

Proteína catiónica del eosinófilo en el asma infantil. Correlación con la clínica y función pulmonar

J.R. Villa Asensi, G. García Hernández, M.J. Boya Cristiá, S. Rueda Esteban, M. Marín Ferrer, A. Nogales Espert

Resumen. Hemos medido los niveles séricos de ECP (proteína catiónica del eosinófilo) en 99 niños (51 varones y 48 mujeres) con asma crónica, con edad media de 10,59 años y la hemos relacionado con el número total de eosinófilos en sangre periférica, la situación clínica del paciente en los últimos 6 meses, su score clínico que reflejaba su situación en los últimos 15 días y la función pulmonar del niño. Encontramos una relación estadísticamente significativa entre los niveles de ECP y el número total del eosinófilo ($p < 0,001$; $R = 0,44$), el score clínico ($p < 0,05$; $R = 0,26$), dosis de beta-adrenérgicos que precisó en los últimos 15 días ($p < 0,05$; $R = 0,26$), FEV_1 ($p < 0,01$; $R = -0,27$), FVC ($p < 0,05$; $R = -0,23$), FEF_{25-75} ($p < 0,001$; $R = -0,37$). Sin embargo, no encontramos relación entre el número total de eosinófilos y la clínica del niño o el FEV_1 , aunque sí con el FEF_{25-75} . Los niños con ECP > 20 tenían una función pulmonar estadísticamente peor que los niños con ECP normal (< 20): FEV_1 : $100,5 \pm 22$ vs $108,89 \pm 17,7$ ($p < 0,05$), FEF_{25-75} : $75,21 \pm 24,5$ vs $93,81 \pm 24,4$ ($p < 0,001$).

Los hallazgos de este estudio sugieren que los niveles séricos de ECP son un marcador útil para evaluar la situación del asma en el niño. Probablemente pueden ayudarnos a evaluar un aspecto complementario del asma (el grado de inflamación bronquial) que ni la clínica ni la función pulmonar definen completamente.

An Esp Pediatr 1996;45:479-482.

Palabras clave: Proteína catiónica del eosinófilo; Asma; Función pulmonar.

EOSINOPHIL CATIONIC PROTEIN IN THE ASTHMATIC INFANT: CORRELATION WITH THE CLINIC AND PULMONARY FUNCTION

Abstract. *Patients and methods:* Serum eosinophil cationic protein (ECP) was measured in 99 chronic asthmatic patients (51 males and 48 females) with a mean age of 10.59 years and correlated with the number of eosinophils, lung function, symptoms in the last 6 months and clinical scoring (that reflecting the clinical situation during the last 15 days).

Results: Serum ECP showed a significant correlation with the total number of eosinophils ($p < 0,001$, $R = 0,44$), clinical scoring ($p < 0,05$, $R = 0,26$), number of inhaled β_2 -agonist doses needed in the last 15 days ($p < 0,05$, $R = 0,26$), forced expiratory volume during 1 second (FEV_1 ; $p < 0,01$, $R = -0,27$), forced vital capacity (FVC; $p < 0,05$, $R = -0,23$), maximal mid-expiratory flow (FEF_{25-75} ; $p < 0,001$, $R = -0,37$). However, there was no significant correlation between the total number of eosinophils and the clinical situation of the children or the FEV_1 , but we found a significant correlation with the FEF_{25-75} . Patients with ECP < 20 had better results on lung function tests than patients with ECP > 20 (FEV_1 : $108,89 \pm 17,7$ vs $100,5 \pm 22$ ($p < 0,05$), FEF_{25-75} : $93,81 \pm 24,4$ vs $75,21 \pm 24,5$ ($p < 0,001$)).

Conclusions: The findings of this study suggest that the ECP level is a good marker of the situation of asthma in childhood. The levels of ECP will probably be able to help us to evaluate the degree of bronchial inflammation that neither the clinical state nor the lung function define completely.

Key words: Eosinophil cationic protein. Asthma. Pulmonary function.

Sección de Neumología y Alergia Infantil. Hospital «Doce de Octubre». Madrid.
Correspondencia: J.R. Villa Asensi. Sección de Neumología y Alergia Infantil, Dpto. de Pediatría. Hospital «Doce de Octubre». Ctra. de Andalucía, Km 5,4. 28041 Madrid.

