

Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

Volumen
Volume **18**

Número
Number **1**

Enero-Marzo
January-March **2005**

Artículo:

Efecto de la rhDNase sobre la
obstrucción bronquial irreversible en
adultos con asma grave

Derechos reservados, Copyright © 2005:
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

**Otras secciones de
este sitio:**

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

*Others sections in
this web site:*

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



Medigraphic.com

Efecto de la rhDNase sobre la obstrucción bronquial irreversible en adultos con asma grave

MARIO H. VARGAS*†

LUIS TORRE-BOUSCOULET*

JORGE SALAS-HERNÁNDEZ*

MARÍA E.Y. FURUYA†

* Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

† Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Trabajo recibido: 17-I-2005; Aceptado: 02-II-2005

RESUMEN

Introducción: En algunos pacientes asmáticos la obstrucción de las vías aéreas no puede ser revertida por tratamiento broncodilatador y/o corticosteroideo. Esta obstrucción irreversible se ha atribuido a la remodelación de las vías aéreas, pero otros mecanismos, como el taponamiento mucoso, no se han explorado.

Objetivo: Evaluar si la rhDNase, enzima ampliamente usada para fluidificar el moco respiratorio en la fibrosis quística, mejora las variables espirométricas y la calidad de vida de pacientes con asma grave.

14

Palabras clave: Asma, rhDNase, dornasa alfa, taponamiento mucoso, obstrucción bronquial.

Key words: Asthma, rhDNase, dornase alpha, mucus plugging, bronchial obstruction.

Pacientes y métodos: Diez pacientes adultos (6 mujeres) con asma grave, dependientes de corticosteroides, recibieron nebulizaciones diarias de 2.5 mg de rhDNase durante 14-28 días. Se realizaron espirometrías por lo menos cada semana, evaluando la capacidad vital forzada (FVC), el volumen espiratorio forzado al primer segundo (FEV₁), la relación FEV₁/FVC y el flujo espiratorio máximo (PEF). Los cambios espirométricos se evaluaron mediante

análisis de regresión. Se aplicó un cuestionario de calidad de vida antes y al final del tratamiento.

Resultados: Las variables espirométricas no cambiaron en la mayoría de los pacientes. Sin embargo, al menos un paciente tuvo mejoría de la función pulmonar, de acuerdo con las pendientes ascendentes estadísticamente significativas en la FVC, el FEV₁ y la relación FEV₁/FVC. Aunque otros sujetos también tuvieron cambios ascendentes (2 pacientes) o descendentes (2 pacientes) de las pendientes, éstos sólo ocurrieron en una de las variables espirométricas. Como grupo, los pacientes mostraron tendencia a la mejoría en la calidad de vida.

ABSTRACT

Background: In some asthma patients airway obstruction can not be reverted by bronchodilator and/or corticosteroid treatment. This irreversible obstruction has been attributed to the remodeling process of airways, but other mechanisms such as mucus plugging have not been explored.

Objective: To evaluate if rhDNase, an enzyme extensively used to fluidize the mucus in cystic fibrosis, improves spirometric variables and quality of life of asthmatic patients.

Patients and methods: Ten adult patients (6 females) with severe corticosteroid-dependent asthma received daily nebulizations of 2.5 mg rhDNase during 14-28 days. Spirometries were performed at least at weekly intervals to evaluate the forced vital capacity (FVC), forced expiratory flow at the first second (FEV₁), the FEV₁/FVC ratio and peak expiratory flow (PEF). Changes in spirometric variables were assessed by regression analysis. An asthma quality of life questionnaire was applied before and at the end of treatment.

Results: Spirometric variables did not change in most patients. However, pulmonary function improved in one patient, according to the statistically significant ascending slopes in FVC, FEV₁ and FEV₁/FVC. Although other subjects also had ascending (2 patients) or descending (2 patients) slopes, these changes only occurred in one spirometric variable. As a group, there was a trend for improvement in quality of life.

Conclusions: Although rhDNase does not modify the irreversible bronchial obstruction in most patients with severe asthma, a small proportion of them might obtain some beneficial effect.

Conclusiones: Aunque la rhDNase no modifica la obstrucción bronquial irreversible en la gran mayoría de los pacientes con asma grave, una pequeña proporción de ellos podría obtener algún efecto benéfico.

