

**AUSENCIA DE CORRELACIÓN ENTRE MARCADORES DE INFLAMACIÓN  
PULMONAR Y SISTÉMICA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD  
PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA: UN ANÁLISIS BI-  
COMPARTIMENTAL SIMULTÁNEO**

Belen Núñez<sup>1,2,3</sup>, Jaume Sauleda<sup>1,2,3</sup>, Judith Garcia-Aymerich<sup>4,5,6</sup>, Aina Noguera<sup>1,2,7</sup>,  
Eduard Monsó<sup>3,8</sup>, Federico Gómez<sup>3,9</sup>, Esther Barreiro<sup>3,5,10,11</sup>, Alicia Marín<sup>3,8</sup>, Josep  
Maria Antó<sup>4,5,6</sup>, Alvar Agusti<sup>3,12</sup>, y el resto de investigadores PAC-EPOC enumerados  
en el apéndice.

De: <sup>1</sup> Servei Pneumologia, Hospital Universitari Son Espases, Palma de Mallorca; <sup>2</sup>  
IdisPa, Palma de Mallorca; <sup>3</sup> CIBER Enfermedades Respiratorias (CIBERES); <sup>4</sup> Centre  
for Research in Environmental Epidemiology (CREAL), Barcelona; <sup>5</sup> Departament de  
Ciències Experimentals i de la Salut (CEXS), Universitat Pompeu Fabra, Barcelona; <sup>6</sup>  
CIBER Epidemiologia y Salud Pública (CIBERESP), Barcelona; <sup>7</sup> Servei Anàlisi  
Clínica, Hospital Universitari Son Espases, Palma de Mallorca; <sup>8</sup> Hospital Germans Trias  
i Pujol, Badalona; <sup>9</sup> Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer  
(IDIBAPS), Barcelona; <sup>10</sup> Grupo de Investigación en Mecanismos de Predisposición al  
Cáncer de Pulmón. IMIM (Hospital del Mar Medical Research Institute), Barcelona; <sup>11</sup>  
Servei Pneumologia, Hospital del Mar, Barcelona; <sup>12</sup> Institut del Tòrax, Hospital Clínic,  
IDIBAPS, Univ. Barcelona.

**Correspondencia:** Dr. Jaume Sauleda. Hospital Son Espases Crta Valldemossa 07010  
Palma de Mallorca, España. Tel: 871 206718; Fax: 871 909724.

e-mail: [jaume.sauleda@ssib.es](mailto:jaume.sauleda@ssib.es).

**Número de palabras manuscrito:** 2516.

## **Contribución específica de cada uno de los autores:**

**Belén Núñez:** Reclutamiento pacientes, Recolección de muestras, Análisis inflamación sangre y esputo, Base de datos, Análisis estadístico, Discusión resultados, Redacción manuscrito.

**Jaume Sauleda:** 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, Redaccion 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.

## **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 (num. 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 and Fondos FEDER (Grupos competitivos (PRE-R-22528-2011).

## **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.

## **APENDÍCE**

### 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 Sauleda (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.

## 1 RESUMEN

2 **Introducción:** El origen de la inflamación sistémica en pacientes con EPOC es poco  
3 conocido siendo una de las hipótesis más aceptadas el paso de la inflamación del  
4 pulmón a la sangre (“spill-over”). **Objetivo:** Evaluar la relación entre la inflamación  
5 pulmonar y sistémica en la EPOC mediante la cuantificación de diversos marcadores  
6 inflamatorios en esputo y suero obtenidos en el mismo individuo de forma simultánea.  
7 **Metodología:** De 133 pacientes de la cohorte PAC EPOC se evaluaron las relaciones  
8 entre diferentes variables inflamatorias (TNF $\alpha$ , IL6, IL8) en suero y esputo. Como  
9 objetivo secundario se evaluaron las relaciones de las variables inflamatorias de suero  
10 con la función pulmonar. **Resultados:** Los valores de los marcadores inflamatorios  
11 fueron claramente superiores en esputo que en suero. No se hallaron correlaciones  
12 relevantes (en valor absoluto,  $r=0.03-0.24$ ) entre los marcadores inflamatorios en sangre  
13 y en esputo. Tampoco se identificaron asociaciones significativas entre dichos  
14 marcadores con variables de función pulmonar como el FEV1, DL<sub>CO</sub> y la PaO<sub>2</sub>.  
15 **Conclusiones:** En pacientes con EPOC estable no existe correlación entre la  
16 inflamación pulmonar y sistémica, lo que sugiere mecanismos patogénicos diferentes.

17

18

19

20

21

22

23 **Palabras claves:** bronquitis crónica, enfisema, citoquinas, proteína C reactiva.

24

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## 1 INTRODUCCIÓN

2 La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) se asocia a inflamación pulmonar  
3 y sistémica<sup>1-3</sup>. La primera parece aumentar en pacientes con mayor limitación al flujo  
4 aéreo, aunque cabe señalar que la evidencia actualmente disponible se basa en análisis  
5 transversales<sup>4</sup>, por lo que no puede establecerse una relación causa-efecto. La segunda  
6 no está presente en todos los pacientes con EPOC pero, en aquellos en los que persiste  
7 en el tiempo, se asocia a mayor mortalidad y frecuencia de exacerbaciones<sup>1</sup>.

