



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



Universitat Autònoma de Barcelona

Programa de Doctorado en Medicina.

Departamento de Medicina.

**Mecanismos fisiopatológicos y resultados de la aplicación de
termoplastia bronquial en pacientes con asma grave.**

TESIS DOCTORAL presentada por **ANA MARIA MUÑOZ FERNÁNDEZ**

para optar al grado de **Doctor**.

Director y Tutor: **Dr. Vicente Plaza Moral**

Barcelona 2020



Universitat Autònoma de Barcelona

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR Y TUTOR DE TESIS

El doctor Vicente Plaza Moral, Profesor agregado del Departamento de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona y Director del Servicio de Neumología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau,

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral titulada “**Mecanismos fisiopatológicos y resultados de la aplicación de termoplastia bronquial en pacientes con asma grave**”, presentada por Ana María Muñoz Fernández para optar al grado de Doctor, ha sido realizada bajo su dirección y considera que reúne los requisitos formales y científicos para proceder a su presentación en público y a su evaluación por el tribunal correspondiente.

Director y Tutor: **Dr. Vicente Plaza Moral**

Barcelona, 2020

Si puedes mirar. Ve.
Si puedes ver. Repara.

José Saramago

Agradecimientos

Mi más sincero agradecimiento a Alfons Torrego. Le debo mi pasión por la broncoscopia y las ganas de investigar. Gracias por tu exigencia siempre desde la comprensión, por enseñarme la importancia de la estética, por tus sabios consejos, pero sobretodo por creer y confiar en mí.

Al Dr. Óscar Amor y al Dr. David Ramos-Barbón, por enseñarme todo lo que sé sobre ciencia básica.

Al Dr. Plaza, director y tutor de esta tesis doctoral, por permitirme llevar a cabo este proyecto en Sant Pau.

A Ana, Silvia y Guillermo. Sois mi Beppo barrendero, Gigi Cicerone y la tortuga Casiopea. Amigas, sin vosotras este camino habría sido menos emocionante y luminoso. Gracias por todo. Nuestra historia continúa.

A Emilia y a Cristina, mis hermanas. Las distancias largas nunca se sintieron tan cortas. Cuando la pandemia lo permita nos reuniremos a celebrar la vida.

A Patricia, porque el final nunca está donde pensamos, y la vida nos da nuevas oportunidades. Gracias por el apoyo en la recta final.

A todo el servicio de neumología del Hospital de Sant Pau. En especial a Cristina Burrel, por su fortaleza, discreción, y tener siempre la palabra justa. Os llevo en el corazón allí donde voy.

A Roger, por quererme tanto y tan bien. Y a Gael, por enseñarnos el sentido de las palabras “amor” y “paciencia”. Perdonadme por el tiempo robado.

A mi hermano Mauri. Gracias por cuidarme y por estar siempre dispuesto a ayudarme. Tenerte y quererte es una suerte.

A mi padre y a mi madre, mis referentes. Nunca me cansaré de deciros lo orgullosa que estoy de vosotros. Me habéis dado las herramientas necesarias para ser perseverante en mis objetivos y firme en mis convicciones. Sin vosotros no habría llegado hasta aquí.

A todos, gracias.

Abreviaturas

ACT Asthma Control Test

ACQ Asthma Control Questionnaire

AGNC Asma grave no controlada

AQLQ Asthma Quality of Life Questionnaire

ATS American Thoracic Society

CI Corticoide inhalado

EI Espujo inducido

EPOC Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica

ERS European Respiratory Society

FDA Food and drug administration

FE_{NO} Fracción de óxido nítrico exhalado

FEV₁ Volumen espiratorio forzado en el primer segundo

FVC Capacidad vital forzada

GEMA Guía Española de manejo del asma

GINA Global Initiative for Asthma

HRB Hiperrespuesta bronquial

Ig Inmunoglobulina

IL Interleuquina

IMC Índice de masa corporal

IHQ Inmunohistoquímica

LABA Long acting β_2 adrenergic

LBA Lavado broncoalveolar

LID	Lóbulo inferior derecho
LII	Lóbulo inferior izquierdo
LM	Lóbulo medio
LLSS	Lóbulos superiores
MML	Masa de músculo liso
MTC	Masa de tejido conectivo
NO	Nitric oxide
RF	Radiofrecuencia
RB	Remodelación bronquial
TB	Termoplastia bronquial
TCAR	Tomografía computarizada de alta resolución
TAE	Temperatura del aire exhalado
TGF	Transforming growth factor
TOT	Tubo orotraqueal

Tabla de contenido

Agradecimientos	7
Abreviaturas	9
Índice de Tablas y Figuras.....	15
Resumen.....	19
Summary	21
1. Introducción.....	25
1.1. <i>Asma grave no controlada</i>	25
1.2. <i>Remodelación bronquial</i>	28
1.2.1. Principales alteraciones estructurales de la remodelación bronquial.....	29
1.2.2. Exploraciones para el estudio de los mecanismos fisiopatogénicos del asma grave	31
1.3. <i>Termoplastia bronquial</i>	39
1.3.1. Eficacia clínica.....	40
1.3.2. Seguridad.....	41
1.3.3. Indicación del tratamiento.....	42
1.3.4. Metodología de aplicación	44
2. Justificación	51
3. Hipótesis	55
4. Objetivos	59
5. Materiales y Métodos	63
5.1. <i>Diseño del estudio y aspectos éticos</i>	63
5.2. <i>Población del estudio</i>	63
5.3. <i>Evaluación</i>	64
5.3.1. Evaluación clínica.....	66
5.3.2. Evaluación radiológica	67
5.3.3. Evaluación funcional	67
5.3.4. Evaluación parámetros de inflamometría y aire exhalado	67
5.4. <i>Sesiones de termoplastia bronquial</i>	69
5.5. <i>Biopsias bronquiales</i>	71
5.6. <i>Morfometría cuantitativa</i>	72
5.7. <i>El paciente “respondedor”</i>	73
5.8. <i>Análisis Estadístico</i>	74
6. Resultados	77
6.1. <i>Características basales</i>	78
6.1.1. Demográficas y clínicas.....	78
6.1.2. Radiológicas	81
6.1.3. Inflamometría	81
6.2. <i>Sesiones de termoplastia bronquial</i>	82

6.3. Eficacia Clínica	83
6.3.1. Calidad de vida.....	83
6.3.2. Control del asma.....	84
6.3.3. Agudizaciones e ingresos.....	84
6.3.4. Función pulmonar e inflamometría.....	85
6.3.5. Cambios en el tratamiento basal del asma.....	88
6.3.6. Satisfacción con la termoplastia bronquial.....	88
6.4. Seguridad.....	89
6.5. Cambios histopatológicos.....	92
6.5.1. Biopsias bronquiales.....	92
6.5.2. Morfometría cuantitativa.....	93
6.6. Correlaciones clínico-funcionales y con los cambios morfométricos.....	95
6.7. Paciente “respondedor” vs “no respondedor”.....	97
7. Discusión.....	109
8. Conclusiones.....	119
9. Líneas de investigación futura.....	123
10. Bibliografía.....	127
11. Anexos.....	143

Índice de Tablas y Figuras

Índice de Tablas

Tabla 1. Características demográficas y clínicas de los pacientes incluidos en el estudio.

Tabla 2. Características basales de parámetros de inflamometría.

Tabla 3. Resumen de las sesiones de TB.

Tabla 4. Resultados de eficacia clínica.

Tabla 5. Evolución funcional según espirometría en pacientes tratados con TB.

Tabla 6. Volúmenes pulmonares estáticos y transferencia de monóxido de carbono.

Tabla 7. Cambios registrados en el tratamiento de mantenimiento.

Tabla 8. Conjunto de síntomas leves relacionados con el tratamiento con TB.

Tabla 9. Hallazgos radiológicos basal y 6 meses pos-TB.

Tabla 10. Biopsias obtenidas por paciente y procedimiento, y biopsias aptas para el análisis morfométrico.

Tabla 11. Correlaciones entre los parámetros morfométricos, clínicos, funcionales e inflamometría.

Tabla 12. Parámetros de respuesta clínica a los 6 meses post-TB.

Tabla 13. Resumen de aplicación de TB entre pacientes respondedores parciales y totales.

Tabla 14. Diferencias en la MML y MTC entre pacientes respondedores parciales y totales.

Tabla 15. Características basales entre pacientes respondedores parciales y totales a los 6 meses post-TB.

Tabla 16. Respuesta a los 6 meses post-TB entre respondedores totales y parciales.

Tabla 17. Parámetros de respuesta clínica a los 12 meses post-TB.

Tabla 18. Resumen de aplicación de TB entre pacientes no respondedores, respondedores parciales y totales a los 12 meses post-TB.

Tabla 19. Características basales entre pacientes no respondedores, respondedores parciales y totales a los 12 meses post-TB.

Índice de Figuras

Figura 1. Número de publicaciones referentes a remodelación bronquial y asma. (Fuente: Pubmed).

Figura 2. Posicionamiento terapéutico de termoplastia bronquial (adaptación GEMA versión 4.2).

Figura 3. Posicionamiento terapéutico de termoplastia bronquial (adaptación GINA 2019).

Figura 4. Componentes del Sistema Alair® (Boston Scientific).

Figura 5. Ejemplo de aplicación de RF mediante el catéter Alair®.

Figura 6. Metodología del estudio. Basal (3 meses anterior al inicio del tratamiento), durante el periodo de tratamiento (primera sesión de TB hasta 6 semanas tras la tercera sesión de TB) y control hasta los 12 meses post-TB.

Figura 7. Ejemplo de cuantificación morfométrica mediante el software ImageJ® de una lámina de biopsia bronquial con inmunohistoquímica para alfa actina.

Figura 8. Diagrama de flujo que muestra la selección y seguimiento de los pacientes en el estudio.

Figura 9. Evolución del cuestionario ACT y mini AQLQ durante el estudio.

Figura 10. Agudizaciones graves e ingresos hospitalarios antes y después del tratamiento con TB.

Figura 11. Cambios en parámetros de función pulmonar: FEV₁ (%) y FEV₁/FVC pre-broncodilatador.

Figura 12. Cambios en los parámetros de Inflamometría tras tratamiento con TB.

Figura 13. Complicaciones en el periodo de tratamiento.

Figura 14. Diferencias en la MML entre sujetos controles y pacientes asmáticos sometidos a TB (pre-TB, 3 semanas y 6 meses post-TB).

Figura 15. Detección de músculo liso bronquial mediante inmunohistoquímica en biopsias bronquiales de pacientes asmáticos tratados con TB.

Figura 16. Diferencias en la MTC entre sujetos controles y pacientes asmáticos sometidos a TB (pre-TB, 3 semanas y 6 meses post-TB).

Figura 17. Detección de colágeno mediante la tinción con Tricrómico de Masson en biopsias bronquiales de pacientes asmáticos tratados con TB.

Figura 18. Correlación entre la MML y parámetros clínicos a los 6 meses post- TB.