Recibido: Noviembre 1995

Aceptado: Abril 1996

Introducción

El asma es una enfermedad inflamatoria crónica de las vías aéreas en la que el eosinófilo juega un papel relevante⁽¹⁻³⁾. Se ha sugerido que la inflamación es la responsable de la existencia de hiperreactividad bronquial⁽⁴⁾. Los estudios realizados en asmáticos adultos mediante biopsias pulmonares y lavados broncoalveolares han permitido conocer mejor los mecanismos etiológicos del asma⁽⁵⁻⁷⁾. Estos estudios, que demuestran la importancia del componente inflamatorio en el asma, han condicionado de forma radical la forma en la que actualmente se trata el asma, recomendándose el tratamiento antiinflamatorio como primera línea de actuación⁽⁸⁾. Sin embargo, se han realizado muy pocos estudios en niños por motivos evidentes y los pocos realizados han sido en niños mayores⁽⁹⁾, por lo que no conocemos con exactitud si este proceso inflamatorio existe también en el asma del niño pequeño⁽¹⁰⁾. Actualmente podemos contar con la determinación sérica o en orina de marcadores de la actividad de las células responsables de la inflamación bronquial con lo que podemos estudiar este proceso también en niños.

La proteína más estudiada en la clínica es la ECP. Esta es una proteína exclusiva del eosinófilo y es liberada cuando los eosinófilos están activados. Existe una buena correlación entre los niveles séricos de ECP y los encontrados en lavado broncoalveolar, lo que indica que los niveles séricos reflejan el proceso local^(11,12).

El nivel sérico de ECP no depende directamente del número de eosinófilos en sangre periférica, sino del grado de activación de los mismos⁽¹³⁾.

El propósito de nuestro trabajo consiste en averiguar si existe relación entre los niveles de la ECP y la situación clínica y función pulmonar del niño con asma.

Material y métodos

Pacientes

Se estudiaron 99 pacientes (48 niñas y 51 niños), de los que 71 eran atópicos y 28 no atópicos, con una edad media de 10,59 años, diagnosticados de asma leve (45 pacientes), moderado (47 pacientes), severo (3 pacientes) de acuerdo a la clasificación del Consenso Internacional para el diagnóstico y tratamiento del asma, basándonos en su situación clínica de los últimos 6 meses, en tratamiento con nedocromil (en 35 casos) o budesonida (35 casos) con una dosis media de 650 ± 365 $\mu\text{g}/\text{día}$ y broncodilatadores a demanda. Ninguno había recibido tratamiento con cor-

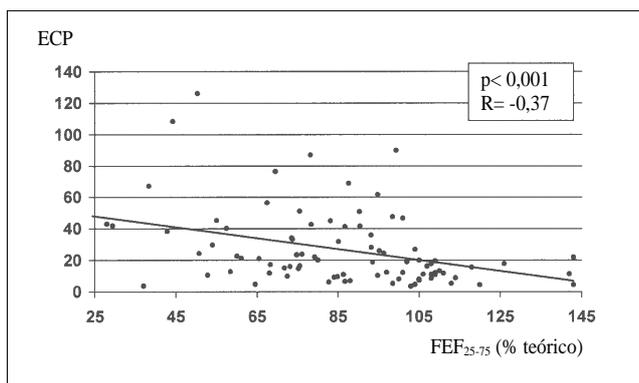


Figura 1. Correlación entre los niveles séricos de ECP y el porcentaje sobre el valor teórico del FEV₂₅₋₇₅ basal.

ticoides sistémicos durante los 3 meses previos al estudio. En este grupo de pacientes se midieron los niveles séricos de ECP, la situación clínica en los últimos 15 días previos a la extracción y la función pulmonar mediante la curva de flujo-volumen.

La situación clínica en los últimos 15 días previos a la extracción se evaluó mediante aplicación de un score clínico en el que se incluían como parámetros la tos, disnea y sibilancias (que fueron puntuados de 0 a 3 en función de que estuvieran ausentes (0), o fueran esporádicos (1), frecuentes (2) o continuas (3)), la tolerancia al ejercicio (que fue puntuada de 0 a 3 en función de la no tolerancia al ejercicio fuerte (1), moderado (2) o leve (3)), el número de noches que se había despertado por asma o tos y el número de dosis de beta-adrenérgicos administrados en los últimos 15 días.

