

Marcadores de la inflamación: lavado broncoalveolar y esputo inducido

Montserrat Bosque, Helena Larramona, Mónica Vilà y Inés Loverdos

Unidad de Alergia y Neumología Pediátrica. Hospital de Sabadell. CSPT. España.

La inflamación de la vía aérea es un componente importante de todas las enfermedades respiratorias.

La medición y la monitorización de la inflamación de la vía aérea es fundamental para el correcto control de la tos crónica, del asma bronquial y de la enfermedades que presentan una limitación del flujo aéreo, ya que la presencia de inflamación, el tipo y la gravedad son difíciles de reconocer clínicamente¹, puesto que los síntomas no son específicos de cada enfermedad respiratoria y no existe una correlación lineal entre la inflamación y la función pulmonar².

El asma bronquial es una enfermedad crónica de la vía aérea inferior que se caracteriza por una obstrucción reversible del flujo aéreo y una hiperreactividad bronquial. Los componentes patogénicos primarios del asma son: la inflamación y la disfunción de la musculatura lisa bronquial. La mayoría de los enfer-

mos pediátricos afectos de asma bronquial son atópicos. La respuesta de la vía aérea a los alérgenos inhalados en estos enfermos, causa obstrucción bronquial en pocos minutos, esta primera fase de respuesta, es debida a la liberación de mediadores pro inflamatorios preformados, como la histamina y a la síntesis de leucotrienos: LTC₄, LTD₄ y LTE₄ de los mastocitos bronquiales. Los mastocitos llegan a la mucosa y submucosa bronquial desde la médula ósea. Estos mediadores inducen la liberación de citocinas: IL-1, IL-2, IL-4, IL-10 e IL-13, factores de crecimiento y proteasas potentes como la tripsina, provocando: contracción del músculo liso, secreción de moco y vasodilatación, también causan edema de la pared de la vía aérea y la obstrucción bronquial. Después de esta fase, que dura 1 hora, se produce la fase tardía, que ocurre de 6 a 10 horas más tarde, liberando citocinas Th2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-9 e IL-13), que tienen un efecto pronunciado sobre las células inflamatorias, particularmente los eosinófilos. Estos tienen un papel esencial en la inflamación del asma, la IL-5 induce la diferenciación de los eosinófilos, estimulando su liberación desde la médula ósea, prolongando la vida media de estas células. Los eosinófilos migran hacia la vía aérea, liberando sustancias mediadoras pro inflamatorias como leucotrienos y proteínas capaces de producir daño tisular, produciendo edema y limitación de la vía aérea, aumentando la hiperreactividad bronquial, perpetuando y reforzando la respuesta asmática (fig. 1).

La condición inflamatoria del asma ha sido reconocida desde hace 20 años. En un principio se consideró desarrollar biomarcadores en sangre periférica, para la monitorización de la inflamación, pero los resultados no han sido satisfactorios. En la actualidad, la investigación de la inflamación de la vía aérea se centra en el estudio de la celularidad y de los componentes inflamatorios del líquido bronquial, mediante la

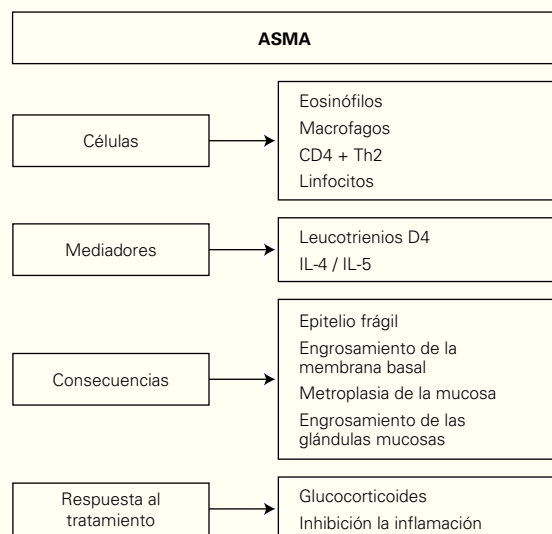


Figura 1.—

práctica de biopsias endobronquiales y del lavado broncoalveolar (BAL), demostrándose un aumento de eosinófilos, mastocitos y células epiteliales (tabla I), en los enfermos asmáticos atópicos, en comparación con la celularidad y sustancias inflamatorias de la vía aérea que presentan los individuos sanos, tanto atópicos como no atópicos. Estos cambios ya se empiezan a apreciar en el asma episódica frecuente.

