



Original

Ausencia de correlación entre marcadores de inflamación pulmonar y sistémica en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica: un análisis bi-compartimental simultáneo



Belen Núñez ^{a,b,c}, Jaume Sauleda ^{a,b,c,*}, Judith Garcia-Aymerich ^{d,e,f}, Aina Noguera ^{a,b,g}, Eduard Monsó ^{c,h}, Federico Gómez ^{c,i}, Esther Barreiro ^{c,e,j,k}, Alicia Marín ^{c,h}, Josep Maria Antó ^{d,e,f}, Alvar Agusti ^{c,l} y Miembros del Grupo de Trabajo sobre la Caracterización Fenotípica y Evolución de la EPOC (PAC-COPD)¹

^a Servei de Pneumologia, Hospital Universitari Son Espases, Palma de Mallorca, España

^b Instituto de Investigación Sanitaria de Palma (IdisPa), Palma de Mallorca, España

^c CIBER Enfermedades Respiratorias (CIBERES), España

^d Centre for Research in Environmental Epidemiology (CREAL), Barcelona, España

^e Departament de Ciències Experimentals i de la Salut (CEXS), Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, España

^f CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Barcelona, España

^g Servei d'Anàlisis Clíniques, Hospital Universitari Son Espases, Palma de Mallorca, España

^h Hospital Parc Taulí, Sabadell, Barcelona, España

ⁱ Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, España

^j Grupo de Investigación en Mecanismos de Predisposición al Cáncer de Pulmón, IMIM (Hospital del Mar Medical Research Institute), Barcelona, España

^k Servei de Pneumologia, Hospital del Mar, Barcelona, España

^l Institut del Tòrax, Hospital Clínic, IDIBAPS, Universitat de Barcelona, Barcelona, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 26 de octubre de 2015

Aceptado el 12 de enero de 2016

On-line el 24 de febrero de 2016

Palabras clave:

Bronquitis crónica

Enfisema

Citoquinas

Proteína C reactiva

R E S U M E N

Introducción: El origen de la inflamación sistémica en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es poco conocido, y una de las hipótesis más aceptadas es el paso de la inflamación del pulmón a la sangre (*spill-over*).

Objetivo: Evaluar la relación entre la inflamación pulmonar y sistémica en la EPOC mediante la cuantificación de diversos marcadores inflamatorios en esputo y suero obtenidos en el mismo individuo de forma simultánea.

Metodología: De 133 pacientes de la cohorte PAC-EPOC se evaluaron las relaciones entre diferentes variables inflamatorias (TNF α , IL-6, IL-8) en suero y esputo. Como objetivo secundario se evaluaron las relaciones de las variables inflamatorias de suero con la función pulmonar.

Resultados: Los valores de los marcadores inflamatorios fueron claramente superiores en esputo que en suero. No se hallaron correlaciones relevantes (en valor absoluto, $r = 0,03-0,24$) entre los marcadores inflamatorios en sangre y en esputo. Tampoco se identificaron asociaciones significativas entre dichos marcadores, con variables de función pulmonar como el FEV₁, DLCO y la PaO₂.

Conclusiones: En pacientes con EPOC estable no existe correlación entre la inflamación pulmonar y sistémica, lo que sugiere mecanismos patogénicos diferentes.

© 2016 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jaume.sauleda@ssib.es (J. Sauleda).

¹ Los miembros del Grupo de Trabajo sobre la Caracterización Fenotípica y Evolución de la EPOC (PAC-COPD) se presentan en [Anexo 1](#).

Lack of Correlation Between Pulmonary and Systemic Inflammation Markers in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Simultaneous, Two-Compartmental Analysis

A B S T R A C T

Keywords:
Chronic bronchitis
Emphysema
Cytokines
C-reactive protein

Introduction: The origin of systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) patients remains to be defined, but one of the most widely accepted hypothesis is the 'spill over' of inflammatory mediators from the lung to the circulation.

Objective: To evaluate the relationship between pulmonary and systemic inflammation in COPD quantifying several inflammatory markers in sputum and serum determined simultaneously.

Methodology: Correlations between various inflammatory variables (TNF- α , IL6, IL8) in sputum and serum were evaluated in 133 patients from the PAC-COPD cohort study. A secondary objective was the evaluation of relationships between inflammatory variables and lung function.

Results: Inflammatory markers were clearly higher in sputum than in serum. No significant correlation was found (absolute value, $r=0.03-0.24$) between inflammatory markers in blood and in sputum. There were no significant associations identified between those markers and lung function variables, such as FEV1, DLCO and PaO2 neither.

Conclusions: We found no correlation between pulmonary and systemic inflammation in patients with stable COPD, suggesting different pathogenic mechanisms.

© 2016 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) se asocia a inflamación pulmonar y sistémica¹⁻³. La primera parece aumentar en pacientes con mayor limitación al flujo aéreo, aunque cabe señalar que la evidencia actualmente disponible se basa en análisis transversales⁴, por lo que no puede establecerse una relación causa-efecto. La segunda no está presente en todos los pacientes con EPOC, pero en aquellos en los que persiste en el tiempo, se asocia a mayor mortalidad y frecuencia de exacerbaciones¹.