Exámenes de laboratorio

La sangre se extraía con tubos Vacutainer SST, desechándola si existía hemólisis. Tras dejar el tubo durante 1 hora a temperatura ambiente se centrifugaba durante 10 minutos a 3.000 rpm y el suero fue congelado a -20°C hasta la realización del ensayo.

Los niveles séricos de ECP fueron medidos por duplicado mediante técnica FEIA Pharmacia, siendo considerados elevados los niveles superiores a 20 µg/L^(14,15).

El número total de eosinófilos fue medido por analizador hematológico Technicon H1.

Estudio de función pulmonar

La función pulmonar fue medida mediante curva de flujo-volumen analizando el FEV₁ (volumen espirado máximo en un segundo), FEV₂₅₋₇₅ (flujo medio entre el 75 y el 25% de la capacidad vital) y FVC (capacidad vital forzada) con espirómetro Master-Screen Pneumo de Jaeger. El estudio de función pulmonar se realizó el mismo día que la extracción sanguínea.

Evaluación de la alergia

En todos los niños se realizaron pruebas cutáneas mediante Prick para los neuroalergenos habituales: *dermatophagoides*

Tabla I Correlación entre el nivel sérico de ECP y los parámetros estudiados

Parámetro	Índice de regresión	p
Eosinófilos tot.	0,68	< 0,001
Score clínico	0,26	< 0,05
Nº dosis β ₂	0,26	< 0,05
FEV ₁	-0,27	< 0,01
FVC	-0,23	< 0,05
FEF ₂₅₋₇₅	-0,37	< 0,001

pteronysinus, dermatophagoides farinae, alternaria, cladosporium, garmíneas, malezas (artemisa, parietaria, chenopodium y plantago), olivo y epitelio de perro, gato y caballo (ALK), control negativo con suero salino y control positivo con histamina.

Estudio estadístico

El análisis de los datos se realizó mediante el paquete estadístico Epi-Info, v. 6.01 (CDC y OMS). Los datos se analizaron mediante el coeficiente de regresión lineal. La comparación de medias se realizó mediante la prueba «t» de Student excepto cuando se utilizó el score clínico en que se realizó con el test no paramétrico de Mann-Whitney.

Resultados

No existió correlación estadísticamente significativa entre los niveles séricos de ECP y el sexo, aunque sí próxima a valores estadísticamente significativos; los niños tenían una ECP de 22,99 ± 22,04 frente a las niñas que fue de 32,59 ± 32,82 (p = 0,059).

Hemos encontrado una correlación estadísticamente significativa entre los niveles de ECP y el score clínico (p < 0,05; R = 0,26) y la función pulmonar: FEV₁ (p < 0,01; R = -0,27), FEV₂₅₋₇₅ (p < 0,001; R = -0,37) (Fig. 1) y FVC (p < 0,05; R = -0,23) (Tabla I).

El número de dosis de beta-adrenérgicos empleados en los últimos 15 días se correlacionó de forma estadísticamente significativa con los niveles de ECP, de forma que a mayores niveles de ECP mayor número de dosis de beta-adrenérgicos fueron empleados (p < 0,05; R = 0,26). Los niños con niveles normales de ECP precisaron menos dosis de beta-adrenérgicos (4,93 ± 11) que aquellos niveles altos (8,45 ± 15) (p = no significativa).

Los niños con niveles normales de ECP (< de 20) tenían un FEV₁ (108,89 ± 17,7) y un FEV₂₅₋₇₅ (93,81 ± 24,4) significativamente mayor que los niños con niveles de ECP mayor de 20, que tenían un FEV₁ = 100,5 ± 22,0 y un FEV₂₅₋₇₅ = 75,21 ± 24,5 con p < 0,05 y p < 0,001, respectivamente (Tabla II).

Los pacientes con ECP menor de 20 tuvieron un score de 2,92 ± 2,82 frente a los pacientes con ECP mayor de 20 en los que el score fue de 3,49 ± 3,05 (p = no significativa) (Tabla II).

