

Revisión de biomarcadores en asma y EPOC

Alexis H. García,* Dolores Moreno,[‡] Jenny V. Garmendia,* Juan B. De Sanctis* ✉

*Instituto de Inmunología. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela; [‡]Cátedra de Patología General y Fisiopatología. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Trabajo recibido: 04-IV-2013; aceptado: 26-VI-2013

RESUMEN. En los últimos años se han estudiado un gran número de biomarcadores en asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Un biomarcador debe tener las siguientes características: a) relevancia clínica, b) sensibilidad y especificidad, c) confiabilidad y reproducibilidad, d) facilidad en su medición y obtención. Las muestras en las que se pueden determinar los biomarcadores pueden provenir de diferentes fuentes (lavado bronquioalveolar, esputo, aire exhalado y sangre) y ofrecen información complementaria para establecer diagnóstico, estadio, progresión y actividad de una enfermedad, así como la respuesta al tratamiento. Se realizó una búsqueda de artículos publicados entre los años 1989-2013 utilizando la base de datos Medline. En el presente artículo se resumen los principales biomarcadores en asma y EPOC.

Palabras clave: Biomarcadores, asma, EPOC, tratamiento.

ABSTRACT. In the latest years, high quantities of biomarkers have been studied in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). A good biomarker should have the following characteristics: 1) clinical relevance, sensibility and specificity, c) reliability and reproducibility, d) easy to measure and to obtain. The samples in which the biomarkers can be determined are from different sources (lung biopsy, bronchoalveolar lavage, sputum, exhaled breath, urine, and blood). The biomarkers can offer complementary information in order to achieve diagnosis, stage, progression, and disease activity as well as response to treatment. In this report, we review the principal reports on biomarkers in asthma and COPD. A search for articles published between the years 1989-2013 using the Medline database. In this article we review the main biomarkers in asthma and COPD.

Key words: Biomarkers, asthma, COPD, treatment.

INTRODUCCIÓN

Un biomarcador es un indicador biológico de un proceso, evento o condición biológicamente distintiva (envejecimiento, enfermedad o respuesta a tratamiento). El biomarcador ideal debe tener las siguientes características: a) relevancia clínica, b) sensibilidad y especificidad, c) confiabilidad y reproducibilidad, d) facilidad en su medición y obtención.^{1,2} Los biomarcadores pueden ser analizados a partir de diferentes fuentes biológicas (lavado bronquioalveolar, esputo, aire exhalado y sangre). Además, ofrecen información complementaria para establecer diagnóstico, estadio, progresión y actividad de una enfermedad, así como la respuesta al tratamiento.^{1,2}

El asma es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por obstrucción, reversible, de las vías aéreas inferiores.³ Los estudios han comprobado la presencia de inflamación de la vía aérea, lo que ha permitido personalizar el tratamiento de acuerdo al fenotipo del asma.³ Los biomarcadores, en conjunto

con otros parámetros clínicos, han demostrado mejorar el control y manejo del asma, de acuerdo a las guías GINA.^{4,5} Por su parte, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es un trastorno que cursa con obstrucción progresiva del flujo aéreo, parcialmente reversible, caracterizado por inflamación de las vías aéreas, y efectos sistémicos que se observan en adultos mayores de sesenta años. La EPOC es la causa importante de morbilidad y mortalidad en los adultos mayores, especialmente en países del tercer mundo.^{6,7} El marcador más usado para evaluar la severidad y progresión de las enfermedades de la vía aérea es el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (VEF₁); sin embargo, este marcador se correlaciona pobremente con severidad y progresión de enfermedad, por lo que se hace necesario contar con otros marcadores biológicos que nos permitan una mejor caracterización de los pacientes.⁶ La iniciativa global para la EPOC (GOLD, por sus siglas en inglés) describe la clasificación de gravedad y el tratamiento farmacológico de la EPOC estable de acuerdo con los

Este artículo puede ser consultado en versión completa en <http://www.medigraphic.com/neumologia>

diferentes fenotipos.⁷ Los biomarcadores adquieren especial importancia en el diagnóstico, clasificación, progresión y respuesta al tratamiento farmacológico de los pacientes con EPOC.