INTRODUCCIÓN

Una característica del asma es la reversibilidad de la obstrucción de las vías aéreas después de la administración de un broncodilatador, con o sin la adición de un corticosteroide; en algunos pacientes persiste obstrucción que no puede ser revertida aun con dosis altas de corticosteroides¹⁻⁵. Esta obstrucción irreversible se ha atribuido a cambios estructurales de las vías aéreas conocidos como "remodelación"⁶⁻⁸, que incluyen engrosamiento de la pared bronquial, metaplasia mucosa, hiperplasia y/o hipertrofia de miofibroblastos y miocitos y depósito subepitelial de colágenas I, III y V, pero aún quedan interrogantes al respecto^{5,7}. Los sujetos que fallecen durante una exacerbación grave de asma tienen intenso taponamiento mucoso de la luz bronquial⁹⁻¹¹. Además, desde hace mucho tiempo se sabe que los pacientes con asma moderada o grave pueden expectorar moldes bronquiales de moco solidificado (llamados espirales de Curschmann)¹², lo que sugiere que el moco se compactó dentro de las vías aéreas periféricas. Por tanto, es razonable sospechar que la oclusión parcial o total de bronquios pequeños o bronquiolos debida a taponamiento mucoso puede ser una causa más de la obstrucción irreversible que se observa en pacientes con asma grave.

La DNase I recombinante humana (rhDNase) se ha usado ampliamente en el tratamiento de la fibrosis quística. La molécula fragmenta el DNA extracelular contenido en el moco, por lo que disminuye la viscoelasticidad de éste y lo transforma de un gel denso a un líquido fluido en cuestión de minutos¹³. Un gran número de estudios controlados multicéntricos (revisados por Kearney y Wallis)¹⁴ han demostrado la eficacia de la rhDNase aerolizada en pacientes con fibrosis quística estable, en quienes la espirometría mejora progresivamente^{15,16}.

En los pacientes con fibrosis quística, el moco tiene un alto contenido de DNA, que varía de 4 a 14 mg/mL¹⁷, de modo que el efecto benéfico

de la rhDNase no es sorprendente. Por el contrario, en el moco respiratorio de los pacientes asmáticos hay una concentración mucho menor de DNA, de alrededor de 7 µg/mL¹⁸. A pesar de esta gran diferencia en el contenido de DNA, algunos informes de casos aislados han confirmado que la rhDNase fluidifica los tapones mucosos de pacientes con asma grave, ya que su administración directa dentro de los bronquios taponados produce una rápida resolución de la obstrucción¹⁹⁻²³. Por tanto, es probable que la rhDNase posea algún otro mecanismo para fluidificar las secreciones, además de su bien conocida actividad enzimática. En este sentido, un estudio en fibrosis quística encontró que la rhDNase mejora el transporte mucociliar modificando el patrón de fosfolípidos del moco²⁴, mientras que otros muestran que las mucinas de pacientes neumópatas contienen 25 a 40% de lípidos²⁵, y que la compactación del moco en los que mueren en estado asmático es principalmente debida a los lípidos²⁶.

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue investigar si la nebulización diaria de rhDNase en pacientes asmáticos con obstrucción bronquial irreversible podría producir un aumento de los volúmenes y flujos espiratorios y/o una mejoría en la calidad de vida.

15

PACIENTES Y MÉTODOS

Este fue un estudio prospectivo llevado a cabo en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), en la ciudad de México. Se invitó a participar en el estudio a pacientes adultos con asma grave dependiente de corticosteroides²⁷ y atendidos en la Clínica de Asma. Estos pacientes habían tenido en los últimos tres meses síntomas asmáticos (sibilancias y disnea) de forma casi ininterrumpida, así como un patrón espirométrico de tipo obstructivo, a pesar del uso frecuente de broncodilatadores y corticosteroides inhalados (≥ 1 mg de beclometasona o su equivalente) u orales. Aunque la investiga-

