

L. Prieto, V. Gutiérrez,
S. Uixera

Sección de Alergología,
Hospital Universitario
Dr. Peset, Valencia
Proyecto NAOMI

Editorial

Aportaciones del estudio de los marcadores de inflamación en muestras de esputo inducido a los cambios conceptuales en el asma

La aceptación generalizada del carácter inflamatorio del asma se ha seguido de un considerable esfuerzo para estandarizar métodos no agresivos que permitan identificar la presencia de inflamación bronquial y paliar la insuficiente información aportada por los parámetros de función pulmonar. Uno de los métodos más desarrollados es el estudio de las muestras de esputo inducido obtenidas mediante la nebulización ultrasónica de salino hipertónico^{1,2}. Los aspectos técnicos de la prueba^{2,3}, la repetibilidad de las determinaciones^{4,5}, su relación con la información aportada por los métodos agresivos como el lavado broncoalveolar (BAL) o biopsia bronquial⁶⁻⁹ y las modificaciones de los diferentes marcadores como consecuencia de los estímulos pro-inflamatorios¹⁰⁻¹² y de los agentes antiinflamatorios¹³⁻¹⁵ están perfectamente establecidos. Todos estos aspectos técnicos se han revisado recientemente¹⁶⁻¹⁸.

El estudio de las muestras de esputo inducido no tiene, en este momento, unas indicaciones clínicas establecidas, aunque algunos estudios recientes permiten presuponer una utilidad para el control evolutivo de la enfermedad¹⁹⁻²¹. Además, la técnica es demasiado laboriosa, aunque determinados intentos de automatización²², si se establecen definitivamente, pudieran resultar decisivos para su uso clínico sistemático. No obstante, la determinación de marcadores de inflamación en muestras de esputo inducido ha permitido modificar determinadas creencias axiomáticas y ha contribuido a modificar el concepto "organista" de la enfermedad alérgica respiratoria.

DISOCIACIÓN ENTRE INFLAMACIÓN Y FUNCIÓN PULMONAR

Han sido muchos los estudios que han determinado la relación entre marcadores de inflamación eosinofílica en muestras de esputo inducido y los parámetros espirométricos (revisado en referencia 23). La mayoría de estos estudios han encontrado una correlación bastante débil, aunque estadísticamente significativa. Algo similar se ha observado cuando se ha analizado la relación entre marcadores de inflamación eosinofílica en muestras de esputo y la variabilidad circadiana del flujo espiratorio máximo²⁴. Conjuntamente, todos estos resultados parecen indicar que los marcadores de inflamación y los parámetros de función pulmonar proporcionan información acerca de aspectos diferentes de la enfermedad.

Correspondencia:
Dr. L. Prieto
Sección de Alergología,
Hospital Universitario Dr. Peset
C/ Gaspar Aguilar, 90
46017 Valencia
E-mail: prieto_jes@gva.es

Los argumentos más importantes para ilustrar la disociación entre inflamación y función pulmonar en el asma, proceden de estudios que han evaluado, de manera paralela, las modificaciones de los parámetros de función pulmonar y de los marcadores de inflamación en muestras de esputo inducido, que ocurren como consecuencia de los estímulos pro-inflamatorios o del tratamiento antiinflamatorio. En los pacientes con asma alérgica, tanto la exposición natural a los alérgenos como la exposición controlada a los mismos en el laboratorio (prueba de provocación bronquial) inducen tanto obstrucción como inflamación, por lo que el estudio de la respuesta a estos agentes representa un buen modelo para determinar la relación entre los deterioros funcionales y las alteraciones inflamatorias en el asma.