Tabla II Situación del paciente y ECP elevada (> 20) o normal

	ECP < 20	ECP > 20	p
FEV ₁	108,89 ± 17,7	100,5 ± 22,0	= 0,05
FVC	103,29 ± 14,1	97,63 ± 19,48	NS
FEF ₂₅₋₇₅	93,81 ± 24,4	75,21 ± 24,5	< 0,001
Score clínico	2,92 ± 2,82	3,49 ± 3,05	NS
Dosis β ₂	4,93 ± 11	8,45 ± 15	NS

Los niveles de ECP no guardaron relación estadísticamente significativa con la gravedad del asma ni con la existencia o no de atopia. En los pacientes con asma alérgico los niveles séricos de ECP fueron de 28,18 ± 22,65 frente a aquellos con asma no alérgico en los que los niveles fueron de 27,72 ± 30,74.

No existieron diferencias estadísticamente significativas entre el tipo de tratamiento que estaban empleando los pacientes y los niveles de ECP. Los pacientes en tratamiento con nedocromil presentaron niveles de ECP de 26,01 ± 22,63 mientras que los que habían sido tratados con budesonida tenían unos niveles de 23,84 ± 20,48 (p no significativa). En los 32 pacientes cuyo tratamiento era exclusivamente de broncodilatadores a demanda, los niveles séricos de ECP fueron de 32,39 ± 29,84.

Aunque obtuvimos una correlación adecuada entre el número total de eosinófilos en sangre periférica y los niveles séricos de ECP (p < 0,001; R = 0,68) (Fig. 2), no existió una correlación estadísticamente significativa entre el número de eosinófilos y el score clínico (R = 0,16; p no significativa) y el FEV₁ (R = -0,03; p no significativa) aunque sí con el FEF₂₅₋₇₅ (R = -0,12; p no significativa); los niveles séricos de ECP se correlacionan mucho mejor con el score clínico, FEV₁ y FEF₂₅₋₇₅ que el número de eosinófilos.

Discusión

Se ha sugerido que el estudio del nivel sérico de la ECP tiene varias posibles utilidades en el asma infantil: predicción del desarrollo futuro de asma, predicción de evolución a asma en un niño con los primeros síntomas, evaluación del tipo de asma, indicación y monitorización del tratamiento antiinflamatorio y, finalmente, la evaluación de la gravedad del asma⁽¹⁶⁻¹⁹⁾. Algunos autores han encontrado una buena correlación entre los niveles séricos de ECP y la función pulmonar o la medición de la hiperreactividad bronquial en pacientes asmáticos⁽²⁰⁾, mientras que otros no han encontrado esta correlación⁽²¹⁾. En nuestro estudio hemos encontrado una correlación estadísticamente significativa entre los niveles de ECP y la situación clínica en los últimos 15 días y la función pulmonar. Los niños con niveles normales de ECP tenían un FEV₁ y un FEF₂₅₋₇₅ significativamente mayor que los niños con niveles altos de ECP.

Como hemos visto, existe una correlación estadísticamente significativa entre los niveles de ECP y la función pulmonar; es-

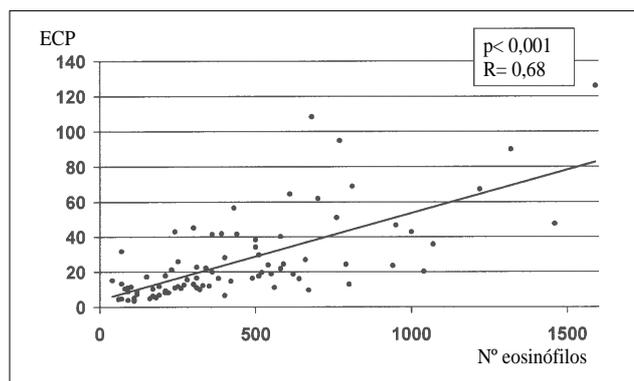


Figura 2. Correlación entre los niveles séricos de ECP y el número total de eosinófilos en sangre periférica.

ta correlación es negativa, es decir, cuanto peor es la función pulmonar, mayores son los niveles séricos de ECP. Aunque estadísticamente significativos, los índices de regresión fueron bajos. Probablemente esto sea debido a que estamos midiendo aspectos distintos del asma con la función pulmonar o la evaluación de la inflamación mediada por eosinófilos con la ECP.

