

Protocolo de investigación para el control del asma en asmáticos mediante la eliminación de estímulos inflamatorios a nivel epitelio-endotelial, en las vías bronquiales y bronquiolares.

Plantamiento del problema

Si bien una revolución silenciosa ha sacudido el campo de la etiopatogenia del asma en los últimos 10 años y claramente se ha identificado la inflamación como disfunción de fondo que provoca la enfermedad, la evidencia que se acumula parece indicar que no se han desarrollado aún las armas idóneas para obtener el verdadero control de la patología.

Los datos sobre prevalencia que señalan un aumento del asma en niños en países desarrollados, a partir de 1980, a una tasa de crecimiento anual del 5%^{1, 2}, parecen indicar que las medidas terapéuticas que se han utilizado, no modifican la etiopatogenia de la enfermedad y menos aún controlan las diversas causas que contribuyen a que la inflamación sea un fenómeno perseverante. Entre las últimas está la posible exacerbación del padecimiento por la vía de las causas ambientales, mediante la acción de los gases contaminantes atmosféricos sobre las células epiteliales del aparato respiratorio³, hacia los cuales hay pruebas concluyentes que dichas células muestran hipersensibilidad, sea por exposición a partículas de emisión diesel o a elevados niveles de ozono. Al cabo de casi 2 décadas, por más doloroso que esto sea, simplemente es necesario admitir que, con todo el arsenal que se despliega en contra de las enfermedades crónicas en niños, y en particular el asma, sin duda el padecimiento crónico más frecuente en ellos, no se logra controlar el fenómeno inflamatorio que gobierna la etiopatogenia de la enfermedad.

¹ Measuring Childhood Asthma Prevalence Before and After 1997 Redesign of the National Health Interview Survey – United States *Morbidity and Mortality Weekly Report* **49**(40): 908-911, 2000
Centers for Disease Control

Prevalencia del Asma en Niños Antes y Después del Rediseño de 1997 del Censo Nacional por Entrevistas – Estados Unidos *Reporte Semanal sobre Morbilidad y Mortalidad* **49**(40): 908-911, 2000
Centros del Control de Enfermedades

² Martínez FD. Evolution of asthma through childhood. Program and abstracts of the 1999 Annual Meeting of the American College of Allergy, Asthma, and Immunology; November 12-17, 1999; Chicago, Ill. Plenary: Asthma at the extremes of life.

http://www.medscape.com/medscape/con/1999/ACAAI/Story.cfm?story_id=888

Martínez FD. Evolución del asma en la niñez. Programa y extractos de la Reunión Anual del Colegio Americano de Alergia, Asma e Inmunología; noviembre 12-17, 1999; Chicago, Illinois. Plenario: Asma a los extremos de la vida.

http://www.medscape.com/medscape/con/1999/ACAAI/Story.cfm?story_id=888

³ Devalia JL, Bayram H, Abdelaziz MM, Spasford RJ, Davies RJ. Differences between cytokine release from bronchial epithelial cells of asthmatic patients and non-asthmatic subjects: effect of exposure to diesel exhaust particles. Academic Department of Respiratory Medicine, St. Bartholomew's and The Royal London School of Medicine and Dentistry, London Chest Hospital. London UK.
Int Arch Allergy Immunol 1999 Feb-Apr; **118** (2-4): 437-9

Devalia JL, Bayram H, Abdelaziz MM, Spasford RJ, Davies RJ. Diferencias en la excreción de citocinas de células epiteliales bronquiales en asmáticos y no-asmáticos: efecto de la exposición a partículas de emisión de motores diesel. Departamento Académico de Medicina Respiratoria. Hospital San Bartolomeo y Escuela de Medicina y de Dentistería Real, Hospital Torácico de Londres. Londres, Reino Unido
Archivos Internos de Alergia e Inmunología 1999 Feb-abr, **118** (2-4): 437-9

En resumidas cuentas, si bien la ciencia ha llegado a identificar la esencia de la etiopatogenia del asma y a despecho de la variedad de medidas terapéuticas que se han propuesto para combatirlo, persiste el problema y más bien se ha dado un aumento de la prevalencia de la enfermedad. Crudamente esto indica que dichas medidas terapéuticas no son capaces de producir el verdadero control de la patología y menos de las múltiples causas que exacerban su etiología inflamatoria y mantienen su cronicidad.

Justificación del estudio

Vista la situación de pobre o del no-control de la etiopatogenia de la enfermedad, el presente estudio lo justifican los mismos investigadores que han explorado los aspectos inflamatorios de la enfermedad (ver antecedentes) y quienes continúan ampliando las indagaciones. Casi todos hacen el llamado a desarrollar nuevas armas antiinflamatorias que logren vencer la pertinacia de los estímulos que perpetúan la enfermedad y que, según algunos, llegan a ser irreversibles y coronan en un continuo el cual origina en la infancia y que luego acaba en asma de los adultos. Estos estudiosos centran en la antiinflamación, las auténticas esperanzas de mejorar la enfermedad.

También se ha acumulado suficiente evidencia circunstancial, que justifica la investigación de la acción terapéutica del OXCP, como agente específico en aplacar el proceso inflamatorio del asma y de mantenerlo suprimido en forma permanente sin riesgos para el paciente; toda vez que el producto carece de toxicidad y el método de tratamiento es por aplicación tópica. La no-toxicidad⁴ del producto y la simplicidad con que se efectúa el tratamiento mediante entrega tópica, son rasgos muy atractivos para la adopción masiva del método con miras a beneficiar grandes poblaciones de pacientes. En una serie de 20 casos de niños menores de los 12 años, se ha demostrado la eficacia de ANTIASMAT en eliminar la sintomatología por completo, a partir del primer día de tratamiento y con mejoría paulatina que sigue hasta que los niños logran rápidamente un tenor de vida sin restricciones⁵. La eliminación del cuadro sintomatológico y las futuras consecuencias que se pueden prevenir, más el reintegro de los niños a una calidad de vida comparable a la de niños sanos, sin duda justifican el estudio.

Casuística no controlada

Telefono	Nombre	Localidad	Edad	Inicio del Alivio	Tiempo de estabilización	Otros medicament	Activ. Previa y con MH	Nueva Crisis
231-0819	Marytere Ramirez	Heredia	10	5 dias	9 meses	Ninguno	Poca luego del MH mucha	ninguna
231-0819	Xinia Solis	Heredia	5	5 dias	8 meses	ninguno	Idem	ninguna
244-5391	Mauricio Madrigal	Heredia	12	5 dias	8 meses	ninguno	Idem	ninguna
272-7715	Natasha Yauger	Moravia	5	4 dias	2 meses	ninguno	Idem	ninguna

⁴ Feoli E, Ramirez JJ, Chavez MA. Acute and subchronic oral toxicity of MaxHeal in mice. Unidad de Ensayos Biológicos, Universidad de Costa Rica Nov 2000

⁵ Ramírez JJ, Feoli E. Casuística de 20 casos de niños asmáticos tratados con MaxHeal. Comunicación personal. maxheal@hotmail.com

396-0621	Enrique Aguilar	San José	10	5 días	8 meses	ninguno	Idem	ninguna
227-2408	Jose Daniel Ramírez	San José	4	5 días	9 meses	ninguno	Idem	ninguna
	Enrique Guevara	San José	3	4 días	8 meses	ninguno	Idem	ninguna
	J.R y T. R.	Ciudad Colon	5 ambos	5 días	8 meses	ninguno	Idem	ninguna
297-2472	Diana Ariño	San José	13	5 días	8 meses	ninguno	Idem	ninguna
292-6548	Valeria Rojas	San Jose	6	5 días	8 meses	ninguno	Idem	ninguna
219-7931	Miguel Chavarría	San José	4	5 días	9 meses	ninguno	Idem	ninguna
265-4093	Yerich Gonzalez	Heredia	12	5 días	9 meses	ninguno	Idem	ninguna
261-7644	Lena Espinoza	San Jose	18	5 dias	8 meses	ninguno	Idem	ninguna
	Valeria Porras		5	5 días	9 meses	ninguno	Idem	ninguna
	Fabian Porras		5	5 días	9 meses	ninguno	Idem	ninguna
	Fernando Porras		1	5 dias	9 meses	ninguno	Idem	ninguna
	Alexandro	Guapiles	12	5 dias	9 meses	ninguno	Idem	ninguna
	Carlos Brenes	Oreamun o	10	5 dias	9 meses	ninguno	Idem	ninguna
280-7416	Melany Soto	San José		5 días	9 meses	ninguno	Idem	ninguna
	Jorge Salgado	San José	61	5 dias	9 meses	ninguno	Idem	ninguna
	Pamela Madrigal	San José	3	5 dias	9 meses	ninguno	Idem	ninguna
	Daniela Ramirez	San José	6	5 dias	9 meses	ninguno	Idem	ninguna

Pregunta de investigación

Ante los hechos anteriormente citados, es lícito preguntar si en realidad: ¿estamos combatiendo la etiopatogenia del asma con las armas adecuadas? La evidencia circunstancial de un nuevo agente antiinflamatorio que se aplica por vía transdérmica y que ha demostrado tener efectividad en mejorar la condición de niños asmáticos, fundamenta la pregunta de ¿cuán efectivo es el nuevo agente en controlar la enfermedad y si esta terapéutica puede ser la verdadera respuesta para controlarla?

Antecedentes

- *Nombre y descripción del producto en investigación.*— El agente objeto de estudio es el OXCP, el cual deriva de MaxHeal, un medicamento registrado y que se encuentra disponible para la venta.

MaxHeal se demostró muy eficaz en tratar casos de periodontitis grave según un estudio clínico reciente que se completó en la ULACIT y hay evidencia histológica que el producto actúa evitando la adherencia de los elementos leucocitarios al endotelio de medianos y pequeños vasos escapando a la subsiguiente migración al tejido conectivo (Gutiérrez y Zárate et al, 2001). Es interesante señalar que la periodontitis tiene también como etiopatogenia un proceso inflamatorio no resuelto y la resolución del padecimiento es con base en un mecanismo de antiinflamación.

Dicho mecanismo antiinflamatorio está siendo estudiado en un modelo murino de infiltración eosinofílica en el pulmón. Las histologías pos-operatorias de los sujetos tratados en el estudio de periodontitis en humanos, mostraron una resolución total de la inflamación y ausencia de elementos leucocitarios en cercanía del endotelio de los vasos sanguíneos. El modelo murino daría demostración directa en el tejido pulmonar de la acción antileucocítica descrita del ANTIASMAT y sobre las posibilidades de su principio activo antiinflamatorio en asma.

Un cierto tiempo después de haber lanzado el producto MaxHeal al mercado, se ha descubierto que la porción sintética de MaxHeal, la molécula OXCP, que se concibió originalmente como un buffer estabilizador, tiene efecto terapéutico por sí misma y puede ser utilizada como ingrediente principal en la preparación de otras presentaciones, como los hidrogeles.

Dichas cualidades de la molécula, resultaron claras cuando se lograron preparar geles con disolución suficiente, para que los niveles de los principios activos del ácido salicílico y del aloe vera, sobre cuya acción se centraba el producto, resultaran indetectables. No obstante lo anterior, el gel con dichas características, se observó que continuaba exhibiendo bioactividad y que mantenía, aún a las diluciones que demanda la preparación del gel, un poderoso efecto terapéutico en la antisepsis de heridas, en la cicatrización y sobremanera en la antiinflamación.

Posteriormente se descubrió que el gel con tales características, resultaba ser un tratamiento específico en controlar el asma bronquial por vía transdérmica (por frotación de 1 gm de gel en la espalda, dos veces al día). La constatación de este hecho tan sorprendente, señaló la irrefutable presencia del nuevo agente terapéutico en la solución: de importante valor al ser enteramente inocuo y con un elevado poder antiinflamatorio y que, según las observaciones no controladas, supera todo lo conocido. La concentración inicial del buffer en agua, de un 23% aproximadamente, permite conservar suficiente cantidad de principio activo del OXCP en la estructura del gel, lo que explica la persistencia de la acción terapéutica observada a tales diluciones.