Gracias a estas técnicas se puede cuantificar y clasificar la inflamación, de esta forma ayudar al control clínico de las enfermedades respiratorias, ya que permiten:

1. Clasificar fenotípicamente al asma (eosinofílica, neutrofílica). El asma clásica acostumbra ser eosinofílica, mientras que la neutrofílica, pudiera ser causada por otra enfermedad, u otro subtipo de asma. Caracterizando al asma grave, eosinofílica, *versus* no eosinofílica, corticorresistente, etc.

2. Predecir los beneficios del tratamiento antiinflamatorio (> 3 % de eosinófilos predice beneficios con el tratamiento corticoides)^{3,4}.

3. Establecer la mínima dosis de corticoides para mantener el control de la enfermedad (< 3 % de eosinófilos, en el asma eosinofílica, predice buen control)^{5,6}.

4. Identificar las bronquitis infecciosas, en las infecciones bacterianas, el número total de células tiende a ser mayor que en las víricas y el porcentaje de neutrófilos, mayor de 80 %, en las infecciones víricas, no hay eosinófilos^{7,8}.

5. Identificar la inflamación crónica, estudiar la remodelación^{9,10}.

6. Valorar la bronquitis ocupacional⁹.

LAVADO BRONCOALVEOLAR

Al lavado broncoalveolar, se le considera como el "gold standart", de las técnicas para la monitorización de la inflamación de la vía aérea, pero al ser una técnica invasiva, es de difícil su utilización rutinaria, sobre todo en niños, como técnica biomarcadora de la inflamación bronquial, dejándola para esta indicación diagnóstica, como técnica de estudio de la inflamación de la vía aérea para la investigación o en la práctica clínica, para cuando hayan dudas diagnósticas con consistencia suficiente para practicarla (fig. 2).

Esputo inducido

En la actualidad se han desarrollado técnicas no invasivas para la monitorización de rutina de la inflamación de la vía aérea, como el esputo inducido.

Tabla I

Técnica del lavado broncoalveolar

1. En el cuso de una fibrobroncoscopia
2. Sedación (midozodan + fentamil)
3. Jeringas de 10 ml, 20 ml, 50 ml (según la edad)
4. Frascos de plástico
5. Suero salínico isotónico para el lavado
6. El volumen varia según la edad desde (50-250 ml), 1-2 ml/kg en 3 alíquotas
7. O₂ durante la técnica
8. SaO₂
9. El FB se encaja después de la sedación en 1 bronquio segmentario o subsegmentario y a través del canal, se instilan las alíquotas de suero, recuperandose el suero

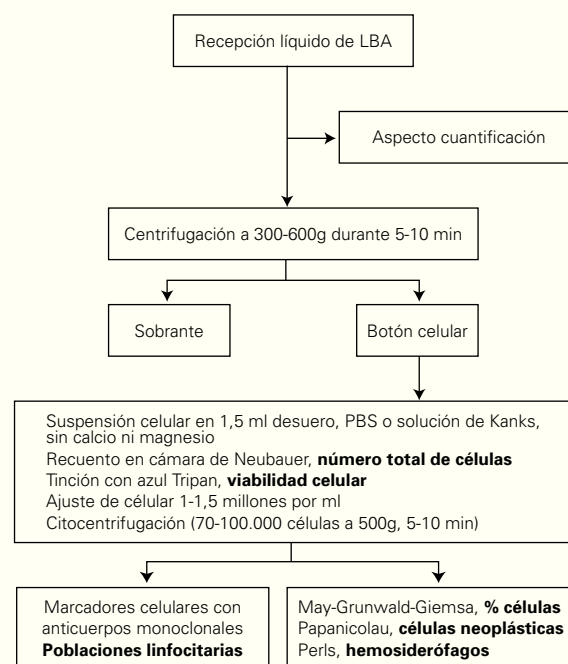


Figura 2.—Lavado broncoalveolar.