Diferentes biomarcadores han sido relacionados con el asma y la EPOC:⁸⁻¹² la fracción exhalada de óxido nítrico (FeON), el leucotrieno E4 en orina (uLTE4), el conteo de células en esputo inducido, los niveles de periostina, proteína C reactiva (PCR), fibrinógeno, interleucina 6 (IL6), proteína de las células Clara (CC16), proteína surfactante D (SP-D), desmosina y metaloproteinasas de la matriz extracelular y sus inhibidores (tablas 1 y 2). Se ha avanzado mucho sobre el tema de los biomarcadores y su relevancia clínica. Es probable que mejoras tecnológicas permitan incrementar la sensibilidad y el multianálisis de parámetros biológicos que redunden beneficio del paciente. A continuación presentamos un resumen de los diferentes biomarcadores que han tenido mayor impacto en la literatura recién publicada en el portal *Medline*.

FEON

Es el marcador de inflamación de la vía aérea más utilizado comúnmente en pacientes con asma, y constituye una herramienta que permite a los clínicos mejorar el tratamiento y seguimiento de los pacientes;^{13,14} además de ser confiable, sensible, no invasivo y fácil de realizar.^{14,15}

Un estudio longitudinal realizado en pacientes asmáticos adultos no fumadores y de difícil tratamiento demostró que el grupo de pacientes con niveles de FeON (≥ 20 ppb) tuvo un mayor deterioro de la función pulmonar, en comparación con los pacientes que tenían niveles bajos de FeON.¹⁴

Tabla 1. Biomarcadores en asma.

Biomarcadores	Utilidad
uLTE4	Actividad de la enfermedad y respuesta terapéutica
FeON	Diagnóstico, pronóstico y respuesta terapéutica
Esputo inducido	Fisiopatología, exacerbación, control de la enfermedad
Aire condensado exhalado	Fisiopatología, severidad de la enfermedad
Periostina	Fisiopatología y respuesta terapéutica
Proteína C reactiva	Respuesta terapéutica y severidad del asma
Proteína del surfactante D	Fisiopatología

La Sociedad Americana del Tórax¹⁵ ha evaluado el efecto de los corticosteroides y las drogas vasodilatadoras sobre los niveles de FeON. Sin embargo, en la literatura hay reportes contradictorios con relación a la relevancia de los niveles de FeON como parámetro de predicción en la respuesta terapéutica y la función pulmonar.¹³⁻¹⁹

En contraste con los pacientes asmáticos, los niveles de FeON en los pacientes con EPOC están disminuidos y su importancia como biomarcador está siendo evaluada antes y después de las exacerbaciones.²⁰⁻²²

Leucotrieno urinario E4 (uLTE4)

El uLTE4, un metabolito estable de los cisteinil leucotrienos (CysLTs), es considerado un biomarcador que puede predecir la respuesta clínica al tratamiento en poblaciones de pacientes asmáticos, ya que disminuye en niños y adultos con asma estable de leve a moderada tratados con antagonista del receptor de leucotrienos; no obstante, tiene como desventaja que el procesamiento de la muestra es complejo.^{23,24} Se han diseñado nuevos protocolos para los análisis de orina por espectrometría de masa y es probable que en corto tiempo esté disponible la detección de varios metabolitos para pacientes con asma.

ESPUTO INDUCIDO

El seguimiento en el conteo de células en el esputo puede predecir el riesgo de exacerbación eosinofílica, así como indicar los períodos libres de exacerbación.

Tabla 2. Biomarcadores en EPOC.

Biomarcadores	Utilidad
Inflamación sistémica	
Proteína C reactiva	Pronóstico, mortalidad y exacerbación
Interleucina 6 (IL6)	Fisiopatología y exacerbación
Aire condensado exhalado	Exacerbación
Pulmonares	
Proteína de la célula Clara (cc16)	Fisiopatología y severidad
Proteína de surfactante D (SP-D)	Fisiopatología, exacerbación y respuesta terapéutica
Degradación del tejido pulmonar	
Metaloproteinasas/inhibidores tisulares de las metaloproteinasas	Fisiopatología y exacerbación
Desmosina	Función pulmonar y exacerbación

nes.²⁵ Varios autores han propuesto el uso del conteo de eosinófilos en esputo para el manejo de asma severa en niños.^{26,27}

