

IgE total en el esputo y suero de pacientes con asma

G. Margarit^a, J. Belda^a, C. Juárez^b, C. Martínez^c, A. Ramos^a, M. Torrejón^a, C. Granel^a, P. Casán^a y J. Sanchís^a

^aServicio de Neumología. ^bServicio de Inmunología. ^cServicio de Bioquímica, Hospital de la Santa Creu i de Sant Pau. Facultad de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Spain.

RESUMEN

Antecedentes: La IgE total en esputo inducido (EI) y su relación con la IgE total en el suero (S) no están bien definidas. El objetivo de este trabajo fue estudiar la relación entre la concentración de IgE total en EI con la concentración de IgE total en S y la inflamación de las vías aéreas.

Métodos: Se estudiaron 21 pacientes con asma estable y 13 controles sanos. De cada paciente se recogieron los datos clínicos y espirométricos, y a todos se les hicieron pruebas cutáneas (*prick test*) con 13 aeroalergenos comunes en nuestra área. Se determinó la concentración de IgE total en EI y en S por inmunoensayo con el sistema UNICAP (Pharmacia-Uppsala, Suecia) y la concentración de albúmina por el método de turbidimetría Cobas Integra® (Roche Diagnostics, Basel, Suiza).

Resultados: El porcentaje de eosinófilos (%) en EI de asmáticos fue de 8,7 (11,8) y 0,5 (1) en sanos. La concentración de IgE (KU/L) en EI fue 43,2 (23) en asmáticos vs 25,6 (3) en sanos, y en S fue 329 (413) en asmáticos vs 57 (78) en sanos. La correlación entre IgE total en EI e IgE total en S fue de $r = 0,71$ ($p = 0,048$) pero no se relacionó con el índice relativo

de albúmina. No hubo relación entre IgE en EI y número de eosinófilos en EI.

Conclusiones: La IgE total puede medirse en esputo inducido y su concentración se relaciona con la IgE determinada en sangre. La ausencia de relación con la albúmina sugiere que la IgE en esputo no proviene exclusivamente de la extravasación, sino que podría intervenir una cierta producción local.

Palabras clave: Asma. IgE. Albúmina. Esputo inducido.

Total IgE in the sputum and serum of patients with asthma

ABSTRACT

Background: The correlation between total IgE in induced sputum (IS) and serum is not well defined. The aim of this study was to investigate the relationship between total IgE in IS and total IgE in serum and airway inflammation.

Methods: Twenty-one patients with stable asthma and thirteen healthy controls were studied. Clinical and spirometric data were collected and a skin prick test to the 13 most common aeroallergens in our area was performed in all subjects. Total IgE in IS and serum was determined by the UNICAP immuno-analysis system (Pharmacia Uppsala, Sweden) while albumin concentration in IS and serum was determined using the Cobas Integra® turbidimetric method (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland).

Results: The percentage of eosinophils in EI was 8.7 (11.8) in asthmatic subjects and was 0.5 (1) in

Correspondencia:

J. Belda
Departament de Pneumología
Hospital de la Santa Creu i de Sant Pau
Sant Antoni Maria Claret, 167
08025 Barcelona. Spain
E-mail: Jbelda@hsp.santpau.es

Financiado en parte por Red Respira (RITC-ISCIII) y la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR).

healthy controls. Total IgE (KU/L) was 43.2 (23) in asthmatics vs 25.6 (3) in healthy controls in IS, and was 329 (413) in asthmatics vs 57 (78) in controls in serum. Total IgE in IS was significantly correlated with total IgE in serum; $r = 0.71$ ($p = 0.048$), but not with the albumin relative index. No correlation was found between IgE and the number of eosinophils in IS.

Conclusions: Total IgE can be measured in IS. Total IgE in IS is mildly correlated with total IgE measured in serum. The lack of correlation between total IgE and albumin in IS suggests that IgE in IS could be locally produced, at least in part.

