicas com antígenos a que o indivíduo estudado é alérgico^{22,27}.

A produção espontânea de HRF aumenta durante o período de exposição natural aos antígenos polínicos durante a estação dos pólenes e este aumento de produção dos factores desgranulantes está correlacionado com o agravamento da sintomatologia clínica^{4,23}.

Estando a produção de HRF implicada na alergia respiratória a imunoterapia se eficaz deve causar uma redução da produção de HRF pelos macrófagos — Kuna et al verificaram que a imunoterapia elimina o aumento estacional da produção de HRF da estação polínica e ulteriormente reduz a sua produção nos doentes clinicamente melhorados^{29,30}. Paralelamente a imunoterapia diminui a produção de HRF pelos macrófagos induzidos pelo alergénio *in vitro*^{29,30}.

HRF E DESGRANULAÇÃO DOS BASÓFILOS

Estando o mecanismo de libertação de histamina associado à desgranulação de basófilos era lógico adaptar o já experimentado teste de desgranulação dos basófilos humanos (TDBH) ao estudo dos HRF²⁷⁻²⁹. O TDBH tem sido largamente utilizado nos últimos anos no Instituto de Imunologia, Centro de Hematologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Lisboa, e a sua fiabilidade e reproductividade em mãos experimentadas, confirmadas. O TDBH tem

vantagens para laboratórios insuficientemente equipados como é o caso da quase totalidade dos nacionais de não exigir aparelhagem dispendiosa e de poder ser adaptado a vários modelos experimentais^{29-31,33}.

Tendo os primeiros resultados de produção de HRF por macrófagos alveolares do grupo de Baltimore,^{12,21,22} sido obtidos com culturas de macrófagos obtidos de peças cirúrgicas de pulmão procuramos estudar mais directamente a produção de HRF por macrófagos bronco-alveolares obtidos por lavado bronco-alveolar, células que podem estar na primeira linha de contacto com os alérgenos inalados e que, apresentando receptores de baixa afinidade para a IgE³⁰, podem ser directamente estimulados pelo antígeno inalado na primeira fase da reacção de hipersensibilidade imediata^{30,31}.

Construiu-se (com M. Helena Simões e M. Laura Palma Carlos) um modelo simples utilizando macrófagos purificados escolhidos por lavado bronco-alveolar^{29-31,33,34} e basófilos no teste de desgranulação procurando verificar a eventual produção de HRF pelos macrófagos alveolares purificados e incubados na presença ou ausência de antígenos específicos previamente seleccionados por testes cutâneos RAST ou FAST e um TDBH inicial^{29-31,33}.

Obteve-se assim um modelo multifactorial pouco dispendioso em que se conjugaram a eventual produção de HRF por macrófagos de atópicos ou de não atópicos estimulado ou não por incubação em presença do antígeno pela intensidade de desgranulação verificada pela adição de sobrenadante de incubação dos macrófagos a preparações de basófilos humanos de dadores atópicos ou de não atópicos^{29-31,33}.

Após a incubação de macrófagos purificados em RPMI-BSA durante 1 hora na presença ou ausência de alérgeno o sobrenadante era adicionado às preparações de basófilos sendo os resultados finais entre HRF obtidos de macrófagos de atópicos ou de não atópicos incubados com ou sem antígenos e adicionados a basófilos também de atópicos ou não atópicos. Como controlo utilizou-se uma preparação de basófilos aos quais se adicionou a mesma quantidade de alérgeno usada para estimulação dos macrófagos pretendendo-se verificar se a associação de HRF ao antígeno aumentava significativamente a desgranulação induzida por este último isolado²⁹⁻³¹.

Verificou-se que no modelo utilizado, os macrófagos de atópicos incubados sem antígeno durante um período curto não produziam quantidades significativas de HRF. Do mesmo modo os macrófagos de não atópicos nunca produziram significativamente HRF (Quadros 1 e 2). O efeito do HRF verificava-se nitidamente quando se utilizavam TDBH com basófilos de atópicos mas não quando os basófilos empregues para o TDBH eram de não atópicos (Quadros 1 e 2)^{29-31,33,34}.

Os resultados obtidos demonstraram que os macrófagos alveolares de atópicos libertam HRF em presença de antígeno específico e que o HRF assim libertado é capaz de desgranular os basófilos do mesmo ou de outros doentes atópicos^{33,34}.