ción se diseñó originalmente como un estudio clínico controlado, el grupo control fue eliminado subsecuentemente debido a que los primeros tres pacientes que recibieron placebo (solución salina fisiológica), tuvieron una alta frecuencia de exacerbación de los síntomas asmáticos durante su nebulización. El protocolo fue aprobado por los comités Científico y Bioético del INER y cada paciente firmó una carta de consentimiento informado antes de ingresar al estudio. No se incluyeron pacientes que tuvieran alguna otra enfermedad pulmonar crónica, insuficiencia respiratoria grave, historia de participación en protocolos de investigación con rhDNase, mujeres embarazadas o lactando. Se les pidió a los pacientes que mantuvieran las mismas dosis de los corticosteroides inhalados u orales durante el estudio. Se permitió el uso de agonistas β_2 de acción rápida hasta cuatro horas antes de cada una de las evaluaciones espirométricas. Antes del inicio del estudio y al final del mismo se le pidió a cada paciente que contestara la versión española del *Asthma Quality of Life Questionnaire*²⁸, validada por Sanjuas y colaboradores²⁹. Este cuestionario consta de 32 preguntas, agrupadas en cuatro áreas (síntomas, respuestas a estímulos ambientales, limitación de actividades y disfunción emocional). Cada pregunta tiene siete posibles respuestas que otorgan una calificación del 1 al 7 (mientras menor es la calificación final, mayor gravedad del asma).

Todos los pacientes se nebulizaron diariamente con 2.5 mg de rhDNase (Pulmozyme®, Laboratorios Roche, México), incluyendo fines de semana, ya sea en el propio Instituto o en su domicilio, siendo la duración total del tratamiento de 14 ó 28 días. La primera nebulización siempre se realizó en el INER con el fin de corroborar la ausencia de efectos secundarios, además de enseñar el procedimiento a aquellos pacientes que se nebulizaron en sus hogares. Las nebulizaciones fueron hechas antes de las 10:00 a.m. usando un nebulizador comercial (Hudson Updraft II, Temecula, CA). En aquellos pacientes nebulizados en el Instituto se les realizó una espirometría casi todos los días, antes de la nebulización de rhDNase. En aquellos nebulizados en su domicilio, las espirometrías se realizaron por lo menos cada semana.

Las espirometrías fueron hechas usando un espirómetro portátil (modelo Pony, Cosmed SRL, Italia), con el paciente sentado y sin pinzas nasales. Se pidió a los pacientes que realizaran un máximo de ocho maniobras de espiración forzada, hasta obtener los criterios de aceptabilidad y reproducibilidad recomendados por la *American Thoracic Society* (ATS)³⁰. Las variables espirométricas evaluadas fueron FVC, FEV₁, relación FEV₁/FVC y PEF, todas ellas expresadas como porcentaje del valor ideal predicho, de acuerdo con las fórmulas de Quanjer³¹.

Las calificaciones del cuestionario de calidad de vida, obtenidas antes y al final del estudio, fueron comparadas mediante la prueba de Wilcoxon. Las modificaciones de las variables espirométricas durante el estudio se evaluaron mediante la pendiente de la línea de regresión. La probabilidad de que la pendiente fuera diferente de cero se evaluó mediante una prueba t³². Los datos se analizaron mediante el programa estadístico Prophet v5.0 (BBN Technologies, Cambridge, Mass.). La significancia estadística se fijó en $p < 0.05$ bimarginal. Los datos en el texto se muestran como promedio \pm error estándar (EE).

RESULTADOS

Se estudiaron 10 pacientes (6 mujeres y 4 hombres) que recibieron nebulizaciones diarias de rhDNase. Las características de la población estudiada se muestran en la Tabla I; su edad promedio (\pm EE) era de 52.6 ± 3.4 años (extremos, 34-66 años), y todos tenían asma de larga evolución durante 27.6 ± 3.9 años (extremos, 7-52 años). La espirometría inicial mostró un patrón obstructivo en la mayoría de los pacientes. Los valores basales, expresados como porcentaje del valor predicho fueron FVC, $75.9 \pm 5.7\%$; FEV₁, $53.9 \pm 4.4\%$; relación FEV₁/FVC, $71.5 \pm 4.0\%$, y PEF, $54.7 \pm 8.8\%$.

Las tendencias temporales de las variables espirométricas, evaluadas a través de las pendientes de las líneas de regresión se muestran en la Tabla II. Como se puede observar en esta Tabla, un paciente (sujeto 3) tuvo pendientes ascendentes estadísticamente significativas en la mayoría de las variables espirométricas. Cambios aislados,

Tabla I. Características de la población estudiada.