Key words: Asthma. IgE. Albumin. Induced sputum.

INTRODUCCIÓN

La inmunoglobulina E (IgE) desempeña un papel importante en el proceso de inflamación en el asma atópica como intermediaria en el mecanismo de hipersensibilidad de tipo I. En un proceso alérgico, las células dendríticas fagocitan al alergeno, viajan a los nódulos linfáticos y presentan el antígeno a las células Th2 y B. La células Th2 producirán las citocinas IL-4 e IL-13 que, gracias a la activación del sistema de transducción de señales (STAT 6), serán el primer estímulo para la producción y secreción de IgE por las células B¹. De esta descripción del proceso podría deducirse que la producción de IgE se localizaría fundamentalmente en los tejidos donde se está produciendo la reacción alérgica. A pesar de ello, el mecanismo por el que la IgE accede a los tejidos (extravasación o producción local) no está nada claro. Tradicionalmente, se tiende a aceptar la extravasación por datos indirectos, como el hecho de que los sujetos con asma atópica presentan concentraciones elevadas de IgE en sangre en comparación con los individuos sanos, siendo un marcador habitual del estado atópico del paciente. Adicionalmente, la relación entre IgE total en suero y en tejidos no se ha estudiado suficientemente y no está bien definida. En estudios previos, se ha propuesto que la medición de IgE específica en lavados bronquiales y broncoalveolares, además de ser un marcador del estado atópico del paciente, podría ser una técnica útil para estudiar el estado inmunológico local². Sin embargo, su uso clínico actual es limitado porque no reflejaría totalmente lo que sucede a nivel local.

El esputo inducido es una técnica reproducible y validada que permite obtener células y sustancias procedentes de los bronquios de forma no invasiva. En su procesado se separa el sedimento celular del

líquido sobrenadante. A partir del líquido sobrenadante podemos determinar sustancias producidas por las mismas células, así como sus marcadores de activación, moléculas de adhesión, mediadores de la broncoconstricción e índices de extravasación y secreción mucosa³. Así, la concentración de albúmina es un marcador de la alteración de la permeabilidad de la mucosa que se usa habitualmente en forma de índice relativo de excreción⁴.

El objetivo de este estudio es determinar la concentración de IgE total en sobrenadante obtenido tras el procesamiento del esputo inducido de pacientes asmáticos y sujetos sanos, y relacionarla con la concentración de IgE total en suero y el índice relativo de excreción de albúmina como indicador de extravasación vascular. La determinación de IgE en esputo podría dar información sobre las características de la inflamación que no se reflejase en la determinación de IgE en suero.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes

Se reclutaron consecutivamente pacientes estable con historia documentada de asma que acudieron a consultas externas para una visita de control, y sujetos sanos sin historia de asma, no fumadores que accedieron a participar en el estudio. Todos ellos, tras ser informados, se ofrecieron voluntariamente a realizar el estudio.

Métodos

Pruebas cutáneas

A cada sujeto se les realizó un *prick test* estándar con los aeroalergenos más habituales en nuestra región (Bial-Aristegui. Bilbao) y se determinó en cada paciente, el número de pruebas positivas; considerandola como positiva cuando el diámetro mayor de la pápula es igual o superior a tres milímetros.

Inducción y procesado del esputo

De cada una de las personas incluidas en el estudio se obtuvo esputo mediante la técnica de inducción, según el procedimiento estándar en nuestro laboratorio⁵: después de administrar un adrenérgico-beta-2 de corta duración, inhalaron suero hipertónico (3 % y 4 %) durante 7 minutos cada uno. Se controló el estado del paciente al inicio y después de cada una