Os alérgenos inalados podem assim estimular não só células mediadoras residentes — mastócitos — ou circulantes — basófilos — que se encontrem no local do conflito antígeno-

QUADRO 2 — TDBH — Actividade HRF de Macrófagos N.º de Basófilos de atópicos

	N	D. pteronyssinus só base	M0+D. pteronyssinus em relação ao pteronyssinus isolado	M0+D. pteronyssinus em relação a M0 isolado
M0 de atópicos	18	18/18	12/18	18/18
M0 de não atópicos	18	7/7	1/7	1/7

-anticorpo, mas também os macrófagos residentes bronco-alveolares levando à libertação de HRF susceptível de provocar uma segunda via de activação dos mastócitos e de mobilizar localmente mais basófilos pela sua acção quimiotáctica. Como os macrófagos activados pelo alérgeno podem também libertar PAF (factor activador das plaquetas que é um mediador pluri-potencial das reacções de hipersensibilidade imediata, deve-se considerar os macrófagos como células de grande importância nas reacções asmáticas³¹⁻³⁴.

Os nossos resultados além de terem demonstrado a libertação antígeno-dependente de HRF pelos macrófagos alveolares sugerem que o efeito do HRF assim libertado só se verifica de forma regular quando actua sobre basófilos atópicos. Nestes indivíduos a libertação HRF é potencialmente susceptível de agravar, desencadear ou manter o processo inicial de libertação de mediadores e iniciar a passagem para a fase de reacção asmática tardia (LAR) e o processo de reacção inflamatória das asma com dispneia repetida ou prolongada^{27-30,33}.

FACTORES INIBIDORES DA LIBERTAÇÃO DE HISTAMINA (HRIF)

Dada a ubiguidade e multiplicidade de HRF já descritos deve-se ponderar a existência de um mecanismo de regulação da sua acção e da activação de mastócitos e basófilos¹⁴.

Alan sugeriu que os linfócitos podem produzir substâncias que bloqueiam a activação dos mastócitos e basófilos. O mesmo autor demonstrou recentemente a síntese de este factor inibidor HRIF pelas células mononucleares humanas. A produção do HRIF humano é estimulada por concentrações fisiológicas de histamina sugerindo um mecanismo de retrocontrolo inibitório da libertação de histamina^{4,33,35}.

Os HRIF só inibem a libertação de histamina por basófilos estimulada por HRF mas não a desgranulação e libertação de mediadores induzida por outros estímulos^{4,35}.

O HRIF é produzido pelas mesmas células que produzem HRF, linfócitos T & B, monocitos do sangue periférico e macrófagos de lavado bronco-alveolar. O HRIF foi também encontrado como o HRF em líquidos de lavado nasal e bronco-alveolares^{4,35}.

SIGNIFICADO IMUNOLÓGICO E CLÍNICO DOS HRF E HRIF

A intervenção dos HRF e dos factores inibidores HRIF na reacção alérgica parece demonstrada pela comprovação da sua libertação *in vivo* e *in vitro* por células humanas^{4,31,33}.

Os HRF podem ser responsáveis por uma segunda vaga de libertação de mediadora *re-release* depois do primeiro contacto das células mediadoras com o antígeno e manter depois, dada a sua multiplicidade de origens uma estimulação prolongada da desgranulação e no caso da asma brôn-

QUADRO 1 — TDBH — Actividade de Macrófagos N.º de Basófilos de Atópicos

	N TDBH	Controlo Base	M0	M0 + D. pteronyssinus
M0 de atópicos	18	48 ± 8	54 ± 9	24 ± 6
			N.S.	p < 0.05
M0 de não atópicos	18	61 ± 10	57 ± 9	52 ± 10
			N.S.	N.S.

quica uma broncoconstrição prolongada e duradora^{4,33}. A primeira vaga de libertação de HRF será provavelmente a activação e libertação de HRF dos macrófagos bronquiolo-alveolares como demonstram as vagas seguintes devidas à libertação de HRF por linfócitos e outras células. O mecanismo de indução de desgranulação pelos HRF actuando sobre mastócitos e basófilos não é unívoco e pode ser IgE dependente nos atópicos ou IgE independente nos outros doentes. Na asma intrínseca não atópica, o HRF libertado pelas células mononucleadas, podem manter uma persistente libertação de mediadores e estarem em causa nos casos da asma com dispneia contínua ou repetida^{4,31,33}.

A acção quimiotáctica de HRF sobre os basófilos pode chamar estes ao local de reacção inicial e contribuir assim para a manutenção da desgranulação e libertação de mediadores. Paralela e simultaneamente a libertação pelas células medidoras, mastócitos residentes ou basófilos atraídos pela acção quimiotáctica do HRF, de factores quimiotácticos — para eosinófilos sobretudo PAF — e neutrófilos — leva a passagem à fase crónica de reacção de hipersensibilidade imediata. Esta situação leva ao estabelecimento de um círculo de activação que se pode manter na ausência do antígeno-alérgico ou mesmo desencadear-se nos casos de asma não atópica por estimulação não antígeno-dependente dos macrófagos por exemplo por infecção ou outros estímulos susceptíveis de activar as células fagocitárias^{4,31,33}.