Aunque hemos encontrado una buena correlación entre los niveles de ECP y el número total de eosinófilos en sangre periférica, el número de eosinófilos no se correlacionó con la situación clínica ni con el FEV₁, aunque sí con el FEF₂₅₋₇₅. Esto probablemente se explique por el hecho de que los niveles séricos de ECP no dependen directamente del número de eosinófilos en sangre periférica, sino del grado de activación de los mismos ya que la ECP es una proteína exclusiva del eosinófilo y es liberada cuando los eosinófilos están activados⁽²²⁾.

Tampoco existieron diferencias en los niveles de ECP entre los grupos de pacientes con asma moderado y leve. Este dato probablemente sea debido a que los pacientes incluidos en el grupo de asma moderado estaban en tratamiento con corticoides inhalado (budesonida) que reducen los niveles de ECP en suero⁽²³⁾. Probablemente el motivo por el que nosotros no hayamos encontrado unos niveles de ECP menores en los niños tratados con budesonida que en los tratados con otros fármacos, sea que la extracción se realizó cuando los niños estaban ya en tratamiento con budesonida y podemos esperar que los niveles previos al tratamiento eran mayores que los que hubieran tenido los pacientes tratados con otros fármacos, pues la indicación del tratamiento con budesonida es la de un asma más grave.

Hay autores que han podido comprobar que los niños menores de 5 años con atopia y asma tienen unos niveles de ECP en sangre más elevados que los asmáticos menores de 5 años sin atopia, y que estos niveles disminuyen tras el tratamiento con corticoides inhalados. Otros niños con atopia en forma de alergia alimentaria y sin asma no tenían los niveles de ECP elevados, por lo que se puede pensar que es el asma y no la atopia en general lo que produce un incremento de la ECP⁽²⁴⁾. Esto contrasta con nuestros resultados en los que no existieron diferencias en los niveles de ECP entre los pacientes con asma alérgi-

co y no alérgico. Probablemente esto sea debido a que muchos de los niños con sibilancias por debajo de los 5 años y sin atopia, no tienen un verdadero asma (no existiría inflamación), sino un calibre reducido de las vías aéreas⁽²⁵⁾ mientras que los atópicos sí. Nuestro grupo de estudio son todos mayores de esta edad y tienen verdadera asma. Nosotros sí hemos encontrado niveles de ECP mayores en niños pequeños con asma atópico que en niños pequeños con asma no atópico; sin embargo, siguiendo a estos niños durante 2 años hemos podido comprobar que los niños no atópicos que continuaban con asma tenían unos niveles de ECP, al inicio de cuadro, tan elevados como los atópicos (datos en prensa).