Del mismo modo se llegó a preparar un gel mucoadherente, apuntando a las nuevas cualidades descubiertas del OXCP para su acción terapéutica, y con el fin de usarlo en la mucosa oral y en encías. En esta preparación las concentraciones de los

principios activos previamente considerados como fundamentales, también dejan de tener incumbencia y la atención se vuelca sobre la bioactividad del OXCP. A dicha preparación se le ha asignado la sigla de OXCP 102 mientras se le encuentra su nombre comercial, con el fin de estructurar los protocolos de estudio que demuestren su eficacia y tramitar el registro de la nueva presentación del principio activo. Los ensayos preliminares han producido suficiente indicación de que la bioactividad del OXCP en la mucosa oral es excelente cuando es incorporado a una base de absorción apropiada, por lo que se propone estudiar en forma controlada dicha preparación en otros estudios.

- *Estudios de toxicidad y experiencia en humanos del producto comercializado.*— Se proporciona en el anexo n° el ensayo de dosis letal 50 o DL50 y el ensayo de toxicidad Aguda-PN. Estudios realizados en Laboratorio de Ensayos Biológicos de la Universidad de Costa Rica noviembre 2000.

El patrocinador ha vendido 1.500 dosis de 30 ml de MaxHeal solución sin que se hayan reportado efectos adversos por parte del público. Ha distribuido 10.000 muestras de 10 ml con los mismos resultados.

Están por hacer ingreso al mercado 3.000 dosis del gel para uso cutáneo en el mes de noviembre 2001.

- *Estudios pre-clínicos y beneficios conocidos.*— El haber considerado los epitelios como barreras pasivas, ha dificultado la comprensión de muchas entidades nosológicas y la orientación de los esfuerzos que pueden mejorar esos padecimientos y desarrollar los tratamientos que eliminen la patología de fondo. Los esfuerzos siempre han estado dirigidos a atacar los problemas, una vez que los epitelios fueron vulnerados y apoyados en el uso de armas antibacterianas, las cuales no pueden controlar la inflamación, y en medidas paliativas que tienden a disminuir los síntomas transitoriamente o en terapias antiinflamatorias inadecuadas.

Descubrimientos recientes que han puesto de relieve la importancia del aparato epitelio-endotelial en iniciar una inflamación que no se resuelve mediante estímulos epitelio-inmunitarios sostenidos en pacientes asmáticos, como es el caso de toda otra serie de patologías que tienen como base la inflamación crónica no resuelta, comienza a abrir una hendidura sobre la naturaleza del problema^{6,7}. Conceptos

⁶ Holtzman M. Epithelial Cells Contribute to Chronic Inflammation in Asthma. Washington University in St. Louis. Highlights of Asthma 99' Honolulu. JAMA Asthma Information Center
<http://www.ama-assn.org/special/asthma/newsline/conference/asthma99/0502epit.htm>

Holtzman M Contribución de la Células Epiteliales a la Inflamación Crónica del Asma. Universidad Washington en San Luís. Puntos destacados del Asma 99' Honolulu Centro de Información del Asma de la Revista Americana de Medicina

<http://www.ama-assn.org/special/asthma/newsline/conference/asthma99/0502epit.htm>

⁷ Devalia JL, Bayram H, Abdelaziz MM, Spasford RJ, Davies RJ. Differences between cytokine release from bronchial epithelial cells of asthmatic patients and non-asthmatic subjects: effect of exposure to diesel exhaust particles. Academic Department of Respiratory Medicine, St, Batholomew's and The Royal London School of Medicine and Dentistry, London Chest Hospital. London UK.
Int Arch Allergy Immunol 1999 Feb-Apr; **118** (2-4): 437-9

Devalia JL, Bayram H, Abdelaziz MM, Spasford RJ, Davies RJ. Diferencias en la excreción de citocinas de células epiteliales bronquiales en asmáticos y no-asmáticos: efecto de la exposición a partículas de

recientes sobre las funciones de los vastos aparatos epitelial y endotelial, los sitúan como verdaderos organismos, autocrinos o paracrinos. Estos aparatos son sensibles a señales citocínicas y de acuerdo a estas, pueden modificar su comportamiento y en los casos de exceso de mediadores, a dar respuestas patofisiológicas de disfunción, que se traducen en permeabilidad alterada y disminución de la función de barrera.

En Costa Rica, trabajos sobre el tema, han confirmado en animales la conveniencia de eliminar tales disfunciones epiteliales en la cicatrización de la piel⁸. Este estudio dio resultados diametralmente opuestos en cuanto al tipo de cicatrización que se observó, según el método de curación de las heridas que fue utilizado. En todas las heridas donde persistió el estímulo inflamatorio, se produjeron úlceras sin que se pudiera observar regeneración epitelial. En las heridas donde se eliminó el estímulo inflamatorio, se observó cicatrización con regeneración epitelial completa y ortoqueratótica, en 4 de 7 sujetos. El estudio concluye que la disfunción epitelio-endotelial amparada por un estímulo inflamatorio sostenido, constituye un obstáculo al buen desenvolvimiento de la cicatrización.

Específicamente sobre asma, se encuentra el estudio de la Acción Terapéutica del OXCP 101 en un Modelo Murino de Inflamación Eosinofílica Persistente. El estudio sensibiliza a los ratones con blanco de huevo para generar la eosinofilia pulmonar. Los animales controles y los tratados con OXCP, se analizarán mediante la determinación de anticuerpos OVA-específicos, extracción de la peroxidasa eosinofílica (actividad EPO) en el lavado broncoalveolar, recolección de células de la médula ósea y la respuesta alérgeno-específica en la vía aérea con espirometría de la pausa respiratoria aumentada (enhanced pause o Pehn), prueba cutánea PCA y estudio histológico de los pulmones. Esta prueba correlacionada con los hallazgos histológicos y la intensidad de la inflamación en las vías aéreas, es un claro indicador de la actividad de la enfermedad.

Makoto Dohi et al. 1999, halló una correlación de ($r = 0.699$, $p < 0.001$) entre n° de eosinófilos en el lavado broncoalveolar y Pehn. No solamente sino que hubo correlación entre Pehn y la intensidad de los hallazgos histológicos de inflamación. Pehn es la detección y cuantificación de la amplitud de la pausa que interviene entre el movimiento de la caja torácica del animal y el momento en que realmente inicia el flujo de la inspiración. Es un método no invasivo el cual prescinde de la inmovilización del animal. El efecto terapéutico de OXCP 101 debiera claramente reflejarse con una mejora de estos indicadores. Este estudio está siendo realizado en el CIPAI (Centro de Investigación Odontológica y de Afecciones Inflamatorias) de ULACIT.

Varios estudios controlados que se realizan en humanos, han producido resultados que demuestran resultados sugerentes de disfunción epitelio-endotelial, en grandes heridas traumáticas y quirúrgicas^{9, 10}, como también en las afecciones del

emisión de motores diesel. Departamento Académico de Medicina Respiratoria. Hospital San Bartolomeo y Escuela de Medicina y de Dentistería Real, Hospital Torácico de Londres. Londres, Reino Unido *Archivos Internos de Alergia e Inmunología* 1999 Feb-abr, **118** (2-4): 437-9

⁸ Feoli E, Arrieta A, Murillo J. Cicatrización Regenerativa con ANTIASMAT, en defectos de piel provocados en cerdos Estudio pre-clínico (Universidad Nacional Autónoma, Escuela de Veterinaria). Congreso de Veterinarios, celebrado en el Hotel Corobicí, San José durante la semana del 8 de noviembre de 1999.

⁹ Feoli E, Montalbert C, Bravo D, Prado Protocolo para Determinar la Profilaxis de Infecciones en Heridas Quirúrgicas, con el Uso de ANTIASMAT Julio 2000

peridonto¹¹. Además mediante una monografía, se ha propuesto extender el beneficio de las terapias que pueden eliminar la inflamación no resuelta y sostenida, en las afecciones nasofaríngeas y del oído medio¹².

- Descripción y justificación de la vía de administración, dosis, esquema de las dosis y período de tratamiento.

La siguiente tabla ilustra las diferentes posibilidades de uso de ANTIASMAT y el OXCP y lo remoto que las dosis terapéuticas se encuentran de

Posibilidad de error de procedimiento en la terapéutica con ANTIASMAT

Vía de administración	Dosis letal	Dosis equivalente en humano de 70 Kg	Dosis terapéutica
Oral	6178,32 mg/Kg ¹³	490 gm o beber 2130 ml de solución en una sola ingesta	3 gtt bid después de las comidas
Subcutánea	2000 mg/Kg	140 gm o lavar herida con 608 ml y cerrarla con esa cantidad de producto adentro	10 ml como megadosis ha sido usada en heridas quirúrgicas abdominales, usualmente 5 ml en un litro de solución salina para lavado quirúrgico
Intraperitoneal	1000 mg/Kg	70 gm o dejar en cavidad peritoenal 304 ml y cerrar con producto adentro	1ml por litro de solución salina
Transdérmica	Se coteja con la subcutánea	Habría que concentrar 608 de solución en aprox 50 Kg de gel y friccionar los 50 Kg de una sola vez	1.5 mg por humano de 70 Kg
Mucosa	Se coteja con transdérmica	Imposible de aplicar más de una modesta cantidad de gel mucoadherente en la mucosa oral y encías	50 ppm por humano de 70 Kg
Intravenosa	No necesaria por el momento	Idem	Idem
Intraraquídea	No explorada	—	—

Mecanismo letal y efectos no deseados

Los animales estudiados por toxicidad aguda y crónica, no presentan ningún daño histológico. Por lo que se ha invocado un potente mecanismo vasoactivo a las dosis letales que produce vasodilatación potente. Efectivamente este mecanismo ha sido

¹⁰ Feoli E, Badilla V, García J. Acevedo J. Guriérrez Protocolo de Investigación sobre el Efecto de ANTIASMAT en la Prevención de Infección en Fracturas Expuestas, el Acortamiento y Simplificación del Salvamiento, y la Disminución de Amputaciones Secundarias, Julio 2000

¹¹ Feoli E, Acción regenerativa de MaxHeal en el periodonto, <http://www.geocities.com/maxheal>

¹² Feoli E, Nueva arma terapéutica en afecciones ORLs, <http://www.geocities.com/maxheal>

¹³ Ensayo de Dosis letal 50 (DL 50) Toxicidad Aguda-PN Unidad de Ensayos Biológicos UCR 2001

corroborado en estudios conducidos en la Unidad de Ensayos Biológicos de la UCR. A pesar de ser las dosis letales inconmesurablemente separadas de las terapéuticas, se buscan medidas que contrarresten el efecto, solamente con el fin de conocer más a fondo el mecanismo de acción. Otro estudio en ratas normotensas, no mostró a las dosis terapéuticas usadas en humanos, ningún efecto hipotensivo. Fuera de lo expuesto, no existen complicaciones con el uso de MaxHeal.

La administración de dosis tan pequeñas de 1.5 mg bid por vía transdérmica es la que se estudia por efectos terapéuticos en asma y padecimientos vasculares. A dosis menores, una vez al día por vía transdérmica, para hipertensión arterial. No ha habido reacciones alérgicas en más de 10000 exposiciones en humanos de MaxHeal solución. Con el gel, existe la posibilidad de reacciones hacia los parabenos o los preservantes como cuando se observa al aplicar anestésicos locales, que los contienen. En tal caso se puede emplear un gel preparado sin parabenos el cual ha demostrado resistir sin contaminación hasta 75 días. Perfectamente se puede emplear este gel cuando el uso va a ser inmediato. Se estudia la manera de lograr la preparación de este gel, para que resista un mínimo de 2 años.

En el caso particular de asma, se recomienda la dosis de 1.5mg dos veces al día y por un período de 2 meses. Después de la dosis de ataque, se aconseja una de mantenimiento de una vez por día 5 veces por semana como mínimo.