El hallazgo más común en esputo inducido en la EPOC es la presencia de neutrófilos y el incremento de los productos de la activación de los mismos: mieloperoxidasas, proteasas y elastasas.²⁸

El esputo es una secreción proveniente de las vías aéreas inferiores. La inducción del esputo a través de la inhalación de solución salina hipertónica promueve la expectoración y es un método que ha sido validado para investigación y diagnóstico.²⁹ El único inconveniente que representa la técnica es que requiere de un personal especializado para el análisis de las muestras; y por tanto, la reproducibilidad de los valores entre diversos laboratorios puede variar.

AIRE EXHALADO CONDENSADO

El análisis del aire exhalado condensado (AEC) es un método no invasivo que evalúa la inflamación de las vías aéreas a través de la medición de varios mediadores y marcadores inflamatorios que ayudan a entender la fisiopatología del asma.³⁰ El AEC está compuesto por vapor de agua, sustancias volátiles y compuestos no volátiles. Un gran número de mediadores inflamatorios incluyendo adenosina, amonio, peróxido de hidrógeno, isoprostanos, leucotrienos, prostanoideos, óxido nítrico, péptidos y citocinas han sido estudiados en AEC.³⁰

En pacientes asmáticos, el pH del AEC es menor que en sujetos controles sanos y se correlaciona con la cantidad de eosinófilos en esputo y el estrés oxidativo y pudiese ser modulado con terapia antiinflamatoria.³¹ Aunque el pH del AEC es un marcador repetible en pacientes asmáticos, no refleja el estado clínico de éste.³¹ Otros marcadores solubles analizados en el AEC, a través de análisis metabólico por espectrometría de masa, permitirían diferenciar los fenotipos de asma.^{31,32} Aunque, ninguno de ellos ha demostrado su utilidad en el seguimiento de los asmáticos y su tratamiento.

En paciente con exacerbaciones de asma o EPOC, se ha demostrado que el pH en el AEC fue significativamente menor durante las exacerbaciones comparado con los períodos de recuperación ($p < 0.001$).³³

PERIOSTINA

La periostina es una proteína glicosilada secretada por los fibroblastos pulmonares, cuya presencia ha sido confirmada en varios tejidos y patologías.³⁴ Su expresión es prominente en condiciones fibróticas incluyendo la fibrosis subepitelial en asma.³⁴ Un estudio donde

fueron incluidos pacientes asmáticos sintomáticos y a quienes se les realizó broncoscopia, obtención de esputo y extracción de sangre demostró que los niveles de periostina eran significativamente altos en los pacientes que tenían mayor número de eosinófilos en esputo.³⁵ Este estudio concluyó que la periostina es un marcador sistémico de la eosinofilia de la vía aérea en pacientes asmáticos.

En nuestra revisión no encontramos estudios publicados de periostina en la EPOC. Probablemente, en pacientes con EPOC y atopia la periostina pudiera ser un marcador relevante para definir respuesta a tratamiento farmacológico.

PROTEÍNA C REACTIVA (PCR)

La PCR es una proteína plasmática que participa en la respuesta inflamatoria sistémica, su concentración se incrementa horas después del inicio de un proceso de daño tisular o infección y contribuye a la defensa del huésped.

La PCR fue el primer biomarcador en ser investigado en EPOC.³⁶⁻³⁹ La mayoría de los estudios han demostrado que los niveles de PCR están elevados en pacientes con EPOC, sin embargo, la relación entre los niveles de PCR y la mortalidad es controversial.³⁶⁻³⁹

La PCR ultra sensible ($_{HS}$ PCR) pareciera tener importancia en la severidad del asma en la infancia, y pudiera emplearse para predecir la respuesta a los corticoesteroides inhalados en la adolescencia.³⁹ Se necesitan más estudios para comprobar el papel específico de esta proteína en la población pediátrica.