A libertação prolongada ou repetida de HRF desencadeia uma activação inicial de mastócitos depois atrai e activa a desgranulação dos basófilos levando à activação a chamada de plaquetas, linfócitos, eosinófilos e talvez também neutrófilos à passagem à inflamação crónica e à criação de uma situação de hiperreactividade brônquica no contexto da asma brônquica^{31,33}.

Neste mecanismo os factores inibidores HRIF funcionando como inibidores específicos da acção dos HRF podem quebrar o circuito de activação e restaurar a homeostase fisiológica⁴.

A caracterização imunológica dos diversos HRF e a pesquisa de fármacos seus antagonistas terá provavelmente implicações importantes na compreensão do mecanismo da asma, extrínseca ou intrínseca na prevenção e na terapêutica destas situações.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos Drs. Telles de Araújo e I. Matilde a colaboração dada na execução das BAL, Clínica de Doenças Pulmonares (Prof. Freitas e Costa) da FML.

BIBLIOGRAFIA

- PALMA-CARLOS, A.G. A reacção de hipersensibilidade. - 1987, pg 33-36 in Manual de Imuno-Alergologia, Palma-Carlos A.G. ed., Cilag, Lisbon.
- PALMA-CARLOS, A.G. — Classificação das reacções de hipersensibilidade. 1987, pg 37-41 in Manual de Imuno-Alergologia, Palma-Carlos, A.G. edit., Cilag, Lisboa.
- SCHULMAN, E.S. — Mast cells and asthma. 1989, pgl-6 AAAI Mast Cell Workshop. 45th AAAI (American Academy of Allergy and Immunology) Annual Meeting, San António.
- GRANT, J.A. Regulation of Basophils and Mast Cells by Cytokines. 1989, pg 54-67 in Postgraduate Course Syllabus — American Academy of Allergy and Immunology, 45th Annual Meeting, San António.
- THUESON, D.Q., SPECK, L.S., LETT-BROWN, M.A., GRANT J.A — Histamine Releasing Activity, HRA J. Immunol., 1979; 123: 626-631.
- THUESON, D.Q., SPECK, L.S., LETT-BROWN, M.A., GRANT, J.A. — Histamine Releasing Activity (HRA) Interaction with Basophils and Physicochemical Characterization. J. Immunol. 1979; 123: 633.
- EZEAMUZIE, J.C., ASSEM, E.S.K. — A study of Histamine Release from Basophils by Products of Lymphocyte Stimulation. 1983, Agent Actions, 1983; 13: 227.
- LIU, M.C., PROUD, D.C., LICHENSTEIN, L.M., MAC GLASHAW, D.W., SCHLEIMER, R.P., ADKINSON, N.F., KAGEY-SOBOTKA, A., SCHULMAN, E.S., PALUT, M. — Human Lung Macrophage derived Histamine Releasing Activity is due to IgE dependent Factors. J. Immunol. 1986; 136: 2588-2595.
- WHITE, M.V., KALINER, M.A. — Neutrophils and Mast Cells. Human Neutrophil derived Histamine Releasing Activity. J. Immunology, 1987; 139: 1624.
- GIRARD, J.P., GUMOWSKI, P., LECH, B. — Analysis of Mediators induced by sensitized lymphocytes responsible for bronchoconstriction. Folia Allergol. Immunol. Clin., 1983; 30 (Suppl. 4): 133.
- LECH, B., GIRARD, J.P. — Asthma induced in atopic patients by factors produced by mononuclear cells sensitized *in vitro* Respiration, 1984, 46 (suppl.1): 30.
- SCHULMAN, E.S., LIU, M.C., PROUD, D., MAC GLASHAN, D.W., LICHENSTEIN, L.M., PLAUT, M. — Human Lung Macrophages induce Histamine Release from Basophils and Mast Cells. Amer. Rev. Respir. Dis. 1985; 131: 230-235.
- ALAM, R., KUNA, P. — Histamine Releasing Lymphokines. Allergol. et Immunopathol., 1985; 12: 439-443.
- ALAM, R., ROZNIECKI, J., SELMAJ, K. — A mononuclear cell-derived Histamine Releasing Factor (HRF) in asthmatic patient. Ann. Allergy, 1984; 53: 66.
- ORCHARD, M.A., KAGEY-SOBOTKA, A., PROUD, D. et al — Basophil Histamine Release induced by a substance from stimulated Human Platelets. J. Immunol. 1986; 136: 2240.
- GOETZL, E., FOSTER, D.W., RAYEM, D.G. — Basophil Activating Factor from T lymphocytes. Immunol. 1984; 53: 227.
- KAPLAN, A.K., HAAK-FRENDSCHO, M., FAUCI, A., DINARELLO, C., HALBERT, E. — A Histamine Releasing Factor from activated Human Mononuclear Cells. J. Immunol., 1985; 135: 2027-2031.
- SUBRAMANIAN, N. — Histamine Release from Human Basophils. 1986, II World Conference on Inflammation, WIN 86 Monte-Carlo.
- ALAM, R., ROZNIEK, I.J. — A Mononuclear cell derived Histamine Releasing Factor (HRF) in asthmatic patients. Activity *in vivo*. Allergy, 1985; 40: 124.
- ALAM, R., GRANT, J.A., LETT-BROWN, M.A. — Identification of a Histamine Release Inhibitory Factor produced by Human Mononuclear Cells *in vitro*. J. Clin. Invest., 1988; 82: 2056.
- LICHENSTEIN, L.M. — Histamine Releasing Factors and IgE heterogeneity. Clin. Immunol., 1988; 81: 814.
- MAC DONALD, D.S., NACLERIO, R.M., PLAUT, M., WARNER, J., KAGEY-SOBOTKA, A., LICHENSTEIN, C.M. — Human Late Phase Reaction. 1987. in *Allergy and Inflammation*, pg 292, Kay, A.B. ed., Academic Press, London.
- ALAM, R., KUNA, P., ROZNIECKI, J., KUZMINSKA, B. — The magnitude of spontaneous production of histamine. The magnitude of spontaneous production of Histamine Releasing Factor (HRF) by Lymphocytes *in vitro* correlates with the State of Bronchial Hyperreactivity. J. Allergy Clin. Immunol., 1987; 79: 103.
- SUBRAMANIAN, N., BRAY, M.A. — Interleukin 1 releases histamine from human basophils and mast cells *in vitro*. J. Immunol., 1987; 138, 271-275.
- KAPLAN, A.P., HAAK-FRENDSCHO, M., BAEZA, M.L., FINN, A., — Mononuclear cell-derived Histamine Releasing Factor. Immunol. Allergy Clin. N.A., 1987; 8: 152-155.
- KUNA, P., ALAM, R., KUZMINK, A.B. et al. — The effect of pre-seasonal immunotherapy on the production of Histamine Releasing Factor. 1989; J. Allergy Clin. Immunol. in press.
- ALAM, R., GRANT, J.A., LETT-BROWN, M.A. Identification of Histamine Release Inhibitory Factor produced by Human Mononuclear Cells *in vitro*. J. Clin. Invest., 1988; 82: 2056.