8  
9 El origen de la inflamación sistémica en la EPOC es poco conocido y una de las  
10 hipótesis principales es el traspaso de inflamación del pulmón a la sangre (“spill-over”)  
11 por lo que de ser así deberían estar relacionadas. Sin embargo, la relación entre  
12 inflamación pulmonar y sistémica en la EPOC es objeto de debate<sup>5-7</sup>. Los estudios  
13 publicados hasta la fecha tienen diversas limitaciones como su relativo pequeño tamaño  
14 muestral<sup>6,8,9</sup> o la falta de cuantificación simultánea (en el mismo paciente) de los  
15 mismos marcadores inflamatorios en el compartimento pulmonar y sistémico<sup>10</sup>.

16  
17 Este estudio tiene por objeto superar estas limitaciones y evaluar las posibles relaciones  
18 entre la inflamación pulmonar y sistémica en la EPOC mediante la cuantificación de  
19 diversos marcadores inflamatorios en esputo y suero obtenidos en el mismo individuo  
20 de forma simultánea, en un número importante de pacientes con EPOC (n=133)  
21 reclutados en la cohorte PAC-EPOC<sup>11,12</sup>. Como objetivos secundarios se evaluaron las  
22 potenciales asociaciones de la inflamación sistémica con variables de función pulmonar  
23 que pueden estar potencialmente relacionadas con la inflamación pulmonar como FEV<sub>1</sub>  
24 (volumen espiratorio forzado durante el primer segundo), DLco (capacidad de difusión  
25 del monóxido de carbono) y PaO<sub>2</sub> (presión parcial de oxígeno en sangre arterial).

1

## 2 **MÉTODO**

### 3 **Población y aspectos éticos**

4 El estudio PAC-EPOC reclutó 342 pacientes hospitalizados por primera agudización de  
5 EPOC en 9 hospitales españoles desde Enero de 2004 hasta Marzo de 2006<sup>11,12</sup>. Los  
6 pacientes incluidos se estudiaron 3 meses después del alta hospitalaria (más una semana  
7 de desviación como máximo) en fase de estabilidad clínica (8 semanas sin nuevas  
8 agudizaciones ni cambios en la medicación) y se siguieron ambulatoriamente durante 3  
9 años<sup>12</sup>. El diagnóstico de EPOC se estableció en estabilidad clínica de acuerdo con las  
10 recomendaciones ATS/ERS<sup>13</sup>. Se excluyeron del estudio pacientes menores de 45 años,  
11 con cáncer, secuelas post tuberculosas, neumonectomía y/o neumoconiosis. En el  
12 presente estudio participaron los 133 pacientes (39% del total) que disponían de  
13 muestras válidas y simultáneas de inflamación pulmonar y sistémica. El estudio fue  
14 aprobado por el Comité de Ética de todos los hospitales participantes, y todos los  
15 pacientes firmaron el consentimiento informado.

16

### 17 **Caracterización clínica y funcional**

18 Como se ha descrito previamente<sup>11,12</sup> los datos clínicos y de historia tabáquica se  
19 obtuvieron a partir de cuestionarios validados. El índice de masa corporal (IMC) se  
20 calculó como la relación entre el peso y el cuadrado de la altura en metros<sup>11,12</sup>. La  
21 espirometría forzada con prueba broncodilatadora, volúmenes pulmonares, DLco y  
22 gasometría arterial se cuantificaron siguiendo metodología estándar<sup>14-16</sup>. Los valores de  
23 referencia de la espirometría, volúmenes pulmonares y DLco corresponden a una  
24 población mediterránea<sup>17,18</sup>.

25

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65



## 1 **Inflamación pulmonar**

2 Siempre que fue posible, se obtuvo y se procesó una muestra de esputo espontáneo al  
3 menos 60 minutos después de las pruebas funcionales respiratorias (225 pacientes). En  
4 el caso de que el paciente fuese incapaz de expectorar espontáneamente, la muestra de  
5 esputo se obtuvo tras inducción con suero salino según metodología estándar<sup>19</sup>. De los  
6 pacientes que se obtuvo una muestra de esputo (n=225) 133 mostraron <20% de células  
7 escamosas y fueron utilizados para el análisis<sup>20</sup>.

8  
9 En el sobrenadante del esputo, se cuantificó la concentración de interleucina 6 (IL-6),  
10 IL-8 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) (Cytokine bead array system, BD  
11 Biosciences San Diego CA, USA). El límite inferior de detección (LID) de IL-6, IL-8 y  
12 TNF $\alpha$  fue de 2.5 pg/mL, 3.6 pg/mL and 3.7 pg/mL, respectivamente. Siguiendo  
13 recomendaciones previas, para evitar el sesgo debido a los pacientes que presentaban  
14 valores inferiores al LID, en estos pacientes se asignó un valor nominal de la mitad del  
15 LID<sup>1</sup>. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado en el laboratorio central  
16 del Hospital Universitari Son Espases (Palma de Mallorca). Dado que el coeficiente de  
17 variación fue inferior al del 10% en todos los casos, para el análisis se utilizó el valor  
18 medio de las dos determinaciones.

19  
20 Las muestras de esputo también fueron cultivadas siguiendo la metodología habitual<sup>21</sup>.  
21 La carga bacteriana se cuantificó mediante unidades formadoras de colonias (ufc) por  
22 mililitro. Los cultivos se consideraron positivos para colonización si hubo un  
23 crecimiento mínimo de 100 ufc/ml de *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus*  
24 *pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *enterobacteria* y/o  
25 *Staphylococcus aureus*<sup>22</sup>. En pacientes con cultivos polimicrobianos, se consideró para

1 el análisis el microorganismo potencialmente patogénico (MPP) con mayor carga  
2 bacteriana.

