



Original

Estudio del efecto de citocinas proinflamatorias en las células epiteliales de pacientes fumadores con o sin EPOC[☆]

Alfredo De Diego Damiá^{a,*}, Julio Cortijo Gimeno^{b,c,d}, M. José Selma Ferrer^a,
Montserrat León Fabregas^a, Patricia Almudever Folch^{b,c} y Javier Milara Paya^{b,c}

^a Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, España

^b Fundación de Investigación, Consorcio Hospital General Universitario, Valencia, España

^c CIBERES, Instituto de Salud Carlos III, Valencia, España

^d Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina Universidad de Valencia, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 16 de febrero de 2011

Aceptado el 13 de abril de 2011

On-line el 14 de junio de 2011

Palabras clave:

Inflamación
EPOC
Citocinas
Humo de tabaco

Keywords:

Inflammation
COPD
Cytokines
Tobacco smoke

R E S U M E N

Introducción: El humo de tabaco es la principal causa de la inflamación en la EPOC. Los mecanismos que diferencian a los fumadores que desarrollan EPOC son diversos. En este estudio analizamos la diferente presencia de citocinas en secreciones respiratorias de pacientes fumadores con o sin EPOC y las propiedades secretoras del epitelio bronquial diferenciado, obtenido de los propios individuos tras su exposición al humo de tabaco.

Material y métodos: Se estudió a 27 pacientes fumadores, 12 de ellos con EPOC no tratados previamente con esteroides. En 11 se obtuvo la muestra mediante esputo inducido y el resto procedía del aspirado bronquial tras fibrobroncoscopia. Se determinaron las concentraciones de IL8, IL13 y TNF α en el sobrenadante. Se compararon los resultados obtenidos entre individuos con o sin EPOC y se investigó su relación con la gravedad de la EPOC expresada según el grado de obstrucción, disnea, presencia de hipersecreción e intensidad del tabaquismo. Se obtuvieron cultivos de células diferenciadas epiteliales bronquiales, mediante interfase aire-líquido en 4 individuos fumadores. Las muestras fueron expuestas a concentraciones crecientes de humo de tabaco (5-20%) y se determinó la expresión epitelial de ARNm de Muc5AC, IL8 y TNF α .

Resultados: Los pacientes con EPOC tenían valores significativamente más altos de IL8 que los fumadores sanos (41 [22] vs. 21 [12] pM). Los valores de IL8 se correlacionaron de forma significativa con la gravedad de la obstrucción ($r=0,6$; $p<0,05$), disnea ($r=0,45$; $p<0,05$) y la presencia de hipersecreción. No había relación entre las citocinas y la intensidad o duración del hábito tabáquico. El humo de tabaco produjo un incremento dependiente de la dosis en la expresión de ARNm para Muc5AC, IL8 y TNF α .

Conclusiones: Existen diferencias en la producción de citocinas, fundamentalmente IL8, entre individuos fumadores sanos o con EPOC que podrían ser justificadas por la acción directa del humo de tabaco sobre las células epiteliales.

© 2011 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

A study of the Effect of Proinflammatory Cytokines on the Epithelial Cells of Smokers, with or without COPD

A B S T R A C T

Introduction: Cigarette smoke is the main cause of inflammation in COPD. The mechanisms that differentiate smokers who develop COPD are diverse. In this study, we analyzed the presence of cytokines in the respiratory secretions of smokers with or without COPD and the secretory properties of the differentiated bronchial epithelium obtained from the individuals themselves after exposure to tobacco smoke.

Material and methods: Twenty-seven smokers were studied, 12 of whom had COPD that had not been previously treated with steroids. In 11, samples were obtained by means of induced sputum, and the

[☆] Subvencionado con la beca SVN 2004, beca SEPAR 2005, SAF2008-03113 y CIBERES (CB06/06/0027).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: dediego.alf@gva.es (A. De Diego Damiá).

remaining samples were collected from bronchial aspiration after bronchoscopy. Concentrations of IL-8, IL-13 and TNF α in the supernatant were determined. The results obtained were compared between individuals with and without COPD, and we studied their relationship with the severity of COPD as expressed by the degree of obstruction, dyspnea, presence of hypersecretion and intensity of smoking. Bronchial epithelial cell cultures were obtained by air-liquid interface in 4 smokers. The samples were exposed to increasing concentrations of cigarette smoke (5-20%) and the epithelial mRNA expressions of MUC5AC, IL8 and TNF α were determined.

Results: COPD patients had significantly higher values of IL-8 than healthy smokers (41 [22] vs. 21 [12] pM). The values of IL-8 correlated significantly with the severity of the obstruction ($r=0.6$; $p<0.05$), dyspnea ($r=0.45$; $p<0.05$) and the presence of hypersecretion. There was no relationship between cytokines and the intensity or duration of the tobacco habit. Cigarette smoke produced a dose-dependent increase in the expression of RNAm for Muc5AC, IL8 and TNF α .