La aceptación del carácter inflamatorio de la respuesta tardía funcional a la provocación bronquial con el alérgeno en el laboratorio, ha traído como consecuencia la interpretación poco afortunada de determinadas observaciones. Por ejemplo, Pizzichini et al²⁵ encontraron que una dosis única de 100 µg de salmeterol bloqueaba la respuesta tardía funcional a la provocación alérgica mucho más eficazmente que una dosis de 500 µg de beclometasona. Si se acepta el carácter inflamatorio de la respuesta tardía al alérgeno, estos resultados parecían sugerir que el β-adrenérgico mostraba mayor capacidad antiinflamatoria que el esteroide. Sin embargo, cuando se analizaron, en los mismos pacientes, los efectos de cada fármaco sobre los marcadores de inflamación en muestras de esputo inducido, se constató que salmeterol no proporcionaba ningún tipo de protección frente a los incrementos de eosinófilos, mastocitos o proteína catiónica del eosinófilo (ECP), inducidos por la provocación alérgica. En consecuencia, parece que el bloqueo de la respuesta tardía funcional no era consecuencia de los pretendidos efectos antiinflamatorios de salmeterol, sino de los efectos del mismo sobre el tono del músculo liso bronquial. Con posterioridad, otros estudios han demostrado también que la respuesta tardía funcional a la provocación alérgica no era un modelo adecuado para determinar los efectos antiinflamatorios de los fármacos utilizados para el tratamiento del asma^{26,27}.

Sin duda, las pruebas más evidentes de la disociación entre la inflamación inducida por los alérgenos y los deterioros de la función pulmonar han sido aportadas por Sulakvelidze et al²⁸. Estos autores estudiaron un grupo de pacientes con asma alérgica y, mediante una prueba de provocación bronquial convencional con el alérgeno, identificaron una dosis del mismo insuficiente para desencade-

nar respuesta inmediata o tardía. Una vez concluida esta fase inicial del estudio, los pacientes recibieron esta dosis "subumbral" del alérgeno diariamente durante 5 días consecutivos. Observaron que, aunque los deterioros del FEV₁ fueron muy discretos (caída media del 7% durante la fase inmediata y del 5,3% durante la fase tardía de la respuesta funcional), el alérgeno inducía aumentos significativos de eosinófilos y de IL-5 en muestras de esputo inducido.

Todos los datos aportados previamente sugieren una importante disociación entre la respuesta funcional y la respuesta inflamatoria a los alérgenos inhalados. En consecuencia, mediante la determinación de los deterioros de la función pulmonar inducidos por la inhalación de los alérgenos puede obtenerse información acerca de la capacidad de estos agentes para inducir aumentos del tono del músculo liso bronquial, pero no acerca de su capacidad para inducir inflamación²⁹.

Por otra parte, el estudio de las modificaciones de los marcadores de inflamación en muestras de esputo inducido, que ocurren como consecuencia del tratamiento antiinflamatorio, ha confirmado la disociación entre inflamación y función pulmonar en el asma. En un grupo de pacientes asmáticos agudizados, Pizzichini et al³⁰ estudiaron las modificaciones del FEV₁ y de determinados marcadores de inflamación bronquial, que ocurrían como consecuencia del tratamiento con prednisona oral. Encontraron que el FEV₁ mejoraba significativamente al cabo de 24 horas de iniciar el tratamiento, mientras que las mejorías de los marcadores de inflamación (eosinófilos y ECP) en muestras de esputo inducido no se detectaban hasta 2 a 3 días después de iniciar el tratamiento. Además, cuando se retiró el esteroide, se observaron incrementos de los marcadores de inflamación en esputo, pero no deterioros del FEV₁. Otros autores han confirmado posteriormente la disociación entre los efectos antiinflamatorios de los fármacos (en muestras de esputo inducido) y sus efectos sobre la función pulmonar³¹⁻³⁴.

Los resultados de los estudios analizados previamente sugieren las siguientes conclusiones:

- Los parámetros de función pulmonar aportan una información poco precisa y en ocasiones equívoca, acerca de la presencia e intensidad de la inflamación bronquial en el asma.
- En los pacientes asmáticos, los parámetros funcionales y los marcadores de inflamación en muestras de esputo inducido ofrecen información acerca de aspectos diferentes de la enfermedad.
- Si se acepta el carácter inflamatorio del asma, los parámetros de función pulmonar no pueden considerarse

como el patrón de referencia para el control evolutivo de la enfermedad.

MODIFICACIÓN DEL CONCEPTO "ORGANICISTA" DE LA ENFERMEDAD ALÉRGICA RESPIRATORIA

El estudio de los marcadores de inflamación en muestras de esputo inducido ha permitido progresar en el conocimiento de la íntima relación entre las diferentes manifestaciones de la enfermedad alérgica respiratoria.