3

#### 4 **Inflamación sistémica**

5 El mismo día de la obtención del esputo se obtuvo una muestra de sangre venosa (20  
6 ml) con EDTA por venopunción periférica entre las 08:00 y las 09:00 horas de la  
7 mañana, tras ayuno de, al menos, 6 horas; a los fumadores activos también se les  
8 solicitó que se abstuvieran de fumar durante las 6 horas previas a la obtención de  
9 muestras biológicas. La muestra de sangre así obtenida fue inmediatamente centrifugada  
10 durante 10 minutos a 2000 rpm, y el suero resultante se almacenó a -80°C hasta su  
11 análisis posterior.

12  
13 Los niveles de proteína C reactiva (PCR) se determinaron por duplicado mediante  
14 nefelometría de alta sensibilidad, con un LID de 0.175 mg/L (Siemens Healthcare  
15 Diagnostics Products GMBH, Marburg, Alemania). Los niveles séricos de IL-6, IL-8 y  
16 TNF $\alpha$  se determinaron (por duplicado) por ELISA de alta sensibilidad (Biosource,  
17 Camarillo, CA, USA), con un LID de 0.03 pg/ml, 0.10 pg/ml y 0.13 pg/ml,  
18 respectivamente. Como se ha comentado anteriormente para las determinaciones de  
19 esputo, para evitar un sesgo a la baja, en aquellos pacientes con valores inferiores al  
20 LID se asignó un valor nominal de la mitad del LID<sup>1</sup>. Todos los análisis se realizaron de  
21 forma centralizada en el Hospital Universitari Son Espases (Palma Mallorca). Dado que  
22 el coeficiente de variabilidad fue <10% en todos los casos, para el análisis de datos se  
23 utilizó el valor medio de las dos determinaciones.

24

25

## 1 **Análisis estadístico**

2 El tamaño muestral del estudio PAC-EPOC (n=342) venía determinado por sus  
3 objetivos principales<sup>12</sup> y el número de pacientes con datos disponibles para el presente  
4 estudio era de 133. Antes de realizar ningún análisis, calculamos el tamaño muestral  
5 necesario para identificar como estadísticamente significativas una correlación de 0.35  
6 entre marcadores inflamatorios en suero y vía aérea<sup>6</sup> y una correlación de 0.29 entre  
7 marcadores inflamatorios y FEV1<sup>8</sup>, usando el programa GRANMO 7.12<sup>23</sup>. Aceptando  
8 un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.2 en un contraste bilateral, el número de  
9 pacientes requerido es de 62 y 92, respectivamente, y en ambos objetivos es superado  
10 por el número de pacientes disponible. La normalidad de la distribución de las variables  
11 se calculó con el test de Kolgomorov-Smirnov. Los resultados se muestran como media  
12 (desviación estándar) en las variables que siguen distribución normal o mediana  
13 [percentil 25-75] en caso contrario. Las variables cualitativas se muestran como  
14 porcentaje. Para la comparación de los valores de dos grupos se utilizó el test de t de  
15 Student para variables de distribución normal y el de Mann-Whitney o Wilcoxon en  
16 caso de variables de distribución no normal. La valoración de las diferencias entre  
17 variables cualitativas se realizó mediante el test de Chi-cuadrado. La relación entre las  
18 variables de inflamación pulmonar y sistémica se estimó mediante coeficientes de  
19 correlación de Spearman. Se consideró una correlación muy baja, baja, moderada, o  
20 alta, si el coeficiente de correlación era en valor absoluto: <0.25, 0.25-0.50, 0.51-0.75,  
21 >0.75, respectivamente<sup>24</sup>. Se consideró significativo un valor de p inferior a 0.05,  
22 excepto en el caso de comparaciones/correlaciones múltiples, en el que el citado valor  
23 de p se modificó de acuerdo a Bonferroni. El análisis estadístico se realizó con el  
24 programa SPSS (SPSS Inc, Chicago, IL).

25

## 1 **RESULTADOS**

### 2 **Características clínicas y funcionales de los pacientes**

3 De la cohorte inicial (342 pacientes) el esputo no se pudo recoger en un tercio de los  
4 pacientes porque fueron incapaces de expectorar, por lo que de entrada se evaluaron 225  
5 pacientes con esputo. Estos pacientes eran ( $p<0.05$ ) más jóvenes (66 vs. 69 años), tenían  
6 menor exposición tabáquica (58 vs. 69 paquetes-año), mayor limitación al flujo aéreo  
7 ( $FEV_1$  49 vs. 54% ref.) y menor valor de DLco (60 vs. 67% ref.). De estos 225  
8 pacientes sólo 133 tenían esputo representativo. Sus características clínicas eran  
9 similares a los que no tenían un esputo válido excepto que su  $FEV_1$  era inferior (52 vs.  
10 57%,  $p<0.05$ ). De los 133 pacientes con esputo válido, en 76 se obtuvo el esputo  
11 espontáneamente y en 57 fue inducido sin haber diferencias clínicas ni biológicas entre  
12 ambas poblaciones (datos no mostrados).

13  
14 La Tabla 1 muestra los principales datos antropométricos, clínicos y funcionales de los  
15 pacientes incluidos en el estudio.

### 17 **Microbiología**

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

### 23 **Marcadores inflamatorios**

24 La Tabla 2 muestra los niveles de biomarcadores inflamatorios en esputo y en sangre  
25 (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 $\alpha$  medidos simultáneamente en el mismo paciente en suero y esputo. Se observa una correlación aislada, baja, con “outliers” y gran dispersión, entre el TNF $\alpha$  en esputo y en sangre ( $r=0.24$ ,  $p<0.01$ ).