El origen de la inflamación sistémica en la EPOC es poco conocido, y una de las hipótesis principales es el traspaso de inflamación del pulmón a la sangre (*spill-over*), por lo que de ser así deberían estar relacionadas. Sin embargo, la relación entre inflamación pulmonar y sistémica en la EPOC es objeto de debate⁵⁻⁷. Los estudios publicados hasta la fecha tienen diversas limitaciones, como su relativo pequeño tamaño muestral^{6,8,9} o la falta de cuantificación simultánea (en el mismo paciente) de los mismos marcadores inflamatorios en el compartimento pulmonar y sistémico¹⁰.

Este estudio tiene por objeto superar estas limitaciones y evaluar las posibles relaciones entre la inflamación pulmonar y sistémica en la EPOC mediante la cuantificación de diversos marcadores inflamatorios en esputo y suero obtenidos en el mismo individuo de forma simultánea, en un número importante de pacientes con EPOC ($n=133$) reclutados en la cohorte PAC-EPOC^{11,12}. Como objetivos secundarios se evaluaron las potenciales asociaciones de la inflamación sistémica con variables de función pulmonar que pueden estar potencialmente relacionadas con la inflamación pulmonar como volumen espiratorio forzado durante el primer segundo (FEV₁), capacidad de difusión del monóxido de carbono (DL_{CO}) y presión parcial de oxígeno en sangre arterial (PaO₂).

Método

Población y aspectos éticos

El estudio PAC-EPOC reclutó 342 pacientes hospitalizados por primera agudización de EPOC en 9 hospitales españoles desde enero de 2004 hasta marzo de 2006^{11,12}. Los pacientes incluidos se estudiaron 3 meses después del alta hospitalaria (más una semana de desviación como máximo) en fase de estabilidad clínica (8 semanas sin nuevas agudizaciones ni cambios en la medicación) y se siguieron ambulatoriamente durante 3 años¹². El diagnóstico de EPOC

se estableció en estabilidad clínica de acuerdo con las recomendaciones ATS/ERS¹³. Se excluyeron del estudio pacientes menores de 45 años, con cáncer, secuelas posttuberculosas, neumonectomía y/o neumoconiosis. En el presente estudio participaron los 133 pacientes (39% del total) que disponían de muestras válidas y simultáneas de inflamación pulmonar y sistémica. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de todos los hospitales participantes, y todos los pacientes firmaron el consentimiento informado.

Caracterización clínica y funcional

Como se ha descrito previamente^{11,12}, los datos clínicos y de historia tabáquica se obtuvieron a partir de cuestionarios validados. El índice de masa corporal (IMC) se calculó como la relación entre el peso y el cuadrado de la altura en metros^{11,12}. La espirometría forzada con prueba broncodilatadora, volúmenes pulmonares, DL_{CO} y gasometría arterial se cuantificaron siguiendo metodología estándar¹⁴⁻¹⁶. Los valores de referencia de la espirometría, volúmenes pulmonares y DL_{CO} corresponden a una población mediterránea^{17,18}.

Inflamación pulmonar

Siempre que fue posible, se obtuvo y se procesó una muestra de esputo espontáneo al menos 60 min después de las pruebas funcionales respiratorias (225 pacientes). En el caso de que el paciente fuese incapaz de expectorar espontáneamente, la muestra de esputo se obtuvo tras inducción con suero salino según metodología estándar¹⁹. De los pacientes que se obtuvo una muestra de esputo ($n=225$), 133 mostraron <20% de células escamosas y fueron utilizados para el análisis²⁰.

En el sobrenadante del esputo se cuantificó la concentración de interleucina 6 (IL-6), IL-8 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) (Cytokine bead array system, BD Biosciences San Diego CA, EE. UU.). El límite inferior de detección (LID) de IL-6, IL-8 y TNF α fue de 2,5, de 3,6 y de 3,7 pg/ml, respectivamente. Siguiendo recomendaciones previas, para evitar el sesgo debido a los pacientes que presentaban valores inferiores al LID, en estos pacientes se asignó un valor nominal de la mitad del LID¹. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado en el laboratorio central del Hospital Universitario Son Espases (Palma de Mallorca). Dado que el coeficiente de variación fue <10% en todos los casos, para el análisis se utilizó el valor medio de las 2 determinaciones.

Las muestras de esputo también fueron cultivadas siguiendo la metodología habitual²¹. La carga bacteriana se cuantificó mediante unidades formadoras de colonias (ufc) por mililitro. Los cultivos se consideraron positivos para colonización si hubo un crecimiento mínimo de 100 ufc/ml de *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, enterobacterias y/o *Staphylococcus aureus*²². En pacientes con cultivos polimicrobianos se consideró para el análisis el microorganismo potencialmente patógeno (MPP) con mayor carga bacteriana.

Inflamación sistémica

El mismo día de la obtención del esputo se obtuvo una muestra de sangre venosa (20 ml) con EDTA por venopunción periférica entre las 08.00 y las 09.00 horas de la mañana, tras ayuno de al menos 6 h; a los fumadores activos también se les solicitó que se abstuvieran de fumar durante las 6 h previas a la obtención de muestras biológicas. La muestra de sangre así obtenida fue inmediatamente centrifugada durante 10 min a 2.000 rpm, y el suero resultante se almacenó a -80°C hasta su análisis posterior.