INTERLEUCINA 6 (IL-6)

La IL-6 es uno de los mediadores que regula la respuesta inmunológica, la hematopoyesis y las reacciones de fase aguda, desempeña un papel central en el mecanismo de defensa del huésped.⁴⁰ Los niveles séricos de IL-6 se correlacionan con otros marcadores de inflamación de la vía aérea durante las exacerbaciones, tanto en asma como en EPOC, y se encuentran más elevados en presencia de infecciones bacterianas y de sustancias de reparación tisular.⁴¹

Bucchioni *et al.*,⁴² investigaron la presencia de IL-6 en AEC en pacientes exfumadores con EPOC moderada y lo compararon con los valores obtenidos de sujetos sanos no fumadores. Encontraron que los niveles de IL-6 eran significativamente más altos en los pacientes con EPOC ($p < 0.0001$).⁴² Sin embargo, es necesario realizar más estudios con la finalidad de determinar el efecto real de la IL-6 en el VEF₁ y la mortalidad en los pacientes con EPOC.

La determinación de IL-6 se puede realizar por diferentes métodos. Los niveles de IL-6 en suero pueden variar dependiendo del tiempo de almacenamiento de la muestra, y por ello su análisis no es frecuente en un laboratorio clínico.⁴³ Para facilitar el análisis de varios marcadores se usa la técnica de luminiscencia, la cual permite la identificación de varios biomarcadores de inflamación y fase aguda de forma rápida y específica.⁴³ Si bien, es una técnica de alto costo y es poco probable de ser utilizada de rutina en laboratorios clínicos de países en desarrollo.⁴³

FIBRINÓGENO

El fibrinógeno es una glicoproteína de 340-kD sintetizada en los hepatocitos y en los megacariocitos y se incrementa durante la fase aguda de la inflamación en respuesta al aumento de la IL-6.⁴⁴ Los niveles elevados de fibrinógeno en plasma tienen un alto valor predictivo en la aparición de las exacerbaciones moderadas y severas en los pacientes con EPOC.^{45,46} Nuevos estudios prospectivos adicionales tienen que explorar la relación entre el incremento de los niveles de fibrinógeno y las posibles exacerbaciones relacionadas con la morbilidad cardiovascular en este grupo de pacientes, ya que el fibrinógeno ha sido identificado como un factor de pronóstico independiente de la morbilidad cardiovascular.⁴⁷ En pacientes con EPOC, los niveles de fibrinógeno séricos deben ser corregidos con el estatus clínico del paciente. Los niveles plasmáticos de fibrinógeno se correlacionan con los niveles séricos de IL-6.

En pacientes adultos con asma, no se han descrito reportes sobre la importancia de los valores sanguíneos de fibrinógeno ni de IL-6.

PROTEÍNA DE LA CÉLULA CLARA (CC16)

La célula Clara se localiza en la vía aérea pequeña, posee gran actividad metabólica, con función detoxificadora de sustancias extrañas, y participa en la formación del surfactante, secreta una proteína conocida como CC16.⁴⁸

La CC16 tiene propiedades antiinflamatorias y ha sido propuesta como un biomarcador del epitelio pulmonar.⁴⁷ La función exacta, *in vivo*, de esta proteína está en revisión; no obstante, la evidencia señala que CC16 juega un papel protector importante en el tracto respiratorio contra el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria. La determinación se hace a través de la técnica ELISA, fácil de realizar y de bajo costo.^{49,50}

La Cohorte Eclipse⁵⁰ midió los niveles plasmáticos de CC16 en pacientes con EPOC (n = 2083), controles fumadores sin obstrucción de la vía aérea (n = 332) y

sujetos controles no fumadores (n = 237). Los niveles de CC16 están significativamente disminuidos (p < 0.001) en pacientes con EPOC. Los niveles plasmáticos de esta proteína pudieran ser un buen biomarcador para evaluar la severidad y la frecuencia de exacerbaciones en pacientes con EPOC.