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 FEV<sub>1</sub> (Figura 2), DL<sub>CO</sub> (Figura 3), PaO<sub>2</sub> o edad (datos no mostrados). Los resultados de las asociaciones entre la inflamación sistémica y la colonización bronquial se publicaron previamente y sólo se observó una asociación aislada entre PCR y colonización bronquial<sup>20</sup>.

## 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 FEV<sub>1</sub>, DL<sub>CO</sub> y la PaO<sub>2</sub>, o 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 sistémico<sup>10</sup> o que evalúan las relaciones entre inflamación sistémica y variables de función pulmonar asumiendo que éstas son reflejo de la inflamación

1 pulmonar<sup>25,26</sup>. Por otra parte, los estudios que comparan los mismos marcadores en  
2 sangre y pulmón tienen un tamaño muestral pequeño (<30 pacientes)<sup>6,8,9</sup>. Nuestro  
3 estudio compara los mismos marcadores en suero y esputo en una muestra muy superior  
4 (133 pacientes) a la de estos estudios previos y además, a diferencia de éstos, nuestros  
5 pacientes estaban mejor caracterizados<sup>11,12</sup>.

## 7 **Interpretación de los resultados**

8 Se ha sugerido que la inflamación sistémica en pacientes con EPOC se debe al paso de  
9 células y/o proteínas inflamatorias desde el pulmón a la sangre (“spill-over”)<sup>7</sup>. Esta  
10 hipótesis se basaba en observaciones previas en animales de experimentación<sup>27</sup> y en  
11 humanos<sup>28</sup> que demostraban que el paso de proteínas pulmonares a la circulación  
12 sistémica era posible. Nuestros resultados no apoyan la teoría del “spill-over” porque no  
13 observamos ninguna relación relevante entre marcadores de inflamación pulmonar y  
14 sistémica determinados en el mismo paciente de forma simultánea (Figura 1). Por el  
15 contrario, nuestras observaciones sugieren que la respuesta inflamatoria en estos dos  
16 compartimentos biológicos en pacientes con EPOC estable tiene mecanismos de  
17 regulación diferentes. La ausencia de correlaciones relevantes entre inflamación  
18 sistémica y variables de función pulmonar (Figura 2,3) apoya esta interpretación y está  
19 en concordancia con diversos estudios previos<sup>2,29-31</sup>. En la misma línea, la colonización  
20 bronquial, que se asocia a una marcada respuesta inflamatoria local<sup>20</sup>, no asociaría un  
21 incremento paralelo de estos mismos marcadores a nivel sistémico en nuestros  
22 pacientes, aunque asociándose de forma aislada a niveles más elevados de PCR en  
23 sangre en los pacientes colonizados<sup>20</sup> pero de menor magnitud que los observados  
24 durante las agudizaciones de la enfermedad<sup>6</sup>. En conjunto, todas estas observaciones  
25 indican que la presencia de inflamación sistémica es una característica fenotípica

1 independiente en la EPOC, cuyo origen y consecuencias tendrá que ser definido en  
2 futuros estudios.

3  
4 Finalmente, cabe comentar que la relación entre marcadores inflamatorios sistémicos y  
5 edad es controvertida<sup>29</sup>; en nuestro caso no objetivamos ninguna correlación.

### 7 **Implicaciones clínicas potenciales**

8 Si, como sugieren nuestros resultados, la inflamación sistémica es una característica  
9 fenotípica independiente en la EPOC, y su presencia se asocia a una mayor frecuencia  
10 de agudizaciones y superior mortalidad<sup>1</sup> se precisan ensayos clínicos aleatorizados que  
11 evalúen diversas alternativas terapéuticas en pacientes con EPOC con estas  
12 características. En este sentido, es de interés señalar el estudio piloto de McDonald y  
13 colaboradores en el que se utiliza el valor de PCR para indicar tratamiento con estatinas;  
14 aquellos pacientes tratados mostraron una reducción significativa de la PCR<sup>32</sup>.

### 16 **Fortalezas y limitaciones**

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

1 (58 versus 69 paq-a) y con peor función pulmonar (49% versus 54%). Ello podría  
2 explicarse por la mayor historia de tabaquismo que podría favorecer la expectoración<sup>33</sup>  
3 o que de “per se” podría constituir otro fenotipo. Por lo que se refiere a la edad, a pesar  
4 de que las diferencias fueron estadísticamente significativas, en valor absoluto fueron  
5 clínicamente irrelevantes (3 años); 3) que sólo se obtuvo esputo válido en 133 pacientes  
6 del total 225 con esputo. Los pacientes con esputo válido del resto de pacientes que  
7 consiguieron expectorar se diferenciaron sólo en el FEV1 (52 versus 57%,  $p < 0.05$ ). Este  
8 fenómeno ya se ha descrito en otros estudios que han observado una correlación directa  
9 entre el esputo válido y el grado de obstrucción al flujo aéreo<sup>34</sup>. Por lo que respecta al  
10 porcentaje de esputos válidos respecto al total de la cohorte 133/342, 39%, es similar a  
11 otras series<sup>35,36</sup>; 4) los datos de microbiológicos se publicaron en otro artículo<sup>20</sup> pero los  
12 objetivos del presente estudio son diferentes y la gran mayoría de resultados también.  
13 Para complementar mejor las relaciones entre la inflamación pulmonar se han añadido  
14 estos datos de microbiología; y, 5) la mayoría de los pacientes eran hombres, por lo que  
15 nuestros resultados no se pueden extrapolar directamente a mujeres ya que la  
16 enfermedad se manifiesta de forma diferente<sup>37</sup>.