Figura 19. Grado de respuesta a los 6 y 12 meses post-TB.

Figura 20. Cambios en la MML según grado de respuesta a TB.

Resumen

Basándose en la evidencia científica, las normativas de manejo del asma han establecido las pautas de tratamiento de esta patología. El tratamiento base con corticoides inhalados y broncodilatadores logra un control óptimo de la enfermedad en la mayoría de los pacientes. No obstante, el 5-10% de los asmáticos no están controlados a pesar del tratamiento (1), siendo este grupo el que genera un mayor coste económico al sistema sanitario.

Es gracias a una mejor comprensión y conocimiento de los patrones inflamatorios y moleculares del asma que se han desarrollado nuevas moléculas para el tratamiento dirigido de ciertos fenotipos de pacientes con asma grave. Algunos de estos fármacos biológicos han demostrado su efectividad en población seleccionada. No obstante, a pesar de todas estas terapias para esta enfermedad tan heterogénea, algunos pacientes persisten con síntomas.

La remodelación bronquial consiste en cambios estructurales de las vías respiratorias y se caracteriza por el engrosamiento de la pared bronquial, hipertrofia e hiperplasia del músculo liso bronquial, aumento de glándulas mucosas, engrosamiento de la membrana basal y angiogénesis (2).

La termoplastia bronquial es el primer tratamiento no farmacológico aprobado por la *US Food and Drug Administration* para el asma grave mal controlado (3), cuya diana es el músculo liso bronquial, la alteración principal de la RB y el efector del broncoespasmo. No obstante, en el momento de la aprobación de este tratamiento, el conocimiento en cuanto a su mecanismo de acción real era poco conocido.

El objetivo del presente trabajo era evaluar los cambios en el músculo liso bronquial de los pacientes tratados con termoplastia bronquial, así como otros marcadores de la remodelación bronquial; evaluar la relación de dichos cambios con la respuesta clínica y funcional de los pacientes tratados; e intentar establecer un perfil de paciente candidato a termoplastia (fenotipo).

Para ello se incluyeron 15 pacientes, de los cuales completaron el tratamiento 14 pacientes, y finalizaron el seguimiento al año post-tratamiento 13 pacientes. En los pacientes tratados se observó una reducción de las agudizaciones, y mejoría en la puntuación de los cuestionarios de calidad de vida y síntomas, aunque no hubo cambios en la función pulmonar. Se observó una reducción de la masa de músculo liso bronquial, cuyo efecto se mantuvo a los 6 meses post-termoplastia. Este cambio no se acompañó

de un incremento en la masa de tejido conectivo. No se observó ninguna relación entre los distintos parámetros clínicos, funcionales, de inflamometría ni morfométricos en las biopsias bronquiales que pudiera predefinir un perfil de candidato ideal para el tratamiento con termoplastia bronquial.

Se concluye que: a) la termoplastia bronquial reduce el músculo liso bronquial y su efecto se mantiene a los 6 meses post-tratamiento; b) los efectos clínicos beneficiosos (agudizaciones, calidad de vida) observados a los 6 meses post-termoplastia se mantienen al año del tratamiento; y c) la disminución del músculo liso no se relaciona con el grado de respuesta clínica a la termoplastia. Se precisan más estudios que definan mejor el mecanismo de acción de la termoplastia, así como el perfil de paciente candidato.

Summary

There is international agreement in the management and treatment for asthma patients. This treatment is based in inhaled corticosteroids and bronchodilators, achieving an adequate disease's control in most patients. However, it is estimated that the prevalence of severe and uncontrolled asthma is between the 5 and 10% of the asthma population (1). This subgroup of subjects with severe asthma represents the major economic burden on the health system.

Thanks to a better understanding of the molecular and inflammatory pathway, it has been an increasing interest in the development of new molecules for the treatment of targeted phenotypes of severe asthma patients. Some of these biological drugs have demonstrated effectiveness in a much-selected population. However, despite to all the therapies available for this heterogeneous disease, some patients remain with persistent symptoms.

Airway remodeling consists in structural changes in the airways characterized by increased thickness of the bronchial wall, involving hypertrophy and hyperplasia of airway smooth muscle, increase in mucous glands, thickening of reticular basement membrane and angiogenesis (2).

Bronchial thermoplasty is the first non-pharmacological treatment approved by the US Food and Drug Administration for uncontrolled severe asthma patients (3), which target is the airway smooth muscle, the hallmark of the airway remodeling and the effector of the bronchospasm. However, when bronchial thermoplasty was approved as a new treatment for asthma little evidence was available regarding its real mechanism of action.

The main objective of this thesis was to evaluate the change of airway smooth muscle in bronchial wall from patients treated with thermoplasty, as well as other markers of airway remodeling; to evaluate the relationship between those changes and the clinical and functional response of treated patients; and try to establish a profile of bronchial thermoplasty candidate patient (phenotypically).

Fifteen patients were included in this study, completing the treatment only 14 patients and concluding the one-year follow-up 13 patients. A reduction in the number of exacerbations, and improved scores in quality of life and symptoms questionnaires, was observed in those who completed the treatment and follow-up. However, there were no changes in lung function. The airway smooth muscle was reduced after the treatment, and this effect was maintained at the 6-month follow-up, without an increased in

connective tissue. There was no relation between clinical, functional, inflammometry or morphometric parameters that would allow us to pre-define a determinate profile of candidate to bronchial thermoplasty.

It is concluded that: a) bronchial thermoplasty reduces airway smooth muscle and its effect is maintained at 6-month follow-up; b) the clinical effects (exacerbations, quality of life) observed at 6-month follow-up are maintained at 1-year follow-up; and c) the reduction of airway smooth muscle is not correlated with the clinical response to bronchial thermoplasty. Further studies are needed to define better the mechanism of action, as well as the best candidate for bronchial thermoplasty.

1. INTRODUCCIÓN

1. Introducción

1.1. Asma grave no controlada

El **asma** es una enfermedad inflamatoria crónica de la vía aérea que se asocia con hiperrespuesta bronquial (HRB) provocando episodios recurrentes de disnea, sibilantes, opresión torácica y tos. Estos episodios suelen acompañarse de obstrucción variable al flujo aéreo, habitualmente reversible de forma espontánea, o bien con tratamiento farmacológico (4). Se trata de un síndrome heterogéneo que engloba diferentes fenotipos según su forma de presentación clínica (5), o endotipos según su mecanismo fisiopatológico (6). En España se estima una prevalencia de asma en el adulto del 4,9% (7), aunque algún estudio informa de un aumento de la misma (8), justificada en parte por el cambio en el estilo de vida y la industrialización.

El **asma grave** es aquel que requiere tratamiento con corticoides inhalados (CI) a dosis altas junto con un segundo fármaco controlador [broncodilatador adrenérgico β_2 de larga duración (LABA), antileucotrienos o teofilina] en el año previo, o bien aquel que necesita el uso de corticoides sistémicos durante más de la mitad del año anterior para prevenir que se convierta en un paciente “no controlado”, o que permanece “no controlado” a pesar del tratamiento (1). Son aquellos pacientes en escalón terapéutico 5-6 de la Guía Española de Manejo del Asma (GEMA) y escalón 4-5 según la guía internacional *Global Initiative for Asthma* (GINA). Dentro de la definición de asma grave se incluye a pacientes que logran el control con dicho tratamiento como a los que no (9).

Aquellos que no logran el control son clasificados como **asma grave no controlada (AGNC)**, y se caracterizan por cumplir al menos una de las siguientes características propuestas por la *Task Force* de la *European Respiratory Society (ERS)* / *American Thoracic Society (ATS)* (1):

- Mal control sintomático: medido por cuestionarios como el *Asthma Control Questionnaire* (ACQ) (puntuación $\geq 1,5$) o el *Asthma Control Test* (ACT) (puntuación < 20).
- ≥ 2 agudizaciones graves en el año previo: se define como agudización grave aquella que precisa tratamiento con corticoides sistémicos durante ≥ 3 días.

- Al menos una hospitalización, unidad de cuidados intensivos o necesidad de ventilación mecánica en el último año.
- Limitación crónica al flujo aéreo: volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) inferior al 80% del valor predicho tras tratamiento broncodilatador.

En España el 4% de los pacientes asmáticos tienen AGNC (10). Este grupo de asmáticos son los que concentran el principal gasto sanitario asociado al asma en general, que en España está alrededor del 2%. Los costes por asma grave quintuplican el del asma leve (7,11).

Ante la sospecha de AGNC se recomienda seguir una evaluación sistemática en centros especializados en asma. En esta evaluación se debe confirmar el diagnóstico de asma y descartar pseudoasmas, asegurar la adherencia al tratamiento y tratar las comorbilidades. Siguiendo este orden se puede llegar a reclasificar hasta un 50% de los pacientes (12). El asma es un síndrome heterogéneo, donde se incluyen subgrupos de pacientes que comparten ciertas características clínicas, funcionales y, en ocasiones, un patrón inflamatorio específico de la vía respiratoria. Estos subgrupos se conocen como fenotipos (13). Tiene especial importancia establecer el fenotipo en los pacientes con AGNC, ya que se disponen de dianas terapéuticas específicas. Los **fenotipos** se resumen a continuación (4):

- *Asma alérgica*: es el grupo fenotípico más frecuentemente hallado en el AGNC. Predomina la inflamación Th2. Participan las citoquinas interleuquina (IL)-4, IL-5 e IL-13. Este fenotipo se caracteriza por la presencia de eosinofilia y atopía. La medición de la fracción de óxido nítrico exhalado (FE_{NO}) es un buen biomarcador en estos pacientes.
- *Asma eosinofílica de inicio tardío*: es el segundo grupo en frecuencia y se caracteriza por la presencia de eosinófilos en biopsias bronquiales y esputo, a pesar de dosis altas de glucocorticoides. Pueden asociar patología de vía respiratoria alta, intolerancia a los antiinflamatorios no esteroideos. La inmunoglobulina (Ig) E y la FE_{NO} pueden estar elevadas. La IL-5 podría explicar la inflamación eosinofílica no mediada por un mecanismo alérgico (Th2).

- *Asma asociada a obesidad*: afecta principalmente a mujeres con índice de masa corporal (IMC) elevado. Se trata de pacientes muy sintomáticos, pero con una función pulmonar relativamente conservada. Se han propuesto múltiples mecanismos asociados. Suelen asociar poca eosinofilia, FE_{NO} bajo y escasa respuesta al tratamiento con glucocorticoides.
- *Asma neutrofílica*: los mecanismos fisiopatológicos de este fenotipo son relativamente desconocidos. A pesar de que puede hallarse neutrofilia en el esputo inducido de los pacientes con asma alérgica que están recibiendo corticoides sistémicos, las características clínicas son diferentes.