El esputo inducido es una muestra de secreción de origen bronquial obtenida de pacientes que no expectoran espontáneamente y a quienes, se les induce a producirlo habitualmente con suero salino (fig. 3), es un procedimiento estandarizado, seguro y exitoso, el procedimiento puede ser detenido cuando se obtiene una muestra de esputo suficiente, pudiendo durar 45 minutos en la práctica total del proceso. El esputo está compuesto básicamente de células que se encuentran inmersas en una trama de glucoproteínas, donde también están retenidas muchas sustancias, incluyendo productos celulares como extracelulares. Todo ello comporta un microambiente muy particular que refleja lo que sucede a nivel bronquial¹¹.

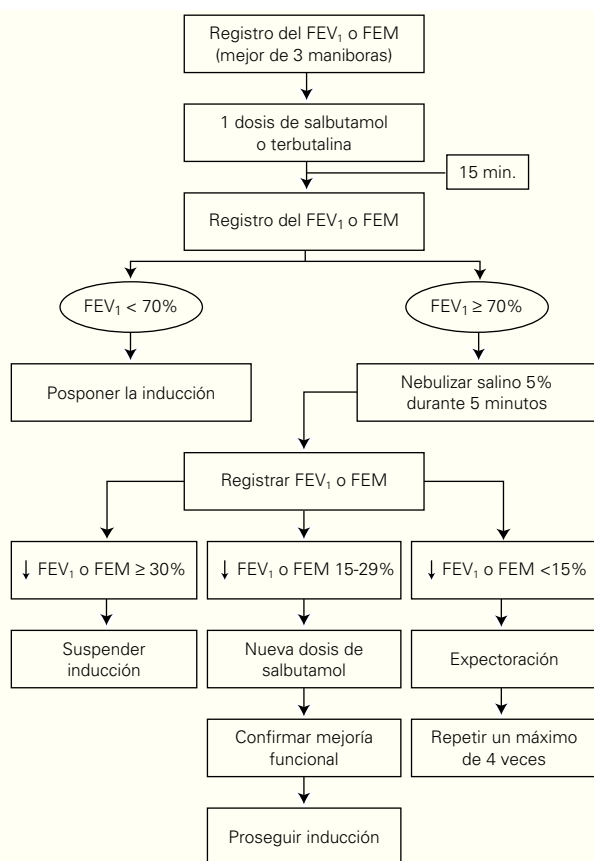


Figura 3.—Técnica del esputo inducido.

El recuento cuantitativo celular de las secreciones bronquiales, a través del esputo inducido, es un test comprensible, estandarizado¹², sensible y específico para monitorizar la inflamación, además de ser reproducible y validado¹³, en cuanto a que los valores normales están bien documentados (en un esputo seleccionado y validado como muestra no salival: < 2 % de eosinófilos y < 64,4 % de neutrófilos) y puede ser de gran utilidad en el tratamiento de pacientes con tos crónica, asma o limitación crónica del flujo aéreo. En estos procesos, la presencia de eosinofilia en el esputo normalmente permitiría predecir una buena respuesta al tratamiento corticoideo, mientras que su ausencia inicial indicaría una resistencia a dicho tratamiento. En pacientes con asma de difícil control, el estudio del esputo ayuda a determinar si la dosis de corticoides es suficiente, o indicar que el paciente no está cumpliendo el tratamiento. En niños con tos crónica y eosinofilia en el esputo, el tratamiento con corticoides inhalados es igualmente eficaz que la prednisona oral. Los recuentos celulares en esputo también pueden ayudar a identificar la necesidad de otros fármacos. Algunos marcadores solubles determinados en muestras de esputo podrían

servir de monitorizar el tratamiento, como la proteína catiónica del eosinófilo, su concentración se ha relacionado con los síntomas, la obstrucción, la intensidad de la inflamación e incluso el pronóstico de exacerbaciones.

El proceso y el examen para la cuantificación de las células del esputo no es complejo pero requiere de un técnico en citología bien preparado y de personal de enfermería preparado para la técnica¹⁴ (fig. 4).