Han sido muchos los estudios que han encontrado hipersensibilidad bronquial³⁵⁻³⁷ o hiperrespuesta bronquial³⁸ a agonistas broncoconstrictores directos (histamina o metacolina) en una importante proporción de pacientes con rinitis alérgica, que nunca habían presentado síntomas de asma. Estos datos sugerían la presencia de alteraciones estructurales en las vías aéreas de estos individuos, que quizás no alcanzaban una intensidad suficiente como para traducirse en síntomas de asma. Más recientemente se ha encontrado que una importante proporción de pacientes con rinitis alérgica presentaba hipersensibilidad bronquial a agonistas broncoconstrictores indirectos, como la adenosina 5'-monofosfato (AMP) y el acetaldehído³⁹⁻⁴¹. Puesto que la respuesta a estos agonistas indirectos parece depender de la presencia de inflamación activa en las vías aéreas⁴², estos datos sugerían que los pacientes con rinitis alérgica podían presentar alteraciones inflamatorias en sus bronquios. El estudio de los marcadores de inflamación en muestras de esputo inducido ha aclarado definitivamente esta sospecha.

Diferentes estudios han encontrado que los pacientes con rinitis alérgica presentan inflamación eosinofílica en sus vías aéreas, cuando la misma se determina mediante el estudio de muestras de esputo inducido. Además, esta inflamación se detecta predominantemente, aunque no exclusivamente, en los pacientes con hipersensibilidad^{43,44} o hiperrespuesta bronquial (Gutiérrez V et al. Datos no publicados) a metacolina o con hipersensibilidad bronquial a AMP⁴⁵. En este momento, no es posible aportar una explicación definitiva para el hecho de que estos pacientes con rinitis alérgica, que presentan hipersensibilidad, hiperrespuesta bronquial e inflamación eosinofílica en sus vías aéreas, no sufran síntomas de asma, aunque se ha postulado que la presencia de fenómenos apoptóticos en los eosinófilos de estos pacientes con rinitis alérgica pudiera ser la causa de esta aparente paradoja⁴⁶.

Parece evidente que la rinitis alérgica y el asma son procesos íntimamente relacionados y que no puede estable-

cerse un límite definitivo entre ambas enfermedades, ni mediante parámetros funcionales ni mediante marcadores de inflamación. En este contexto, es difícil comprender por qué, en un mismo individuo sensibilizado a alérgenos inhalados, se acepta el origen alérgico para sus manifestaciones nasales, pero no para sus síntomas pulmonares.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, Girgis-Gabardo A, Denburg JA, Hargreave FE, et al. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 1992; 47: 25-29.
2. Fahy JV, Liu J, Wong H, Boushey HA. Cellular and biochemical analysis of induced sputum from asthmatic and from healthy subjects. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 1126-1131.
3. Popov T, Gottschalk R, Kolendowicz R, Dolovich J, Powers P, Hargreave FE. The evaluation of a cell dispersion method of sputum examination. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 778-783.
4. Pizzichini E, Pizzichini MMM, 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: 308-317.
5. In't Veen JCCM, de Gouw HWFM, Smits HH, Sont JK, Hiemstra PS, Sterk PJ, Bel EH. Repeatability of cellular and soluble markers of inflammation in induced sputum from patients with asthma. *Eur Respir J* 1996; 9: 2441-2447.
6. Fahy JV, Wong H, Liu J, Boushey HA. Comparison of samples collected by sputum induction and bronchoscopy from asthmatic and healthy subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 53-58.
7. Maestrelli P, Saetta M, Di Stefano A, Calcagni PG, Turato G, Ruggieri MP, et al. Comparison of leukocyte counts in sputum, bronchial biopsies, and bronchoalveolar lavage. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1926-1931.
8. Keatings VM, Evans DJ, O'Connor BJ, Barnes PJ. Cellular profiles in asthmatic airways: a comparison of induced sputum, bronchial washings, and bronchoalveolar lavage fluid. *Thorax* 1997; 52: 372-374.
9. Grootendorst DC, Sont JK, Villems LNA, Kluin-Nelemans JC, van Krieken JHJM, Veselic-Chorvat M, et al. Comparison of inflammatory cell counts in asthma: induced sputum vs bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 769-779.
10. Pin I, Freitag AP, O'Byrne PM, Girgis-Gabardo A, Watson RM, Dolovich J, Denburg JA, et al. Changes in the cellular profile of induced sputum after allergen-induced asthmatic responses. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 1265-1269.
11. Fahy JV, Liu J, Wong H, Boushey HA. Analysis of cellular and biochemical constituents of induced sputum after allergen challenge. A method for studying allergic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 1994; 93: 1031-1039.
12. Piacentini GL, Martinati L, Mingoni S, Boner AL. Influence of allergen avoidance on the eosinophil phase of airway inflammation in children with allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 1079-1084.
13. 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: 861-869.
14. Gauvreau GM, Doctor J, Watson RM, Jordana M, O'Byrne PM. Effects of inhaled budesonide on allergen-induced airway responses and airway inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1267-1271.