En el **manejo terapéutico del AGNC**, es necesario insistir en las medidas no farmacológicas recomendadas a cualquier paciente con asma: evitar posibles factores agravantes, como el tabaquismo, la exposición a alérgenos, evitar antiinflamatorios no esteroideos en caso de que exista intolerancia, tratamiento de comorbilidades como el reflujo gastroesofágico o el síndrome de apnea-hipoapnea del sueño o la patología de la vía respiratoria alta. En el tratamiento farmacológico del AGNC se pueden utilizar, siempre de forma individualizada, los siguientes tratamientos:

- Antagonistas de los receptores de leukotrienos (montelukast): evidencia limitada en su uso en pacientes con intolerancia a antiinflamatorios no esteroideos (14).
- Macrólidos (azitromicina): no existe evidencia suficiente que avale su uso de forma generalizada en el AGNC, aunque podrían tener un papel en el paciente con asma neutrofílica (15,16).
- Glucocorticoides sistémicos: debido al riesgo de complicaciones asociados a su uso, en ocasiones graves, los expertos recomiendan reservar su indicación para el último escalón terapéutico, siempre a la dosis mínima eficaz y durante el menor tiempo posible (4).
- Fármacos biológicos: el que acumula mayor experiencia es el omalizumab. Se trata de un anticuerpo monoclonal indicado en el asma alérgico. Actúa uniéndose a la IgE libre evitando la activación de células inflamatorias (mastocitos, células dendríticas y basófilos). Sus beneficios clínicos han quedado demostrados a lo largo de todos estos años, disminuyendo las agudizaciones, mejorando la calidad de vida y discretamente el FEV₁, así como reduciendo el consumo de corticoides sistémicos. Existen otros anticuerpos monoclonales más recientes, aprobados para su uso en pacientes con asma eosinofílica y que actúan bloqueando la IL-5 (mepolizumab y reslizumab) o su receptor (benralizumab).

- Termoplastia bronquial (TB): no existe un perfil o fenotipo diana, aunque se ha postulado como el único tratamiento disponible que actúa directamente sobre la remodelación bronquial (RB).

1.2. Remodelación bronquial

Actualmente, el mecanismo fisiopatogénico exacto del asma grave se desconoce. No obstante, se sabe que participan dos aspectos clave como son la inflamación crónica y la remodelación estructural patológica de la vía respiratoria. Éstos dan lugar a la HRB y, en algunos casos, cierto grado de obstrucción fija al flujo aéreo.

La RB es el conjunto de alteraciones estructurales que acontecen en la pared de la vía respiratoria, afectando a todas sus capas, e incluye la hiperplasia epitelial, el incremento en el número de glándulas mucosas, hipertrofia e hiperplasia del músculo liso, aumento de la matriz extracelular y aumento del lecho vascular (2). Estas alteraciones estructurales dan lugar a un engrosamiento de la pared bronquial, demostrado en numerosos estudios mediante pruebas de imagen (17–19) e histopatológicos (20).

Históricamente se había relacionado la RB como una consecuencia directa de un proceso de inflamación crónica. No obstante, el hallazgo de cambios propios de la RB en ausencia de inflamación en pacientes asmáticos (21) sugiere que ambos procesos son complementarios, más que una relación causa y efecto. La RB aparece en casi todas las formas de la enfermedad asmática, independientemente del fenotipo y del mecanismo fisiopatológico subyacente. La presencia e intensidad de la RB se ha correlacionado con la obstrucción al flujo aéreo, la gravedad del asma y una mala respuesta al tratamiento broncodilatador y corticoideo (22).

Existe una evidencia limitada referente a los mecanismos que subyacen en la RB, o sobre cómo las diferentes alteraciones estructurales presentes en ésta contribuyen a la progresión, la gravedad y la sintomatología de la enfermedad asmática. Asimismo, se desconoce la eficacia de los tratamientos actuales en la reversión de la RB. Todo conocimiento referente a la RB procede, en gran parte, del estudio en modelo animal y *post-mortem* de pacientes con asma. En asmáticos vivos, por cuestiones éticas, no es

posible analizar la vía respiratoria de forma íntegra, por lo que los investigadores se valen de la obtención de muestras biológicas mediante broncoscopia y de técnicas de imagen para su estudio.

1.2.1. Principales alteraciones estructurales de la remodelación bronquial

A continuación, se resumen las principales alteraciones estructurales propias de la RB.

a) Epitelio bronquial y glándulas mucosas

El epitelio bronquial es la barrera natural que separa el medio externo del interno. En condiciones normales, se compone de células ciliadas, células calciformes, células de Clara y células de la lámina basal, que tienen capacidad para diferenciarse. Las células calciformes producen mucinas responsables de la viscosidad e hidratación del moco (23). En los pacientes asmáticos, existe una pérdida de cilios y el epitelio está parcialmente denudado, siendo más extenso este hallazgo en los pacientes más graves. En respuesta a agentes nocivos (virus, bacterias, alérgenos) se activan los mecanismos de reparación del epitelio bronquial y algunas células epiteliales son substituidas por células calciformes. Estas células activan y mantienen la cascada inflamatoria, contribuyendo a la RB mediante la secreción de factores de crecimiento fibrogénicos, como el *Transforming Growth Factor* (TGF)- β y la liberación de metaloproteasas. Se puede encontrar glándulas mucosas en la pequeña vía aérea de los pacientes asmáticos, que en sujetos sanos sólo se localizan en la vía respiratoria cartilaginosa, contribuyendo a la hipersecreción de moco y al estrechamiento de la vía respiratoria. El aumento de densidad de este moco reduce el aclaramiento mucociliar y promueve el exudado inflamatorio. Los pacientes con tapones mucosos suelen tener una peor respuesta al tratamiento inhalado con corticoides.

b) Membrana basal

La membrana basal del epitelio está compuesta por la lámina basal y la lámina reticular. El engrosamiento de la lámina reticular es el hallazgo patológico observado en las fases más iniciales de asma (24), y se debe al depósito de reticulina, colágeno tipo I y III, fibronectina e inmunoglobulinas. La reticulina suele liberarse gracias a la activación de los miofibroblastos.

c) Músculo liso bronquial

Existe un incremento de músculo liso corregida por el tamaño de la vía respiratoria, concepto al que se refiere el término “masa de músculo liso” (MML) (25), tanto en la vía aérea más central como la periférica, llegando a ser de 3 a 4 veces mayor con respecto a los controles sanos, y ocupar el 20% de la pared bronquial (20), aunque esta distribución no parece ser uniforme. Además, se han observado diferencias en la cantidad de MML, siendo mayor en los casos de asma más grave (26). Este incremento de músculo liso puede ser una respuesta a diversos estímulos: la proliferación (hiperplasia) debida a la secreción de mediadores inflamatorios, citoquinas y factores de crecimiento; la hipertrofia, como consecuencia de episodios repetidos de broncoespasmo; y una disminución de los controles inhibitorios de la actividad miogénica y de la hipertrofia (2).

El incremento de la MML no sólo tiene un efecto físico, como órgano efector de la broncoconstricción, sino que también interviene en la secreción de mediadores proinflamatorios y de RANTES (del inglés *Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted*), que interaccionan con las citoquinas liberadas en las vías inflamatorias Th1 y Th2, y contribuyen al efecto “llamada” de células clave en la persistencia de la inflamación crónica, como son los eosinófilos, macrófagos, células T activadas.

d) Neoformación vascular

La neoformación vascular es un mecanismo clave en la neoplasia, donde ha sido ampliamente estudiada y su relación ha quedado claramente establecida. En las enfermedades inflamatorias del pulmón, como el asma o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), también se ha observado este fenómeno.

Los dos mecanismos principales que dan lugar al aumento de la red vascular en los tejidos son la vasculogénesis y la angiogénesis. El primer concepto se refiere a la formación *de novo* de la red vascular a través de la diferenciación de células progenitoras endoteliales, mesenquimales y fibrocitos hacia células endoteliales (27). Este mecanismo se ha observado en neumonías y en la EPOC, aunque su papel en el asma no está claro. La angiogénesis es un proceso controlado y suele ocurrir en

situaciones fisiológicas, como la reparación de heridas y reproducción. Implica la expansión de la red vascular a través de la remodelación de los vasos sanguíneos existentes (28). Aunque no son muchos los estudios disponibles referentes al papel de la neovascularización de la vía respiratoria en el asma, se cree que ésta contribuye a su fisiopatología mediante:

- Persistencia de la inflamación: permite el tráfico de células y mediadores inflamatorios al lumen y epitelio, y actúa como homeóstasis al regular la temperatura y humedad del aire.
- Aumento de la demanda metabólica tisular: el aporte continuado de nutrientes y factores de crecimiento promueven la hipertrofia del músculo liso, hiperactividad fibroblástica, aumento del depósito de proteínas en la matriz extracelular y fibrosis, y la hiperplasia/hipersecreción de las células mucosas (29).
- Empeoramiento de la función pulmonar: el incremento en el número de vasos sanguíneos de la vía respiratoria contribuye al engrosamiento de la pared bronquial en pacientes asmáticos y aumenta la resistencia de las vías respiratorias, promoviendo la obstrucción medida por el FEV₁ (30).

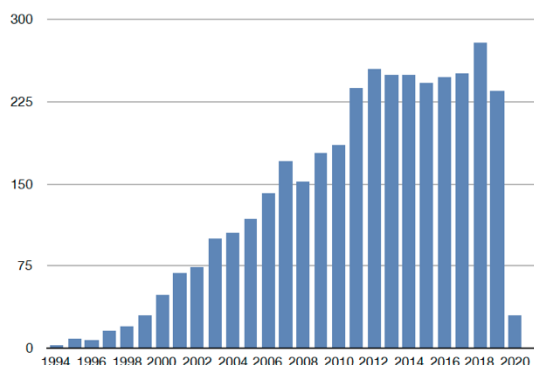
Se ha documentado un aumento variable en la vascularización de la vía aérea de pacientes asmáticos, que oscilan entre el 30% (31) y el 46% (30), con respecto a los controles sanos. Este incremento se ha relacionado con la gravedad del asma. No obstante, aún no se entiende cómo la expansión vascular anómala encaja en el desarrollo y progresión del asma, y en qué estadio acontecen estos cambios o se vuelven de mayor relevancia.

1.2.2. Exploraciones para el estudio de los mecanismos fisiopatogénicos del asma grave

Aunque la RB tiene un papel importante en la patogénesis del asma, se desconoce el impacto real de cada una de las alteraciones que la componen, no sólo a nivel estructural sino molecular. Tampoco se conoce con detalle la interacción entre la RB, la inflamación y la inmunidad. Es de especial interés una mayor comprensión de los mecanismos que conducen a la RB para el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas. En las dos últimas décadas han aumentado de forma exponencial las publicaciones referentes a la RB en el asma en Pubmed (**Figura 1**), contribuyendo a una mayor y mejor comprensión de los mecanismos fisiopatogénicos. No obstante, existen aún

numerosas limitaciones como, por ejemplo, la dificultad en definir los parámetros de la RB a estudiar, la ausencia de protocolos estandarizados para la obtención de muestras biológicas, a menudo de una calidad limitada, la ausencia de estudios longitudinales a largo plazo para un proceso que se produce de forma muy lenta, la ausencia de biomarcadores específicos de la RB y las limitaciones tecnológicas en el estudio no invasivo de la RB. El conjunto de estas limitaciones ha quedado recogido en un documento oficial de la ATS, donde se señalan aquellos déficits que entorpecen el avance en el conocimiento de la RB y así poder establecer protocolos futuros que faciliten dichas tareas a los investigadores (32).

