



Original

Respuesta inflamatoria de la exacerbación asmática de instauración rápida[☆]

Jesús Bellido-Casado^{a,*}, Vicente Plaza^a, Miguel Perpiñá^b, César Picado^c, Santiago Bardagí^d, Cecilia Martínez-Brú^e y Montserrat Torrejón^a

^a Departament de Pneumologia, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España

^b Servicio de Neumología, Hospital Universitario La Fe, Valencia, España

^c Servicio de Neumología, Hospital Clínic, Universidad de Barcelona, Centro de Investigaciones Biomédicas en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERERS), Barcelona, España

^d Servei de Pneumologia, Hospital de Mataró, Barcelona, España

^e Servei de Bioquímica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 18 de febrero de 2010

Aceptado el 16 de julio de 2010

On-line el 15 de septiembre de 2010

Palabras clave:

Exacerbación grave de asma

Inflamación

Eosinófilos

Neutrófilos

Edema

RESUMEN

No se ha estudiado suficientemente la asociación entre la rapidez de instauración de la crisis de asma y la respuesta inflamatoria desencadenada.

Objetivo: Determinar los mecanismos inflamatorios que caracterizan la exacerbación asmática de instauración rápida.

Método: Se diseñó un estudio prospectivo y multicéntrico en los servicios de urgencias hospitalarias, que evaluó a 34 pacientes que se distribuyeron en tres grupos en función de las horas de instauración de la exacerbación asmática: (menos de 24 h), instauración intermedia (25-144 h), e instauración lenta (145 o más horas). Se recogieron datos clínicos, de esputo, sangre y orina en el momento de la primera atención y pasadas 24 h, determinándose celularidad inflamatoria y marcadores solubles.

Resultados: Los pacientes con exacerbación rápida presentaron una significativa mayor concentración de elastasa (1.028 ± 1.140 ; 310 ± 364 ; 401 ± 390 ng/ml) y albúmina ($46,2 \pm 4,3$; $42 \pm 3,4$; $39,9 \pm 4,8$ g/l) en sangre. El número de neutrófilos, eosinófilos, (tanto en sangre como en esputo), los niveles de proteína catiónica del eosinófilo (PCE) (sangre), interleuquina 8 (IL8) (sangre) y leucotrieno E4 (LTE4) (orina) estaban elevadas en los tres grupos ($p > 0,05$). Se constataron asociaciones lineales entre el tiempo de instauración de la exacerbación y la intensidad de la obstrucción (FEV_1) ($r = -0,360$; $p = 0,037$), los eosinófilos en esputo ($r = -0,399$; $p = 0,029$), la albúmina ($r = -0,442$; $p = 0,013$); y con la IL8 ($r = 0,357$; $p = 0,038$).

Conclusiones: Los resultados sugieren una activación precoz de la respuesta neutrofílica y eosinofílica en la exacerbación asmática. No obstante, es posible que el edema bronquial juegue un papel importante en la respuesta inicial inflamatoria de las exacerbaciones dependiendo del tiempo de instauración.

© 2010 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Inflammatory Response of Rapid Onset Asthma Exacerbation

ABSTRACT

The association between onset of asthma exacerbation and the inflammatory response has not been sufficiently studied.

Objective: To determine the differential mechanisms of the rapid onset (RO) asthma exacerbation.

Methods: We designed a prospective, multicentre study that included 34 patients who suffered from asthma exacerbation. They were distributed into three groups of asthmatics, depending of the time of onset: from 0 to 24 h, from 25 to 144 h and more than 145 h. We collected clinical data, sputum, blood and urine samples when first seen at the clinic and the next 24 h later, and differential cell counts and biomarkers were determined.

Results: The asthmatics who suffered a RO exacerbation showed a higher elastase concentration, (1.028 ± 1.140 ; 310 ± 364 ; 401 ± 390 ng/ml) ($P < 0.05$) and albumin (46.2 ± 4.3 ; 42 ± 3.4 ; 39.9 ± 4.8 g/l) ($P < 0.05$) in the blood sample. Neutrophils, eosinophils (blood or sputum), eosinophil cationic protein (ECP) (blood), interleukin 8 (IL₈) (blood) and leukotriene E4 (LTE₄) (urine) were high in the three groups ($P > 0.05$). We demonstrated an association between the onset of exacerbation and the severity of obstruction (FEV_1) ($r = -0.360$; $P = 0.037$), eosinophils in sputum ($r = -0.399$; $P = 0.029$), albumin ($r = -0.442$; $P = 0.013$), and IL₈ in sputum ($r = 0.357$; $P = 0.038$).

Keywords:

Severe asthma exacerbation

Inflammation

Eosinophils

Neutrophils

Swelling

[☆] Estudio que forma parte del Programa Integrado de Investigación (PII) en Asma de la SEPAR. Fue financiado en parte mediante Beca SEPAR 2003 y beca de la Fundació TV3 Marató 2005.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jbellido@santpau.cat (J. Bellido-Casado).

Conclusions: The results suggest a rapid inflammatory response, both neutrophilic and eosinophilic, in the asthmatic exacerbation. However, the swelling in the bronchi may play an important role in the initial inflammatory response in the exacerbations depending of time of onset.