Paciente	Edad (años)	Sexo	Tabaquismo	Inhalación de humo de leña	Duración del asma (años)	Rinitis	Admisiones en el último año	
							Hospital	UCI
1	34	M	No	No	17	No	0	0
2	48	M	No	No	27	Sí	1	0
3	56	M	No	No	31	No	0	0
4	66	M	No	No	27	No	1	0
5	37	M	No	Sí	30	Sí	2	1
6	47	H	No	No	20	Sí	0	0
7	57	H	No	No	52	No	1	0
8	57	H	No	No	40	No	1	0
9	61	M	No	No	7	Sí	1	0
10	63	H	No	Sí	25	No	0	0

M = Mujer, H = Hombre, UCI = Unidad de Cuidados Intensivos.

Tabla II. Pendientes[†] de cada variable espirométrica durante el estudio.

Paciente	Tratamiento (días)	Número de espirometrías	FVC	FEV ₁	FEV ₁ /FVC	PEF
1	14	14	0.00	0.20	0.18	0.20
2	14	14	-0.97	-0.85	-0.50	-0.55
3	14	14	0.76*	0.88 [‡]	0.59*	0.78
4	14	14	1.10	0.70	0.21	0.71
5	28	14	0.29	0.29	0.04	0.72*
6	28	6	-0.59	-0.92	-0.52	-0.97
7	28	5	-0.09	-0.14	-0.11	-0.25
8	28	5	-0.98	-0.74*	0.04	-0.70
9	28	14	-0.08	-0.10	-0.07	-0.99 [‡]
10	28	13	0.01	0.23	0.27*	0.02

[†] La pendiente representa el cambio que ocurrió en la función pulmonar (expresada como porcentaje del valor predicho) por cada día transcurrido en el estudio.

*p<0.05; [‡]p<0.01 para rechazar la hipótesis nula de que la pendiente es cero.

17

en una variable, también se observaron en otros pacientes, ya sea con pendientes ascendentes (sujetos 5 y 10) o descendentes (pacientes 8 y 9). Puesto que la ATS recomienda que se evalúen los cambios en el FEV₁ para vigilar la gravedad de la obstrucción de las vías aéreas³³. Los resultados individuales de esta importante variable espirométrica se muestran en la Figura 1.

La comparación entre el cuestionario de calidad de vida inicial y final mostró una clara tendencia para que los pacientes refirieran mejoría de los síntomas al final del estudio. Sin embargo, sólo el área de respuesta a estímulos ambientales alcanzó significancia estadística (Figura 2).

DISCUSIÓN

En algunos pacientes asmáticos la obstrucción de las vías aéreas no puede ser revertida con el uso de broncodilatadores y corticosteroides, fenómeno que se ha atribuido principalmente al proceso de remodelación de las vías aéreas. En el presente estudio exploramos la posibilidad de que el taponamiento mucoso de las vías aéreas constituya un mecanismo adicional de dicha obstrucción. Nuestros resultados muestran que en la mayoría de los pacientes asmáticos la nebulización de rhDNase por hasta 28 días no produjo cambios notables en las variables espiromé-

tricas, lo que sugiere que el taponamiento mucoso no es un factor importante de la obstrucción irreversible. Sin embargo, por lo menos en uno de los 10 pacientes se observó una mejoría progresiva en casi todos los parámetros espirométricos. Por tanto, es posible que cuando me-

nos en una pequeña proporción de pacientes con asma grave el taponamiento mucoso represente un componente obstructivo adicional. Es poco probable que el tipo de tratamiento antiasmático haya influido en esta mejoría, ya que este último no se modificó durante el estudio. De for-