Figura 1. Número de publicaciones referentes a remodelación bronquial y asma. (Fuente: Pubmed).



A continuación, se detallan las diferentes opciones, invasivas y no invasivas, para el estudio fisiopatogénico del asma grave, y la RB en concreto.

a) Broncoscopia

Aunque la broncoscopia no está indicada de forma rutinaria en la valoración clínica del paciente asmático, se puede utilizar con seguridad en esta población para descartar comorbilidades o para cualquier otra situación en la que aplique realizar una broncoscopia. Se ha demostrado segura incluso en pacientes asmáticos con obstrucción grave (33,34). Su uso en investigación permite obtener muestras respiratorias de una forma directa y mínimamente invasiva. Estas muestras proporcionan información muy útil para el estudio de los mecanismos inflamatorios y constituye una piedra angular en la investigación neumológica (35). La metodología de

la broncoscopia cuyo único fin sea la investigación no difiere de la que se realiza con fines diagnóstico-terapéuticos, a no ser que se indique lo contrario en el protocolo del estudio. No obstante, existen documentos donde queda resumido los requisitos mínimos para poder realizarla con seguridad (36).

Lavado broncoalveolar

El lavado broncoalveolar (LBA) consiste en la instilación de una cantidad variable de suero salino isotónico y estéril a temperatura ambiente, con volúmenes que oscilan entre los 100 y los 400 ml, en alícuotas de 20 a 60 ml, dejando el broncoscopio encajado en un segmento pulmonar. La cantidad que se recupera es variable en cada paciente, siendo más difícil la recuperación en pacientes con obstrucción más intensa. Se recomienda su procesamiento en las horas siguientes a su obtención o bien su almacenaje en frío (4°C). El LBA permite el estudio de la pequeña vía aérea, inaccesible a la vista para el broncoscopista. Además de poder realizar el recuento celular, permite cuantificar la presencia de mediadores inflamatorios. En el asma, se ha observado un aumento de células, a expensas de los eosinófilos, aunque en los casos de asma grave puede hallarse un predominio de neutrófilos.

Cepillado bronquial

El cepillado bronquial citológico es una técnica simple y mínimamente invasiva, gracias al cual se obtienen células epiteliales de la vía respiratoria. Estas células epiteliales representan la primera línea de defensa de los humanos en la vía respiratoria, actúan como células presentadoras de antígeno y expresan genes y factores que inducen la remodelación de la vía aérea subepitelial. Se desaconseja el uso de lidocaína tópica ya que puede alterar la viabilidad de las células. Las células obtenidas se pueden cultivar o bien analizar directamente mediante diversas técnicas, como el estudio inmunohistoquímico, microscopía confocal, microscopía electrónica y citometría de flujo.

Biopsias bronquiales

Su uso data del año 1977 (37). El tejido obtenido proporciona información histopatológica para el estudio detallado de las diferentes estructuras de la pared bronquial, permite cuantificar células inflamatorias mediante técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) e hibridación *in situ*. Su fácil obtención, junto con la

información proporcionada, hacen de ella una muestra esencial en el estudio de los mecanismos fisiopatogénicos del asma. A pesar de que la información que aporta es valiosa, existen problemas a la hora de interpretar y extrapolar los resultados de los distintos grupos de estudio por varios motivos. En primer lugar, la variabilidad en la metodología para su obtención, desde el tipo de pinzas que se utilizan, hasta el lugar de donde deben obtenerse y el número mínimo de biopsias necesarias para obtener una muestra representativa. En segundo lugar, la variabilidad en el procesamiento y los diferentes métodos de estudios disponibles para analizar distintos parámetros histopatológicos. Con el objetivo de minimizar estas diferencias en la obtención y el análisis de las muestras, así como la expresión de los resultados obtenidos, se han publicado algunos documentos con recomendaciones al respecto (36,38). A modo de resumen, se aconseja la obtención mediante visión directa de las carinas de división segmentaria y subsegmentaria (2^a-5^a generación), y no de la pared lateral del bronquio. Si el protocolo incluye la obtención de muestras de forma repetida en el tiempo, como por ejemplo para evaluar el efecto de algún tratamiento, se recomienda no obtener biopsias en la misma localización anatómica. No existe evidencia sobre el mejor método para la obtención. Se aconsejan dos biopsias por cada técnica histopatológica que se vaya a realizar, y así asegurar que al menos una de ellas sea de buena calidad. Y aunque no existe un número máximo de biopsias, se aconseja no sobrepasar las 6 (36,38). Finalmente, para considerar que la biopsia bronquial es de calidad y apta para su análisis, algunos autores han definido que idealmente debería tener área subepitelial, excluyendo los artefactos de tracción, cartílago y sangre, y con un tamaño entre 0,3 y 0,5 mm. No se aceptan aquellas que están compuestas por sangre, moco, sin epitelio, o fragmentos de glándulas (36).

Biopsias transbronquiales

La obtención de biopsias transbronquiales no forma parte del estudio rutinario del AGNC, a no ser que haya alguna sospecha clínico-radiológica de pseudoasma y que se requiera la realización de este procedimiento para su estudio. Estas biopsias aportan información sobre la pequeña vía aérea (39), además de tejido pulmonar para evaluar el efecto de la remodelación a nivel intersticial. Estos hallazgos pueden aportar información útil que ayude a comprender mejor los mecanismos fisiopatogénicos del asma grave, y a el desarrollo de futuras dianas terapéuticas. Existe un documento con recomendaciones sobre el uso de estas biopsias basado en la experiencia personal de los investigadores (40). No obstante, a pesar de que es una técnica relativamente

segura en manos expertas, no está exenta de riesgo, principalmente sangrado y neumotórax, por lo que existe controversia en su uso incluso en el campo de la investigación (41). Recientemente se ha evaluado la utilidad de la criobiopsia transbronquial, de forma retrospectiva, en una serie pequeña de pacientes asmáticos que habían sido sometidos a criobiopsia pulmonar transbronquial por otro motivo, y cuyo diagnóstico final había sido únicamente asma (42).

b) Técnicas de imagen

Tomografía computarizada de tórax

El uso actual de la tomografía computarizada de alta resolución (TCAR) de tórax con cortes en espiración forzada en la práctica clínica habitual se limita a la valoración cualitativa de la presencia de condiciones que puedan simular el asma o empeorar su sintomatología y por lo tanto el control, como por ejemplo el enfisema, las bronquiectasias, la bronquiolitis obliterante, o la aspergilosis broncopulmonar alérgica, entre otras muchas patologías. Los hallazgos más frecuentes en la TCAR torácica de los pacientes con asma grave son la presencia de bronquiectasias y engrosamiento de la pared bronquial (43). Actualmente, el uso de la TCAR de tórax permite cuantificar el grosor de la pared bronquial como medida indirecta y no invasiva de la RB, además de cuantificar el atrapamiento aéreo. No obstante, estas aplicaciones quedan relegadas a la investigación. El grosor del bronquio segmentario apical del lóbulo superior derecho se ha correlacionado con la limitación al flujo aéreo (44,45), la HRB (46), y el atrapamiento aéreo en el asma (17). Otros autores han investigado las diferencias en el grosor de la pared bronquial según el fenotipo inflamatorio, hallando un engrosamiento mayor en pacientes con neutrofilia en el esputo inducido (45).

Tomografía de coherencia óptica

La tomografía de coherencia óptica es una técnica de imagen mínimamente invasiva que permite visualizar las estructuras de la pared de la vía respiratoria con una resolución casi microscópica (47,48). Ya ha sido utilizada en la evaluación de la RB (49,50). Utiliza la emisión de luz de baja coherencia próximo al infrarrojo, a partir de un diodo superluminiscente de unos 1300 nanómetros, y que permite visualizar *in vivo* las estructuras celulares y extracelulares hasta 3 mm por debajo de la superficie de contacto. La imagen seccional se obtiene a partir de la detección de la luz reflejada por

las distintas interfaces que se encuentra a su paso, de modo muy similar a la ecografía, debido a los diferentes índices refractivos ópticos. Se puede obtener imágenes de la vía aérea hasta bronquiolos terminales. Se puede añadir doppler por lo que, además de proporcionar información estructural, permite evaluar la vascularización de las estructuras. Esta técnica tiene la ventaja de no ser ionizante, y obtener imágenes de resolución casi microscópica a tiempo real y de una forma mínimamente invasiva, con buena correlación con los hallazgos histopatológicos (51).

Resonancia magnética con gas hiperpolarizado

La resonancia magnética con gas hiperpolarizado es una alternativa a la TCAR de tórax en el estudio del atrapamiento aéreo, y ofrece como ventajas que no utiliza radiación ionizante. El gas más utilizado es helio-3, un gas inerte y no tóxico, que no difunde hacia las áreas de pulmón que no están bien ventiladas. Se trata de un gas caro y su uso está limitado a la investigación. Los estudios realizados en asmáticos han demostrado defectos de ventilación con respecto a individuos sanos no fumadores (52), aunque los resultados en función de la gravedad y su correlación con marcadores inflamatorios no son concluyentes (53).

c) Análisis del aire exhalado

Fracción de óxido nítrico en el aire exhalado

El óxido nítrico (NO, del inglés *nitric oxide*) es un gas que se sintetiza en las células endoteliales y epiteliales de la vía respiratoria. En su síntesis participa la enzima óxido-nítrico-sintasa (NOS) que tiene dos formas de presentación: la constitutiva (NOS-c) y la inducible (NOS-i). En condiciones normales, el NO se sintetiza en pequeñas cantidades principalmente por la NOS-c, y se encuentra en el aire exhalado de todas las personas. Sus funciones en el aparato respiratorio incluyen el efecto vasodilatador y broncodilatador, además de ser un neurotransmisor y mediador inflamatorio. El papel fisiopatológico del NO en la vía respiratoria y pulmones es complejo, ya que, además de sus efectos beneficiosos como regulador del tono de la vía respiratoria, es un radical libre inestable que se inactiva rápidamente por el oxígeno, convirtiéndose en nitratos y nitritos, nocivos por su efecto citotóxico y la alteración del equilibrio Th1/Th2. Los pacientes con asma tienen niveles mayores de NO en su aire exhalado, producidos por la NOS-i (54). La NOS-i, que se encuentra en los macrófagos, fibroblastos, células

endoteliales y epiteliales de la vía respiratoria, se activa gracias a la acción de endotoxinas y citocinas proinflamatorias.