PROTEÍNA DEL SURFACTANTE D

La proteína del surfactante (SP-D, por sus siglas en inglés), es una glicoproteína hidrofílica de bajo peso molecular (43-kD) y miembro de la superfamilia de las lectinas tipo-C. El surfactante pulmonar es sintetizado y secretado por las células alveolares tipo II. Se cree que el surfactante juega un papel importante en la protección contra los agentes oxidantes y las infecciones.⁵¹

En el estudio ECLIPSE los niveles séricos de SP-D fueron más elevados en fumadores que en controles exfumadores, pero fue significativamente mayor cuando se compararon con pacientes diagnosticados con EPOC fumadores o exfumadores (p = 0.024 y p = 0.001, respectivamente). El efecto del tabaquismo fue relevante en todos los niveles de gravedad de la EPOC, definida por GOLD.⁵²

Adicionalmente, se observó una caída rápida y marcada en los valores de SP-D en aquellos individuos con EPOC mientras recibían corticoesteroides orales, y al suspender este tratamiento los niveles de SP-D retornaban a sus valores basales.⁵²

Hallazgos recientes sugieren que los niveles de SP-D en suero, prometen ser un biomarcador pulmonar específico para realizar el seguimiento clínico de los pacientes con EPOC⁵³ y el polimorfismo genético de la SP-D se ha asociado con la susceptibilidad de padecer EPOC.⁵⁴

En pacientes asmáticos, la concentración de SP-D en lavado alveolar fue mayor que en los sujetos controles (p < 0.01).⁵⁵

METALOPROTEINASAS DE LA MATRIZ EXTRACELULAR Y SUS INHIBIDORES

Las metaloproteinasas de la matriz extracelular (MPM) son endopeptidasas que poseen un ion de zinc en el sitio catalizador y están involucradas en la degradación de la matriz extracelular.⁵⁶ Su actividad proteolítica está regulada por proteínas inhibitoras endógenas (TIMPs).⁵⁶

En el fluido del lavado broncoalveolar de los pacientes con enfisema se ha demostrado la presencia de niveles elevados de metaloproteinasas de la matriz extracelular.⁵⁷ En un estudio se encontró concentraciones significativamente altas de TIM-1 en pacientes con

EPOC estable en comparación con sujetos controles y asmáticos.⁵⁸

Kwiatkowska *et al.*,⁵⁹ evaluaron los niveles de MMP-9 y TIMP-1 en el AEC de sujetos con EPOC estable y durante las exacerbaciones, y encontraron que estos biomarcadores estaban incrementados durante los episodios de exacerbaciones y se correlacionaron negativamente con las variables espirométricas. Ello sugiere la utilidad de la medición de dichos biomarcadores (en el aire exhalado) como seguimiento del proceso inflamatorio de las vías aéreas.⁵⁹

DESMOSINAS

La elastina contiene desmosinas (DES) e isodesmosinas (IDES), dos aminoácidos exclusivos de esta proteína que se encargan de formar los enlaces covalentes que unen las moléculas de elastina. La liberación extracelular de estos aminoácidos está asociada a la destrucción de las fibras elásticas.^{60,61}

Un estudio demostró que tanto las desmosinas urinarias como las plasmáticas determinadas por la técnica de cromatografía líquida/espectrometría de masas (CL/EM), estuvieron correlacionadas con parámetros de función pulmonar en sujetos con EPOC.⁶¹ Las desmosinas pueden estar influenciadas por una serie de factores no relacionados con la función pulmonar (edad, sexo, peso, tabaquismo e índice de masa corporal), por lo que es necesario hacer las respectivas correcciones para tener resultados fidedignos.⁶¹

El grupo de Huang *et al.*,⁶² demostraron que la elevación de DES/IDES en orina y en sangre total fue estadísticamente significativa en pacientes con EPOC en exacerbación, pero no en pacientes con asma o fumadores sanos.

CONCLUSIONES

Las técnicas para la determinación de los biomarcadores en asma y EPOC (muestras del tracto respiratorio superior o inferior, plasma o suero sanguíneo), mencionadas en esta revisión deben continuar perfeccionándose con las siguientes finalidades: 1) mejorar el seguimiento, 2) evaluar respuesta a tratamiento, 3) predecir exacerbaciones y mortalidad, 4) facilitar su uso en la población general, incluyendo a la población pediátrica y 5) simplificar la obtención y el procesamiento de las muestras. Se ha avanzado mucho en el tema; si bien, en este momento parámetros no invasivos como el FeON son más útiles en pacientes con asma de nuestras comunidades que la medición de marcadores séricos u otros biomarcadores que requieren equipos y/o personal especializado y/o costoso.