Los niveles de proteína C reactiva (PCR) se determinaron por duplicado mediante nefelometría de alta sensibilidad, con un LID de 0,175 mg/l (Siemens Healthcare Diagnostics Products GMBH, Marburg, Alemania). Los niveles séricos de IL-6, IL-8 y TNF α se determinaron (por duplicado) por ELISA de alta sensibilidad (Bio-source, Camarillo, CA, EE.UU.), con un LID de 0,03, de 0,10 y de 0,13 pg/ml, respectivamente. Como se ha comentado anteriormente para las determinaciones de esputo, para evitar un sesgo a la baja, en aquellos pacientes con valores inferiores al LID se asignó un valor nominal de la mitad del LID¹. Todos los análisis se realizaron de forma centralizada en el Hospital Universitari Son Espases (Palma Mallorca). Dado que el coeficiente de variabilidad fue $<10\%$ en todos los casos, para el análisis de datos se utilizó el valor medio de las 2 determinaciones.

Análisis estadístico

El tamaño muestral del estudio PAC-EPOC (n = 342) venía determinado por sus objetivos principales¹² y el número de pacientes con datos disponibles para el presente estudio era de 133. Antes de realizar ningún análisis, calculamos el tamaño muestral necesario para identificar como estadísticamente significativas una correlación de 0,35 entre marcadores inflamatorios en suero y vía aérea⁶ y una correlación de 0,29 entre marcadores inflamatorios y FEV₁⁸, usando el programa GRANMO 7.12²³. Aceptando un riesgo alfa de 0,05 y un riesgo beta de 0,2 en un contraste bilateral, el número de pacientes requerido es de 62 y 92, respectivamente, y en ambos objetivos es superado por el número de pacientes disponible. La normalidad de la distribución de las variables se calculó con el test de Kolmogorov-Smirnov. Los resultados se muestran como media (desviación estándar) en las variables que siguen distribución normal o mediana [percentil 25-75] en caso contrario. Las variables cualitativas se muestran como porcentaje. Para la comparación de los valores de 2 grupos se utilizó el test de t de Student para variables de distribución normal y el de Mann-Whitney o Wilcoxon en caso de variables de distribución no normal. La valoración de las diferencias entre variables cualitativas se realizó mediante el test de Chi-cuadrado. La relación entre las variables de inflamación pulmonar y sistémica se estimó mediante coeficientes de correlación de Spearman. Se consideró una correlación muy baja, baja, moderada o alta si el coeficiente de correlación era en valor absoluto $<0,25$, $0,25-0,50$, $0,51-0,75$ o $>0,75$, respectivamente²⁴. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$, excepto en el caso de comparaciones/correlaciones múltiples, en el que el citado valor

Tabla 1

Datos clínicos y funcionales de los pacientes incluidos en el análisis

	Pacientes (n = 133)
Edad (años), media \pm DE	69 \pm 9
Varones, n (%)	124 (93%)
Exposición tabaco (paquetes-año), media \pm DE	71 \pm 42
IMC, kg/m ² , media \pm DE	28 \pm 5
FEV ₁ (% referencia), media \pm DE	52 \pm 16
FEV ₁ /FVC (%), media \pm DE	53 \pm 12
DL _{CO} (% referencia), media \pm DE	66 \pm 21
PaO ₂ (mmHg), media \pm DE	72 \pm 9
PaCO ₂ (mmHg), media \pm DE	41 \pm 5

DL_{CO}: capacidad de difusión del monóxido de carbono; FEV₁: volumen espiratorio forzado durante el primer segundo; FEV₁/FVC (%): cociente entre el volumen espiratorio forzado durante el primer segundo y la capacidad vital forzada; IMC: índice de masa corporal; PaO₂: presión parcial de oxígeno en sangre arterial; PaCO₂: presión parcial de dióxido de carbono en sangre arterial.

de p se modificó de acuerdo a Bonferroni. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS (SPSS Inc, Chicago, IL, EE. UU.).

Resultados

Características clínicas y funcionales de los pacientes

De la cohorte inicial (342 pacientes), el esputo no se pudo recoger en un tercio de los pacientes porque fueron incapaces de expectorar, por lo que de entrada se evaluaron 225 pacientes con esputo. Estos pacientes eran ($p < 0,05$) más jóvenes (66 vs. 69 años), tenían menor exposición tabáquica (58 vs. 69 paquetes-año), mayor limitación al flujo aéreo (FEV₁ 49 vs. 54% ref.) y menor valor de DL_{CO} (60 vs. 67% ref.). De estos 225 pacientes, solo 133 tenían esputo representativo. Sus características clínicas eran similares a los que no tenían un esputo válido, excepto que su FEV₁ era inferior (52 vs. 57%, $p < 0,05$). De los 133 pacientes con esputo válido, en 76 se obtuvo el esputo espontáneamente y en 57 fue inducido sin haber diferencias clínicas ni biológicas entre ambas poblaciones (datos no mostrados).

La **tabla 1** muestra los principales datos antropométricos, clínicos y funcionales de los pacientes incluidos en el estudio.

Microbiología

Treinta y nueve (29%) de los 133 pacientes en los que se obtuvo una muestra válida de esputo estaban colonizados por MPP. El MPP más frecuentemente aislado fue *Haemophilus influenzae* (n = 22, 19%).

Marcadores inflamatorios

La **tabla 2** muestra los niveles de biomarcadores inflamatorios en esputo y en sangre (siempre superiores en esputo). La mediana de PCR fue de 4,1 [1,9-7] mg/l. La **figura 1** muestra la práctica ausencia de relación entre los valores de IL-6, IL-8 y TNF α medidos simultáneamente en el mismo paciente en suero y esputo. Se observa una correlación aislada, baja, con *outliers* y gran dispersión, entre el TNF α en esputo y en sangre ($r = 0,24$, $p < 0,01$).