Es interesante señalar las ventajas que tiene la vía de administración trans-dérmica, en vista de que el acceso al torrente sanguíneo lo por la vía directa y evitando el primer paso por el hígado, la neutralización que se puede dar a la altura de la mucosa del tracto digestivo y, según el poder de penetración del fármaco, dando un mejor balance de absorción. Todas desventajas que encuentra la vía enteral¹⁴. El OXCP parece ser un candidato ideal para ser suministrado por la vía trans-dérmica y sin necesidad de sustancias que ayuden a su absorción. Esto explica como un agente que se aplica por frotación sobre la piel puede ser tan eficaz en eliminar la inflamación a nivel del territorio de la arteria bronquial (ver referencias de la literatura).

- Composición de la población por estudiar

En lo relativo a prevalencia del asma en niños, en 1997 la NHIS (National Health Interview Service: la fuente principal en prevalencia sobre asma en los EUA) advirtió de que las tasas que se consideraban como representativas de del estatus de la enfermedad, tenían que ser vistas desde un ángulo más crítico para determinar si en realidad el aumento de la prevalencia, que se venía reportando desde 1980 a 1997, no era en realidad una sobrestimación. Ese organismo consideró oportuno realizar nuevos estudios para determinar las tendencias sobre prevalencia, de 1997 en adelante.

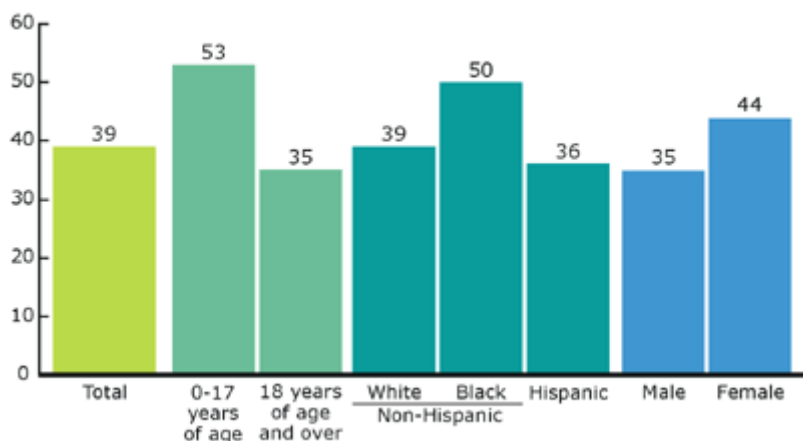
El rediseño de cómo efectuar las encuestas se basó en reformular la pregunta básica dirigida a los padres de los niños en los hogares que formaron la muestra (14.000 niños por año). La nueva pregunta es: “¿Le ha sido diagnosticado a su niño/a asma por algún médico o profesional de salud?” Para estimar la prevalencia de crisis asmáticas a los que responden con un sí, se le pregunta: ¿Ha tenido su niño/a durante los últimos 12 meses,

¹⁴ Amir H Shojaei, Buccal Mucosa As A Route For Systemic Drug Delivery: A Review
Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada
T6G 2N8 J Pharm Pharmaceut Sci (www.ualberta.ca/~csp) 1 (1):15-30, 1998

episodios de asma o una crisis de asma? La extrapolación al territorio de los EUA y los errores estándar fueron calculados usando la técnica SUDAAN. Anteriormente no se tomaba en cuenta la enfermedad diagnosticada por un profesional.

Sin embargo tan recientemente como en el mes de octubre 2001, solamente se han reportado los datos concernientes a 1998. El reporte conjunto de la CDC/NHIS consigna una prevalencia de 53 por cada 1000 niños en 1998, en comparación a 54 por cada 1000 en 1997, como se puede ver de la figura n° y donde existe un desglose por edades, sexo y etnias.

Figure 1. Asthma attack prevalence per 1,000 population, 1998



SOURCE: CDC/NCHS, National Health Interview Survey.

Las cifras de estas encuestas no toman en consideración ciertos nichos de población que se encuentran expuestos ante mayores factores de riesgo. Es interesante la encuesta en 1642 de escolares en los barrios pobres de Filadelfia, conducida por el Dr. Salvatore Mangione del Servicio de Medicina/CRMEHC del Jefferson Medical College, que muestra un 27% de respuestas positivas en padecer asma y un 62.4% de exposición pasiva al humo de cigarrillo¹⁵.

Estos datos se tornan muy sugerentes, a la luz de la prevalencia que consigna el trabajo del Dr. Soto Quirós en Costa Rica, resultante de una encuesta en 2682 niños escolares. La prevalencia de asma, en la muestra escogida con depuración para que fuera representativa, fue del 23.4% y el factor de presencia de fumadores en el hogar, se logró identificar como un factor de riesgo (odds ratio=1.6)¹⁶.

También en 1998, se publicaron los resultados de la fase I del Estudio Internacional de Asma, Alergias en la Niñez obtenidos con criterios más rigurosos, en vista de que la encuesta estuvo dirigida durante 1991 y 1995 en 155 centros de 56 países con 463.801 participantes. Los cuestionarios fueron llenados directamente por los mismos pacientes de la edad de 13 a 14 años y dirigidos a establecer la prevalencia de un solo episodio durante el último año y aquellos que presentaron ≥ 4 episodios durante el último año. El estudio es muy importante, visto y considerado que trata con sujetos que según el concepto tradicional, ya han madurado su condición y están en una edad en que ESTA

¹⁵Prevalence of Asthma Among Inner-City Children Linked to Tobacco Smoke
Mangione S. CHEST 2001 67th Annual International Scientific Assembly of the American College of Chest Physicians, November 4-8th

¹⁶Soto-Quiros M, Bustamante M, Gutierrez I, Hanson LÅ, Strannegård, Kalberg J. The prevalence of childhood asthma in Costa Rica. *Clinical and Experimental Allergy*, Vol 24, 1130-1136 1994

debiera de comenzar a desaparecer. En la categoría más severa se identificaron prevalencias que oscilan entre menos de 1% en Albania, Indonesia, Uzbekistán, Rusia, Rumania, Grecia, Georgia y China a más de un 9% en Australia, Nueva Zelanda, el Reino Unido y Canadá. En la menos severa que correlacionaba en distribución con la anterior (excluyendo errores de medición) la prevalencia osciló en los mismos países, entre menos de 5% y un 29-32%¹⁷. El estudio concluye que la enfermedad predomina en los países de habla inglesa y en muchos de América Latina.

A pesar de las dificultades que existen en establecer datos concluyentes en cuanto a la prevalencia representativa del asma en niños, considerados los diferentes criterios que usan los distintos investigadores en la conducción de sus encuestas, el total de pacientes que sufren de asma en el mundo de acuerdo a estimaciones conservadoras, pueden ser sobrecogedor. Esta población puede ser estimada en 250 millones. De manera que la muestra para este estudio ha de ser escogida en poblaciones con enfermedad endémica, según se puede corroborar del estudio realizado en Costa Rica (ver ref. n° 16).

La población escogida para realizar el estudio corresponde a la adscrita al Hospital San Francisco de Asís de Grecia, Alajuela. Según datos del censo de la ATAPS en 1999, existen en dicha área, 9108 individuos entre la edad de 8 y 14 años. Si se toma el dato de prevalencia del estudio del Dr. Soto Quirós, habría un grupo de 2131 candidatos de donde serán escogidos los sujetos a ser incluidos en el estudio.

- Referencias y datos relevantes

En el asma es necesario comprender como se establece el fenómeno que convierte a la enfermedad en un proceso de carácter crónico y que resiste a los métodos hasta ahora conocidos de tratamiento.

Una vez que remite la fase aguda del asma, donde mastocitos presensibilizados y recubiertos con un capa de IgE reaccionan al antígeno original o a antígenos cruzados, para liberar histamina (que causa broncospasmo), leucotrienos (que atraen leucocitos, eosinófilos y estimulan la secreción de mucus) y factor activador de plaquetas (que produce aún mayor secreción de histamina y serotonina de origen plaquetario), es posible identificar que existe en el asma crónico un sólido y sostenido estímulo epiteliario-inmunitario que perdura indefinidamente, cuando se estudian las células T. La evidencia se acumula en señalar que el asma es fomentado y mantenido por células T con memoria, crónicamente activadas, que tienen sensibilización a la presentación de alérgenos, antígenos ocupacionales o virales, y que se congregan en el pulmón después de tener contacto con un antígeno o una infección viral. Los alérgenos provocan una respuesta de las células T con receptores CD4+, o células ayudantes Th. Por otro lado los virus son reconocidos por las células CD8+ o citotóxicas, tipo Tc. En las vías respiratorias de los asmáticos, predominan las células CD4+ sobre las CD8+, por lo que el perfil citocínico predominante es el Th-2 y Tc-2. Las interleucinas prevalecientes son de tipo IL 3 y 5 y del factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos FCGM y eotaxina, los cuales movilizan y activan los eosinófilos que subsiguientemente dañan la mucosa y de tipo IL4, IL13 cofactor esencial en la producción generalizada de IgE. El resultado es el desgajamiento epitelial,

¹⁷ International Variations of Childhood Asthma. Lung and Asthma Information Agency. Factsheet 2001/2. Public Health Sciences Dept., St George's Hospital Medical School, Cranmer Terrace, London SW17 0RE laia@sghms.ac.uk <http://www.sghms.ac.uk/depts/laia/laia.htm>

hipersecreción de mucus y contracción del músculo liso bronquial^{18, 19}. Por lo que concretamente la respuesta inflamatoria parece estar dominada por el número de eosinófilos en explosión respiratoria, los cuales pueden ser correlacionados con la severidad del asma²⁰. La acumulación de eosinófilos parece estar guiada por la secreción citocínica de tipo Th2 y Tc2 en asma acompañado de, o sin, atopía, en especial por secreción de la IL5 y por la acumulación final de IgE. Niveles elevados de IgE, parecen estar relacionados con asma crónico desde edades muy tempranas. Finalmente el aflujo de neutrófilos puede complicar la severidad del asma, aumentando los radicales libres de oxígeno de la explosión respiratoria y cambios profibróticos de la liberación de proteinasas, lipoperoxidasas y citocinas²¹.

El compromiso inflamatorio endotelial en las vías aéreas pulmonares es además un hecho claramente documentado. El activador tisular del plasminógeno en el plasma o tPA, ha sido considerado por mucho tiempo que origina de las células endoteliales del sistema vascular en general, sin importar tamaño ni territorio. Sin embargo experimentalmente, Levin, Santell y Osborn han descrito más recientemente la distribución de la tPA según análisis inmunohistoquímicos de tejido pulmonar normal en ratones y observaron que la tinción positiva se limita al endotelio de las arterias bronquiales únicamente, sin distinción en el tamaño del vaso sanguíneo, con muy pocas células endoteliales de la circulación pulmonar que muestran tinción. Los vasos de la circulación pulmonar que contenían tPA derivadas de origen endotelial eran consistentemente de un tamaño entre 7 y 30 μm de diámetro. Ningún capilar o vaso de tamaño mayor del sistema pulmonar, dio tinción positiva por tPA. Estos resultados se observan también en el pulmón de los primates, donde el endotelio de todos los vasos del sistema bronquial, incluyendo los capilares, contienen tPA, mientras que absolutamente ningún vaso del sistema pulmonar contiene tPA²².

¹⁸ Kon OM, Kay Ab. T cells and chronic asthma. Allergy and Clinical Immunology, National Heart and Lung Institute, Imperial College School of Medicine, London, UK.