La FE_{NO} es un marcador no invasivo de la inflamación eosinofílica en el asma alérgica, y se relaciona con la HRB y la intensidad de los síntomas. Aunque el valor de la FE_{NO} puede verse afectado por diversos factores como la técnica, el flujo exhalado, el analizador utilizado, edad, peso, hábito tabáquico y tratamiento antiinflamatorio, incluso la dieta, se ha establecido que valores igual o superiores a las 50 partículas por billón (ppb) en adultos indican la presencia de inflamación eosinofílica, y en pacientes sintomáticos, es un marcador de respuesta a corticoides (55). Aunque dichos valores no son específicos del asma, ya que pueden encontrarse también en la bronquitis eosinofílica o la EPOC con fenotipo mixto inflamatorio, se ha observado una elevada sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de asma en adultos no fumadores y que no están bajo los efectos del tratamiento con corticoides (56). En una revisión sistemática reciente los resultados fueron favorables para el uso de la FE_{NO} en el diagnóstico del asma (57) y actualmente está incluida como herramienta diagnóstica en las guías de manejo clínico del asma (4). El papel de la FE_{NO} en el control del asma es más controvertido. Si bien existen revisiones sistemáticas que muestran datos parcialmente favorables a su uso al haber disminuido las agudizaciones de cualquier gravedad en el manejo guiado por la FE_{NO} (58), en una revisión Cochrane no se hallaron diferencias significativas en el número de agudizaciones, síntomas o función respiratoria según si el tratamiento fue o no ajustado por el valor de la FE_{NO} (59).

Condensado de aire espirado

El condensado de aire espirado es un método no invasivo que permite evaluar biomarcadores inflamatorios en diversas enfermedades respiratorias. El componente analizado es el vapor de agua condensado en microgotas, que contiene moléculas volátiles y no volátiles. Una muestra de 1-3 ml se obtiene de forma rápida en unos 15 minutos respirando a volumen corriente, con la nariz tapada, en un equipo cerrado. La muestra es condensada a -20°C. Posteriormente se tiene que separar el dióxido de carbono para que no altere el valor de pH, mediante un proceso de desgasificación con un gas noble, como el helio o el argón. Una vez medido el pH, la muestra se puede almacenar a -80°C durante 3 meses antes de su análisis. Mediante técnicas de laboratorio complejas (ELISA, espectrofotometría de masas o citometría de flujo) se

pueden analizar biomarcadores del estrés oxidativo como los radicales libres o especies reactivas de oxígeno. La composición del condensado de aire espirado puede verse alterada por múltiples factores: la composición del aire ambiente, el patrón ventilatorio, el sexo, edad y raza, comidas y bebidas (se recomienda evitar bebidas ácidas una hora antes de la recogida de la muestra), el tabaco (se recomienda no fumar en las 3 horas previas), fármacos, ventilación mecánica y contaminación con saliva. Esta técnica no se usa de forma rutinaria en el estudio del asma, reservándose su uso para la investigación.

Temperatura del aire exhalado

La medición de forma no invasiva de la temperatura del aire exhalado (TAE) se basa en la detección de pérdida de calor producida en la vía respiratoria como consecuencia de la vasodilatación bronquial producida por la inflamación. El incremento de la TAE en asma ha quedado documentado (60), así como su correlación con datos de función pulmonar y mediadores inflamatorios como la FE_{NO}, la eosinofilia en sangre y en esputo inducido (61,62), aunque los resultados entre estudios son contradictorios (63). Uno de los principales problemas es la estandarización de la metodología para su obtención, así como el valor de TAE medido. Los últimos estudios se han realizado principalmente con el dispositivo X-Halo[®] por su sencillez y rapidez a la hora de obtener la medición. El valor obtenido con este dispositivo es la TAE *plateau* (TAE_p) (60).

Nariz electrónica

La nariz electrónica (*e-nose*) es una técnica que se basa en la detección de compuestos orgánicos volátiles presentes en la fase gaseosa de la respiración (64). Actualmente es posible realizar mediciones con equipos de tamaño reducido, como por ejemplo el aparato Cyranose 320[®] (Smithprotection, Pasadena, CA), que dispone de 32 nanosensores. Los compuestos orgánicos volátiles son sustancias químicas que contienen carbono y son volátiles, por lo que se convierten en vapor al contactar con la atmósfera. La *e-nose* está compuesta por una matriz de sensores químicos con sensibilidades solapadas que, al ser expuesto a las partículas presentes en el aire, experimentan cambios en su resistencia eléctrica. El resultado es una huella olfativa tras haber pasado por un sistema de reconocimiento de patrones (65). Se ha estudiado su utilidad en diversas patologías como la oncológica o la EPOC. En el caso del asma, la *e-nose* ha demostrado diferencias entre asma moderado, grave y controles sanos (66), y también entre EPOC y asma, fumadores sanos y no fumadores (67).

1.3. Termoplastia bronquial

La TB es un tratamiento endoscópico aprobado para el tratamiento del asma grave no controlada desde 2010. Consiste en la aplicación de calor a la mucosa de la pared bronquial mediante radiofrecuencia (RF). El mecanismo de acción que se le atribuye a la TB es la reducción de músculo liso bronquial que se correlaciona con una reducción de la HRB en los estudios preclínicos que se detallan a continuación.

En un primer estudio en modelo animal (perros) se observó que el tratamiento con TB aplicado sobre la pared bronquial reducía la HRB ocasionada por el estímulo con metacolina, y que dicho efecto persistía a los 3 años post-tratamiento. Además, en el mismo artículo se describía que dicha respuesta se correlacionaba con la extensión de “músculo liso de la vía respiratoria alterado”, concepto que los autores definieron como porciones de músculo liso de la vía respiratoria degenerativo, ausente o reemplazado por fibroblastos (68). En otra serie, los perros fueron sometidos a TB en toda la vía aérea accesible de ≥ 2 mm de todo un pulmón, sirviendo el contralateral como control. Se realizó TCAR de tórax mientras se aplicaba diferente rango de presión (que equivaldría a una vía aérea más relajada o contraída). De las imágenes obtenidas mediante TCAR se calculó el cambio de calibre en diferentes puntos de la vía respiratoria y se observó un incremento en el calibre de la vía respiratoria que había sido tratada con TB, en relación a la vía aérea control (69), por lo que los autores sugieren que este efecto era el resultado de la pérdida de músculo liso funcional.

En el estudio de viabilidad de TB en humanos se incluyeron 9 sujetos sin historia de asma que debían ser sometidos a cirugía de resección pulmonar por sospecha o confirmación de cáncer. En la broncoscopia que se realizaba de rutina como parte del estudio pre-quirúrgico, se aplicó TB en el lóbulo que se debía reseca en las semanas siguientes. De los 9 sujetos, sólo en un caso no pudo aplicarse TB por la disposición anatómica de la vía respiratoria (era un lóbulo superior de difícil acceso). En los 8 restantes se aplicó TB a dos temperaturas diferentes: 55°C en 2 sujetos, y 65°C en 6. En algún caso de los tratados a 65°C se observó estrechamiento de la vía respiratoria y la presencia de tapones mucosos. Los cambios histopatológicos fueron más intensos en aquellos que recibieron TB a 65°C, siendo casi inapreciables en el grupo de 55°C. Los hallazgos histopatológicos fueron zonas de epitelio denudado y otras en proceso de regeneración, la presencia de músculo liso bronquial alterado (reducción), necrosis de

los conductos y glándulas mucosas, y trombosis en los vasos pericondrales. También se observó neumonitis no infecciosa peribronquial, caracterizado por un infiltrado linfocitario parcheado en el intersticio y fibroblastos y necrosis parenquimatosa coagulativa (70). Estos cambios se identificaron en una franja de tiempo variable que fue desde los 5 días hasta los 20 días post-TB. Los cambios observados en los pacientes analizados de forma más tardía eran inapreciables, a excepción de la reducción de músculo liso bronquial.

Hubo un estudio de viabilidad de TB en pacientes asmáticos leves-moderados (71). Y posteriormente se publicaron 3 ensayos clínicos donde evaluaron principalmente datos de seguridad y eficacia de la TB en el asma moderada-grave comparado con un grupo de tratamiento médico convencional (72,73) y otro comparado con TB placebo (74). Estos ensayos clínicos contribuyeron a que la FDA aprobase la TB como tratamiento del AGNC en 2010. En estos ensayos clínicos no se evaluaron los posibles mecanismos de acción de la TB ni su impacto a nivel histológico bronquial.

1.3.1. Eficacia clínica

a) Calidad de vida

En el estudio AIR (72), aunque los pacientes tratados con TB mejoraron la puntuación en el cuestionario *Asthma Quality of Life Questionnaire* (AQLQ) con respecto al grupo control que recibió el tratamiento farmacológico convencional, la diferencia en la puntuación del AQLQ entre ambos grupos a los 12 meses post-tratamiento fue de 0,46 (inferior a 0,5, que es el mínimo cambio para que se considere relevante clínicamente) (75). En el estudio AIR2 no se observaron diferencias entre ambos grupos (TB vs TB placebo). No obstante, en un subanálisis se observó que había una mayor proporción de pacientes en el grupo de TB que presentaron cambios clínicamente relevantes con respecto al grupo control (74). En este ensayo clínico, se puso de manifiesto el efecto placebo del tratamiento con TB debido a que el grupo control (TB placebo) también había aumentado la puntuación del cuestionario.

b) Control del asma

Aunque en los estudios AIR (72) y RISA (73) se observó un incremento en la puntuación del cuestionario ACQ, en el ensayo clínico AIR2, el único que incluía TB placebo, no hubo diferencias (74). Los pacientes tratados con TB en los ensayos clínicos RISA (73) y AIR (72) redujeron el uso de medicación de rescate. En el AIR2 (74) no hubo diferencias.

c) Agudizaciones

En el periodo de post-tratamiento, que se inicia a la sexta semana de la última sesión de TB, en el ensayo clínico AIR se redujeron las agudizaciones leves a los 12 meses post-TB (72). En el ensayo clínico AIR2 se redujeron las agudizaciones graves al año post-TB en el grupo tratado con TB con respecto al grupo control ($0,480 \pm 0,067$ vs $0,700 \pm 0,122$, respectivamente) (72–74).

d) Función pulmonar

Tan sólo se hallaron mejoras en función pulmonar, medido con el FEV₁ pre-broncodilatador (porcentaje del predicho), en el estudio RISA. Las diferencias del FEV₁% fueron mayores en el grupo de tratamiento que en el grupo control ($14,9 \pm 17,4$ vs $-0,9 \pm 22,3$, respectivamente) (73). En el resto de los estudios no se observaron diferencias en función pulmonar.

1.3.2. Seguridad

En los tres ensayos clínicos (72–74) se observó un incremento de síntomas respiratorios en los pacientes tratados con TB con respecto a los grupos control, con una cronología que iba de las primeras 24 horas post-TB hasta su resolución al cabo de 7 días. Los síntomas más comunes fueron disnea, tos, sibilantes y molestias torácicas, siendo la mayoría leves.