Tabla 2

Inflamación en esputo y suero (mediana [percentil 25-75])

	Esputo	Suero
TNF α (pg/ml)	0,94 [0,92-18]	0,20 [0,05-0,6]
IL-8 (pg/ml)	11350 [3,908-1.6141]	4,2 [3,2-5,7]
IL-6 (pg/ml)	123 [53-259]	1,1 [0,6-2]
PCR (mg/l)		4,1 [1,9-7]

* $p < 0,01$.

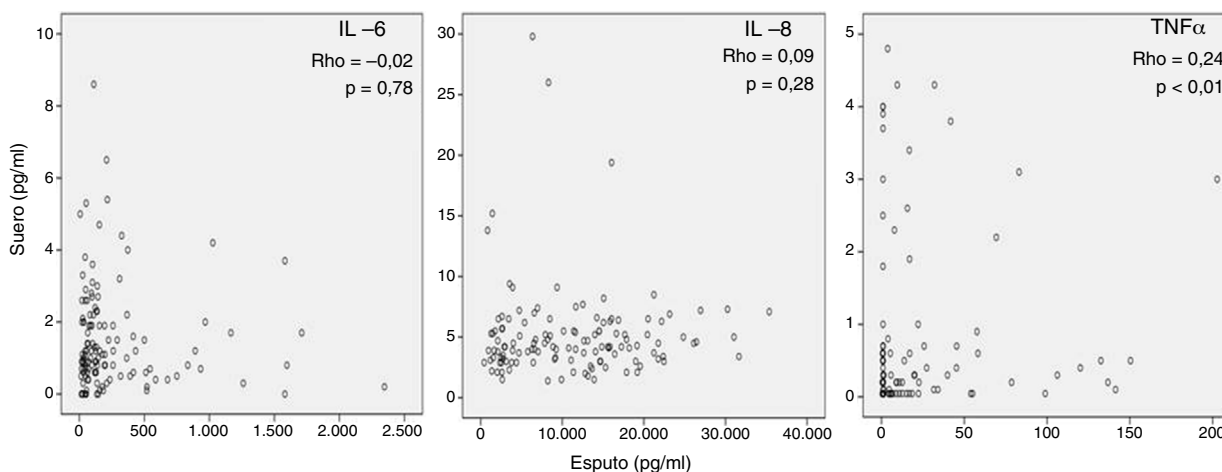


Figura 1. Relación de marcadores inflamatorios (IL-6, IL-8 y TNF α) en suero y esputo en 133 pacientes con EPOC estable.

Por otra parte, observamos que los marcadores inflamatorios determinados en suero no tenían relación (aunque alguna aislada, pero al igual que en el caso anterior, con poca relevancia estadística) con los valores de FEV₁ (fig. 2), DL_{CO} (fig. 3), PaO₂ o edad (datos no mostrados). Los resultados de las asociaciones entre la inflamación sistémica y la colonización bronquial se publicaron previamente y solo se observó una asociación aislada entre PCR y colonización bronquial²⁰.

Discusión

La principal observación de este estudio es la ausencia de correlación entre diversos marcadores inflamatorios determinados

simultáneamente en el mismo paciente con EPOC estable en sangre y en esputo. Tampoco se identificaron asociaciones significativas entre dichos marcadores con variables de función pulmonar, como el FEV₁, la DL_{CO} y la PaO₂, o con la edad.

Estudios previos

Diversos estudios previos han evaluado las relaciones entre inflamación pulmonar y sistémica en pacientes con EPOC. Sin embargo, presentan algunas limitaciones metodológicas, como la correlación entre marcadores diferentes en los compartimentos pulmonar y sistémico¹⁰, o que evalúan las relaciones entre inflamación sistémica y variables de función pulmonar, asumiendo que