Int Arch Allergy Immunol Feb-Apr; **118**(2-4): 113-5

Kon OM, Kay Ab. Células T y asma crónico. Alergia e Inmunología Clínica, Instituto Nacional del Corazón y del Pulmón, Colegio Imperial de la Escuela de Medicina, Londres, Reino Unido

Archivos Internos de Alergia e Inmunología Feb-abr; **118**(2-4): 113-5

¹⁹ Gelfand E. Cytokines in Allergic Diseases: Will the Real Culprit Please Stand Up? American Academy of Allergy, Asthma and Immunology 56th Annual Meeting Day 3 - March 6, 2000

http://www.medscape.com/medscape/con/2000/ACAAI/Story.cfm?story_id=1065

Gelfand E. Citocinas en Enfermedades Alérgicas: Que se Identifique el Verdadero Culpable. Academia Americana de Alergia, Asma e Inmunología Reunión Anual 56ma 3er día, 6 de marzo 2000

http://www.medscape.com/medscape/con/2000/ACAAI/Story.cfm?story_id=1065

²⁰ Tsai JJ, Kao MH, Hau SH. The respiratory burst activity of activated eosinophils in atopic asthmatics. Section of Allergy and Clinical Immunology, Department of Internal Medicine, Cathay General Hospital, Taipei, Taiwan. *Int Arch Allergy Immunol* 1999 May; **119**(1): 38-44

Tsai JJ, Kao MH, Hau SH. La explosión respiratoria de eosinófilos activados en asmáticos atópicos. Sección de Alergia e Inmunología Clínica, Departamento de Medicina Interna, Hospital General Cathay, Taipei, Taiwan. *Archivos Internos de Alergia e Inmunología* 1999, **119**(1): 38-44

²¹ Carrol N, Carello S, Cooke C, James A. Airway structure and inflammatory cells in fatal asthma attacks. *Eur Respir J* 1996; **9**(4): 709-715

Carrol N, Carello S, Cooke C, James A. Estructura de las vías respiratorias y células inflamatorias en ataques mortales de asma. *Revista Europea Respiratoria*. 1996; **9**(4): 709-715

²² Levin GE, Santell L, Osborn KG. The expression of tissue plasminogen activator in vivo: a function defined by vessel size and location. *Journal of Cell Science* **110** (2) 139-148 1997

Levin GE, Santell L, Osborn KG. Expresión del activador del plasminógeno tisular in vivo: función definida por tamaño del vaso sanguíneo y su localización. *Revista de Ciencia de la Célula* **110** (2) 139-148 1997

Los mismos autores demostraron que la exposición de los ratones a condiciones hiperbáricas, promueve lesiones pulmonares agudas que se asocian a inflamación. En este modelo, se estudió el efecto de la inflamación en la expresión del tPA endotelial. Encontraron aumento de 4.5 veces, en el número de vasos pulmonares que teñían positivamente para tPA después de 66 horas y solamente en aquellos vasos que tenían un diámetro entre 7 y 30 μm . Ningún capilar o vaso mayor de la circulación pulmonar, mostró presencia de tPA. Los niveles en el plasma de tPA aumentaron dramáticamente con la hiperoxia y un análisis de hibridización in situ demostró presencia de tPA mRNA en el endotelio de los vasos positivos al tPA. El tPA localizado sea en los vasos bronquiales y aquellos pocos pulmonares, no dieron señales de reaccionar a los inmunocomplejos tPA-PAI-1, ni a la uroquinasa que abunda en el tejido pulmonar perfundido. Por lo que la expresión del tPA endotelial, sea constitutivo o inducido por motivos patógenos, es una función altamente selectiva relegada a un grupo selecto de células endoteliales de un territorio específico o también por estar asociadas a vasos de cierto tamaño determinado. El concepto de que los niveles de tPA plasmático se mantiene mediante la producción constitutiva de todas las células endoteliales del sistema vascular, es inválido. La participación de la tPA en otros procesos, aparte del papel que juega como componente del sendero fibrinolítico que se encarga de mantener los vasos sanguíneos libres, es evidente y especialmente su participación en el complejo proceso de la inflamación.

Si bien el trastorno endotelial en asma parece estar circunscrito al territorio bronquial como se deduce del párrafo anterior, queda por explicar los cambios que se observan en la vía de conducción terminal (descrito en esta sección pag n°) y que se correlaciona con aumento de la permeabilidad capilar. No existen estudios que hayan establecido un nexo del VEGF con el asma, a excepción del aumento que se observa de este factor en las poliposis nasales y la alta frecuencia de asma que se observa en estos pacientes²³. La persistencia de la enfermedad a pesar de las armas broncodilatadoras existentes y la creciente disminución en la respuesta que se observa en muchos pacientes hacia estos agentes con el avanzar de la enfermedad, hacen pensar que existen otros factores no vinculados a la musculatura lisa, que igualmente inciden sobre la obstrucción de las vías de conducción terminales y que son importantes en determinar su cronicidad. El fenómeno puede ser denominado: “obstrucción no muscular”.

El mecanismo es importante en otras patologías las cuales fundamentan su etiopatogenia en la inflamación crónica^{24, 25} y con un claro compromiso del endotelio, donde es posible identificar que existe una alta activación del plasminógeno. En el aparato respiratorio estos cambios anatómicos pueden ser corroborados mediante el examen morfométrico de tejido fresco pulmonar recién extraído en sujetos con asma, con bronquitis crónica y en sujetos control, y asistido por métodos de cómputo muy avanzados para establecer con precisión el grosor de la pared y el tamaño del lumen en las diferentes zonas del pulmón. Las paredes de los conductos aéreos en pacientes asmáticos, con estas mediciones reflejan un engrosamiento que compromete a todos sus

²³ Seija Vento. Nasal Polypoid Rhinosinusitis- Clinical Course and Ethiological Investigations. University of Helsinki Medical Faculty. Academic Presentation Auditorium of Otorhinolaryngology & Head and Neck Surgery May 4th, Noon, 2001

²⁴ Iwasaka C, Tanaka K, Abe M, Sato Y. 1996. Ets regulates angiogenesis by inducing the expression of urokinase plasminogen activator and matrix metalloproteinase-1 and the migration of endothelial cells. *J Cell Physiol* **169**: 522-531

²⁵ Oda N, Abe M, sato Y. 1999. Ets-1 converts endothelial cells to the angiogenic phenotype by inducing the expression of matrix metalloproteinases and integrin $\beta 3$. *J Cell Physiol* **178**:121-132

elementos, incluyendo el músculo liso, el intersticio y los vasos sanguíneos. Lo anterior confirma los hallazgos radiológicos reportados en este protocolo en pag n° respecto de la circulación sanguínea que origina de la arteria bronquial. Sin embargo con esta técnica es posible observar en forma más particularizada, que el compromiso, además de involucrar a los vasos bronquiales, también se extiende a los vasos subepiteliales, y a los perimusculares. Estos autores practicaron una búsqueda de los factores que pueden ser la causa del engrosamiento, y a pesar de haber hecho tinciones inmunohistoquímicas de los tejidos y los marcaron para identificar factores de crecimiento derivados de tejido y de plaquetas (TGFP y PDGFP), no pudieron observar diferencias significativas con los controles. Lo que confirma la necesidad, según observación hecha en este protocolo, de estudiar estos tejidos con fines de identificar un aumento del factor VEGF. Concluyeron además que la contribución del engrosamiento provenía igualmente del músculo liso y del tejido intersticial, y que la repercusión en términos de obstrucción al flujo de aire, según la simulación de un modelo de cómputo, sería más severa conforme el engrosamiento comprometiera las vías periféricamente y hacia los bronquiolos. Cuanto más extendido en la periferia es el trastorno mayor será la pérdida de superficie de intercambio, y menor la capacidad de re-absorción de líquido desde la vía aérea²⁶.

Ahora bien, a pesar de que se carece de información sobre el estado del endotelio en relación con la secreción de VEGF en asmáticos, existen otros datos que hablan sobre el flujo sanguíneo pulmonar y que facilitan la comprensión de ciertos aspectos de la enfermedad. Uno de los rasgos más notorios de los asmáticos es la facilidad con la cual desarrollan tos y broncoespasmo al inhalar aire frío, especialmente durante el ejercicio físico. Paradójicamente esto es debido a que los sujetos asmáticos calientan el aire inhalado más rápidamente que los sujetos normales durante la fase de recuperación que sigue al reto o provocación bronquial^{27, 28}. Esto puede ser reflejo de un flujo sub-mucoso aumentado, de congestión vascular y de permeabilidad aumentada, cambios que conducen a la permeabilidad de fluido plasmático al tejido endobronquial y la obstrucción descrita en el pag. n° . Agentes que aminoran la vasodilatación y/o trasudación vascular (aplicación tópica de alfa agonistas vasoconstrictores como la epinefrina) se ha demostrado que mejoran las consecuencias de la inhalación de aire frío. Experiencias hechas en asmáticos y controles con expansiones del volumen circulatorio apoyan este concepto. La infusión intravenosa rápida de solución salina normal de 30ml/kg de peso, provocan crisis de moderadas a severas y similares a las de obstrucción de la vía aérea por inhalación de aire frío. Los cambios en los controles fueron significativamente menores y en los asmáticos, iniciaron con un tercio del volumen infundido²⁹. Ahora si por el contrario al paciente se le prepara de antemano con infusión de solución salina y se expande la fuente de calor vascular alrededor de los bronquios se mitiga el trastorno consecutivo al aire frío inhalado, en buena proporción. Igual si con anterioridad se prepara al sujeto y se mantiene durante el rato que dure la inhalación, con vasodilatadores inhalados como el furosemide y enalaprilat, o se

²⁶ RC Boucher, IA Gilbert, JC Hocc, M King, MR Knowles, and J Nadel
Nonmuscular Airway Obstruction and Asthma *Am J Respir Crit Care Med* Vol **152**, pp 408-410, 1995

²⁷ Gilbert, I. A., and E. R. McFadden, Jr. 1992. Airway cooling and rewarming: the second reaction sequence in exercise-induced asthma. *J. Clin. Invest.* **90**:699-704.

²⁸ Giber & I, A., J. Regnard, K. A. Lenner, J. A. Nelson, and E. R. McFadden, Jr. 1991. Intrathoracic airstream temperatures during acute expansions of thoracic blood volume. *Clin. Sci.* **81**:655-661.

²⁹ Gilbert, I. A., J. M. Fouke, and E. R. MacFadden, Jr. 1987. Heat and water flux in the intrathoracic airways and exercise induced asthma. *I. Appl. Physiol.* **63**:1681-1691.

provoca el desplazamiento de volumen sanguíneo de las extremidades inferiores a la circulación central mediante pantalones compresivos anti-shock³⁰. Esto es muy esclarecedor ante la experiencia que caracteriza a la casuística no controlada del cuadro n° , donde estos pacientes reportan que con el tratamiento con OXCP, recobran la habilidad de hacer ejercicio y de inhalar aire frío.

También en relación con el OXCP se trata de establecer en otro estudio clínico, la relación que puede existir entre estos factores y las complicaciones que se observan en el pie diabético³¹. De existir un aumento de la permeabilidad vascular en el endotelio del aparato respiratorio terminal de los asmáticos, es indudable que una normalización de la función endotelial en estos pacientes, puede ser de gran beneficio. Pero se necesitan nuevos estudios experimentales dirigidos a esclarecer esas interrogantes, para estar en posición de dilucidar estos problemas. Finalmente en relación con estos datos relevantes, será muy interesante ver hasta que punto los cambios morfométricos son de carácter irreversible según afirman algunos autores y si un agente con acción terapéutica sobre el endotelio es capaz de revertir estos cambios en alguna medida.

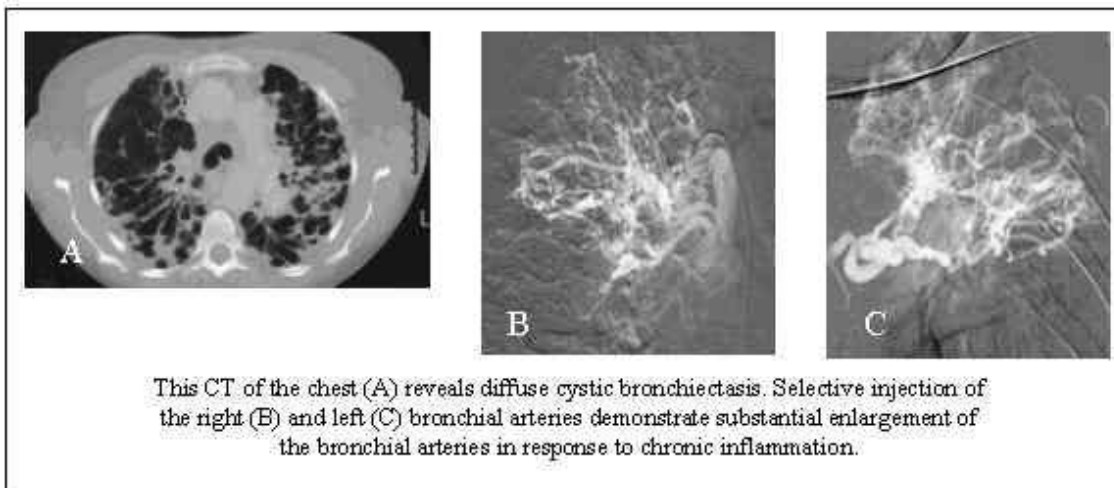
Otra asociación inadvertida con el sistema bronquial, es la que existe con el sistema MALT (mucosa associated lymphoid tissue). Este importante sistema sigue la distribución bronquial y se extiende a las subdivisiones bronquiolares, y también a la de los vasos bronquiales menores, donde se haya menos estructurado y disperso, pero conservado la plena capacidad de reconocer antígenos y de emprender una respuesta inmunitaria. El tejido linfático de este territorio debiera de recibir más apropiadamente el nombre representado por las siglas, BALT (bronchial associated lymphoid tissue) y que se involucra desmenuadamente en montar una barrera inmunitaria en la propia mucosa, para combatir la agresión de patógenos; ver ref. n° 7.