15. 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: 542-548.
16. Holz O, Kips J, Magnussen H. Update on sputum methodology. *Eur Respir J* 2000; 16: 355-359.
17. Gutiérrez V. Descripción de la técnica de inducción y procesado de las muestras de esputo. En Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica, eds. Inducción de muestras de esputo para el estudio citológico y de químicos presentes en la fase fluida. Barcelona; Prous Science SA, 1998: 23-32.
18. Gutiérrez V, Prieto L, Torres V, Marín J. El esputo inducido para el abordaje del estudio de la inflamación alérgica en las vías aéreas. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1997; 12: 75-84.
19. Jatakanon A, Lim S, Barnes PJ. Changes in sputum eosinophils predict loss of asthma control. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 64-72.
20. Leuppi JD, Salome ChM, Jenkins ChR, Anderson SD, Xuan W, Marks GB, et al. Predictive markers of asthma exacerbation during stepwise dose reduction of inhaled corticosteroids. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 406-412.
21. In't Veen JCCM, Smits HH, Hiemstra RS, Zwinderman AE, Sterk PJ, Bel EH. Lung function and sputum characteristics of patients with severe asthma during an induced exacerbation by double-blind steroid withdrawal. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 93-99.
22. Loppow D, Böttcher M, Gercken G, Magnussen H, Jörres RA. Flow cytometric analysis of the effect of dithiothreitol on leukocyte surface markers. *Eur Respir J* 2000; 16: 324-329.
23. Prieto L. Asma bronquial. ¿Parámetros de función pulmonar para diagnosticar y controlar evolutivamente una enfermedad inflamatoria?. En Prieto L, eds. Facetas inéditas en asma bronquial. Madrid, Editores Médicos SA, 2000: 33-53.
24. Gutiérrez V, Prieto L, Torres V, Trenor R, Pérez C, Bertó JM, Marín J. Relationship between induced sputum cell counts and fluid-phase eosinophil cationic protein and clinical or physiologic profiles in mild asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 82: 559-565.
25. Pizzichini MMM, Kidney JC, Wong BJO, Morris MM, Efthimiadis A, Dolovich J, et al. Effect of salmeterol compared with beclomethasone on allergen-induced asthmatic and inflammatory responses. *Eur Respir J* 1996; 9: 449-455.
26. Diamant Z, Grootendorst DC, Veselic-Chorvat M, Timmers MC, De Smet M, Leff JA, et al. The effect of montelukast (MK-0476), a cysteinil leukotriene receptor antagonist, on allergen-induced airway responses and sputum cell counts in asthma. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 42-51.
27. Obata H, Dittick M, Chan-Yeung M. Sputum eosinophils and exhaled nitric oxide during late asthmatic reactions in patients with western red cedar asthma. *Eur Respir J* 1999; 13: 489-495.
28. Sulakvelidze I, Inman MD, Rerecich T, O'Byrne PM. Increases in airway eosinophils and interleukin-5 with minimal bronchoconstriction during repeated low-dose allergen challenge in atopic asthmatics. *Eur Respir J* 1998; 15: 821-827.
29. Prieto L, Gutiérrez V. Las limitaciones del modelo funcional de respuesta a la provocación bronquial con alérgenos en el asma. *Alergol Inmunol Clin* 2000; 15: 77-81.
30. Pizzichini MMM, Pizzichini E, Clelland L, Efthimiadis A, Mahony J, Dolovich J, et al. Sputum in severe exacerbations of asthma. Kinetics of inflammatory indices after prednisone treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1501-1508.