En cuanto a la necesidad de hospitalización, del análisis de los 429 pacientes incluidos en los tres estudios, se detectó un aumento en el riesgo de hospitalización debido a problemas respiratorios durante el periodo de tratamiento (desde la primera sesión de

TB hasta 6 semanas después de la tercera sesión de TB) (RR 3,50; IC 95% 1,26 a 9,68), lo cual representa un 6% de los pacientes tratados (76). Después del periodo de tratamiento el número de hospitalizaciones en los grupos tratados con TB se equipararon a la de los controles.

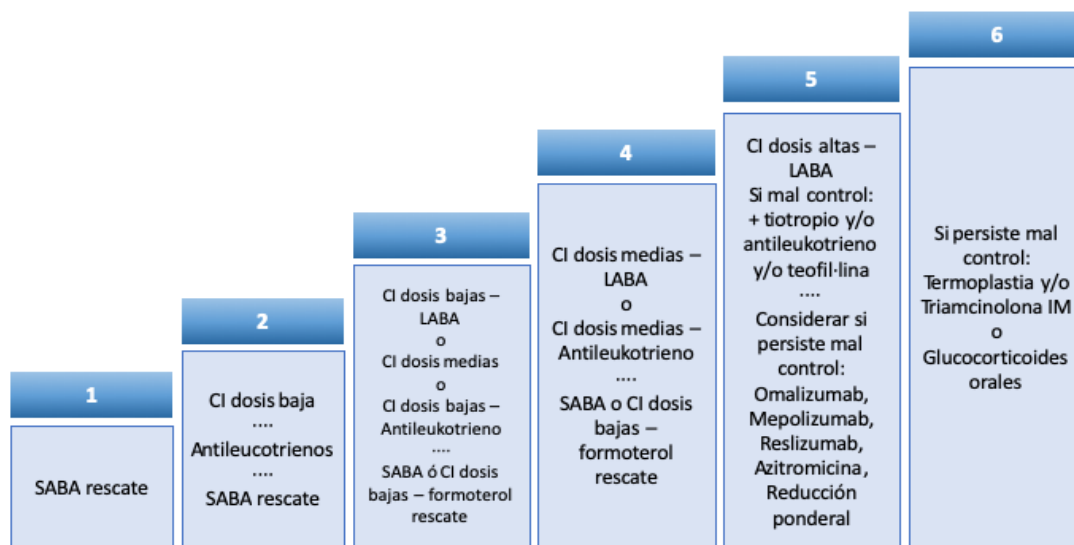
En el seguimiento a los 5 años de los pacientes incluidos en los ensayos clínicos AIR (77) y AIR2 (78) no se observó un incremento en el número de hospitalizaciones por eventos respiratorios, así como tampoco un empeoramiento de la función pulmonar. La principal limitación de estas dos extensiones del seguimiento fue la ausencia de grupo control a partir del tercer año de seguimiento.

La mayoría de los pacientes incluidos en los ensayos clínicos AIR, RISA y AIR2 tenían una obstrucción moderada-leve al flujo aéreo (FEV₁ por encima del 60% del valor predicho). Existen datos de seguridad en pacientes con una mayor obstrucción (FEV₁ inferior al 50% del valor predicho) sin que se observe un incremento en los efectos secundarios (72,79).

1.3.3. Indicación del tratamiento

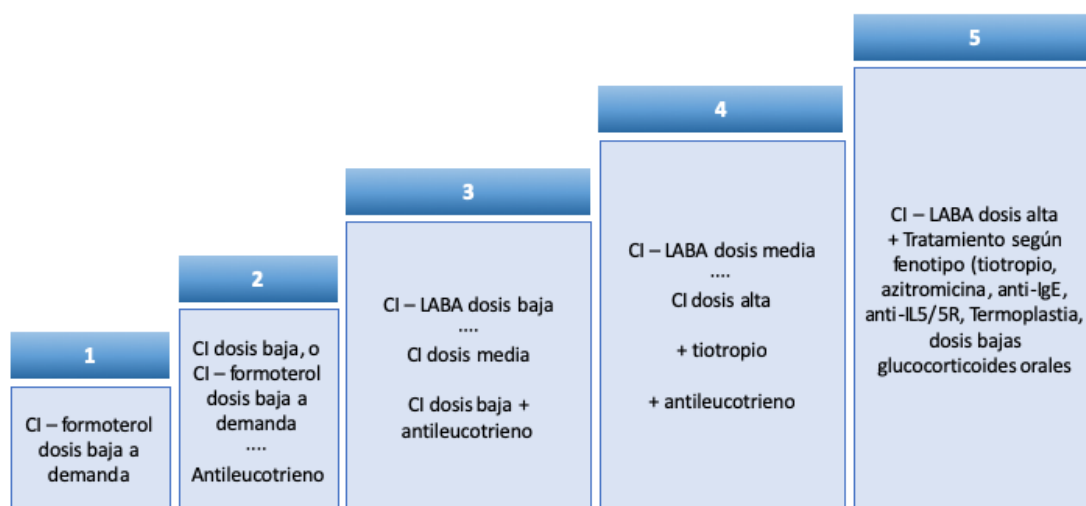
El documento de la *Task Force* de la ATS/ERS publicado en 2014 recomendaba el uso de TB en adultos con asma grave sólo en el contexto de estudios clínicos o registros sistemáticos independientes (1). Actualmente la termoplastia está incluida como opción terapéutica en el último escalón de las guías de manejo de asma nacional (**Figura 2**) e internacional (**Figura 3**).

Figura 2. Posicionamiento terapéutico de termoplastia bronquial (adaptación GEMA versión 4.2).



SABA: broncodilatador β_2 adrenérgico de corta duración; CI: corticoide inhalado; LABA: broncodilatador β_2 adrenérgico de larga duración.

Figura 3. Posicionamiento terapéutico de termoplastia bronquial (adaptación GINA 2019).



CI: corticoide inhalado; LABA: broncodilatador β_2 adrenérgico de larga duración; IgE: inmunoglobulina E; IL: interleuquina; R: receptor.

1.3.4. Metodología de aplicación

El tratamiento con TB se aplica en 3 sesiones de broncoscopia, de duración inferior a una hora cada una, habitualmente separadas entre ellas unas 3 semanas, donde se trata todos los lóbulos, a excepción del medio (LM), en el siguiente orden: lóbulo inferior derecho (LID) en la primera sesión, lóbulo inferior izquierdo (LII) en la segunda sesión, y ambos lóbulos superiores (LLSS) en la tercera y última sesión. El motivo por el cual se recomienda evitar el LM es para evitar el síndrome del lóbulo medio, aunque no existe evidencia que respalde dicha recomendación.

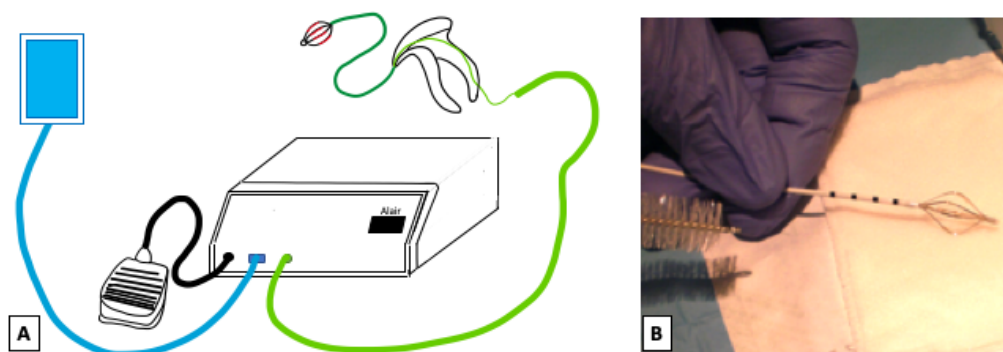
a) El dispositivo

La TB se lleva a cabo con el Sistema Alair® (Alair® Bronchial Thermoplasty System, 4Marlborough, MA, USA), que consta de los siguientes componentes (**Figura 4**):

- El catéter Alair®, a través del cual se aplica la RF. Es un dispositivo de un solo uso diseñado para poder introducirse a través del canal de trabajo de un broncoscopio convencional. En su extremo distal dispone de una cesta expandible donde se encuentran los cuatro electrodos encargados de transmitir la RF cuando se activa el dispositivo.
- El controlador de RF: cuenta con una serie de parámetros y algoritmos de control para aplicar la intensidad (65°C) y duración de energía térmica correctas en cada activación (10 segundos). El controlador monitoriza el sistema, de manera que, si alguno de los componentes no está bien conectado, no permite la liberación de la RF.
- Pedal de activación de RF. Se debe accionar con una ligera presión del pie, una vez la cesta del electrodo está en contacto con la pared bronquial, para que el controlador libere la RF.
- Electrodo para el cierre del circuito.

La TB se realiza mejor con un broncoscopio convencional (diámetro externo de 4,9 a 5,2 mm y un canal de trabajo de 2 mm). Broncoscopios de mayor diámetro externo pueden limitar el acceso a la vía aérea más pequeña.

Figura 4. Componentes del Sistema Alair® (Boston Scientific).



El controlador de radiofrecuencia del sistema Alair® cuenta con 3 conexiones (A): en azul, el electrodo para el cierre de circuito; en negro, el pedal de activación de radiofrecuencia; y en verde, el catéter Alair® (detalle del mismo en B).

b) Preparación previa del paciente

El paciente debe continuar con su tratamiento médico habitual. Con el objetivo de minimizar los efectos secundarios y complicaciones derivadas del tratamiento con TB, se le aconseja al paciente realizar un tratamiento con corticoides sistémicos (habitualmente prednisona 50 mg al día durante los 3 días previos a la sesión, el día de la sesión y el día posterior a la sesión de TB) (74,80).

Se recomienda realizar un control estrecho del paciente y asegurar que en los días previos no haya tenido ninguna infección respiratoria, no haya presentado una agudización del asma, y haya mantenido tanto su tratamiento farmacológico habitual como la pauta de prednisona anteriormente mencionada. Se aconseja la realización de una espirometría antes de la sesión de TB que servirá para evaluar la estabilidad del paciente antes y después del tratamiento.

c) Sesión de termoplastia bronquial

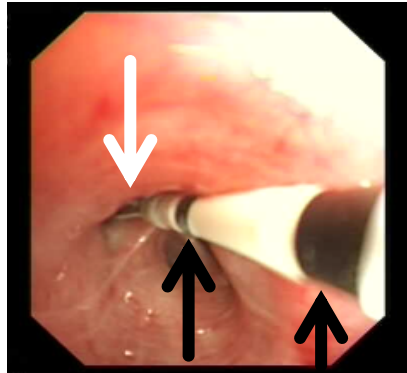
A pesar de que el procedimiento de la aplicación de TB está estandarizado (81,82) existe variabilidad entre centros en cuanto a:

- Sedación: se puede realizar con sedación moderada, profunda o anestesia general (82,83). Una sedación profunda permitirá al broncoscopista aplicar el tratamiento en mejores condiciones, al tener más controlado el reflejo de la tos
- La presencia de un anestesiólogo, aunque no es indispensable, es altamente recomendable, sobre todo si se va a realizar el procedimiento con sedación profunda o anestesia general.
- El uso de tubo orotraqueal (TOT) o mascarilla laríngea, o bien la introducción del broncoscopio directamente a través de nariz o boca.
- La realización del procedimiento en régimen ambulatorio, o bien mediante ingreso.