Estos hallazgos explican aquellos cambios que dependen de la mucosa bronquial. Sin embargo para que los pacientes conserven plena capacidad ventilatoria (ver casuística) es necesario que la terapéutica tenga capacidad de resolver los cambios de la vía de conducción terminal según fue descrito. Cuando la inflamación que afecta a ese territorio llega a resolverse, el paciente recupera su capacidad respiratoria. Por tanto, el nombre de asma bronquial para la entidad, sigue siendo atinado a la luz de tal evidencia. Sin embargo es necesario tomar en cuenta los trastornos más finos de la vía de conducción terminal para resolver integralmente los problemas de los pacientes asmáticos.

El compromiso del territorio bronquial está ilustrado por observaciones clínicas interesantes, las cuales demuestran que las arterias bronquiales se dilatan considerablemente en respuesta a un estímulo inflamatorio crónico. Esta dilatación es responsable por la intensidad de la hemoptisis en pacientes tuberculosos, en pacientes con bronquiectasias y en la fibrosis quística. La asociación entre inflamación y la muy

³⁰ Gilbert, I. A., K. A. Lenner, J. A. Nelson, A. D. Wolin, and J. M. Fouke. 1994. Inhaled furosemide attenuates hyperpnea-induced obstruction and intra-airway thermal gradients. *J. Appl. Physiol.* **76**:409-415.

³¹ Feoli E, Mendez E, Badilla V, Bermudez M. Efecto cicatrizante de MaxHeal® en las ulceraciones del pie diabético y la repercusión benéfica, mediante el mecanismo de acción antiinflamatoria del cicatrizante, en las glicemias y la hemoglobina glicosilada CIPAI 2002



notoria capacidad de secretar tPA de los vasos dilatados que nutren el territorio afectado, es una coincidencia muy insinuante. Igualmente lo son los cambios morfométricos de la referencia n°. Los cambios vasculares son muy evidentes, al estudiar estos pacientes con tomografía computarizada³².

Fig. n°1 Esta tomografía computarizada del tórax (A) muestra bronquiectasias quísticas difusas. Inyección selectiva en la arteria bronquial derecha de medio de contraste (B) y en la izquierda (C), demuestran una dilatación sustancial de las arterias como respuesta a la inflamación.

Aún respetando la importancia que anteriormente se les daba a las neuroquininas en la patofisiología del asma: taquininas activadoras de la sustancia P y la neuroquinina A, que son secretadas por neuronas específicas situados en las vías respiratorias; al fin y al cabo producen respuestas que colectivamente son reconocibles como una “inflamación neurogénica”. Respuestas tales como vasodilatación, secreción de mucus, extravasación de proteínas plasmáticas, adherencia leucocitaria y broncoconstricción, son completamente afines a la inflamación³³.

Por lo que el presente trabajo se nutre de antecedentes que solamente muy recientemente han encontrado elucidación y establecen la naturaleza preferentemente inflamatoria del asma bronquial. Tan es así que el compromiso inflamatorio en la extensión de vías áreas periféricas, no llegó a ser reconocido hasta finales de 1999, cuando se comenzó a hablar del compromiso de los bronquiolos de ≥ 2 mm de diámetro y se reconoció la necesidad de desarrollar propelentes (HFA=hidrofluoroalcano) que crearan aerosoles de partícula suficientemente finas para aumentar la entrega de corticoesteroides en esos terrenos; en comparación con los métodos usados hasta entonces, que no superaban el 5% de entrega. Sin embargo la gran variedad y oferta de preparaciones comerciales y su disparidad de entrega, colocan todavía el aumento de deposición tópica de sustancias activas en las vías respiratorias de menor calibre, lejos del 60% que se requiere para disminuir el atrapamiento regional de aire que provocan el espasmo y/o colapso de las pequeñas vías, demostrativo por tomografía computarizada de alta resolución³⁴. Dejando de un lado los inconvenientes

³² Najarian KE, Morris CS. Arterial Embolization in the Chest. *J Thoracic Imaging* **13**(2): 93-104 April 1998 <http://rwj-rad.rwjuh.edu/newcases.d/bron3.jpg>

Najarian KE, Morris CS. Embolización Arterial en el Tórax. *Revista de Imagenía Torácica* **13** (2): 93-104 abril de 1998 <http://rwj-rad.rwjuh.edu/newcases.d/bron3.jpg>

³³ Roisman GL, Lacroinque JG, Desmasez-Dufeu N, et al. Airway responsiveness to bradykinin is related to eosinophilic inflammation in asthma. *Am J Respi Crit Care Med* **153**: 381-390 1996

Roisman GL, Lacroinque JG, Desmasez-Dufeu N, et al. La respuesta de las vías aéreas a la bradiquina se relaciona con la inflamación eosinofílica en asma.

Revista Americana de Cuidado Intensivo Médico **153**: 381-390 1996

³⁴ Casale T. Small Airways, Large Effects. 1999 American College of Allergy, Asthma and Immunology Annual Meeting November 2-13.

http://www.medscape.com/medscape/con/1999/ACAAI/Story.cfm?story_id=882

que pueden tener el uso de los corticoesteroides (en combinación o menos con antileucotrienos) a largo plazo en niños, la entrega de sustancias antiinflamatorias a los niveles periféricos referidos, parece ser la única esperanza que se ha podido identificar hasta el momento, para mejorar el asma y tener opción de influir sobre la debatida y desfavorable metamorfosis histológica que puede derivar y que acaba en engrosamiento bronquiolar y disminución del lumen, cambios considerados por algunos autores como irreversibles³⁵.

A pesar de estos cambios tan llamativos con confinamiento al territorio bronquial, existe un segundo sector donde es posible que la inflamación crónica que caracteriza a la enfermedad encuentre sustento progresivo, y que lo constituyen los bronquiolos y el alvéolo. Pero la disfunción en este sector, radica más en trastornos que afectan al surfactante, que al alvéolo propiamente. El surfactante es un líquido de recubrimiento compuesto de lípidos y proteínas con actividad tensioactiva, que además de extenderse con un sutil estrato a la totalidad de la superficie alveolar recubre también las vías respiratorias conductoras terminales. Es conveniente entonces considerar esta patología, desde el punto de vista del surfactante.

El surfactante pulmonar reduce la tensión de superficie al nivel de la interfase líquido-gaseosa. Se puede decir que el recubrimiento de líquido, interactúa con el aire inspirado. El componente más importante, la dipalmitoil-fosfatidilcolina (DPPC), es un fosfolípido anfipático. Su cabeza polar se proyecta hacia la hipofase acuosa que recubre la mucosa, mientras que por el contrario el ácido graso hidrofóbico, se orienta hacia el aire luminal. El componente proteico surfactante-específico participa en mantener la orientación del fosfolípido como descrito, de manera que el potencial de bajar la tensión superficial en las vías aéreas, se optimiza. Lo anterior disminuye la facilidad con que el líquido en los calibres más reducidos de las vías de conducción, tiende a formar puentes (colapso del filme). Esta importantísima función previene el colapso de las vías aéreas en la fase última de la expiración y permite el funcionamiento cíclico del pulmón.

En términos de equilibrio dinámico que debe de existir entre vía aérea y lumen, una tensión de superficie disminuida, minimiza la presión negativa que se ejerce sobre la pared de la vía de conducción y el líquido adyacente, disminuyendo la tendencia al colapso pasivo por complacencia de la pared. De acuerdo a la ley de Laplace que aplica a los cilindros ($P=\gamma/r$), donde p es presión transmural, γ es tensión superficial y r es el radio del lumen, se entiende de cómo a menor lumen, mayor sería el aumento de la presión que se ejerce cuando llega a faltar el material tensio-activo. La tensión

Casale T. Pequeñas Vías Areas, Grandes Efectos. Reunión 1999 del Colegio Americano de Alergia, Asma e Inmunología Noviembre 2-13.

http://www.medscape.com/medscape/con/1999/ACAAI/Story.cfm?story_id=882

³⁵ Panettieri RA. Airway remodelling: the therapeutic approaches. Program and abstracts of the 1999 Annual Meeting of the American College of Allergy, Asthma, and Immunology; November 12-17, 1999; Chicago, Ill. Plenary: Asthma as irreversible lung disease.

http://www.medscape.com/medscape/con/1999/ACAAI/Story.cfm?story_id=893

Penettieri RA. Remodelación de vías aéreas: abordaje terapéutico. Programa y extractos de la Reunión Anual del Colegio Americano de Alergia, Asma e Inmunología; noviembre 12-17, 1999; Chicago, Illinois. Plenario: Asma como enfermedad irreversible del pulmón.

http://www.medscape.com/medscape/con/1999/ACAAI/Story.cfm?story_id=893

superficial en las vías aéreas de conducción oscila alrededor de 25-30 mN/m^{36, 37}. Esto permite que la presión transmural sea menor a 1 cmH₂O y que se mantengan patentes las vías aéreas. Mediante la prevención del colapso del líquido y el colapso por complacencia de la pared, el surfactante asegura que no se altere la arquitectura de las vías respiratorias y que se mantengan abiertas.

Primariamente se reconoció la importancia del surfactante en la patogenia del síndrome de insuficiencia respiratoria de los infantes recién nacidos, donde existe una insuficiencia cuantitativa del surfactante. Hoy en día se reconocen una serie de anormalidades bioquímicas y biofísicas del surfactante en muchas enfermedades respiratorias, tales como el síndrome de dificultad respiratoria aguda, en la neumonía y en el edema pulmonar cardiogénico³⁸. La relación entre disfunción del surfactante y las enfermedades respiratorias con trastornos predominantes en la vía de conducción, como el asma, ha sido estudiada solo recientemente³⁹. La creciente obstrucción de la vía aérea que se observa en pacientes de asma, comúnmente atribuida a la agravación del broncoespasmo y a la remodelación de la vía aérea, muy probablemente es causada por edema de la mucosa y trasudación de líquido que contiene proteínas plasmáticas, hacia el lumen aéreo, y por lo menos parcialmente atribuible a una deficiente función del surfactante pulmonar.

La regulación del balance de fluidos a cargo del surfactante, deriva de la alta concentración del surfactante en la superficie (la cual produce una baja tensión superficial) y que se contrapone al influjo de fluidos proteicos hacia el lumen. La pérdida de esta actividad resulta en el predominio de las fuerzas que operan hacia el lumen, con acumulación de líquido. El surfactante además mejora el aclaramiento de partículas, de bacterias y la actividad mucociliar⁴⁰ y en fin previene que se presente hiperreacción a agentes inhalados⁴¹.

En un modelo murino de asma en cobayos se observó, al ser expuestos a la ovoalbúmina por aerosol, un aumento de la trasudación de proteínas plasmáticas hacia las vías aéreas, con marcado aumento de la resistencia al flujo de aire y alteraciones profundas del surfactante⁴². La instilación profiláctica intratraqueal de surfactante reduce el deterioro de la función pulmonar observada y la resistencia al flujo⁴³.