© 2010 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La magnitud y el patrón inflamatorio, sistémico y bronquial, que desencadenan la exacerbación de asma, son los responsables de su intensidad y gravedad inmediata o tardía^{1,2}. Diversos estudios realizados en pacientes fallecidos por asma o que padecieron una exacerbación de asma con riesgo vital sugieren que el tiempo de instauración de la misma puede estar relacionado con el tipo de respuesta inflamatoria bronquial subyacente^{3,4}, con el agente desencadenante⁵, y con la rapidez en la respuesta clínica al tratamiento instaurado⁶. Ahora bien la respuesta inflamatoria de la luz o de la submucosa bronquial es heterogénea y dependiente del desencadenante que la ha producido, como por ejemplo el tabaco, la atopia, o los virus⁷ y, también, del tipo de patrón inflamatorio presente en la vía aérea según los «fenotipos» de pacientes con asma considerados⁸⁻¹¹ y, por ello, repercute en la fisiología de la vía aérea condicionando la alteración fisiológica y el tipo de respuesta producida. Un aspecto concreto que apenas se ha estudiado es la relación del perfil inflamatorio con el tiempo de instauración desde que comienzan los síntomas respiratorios, es decir, con la rapidez de la crisis. Los datos disponibles recogidos a partir de muestras bronquiales obtenidas de manera no invasiva son escasos y, solamente, algunos aspectos ligados al tiempo de instauración se han estudiado parcialmente^{12,13}. Por tanto, es plausible realizar la hipótesis de que la rapidez de la agudización de asma esta relacionada con el tipo de respuesta inflamatoria sistémica y bronquial, y que esta podría diferenciarse según el perfil de marcadores biológicos inflamatorios presentes, condicionando la gravedad y la magnitud de la agudización. El objetivo de este trabajo, por tanto, es determinar el tipo de respuesta inflamatoria sistémica y de la luz bronquial, analizando marcadores de inflamación, indirectos o específicos, de las líneas celulares inflamatorias eosinofílica y neutrofílica presentes en la exacerbación de asma y, su relación con el tiempo de instauración de la crisis.

Pacientes y métodos

Pacientes

Se diseñó un estudio prospectivo multicéntrico para reclutar los pacientes que presentaron una exacerbación de asma y que fueron atendidos en las unidades de urgencias de los centros participantes (H. Clínic, H. de Mataró y H. de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, H. La Fe de Valencia) desde enero de 2007 a junio de 2009. Todos los pacientes referían síntomas de agudización de la vía aérea y de obstrucción pulmonar según los criterios descritos para la agudización de la Guía Española para el Manejo del Asma (GEMA)¹⁴. El protocolo de investigación del estudio fue aprobado por los respectivos Comités de Ética de los hospitales. Tras informar y aceptar la participación voluntaria en el estudio de investigación de todos los pacientes, se recogió el consentimiento informado y se incluyeron en el estudio, procediéndose a la recogida de los datos detallados en el protocolo.

Variables

La variable principal del estudio se consideró la rapidez de instauración de la crisis y se definió como el tiempo de evolución

(en horas) desde el inicio del deterioro clínico percibido por el propio paciente (determinado por el incremento de los síntomas diurnos, nocturnos o de ambos, habituales de asma y/o el incremento de la necesidad de utilizar medicación broncodilatadora de rescate) hasta la asistencia sanitaria en la que se determinó el diagnóstico de agudización y la instauración de tratamiento específico de agudización de asma¹⁴.

Otras variables: demográficas (edad, sexo); clínicas de las características del asma previa a la exacerbación de cada paciente, como la gravedad basal, el número de ingresos previos por asma (y su gravedad), la dosis diaria de mantenimiento de corticosteroides inhalados recibida en el último mes, la función pulmonar, atopia conocida y consumo de tabaco; y de la agudización, como sospecha de desencadenante infeccioso (con temperatura corporal axilar superior a 37 °C), gravedad de la agudización, tratamiento antiinflamatorio parenteral u oral administrado y especialmente, horas transcurridas desde la instauración de los síntomas respiratorios (diurnos, nocturnos o de ambos, necesidad de utilizar medicación broncodilatadora de rescate).

Como parámetros de inflamación en la exacerbación se recogieron muestras biológicas de esputo, sangre y orina en dos ocasiones: en el momento de ser atendidos y 24 h más tarde, coincidiendo con el control clínico del seguimiento inmediato. En ellas se determinaron marcadores inflamatorios indirectos de edema bronquial (albúmina) y de respuesta inflamatoria neutrofílica (neutrófilos, elastasa neutrofílica y IL-8) y eosinofílica (eosinófilos, proteína catiónica y leucotrieno E₄). Todas las determinaciones de marcadores solubles se realizaron de manera centralizada en el Departamento de Bioquímica del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, tras ser enviadas en bloque allí para su análisis. Los recuentos celulares hematimétrico y del esputo se realizaron en cada hospital, salvo el de esputo del H. de Mataró que se centralizó en el H. de la Santa Creu i Sant Pau. En el caso del esputo los recuentos se realizaron por personal entrenado y con experiencia, confirmando la celularidad obtenida en sucesivos exámenes.

A los 30 días del seguimiento tras la agudización se completó la recogida de datos clínicos y de variables en los pacientes participantes, principalmente de atopia («prick test») y de función pulmonar (volumen espirado forzado en el primer segundo o FEV₁).