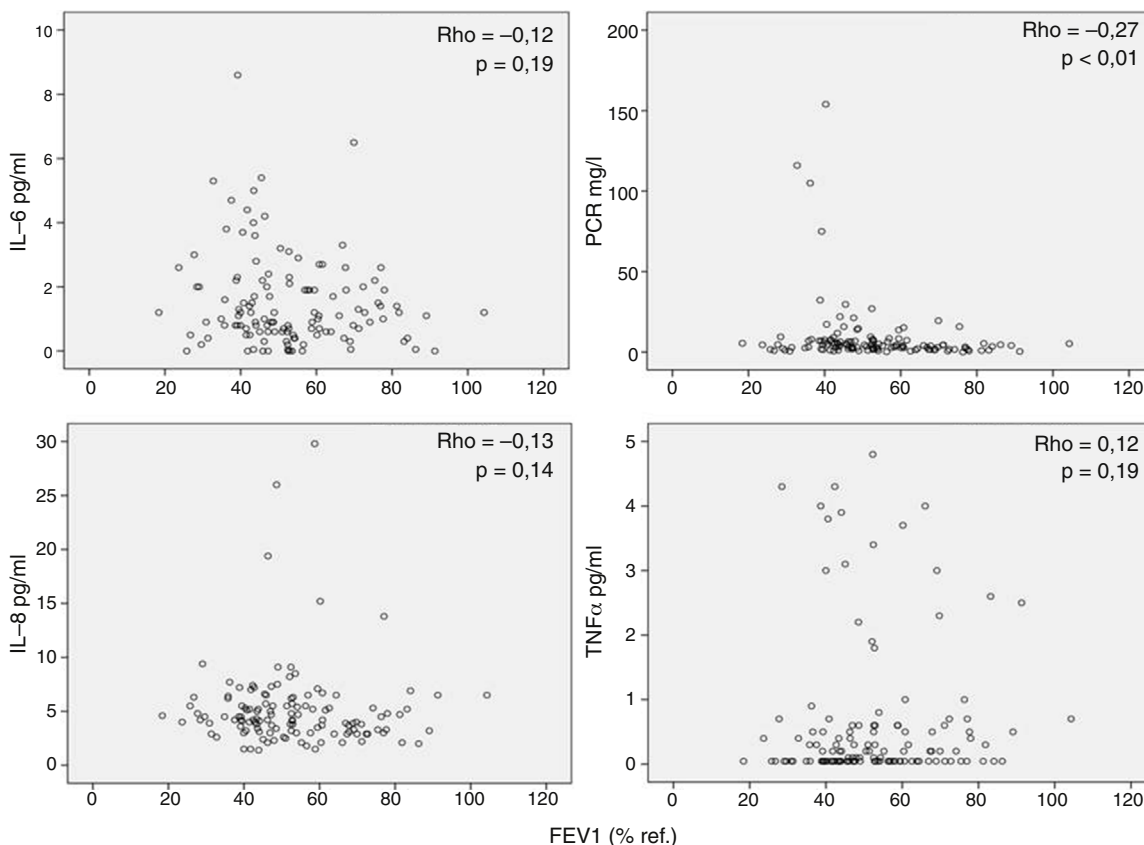


Figura 2. Relación entre el grado de limitación al flujo aéreo (FEV₁, % referencia) y marcadores inflamatorios determinados en suero.

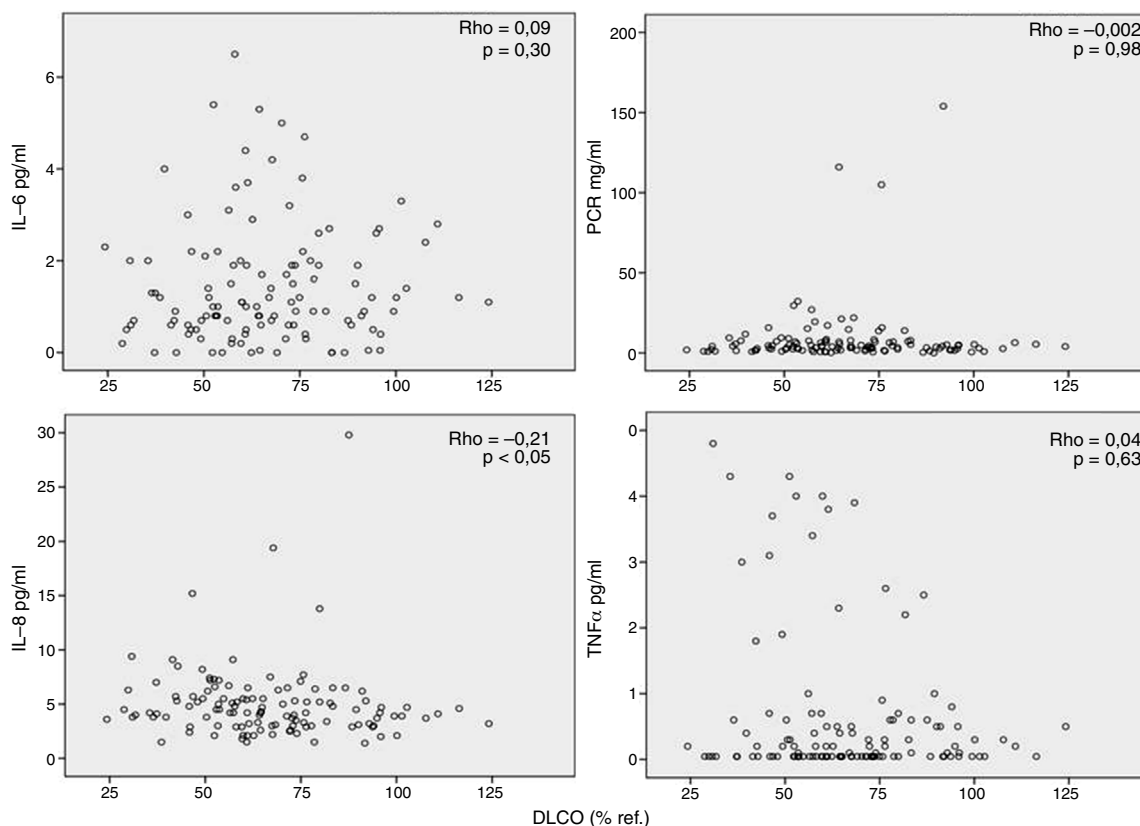


Figura 3. Relación entre la capacidad de difusión (DL_{CO} % referencia) y marcadores inflamatorios determinados en suero.

estas son reflejo de la inflamación pulmonar^{25,26}. Por otra parte, los estudios que comparan los mismos marcadores en sangre y pulmón tienen un tamaño muestral pequeño (<30 pacientes)^{6,8,9}. Nuestro estudio compara los mismos marcadores en suero y esputo en una muestra muy superior (133 pacientes) a la de estos estudios previos, y además, a diferencia de estos, nuestros pacientes estaban mejor caracterizados^{11,12}.