³⁶ W Bernhard, HP Haagsman, T Tschernig, CF Poets, AD Postle, ME van Eijk, H von der Hardt: Conductive airway surfactant: Surface-tension function, biochemical composition, and possible alveolar origin. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997, **17**: 41-50 [[Read the abstract on PubMed](#)]

³⁷ P Gehr, M Geiser, V Im Hof, S Schürch, U Waber, M Baumann: Surfactant and inhaled particles in the conducting airways: structural, stereological, and biophysical aspects. *Microsc Res Tech* 1993, **26**: 423-436 [[Read the abstract on PubMed](#)]

³⁸ A Günther, C Siebert, R Schmidt, S Ziegler, F Grimminger, M Yabut, B Temmesfeld, D Walmrath, H Morr, W Seeger: Surfactant alterations in severe pneumonia, acute respiratory distress syndrome, and cardiogenic lung edema. *Am J Respir Crit Care Med* 1996, **153**: 176-184 [[Read the abstract on PubMed](#)]

³⁹ J Hohlfeld, H Fabel, H Hamm: The role of pulmonary surfactant in obstructive airways disease. *Eur Respir J* 1997, **10**: 482-491 [[Read the abstract on PubMed](#)]

⁴⁰ Y Kakuta, H Sasaki, T Takishima: Effect of artificial surfactant on ciliary beat frequency in guinea pig trachea. *Respir Physiol* 1991, **83**: 313-322 [[Read the abstract on PubMed](#)]

⁴¹ JG Widdicombe: Airway liquid: a barrier to drug diffusion? *Eur Respir J* 1997, **10**: 2194-2197 [[Read the abstract on PubMed](#)]

⁴² M Liu, L Wang, G Enhorning: Surfactant dysfunction develops when the immunized guinea-pig is challenged with ovalbumin aerosol. *Clin Exp Allergy* 1995, **25**: 1053-1060 [[Read the abstract on PubMed](#)]

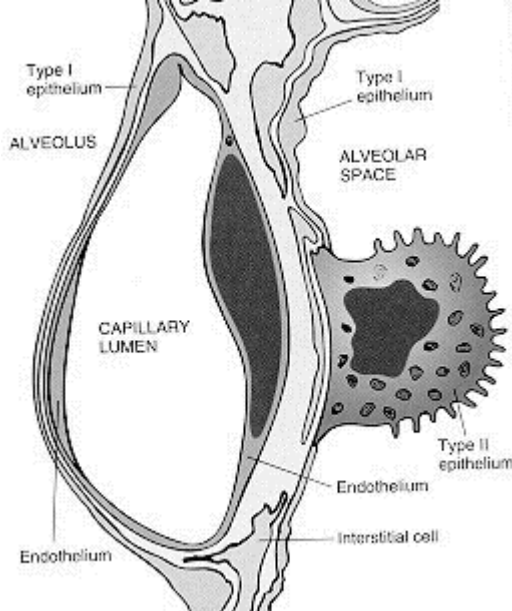


Fig nº La unidad funcional es el acino y se encuentra distal al bronquiolo terminal, los ductos alveolares y los sacos alveolares. Se agrupan en número de 3 a 5, para formar lobulillos y los cuales se comunican entre ellos por los poros de Kohn. Sus paredes son extremadamente finas. Consisten de las células epiteliales pulmonares o neumocitos de tipo I, una membrana basal, un espacio intersticial (matriz extracelular y el endotelio capilar. Los neumocitos I son de espesor muy fino y recubren el 90% de la superficie alveolar. El intercambio gaseoso ocurre a través de estas. Son muy vulnerables y si se destruyen se reemplazan por los neumocitos II. Estos son células cuboides que proliferan para cubrir el área denudada y se aplanan para convertirse en células de tipo I. Los neumocitos de tipo II secretan el surfactante (ver texto en esta página). El proceso se produce mediante la liberación de inclusiones laminares a través de la membrana por exocitosis.

Los datos sobre estas alteraciones en humanos son escasos, pero Kurashima et al. Reportó que el esputo de pacientes con asma posee escasa actividad de superficie⁴⁴. Pero

los datos más reveladores son los que contemplan la posible interacción del surfactante en inmunoregulación y su repercusión en la etiopatogenia de la enfermedad. La exposición experimental a alérgeno en sujetos asmáticos y controles, permite estudiar el lavado bronquioalveolar (LBA) antes y después del desafío. Los cambios fueron observados solamente en los asmáticos, y existió un aumento muy significativo de los eosinófilos, de las proteínas, de los pequeños agregados del surfactante en relación con los grandes agregados y disminución de la actividad de superficie al surfactómetro⁴⁵. Análisis de los fosfolípidos del LBA, demostró que el análisis comparativo con los del plasma, sugiere que los cambios de la fosfatidilcolina en el LBA de pacientes asmáticos son debidos a la contaminación por las lipoproteínas del plasma, pero no por causa de un catabolismo o degradación del fosfolípido⁴⁶. Por tanto, la causa más importante del trastorno en la función del surfactante, se debe a la invasión de las vías aéreas hasta por 10 veces lo normal, por las lipoproteínas del plasma. Si el producto de lavado (LBA) se limpia con solución salina, que remueve la porción hidrosoluble tales como las

proteínas de origen plasmático, el surfactante recupera su actividad⁴⁷.

Estos hallazgos forzosamente vuelven a llamar la atención sobre la inflamación crónica y la permeabilidad vascular. Esto se comprende mejor con solamente visualizar la

⁴³ M Liu, L Wang, E Li, G Enhornig: Pulmonary surfactant given prophylactically alleviates an asthma attack in guinea-pigs. *Clin Exp Allergy* 1996, **26**: 270-275 [[Read the abstract on PubMed](#)]

⁴⁴ K Kurashima, M Fujimura, T Matsuda, T Kobayashi: Surface activity of sputum from acute asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1997, **155**: 1254-1259 [[Read the abstract on PubMed](#)]

⁴⁵ JM Hohlfeld, K Ahlf, G Enhornig, K Balke, VJ Erpenbeck, J Petschallies, HG Hoymann, H Fabel, N Krug: Dysfunction of pulmonary surfactant in asthmatics after segmental allergen challenge. *Am J Respir Crit Care Med* 1999, **159**: 1803-1809 [[Read the abstract on PubMed](#)]

⁴⁶ EL Heeley, JM Hohlfeld, N Krug, AD Postle: Phospholipid molecular species of bronchoalveolar lavage fluid after local allergen challenge in asthma. *Am J Physiol (Lung Cell Mol Physiol)* 2000, **278**: L305-L311 [[Read the abstract on PubMed](#)]

⁴⁷ W Seeger, C Grube, A Günther, R Schmidt: Surfactant inhibition by plasma proteins: differential sensitivity of various surfactant preparations. *Eur Respir J* 1993, **6**: 971-977

[[Read the abstract on PubMed](#)]

estructura del alvéolo y la proximidad que existe entre endotelio y los neumocitos. Es fácil imaginar lo endeble que pueden ser estas estructuras y la gran permeabilidad que se produce entre torrente circulatorio y aire intra-luminal, ver fig n° .

El surfactante y especialmente sus porciones proteicas SP-A y SP-D, funcionan como inmunoreguladores y protegen al alvéolo y la vía respiratoria terminal, de estímulos francamente pro-inflamatorios. Estos componentes proteicos del surfactante son hidrofílicos. Son miembros de la familia de las colectinas, una familia de moléculas oligoméricas que contiene un dominio colágeno-símil y calcio dependiente, zona conocida como el “dominio de reconocimiento” a los carbohidratos. Estas proteínas pueden atrapar alérgenos, como también pueden inhibir la interacción entre alérgenos que provienen de ácaros y el sitio específico de unión de alérgenos en las IgE⁴⁸. Esto poderosamente sugiere que las colectinas inhiben las reacciones alérgicas mediante el secuestro de alérgenos. La actividad proliferativa de los linfocitos T, puede ser apaciguada por las colectinas SP-A y SP-D de manera de que no prosigan a diferenciarse en plasmacélulas y no que no se llegue a producir la secreción de las IgE, con disminución de la actividad de la IL-5, de la IL-2^{49, 50, 51, 52} y la liberación de histamina de sangre pura como respuesta al reto alérgico de polvo de ácaros⁵³. La SP-A suprime la producción de IL-8 estimulada anteriormente en eosinófilos por el uso de ionomicina, en forma dosis dependiente y que puede ser revertida por anticuerpos anti-SP-A⁵⁴. La expresión de los marcadores CD69 y receptor HLA-DR en eosinófilos, estimulada por la IL-5, se reduce en presencia de extracto natural de surfactante lipídico bovino en una manera dosis dependiente⁵⁵. Toda esta evidencia que apunta hacia una función de inmunoprotección que posee el surfactante, ejercida predominantemente por sus componente proteicos y, también, en forma menos importante, por su componente lipídico.

⁴⁸ JY Wang, U Kishore, BL Lim, P Strong, KBM Reid: Interaction of human lung surfactant proteins A and D with mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*) allergens. *Clin Exp Immunol* 1996, **106**: 367-373 [[Read the abstract on PubMed](#)]

⁴⁹ MJ Ansfield, HB Kaltreider, BJ Benson, JL Caldwell: Immunosuppressive activity of canine pulmonary surface active material. *J Immunol* 1979, **122**: 1062-1066 [[Read the abstract on PubMed](#)]

⁵⁰ . RG Sitrin, MJ Ansfield, HB Kaltreider: The effect of pulmonary surface-active material on the generation and expression of murine B- and T-lymphocyte effector functions in vitro. *Exp Lung Res* 1985, **9**: 85-97 [[Read the abstract on PubMed](#)]

⁵¹ P Borron, RAW Veldhuizen, JF Lewis, F Possmayer, A Caveney, K Inchley, RG McFadden, LJ Fraher: Surfactant associated protein-A inhibits human lymphocyte proliferation and IL-2 production. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996, **15**: 115-121 [[Read the abstract on PubMed](#)]

⁵² PJ Borron, EC Crouch, JF Lewis, JR Wright, F Possmayer, LJ Fraher: Recombinant rat surfactant-associated protein D inhibits human T lymphocyte proliferation and IL-2 production. *J Immunol* 1998, **161**: 4599-4603 [[Read the abstract on PubMed](#)]

⁵³ JY Wang, CC Shieh, PF You, HY Lei, KBM Reid: Inhibitory effect of pulmonary surfactant proteins A and D on allergen-induced lymphocyte proliferation and histamine release in children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, **158**: 510-518 [[Read the abstract on PubMed](#)]

⁵⁴ G Cheng, T Ueda, H Nakajima, S Kinjyo, S Motojima, T Fukuda: Suppressive effects of SP-A on ionomycin-induced IL-8 production and release by eosinophils. *Int Arch Allergy Immunol* 1998, **117(suppl 1)**: 59-62 [[Read the abstract on PubMed](#)]

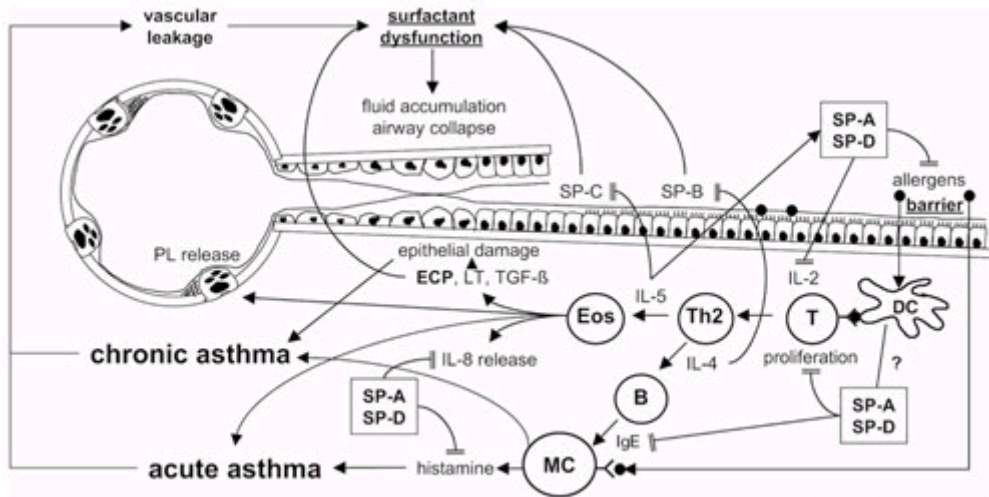
⁵⁵ JM Hohlfeld, S Knöß, M Schael, H Fabel, N Krug: Pulmonary surfactant inhibits expression of HLA-DR and CD69 on human eosinophils. *Am J Respir Crit Care Med* 2000, **161**: A662

Como se dijo anteriormente, todo apunta de nuevo hacia el aspecto inflamatorio del asma, aspecto que reviste de gran importancia inclusive en la vía respiratoria terminal. Por la complejidad de la inflamación en el asma, la visualización gráfica facilita la comprensión de las interrelaciones que existen entre los varios factores participantes del cuadro patológico, como están representados en la fig. n°

Como es posible observar en la fig. n° , lo importante es el colapso de la vía conductora que resulta por aumento de la permeabilidad vascular y pérdida de la función protectora del surfactante y por la contaminación que se produce por acumulación de proteínas plasmáticas. La acción endotelio-epitelial que se postula como mecanismo de acción de la variable independiente de este trabajo, es una magnífica posibilidad que puede llegar a controlar los problemas que predominan en el asma, tales como el broncoespasmo, la inflamación crónica y la pérdida de la función protectora del surfactante.