Técnicas

- **Secreción bronquial.** Se obtuvo esputo después de proceder a la inhalación de una nebulización de una solución de suero fisiológico (3 ml) con 5 mg de salbutamol, realizado bajo presión positiva con oxígeno a altos flujos durante 20 min. Todos los pacientes siguieron el mismo protocolo de obtención de muestra bronquial y todos los esputos fueron procesados de la misma manera. El tratamiento químico inicial con ditioniothietrol (DTT) se hizo a una dilución 1:10 de la concentración original (Sputolysisn, Carbiochem, Corp., San Diego, CA). El volumen total de la muestra de esputo procesada fue la suma del volumen correspondiente a 4 veces el peso en mg de los tapones tratados con DTT, más el mismo volumen de tampón PBS. En el recuento diferencial inflamatorio del precipitado celular se determinaron el porcentaje de

neutrofilia y eosinofilia, según el procedimiento descrito por Pizzichini et al¹⁵ y, se determinó la IL-8 mediante quimioluminiscencia (IL-8 – Siemens[®], ref. LK8-P1) en un analizador inmunitario en el sobrenadante del esputo tras haber sido descongelado (congelado a -80°C previamente a su análisis), siguiendo las instrucciones del fabricante del kit de detección, los valores de referencia proporcionados y habiendo realizado una estandarización previa de la técnica en el laboratorio de bioquímica.

- **Muestras de sangre.** Se obtuvo sangre con EDTA y sangre en tubo con gelosa diariamente en los que se determinaron, respectivamente, la fórmula leucocitaria por un lado y, por otro, la elastasa neutrofílica y la proteína catiónica del eosinófilo en suero mediante técnicas de ELISA, siguiendo las indicaciones del fabricante para la detección de ambos marcadores inflamatorios en el uso del kit de ensayo (Human PMN Enastase ELISA – SG Servicios Hospitalarios SL, ref. BLK-4-269 y ECP – Siemens[®], ref. LKEOZ, respectivamente). Se determinó la albúmina plasmática solamente en el segundo día de atención urgente. La medición se hizo por colorimetría (ALB plus, ref. 1929640, Roche Diagnostics[®] GmbH, Mannheim, Alemania). En la extracción de sangre venosa realizada a los 30 días se determinó la IgE total para cada paciente como marcador biológico cuantitativo de atopia, y la específica para *Alternaria alternata* como indicador de factor de riesgo de asma de riesgo vital, según el procedimiento habitual del laboratorio central de Bioquímica en cada uno de los hospitales que participaban.
- **Muestra de orina.** En las muestras de orina recogidas se determinó los niveles de leucotrieno E₄ mediante técnica de ELISA (LTE-4, GE HealthCare[®], ref. RPN-224) siguiendo las recomendaciones del fabricante en el kit y estandarización de la técnica de detección.
- **Función pulmonar.** Tanto la espirometría como el flujo espiratorio máximo (FEM) se midieron respectivamente con un espirómetro Datospir 500 (Sibelmed S.A., Barcelona) y con un medidor homologado (Sibelmed[®]), siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica y las recomendaciones de su uso para el manejo del asma descritas en la guía GEMA¹⁴.

Análisis estadístico

Se utilizaron los valores medios y su desviación estándar para describir las variables analizadas en la muestra. El coeficiente de correlación de Pearson fue utilizado para cuantificar, por un lado la correlación lineal entre la variable principal (horas transcurridas desde el inicio del deterioro clínico hasta la atención urgente) y las secundarias, y por otros, las correlaciones entre los diferentes marcadores inflamatorios, y de estos con la gravedad de la obstrucción (FEM). Atendiendo a la variable principal del estudio, la muestra se dividió en tres grupos teniendo en cuenta dos criterios a la hora establecer los puntos de corte, a saber: el mantenimiento de la homogeneidad de la n en cada grupo (distribución de frecuencias de la variable principal) y la hipótesis del estudio (comienzo brusco, deterioro clínico progresivo a corto plazo y deterioro mantenido en el tiempo). Para la comparación de medianas entre los grupos se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para el análisis de contrastes entre varias muestras independientes, y la prueba de χ^2 para la comparación de variables categóricas, con el test exacto de Fisher cuando aplicaba. Se realizó un análisis de regresión múltiple de estimación de la variable principal incluyendo en el modelo las variables que mostraron significación estadística en el análisis univariante y aquellas con plausibilidad biológica de comportarse

como confusoras o modificadoras del efecto estimado (rapidez en la instauración de la crisis de asma). Se aceptó un valor p inferior a 0,05 como estadísticamente significativo. El análisis de datos se realizó con la versión 15.0 del programa SPSS.

Resultados

Solamente los pacientes que cumplieron con todo el protocolo fueron analizados en el estudio, excluyéndose finalmente 8; de ellos, 5 por no cumplir con las visitas programadas y 3 por tener muestras no útiles para el análisis. Se incluyeron 34 pacientes con una exacerbación asmática, ninguna de riesgo vital, pero el 18% de los casos precisó oxigenoterapia por insuficiencia respiratoria aguda ($\text{PO}_2 \leq 55 \text{ mmHg}$)¹⁶. Las medias aritméticas de días y noches transcurridos con síntomas de agudización fueron de $5,5 \pm 3,5$ (DE) y $4,9 \pm 3,5$ (DE) respectivamente. Nueve pacientes fueron considerados no atópicos: aquellos que presentaron un «prick test» a neumoalérgenos ambientales negativo y $\text{IgE} < 160 \text{ UI/ml}$ (límite inferior adoptado del laboratorio de referencia). Las características clínicas de toda la muestra se detallan en la **tabla 1**.

Dependiendo de las horas de evolución transcurridas desde el comienzo del deterioro sintomático, la muestra de pacientes se dividió en tres grupos. La **tabla 1** muestra las características clínicas y de la exacerbación asmática de los grupos analizados en función de las horas transcurridas desde el comienzo de la agudización. Se constató diferencias estadísticamente significativas en la comparación de los grupos para las variables número de atenciones urgentes en el último año ($p=0,03$), ingresos previos por agudización grave en la UCI ($p=0,05$) y determinación del FEM en el segundo día de atención tras la intensificación del tratamiento ($p=0,008$); siendo las primeras más frecuentes, y la última peor, en el grupo de mayor tiempo de evolución.