Para los pacientes con EPOC, la detección de proteína C reactiva y el VEF₁ son los más relevantes. En muy probable que en un futuro cercano, nuevas técnicas simples y no invasivas estarán disponibles para la evaluación y seguimiento terapéutico de los pacientes con asma y la determinación de riesgo a padecer la enfermedad, progresión y eficiencia de tratamiento en pacientes con EPOC.

REFERENCIAS

1. Dasgupta A, Nair P. *When are biomarkers useful in the management of airway diseases?* Pol Arch Med Wewn 2013;123:183-188.
2. Lesko LJ, Atkinson AJ Jr. *Use of biomarkers and surrogate endpoints in drug development and regulatory decision making: criteria, validation, strategies.* Annu Rev Pharmacol Toxicol 2001;41:347-366.
3. Wenzel SE. *Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches.* Nat Med 2012;18:716-725.
4. O'Byrne PM. *Global guidelines for asthma management: summary of the current status and future challenges.* Pol Arch Med Wewn 2010;120:511-517.
5. Disponible en: <http://www.ginasthma.org/uploads/users/files/GINA> Fecha de consulta: abril 2011.
6. Decramer M, Janssens W, Miravittles M. *Chronic obstructive pulmonary disease.* Lancet 2012;379:1341-1351.
7. Disponible en: http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD_Report_2013_Feb20.pdf
8. Taylor DR, Pavord ID. *Biomarkers in the assessment and management of airways diseases.* Postgrad Med J 2008;84:628-634.
9. Patel AR, Hurst JR, Wedzicha JA. *The potential value of biomarkers in diagnosis and staging of COPD and exacerbations.* Semin Respir Crit Care Med 2010;31:267-275.
10. Bafadhel M, McKenna S, Terry S, et al. *Acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: identification of biologic clusters and their biomarkers.* Am J Respir Crit Care Med 2011;184:662-671.
11. Hurst J. *Phenotype-based care in chronic obstructive pulmonary disease.* Am J Respir Crit Care Med 2012;186:935-936.
12. Pinto-Plata V, Casanova C, Müllerova H, et al. *Inflammatory and repair serum biomarker pattern: association to clinical outcomes in COPD.* Respir Res 2012;13:71.
13. Smith AD, Cowan JO, Filsell S, et al. *Diagnosing asthma: comparisons between exhaled nitric oxide measurements and conventional tests.* Am J Respir Crit Care Med 2004;169:473-478.
14. Bommarito L, Migliore E, Bugiani M, et al. *Exhaled nitric oxide in a population sample of adults.* Respiration 2008;75:386-392.
15. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, et al.; American Thoracic Society Committee on Interpretation of Exhaled Nitric Oxide Levels (FENO) for Clinical Applications. *An official ATS clinical practice guideline: interpretation of*

- exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184:602-615.
16. Pike K, Selby A, Price S, et al. Exhaled nitric oxide monitoring does not reduce exacerbation frequency or inhaled corticosteroid dose in paediatric asthma: a randomised controlled trial. *Clin Respir J* 2012;doi:10.1111/j.
 17. Jartti T, Wendelin-Saarenhovi M, Heinonen I, Hartiala J, Vanto T. Childhood asthma management guided by repeated FeNO measurements: a meta-analysis. *Paediatr Respir Rev* 2012;13:178-183.
 18. Zeiger RS, Schatz M, Zhang F, et al. Association of exhaled nitric oxide to asthma burden in asthmatics on inhaled corticosteroids. *J Asthma* 2011;48:8-17.
 19. Hillas G, Kostikas K, Mantzouranis K, et al. Exhaled nitric oxide and exhaled breath condensate pH as predictors of sputum cell counts in optimally treated asthmatic smokers. *Respirology* 2011;16:811-818.
 20. Bazeghi N, Gerds TA, Budtz-Jørgensen E, Hove J, Vestbo J. Exhaled nitric oxide measure using multiple flows in clinically relevant subgroups of COPD. *Respir Med* 2011;105:1338-1344.
 21. Antus B, Barta I, Horvath I, Csiszer E. Relationship between exhaled nitric oxide and treatment response in COPD patients with exacerbations. *Respirology* 2010;15:472-477.
 22. Kersul AL, Iglesias A, Ríos Á, et al. Molecular mechanisms of inflammation during exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Arch Bronconeumol* 2011;47:176-183.
 23. Cai C, Yang J, Hu S, Zhou M, Guo W. Relationship between urinary cysteinyl leukotriene E4 levels and clinical response to antileukotriene treatment in patients with asthma. *Lung* 2007;185:105-112.
 24. Rabinovitch N, Zhang L, Gelfand EW. Urine leukotriene E4 levels are associated with decreased pulmonary function in children with persistent airway obstruction. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:635-640.
 25. Jayaram L, Pizzichini MM, Cook RJ, et al. Determining asthma treatment by monitoring sputum cell counts: effect on exacerbations. *Eur Respir J* 2006;27:483-494.
 26. Gibson PG, Simpson JL, Hankin R, Powell H, Henry RL. Relationship between induced sputum eosinophils and the clinical pattern of childhood asthma. *Thorax* 2003;58:116-121.
 27. Fleming L, Wilson N, Regamey N, Bush A. Use of sputum eosinophil counts to guide management in children with severe asthma. *Thorax* 2012;67:193-198.
 28. Kim S, Nadel JA. Role of neutrophils in mucus hypersecretion in COPD and implications for therapy. *Treat Respir Med* 2004;3:147-159.
 29. Pavord ID, Pizzichini MM, Pizzichini E, Hargreave FE. The use of induced sputum to investigate airway inflammation. *Thorax* 1997;52:498-501.
 30. Hoffmeyer F, Raulf-Heimsoth M, Brüning T. Exhaled breath condensate and airway inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009;9:16-22.
 31. Accordino R, Visentin A, Bordin A, et al. Long-term repeatability of exhaled breath condensate pH in asthma. *Respiratory Med* 2008;102:377-381.
 32. Carraro S, Giordano G, Reniero F, et al. Asthma severity in childhood and metabolomic profiling of breath condensate. *Allergy* 2013;68:110-117.
 33. Warwick G, Thomas PS, Yates DH. Non-invasive biomarkers in exacerbations of obstructive lung disease. *Respirology* 2013;18:874-884.
 34. Takayama G, Arima K, Kanaji T, et al. Periostin: A novel component of subepithelial fibrosis of bronchial asthma downstream of IL-4 and IL-13 signals. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:98-104.
 35. Jia G, Erickson RW, Choy DF, et al; Bronchoscopic Exploratory Research Study of Biomarkers in Corticosteroid-refractory Asthma (BOBCAT) Study Group. Periostin is a systemic biomarker of eosinophilic airway inflammation in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:647-654.
 36. Dahl M, Vestbo J, Lange P, et al. C-reactive protein as a predictor of prognosis in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:250-255.
 37. De Torres JP, Pinto-Plata V, Casanova C, et al. C-reactive protein levels and survival in patients with moderate to very severe COPD. *Chest* 2008;133:1336-1343.
 38. Hurst JR, Donaldson GC, Perera WR, et al. Use of plasma biomarkers at exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:867-874.
 39. Deraz TE, Kamel TB, El-Kerdany TA, El-Ghazoly HM. High-sensitivity C reactive protein as a biomarker for grading of childhood asthma in relation to clinical classification, induced sputum cellularity, and spirometry. *Pediatr Pulmonol* 2012;47:220-225.
 40. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood* 1989;74:1-10.
 41. Rincon M, Irvin CG. Role of IL-6 in asthma and other inflammatory pulmonary diseases. *Int J Biol Sci* 2012;8:1281-1290.
 42. Bucchioni E, Kharitonov SA, Allegra L, Barnes PJ. High levels of interleukin-6 in the exhaled breath condensate of patients with COPD. *Respir Med* 2003;97:1299-1302.
 43. Djoba-Siawaya JF, Roberts T, Babb C, et al. An evaluation of commercial fluorescent bead-based luminex cytokine assays. *PLoS One*. 2008;3:e2535.
 44. Dahl M, Tybjaerg-Hansen A, Vestbo J, Lange P, Nordestgaard BG. Elevated plasma fibrinogen associated with reduced pulmonary function and increased risk of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1008-1011.
 45. Thomsen M, Dahl M, Lange P, Vestbo J, Nordestgaard BG. Inflammatory biomarkers and comorbidities in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;186:982-988.
 46. Groenewegen KH, Postma DS, Hop WC, et al. COSMIC Study Group. Increased systemic inflammation is a risk factor for COPD exacerbations. *Chest* 2008;133:350-357.
 47. Fibrinogen Studies Collaboration, Danesh J, Lewington S, Thompson SG, et al. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA* 2005;294:1799-1809.