Bibliografía

- 1 International Consensus Report on Diagnosis and Management of Asthma. *Allergy* 1992;**47**(Suppl 13):1-61.
- 2 Carlson M, Hakansson L, Kampe M, Stalenheim G, Peterson C, Venge P. Degranulation of eosinophils from pollen-atopic patients with asthma is increased during pollen season. *J Allergy Clin Immunol* 1992;**89**:131-139.
- 3 Hamann KJ, Barker RL, Ten RM, Gleich CJ. The molecular biology of eosinophil granule proteins. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1991;**94**:202-209.
- 4 Hargreave FE. Late phase asthmatic responses and airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 1989;**83**:525-527.
- 5 Ferguson AC, Wong FWM. Bronchial hyperresponsiveness in asthmatic children. Correlation with macrophages and eosinophils in bronchoalveolar fluid. *Chest* 1989;**96**:988-991.
- 6 Virchow JC Jr, Holscher U, Virchow C Sr. Sputum ECP levels correlate with parameters of airflow obstruction. *Am Rev Respir Dis* 1992;**146**:604-606.
- 7 Frigas E, Motojima S, Gleich GJ. The eosinophilic injury to the mucosa of the airway in the pathogenesis of bronchial asthma. *Eur Respir J* 1991;**13**:123-135.
- 8 Barnes PJ. Inhaled glucocorticoids for asthma. *N Engl J Med* 1995;**332**:868-875.
- 9 Tomassini M, Tscopoulos A, Tai PC, Gruart V, Tonnel AB, Prin L, Capron M. Release of granule proteins by eosinophils from allergic and nonallergic patients with eosinophilia on immunoglobulin dependent activation. *J Allergy Clin Immunol* 1991;**88**:365-375.
- 10 Larsen G. Inflammation and Immunopathology. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;**151**:13-14.
- 11 Adelroth E, Rosenhall L, Johansson SA, Linden M, Venge P. Inflammatory cells and eosinophilic activity in asthmatic investigated by bronchoalveolar lavage: The effects of antiasthmatic treatment with budesonide or terbutaline. *Am Rev Respir Dis* 1990;**142**:91-99.
- 12 Peterson CGB, Enander Y, Nystrand J, Anderson AS, Nilsson L, Venge P. Radioimmunoassay of human eosinophil cationic protein (ECP) by an improved method. Establishment of normal levels in serum and turnover in vivo. *Clin Exp Allergy* 1991;**21**:561-567.
- 13 Griffin E, Hakanson L, Foringren H, Jörgensen K, Peterson C, Venge P. Blood eosinophil number and activity in relation to lung function in asthmatic patients with eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol* 1991;**87**:548-557.
- 14 Aslstedt S, Enander Y, Peterson CGB, Lanner A. The clinical assessment of the inflammatory component in asthma with emphasis on the eosinophils. *Pract Allergy Immunol* 1992;**3**:149-154.
- 15 Peterson CGB, Enander I, Nystrand J, Anderson AS, Nilsson L, Venge P. Radioimmunoassay of human eosinophil cationic protein (ECP) by an improved method. Establishment of normal levels in serum and turnover in vivo. *Clin Exp Allergy* 1991;**21**:561-567.
- 16 Villa Asensi JR. Marcadores séricos de la inflamación y asma infantil. *Bol S Vasco-Nav Ped XXIX* 1995;**89**:38-42.
- 17 Juntunen-Backman K, Jarvinen P, Sorva R. Serum eosinophil cationic protein during treatment of asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 1993;**92**:34-38.
- 18 Miyoshi M, Sakurai T, Kodama S. Serum eosinophil cationic protein (ECP) and major basic protein (MBP) levels in patients prepared for asthma attack. *Arerugi* 1992;**41**:1672-1678.
- 19 Wempe JB, Tammeling EP, Koeter GH, Hakansson L, Venge P. Blood eosinophil numbers and activity during 24 hours: effects of treatment with budesonide and bambuterol. *J Allergy Clin Immunol* 1992;**90**:757-765.
- 20 Zimmerman B, Lanner A, Enander Y, Zimmerman RS, Ahlstedt S. Total blood eosinophils, serum eosinophil cationic protein and eosinophil protein X in childhood asthma: relation to disease status and therapy. *Clin Exp Allergy* 1993;**23**:564-570.
- 21 Callen M, Carrera A, Mintegui J, Garmendía A, Emparanza JL, Pérez Yarza EG. Niveles séricos de Proteína Cationica Eosinófila y función pulmonar en niños asmáticos. Resultados preliminares. XVII Reunión de la Sección de Neumología Pediátrica de la AEP. La Coruña, 1994.
- 22 Rak S, Björnson A, Hakansson L, Sörenson S, Venge P. The effect of immunotherapy on eosinophil accumulation and production of eosinophil chemotactic activity in the lung of subjects with asthma during natural pollen exposure. *J Allergy Clin Immunol* 1991;**88**:878-888.
- 23 Venge P, Dahl R, Peterson CGB. Eosinophil granule proteins in serum after allergen challenge of asthmatic patients and the effects of anti-asthmatic medication. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1988;**87**:306-312.
- 24 Zimmerman B, Enander Y, Zimmerman R, Ahlstedt S. Asthma in children less than 5 years of age: eosinophils and serum levels of the eosinophil proteins ECP and EPX in relation to atopy and symptoms. *Clin Exp Allergy* 1994; 149-155.
- 25 Martínez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halones M, Morgan WJ. Asthma and wheezing in the first six years of life. *New Engl J Med* 1995;**332**:133-138.