De los marcadores biológicos analizados, todos ellos se mostraron elevados (**tabla 2**). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los recuentos de neutrófilos y eosinófilos del esputo y la sangre. Solamente el grupo de menor tiempo de evolución presentó mayor elastasa medida el primer día ($p=0,05$) y albúmina sérica medida en el segundo día ($p=0,008$) respecto al resto de grupos. La **tabla 2** muestra los valores obtenidos en las determinaciones biológicas realizadas para cada grupo de tiempo considerado.

El análisis de correlación de variables cuantitativas mostró una asociación lineal negativa estadísticamente significativa entre el tiempo de instauración de la crisis y la gravedad de la obstrucción (FEM) ($r=-0,360$; $p=0,037$), la eosinofilia del esputo ($r=-0,399$; $p=0,029$) y la albúmina sérica ($r=-0,442$; $p=0,013$); fue linealmente positiva con la IL₈ en el esputo ($r=0,357$; $p=0,038$).

El modelo de regresión múltiple que se construyó teniendo en cuenta las variables clínicas y biológicas de interés clínico (variable dependiente: tiempo de instauración) y variables independientes: eosinofilia en sangre del primer día, FEM de la agudización, elastasa sérica del primer día, albúmina sérica del segundo día, leucotrieno del segundo día, consumo de tabaco y administración de corticosteroide oral o parenteral inmediatamente antes de la atención urgente, no mostró significación estadística para las variables incluidas, alcanzando una mejor tendencia hacia la significación estadística la eosinofilia en sangre ($p=0,105$) y la albúmina sérica ($p=0,197$).

Por otro lado, se constató una asociación lineal negativa de la obstrucción al flujo aéreo (FEM) y la leucocitosis en sangre del primer día ($r=-0,353$; $p=0,04$), el LTE₄ del primer día en la orina ($r=-0,342$; $p=0,048$) y positiva con la albúmina sérica del segundo día ($r=0,414$; $p=0,02$).

Tabla 1
Características clínicas de los pacientes y de la exacerbación asmática en función del tiempo de instauración de la crisis

	Horas de evolución			
	Todos (n=34)	Hasta 24 (n=10)	De 25 a 144 (n=14)	145 o más (n=10)
<i>Características demográficas y del asma previo a la exacerbación asmática</i>				
Edad (años)	43 ± 20	35 ± 18	47 ± 15	43 ± 17
Sexo femenino (%)	62	80	50	60
Tabaquismo activo (%)	36	40	42	22
Gravedad asma (I/L/M/G) (%)	(18/18/32/32)	(40/10/40/10)	(7/29/29/35)	(10/10/30/50)
Años de evolución	16 ± 15	10 ± 9	22 ± 9	16 ± 12
Dosis/día esteroides inhalados (µg)	446 ± 473	198 ± 356	534 ± 455	577 ± 541
«Prick-test» positivo (%) (ninguno a <i>Alternaria alternata</i>)	63	67	69	50
IgE (UI/ml)	256 ± 316	326 ± 375	209 ± 341	244 ± 219
Ingresos (asma) en hospital	2,7 ± 3,3	2,3 ± 4,1	2,1 ± 2	4,1 ± 4,
Ingresos (asma) último año	0,5 ± 1	0,4 ± 0,9	0,3 ± 0,6	1 ± 1,4
Visitas ucías (asma) último año	2 ± 2,8	2,1 ± 3,1	0,7 ± 1,9	3,7 ± 3,4*
Ingresos (asma) en UCI (%)	18	0	14,3	40**
<i>Características de la exacerbación asmática</i>				
Sospecha de infección (%)	62	40	64	80
Pacientes con esteroides orales previos a la visita (%)	42	60	25	44
FEM agudización 1.ª (%)	49 ± 20	57 ± 18	46 ± 17	46 ± 22
FEM agudización 2.ª (%)	59 ± 40	75 ± 14	54 ± 17	50 ± 21*
FEV ₁ (%)	85 ± 03	91 ± 12	77 ± 38	90 ± 19

FEM: flujo espiratorio máximo; FEV₁: volumen espiratorio máximo en el primer segundo; I/L/M/G: intermitente/leve/moderado/grave; Ucias: urgencias; 1.ª: determinación del primer día; 2.ª: determinación del segundo día. Los datos se expresan en porcentaje o como media ± desviación estándar.

* Valor p < 0,05.

** (Test exacto de Fisher) Valor p=0,065.

Tabla 2
Determinaciones biológicas de la exacerbación asmática en función del tiempo de instauración de la crisis