EXPERIENCIA PERSONAL

Probablemente el mayor beneficio del esputo inducido ha sido el estudio de la inflamación en niños, debido a la facilidad y seguridad de la técnica. Nosotros, gracias a una beca del Comité Institucional de Recerca (CIR) de la Fundación Parc Taulí de la Corporación Sanitaria Parc Taulí de Sabadell, hemos elaborado un protocolo para intentar diferenciar y clasificar el asma pediátrico a partir del esputo inducido y de los resultados de antecedentes familiares de atopia, personales, *Prick test*, IgE específica, antecedentes de infección por VRS, espirometría o estudio de resistencias pulmonares y tratamiento, con el objetivo de ver si sólo cruzando parámetros clínicos se puede identificar el fenotipo de los niños asmáticos o si es necesario practicar siempre un esputo inducido para poder clasificarla.

Recogemos el esputo tras la inhalación de 2,5 ml de un aerosol de suero salino hipertónico a través de un compresor Pari Master con un nebulizador Pari Plus, probando la expectoración del niño. En caso de niños muy pequeños que no sean capaces de expectorar, se recogen las muestras mediante aspiración orofaríngea con una sonda 8-10 French. Hasta ahora tenemos diez niños diagnosticados de asma grave y corticodependientes de quienes se ha obtenido esputo inducido, con los siguientes resultados preliminares:

1. Los niños con asma grave son varones, con función pulmonar deteriorada.
2. La inflamación es eosinofílica (9 casos).
3. Subdivididos en grupos: eosinófilos (+) = 9 y no eosinófilos (–) = 1.
4. Se aprecia neutrofilia en ambos grupos (tabla II).

Además también hemos obtenido el esputo inducido para el control y tratamiento del asma, en 9 niños de asma de difícil control, asma con discreta sintomatología a pesar de presentar espirometrías patológicas y niños con asma bronquial y espirometrías en el límite de la normalidad.