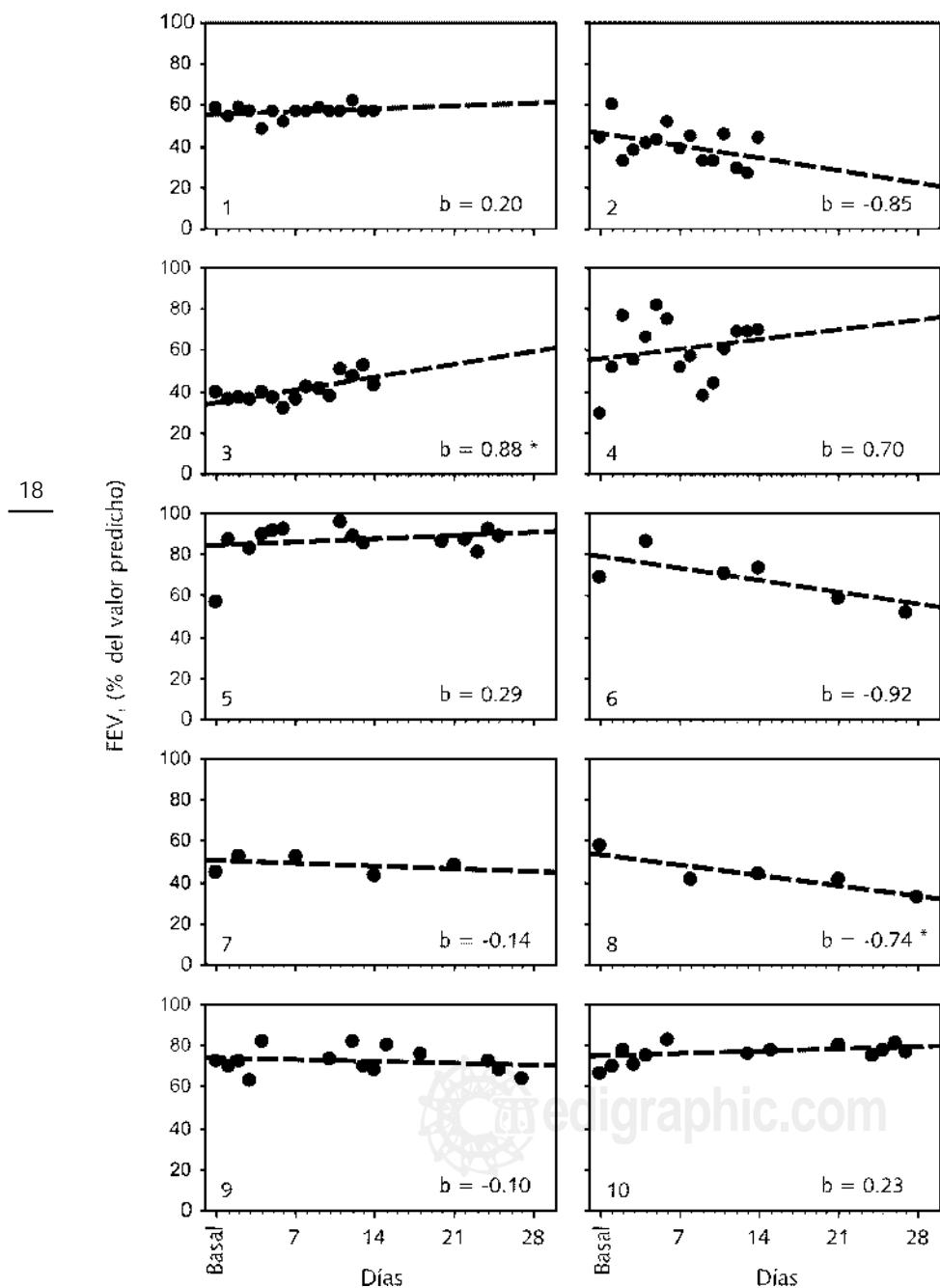


Figura 1. Cambios en el FEV₁ durante el tratamiento con rhDNase en 10 pacientes con asma grave. Los pacientes recibieron nebulizaciones diarias de rhDNase durante 14 días (pacientes 1 a 4) ó 28 días (pacientes 5 a 10).

*p<0.05 para rechazar la hipótesis nula de que la pendiente (b) es igual a cero.