	Horas de evolución			
	Todos (n=34)	Hasta 24 (n=10)	De 25 a 144 (n=14)	145 o más (n=10)
<i>Espu</i>				
Eosinófilos 1.ª (%)	11,7 ± 15	18 ± 21	13 ± 13	3,4 ± 2,5
Eosinófilos 2.ª (%)	7,7 ± 13	8,7 ± 19	9,9 ± 13	2,7 ± 2,9
Neutrófilos 1.ª (%)	49 ± 22	45,8 ± 19	46,4 ± 22	56,4 ± 26
Neutrófilos 2.ª (%)	52 ± 22	46,3 ± 26	53,8 ± 20	57,2 ± 21
IL-8 1.ª (pg/ml)	10.994 ± 11.207	9.189 ± 6.309	10.576 ± 8.681	13.204 ± 17.128
IL-8 2.ª (pg/ml)	12.822 ± 15.913	9.942 ± 6.678	8.602 ± 7.648	21.610 ± 26.012
<i>Sangre</i>				
Eosinófilos 1.ª (× 10 ⁶ /l)	472 ± 492	590 ± 519	395 ± 432	454 ± 566
Eosinófilos 2.ª (× 10 ⁶ /l)	73 ± 2	14 ± 02	84 ± 2	115 ± 3
Neutrófilos 1.ª (× 10 ⁶ /l)	7.587 ± 3.602	7.948 ± 4.119	7.566 ± 4.262	7.252 ± 2.164
Neutrófilos 2.ª (× 10 ⁶ /l)	8.726 ± 3.701	8.109 ± 3.980	8.634 ± 3.530	9.471 ± 3.918
P cationica Eo 1.ª (ng/ml)	13,8 ± 11	15,3 ± 11	14,8 ± 13	11,9 ± 5,8
P cationica Eo 2.ª (ng/ml)	12,6 ± 10	11,0 ± 7,7	15,2 ± 14	10,3 ± 6
Elastasa 1.ª (ng/ml)	555 ± 748	1.028 ± 1.140	310 ± 364	401 ± 390*
Elastasa 2.ª (ng/ml)	586 ± 720	578 ± 606	678 ± 961	465 ± 392
Albúmina suero 2.ª (g/l)	42,7 ± 4,8	46,2 ± 4,3	42 ± 3,4	39,9 ± 4,8*
<i>Orina</i>				
LTE ₄ 1.ª (pg/ml)	521 ± 242	440 ± 202	520 ± 244	602 ± 271
LTE ₄ 2.ª (pg/ml)	506 ± 198	465 ± 203	561 ± 170	471 ± 228

LTE₄: leucotrieno E4; 1.ª: determinación del primer día; 2.ª: determinación del segundo día.

Los datos se expresan en porcentaje o como media ± desviación estándar.

* Valor p < 0,05.

Otras correlaciones con interés biológico entre marcadores inflamatorios sistémicos solubles y de origen celular se muestran en la tabla 3.

Discusión

Los resultados sugieren una activación precoz tanto de la respuesta neutrofílica como de la eosinofílica en la exacerbación

asmática, sin poder identificar un patrón inflamatorio típico dependiendo del tiempo de instauración de la crisis. El componente edematoso bronquial juega un papel importante en la patogenia de las exacerbaciones de instauración rápida, con mayor repercusión en las proteínas del plasma cuanto más se prolonga en el tiempo, y con una traducción inmediata en la obstrucción del flujo aéreo. Desde el punto de vista de las características clínicas y, a pesar de no encontrar diferencias

Tabla 3
Asociaciones más relevantes de los marcadores sistémicos inflamatorios

<i>Sangre</i>	Elastasa (ng/ml) 1.º día	Elastasa (ng/ml) 2.º día	P. catiónica (ng/ml) 1.º día	P. catiónica (ng/ml) 2.º día
Albúmina (g/l)	r=0,433; p=0,015	r=0,454; p=0,012	r=0,434; p=0,015	r=0,439; p=0,015
<i>Orina</i>	Leucocitos sangre 1.º día	Leucocitos sangre 2.º día		
LTE ₄ (pg/ml) 2.º día	r=0,302; p=0,087	r=0,513; p=0,025		

LTE₄: leucotrieno E₄; p: valor de significación estadística alcanzado; r: coeficiente de correlación de Pearson; 1.º: determinación del primer día; 2.º: determinación del segundo día.

estadísticamente significativas entre los grupos, destaca que los pacientes con una instauración de la crisis más rápida, presentan un mayor predominio de mujeres, menor proporción de desencadenantes de la crisis infecciosos, un consumo medio de corticosteroides inhalados menor, mayor proporción de corticoterapia oral y una reversión de la obstrucción bronquial (FEM) a las 24 h superior, orientando hacia un perfil de paciente diferente en cuanto al impacto de la agudización de más rápida instauración. Los resultados del patrón inflamatorio obtenido en este estudio se han de interpretar con cautela, pero no difieren, en general, de los hallados en estudios llevados a cabo en asma aguda de niños y adultos, especialmente cuando el desencadenante principal es un virus, actuando solo o en combinación con un alérgeno ambiental^{1,13}. En muchas de las agudizaciones la activación inflamatoria neutrofílica y eosinofílica en la vía aérea es dual y mixta, como ya han comunicado algunos autores¹⁷. En nuestro estudio la eosinofilia en esputo del primer día destacó en el grupo de instauración de la crisis más rápida, probablemente en relación con un predominio de eosinófilos en la mucosa bronquial insuficientemente tratados de base, e incrementados tras la actuación del desencadenante. Además destaca el descenso llamativo de la eosinofilia en el segundo día, más intenso en las crisis más de instauración más rápida y mejor respuesta al tratamiento con corticosteroides. Por otro lado, la presencia de neutrofilia también fue relevante aunque con una traducción biológica en la respuesta al tratamiento diferente a la anterior. La neutrofilia está presente en muestras de esputo de niños con exacerbación de asma debida principalmente a infección vírica¹⁷ y puede enmascarar la eosinofilia basal predominante en algunos de los pacientes mientras dura la agudización¹⁸. Además, se ha informado que el patrón inflamatorio puede ser diferente en sucesivas agudizaciones dependiendo de la causa que la desencadena¹⁹. En nuestro estudio la asociación del patrón inflamatorio y de los marcadores biológicos con el tiempo de instauración no ha permitido encontrar una diferencia estadística según las horas transcurridas desde el inicio de la agudización, salvo para la elastasa neutrofílica y para la albúmina en sangre. La mayoría de las agudizaciones fueron desencadenadas por una infección vírica, al constatar un comienzo de síntomas en la vía aérea superior, fiebre termometrada (> 37,5 °C), y la ausencia de necesidad de añadir antibiótico en la evolución clínica inmediata. El patrón celular inflamatorio encontrado no parece ser diferente al hallado en niños con agudización de asma, y en estos los que presentaron una inflamación neutrofílica no tuvieron una mayor rapidez de instauración²⁰. Sí se confirma que la infiltración eosinofílica bronquial está asociada con el tiempo de evolución de la crisis pero, condicionada probablemente, al tratamiento con corticosteroide previo. El edema bronquial producido por la extravasación de plasma (mediadores solubles y proteínas de tamaño variable como la albúmina y la alfa₂macroglobulina) a la vía aérea es variable, pero significativo, y se relaciona con el tiempo de instauración transcurrido, la pérdida de control y con un prolongado mantenimiento en el tiempo de la alteración de la permeabilidad vascular¹²⁻²¹.