31. Pizzichini MMM, Pizzichini E, Clelland L, Efthimiadis A, Pavord I, Dolovich J, et al. Prednisone-dependent asthma: inflammatory indices in induced sputum. *Eur Respir J* 1999; 13: 15-21.
32. Aldridge DE, Hancox RJ, Taylor DR, Cowan JO, Winn MC, Frampton ChM, et al. Effects of terbutaline and budesonide on sputum cells and bronchial hyperresponsiveness in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1459-1464.
33. Van Rensen ELJ, Stranthof KCM, Veselic-Charvat MA, Zwinderman AH, Bel EH, Sterk PJ. Effect of inhaled steroids on airway hyperresponsiveness, sputum eosinophils, and exhaled nitric oxide levels in patients with asthma. *Thorax* 1999; 54: 403-408.
34. McIvor RA, Pizzichini E, Turner MO, Hussack P, Hargreave FE, Sears MR. Potential masking effects of salmeterol on airway inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 924-930.
35. Cockcroft DW, Killian DN, Mellon JJA, Hargreave FE. Bronchial reactivity to inhaled histamine: a method and clinical survey. *Clin Allergy* 1977; 7: 235-243.
36. Braman SS, Barrows AA, De Cotiis BA, Settupane GA, Corrao WM. Airway hyperresponsiveness in allergic rhinitis. A risk factor for asthma. *Chest* 1987; 91: 671-674.
37. Prieto L, Marín J. Measurement of response to methacholine inhalation challenge in asthma and allergic rhinitis. PC20 or PC35FEV1?. *Allergol Immunopathol* 1990; 18: 285-289.
38. Prieto L, Gutiérrez V, Morales C, Marín J. Differences in sensitivity, maximal response and position of the concentration-response curve to methacholine between asthmatics, patients with allergic rhinitis and healthy subjects. *Respir Med* 1998; 92: 88-94.
39. Prieto L, Gutiérrez V, Liñana J, Marín J. Bronchoconstriction induced by inhaled adenosine 5'-monophosphate in subjects with allergic rhinitis: relationship to methacholine responsiveness. *Eur Respir J* 2001; 17: 64-70.
40. Prieto L, Gutiérrez V, Marín J. Relationship between airway sensitivity to adenosine 5'-monophosphate and the shape of the concentration-response curve to methacholine in subjects with allergic rhinitis. *Respir Med* 2001; 95: 457-463.
41. Prieto L, Sánchez-Toril F, Gutiérrez V, Marín MJ. Airway responsiveness to inhaled acetaldehyde in subjects with allergic rhinitis. Relationship to methacholine responsiveness. *Respiration*. En prensa.
42. Polosa R, Holgate ST. Adenosine bronchoprovocation: a promising marker of allergic inflammation in asthma? *Thorax* 1997; 52: 919-923.
43. Foresi A, Leone C, Pelucchi A, Mastropasqua B, Chetta A, D'Ippolito R, et al. Eosinophils, mast cells, and basophils in induced sputum from patients with seasonal allergic rhinitis and perennial asthma: relationship to methacholine responsiveness. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 58-64.
44. Gutiérrez V, Prieto L, Torres V, Morales C, González E. Peak flow variability and sputum eosinophilia in allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998; 81: 143-150.
45. Polosa R, Ciamarra I, Mangano G, Prosperini G, Pistorio MP, Vancheri C, et al. Bronchial hyperresponsiveness and airway inflammation markers in nonasthmatics with allergic rhinitis. *Eur Respir J* 2000; 15: 30-35.
46. Foresi A, Teodoro C, Leone C, Pelucchi A, D'Ippolito R, Chetta A, et al. Eosinophil apoptosis in induced sputum from patients with seasonal allergic rhinitis and with asymptomatic and symptomatic asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000; 84: 411-416.