de las inhalaciones mediante espirometría. Antes de dos horas, se procesó el esputo obtenido, seleccionando los tapones de moco de la saliva y tratándolos con dithiothreitol (Sputolysin; Calbiochem Corp., San Diego, CA) y solución salina fosfatada (phosphate buffered saline). La suspensión celular se filtró y, mediante un hemocitómetro y la tinción de Azul de Tripano, se calculó el número total de células por gramo de esputo, la viabilidad y el total de células escamosas procedentes de contaminación de vías aéreas superiores. Tras centrifugar el preparado celular, se obtuvo un sedimento celular que se utilizó para el recuento diferencial celular (macrófagos, eosinófilos, neutrófilos, basófilos, linfocitos y células epiteliales bronquiales), realizando la tinción May-Grünwald-Giemsa. El sobrenadante sirvió para determinar la concentración de IgE total y albúmina. Como valores de referencia del recuento celular se tomaron los descritos previamente por Belda et al⁶.

Determinación de IgE

La IgE total se determinó en el sobrenadante del esputo y en el suero sanguíneo obtenidos en el mismo día. La concentración de IgE se midió por el método de enzimoinmunoensayo comercializado UniCAP system® (Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Suecia).

Valoración de la albúmina

La albúmina se valoró mediante el método de turbidimetría Cobas Integra® (Roche Diagnostics, Basel, Suiza). Como control se utilizó microalbúmina estándar.

Análisis estadístico

En el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 10.0 (1999) para ordenador PC IBM

compatible. Se obtuvieron los valores medios para cada variable y su desviación estándar. Para relacionar distintos parámetros se calculó el coeficiente de correlación lineal de Spearman, considerándose significativa una $p < 0.05$.

RESULTADOS

Se estudiaron 21 pacientes con asma estable, 8 hombres y 13 mujeres, con una media de edad de 35 años (SD:16); 16 de ellos resultaron ser atópicos con positividad a uno o más alérgenos. De los 13 sujetos controles, 3 hombres y 10 mujeres, con edad media de 25 años (SD:5) resultaron 4 atópicos con positividad a uno o más alérgenos.

El valor medio de FEV₁ basal expresado en tanto por ciento, antes de realizarles la inducción del esputo, fue 94 (SD:24) % del valor de referencia (v.r.) en pacientes asmáticos y 105 (SD: 5) % v.r. en controles sanos. La media de eosinófilos en esputo resultó 8.7 (SD: 11.8) % en asmáticos y 0.5 (SD:1) % en controles. Los pacientes asmáticos estaban controlados, eran asintomáticos y recibían 683 (SD: 551) µg/día de corticoides inhalados por término medio (tabla I).

El valor medio de IgE total en suero resultó ser 329 (SD:413) KU/l en asmáticos y 57 (SD:78) KU/l en sujetos sanos; y la IgE total en esputo 43.2 (SD:23) KU/l en pacientes asmáticos y 25.6 (SD: 3) KU/l en sanos. La diferencia entre ambos grupos fue estadísticamente significativa (dif. 214 KU/l, $p:0.034$ en suero y dif. 17 KU/l, $p:0.018$ en esputo).

La albúmina medida en suero de pacientes asmáticos fue de 43 (SD: 3.1) g/l y en sujetos sanos 45.4 (SD: 2.9) g/l; y en sobrenadante de esputo de pacientes asmáticos 0.71 (SD: 0.81) g/l y en sanos 0.33 (0.3) g/l. Ambos grupos no fueron significativamente diferentes en cuanto a la determinación de albúmina en suero y esputo (tabla II).

La correlación entre IgE total en esputo e IgE total en suero fue $r = 0.71$; $p = 0.048$, ajustada por el núme-

Tabla I
Principales parámetros valorados en los sujetos incorporados en el estudio

Sujetos	Sexo	Edad (años)*	FEV ₁ basal (%)*	Número de casos atópicos	Eosinófilos en esputo (%)*	Corticoides inhalados (µg/día)*
Sanos N:13	8H/13M	35 (16)	105 (5)	4	0.5 (1)	0
Asmáticos N:21	3H/10M	25 (5)	94 (24)	16	8.7 (11.8)	683 (551)

El asterisco (*) indica los valores medios (desviación estándar).