## 19 Conclusiones

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



1 **BIBLIOGRAFÍA**

- 2 1. Agusti A, Edwards LD, Rennard SI, MacNee W, Tal-Singer R, Miller BE, et al.  
3 Persistent systemic inflammation is associated with poor clinical outcomes in  
4 COPD: a novel phenotype. *PLoS One*. 2012;7:e37483.
- 5 2. Garcia-Rio F, Miravittles M, Soriano JB, Munoz L, Duran-Tauleria E, Sanchez  
6 G, et al. Systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease: a  
7 population-based study. *Respir Res*. 2010;11:63-78.
- 8 3. Vestbo J, Hurd SS, Agusti AG, Jones PW, Vogelmeier C, Anzueto A, et al.  
9 Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic  
10 obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *Am J Respir Crit  
11 Care Med*. 2013;187:347-65.
- 12 4. Hogg JC, Chu F, Utokaparch S, Woods R, Elliott WM, Buzatu L, et al. The  
13 nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N  
14 Engl J Med*. 2004;350:2645-53.
- 15 5. Agusti A. Systemic effects of chronic obstructive pulmonary disease: what we  
16 know and what we don't know (but should). *Proc Am Thorac Soc*. 2007;4:522-5.
- 17 6. Hurst JR, Perera WR, Wilkinson TM, Donaldson GC, Wedzicha JA. Systemic  
18 and upper and lower airway inflammation at exacerbation of chronic obstructive  
19 pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173:71-8.
- 20 7. Sinden NJ, Stockley RA. Systemic inflammation and comorbidity in COPD: a  
21 result of 'overspill' of inflammatory mediators from the lungs? Review of the  
22 evidence. *Thorax*. 2010;65:930-6.
- 23 8. Roland M, Bhowmik A, Sapsford RJ, Seemungal TA, Jeffries DJ, Warner TD, et  
24 al. Sputum and plasma endothelin-1 levels in exacerbations of chronic  
25 obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2001;56:30-5.
- 26 9. Vernooy JH, Kucukaycan M, Jacobs JA, Chavannes NH, Burman WA,  
27 Dentener MA, et al. Local and systemic inflammation in patients with chronic  
28 obstructive pulmonary disease: soluble tumor necrosis factor receptors are  
29 increased in sputum. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166:1218-24.
- 30 10. Singh D, Edwards L, Tal-Singer R, Rennard S. Sputum neutrophils as a  
31 biomarker in COPD: findings from the ECLIPSE study. *Respir Res*. 2010;11:77-  
32 89.
- 33 11. Garcia-Aymerich J, Gomez FP, Anto JM. Phenotypic characterization and  
34 course of chronic obstructive pulmonary disease in the PAC-COPD Study:  
35 design and methods. *Arch Bronconeumol*. 2009;45:4-11.
- 36 12. Garcia-Aymerich J, Gomez FP, Benet M, Farrero E, Basagana X, Gayete A, et  
37 al. Identification and prospective validation of clinically relevant chronic  
38 obstructive pulmonary disease (COPD) subtypes. *Thorax*. 2011;66:430-7.
- 39 13. Celli BR, MacNee W. Standards for the diagnosis and treatment of patients with  
40 COPD: a summary of the ATS/ERS position paper. *Eur Respir J*. 2004;23:932-  
41 46.
- 42 14. MacIntyre N, Crapo RO, Viegi G, Johnson DC, van der Grinten CP, Brusasco V,  
43 et al. Standardisation of the single-breath determination of carbon monoxide  
44 uptake in the lung. *Eur Respir J*. 2005;26:720-35.
- 45 15. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al.  
46 Standardisation of spirometry. *Eur Respir J*. 2005;26:319-38.
- 47 16. Wanger J, Clausen JL, Coates A, Pedersen OF, Brusasco V, Burgos F, et al.  
48 Standardisation of the measurement of lung volumes. *Eur Respir J*.  
49 2005;26:511-22.