Fig n°

Interrelación entre surfactante e inflamación de la vía aérea en asma. Luego que el alérgeno es captado y atraviesa la barrera del surfactante (derecha de la fig), este es presentado a las células dendríticas (DC) las células T (T) las cuales secretan IL-2, y se diferencian en células T ayudantes o linfocitos Th2 (Th2). Estas células secretan la IL-4 y la IL-5 (IL-4, IL-5) que atraen los eosinófilos (Eos) y estimulan la secreción de IgE por diferenciación de los linfocitos B (B). La IgE se encuentra ligada a los mastocitos, los cuales bajo estimulación del contacto con el alérgeno, liberan mediadores como la histamina, para provocar los ataques de asma. Los eosinófilos activados se degranulan y liberan sustancias tóxicas como la proteína catiónica eosinofílica (ECP), leucotrienos (LT) y factor de crecimiento de transformación β (TGF- β) que causan daño epitelial e inflamación crónica. La ECP se muestra en negrita por que esta es capaz de provocar disfunción del surfactante, pero no la LT o el (TGF- β) que no lo causan (datos sin publicar). Los varios efectos de las proteínas tenso-activas SP-A, SP-B, SP-C y SP-D se indican. La SP-A y la SP-D se muestran en negrita para enfatizar su importancia como inmunoregulatoras en asma. Los varios mecanismos de estimulación, activación, inducción o liberación están simbolizados por flechas. Los mecanismos opuestos de inhibición, disminución, o moderación se muestran con líneas que terminan con \perp . El signo de interrogación (?) denota efectos no exactamente aclarados hasta la fecha. PL=fosfolípido.



Respiratory Research

Tomado de: The role of surfactant in asthma

Jens M Hohlfeld <mailto:hohlfeld.jens@mh-hannover.de>

Department of Respiratory Medicine, Hannover Medical School and Department of Immunology, Allergology and Clinical Inhalation, Fraunhofer Institute of Toxicology and Aerosol Research, Hannover, Germany.

Respir Res 2002 3: 4

<http://www.biomedcentral.com/content/figures/RR-3-1-4-1.jpg>

Objetivos y propósitos del estudio

Generales

Realizar un estudio sobre la eficacia y tolerancia del OXCP en el tratamiento del asma en niños, de intensidad mediana a grave y afirmar la introducción del nuevo método como tratamiento específico del trastorno.

Específicos

Definir la eficacia del OXCP en terminos de:

1. Eliminar el cuadro sintomatológico del grupo de niños en estudio y su reintegro a una vida de actividad física sin restricciones.
2. Definir en términos de marcadores de la inflamación, la disminución del proceso etiopatogénico
3. Demostrar el aumento de la capacidad ventilatoria de los niños en estudio y de recuperar su capacidad de inhalar aire frío.

En términos de la tolerancia:

1. Demostrar la conveniencia del método en vista de que carece de efectos adversos severos y el beneficio, en términos de salud, que significaría el generalizar el método a grandes poblaciones.

Diseño del estudio

La evidencia circunstancial de niños tratados con OXCP que regresan a un tenor de vida sin restricciones, nos permite trabajar con una predicción muy respetable de la evolución que es dable obtener en los sujetos tratados con OXCP. El poder estadístico previsto del estudio será elevado.

También debido a la alta prevalencia del asma en niños en Costa Rica, es posible conformar dos grupos paralelos con características de edad y severidad de la enfermedad que sea muy similares. La población que atiende el hospital de Grecia está muy bien atendida sea del punto de vista médico que del punto de vista estadístico, de manera que la adherencia al tratamiento y en lo relativo a acudir a visitas de control en consulta externa, está previsto que será muy elevado. En el ambiente descrito se facilitará realizar las mediciones especiales que demanda el estudio. La organización con la que cuenta el hospital, hace pensar que permitirá aplicar los criterios de inclusión en forma adecuada, realizar la randomización y cegamiento de los dos grupos sin que se presenten lagunas en estos procedimientos. Lo mismo en cuanto a manejar el placebo. Estas particularidades del ambiente abonarán a que la validez interna del estudio sea alta.

Por tanto se pretende realizar un estudio longitudinal, randomizado, doble ciego y con placebo, en grupos paralelos muy similares. La duración del período durante el cual los sujetos deben de acatar las demandas del estudio, es de 2 meses y durante el cual deberán acudir 3 veces a control.

El producto a ensayar es derivado de un producto registrado pero utilizando en la preparación del gel todos los elementos, menos el ácido salicílico al cual un 15% de los asmáticos puede presentar hipersensibilidad. El producto será asignado en forma ciega a cada grupo y el placebo no se puede distinguir del producto con principio activo, ni por olor y aspecto. Los pacientes continuarán recibiendo la terapia que hayan estado utilizando y la irán descontinuada prudentemente, conforme reciban los beneficios. Lo que implica que todos los sujetos estarán amparados por algún tipo de protección terapéutica mientras dure el estudio.

Los datos se alimentarán a una base de datos diseñada específicamente para el estudio. Los investigadores tendrán también un formulario que les ayudará a recopilar los datos, para luego alimentarlos a la base de datos (diseñar). Se llevarán registros de todas las mediciones de laboratorio que se especifican en el método. En caso de practicar algún

examen radiológico en caso de que la evolución del paciente lo demande, fotos de las placas pueden ser archivadas en la base de datos.

El estudio durará..... y constará de las siguientes etapas:

1. M
2. M
3. M etc.

Cronograma diseñar

Selección, Inclusión y desinscripción de los sujetos

Serán sujetos de estudio, toda persona que se comprenda en rango de edad entre los 8 y 14 años y que tengan antecedentes de padecer de asma episódica frecuente o crónica, según los parámetros del Servicio de Neumología H.N.N 1997 y que se encuentran en tratamiento con agonistas B2 y/o corticoesteroides inhalados y/o antileucotrienos. Estos sujetos deben de presentar evidencia de obstrucción bronquial con valores del FEV₁ que correspondan a un 60% de lo normal o menores. Deben de pertenecer a la población adscrita al Hospital San Francisco de Asís de Grecia, donde existirán las facilidades para realizar el estudio y el personal será entrenado para manejar a los pacientes (ver Composición de la población por estudiar).

Se realizarán significaciones seriadas al completar múltiples de parejas compuestas de 20 pacientes (10 tratados y 10 controles) y se terminará el estudio cuando se encuentren valores α y β en el orden de 0.01 y 0.05 como mínimo.

Los sujetos que no colaboren con el método y cuyos padres no acaten las instrucciones de los investigadores, serán desinscritos y en la base de datos se llevará cuenta de cuantos sujetos fueron desinscritos, la fecha del retiro y las razones. Estos sujetos serán reemplazados con el sucesivo paciente que se presente. Cuando se concluya con el estudio el grupo total de pacientes asignados que estuvieron incluidos, serán analizados según los principios de “Intención de tratar” y según la cantidad de sujetos desinscritos se valorará cual pudo haber sido atenuación del riesgo de cada grupo en lo relativo a atenuar la severidad de la enfermedad⁵⁶.

Material y Método

Como arriba se indicó, es un estudio experimental diseñado para determinar en el grupo en estudio, la relación de causa y efecto entre una variable y los beneficios descritos.

El estudio será con voluntarios y se estudiarán en el Hospital San Francisco de Asís de Grecia. Firmarán un consentimiento informado que se muestra en los anexos.

Los sujetos serán sometidos a evaluación previa por un especialista en neumología pediática y se les tomará una FEV₁ y los marcadores inflamatorios no invasivos que se especifican más adelante, en la definición de las variables dependientes en Método.

⁵⁶ Victor M. Montori, Gordon H. Guyatt Intention-to-treat principio
CMAJ 2001;**165**(10):1339-41

La variable independiente, consiste en el tratamiento con OXCP. Las variables dependientes serán los beneficios clínicos y la mejora en FEV₁ y la disminución de los marcadores inflamatorios no invasivos.

Método

Los apoderados del paciente, firmarán la hoja de consentimiento. Ver anexo. Como se trata de sujetos voluntarios, los apoderados habrán conocido del estudio antes de que se les entregue la hoja de consentimiento a firmar.

Métodos de recolección de datos

La recolección de datos se hará por registro y para tal propósito se llevará una ficha de control médico en el consultorio designado donde se llevarán a cabo las visitas médicas y las pruebas del método. Se presenta ficha como anexo.

FEV₁

Prueba de espirometría más común e indicativa del estado ventilatorio de los sujetos.

Marcadores inflamatorios no invasivos.

Criterios objetivos que reflejan el estado inflamatorio a nivel del aparato epitelio-endotelial respiratorio, los cuales generalmente se muestran elevados en niños asmáticos⁵⁷. La mejoría de los marcadores, se considera indicativo de la respuesta terapéutica.

NO exhalado

Endogenamente se deriva del amino ácido L-arginina por acción de la NO sintasa. Hay tres formas de sintasa –la neuronal y la endotelial– más una tercera epitelial la cual es inducible y se denomina iNO (sintasa de óxido nítrico inducible). La expresión de iNO en las células epiteliales respiratorias, aumenta bajo la influencia de las citocinas pro-inflamatorias tipo IL-1 y FNT. La sintasa inducible provoca la producción de NO, con 1000 veces más intensidad que las constitutivas.

La vasodilatación que produce el NO, aumenta el flujo de la vénulas pos-capilares y contribuye a la inflamación, mediante el favorecimiento de edema en las vías respiratorias. El relajamiento vascular es por estimulación neuronal (ver arriba sobre inflamación neurogénica). La congestión circulatoria puede causar un trastorno del equilibrio ventilación-perfusión y aumento de la producción de mucus de las glándulas submucosas.

Niveles elevados de NO favorecen el perfil Th₂ de los linfocitos, lo que tiende a prolongar la respuesta asmática. La fuente del NO en el aire exhalado, es por acción de la iNO sintasa. Estudios inmunohistoquímicos de biopsias del epitelio respiratorio, exhiben aumento de la tinción específica a los iNOs. También puede derivar por explosión respiratoria de macrófagos. La acción directa como molécula bioactiva del NO, no es clara. Por un lado aumenta la quimiotaxis de los neutrófilos, monocitos y

⁵⁷ Broide DH. Lower Respiratory Tract Inflammation: Noninvasive Markers. 96th International Conference of the American Thoracic Society

http://www.Medscape.com/medscape.con/2000/ATS/Story.cfm?story_id=1245

Boroide DH. Inflamción del Tracto Respiratorio Bajo: Marcadores no Invasivos. 96esima Conferencia Internacional de la Sociedad Torácica Americana.

http://www.Medscape.com/medscape.con/2000/ATS/Story.cfm?story_id=1245

eosinófilos mediante un mecanismo GMP (guanosin monofosfatasa) dependiente, por el otro inhibe la adherencia de leucocitos al endotelio vascular y bronquial⁵⁸.