Tabla II

Valores medios obtenidos (desviación estándar) por los dos grupos (asmáticos y sanos) en muestras de suero y esputo

Sujetos	IgE suero (KU/l)	IgE esputo (KU/l)	Albúmina suero (g/l)	Albúmina esputo (g/l)	IgEe/IgEs	Albe/Albs
Sanos N:13	57 (78)	25.6 (3)	45.4 (2.9)	0.33 (0.3)	1.7 (1.4)	0.007 (0.006)
Asmáticos N:21	329 (413)	43.2 (23)	43 (3.1)	0.71 (0.81)	1.1 (2.5)	0.02 (0.02)

ro de aeroalergenos positivos y el diagnóstico (fig. 1). Particularmente, el análisis univariante mostró que el número de aeroalergenos positivos se correlacionaba con el nivel de IgE total en esputo inducido ($r = 0.49$; $p = 0.033$) y con el de IgE total en suero ($r = 0.56$; $p = 0.013$). No hubo relación directa entre IgE total en esputo y el número de eosinófilos en esputo ($r = 0.15$; $p = 0.56$). El número absoluto de células bronquiales como indicador de alteración de la mucosa tampoco presentaba relación significativa con los niveles de IgE. Pero al ajustar dicha relación a los niveles de IgE total en esputo se evidenció una relación significativa entre éstos ($r = 0.69$ y $p = 0.008$). No hubo relación entre la IgE en esputo/IgE en suero y la albúmina en esputo/albúmina en suero ($r = 0.25$ y $p = 0.29$) como indicador del grado de extravasación vascular (fig. 2) (tabla III).

DISCUSIÓN

En este estudio se ha comprobado que existe relación entre IgE total en suero y en esputo. Además, la IgE total en esputo es más elevada en función del número de aeroalergenos positivos en el prick test del paciente y la presencia de asma. El nivel de IgE total medido en esputo podría relacionarse con los mecanismos de extravasación o de inflamación local.

De estudios previos sabemos que existe una mayor concentración de IgE total en suero de pacientes asmáticos, atópicos o no, en comparación con sujetos sanos no atópicos. Dicha IgE está relacionada con un incremento de eosinófilos en sangre y en esputo⁷. Pero los niveles de IgE total en suero podrían no reflejar fielmente el estado inflamatorio local, y la relación

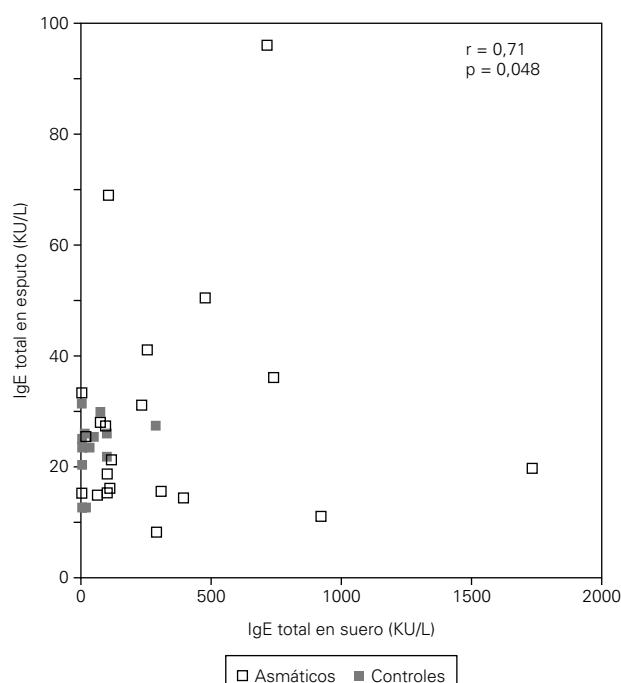


Figura 1.—Relación entre IgE total determinada en suero y IgE total determinada en esputo.