- 1 17. Roca J, Sanchis J, Agusti-Vidal A, Segarra F, Navajas D, Rodriguez-Roisin R, et  
2 al. Spirometric reference values from a Mediterranean population. *Bull Eur*  
3 *Physiopathol Respir.* 1986;22:217-24.
- 4 18. Roca J, Burgos F, Barbera JA, Sunyer J, Rodriguez-Roisin R, Castellsague J, et  
5 al. Prediction equations for plethysmographic lung volumes. *Respir Med.*  
6 1998;92:454-60.
- 7 19. Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A, Evans S, Morris MM, Squillace D,  
8 et al. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and  
9 validity of cell and fluid-phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med.*  
10 1996;154:308-17.
- 11 20. Marin A, Garcia-Aymerich J, Sauleda J, Belda J, Millares L, Garcia-Nunez M,  
12 et al. Effect of bronchial colonisation on airway and systemic inflammation in  
13 stable COPD. *COPD.* 2012;9:121-30.
- 14 21. Patel IS, Seemungal TA, Wilks M, Lloyd-Owen SJ, Donaldson GC, Wedzicha  
15 JA. Relationship between bacterial colonisation and the frequency, character,  
16 and severity of COPD exacerbations. *Thorax.* 2002;57:759-64.
- 17 22. Sethi S, Sethi R, Eschberger K, Lobbins P, Cai X, Grant BJ, et al. Airway  
18 bacterial concentrations and exacerbations of chronic obstructive pulmonary  
19 disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;176:356-61.
- 20 23. Marrugat J, Vila J, Pavesi M, Sanz F. [Estimation of the sample size in clinical  
21 and epidemiological investigations]. *Med Clin (Barc ).* 1998;111:267-76.
- 22 24. Dawson B TR. *Basic and Clinical Biostatistics.* 4th ed. New York: Lange  
23 Medical Books/McGraw-Hill;2004.
- 24 25. Ahmadi-Abhari S, Kaptoge S, Luben RN, Wareham NJ, Khaw KT. Longitudinal  
25 association of C-reactive protein and lung function over 13 years: The EPIC-  
26 Norfolk study. *Am J Epidemiol.* 2014;179:48-56.
- 27 26. Kalhan R, Tran BT, Colangelo LA, Rosenberg SR, Liu K, Thyagarajan B, et al.  
28 Systemic inflammation in young adults is associated with abnormal lung  
29 function in middle age. *PLoS One.* 2010;5:e11431.
- 30 27. Smith RM, Traber LD, Traber DL, Spragg RG. Pulmonary deposition and  
31 clearance of aerosolized alpha-1-proteinase inhibitor administered to dogs and to  
32 sheep. *J Clin Invest.* 1989;84:1145-54.
- 33 28. Hubbard RC, Brantly ML, Sellers SE, Mitchell ME, Crystal RG. Anti-  
34 neutrophil-elastase defenses of the lower respiratory tract in alpha 1-antitrypsin  
35 deficiency directly augmented with an aerosol of alpha 1-antitrypsin. *Ann Intern*  
36 *Med.* 1989;111:206-12.
- 37 29. Bruunsgaard H, Pedersen M, Pedersen BK. Aging and proinflammatory  
38 cytokines. *Curr Opin Hematol.* 2001;8:131-6.
- 39 30. de Torres JP, Cordoba-Lanus E, Lopez-Aguilar C, Muros de FM, Montejo de  
40 GA, Aguirre-Jaime A, et al. C-reactive protein levels and clinically important  
41 predictive outcomes in stable COPD patients. *Eur Respir J.* 2006;27:902-7.
- 42 31. Sin DD, Miller BE, Duvoix A, Man SF, Zhang X, Silverman EK, et al. Serum  
43 PARC/CCL-18 concentrations and health outcomes in chronic obstructive  
44 pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;183:1187-92.
- 45 32. McDonald VM, Higgins I, Wood LG, Gibson PG. Multidimensional assessment  
46 and tailored interventions for COPD: respiratory utopia or common sense?  
47 *Thorax.* 2013;68:691-4.
- 48 33. Bhowmik A, Chahal K, Austin G, Chakravorty I. Improving mucociliary  
49 clearance in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med.* 2009;103:496-  
50 502.

- 1 34. Miravittles M, Espinosa C, Fernandez-Laso E, Martos JA, Maldonado JA,  
2 Gallego M. Relationship between bacterial flora in sputum and functional  
3 impairment in patients with acute exacerbations of COPD. Study Group of  
4 Bacterial Infection in COPD. *Chest*. 1999;116:40-6.
- 5 35. Boixeda R, Almagro P, Díez-Manglano J, Cabrera FJ, Recio J, Martin-Garrido I,  
6 et al. Bacterial flora in the sputum and comorbidity in patients with acute  
7 exacerbations of COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2015;10:2581-91.
- 8 36. Telgen MC, Brusse-Keizer MG, van der Valk PD, van der Palen J, Kerstjens  
9 HA, Hendrix MG. Impact on clinical decision making of quality control  
10 standards applied to sputum analysis in COPD. *Respir Med*. 2011;105:371-76.
- 11 37. Aryal S, Diaz-Guzman E, Mannino DM. COPD and gender differences: an  
12 update. *Transl Res*. 2013;162:208-18.
- 13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

**Tabla 1.** Datos clínicos y funcionales de los pacientes incluidos en el análisis (media  $\pm$  SD), o n [%].

	<b>Pacientes (n= 133)</b>
Edad (años)	69 $\pm$ 9
Varones (%)	124 (93%)
Exposición tabaco (paquetes-año)	71 $\pm$ 42
IMC, Kg/m <sup>2</sup>	28 $\pm$ 5
FEV <sub>1</sub> (% referencia)	52 $\pm$ 16
FEV <sub>1</sub> /FVC (%)	53 $\pm$ 12
DL <sub>CO</sub> (% referencia)	66 $\pm$ 21
PaO <sub>2</sub> (mmHg)	72 $\pm$ 9
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	41 $\pm$ 5

IMC: índice de masa corporal.

FEV<sub>1</sub>: volumen espiratorio forzado durante el primer segundo.

FEV<sub>1</sub>/FVC (%): Cociente entre el volumen espiratorio forzado durante el primer segundo y la capacidad vital forzada.

DL<sub>CO</sub>: capacidad de difusión del monóxido de carbono.

PaO<sub>2</sub>: presión parcial de oxígeno en sangre arterial.

PaCO<sub>2</sub>: presión parcial de dióxido de carbono en sangre arterial.

**Tabla 2.** Inflamación en esputo y suero (mediana [percentil 25-75])

	<b>ESPUTO</b>	<b>SUERO</b>
TNF $\alpha$ (pg/ml)	0.94 [0.92-18]	0.20 [0.05-0.6]*
IL-8 (pg/ml)	11350 [3908-16141]	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

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## PIE DE FIGURAS

**Figura 1.** Relación marcadores inflamatorios (IL-6, IL-8 y TNF $\alpha$ ) en suero y esputo en 133 pacientes con EPOC estable.

**Figura 2.** Relación entre el grado de limitación al flujo aéreo (FEV<sub>1</sub>, % referencia) y marcadores inflamatorios determinados en suero.

**Figura 3.** Relación entre la capacidad de difusión (DL<sub>CO</sub> % referencia) y marcadores inflamatorios determinados en suero.