28. MAC DONALD, S. M., LICHENSTEIN, L. M., PROUD, D. — Studies of IgE dependent Histamine Releasing Factors. Heterogeneity of IgE. *J. Immunol.*, 1987; *139*: 506-514.
29. PALMA-CARLOS, A. G., SIMÕES, M. H., PALMA-CARLOS, M. LAURA — Basophil Degranulation induced by Human Lung Macrophage derived Factor. *Allergol. Immunopathol.*, 1987; *15*: 246-247.
30. PALMA-CARLOS, A. G., SIMÕES, M. H., PALMA-CARLOS, M. LAURA. — Histamine Releasing Factor (HRF) from Alveolar Macrophages. *Allergy*, 1988; *43*: (suppl. 7), 33.
31. PALMA-CARLOS, A. G., SIMÕES, M. H., PALMA-CARLOS, M. LAURA. — Histamine Releasing Factor (HRF) from alveolar macrophages. *N. Eng. Allergy Proc.*, 1988; *9*: 453.
32. CAPRON, A., DESSAINT, J.P., CAPRON, M., JOSEPH, M., AMEISEN, J.C., TONNEL, A.B. — From Parasites do Allergy a second receptor for IgE. *Immunol. Today*, 1986; *7*: 15-18.
33. PALMA-CARLOS, A. G., SIMÕES, M. H., PALMA-CARLOS, M. LAURA. — Macrophages et asthme bronchique. *Med. et Hyg.*, 1988; *46*: 2925-2937.
34. SIMÕES, M. H., PALMA-CARLOS, M. LAURA, PALMA-CARLOS, A. G. ARAÚJO, A. T., BENVENISTE, J. — Release of PAF-acether by alveolar macrophages in Bronchial Asthma. *Allergol. Immunopathol.*, 1987; *15*: 248.
35. ALAM, R., LEWIS, D. M., OLENCHOCH, A. — Identification of Histamine Release Inhibitory Factor (HRIF) and an Inhibitor of Histamine Releasing Factor Synthesis (IHS) produced by guinea-pig lymphoid cells. *Cell. Immunol.*, 1988; *115*: 447-485.

Pedido de Separatas:
A. G. Palma-Carlos
Serviço de Imuno-alergologia.
Hospital de Santa Maria.
Lisboa