Conclusions: There are differences in cytokine production (fundamentally IL8) between smokers and smokers with COPD which could be explained by the direct action of cigarette smoke on epithelial cells

© 2011 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

El humo de tabaco es la principal causa de inflamación crónica de las vías aéreas respiratorias en individuos fumadores, que persiste incluso tras el cese del hábito tabáquico. La inflamación se caracteriza fundamentalmente por cambios estructurales del epitelio bronquial y un aumento en la infiltración celular por linfocitos CD8, neutrófilos y macrófagos^{1,2}. La intensidad de estas alteraciones es mayor en los individuos que desarrollan enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) frente a los fumadores sanos^{3,4} y difiere según el fenotipo predominante. La prevalencia de la EPOC entre los sujetos fumadores es, sin embargo, muy variable y los mecanismos que condicionan su aparición no se conocen aún con exactitud.

Estudios recientes que analizan la combinación de factores genéticos, ambientales e inmunológicos señalan que las diferencias en cuanto a la incidencia y expresión fenotípica de la EPOC pueden estar ocasionadas por una respuesta estructural y funcionalmente diferentes según las características del medio inflamatorio local y la variación en la susceptibilidad individual al tabaco^{5,6}. En este sentido, el análisis de biomarcadores inflamatorios obtenidos en secreciones de las vías respiratorias, tanto *in vivo* en sujetos fumadores con o sin EPOC⁷ como *in vitro* a partir de cultivos celulares estimulados con humo de tabaco, han demostrado un aumento en la expresión, producción y liberación de citocinas proinflamatorias entre las que destacan: IL8, IL13 y TNF α ⁸⁻¹⁰, así como otros mediadores de la destrucción celular, como las elastasas, metaloproteasas y radicales libres derivados del estrés oxidativo^{11,12}.

La interacción entre estas sustancias y las estructuras celulares es compleja y variable en cada individuo y puede justificar la distinta susceptibilidad y diversidad de alteraciones observadas en pacientes con EPOC. Entre los fenotipos más frecuentes figuran los pacientes con hipersecreción bronquial. Los mecanismos que conducen a esta producción exagerada son fundamentalmente la sobreexpresión de genes de las mucinas, la hipertrofia o hiperplasia de las células y glándulas secretoras o un incremento en la liberación de moco. Las mucinas detectadas en las vías aéreas son una mezcla de glucoproteínas oligoméricas, fundamentalmente Muc5AC y Muc5B que son sintetizadas y almacenadas en la superficie apical del epitelio bronquial y liberadas^{13,14} como consecuencia de la acción de citocinas proinflamatorias, exoproductos bacterianos o la propia elastasa neutrofílica. El mecanismo de acción común a todos estos estímulos se produce a través del receptor EGFR (receptor de factor de crecimiento epidérmico)¹⁵⁻¹⁷. En otros pacientes con EPOC el fenotipo predominante se debe a los cambios en la destrucción y reparación celular¹⁸ que condicionan la aparición de enfisema. En este grupo, también se ha observado la intervención de citocinas como IL8, IL13, TNF α en la apoptosis

celular¹⁹ y un incremento de los factores de crecimiento o fibrogénicos como son el colágeno o la fibronectina^{20,21}.

El modo en que cada uno de estos mecanismos predomina en respuesta al humo de tabaco es desconocido. En el campo experimental, los estudios son escasos y en su mayoría realizados en cultivo de líneas celulares epiteliales no diferenciadas obtenidas de individuos sanos y no en pacientes fumadores con o sin EPOC. La hipótesis planteada es que en pacientes fumadores con EPOC debe existir una expresión aumentada de estas citocinas y mucinas como consecuencia de la acción directa del tabaco en las células epiteliales.

En el presente estudio, nos planteamos, por tanto, dos objetivos fundamentales. El primero de ellos fue investigar la diferente producción de IL8, IL13 y TNF α en muestras de secreciones respiratorias de pacientes fumadores con o sin EPOC, analizando la correlación existente con los parámetros clínicos y funcionales que caracterizan la EPOC. El segundo de los objetivos fue el estudio de las propiedades secretoras del cultivo de epitelio bronquial diferenciado, obtenido de los propios individuos tras su estimulación mediante exposición al humo de tabaco.

Pacientes y métodos

Sujetos del estudio

Estudiamos a un grupo de individuos adultos, con edades comprendidas entre los 18 y los 70 años, cuyo requisito fundamental era una historia activa de tabaquismo de al menos 10 paquetes-año. Los sujetos fueron reclutados en su mayoría desde la consulta de tabaquismo del hospital. En el caso del grupo que accedió a la realización de biopsia bronquial, se incluyó a pacientes que requerían fibrobroncoscopia por haber presentado esputos hemoptoicos, tras descartar cualquier causa infecciosa o neoplásica.

Para ser incluidos en el estudio, los pacientes debían haber permanecido estables, sin episodios de exacerbación en los 2 meses previos, y no debían haber sido tratados nunca con esteroides y/o anticolinérgicos inhalados, como tampoco con mucolíticos o antioxidantes orales.

Se excluyó a todos aquellos que presentaran cualquier enfermedad pulmonar crónica diferente de la EPOC, enfermedad sistémica grave o neoplasia broncopulmonar localizada.

El estudio fue aprobado por el Comité Ético y de Investigación del hospital.

Diseño del estudio

Una vez establecidos los criterios de inclusión y demostrada la ausencia de factores excluyentes, se informó a los pacientes de la

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/4203635>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/4203635>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)