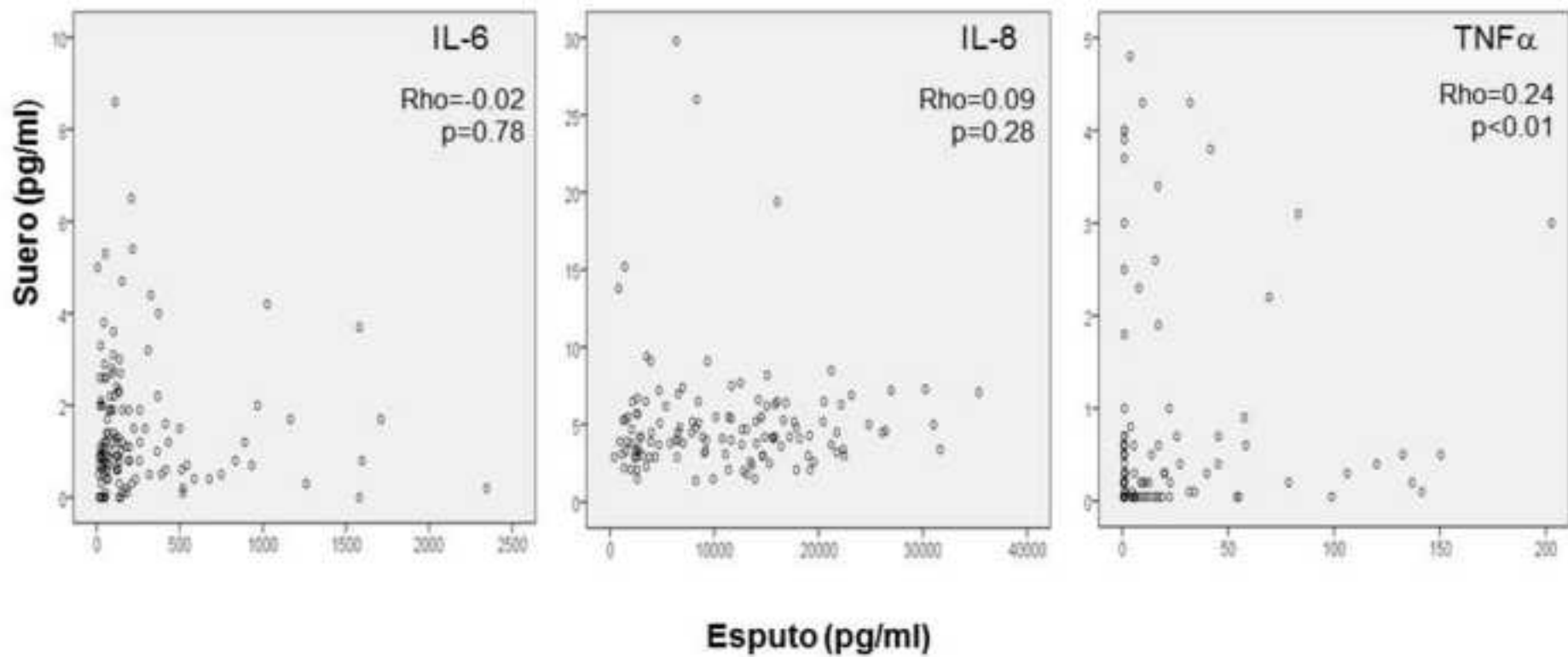


Figura 1

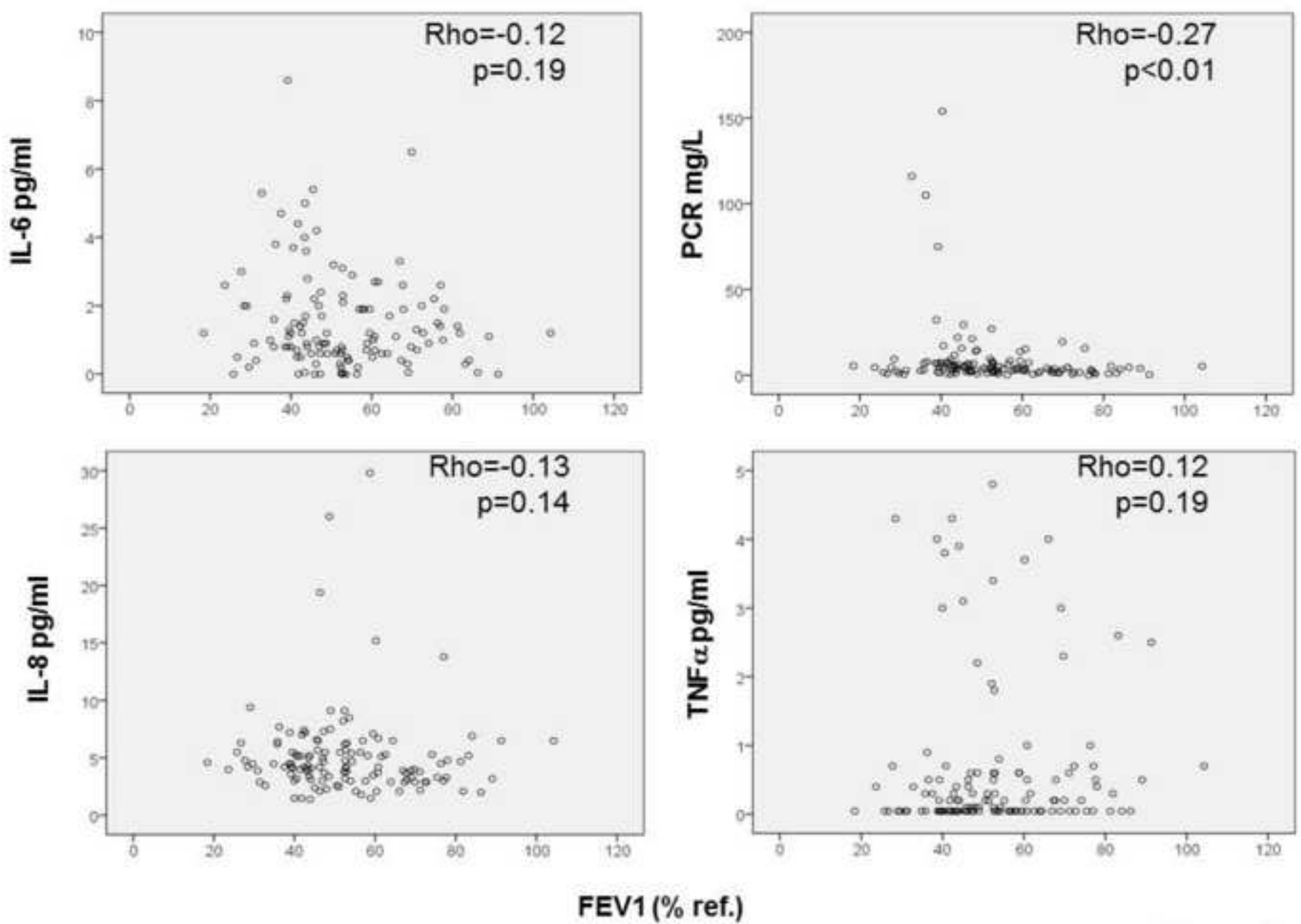