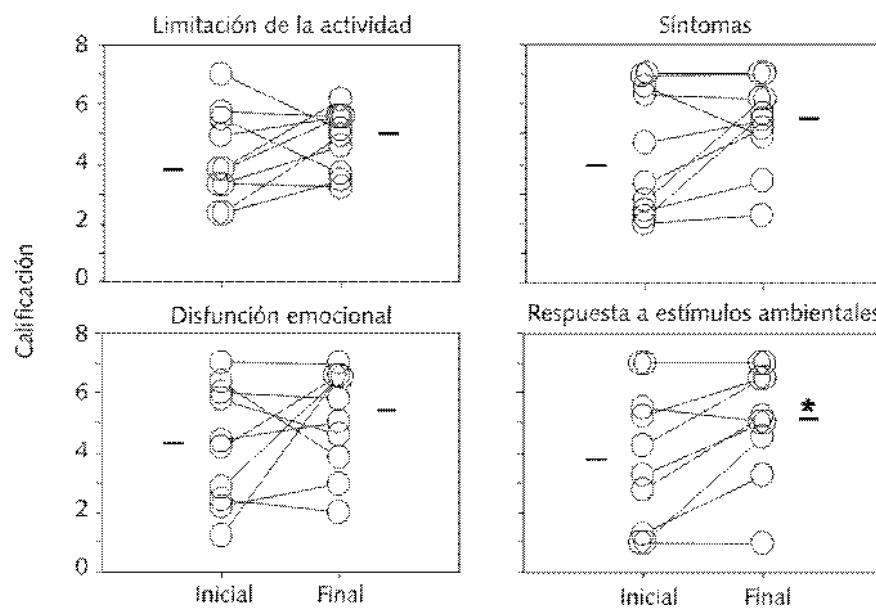


Figura 2. Cambios en las respuestas al cuestionario de calidad de vida después del tratamiento con nebulizaciones diarias de rhDNase, en pacientes con asma grave. Las líneas horizontales representan el valor de la mediana.

*p<0.05.

ma interesante, otros pacientes tenían pendientes ascendentes o descendentes en variables espirométricas aisladas. Esta inconsistencia en la respuesta a la rhDNase se ha observado también entre los pacientes con fibrosis quística, la enfermedad que constituye la principal indicación terapéutica de la rhDNase. En un estudio reciente¹⁵ administramos rhDNase nebulizada a 21 niños mexicanos con fibrosis quística, y encontramos que al final de los tres meses de tratamiento, sólo el 62% de ellos tenían un incremento significativo del FEV₁, mientras que los restantes no mostraron cambios espirométricos debidos al medicamento.

Aunque se ha publicado que algunos pacientes con exacerbaciones graves de asma y complicaciones por taponamiento mucoso obtienen un efecto benéfico con la rhDNase¹⁹⁻²³, es posible que la composición del moco producido durante un ataque de asma sea diferente a la del moco producido durante períodos intercrisis, lo que podría explicar la ausencia de efecto de la rhDNase en nuestro estudio. En apoyo a esta posibilidad, se ha demostrado que pacientes con exacerbaciones de asma tienen una cantidad notablemente mayor de células inflamatorias en su expectoración, en comparación con las fases estables de la enfermedad³⁴. Más aún, en los ataques graves de asma, los neutrófilos parecen

ser el tipo celular predominante en el proceso inflamatorio, en lugar de los eosinófilos observados en el asma crónica^{35,36}. Además, en el estudio antes mencionado la mejoría en la espirometría de los niños con fibrosis quística sólo alcanzó significancia estadística a los tres meses de nebulizaciones diarias de rhDNase¹⁵. Por tanto, una posibilidad más para explicar el casi nulo efecto de la rhDNase en el presente estudio es que no se alcanzó la duración óptima del tratamiento, y por ello se requerirían de estudios más prolongados para corroborar esta especulación.

El fracaso de la rhDNase para producir mejoría de las variables espirométricas en la mayoría de los pacientes, contrasta con los resultados del cuestionario, puesto que muchos pacientes refirieron algún grado de mejoría en su calidad de vida. Esta discrepancia concuerda con la falta de congruencia entre las mediciones funcionales respiratorias y la percepción de los síntomas, tal como ha sido previamente descrito³⁷⁻³⁹.