Interpretación de los resultados

Se ha sugerido que la inflamación sistémica en pacientes con EPOC se debe al paso de células y/o proteínas inflamatorias desde el pulmón a la sangre (*spill-over*)⁷. Esta hipótesis se basaba en observaciones previas en animales de experimentación²⁷ y en humanos²⁸ que demostraban que el paso de proteínas pulmonares a la circulación sistémica era posible. Nuestros resultados no apoyan la teoría del *spill-over* porque no observamos ninguna relación relevante entre marcadores de inflamación pulmonar y sistémica determinados en el mismo paciente de forma simultánea (fig. 1). Por el contrario, nuestras observaciones sugieren que la respuesta inflamatoria en estos 2 compartimentos biológicos en pacientes con EPOC establece tiene mecanismos de regulación diferentes. La ausencia de correlaciones relevantes entre inflamación sistémica y variables de función pulmonar (figs. 2 y 3) apoya esta interpretación y está en concordancia con diversos estudios previos^{2,29-31}. En la misma línea, la colonización bronquial, que se asocia a una marcada respuesta inflamatoria local²⁰, no asociaría un incremento paralelo de estos mismos marcadores a nivel sistémico en nuestros pacientes, aunque asociándose de forma aislada a niveles más elevados de PCR en sangre en los pacientes colonizados²⁰ pero de menor magnitud que los observados durante las agudizaciones de la enfermedad⁶. En conjunto, todas estas observaciones indican que la presencia de inflamación

sistémica es una característica fenotípica independiente en la EPOC cuyo origen y consecuencias tendrán que ser definidos en futuros estudios.

Finalmente, cabe comentar que la relación entre marcadores inflamatorios sistémicos y edad es controvertida²⁹; en nuestro caso no objetivamos ninguna correlación.

Implicaciones clínicas potenciales

Si, como sugieren nuestros resultados, la inflamación sistémica es una característica fenotípica independiente en la EPOC, y su presencia se asocia a una mayor frecuencia de agudizaciones y superior mortalidad¹, se precisan ensayos clínicos aleatorizados que evalúen diversas alternativas terapéuticas en pacientes con EPOC con estas características. En este sentido es de interés señalar el estudio piloto de McDonald et al.³², en el que se utiliza el valor de PCR para indicar tratamiento con estatinas; los pacientes tratados mostraron una reducción significativa de la PCR.

Fortalezas y limitaciones

El tamaño muestral de nuestro estudio ($n=133$), muy superior al de estudios previos^{8,9}, la completa caracterización clínica de los pacientes estudiados (función pulmonar, estado nutricional, microbiología, comorbilidades, etc.), y especialmente el hecho de que los diferentes marcadores inflamatorios analizados hayan sido determinados simultáneamente en suero y esputo son claras fortalezas del mismo. Como cualquier estudio, sin embargo, el nuestro también tiene limitaciones, entre las que cabe destacar: 1) La inflamación determinada en esputo podría no ser idéntica a la existente en tejido pulmonar. 2) No se obtuvo esputo en 117 pacientes de la cohorte inicial de 342 pacientes (34%); estos pacientes eran más jóvenes (66 versus 69 años), más fumadores (58 versus

69 paq-a) y con peor función pulmonar (49% versus 54%). Ello podría explicarse por la mayor historia de tabaquismo que podría favorecer la expectoración³³ o que de *per se* podría constituir otro fenotipo. Por lo que se refiere a la edad, a pesar de que las diferencias fueron estadísticamente significativas, en valor absoluto fueron clínicamente irrelevantes (3 años). 3) Solo se obtuvo esputo válido en 133 pacientes del total 225 con esputo. Los pacientes con esputo válido del resto de pacientes que consiguieron expectorar se diferenciaron solo en el FEV₁ (52 versus 57%, $p < 0,05$). Este fenómeno ya se ha descrito en otros estudios, que han observado una correlación directa entre el esputo válido y el grado de obstrucción al flujo aéreo³⁴. Por lo que respecta al porcentaje de esputos válidos respecto al total de la cohorte (133/342; 39%), es similar a otras series^{35,36}. 4) Los datos microbiológicos se publicaron en otro artículo²⁰, pero los objetivos del presente estudio son diferentes y la gran mayoría de resultados también. Para complementar mejor las relaciones entre la inflamación pulmonar se han añadido estos datos de microbiología. 5) La mayoría de los pacientes eran hombres, por lo que nuestros resultados no se pueden extrapolar directamente a mujeres, ya que la enfermedad se manifiesta de forma diferente³⁷.

Conclusiones

En pacientes con EPOC estable no existe correlación entre la inflamación pulmonar y sistémica, lo que sugiere que la hipótesis del *spill-over* es poco probable y los mecanismos patogénicos responsables de la inflamación en ambos compartimentos son independientes.

Financiación

Financiado en parte por: Fondo de Investigación Sanitaria (PI020541, PI052082, PI052486, 11/02029, 14/00713), Ministerio de Salud, España; Agència d'Avaluació de Tecnologia i Recerca Mèdiques (AATRM 035/20/02), Govern de Catalunya; Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR 2002/137, SEPAR 2013); Fundació Catalana de Pneumologia (FUCAP 2003 Beca Marià Ravà); Red RESPIRA (RTIC C03/11); Red RCESP (RTIC C03/09); Fundació La Marató de TV3 (núm. 041110); DURSI (2005SGR00392), y una beca educativa de Novartis Farmacéutica. CIBERESP y CIBERES están fundadas por el Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Salud, España. Direcció General d'Investigació i Desenvolupament Tecnològic de la Conselleria d'Innovació, Interior i Justícia de la Comunitat Autònoma de les Illes Balears y Fondos FEDER (Grupos competitivos) (PRE-R-22528-2011).