El éxito de la TB dependerá, en gran parte, de que el tratamiento se aplique de forma correcta a toda la vía respiratoria, y se completen las tres sesiones. El resultado podría verse alterado si el paciente no está en las condiciones óptimas para tolerar las sesiones de broncoscopia, o bien no completa el tratamiento por negativa ante una mala experiencia en alguna sesión previa.

Se aconseja realizar una exploración previa de la anatomía bronquial para establecer la secuencia de tratamiento. La recomendación es tratar todos los bronquios mayores a 2 mm, siguiendo un orden horario, y siempre de distal a proximal. De esta manera se asegura que no quede ningún territorio bronquial sin tratar o, por el contrario, que reciba doble aplicación de RF. El catéter debe insertarse a través del canal de trabajo del broncoscopio con la cesta cerrada. Una vez localizada en la zona a tratar, se abre la cesta donde se emplazan los electrodos, hasta lograr un amplio contacto con la mucosa bronquial (flecha blanca, **Figura 5**). Este contacto no debe ser forzado para evitar la inversión de los electrodos al interior de la cesta, cosa que impediría la aplicación correcta de RF. A continuación, mediante activación del pedal, se libera RF durante 10 segundos a una temperatura máxima de 65°C. Una vez finalizada la activación se cierra la cesta y se introduce el catéter en el canal de trabajo hasta la siguiente marca negra localizada a 5 mm para la siguiente activación (flechas negras, **Figura 5**).

Figura 5. Ejemplo de aplicación de RF mediante el catéter Alair®.



Flecha blanca: cesta con los cuatro electrodos (visibles dos de ellos) en contacto con la pared bronquial;
Flechas negras: marcas separadas 5 mm entre ellas para guiar la retirada del catéter de forma progresiva.

d) Cuidado post-procedimiento

La TB se puede aplicar tanto de forma ambulatoria, como en régimen de cirugía menor ambulatoria o bien con ingreso hospitalario. No existe ninguna recomendación al respecto. Sí se recomienda la realización de una espirometría post-procedimiento, juntamente con una evaluación clínica, para determinar si el paciente puede ser derivado de nuevo a su domicilio.

Deberá contemplarse el ingreso hospitalario en aquellos casos que presenten alguna complicación grave o bien se observe una caída por debajo del 80% del valor basal de de FEV₁ (pre-TB).

2. JUSTIFICACIÓN

2. Justificación

El AGNC representa una condición heterogénea en cuanto a su mecanismo fisiopatológico y posibles desencadenantes. El nexo común entre estos pacientes es el mal control sintomático y un elevado consumo de los recursos sanitarios.

Desde la aprobación de la TB como tratamiento para el asma grave, se ha implementado en algunos centros de tercer nivel en España, siendo el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, en Barcelona, quién aplicó este tratamiento por primera vez a nivel estatal.

La escasez de datos de eficacia y seguridad en pacientes tratados en vida real, así como aspectos desconocidos o controvertidos sobre el mecanismo de acción de la termoplastia bronquial constituyen la base conceptual de la presente tesis.

Por estos motivos se planteó realizar un estudio en nuestro centro que evaluase tanto el mecanismo de acción principal que se le había supuesto a la TB, como la seguridad y eficacia en la práctica clínica.

3. HIPÓTESIS

3. Hipótesis

- La TB reduce la cantidad de músculo liso bronquial de los pacientes asmáticos graves tratados.

- La reducción del músculo liso bronquial se relaciona con una mejoría en el nivel de control del asma.

4. OBJETIVOS

4. Objetivos

Objetivo principal:

- Cuantificar la cantidad de músculo liso bronquial en las biopsias bronquiales realizadas a los pacientes que reciban tratamiento con TB antes y después del tratamiento, a corto y medio plazo.

Objetivos secundarios:

- Evaluar la eficacia clínica de la TB.
- Evaluar la seguridad de la TB.
- Evaluar otros cambios histológicos propios de la remodelación de la vía aérea en las biopsias bronquiales.
- Correlacionar los cambios histológicos observados en las biopsias con parámetros clínicos y funcionales.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5. Materiales y Métodos

5.1. Diseño del estudio y aspectos éticos

Se trata de un estudio prospectivo y exploratorio para determinar los cambios en el músculo liso bronquial en pacientes tratados con TB. El protocolo del estudio fue evaluado y aprobado por el Comité Ético (EC/12/103/1388) del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, siguiendo las recomendaciones recogidas en la Declaración de Helsinki, y todos los pacientes firmaron el consentimiento informado. El estudio se registró en ClinicalTrials.gov (NCT01974921).

El tamaño de la muestra se calculó en base al estudio de Danek et al (68), en el que detectaron una reducción de músculo liso de 0,3 unidades en modelo animal (perro) tras haber sido sometidos a TB. Aceptando un riesgo alfa de 0,05 y un riesgo beta inferior a 0,2 en un contraste bilateral, son necesarios 15 sujetos tratados para detectar una diferencia igual o superior a 0,3 unidades (porcentaje de disminución músculo liso bronquial). Se asume que la proporción en el grupo de referencia es elevada en nuestro centro (asma grave). Se ha estimado una tasa de pérdidas del 10%.

5.2. Población del estudio

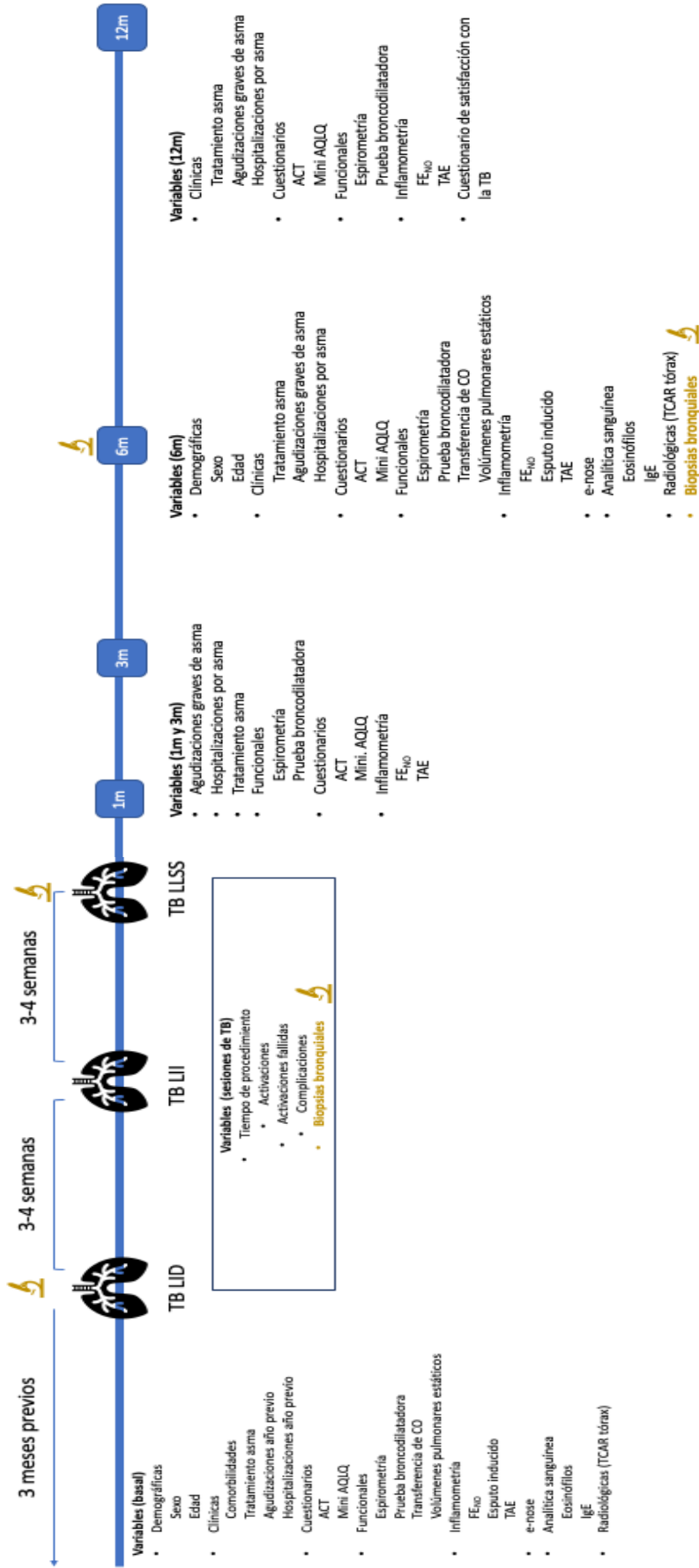
Pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de asma grave según la GINA (84), no controlados a pesar de un tratamiento médico adecuado (escalón terapéutico 4 o 5 según GINA), con 2 o más agudizaciones graves en el último año (definidas por la necesidad de tratamiento con glucocorticoides durante más de 3 días), mala calidad de vida (puntuación < 6,5 en la versión mini del cuestionario AQLQ), y mal control sintomático (puntuación \leq 19 en el cuestionario ACT). Se excluyeron los pacientes con antecedentes de agudización asmática de riesgo vital, hipoxemia grave, comorbilidad que pudiera interferir en el mal control del asma a juicio del médico responsable, hábito tabáquico activo o pasado de más de 15 paquetes/año, y las contraindicaciones propias para la realización de una broncoscopia (intolerancia a los fármacos sedantes, tratamiento anticoagulante o trastornos de la coagulación, como trombocitopenia <50000 cel/mm³, international normalized ratio $>1,5$ o tiempo de trombolastina parcial activada >50 s).

Los pacientes fueron reclutados en una consulta monográfica de asma y termoplastia bronquial, dentro de la Unidad de Asma del Servicio de Neumología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (Barcelona). La inclusión de los pacientes fue correlativa entre los años 2013 y 2017. La indicación se consensuó por los miembros del comité de Asma Grave del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau tras evaluación exhaustiva de la historia clínica, de las pruebas complementarias, y discusión multidisciplinar.

5.3. Evaluación

En la **figura 6** se recogen las visitas contempladas durante el estudio y las variables recogidas en cada una de ellas.

Figura 6. Metodología del estudio. Basal (3 meses anterior al inicio del tratamiento), durante el periodo de tratamiento (primera sesión de TB hasta 6 semanas tras la tercera sesión de TB) y control hasta los 12 meses post-TB.