Las limitaciones potenciales del estudio son la falta de un grupo control y la variabilidad en el número y momento preciso de los estudios espirométricos. Sin embargo, hasta donde sabemos, éste es el primer estudio que investiga la casi obvia posibilidad de que el taponamiento mucoso intenso pueda estar participando en la obstrucción irreversible observada en pacientes

con asma grave. Nuestros resultados sugieren que un pequeño número de pacientes con obstrucción irreversible de las vías aéreas debida a asma grave podrían obtener una leve mejoría espirométrica mediante la nebulización diaria de rhDNase durante dos a cuatro semanas. Por tanto, se requieren mayores estudios para corroborar esta posibilidad.

REFERENCIAS

1. Cade J, Pain M. *Pulmonary function during clinical remission of asthma. How reversible is asthma?* Aust NZ J Med 1973;3:545-551.
2. Van-Essen-Zandvliett EE, Hughes MD, Waalkens HJ, Duiverman EJ, Kerrebijn KF. *Remission of childhood asthma after long-term treatment with inhaled corticosteroid (budesonide): Can it be achieved?* Dutch CNLSD Study Group. Eur Respir J 1994;7:63-68.
3. Brown PJ, Greville HW, Finucane KE. *Asthma and irreversible airflow obstruction.* Thorax 1984; 39:131-136.
4. Ferguson AC. *Persisting airway obstruction in asymptomatic children with asthma with normal peak expiratory flow rates.* J Allergy Clin Immunol 1988; 82:19-22.
5. Lazaar AL, Panettieri RA Jr. *Is airway remodeling clinically relevant in asthma?* Am J Med 2003;115: 652-659.
6. Barnes PJ, Liew FW. *Why does asthma become persistent?* Am J Respir Crit Care Med 1996;153 (Suppl):23-25.
7. Elias JA. *Airway remodeling in asthma. Unanswered questions.* Am J Respir Crit Care Med 2000;161(Suppl):168-171.
8. Rennard SI. *Extracellular matrix.* Am J Respir Crit Care Med 1996;153(Suppl):14-15.
9. Messer J, Peters G, Bennett W. *Causes of deaths and pathological findings in 304 cases of bronchial asthma.* Brit J Dis Chest 1960;38:616-624.
10. Saetta M, Di-Stefano A, Rosina C, Thiene G, Fabbri LM. *Quantitative structural analysis of peripheral airways and arteries in sudden fatal asthma.* Am Rev Respir Dis 1991;143:138-143.
11. Aikawa T, Shimura S, Sasaki H, Ebina M, Takishima T. *Marked goblet cell hyperplasia with mucus accumulation in the airways of patients who died of severe acute asthma attack.* Chest 1992;101:916-921.
12. Sakula A. *Charcot-Leyden crystals and Curschmann spirals in asthmatic sputum.* Thorax 1986;41:503-507.
13. Shak S, Capon DJ, Hellmiss R, Marsters SA, Baker CL. *Recombinant human DNase I reduces the viscosity of cystic fibrosis sputum.* Proc Natl Acad Sci USA 1990;7:9188-9192.
14. Kearney CE, Wallis CE. *Deoxyribonuclease for cystic fibrosis.* Cochrane Database Syst Rev 2000;2: CD00 1127.
15. Furuya MEY, Lezana-Fernández JL, Vargas MH, Hernández-Sierra JF, Ramírez-Figueroa JL. *Efficacy of recombinant human DNase in pediatric patients with cystic fibrosis.* Arch Med Res 2000;32:30-34.
16. Harms HK, Matouk E, Tournier G, et al. *Multicenter, open-label study of recombinant human DNase in cystic fibrosis patients with moderate lung disease.* DNase International Study Group. Pediatr Pulmonol 1998;26: 155-161.
17. Chernick WS, Barbero GJ. *Composition of tracheobronchial secretions in cystic fibrosis of the pancreas and bronchiectasis.* Pediatrics 1959;24:739-745.
18. Fahy JV, Steiger DJ, Liu J, Basbaum CB, Finkbeiner WE, Boushey HA. *Markers of mucus secretion and DNA levels in induced sputum from asthmatic and from healthy subjects.* Am Rev Respir Dis 1993;147: 1132-1137.
19. Gershon WM, Rusakow LS, Chetty A, Splaingard ML. *Resolution of chronic atelectasis in a child with asthma after aerosolized recombinant human DNase.* Pediatr Pulmonol 1994;18:266-269.
20. Greally P. *Human recombinant DNase for mucus plugging in status asthmaticus.* Lancet 1995;346: 1423-1424.
21. Puterman AS, Weinberg EG. *RhDNase in acute asthma.* Pediatr Pulmonol 1997;23:316-317.
22. Patel A, Harrison E, Durward A, Murdoch IA. *Intratracheal recombinant human deoxyribonuclease in acute life-threatening asthma refractory to conventional treatment.* Br J Anaesth 2000;84:505-507.
23. Durward A, Forte V, Shemie SD. *Resolution of mucus plugging and atelectasis after intratracheal rhDNase therapy in mechanically ventilated child with refractory status asthmaticus.* Crit Care Med 2000;28:560-562.
24. Zahn JM, Galabert C, Chaffin A, Chazalette JP, Grosskipf C, Puchelle E. *Improvement of cystic fibrosis airway mucus transportability by recombinant human DNase is related to changes in phospholipid profile.* Am J Respir Crit Care Med 1998;157:1779-1784.
25. Slayter HS, Lamblin G, Le Truet A, et al. *Complex structure of human bronchial mucus glycoprotein.* Eur J Biochem 1984;142:209-218.
26. Bhaskar KR, O'Sullivan DD, Coles SJ, Kozakewich H, Vawter GP, Reid LM. *Characterization of airway mucus from a fatal case of status asthmaticus.* Pediatr Pulmonol 1988;5:176-182.
27. GINA. *Global initiative for asthma.* National Institutes of Health, Publication No. 95-3659, 1996.
28. Juniper EF, Guyatt GH, Epstein RS, Ferrie PJ, Jaeschke R, Hiller TK. *Evaluation of impairment of health related quality of life in asthma: development of a questionnaire for use in clinical trials.* Thorax 1992;47:76-83.
29. Sanjuas C, Alonso J, Sanchis J, et al. *Cuestionario de calidad de vida en pacientes con asma: la versión española del Asthma Quality of Life Questionnaire.* Arch Bronconeumol 1995;31:219-226.
30. American Thoracic Society. *Standardization of spirometry. 1994 update.* Am J Respir Crit Care Med 1995;152:1107-1136.
31. Quanjer P. *Standardized lung function testing.* Bull Eur Physiopathol Respir 1983;19(Suppl 5):1-95.
32. Zar JH. *Biostatistical analysis.* 4^a ed. Upper Saddle River: Prentice Hall; 1999. p. 336-337.