Autoría

Belén Núñez: reclutamiento pacientes, recolección de muestras, análisis inflamación sangre y esputo, base de datos, análisis estadístico, discusión resultados, redacción manuscrito.

Jaume Saulea: redacción del proyecto FIS (PI052082), reclutamiento, análisis estadístico, discusión resultados, redacción manuscrito.

Judith García-Aymerich: redacción del proyecto de la cohorte, análisis estadístico, discusión, redacción manuscrito.

Aina Noguera: análisis inflamación sangre y esputo, discusión, redacción manuscrito.

Eduard Monsó: recolección y procesado de los esputos, discusión, redacción manuscritos.

Federico Gómez: reclutamiento, recolección y procesado de los esputos, discusión, redacción manuscritos.

Esther Barreiro: reclutamiento, recolección de muestras, discusión, redacción manuscritos.

Alicia Marín: reclutamiento, recolección y procesado de los esputos, discusión, redacción manuscritos.

Josep Maria Antó: redacción del proyecto de la cohorte, discusión, redacción manuscrito.

Alvar Agustí: redacción del proyecto FIS (PI052082), análisis estadístico, discusión resultados, redacción manuscrito análisis estadístico, discusión, redacción manuscrito.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los participantes en el estudio por su voluntad de contribuir a la investigación biomédica, así como a Meritxell López (E.I.), Angel Ríos (E.I.), Josep Lluís Valera (E.I.), Sara Barea (E.I.) y a la Dra. Cristina Villena por su ayuda técnica durante el estudio.

Anexo 1. Miembros del Grupo de Trabajo sobre la Caracterización Fenotípica y Evolución de la EPOC (PAC-COPD)

Centro de Investigación en Epidemiología Ambiental (CREAL), Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM), Barcelona: Josep M. Antó (investigador principal), Judith Garcia-Aymerich (coordinadora de proyecto), Marta Benet, Jordi de Batlle.

Hospital del Mar-IMIM, Barcelona: Joaquim Gea (coordinador del centro), Eva Balcells, Àngel Gayete, Mauricio Orozco-Levi.

Hospital Clínic-Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona: Joan Albert Barberà (coordinador del centro), Federico P. Gómez, Carles Paré, Josep Roca, Robert Rodríguez-Roisin.

Hospital General Universitari Vall d'Hebron, Barcelona: Jaume Ferrer (coordinador del centro), Esther Pallissa, Esther Rodríguez.

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona: Pere Casan (coordinador del centro), Rosa Güell, Ana Giménez.

Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona: Eduard Monsó (coordinador del centro), Alicia Marín, Josep Morera.

Hospital Universitario de Bellvitge, l'Hospitalet de Llobregat: Eva Farrero (coordinador del centro), Joan Escarrabill.

Hospital de Sabadell, Corporació Parc Taulí, Institut Universitari Parc Taulí (Universitat Autònoma de Barcelona), Sabadell: Antoni Ferrer (coordinador del centro)

Hospital Universitari Son Dureta, Palma de Mallorca: Jaume Saulea (coordinador del centro), Àlvar G.N. Agustí, Bernat Togores.

Hospital de Cruces, Barakaldo: Juan Bautista Gáldiz (coordinador del centro), Lorena López.

Hospital General Universitari, Valencia: José Belda.

Bibliografía

- Agusti A, Edwards LD, Rennard SI, MacNee W, Tal-Singer R, Miller BE, et al. Persistent systemic inflammation is associated with poor clinical outcomes in COPD: A novel phenotype. *PLoS One*. 2012;7:e37483.
- García-Río F, Miravittles M, Soriano JB, Muñoz L, Duran-Tauleria E, Sanchez G, et al. Systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease: A population-based study. *Respir Res*. 2010;11:63–78.
- Vestbo J, Hurd SS, Agustí AG, Jones PW, Vogelmeier C, Anzueto A, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;187:347–65.
- Hogg JC, Chu F, Utokaparch S, Woods R, Elliott WM, Buzatu L, et al. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med*. 2004;350:2645–53.
- Agusti A. Systemic effects of chronic obstructive pulmonary disease: what we know and what we don't know (but should). *Proc Am Thorac Soc*. 2007;4:522–5.