Desde el punto de vista fisiopatológico es posible que la activación celular y de mediadores solubles del plasma se

traduzca en una activación incipiente que comenzaría con una movilización neutrofílica sistémica inicial, con infiltración bronquial inmediata, la cual sería potenciadora de la vasodilatación y extravasación simultánea del edema producido a nivel bronquial²¹, y que constituye un factor determinante de la migración eosinofílica posterior a la submucosa bronquial, como ha sido constatado^{22,23}. Los patrones celulares inflamatorios descritos serían, de alguna manera, los mismos que se hallan en el espectro de la enfermedad inflamatoria obstructiva de la vía aérea (asma y EPOC principalmente)²⁴, aunque las concentraciones de determinados marcadores celulares y de citoquinas/quimiocinas²⁵⁻²⁷, tanto de la línea neutrofílica (neutrófilos, IL-8 o elastasa) como de la eosinofílica (eosinófilos, IL-5, ECP) mostrarían valores diferentes en algunas agudizaciones, dependiendo del grado de control^{8,28}, gravedad^{9,20,29}, la obstrucción bronquial presente³⁰, la muestra biológica seleccionada²⁴, el espectro de enfermedad o fenotipo inflamatorio de la vía aérea^{2,31-33}, y de la historia natural de la evolución de la enfermedad inflamatoria^{24,31,34,35}. Además, las elevadas concentraciones del metabolito urinario de los cisteinil leucotrienos (LT₄) encontrado es la expresión de la gran activación de ambas líneas granulocíticas, y constituye un marcador inflamatorio sistémico no invasivo accesible para la medición global de la cascada inflamatoria³⁶. Por todo ello creemos que la respuesta inflamatoria global, tanto celular como de mediadores, (eosinofílica y neutrofílica) en sangre y en la vía aérea se establece, sino a la par, secuencialmente muy seguidas en el tiempo, y solamente en el caso de presentar un asma de riesgo vital fulminante, menor a 1h, puede determinarse un predominio de respuesta muy determinado, como por ejemplo, la infiltración neutrofílica en la submucosa bronquial como patrón definido de la instauración rápida⁴.

Por otro lado la gravedad de la obstrucción bronquial determinada en la agudización se asoció a factores derivados del componente granulocitario y la albúmina en sangre y el metabolito de los cisteinilleucotrienos en orina, como expresión de la activación predominantemente eosinofílica, la cual se ha asociado con la intensidad mantenida de la obstrucción bronquial y con la inestabilidad más grave de la vía aérea^{30,36,37}. Aunque es muy probable que el sentido de la correlación del FEM y el tiempo pueda variar en las primeras horas, dependiendo del factor desencadenante que produce la respuesta inflamatoria, la asociación con los marcadores mencionados es relevante desde el punto de vista de la evolución inmediata de la obstrucción, sobre todo al establecerse correlaciones moderadas entre ellos (tabla 3). El papel inicial de la permeabilidad vascular determinado por la albúmina extravasada en el lavado broncoalveolar y la mucosa bronquial en el inicio y grado de deterioro del asma ha sido demostrada recientemente²¹. La metodología seguida en el diseño del estudio ha podido condicionar de alguna manera el reclutamiento final de pacientes. Por ejemplo, la disponibilidad de la técnica del esputo durante dos días seguidos no fue posible si el reclutamiento se hacía en viernes y, además, se constató en algunos candidatos un rechazo a repetir las mismas pruebas a las 24 h, como marcaba el protocolo. Por tanto, la limitación principal del estudio es la ausencia de pacientes con instauración muy