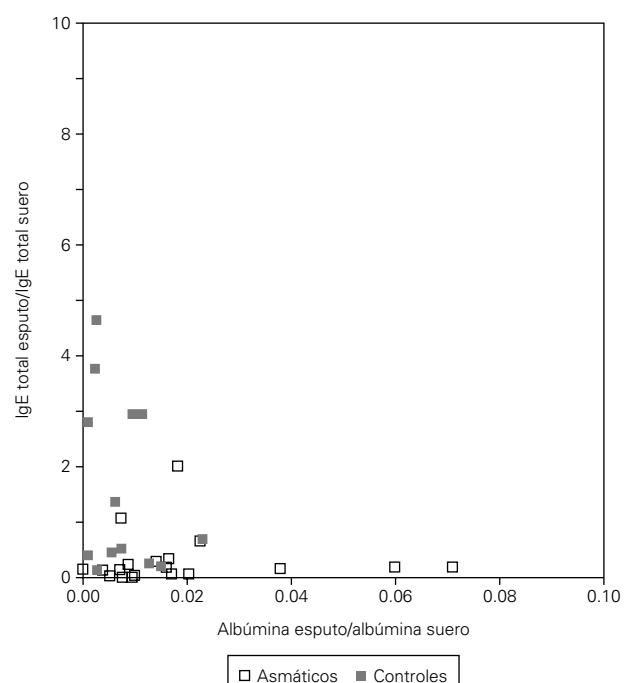


Figura 2.—Relación entre los coeficientes albúmina en esputo/albúmina en suero y IgE en esputo/IgE en suero.

Tabla III**Matriz de correlación (r Spearman) y su significación estadística (p) entre las variables en estudio**

IgE esputo vs IgE suero	IgE esputo vs n.º alérgenos positivos	IgE suero vs n.º alérgenos positivos	IgE esputo vs eosinófilos en esputo	IgE/IgEs vs Albe/Albs en esputo
r 0.71	0.49	0.56	0.15	0.25
p 0.048*	0.033*	0.013*	0.56	0.29

El asterisco (*) indica los valores $p < 0.05$.

entre la IgE total en suero y la de esputo en el asma no está bien definida. En el presente estudio, no se observa relación entre IgE total en suero o esputo y el número de eosinófilos. La ausencia de correlación podría deberse a la estabilidad clínica de nuestros pacientes, cuyo recuento celular en esputo en la mayoría de los asmáticos fue similar al de controles sanos.

Dada la facilidad de extravasación que tendría el epitelio dañado, la posible existencia de relación entre las células epiteliales bronquiales y IgE total en esputo inducido, permitiría especular que cierto componente de IgE total proviniera de dicha extravasación. Pero los pacientes con mayor índice de IgE total en esputo en relación con IgE total en suero no presentaban células epiteliales bronquiales y en todos los casos el índice de excreción de albúmina no estaba aumentado. Además, en este estudio no se encontró relación significativa entre la presencia de albúmina e IgE total en esputo.

Por otra parte, hay indicios sólidos de una probable síntesis local de IgE específica en mucosa nasal de pacientes con rinitis alérgica⁸. En biopsias de mucosa bronquial de pacientes asmáticos se observa un aumento de la expresión de transcritos de RNA codificador para IgE⁹. Además, la concentración de IgE específica aumenta en el lavado broncoalveolar tras la provocación de segmentos bronquiales con alérgenos en asmáticos atópicos, independientemente de las alteraciones en la concentración de IgE en circulación¹⁰. Así pues, hay autores que sugieren que los niveles locales de IgE total podrían tener utilidad clínica y han estudiado la producción local de IgE en la inflamación, atópica o no, de vías aéreas de pacientes asmáticos¹¹.