Figura 2



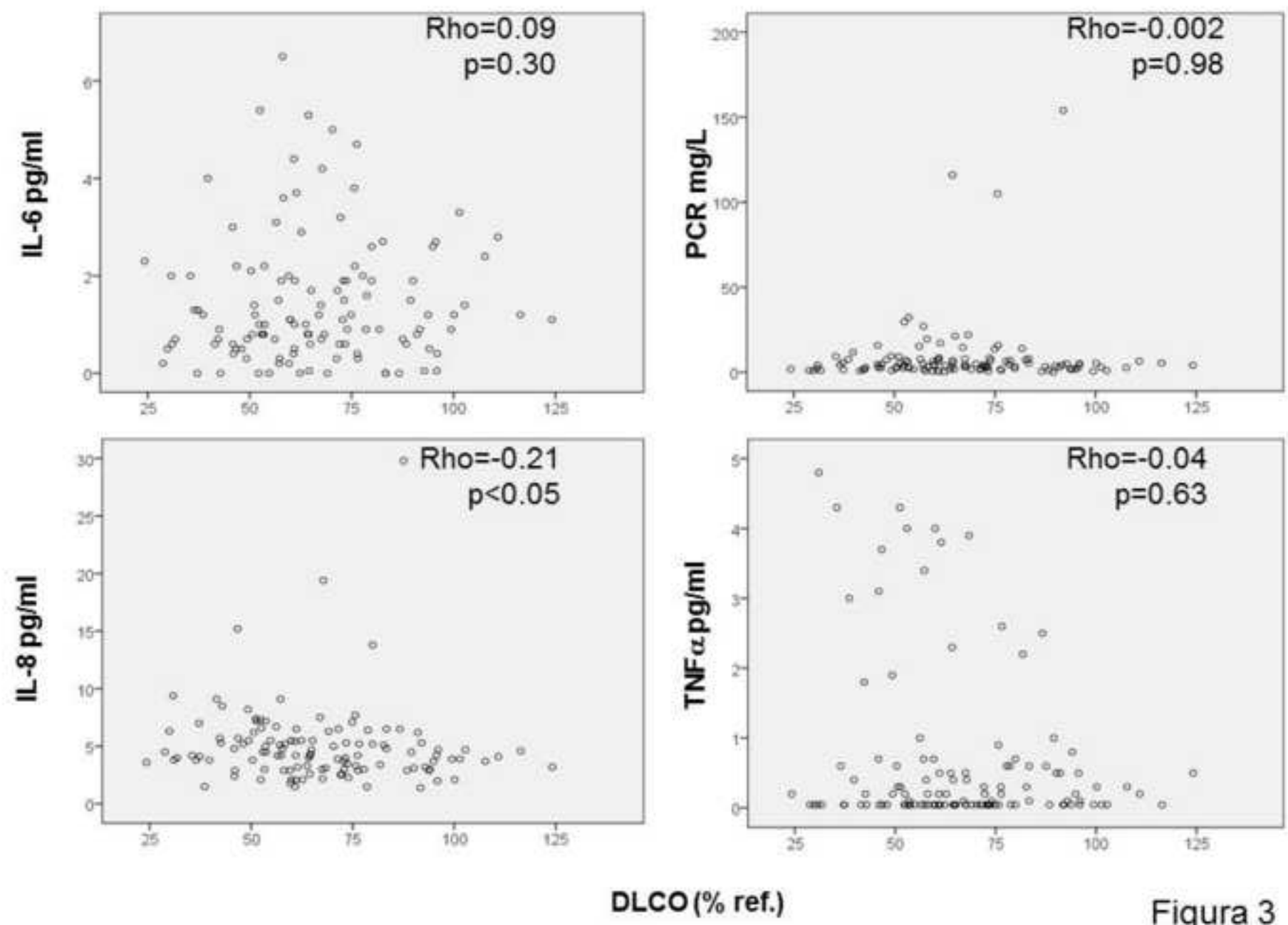


Figura 3