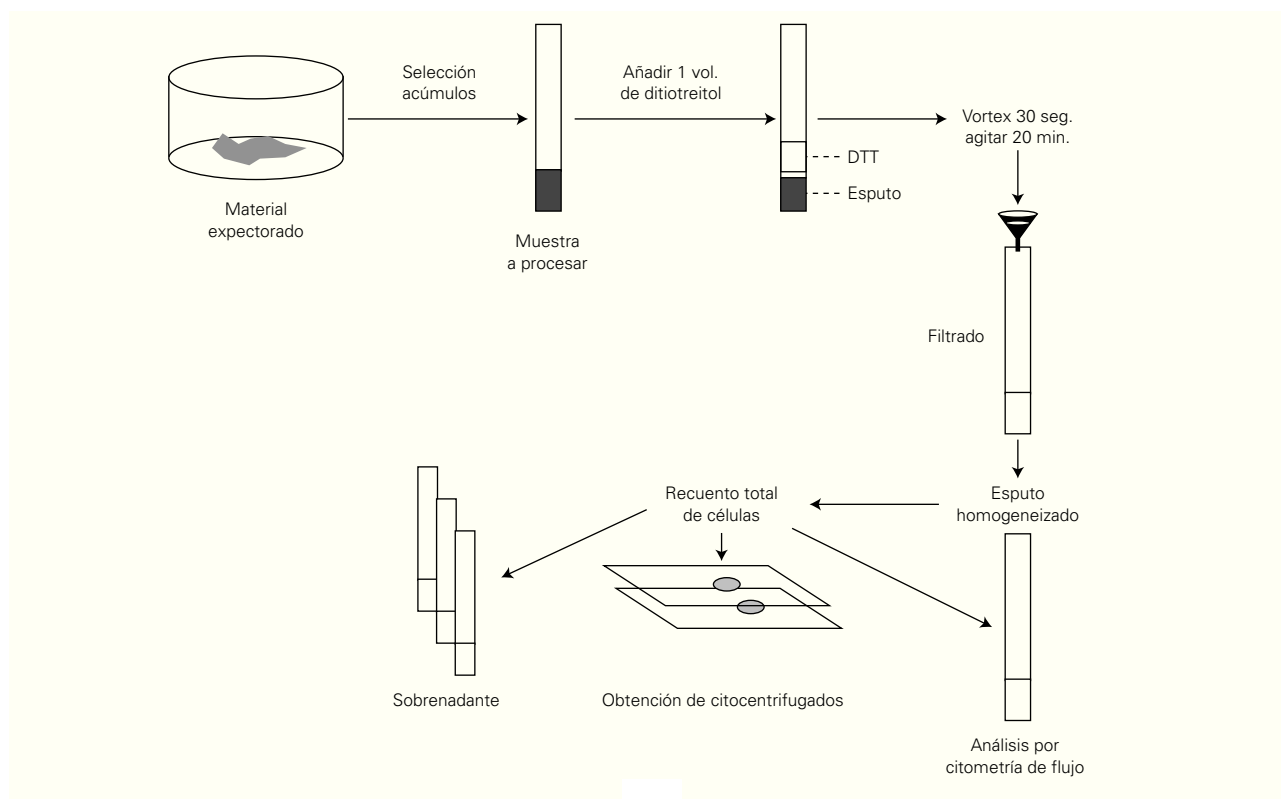


Figura 4.—Recuento cuantitativo celular.

Tabla II
Fenotipos de asma de difícil control

10 niños con asma grave y corticodependiente

FEV₁, entre 52 %-88 %

Prednisona 1 mg/kg/día

Eos (–) 1 (10)

Eos (+) 9 (10)

Bosque M, Vilà M y Loverdos I.

En 4 casos no se obtuvo muestra de esputo suficiente. De los 5 niños en los que se obtuvo muestra adecuada: el caso de asma difícil presentó un 24 % de eosinófilos, los niños con espirometrías patológicas y discreta sintomatología: 4-5 % eosinófilos. Y los niños que presentaban asma bronquial moderada y espirometrías normales: < 2 % de eosinófilos con predominio de neutrófilos, pudiendo reducir la dosis de corticoides inhalados.

Por en ambos estudios se puede concluir que el esputo inducido es útil como marcador de la inflamación mejorando la monitorización del asma y optimizando el tratamiento. La limitación mayor del esputo inducido es el precio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Parameswaran K, Pizzichini E, Pizzichini MMM, Hussack P, Efthimiadis A, Hargreave FE. Clinical judgement of airway inflammation versus sputum cell counts in patients with asthma. *Eur Respir J*. 2000;15:486-90.
2. Van den Berge M, Meijer RJ, Kerstjens HAM, et al. PC20 adenosine 5' monophosphate is more closely associated with airway inflammation in asthma than PC20 methacholine. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163:1546-50.
3. Pavord ID, Brightling CE, Wolkman G, Wardlaw AJ. Non-eosinophilic corticosteroid unresponsive asthma. *Lancet*. 1999;353:2213-4.
4. Brightling CE. Chronic cough due to nonasthmatic eosinophilic bronchitis: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2006;129:116S-121S.
5. Green RH, Brightling CE, McKenna S, et al. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomized controlled trial. *Lancet*. 2002;360:1715-21.
6. Jayaram L, Pizzichini MMM, Cook RJ, et al. Determining asthma treatment by monitoring sputum cell counts: effect on exacerbations. *Eur Respir J*. 2006;27:112.
7. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Johnston S, et al. Asthma and natural colds: inflammatory indices in induced sputum. A feasibility study. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;158:1178-84.
8. Wark PAB, Johnston SL, Moric I, Simpson JL, Hensley MJ, Gibson PG. Neutrophil degranulation and cell lysis is associated with clinical severity in virus-induced asthma. *Eur Respir J*. 2002;19:68-75.
9. Girard F, Chabouille S, Cartier A, et al. An effective strategy for diagnosing occupational asthma: use of induced sputum. *Am J Crit Care Med*. 2004;170:845-70.
10. Leigh R, Pizzichini MM, Morris M, Maltais F, Hargreave FE, Pizzichini E. Stable COPD: predicting benefit from high dose

- inhaled corticosteroid treatment. *Eur Respir J*. 2006. p. 27. In press. *Eur Respir J*; e-pub January 30, 2006.
11. 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.
 12. Paggiaro PL, Chanez P, Holz O, Ind PW, Djukanovic R, Maestrelli P, Sterk PJ. Sputum induction *Eur Respir J*. 2002;20:3S-8S.
 13. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Leigh R, Djukanovic R, Sterk RJ. Safety of sputum induction. *Eur Respir J*. 2002;20:9S-18S.
 14. Kelly MM, Efthimiadis A, Hargreave FE. Induced Sputum: Selection method. In: DF Rogers & LE Donnelly, eds. *Methods in molecular medicine. Human airway inflammation: sampling techniques and analytical protocols*. Humana Press, London; 2001. p. 77-92.