Una posible limitación del presente estudio fue la escasa sensibilidad del método de inmunoensayo utilizado (pensado para los niveles habituales en suero) para detectar IgE total en esputo cuyos niveles en muchos casos se encontraban cercanos al límite de detección de la prueba. La concentración de IgE to-

tal mínima detectable por este sistema es de 2 KU/L que equivaldría a 4.8 µg/ml. Esta medición podría mejorarse con un método más sensible que midiese concentraciones más bajas de esta proteína como el método de ELISA utilizado en el estudio de Fahy et al¹² donde el límite inferior de detección fue 10 pg/ml. En su estudio obtienen concentraciones de IgE total en el lavado broncoalveolar entre 0.012 hasta 0.169 µg/ml¹², mientras que, en el presente estudio, la concentración media de IgE en asmáticos es de 103.68 µg/ml y en sanos 61.44 µg/ml. La diferencia no es importante por el efecto de dilución sobre la determinación de IgE total de las vías aéreas inducido por el propio lavado broncoalveolar.

CONCLUSIONES

La IgE total puede medirse en esputo inducido. Aunque la producción de IgE total en suero de los pacientes asmáticos está relacionada con la IgE total determinada en esputo, sugerimos que su presencia en esputo no proviene exclusivamente de la extravasación, lo que obliga a aceptar la intervención de cierta producción local. La técnica de medición de IgE total en esputo inducido resultaría interesante para estudiar el estado inflamatorio del paciente con asma, atópica o no, a nivel bronquial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Busse WW, Lemanske RF. Asthma. *N Engl J Med* 2001;344: 350-62.
2. Crimi E, Scordamaglia A, Crimi P, Zupo S, Barocci S. Total and specific IgE in serum, bronchial lavage and bronchoalveolar lavage of asthmatic patients. *Allergy* 1983;38:553-9.
3. Belda J, Giner J, Casan P, Sanchis J. Esputo inducido en asma: estudio de validez y reproducibilidad. *Arch Bronconeumol* 1997;33:325-330.
4. Out TA, van der Graaf EA, Jansen HM. Permeability or local production of immunoglobulins and other inflammatory proteins in asthma. *Eur Respir J* 1991;4(Suppl 13):148s-55s.
5. Pizzichini MM, 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;155:1501-8.
6. Belda J, Leigh R, Parameswaran K, O'Byrne PM, Sears MR, Hargreave FE. Induced sputum cell counts in healthy adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:475-8.
7. Bettoli J, Bartsch P, Louis R, De Groote D, Gevaerts Y, Louis E, et al. Cytokine production from peripheral whole blood in atopic and nonatopic asthmatics: relationship with blood and sputum eosinophilia and serum IgE levels. *Allergy* 2000;55: 1134-41.
8. KleinJan A, Vinke JG, Severijnen LW, Fokkens WJ. Local production and detection of (specific) IgE in nasal B-cells and plasma cells of allergic rhinitis patients. *Eur Respir J* 2000;15: 491-7.
9. Ying S, Humbert M, Meng Q, Pfister R, Menz G, Gould HJ, et al. Local expression of epsilon germline gene transcripts and

- RNA for the epsilon heavy chain of IgE in the bronchial mucosa in atopic and nonatopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:686-92.
10. Wilson DR, Merrett TG, Varga EM, Smurthwaite L, Gould HJ, Kemp M, et al. Increases in allergen-specific IgE in BAL after segmental allergen challenge in atopic asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:22-6.
11. Menz G, Ying S, Durham SR, Corrigan CJ, Robinson DS, Hamid Q, et al. Molecular concepts of IgE-initiated inflammation in atopic and nonatopic asthma. *Allergy* 1998;53 (Suppl 45):15-21.
12. Fahy JV, Cockcroft DW, Boulet LP, Wong HH, Deschesnes F, Davies EE, et al. Effect of aerosolized anti-IgE (E25) on airway responses to inhaled allergen in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1023-7.