6. Hurst JR, Perera WR, Wilkinson TM, Donaldson GC, Wedzicha JA. Systemic and upper and lower airway inflammation at exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;173:71–8.
7. Sinden NJ, Stockley RA. Systemic inflammation and comorbidity in COPD: A result of 'overspill' of inflammatory mediators from the lungs. Review of the evidence. *Thorax.* 2010;65:930–6.
8. Roland M, Bhowmik A, Sapsford RJ, Seemungal TA, Jeffries DJ, Warner TD, et al. Sputum and plasma endothelin-1 levels in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax.* 2001;56:30–5.
9. Vernooy JH, Kucukaycan M, Jacobs JA, Chavannes NH, Buurman WA, Dentener MA, et al. Local and systemic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease: Soluble tumor necrosis factor receptors are increased in sputum. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166:1218–24.
10. Singh D, Edwards L, Tal-Singer R, Rennard S. Sputum neutrophils as a biomarker in COPD: Findings from the ECLIPSE study. *Respir Res.* 2010;11:77–89.
11. Garcia-Aymerich J, Gomez FP, Anto JM. Phenotypic characterization and course of chronic obstructive pulmonary disease in the PAC-COPD Study: Design and methods. *Arch Bronconeumol.* 2009;45:4–11.
12. Garcia-Aymerich J, Gomez FP, Benet M, Farrero E, Basagana X, Gayete A, et al. Identification and prospective validation of clinically relevant chronic obstructive pulmonary disease (COPD) subtypes. *Thorax.* 2011;66:430–7.
13. Celli BR, MacNee W. Standards for the diagnosis and treatment of patients with COPD: A summary of the ATS/ERS position paper. *Eur Respir J.* 2004;23:932–46.
14. MacIntyre N, Crapo RO, Viegi G, Johnson DC, van der Grinten CP, Brusasco V, et al. Standardisation of the single-breath determination of carbon monoxide uptake in the lung. *Eur Respir J.* 2005;26:720–35.
15. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J.* 2005;26:319–38.
16. Wanger J, Clausen JL, Coates A, Pedersen OF, Brusasco V, Burgos F, et al. Standardisation of the measurement of lung volumes. *Eur Respir J.* 2005;26:511–22.
17. Roca J, Sanchis J, Agusti-Vidal A, Segarra F, Navajas D, Rodriguez-Roisin R, et al. Spirometric reference values from a Mediterranean population. *Bull Eur Pathol Respir.* 1986;22:217–24.
18. Roca J, Burgos F, Barbera JA, Sunyer J, Rodriguez-Roisin R, Castellsague J, et al. Prediction equations for plethysmographic lung volumes. *Respir Med.* 1998;92:454–60.
19. 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.
20. Marin A, Garcia-Aymerich J, Sauleda J, Belda J, Millares L, Garcia-Nunez M, et al. Effect of bronchial colonisation on airway and systemic inflammation in stable COPD. *COPD.* 2012;9:121–30.
21. Patel IS, Seemungal TA, Wilks M, Lloyd-Owen SJ, Donaldson GC, Wedzicha JA. Relationship between bacterial colonisation and the frequency, character, and severity of COPD exacerbations. *Thorax.* 2002;57:759–64.
22. Sethi S, Sethi R, Eschberger K, Lobbins P, Cai X, Grant BJ, et al. Airway bacterial concentrations and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;176:356–61.
23. Marrugat J, Vila J, Pavesi M, Sanz F. Estimation of the sample size in clinical and epidemiological investigations. *Med Clin (Barc).* 1998;111:267–76.
24. Dawson BTR. *Basic and Clinical Biostatistics.* 4th ed. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill; 2004.
25. Ahmadi-Abhari S, Kaptoge S, Luben RN, Wareham NJ, Khaw KT. Longitudinal association of C-reactive protein and lung function over 13 years: The EPIC-Norfolk study. *Am J Epidemiol.* 2014;179:48–56.
26. Kalhan R, Tran BT, Colangelo LA, Rosenberg SR, Liu K, Thyagarajan B, et al. Systemic inflammation in young adults is associated with abnormal lung function in middle age. *PLoS One.* 2010;5:e11431.
27. Smith RM, Traber LD, Traber DL, Spragg RG. Pulmonary deposition and clearance of aerosolized alpha-1-proteinase inhibitor administered to dogs and to sheep. *J Clin Invest.* 1989;84:1145–54.
28. Hubbard RC, Brantly ML, Sellers SE, Mitchell ME, Crystal RG. Anti-neutrophil-elastase defenses of the lower respiratory tract in alpha 1-antitrypsin deficiency directly augmented with an aerosol of alpha 1-antitrypsin. *Ann Intern Med.* 1989;111:206–12.
29. Bruunsgaard H, Pedersen M, Pedersen BK. Aging and proinflammatory cytokines. *Curr Opin Hematol.* 2001;8:131–6.
30. De Torres JP, Cordoba-Lanus E, Lopez-Aguilar C, Muros de FM, Montejo de GA, Aguirre-Jaime A, et al. C-reactive protein levels and clinically important predictive outcomes in stable COPD patients. *Eur Respir J.* 2006;27:902–7.
31. Sin DD, Miller BE, Duvoix A, Man SF, Zhang X, Silverman EK, et al. Serum PARC/CCL-18 concentrations and health outcomes in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;183:1187–92.
32. McDonald VM, Higgins I, Wood LG, Gibson PG. Multidimensional assessment and tailored interventions for COPD: Respiratory utopia or common sense. *Thorax.* 2013;68:691–4.
33. Bhowmik A, Chahal K, Austin G, Chakravorty I. Improving mucociliary clearance in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med.* 2009;103:496–502.
34. Miravittles M, Espinosa C, Fernandez-Laso E, Martos JA, Maldonado JA, Gallego M. Relationship between bacterial flora in sputum and functional impairment in patients with acute exacerbations of COPD. Study Group of Bacterial Infection in COPD. *Chest.* 1999;116:40–6.
35. Boixeda R, Almagro P, Díez-Manglano J, Cabrera FJ, Recio J, Martín-Garrido I, et al. Bacterial flora in the sputum and comorbidity in patients with acute exacerbations of COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2015;10:2581–91.
36. Telgen MC, Brusse-Keizer MG, van der Valk PD, van der Palen J, Kerstjens HA, Hendrix MG. Impact on clinical decision making of quality control standards applied to sputum analysis in COPD. *Respir Med.* 2011;105:371–6.
37. Aryal S, Diaz-Guzman E, Mannino DM. COPD and gender differences: an update. *Transl Res.* 2013;162:208–18.