33. **American Thoracic Society.** *Lung function testing: selection of reference values and interpretive strategies.* Am Rev Respir Dis 1991;144:1202-1219.
34. **Di Franco A, Bartoli ML, Carnevali S, et al.** *Analysis of sputum cell counts during spontaneous moderate exacerbations of asthma in comparison to the stable phase.* J Asthma 2003;40:155-162.
35. **Ordonez CL, Shaughnessy TE, Matthay MA, Fahy JV.** *Increased neutrophil numbers and IL-8 levels in airway secretions in acute severe asthma: Clinical and biologic significance.* Am J Respir Crit Care Med 2000;161:1185-1190.
36. **Tonnel AB, Gosset P, Tillie-Leblond I.** *Characteristics of the inflammatory response in bronchial lavage fluids from patients with status asthmaticus.* Int Arch Allergy Immunol 2001;124:267-271.
37. **Nguyen BP, Wilson SR, German DF.** *Patients' perceptions compared with objective ratings of asthma severity.* Ann Allergy Asthma Immunol 1996;77:209-215.
38. **Weiner P, Berar-Yanay N, Davidovich A, Magadle R, Weiner M.** *The perception of dyspnea in patients with asthma, before and following treatment with inhaled glucocorticosteroids.* Respir Med 2000;94:161-165.
39. **Noseda A.** *Dyspnea and perception of airway obstruction.* Rev Mal Respir 2003;20:364-372.

Correspondencia:

Dr. Mario H. Vargas.
Unidad de Investigación.
Instituto Nacional de Enfermedades
Respiratorias. Calzada de Tlalpan
4502, colonia Sección XVI. México
DF, 14080.
Teléfono (52-55) 5665-0043,
fax (52-55) 5665-4623
e-mail: mhvargasb@yahoo.com.mx