48. Broeckaert F, Clippe A, Knoop B, Hermans C, Bernard A. *Clara cell secretory protein (CC16): features as a peripheral lung biomarker*. *Ann N Y Acad Sci* 2000;923:68-77.
49. Lakind JS, Holgate ST, Ownby DR, et al. *A critical review of the use of Clara cell secretory protein (CC16) as a biomarker of acute or chronic pulmonary effects*. *Biomarkers* 2007;12:445-467.
50. Lomas DA, Silverman EK, Edwards LD, et al; Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Predictive Surrogate Endpoints (ECLIPSE) investigators. *Evaluation of serum CC-16 as a biomarker for COPD in the ECLIPSE cohort*. *Thorax* 2008;63:1058-1063.
51. Andreeva AV, Kutuzov MA, Voyno-Yasenetskaya TA. *Regulation of surfactant secretion in alveolar type II cells*. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;293:L259-L271.
52. Lomas DA, Silverman EK, Edwards LD, et al. *Serum surfactant protein D is steroid sensitive and associated with exacerbations of COPD*. *Eur Respir J* 2009;34:95-102.
53. Sin DD, Leung R, Gan WQ, Man SPBMC. *Circulating surfactant protein D as a potential lung-specific biomarker of health outcomes in COPD: a pilot study*. *BMC Pulm Med* 2007;7:13.
54. Foreman MG, Kong X, DeMeo DL, et al. *Polymorphisms in surfactant protein-D are associated with chronic obstructive pulmonary disease*. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011;44:316-322.
55. Cheng G, Ueda T, Numao T, et al. *Increased levels of surfactant protein A and D in bronchoalveolar lavage fluids in patients with bronchial asthma*. *Eur Respir J* 2000;16:831-835.
56. Bode W. *Structural basis of matrix metalloproteinase function*. *Biochem Soc Symp* 2003;(70):1-14.
57. Finlay GA, Russell KJ, McMahon KJ, et al. *Elevated levels of matrix metalloproteinases in bronchoalveolar lavage fluid of emphysematous patients*. *Thorax* 1997;52:502-506.
58. Higashimoto Y, Yamagata Y, Iwata T, et al. *Increased serum concentrations of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in COPD patients*. *Eur Respir J* 2005;25:885-890.
59. Kwiatkowska S, Noweta K, Zieba M, Nowak D, Bialasiewicz P. *Enhanced exhalation of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in patients with COPD exacerbation: a prospective study*. *Respiration* 2012;84:231-241.
60. Foster JA, Curtiss SW. *The regulation of lung elastin synthesis*. *Am J Physiol* 1990;259(2 Pt 1):L13-23.
61. Lindberg CA, Engström G, de Verdier MG, et al. *Total desmosines in plasma and urine correlate with lung function*. *Eur Respir J* 2012;39:839-845.
62. Huang JT, Chaudhuri R, Albarbarawi O, et al. *Clinical validity of plasma and urinary desmosine as biomarkers for chronic obstructive pulmonary disease*. *Thorax* 2012;67:502-508.

✉ **Correspondencia:**

Dr. Juan B. De Sanctis, Instituto de Inmunología.
Facultad de Medicina.
Universidad Central de Venezuela. Apartado 50109.
Caracas 1050-A. Venezuela.
Fax +58-212-6932815
Correo electrónico: sanctisj@gmail.com; juan.desanctis@ucv.ve

Los autores declaran no tener conflictos de interés.