La concentración de NO se mide por quimioluminiscencia. En niños atópicos de edad promedio de 11.1 ± 0.8 años se pueden esperar valores promedio de 19.4 ± 3.3 ppb contra 4.0 ± 0.5 ppb en niños normales. Los niveles de NO correlacionan con el n° absoluto de eosinófilos en la sangre⁵⁹. Se adjunta información sobre el método.

Eosinófilos y PCE proteína catiónica eosinofílica en el esputo. El análisis de esputo inducido por inhalación de salino hipertónico de ambos parámetros correlacionan muy bien entre sí. El primero se hace por análisis de tarugos separados y seleccionados del tratamiento del esputo con igual volumen de dithiothreitol 0.1%, “cytopins” para conteo de células, una tinción especial y separación del supernatante. El segundo parámetro se determina por fluoroinmunoensayo. Jang y Choi, correlacionaron el n° de eosinófilos y de los niveles de PCE en el esputo, con las alteraciones de FEV₁⁶⁰. Los niveles de esperar en elevación de la PCE en el esputo son: 1117.8 ± 213.9 µgm en comparación con 154.6 ± 47.4 µgm en sujetos normales. La conveniencia de trabajar la PCE, es que perdura elevada hasta casi 3 días después de un ataque agudo y tiene alto valor en identificar una reagudización. Para inducir el esputo en niños, se aconseja trabajar con sujetos de 7 años o mayores.

pH del condensado de exhalación

Los pacientes respiran por un dispositivo bucal hacia un tubo de teflón, que transporta el aire expirado hacia un contenedor con hielo. Por lo general 1ml de condensado se acumula en el teflon después de 5 min. El condensado congelado puede ser estudiado para determinar interleucina 1, TNF y H₂O₂ y pH. Cuando hay broncoconstricción (menos alterado que el supernatante de esputo inducido), el pH baja de 7.4 y desciende hasta 5.5 en un ataque de asma.

Se hará una visita de evaluación en el momento de seleccionar el sujeto. Una visita de control a los 15 días y una final a los 30 días, momento en que se repetirán las pruebas que especifica el método.

⁵⁸ Volcheck GW, Li JTC. Mechanisms of Asthma: The Roles of Neurokinins, Nitric oxide and Genetics. Medical School, Division of Allergy and Outpatient Infectious Disease and Internal Medicine, Mayo Medical Center, Rochester, Minn. *Medscape Respiratory Care* 3(1), 1999

<http://www.medscape.com/Medscape/RespiratoryCare/journal/1999/v03.n01/mrc.4638.volc/pnt->

Volcheck GW, Li JTC. Mecanismos del Asma: El Rol de las Neuroquininas, Oxido Nítrico y Genética Escuela de Medicina, División de Alergia y Enfermedades Infecciosas Ambulatorias y de Medicina Interna, Rochester, Minesota. *Cuidado Respiratorio Medscape* 3(1), 1999

<http://www.medscape.com/Medscape/RespiratoryCare/journal/1999/v03.n01/mrc.4638.volc/pnt->

⁵⁹ Silvestri M, Spallarossa V, Yourukova F, Battistini E, Fregoneses B, Rossi GA. Orally exhaled nitric oxide levels are related to the degree of blood eosinophilia in atopic children with mild-intermittent asthma. *Eur Respir J* 1999; **13**:321-326

Silvestri M, Spallarossa V, Yourukova F, Battistini E, Fregoneses B, Rossi GA. Niveles de oxido nítrico exhalado se relacionan con el grado de eosinofilia en la sangre en niños con atopía y asma moderado intermitente. *Revista Europea Respiratoria*; **13**: 321-326

⁶⁰ Jang AS, Choi IS. Eosinophil activation markers in induced sputum in asthmatics. Department of Internal medicine, Chonnam University Medical School, Chonnam University, Kwangju, Korea. *Korean J Intern Med* 2000 Jan; **15**(1): 1-7

Jang AS, Choi IS. Marcadores de activación eosinofílica en el esputo inducido de los asmáticos. Departamento de medicina Interna, Escuela de Medicina de la Universidad Chonnam, Universidad de Chonnam, Kwangju, Corea. *Revista de Medicina Interna Coreana* 2000 enero; **15**(1): 1-7

Método de empleo

Establecidos los parámetros y las desviaciones de los marcadores en los sujetos que califiquen para ser incluidos en el grupo de estudio, se procede a la aplicación de ANTIASMAT gel.

Proporciones 1.4mg de fosfazeno en 1gm de gel

Se aplican 1.4mg de fosfazeno en las espaldas o 1 gm de gel, después de haber hecho un breve masaje sobre la piel. Frotar hasta que la mano no avanza con facilidad y extender un poco hacia el cuello. Repetir el procedimiento en la mañana y en la noche antes de dormir. Durante un ataque de asma la aplicación se puede practicar además en el tórax anterior y la dosis sube a 2.8 mg de fosfazeno.

Tratamiento nasal. Después de haber frotado una pequeña porción de gel sobre las alas de la nariz externamente se introduce con un aplicador revestido de gel en ambas narices y se gira dentro de la fosa nasal. El tratamiento nasal despeja la nariz, hecho de importancia en mantener la ventilación húmeda y que las partículas adecuadas lleguen a los bronquiolos y alvéolos.

El estudio será monitoreado por el CIPAI y este centro implantará el seguimiento de los pacientes por vía telefónica y verificará si el paciente acata el tratamiento recomendado. Reportará las desviaciones a los investigadores, quienes decidirán si el paciente puede ser mantenido en el grupo asignado.

Existen diversas variables dependientes que según como evolucionen determinarán la eficacia del método. Estos criterios se enumeran:

1. Desaparición de los síntomas en grupo tratado con OXCP y grupo tratado con placebo
2. Recuperación de la capacidad del sujeto a inhalar aire frío durante el ejercicio
3. Mejoría de los marcadores inflamatorios
4. Liberación del uso de agonistas B2 y/o corticoesteroides inhalados y/o antileucotrienos.
5. Mejora del FEV1 en ambos grupos
6. Calidad de vida del sujeto luego de haber completado el período de iniciación de la variable independiente y al iniciar período de mantenimiento.

Evaluación de seguridad

MaxHeal cuenta con una reputación de absoluta seguridad en cuanto a problemas que le pueda ocasionar al paciente, en las condiciones comunes de uso comercial. Se presentan además en los “Antecedentes” de este protocolo, los amplísimos márgenes de seguridad en cuanto a toxicidad aguda, crónica y ausencia de lesiones internas relacionadas con este producto. Por esa razón, se concluye que no se necesitan precauciones especiales para el estudio.

No obstante en su presentación de gel, es posible ver reacciones alérgicas a los preservantes que se emplean en la elaboración del mismo. Estos son parabenos y la hipersensibilidad a estos está ampliamente descrita en la literatura.

El procedimiento de prevención es el de estar atentos a la aparición de prurito y de reacciones de hipersensibilidad en el área de frotación, a los pocos días de haber iniciado su aplicación. La reacción desaparece, sustituyendo el gel con preservantes con la preparación del gel elaborada sin preservantes. Este último estará disponible a los investigadores, en caso de que se presente algún paciente hipersensible, bajo solicitud. El gel sin preservantes es preparado bajo demanda, de manera que venga empleado dentro de 75 días; tiempo en que se ha logrado conservar el gel sin problemas.

Si la reacción de hipersensibilidad de un paciente no desaparece con la sustitución del gel arriba descrita, esta será reportada al CEC.

No se conocen reacciones adversas para la preparación de MaxHeal solución ni para el gel sin preservantes. De aparecer durante el estudio alguna reacción adversa, esta será reportada al CEC.

Métodos estadísticos, análisis e interpretación de datos

Como se señaló, se realizarán significaciones estadísticas seriadas al completar múltiples de parejas compuestas de 20 pacientes (10 tratados y 10 controles) y se terminará el estudio cuando se encuentren valores α y β en el orden de 0.01 y 0.05 como mínimo entre ambos métodos.

La muestra será compuesta por tantos sujetos que se necesita reunir para alcanzar las significaciones estadísticas arriba indicadas.

El poder estadístico del estudio se basará sobre la diferencia de cicatrizaciones completas que existirán entre los métodos en términos porcentuales y según la significación ya definida. Se espera detectar $1 - \beta = 0.95$

El estudio será concluido cuando se alcancen las metas de significación estadística propuestas.

Los datos que se recopilen del estudio, serán procesados en bases de datos Oracle.

Acceso directo a los datos o documentos fuente

Por patrocinador. Carta compromiso.

Control de calidad y aseguramiento de la calidad

Por patrocinador. Carta compromiso.

Etica

El estudio no reviste ningún contenido ético de peso en cuanto a algún perjuicio que pueda recaer sobre los sujetos en estudio. Más bien el estudio cumple plenamente con el cometido de estudiar medidas terapéuticas que pueden ser de beneficio y se puedan generalizar a amplias poblaciones, asentando un tratamiento eficaz para el manejo del asma y eliminar la mortalidad.

El uso del placebo se justifica para garantizar la objetividad del estudio y minimizar el sesgo. Como se indicó, los pacientes estarán siempre amparados por cobertura de tratamiento convencional en el caso del grupo que recibirá el placebo. Tampoco se

descontinuará el tratamiento convencional en el grupo tratado, hasta que no se ha verificado la mejora clínica y de la obstrucción bronquial, causada por la variable independiente.

Manejo de los datos y custodia de los registros

Por investigador principal: mantener toda la documentación necesaria y base de datos actualizada. Debe proporcionar copia de los documentos que necesite el CEC

Financiamiento y seguro

Por patrocinador. Carta compromiso. Patrocinador en vista de la amplia trayectoria de seguridad del producto, elige asumir los costos de cualquier evento adverso.

Política de publicación

El estudio será presentado a publicación internacional. Acuerdo por separado de los participantes en el estudio y la institución, etc.

Asesoría en metodología y bioestadística

No obstante, como los beneficios derivan de una metodología asombrosamente simple, antes es necesario definir la modalidad de entrega del producto y como su acción llega a repercutir en las vías bronquiales de menor calibre. Como se dijo anteriormente, el método de tratamiento es por aplicación tópica. Se aplica en las espaldas de los niños enfermos en la mañana y en la noche, por frotación de la presentación de ANTIASMAT en forma de gel. Este hecho infiere, que el producto está capacitado de efectuar una entrega transdérmica y llegar, en el término de 1 a 2 horas, a ejercer acción terapéutica en el ambiente del aparato epitelio-endotelial de los bronquiolos. Por tanto la entrega mediante las arterias bronquiales parece ser factible; hecho sumamente revelador: por estar comprendidos en las paredes del árbol traquebronquial, los tejidos afectados por el trastorno inflamatorio y que son receptores de la irrigación de dichas arterias. Lo que explica la alta especificidad del tratamiento en controlar los síntomas, probablemente por el alto contenimiento de la entrega a través de arterias bronquiales dilatadas (facilmente cateterizables) y que comparece en un territorio específicamente comprometido. La demora de 1 a 2hrs. en iniciar la acción terapéutica, se explica por la ruta que el principio activo debe de recorrer, para llegar hasta las cámaras izquierdas del corazón y a la aorta, y mientras se alcanza la concentración necesaria que inicia dicha acción. La proximidad de la pared torácica al retorno venoso que llega a las cámaras derechas del corazón, confirma la feliz opción de aplicar el producto en el área designada. El origen aórtico de las arterias bronquiales entre la 4 y sexta vértebra, facilitan el acceso expedito al territorio meta. Finalmente como se ha observado que la acción terapéutica protege a los niños durante la noche, la entrega además de ser tópica, necesariamente tiene aspecto de ser retardada y controlada.

Por tanto el estudio está estructurado bajo la hipótesis, que en la observación experimental de una muestra de niños asmáticos, los síntomas se atenúan y llegan a desaparecer después de 2 a 3 días y su condición ventilatoria mejora, lo que se obtiene mediante la entrega transdérmica de ANTIASMAT gel y el control de la inflamación a nivel del aparato epitelio-bronquiolar, gracias a la acción terapéutica antiinflamatoria del producto.