rápida de la agudización que ha condicionado la muestra de pacientes reclutados, dando lugar a una heterogeneidad amplia del tiempo de instauración de la crisis. No obstante, esta heterogeneidad ha permitido obtener tres grupos de tiempos de instauración de los síntomas representativos de lo que ocurre realmente con los pacientes que acuden habitualmente para ser atendidos de urgencia por una agudización. Los grupos de asmáticos considerados han estado representados en todos los grupos y apenas han mostrado diferencias entre ellos en cuanto a las características clínicas, aunque si la *n* de cada grupo hubiera sido superior es posible que estas diferencias hubieran alcanzado la significación estadística para algunas variables dependiendo del tipo de asmático reclutado y del estado de activación inflamatorio previo en cada paciente, aunque un diseño del reclutamiento que incluyera pacientes muy heterogéneos en estos aspectos podría enmascarar las diferencias. Es destacable que el grupo de más lenta instauración presentaba datos de asma más grave con peor control, a pesar de las dosis medias o altas de corticosteroides inhalados, mientras el de más rápida instauración tenía menos dosis y unas características que orientan a un mayor componente alérgico. Es posible que una *n* de muestra superior condicionara el perfil inflamatorio sistémico y bronquial más inmediato presente en el inicio de la crisis, y en el análisis de regresión múltiple propuesto, alcanzara la significación estadística para las variables mencionadas con anterioridad. No obstante, algunos factores de intervención, previos a la crisis o muy incipientes, condicionan el análisis del diseño y pueden hacer poco viables o muy difíciles de conseguir analizar algunos eventos de interés biológico en la investigación, si no se diseñan de una manera experimental. Por ejemplo, factores clínicos como el tabaquismo o la corticoterapia oral o parenteral han podido ser más determinantes en el patrón inflamatorio presente y en la rapidez de la instauración de la agudización, especialmente si nos atenemos al relativo bajo porcentaje de consumo de corticoide oral previo hallado en los pacientes con crisis más prolongadas respecto a los de mayor rapidez, aunque en nuestro estudio no ha sido posible determinar su influencia al no haber predominado de manera relevante sobre ningún grupo. Estudios similares realizados en niños a los que se les había administrado corticoterapia oral previa mostraron que esta no modificó el patrón inflamatorio inicial²⁰; solamente la eosinofilia periférica y la albúmina mostraron una tendencia a la significación estadística en el análisis de regresión múltiple empleado para analizar el tiempo de instauración, siendo por ello marcadores biológicos relevantes del pronóstico clínico inmediato y de la respuesta al tratamiento instaurado. En este punto autores como Norzila et al han constatado que la corticoterapia oral previa no tiene un efecto llamativo sobre el patrón inflamatorio presente (eosinofilia y mejoría de la obstrucción bronquial) hasta pasadas 24 h^{13,17}, probablemente debido a la importante acción mantenida de la reacción inflamatoria desencadenada y, a la corticoinsensibilidad que presenta la neutrofilia en contextos clínico y biológicos en los que predomina, como pueden ser el tabaquismo o la infección vírica³⁸⁻⁴¹.

En resumen, los resultados de nuestro estudio sugieren una activación precoz tanto de la respuesta neutrofílica como de la eosinofílica en la exacerbación asmática. Es posible que el componente edematoso bronquial juegue un papel importante en la patogenia de las exacerbaciones de instauración muy rápida y, también, en la mantenida en el tiempo como expresión directa de la gran activación celular y molecular inflamatoria presente en la vía aérea.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Fahy JV, Kim KW, Liu J, Boushey HA. Prominent neutrophilic inflammation in sputum from subjects with asthma exacerbation. *J Allergy Clin Immunol.* 1995;95:843-52.
- Lemière C, Ernst P, Olivenstein R, Yamanuchi Y, Govindaraju K, Ludwig MS, et al. Airway inflammation assessed by invasive and noninvasive means in severe asthma: eosinophilic and noneosinophilic phenotypes. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118:1033-9.
- Lamblin C, Gosset P, Tillie-Leblond I, Saulnier F, Marquette CH, Wallaert B, et al. Bronchial neutrophilia in patients with Noninfectious status asthmaticus. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;157:394-402.
- Sur S, Crotty TB, Kephart GM, Hyma BA, Colby TV, Reed CE, et al. Sudden-onset fatal asthma: a distinct entity with few eosinophils and relatively more neutrophils in the airway submucosa? *Am Rev Respir Dis.* 1993;148:713-9.
- Plaza V, Serrano J, Picado C, Sanchis J. On behalf of the High Risk Asthma Research Group. Rapid-Onset Fatal and Near-fatal Asthma. Frequency, Clinical Characteristics and Course. *Eur Respir J.* 2002;19:846-52.
- Wasserfallen JB, Schaller MD, Feihl F, Perret CH. Sudden asphyxic asthma: a distinct entity? *Am Rev Respir Dis.* 1990;142:108-11.
- Hargreave FE, Nair P. The definition and diagnosis of asthma. *Clin Exp Allergy* 2009. 2009;39:1652-8.
- The ENFUMOSA Study Group. The ENFUMOSA cross-sectional European multicentre study of the clinical phenotype of chronic severe asthma. *Eur Respir J.* 2003;22:470-7.
- Macedo P, Hew M, Torrego A, JounEAU S, Oates T, Durham A, et al. Inflammatory biomarkers in airways of patients with severe asthma compared with non-severe asthma. *Clin Exp Allergy.* 2009;39:1668-76.
- Berry M, Morgan A, Shaw DE, Parker D, Green R, Brightling C, et al. Pathological features and inhaled corticosteroid response of eosinophilic and non-eosinophilic asthma. *Thorax.* 2007;62:1043-9.
- Saha S, Berry MA, Parker D, Siddiqui S, Morgan A, May R, et al. Increased sputum and bronchial biopsy IL-13 expression in severe asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121:685-91.
- Bellido-Casado J, Plaza V, Belda J, Martínez-Brú C, Torrejón M, Sanchis J. Swelling of the bronchial mucosa and quickness of onset in acute asthma. *Med Clin (Barc).* 2007;127:451-3.
- Tillie-Leblond I, Gosset P, Tonnel AB. Inflammatory events in severe acute asthma. *Allergy.* 2005;60:23-9.
- Plaza Moral V, Álvarez Gutiérrez FJ, Casan Clarà P, Cobos Barroso N, López Viña A, Llauger Rosselló MA, et al. en calidad de Comité Ejecutivo de la GEMA y en representación del grupo de redactores. Guía Española para el Manejo del Asma (GEMA). *Arch Bronconeumol.* 2003;39(Supl5):1-42.
- Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A, Evans S, Morris MM, Squillace D, et al. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;154:308-17.
- Barberá JA, Giner J, Casan P, Burgos F. Gasometría arterial. En Procedimientos de evaluación de la Función Pulmonar. Manual SEPAR de procedimientos. Ed SEPAR 2002.
- Norzila MZ, Fakes K, Herry RL, Simpson J, Gibson PG. Interleukin-8 secretion and neutrophil recruitment accompanies induced sputum eosinophil activation in children with acute asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161:769-74.
- D'Silva L, Allen CJ, Hargreave FE, Parameswaran K. Sputum neutrophilia can mask eosinophilic bronchitis during exacerbations. *Can Respir J.* 2007;14:281-4.
- D'Silva L, Cook RJ, Allen CJ, Hargreave FE, Parameswaran K. Changing pattern of sputum cell counts during successive exacerbations of airway disease. *Respir Med.* 2007;101:2217-20.
- Gibson PG, Norzila MZ, Fakes K, Simpson J, Henry RL. Pattern of airway inflammation and its determinants in children with acute severe asthma. *Pediatr Pulmonol.* 1999;28:261-70.
- Khor YH, Teoh AKY, Lam SM, Mo DCQ, Weston S, Reid DW, et al. Increased vascular permeability precedes cellular inflammation as asthma control deteriorates. *Clin Exp Allergy.* 2009;39:1659-67.
- Lampinen M, Carlson M, Hakansson LD, Venge P. Cytokine-regulated accumulation of eosinophils in inflammatory disease. *Allergy.* 2004;59:793-805.
- Hiraguchi Y, Nagao M, Hosoki K, Tokuda R, Fujisawa T. Neutrophil proteases activate eosinophil function in vitro. *Int Arch Allergy Immunol.* 2008;146(suppl 1):16-21.
- Gorska K, Krenke R, Domagala-Kulawik J, Korczynski P, Nejman-Gryz P, Kosciuch J, et al. Comparison of cellular and biochemical markers or airway inflammation in patients with mild-to-moderate asthma and chronic obstructive pulmonary disease: an induced sputum and bronchoalveolar lavage fluid study. *J Physiol Pharmacol.* 2008;59(suppl 6):271-83.
- Zhang JY, Wenzel SE. Tissue and BAL based biomarkers in asthma. *Immunol Allergy Clin N Am.* 2007;27:623-32.
- Koh GC-H, Shek LP-C, Goh DY-T, Van Bever H, Koh DS-Q. Eosinophil cationic protein: is it useful in asthma? A systematic review. *Respir Med.* 2007;101:696-705.
- Rabinovitch N. Urinary leukotriene. *Immunol Allergy Clin N Am.* 2007;27:651-64.
- Romagnoli M, Vachier I, Tarodo de la Fuente P, Meziane H, Chavis C, Bousquet J, et al. Eosinophilic inflammation in sputum of poorly controlled asthmatics. *Eur Respir J.* 2002;20:1370-7.

29. Shannon J, Ernst P, Yamanuchi Y, Olivenstein R, Lemiere C, Foley S, et al. Differences in airway cytokine profile in severe asthma compared to moderate asthma. *Chest*. 2008;133:420–6.
30. Spahn JD. Asthma biomarkers in sputum. *Immunol Allergy Clin N Am*. 2007;27:607–22.
31. Bartoli ML, Di Franco A, Vagaggini B, Bacci E, Cianchetti S, Dente FL, et al. Biological markers in induced sputum of patients with different phenotypes of chronic airway obstruction. *Respiration*. 2009;77:265–72.
32. Silvestri M, Bontempelli M, Giacomelli M, Malerba M, Rossi GA, Di Stefano A, et al. High serum levels of tumor necrosis factor- α and interleukin-8 in severe asthma: markers of systemic inflammation? *Clin Exp Allergy*. 2006;36:1373–81.
33. Tsoumakidou M, Papadopouli E, Tzanakis N, Siafakas N. Airway inflammation and cellular stress in noneosinophilic atopic asthma. *Chest*. 2006;129:1194–202.
34. Dente FL, Carnevali S, Bartoli ML, Cianchetti S, Bacci E, Di Franco A, et al. Profiles of proinflammatory cytokines in sputum from different groups of severe asthmatic patients. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2006;97:312–20.
35. Higashimoto Y, Yamagata Y, Taya S, Iwata T, Okada M, Ishiguchi T, et al. Systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease and asthma: similarities and differences. *Respirology*. 2008;13:128–33.
36. Rabinovitch N. Urine leukotriene E₄ levels are associated with decreased pulmonary function in children with persistent airway obstruction. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;118:635–40.
37. Papadopouli E, Tzanakis N, Tsoumakidou M, Kyriakoy D, Platakis M, Mantzouranis EC, et al. Comparison of induced sputum inflammatory profiles between childhood and adult-onset asthma. *Respir Med*. 2006;100:1442–50.
38. St-Laurent, Bergeron C, Pagé N, Couture C, Laviolette M, Boulet LP. Influence of smoking on airway inflammation and remodelling in asthma. *Clin Exp Allergy*. 2008;38:1582–9.
39. Claman DM, Boushey HA, Liu J, Wong H, Fahy JV. Analysis of induced sputum to examine the effects of prednisone on airway inflammation in asthmatic subjects. *J Allergy Clin Immunol*. 1994;94:861–9.
40. Keatings VM, Jatakanon A, Worsdell YM, Barnes PJ. Effects of inhaled and oral glucocorticoids on inflammatory indices in asthma and COPD. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;155:542–8.
41. Chalmers GW, MacLeod KJ, Thomson L, Little SA, McSharry C, Thomson NC. Smoking and airway inflammation in patients with mild asthma. *Chest*. 2001;120:1917–22.