TB: termoplastia bronquial; LID: lóbulo inferior derecho; LLI: lóbulo inferior izquierdo; LLSS lóbulos superiores; ACT: Asthma Control Test; AQLQ: Asthma Quality of Life Questionnaire; CO: monóxido de carbono; FE_{NO}: fracción de óxido nítrico exhalado; TAE: temperatura del aire exhalado; IgE: inmunoglobulina E; TCAR: tomografía computarizada de alta resolución.

5.3.1. Evaluación clínica

En la visita basal se hizo una historia médica detallada, incluyendo comorbilidades, tratamiento farmacológico habitual, agudizaciones graves del asma y hospitalizaciones por asma en el año previo. Las agudizaciones graves se definieron como aquellas que necesitaron tratamiento con corticoides durante 3 días o más (74).

En la exploración física se recogieron datos morfométricos como el peso (kilogramos), la talla (centímetros) y el IMC. Se clasificó según el IMC en (85): normopeso (18,5 - 24,9); sobrepeso (25 - 29,9); obesidad tipo I (30 - 34,5); obesidad tipo II (35-39,9); y obesidad tipo III (mórbida) (≥ 40).

Se administraron los cuestionarios de síntomas ACT y mini AQLQ antes del tratamiento (basal), y en los meses 1, 3, 6 y 12 post-TB. El ACT es un cuestionario validado consistente en 5 preguntas respecto a las 4 semanas previas (86) que permite valorar el grado de control del asma que se asigna el propio paciente: asma controlada (20 – 25); asma parcialmente controlada (19 – 16); y asma mal controlada (5 – 15). Un cambio de 3 puntos o más se considera clínicamente relevante (87). La versión mini del AQLQ es un cuestionario validado que permite medir la calidad de vida de los pacientes asmáticos (75). La puntuación se clasifica en: buena calidad de vida ($\geq 6,5$ puntos) y mala calidad de vida ($< 6,5$). Un cambio de 0,5 puntos se considera clínicamente relevante. Se hizo un análisis sanguíneo completo con hemograma, bioquímica con función hepática y renal, hormona tiroidea e IgE en la visita basal y a los 6 meses post-TB. En la analítica de la visita basal, según sospecha clínica específica, se podía ampliar el estudio con IgE específicas, autoinmunidad, etc. Los valores que se registraron fueron la IgE y el número de eosinófilos en sangre periférica.

En la visita de control a los 12 meses post-TB se registró la satisfacción del paciente con el tratamiento. Se hizo a través de una sola pregunta (*¿Cómo calificaría su satisfacción con el tratamiento con termoplastia bronquial?*) a la que debían responder marcando una de las siguientes opciones: mala, regular, buena o muy buena.

5.3.2. Evaluación radiológica

La TCAR torácica con cortes en espiración forzada se realizó en la visita basal con el objetivo de descartar comorbilidad que pudiese interferir en el control del asma y evaluar cualitativamente la pequeña vía aérea (atrapamiento aéreo). Se repitió el estudio a los 6 meses post-TB para evaluar cambios radiológicos de forma cualitativa.

5.3.3. Evaluación funcional

En la visita basal y a los 6 meses post-TB se realizó un estudio funcional completo (espirometría con prueba broncodilatadora, volúmenes pulmonares estáticos y transferencia de monóxido de carbono). En las visitas a 1, 3 y 12 meses post-TB se realizó sólo espirometría con prueba broncodilatadora. Todas fueron llevadas a cabo por personal entrenado (enfermería) que se dedican a realizar de forma rutinaria estos estudios en la práctica clínica. La espirometría se realizó con un equipo Daptospir-600 (Sibelmed SA, Barcelona, España) siguiendo las recomendaciones SEPAR (88). Se utilizaron los valores de referencia establecidos para población mediterránea (89). Los volúmenes pulmonares estáticos y la transferencia de monóxido de carbono se obtuvieron con pletismógrafo de Ergometrix (Ergometrix SA, Esplugues de Llobregat, España).

Al tratarse de pacientes con asma grave no controlada, no se realizaron pruebas de provocación bronquial por razones de seguridad.

5.3.4. Evaluación parámetros de inflamometría y aire exhalado

Espujo inducido

Se cursó espujo inducido (EI) en la visita basal y a los 6 meses post-TB. La obtención la llevaron a cabo los profesionales sanitarios que la realizan en la práctica clínica diaria, siguiendo la metodología previamente descrita (90). Se resume a continuación: la muestra se obtuvo tras nebulización de suero salino hipertónico al 3% con un nebulizador ultrasónico (Omron NEU07). Se realizaron espirometrías seriadas, y si el FEV₁ caía un 20% o más del valor inicial, el procedimiento se suspendía. El procesamiento de la muestra obtenida se realizó máximo en las 2 horas siguientes a su obtención, seleccionándose manualmente los cúmulos mucoides, y separándolos de la saliva. Éstos se trataron con dithiotreitol (Sputolysin®, Calbiochem Corp., San Diego,

CA) en dilución 1:10, con un volumen añadido 4 veces el peso en miligramos de los tapones mucosos seleccionados, más el mismo volumen de solución salina fosfatada.

Se valoraron los siguientes parámetros: viabilidad celular (células vivas), concentración (células/gramo de esputo), porcentaje de células escamosas, consideradas como contaminación de vía aérea superior, mediante hemocitómetro y tinción azul de tripano. Tras centrifugar se obtuvo un sedimento celular que se utilizó para determinar el recuento leucocitario diferencial, mediante tinción Wright-Giemsa, según el procedimiento descrito por Pizzichini et al (91). La muestra fue catalogada de “alta calidad” si cumplía los siguientes criterios: concentración celular $> 1 \times 10^6$ cel/g, una viabilidad $> 40\%$ y una concentración de células epiteliales $< 20\%$. La muestra fue catalogada de “mala calidad” cuando la concentración de células epiteliales superaba el 80%. El EI se clasificó según el recuento leucocitario en los siguientes fenotipos inflamatorios (92):

- Eosinofílico: eosinófilos $> 3\%$
- Neutrofílico: neutrófilos $> 61\%$
- Mixto: eosinófilos $> 3\%$ y neutrófilos $> 61\%$
- Paucigranulocítico: eosinófilos $< 3\%$ y neutrófilos $< 61\%$.

Fracción de óxido nítrico exhalada

La medición de la FE_{NO} se efectuó mediante un equipo electroquímico (NO Vario Analyzer. FILT Lungen and Thorax diagnostic GmHb, Berlín, Alemania) a un flujo de 50 ml/s, siguiendo las recomendaciones de la ATS/ERS (93). Los resultados fueron expresados en ppb. Valores ≥ 50 ppb se consideraron elevados (55).

Temperatura del aire exhalado

La TAEp se midió con el dispositivo X-Halo[®] (Delmedica, Singapur) según la metodología previamente descrita (60). Los pacientes eran instruidos en respirar a volumen corriente, inspirando por nariz y exhalando dentro del dispositivo. La maniobra se continuó hasta alcanzar la estabilidad de la TAEp, definida por cambios inferiores a $0,01^\circ\text{C}$ durante 20 segundos.

Nariz electrónica

Se recogieron muestras de aire exhalado en las visitas basal, y a 1, 3 y 6 meses post-TB. El aire exhalado fue recogido con el dispositivo Cyranose 320® (Smith Detections, CA, EE.UU.) según la metodología descrita previamente (94).

5.4. Sesiones de termoplastia bronquial

El inicio de las sesiones del tratamiento con TB requería que el paciente estuviera estable del asma. Para minimizar las complicaciones asociadas al tratamiento, los pacientes no debían suspender su tratamiento médico habitual, y se les indicó realizar una pauta de prednisona a dosis de 50 mg al día durante los 3 días previos a cada sesión de TB, el día de la sesión y un día después de la misma, según el protocolo descrito previamente (74,80). En nuestro grupo, además se administraba a todos los pacientes una nebulización con 500 mcg de salbutamol 30 minutos antes del inicio de la sesión.

Se realizó una espirometría en las 24 horas antes y al día siguiente de la sesión de TB. Este dato, junto con otros parámetros clínicos, serviría para evaluar la necesidad de mantener al paciente ingresado. Todas las sesiones de TB se realizaron con el paciente en régimen de hospitalización durante 24 horas, aunque no hubiera habido ninguna complicación. Si pasadas las 24 horas el paciente se encontraba estable, era dado de alta para proseguir controles telefónicos a las 48, 72 horas, y presencial a los 7 días post-TB.

El tratamiento de TB se realizó según el protocolo establecido (80), con una ligera modificación. En la descripción de la técnica se recomienda no perder de vista la punta del catéter, donde se encuentra la cesta con los cuatro electrodos. En algunas localizaciones, por disposición anatómica bronquial, esta visualización es muy reducida, por lo que puede provocar que la cantidad de mucosa bronquial tratada se vea limitada. Por este motivo, se decidió modificar ligeramente el protocolo, permitiendo la entrada del catéter hasta la última marca (línea negra), situada a dos centímetros de la cesta, siempre que no se notara resistencia.

Las sesiones se realizaron en el orden establecido (primero LID, segundo LII, y tercero LLSS). Para todas las sesiones se utilizó un broncoscopio Olympus Lucera II (Olympus®, Hamburg, Germany) cuyo diámetro externo era de 4,9 mm y el canal de trabajo de 2 mm. Todos los procedimientos se realizaron en el gabinete de endoscopia respiratoria, en presencia de un anesthesiólogo. Los procedimientos se realizaron bajo anestesia general, sin relajación muscular. Los fármacos empleados fueron remifentanilo y propofol administradas con bomba de infusión continua. El paciente permanecía en ventilación espontánea durante todo el procedimiento. En todas las sesiones se utilizó un TOT (Rüschelit 7,5 mm, Rüsch, Teleflex Medical, Durham, NC, USA), que permitía garantizar el acceso rápido a la vía aérea y/o la eventual necesidad de ventilación externa. Al final cada sesión los fármacos sedantes se suspendían y el TOT era retirado. Las variables recogidas durante las sesiones de TB fueron:

- Duración de la sesión.
- Hallazgos endoscópicos de la broncoscopia. La intensidad de la traquebroncomalacia se clasificó en: leve (obstrucción durante la inspiración de la mitad de la luz aérea), moderada (si la obstrucción alcanza $\frac{3}{4}$ partes de la luz bronquial) e intensa (si la pared posterior alcanza la anterior) (95).
- Complicaciones intraprocedimiento. La gravedad del sangrado se clasificó en leve (grado 1) para aquella que requirió succión sin otras técnicas asociadas para su resolución; moderada (grado 2), para aquel sangrado que requería instilación de suero salino frío o balón de oclusión; y grave (grado 3) aquel sangrado que no se controló endoscópicamente, originó inestabilidad respiratoria o hemodinámica, requirió tratamiento quirúrgico o bien obligó al ingreso en una unidad de cuidados intensivos (96).
- Número de activaciones efectivas: eran aquellas en las que, tras el contacto de los electrodos con la pared bronquial, se emitía la radiofrecuencia de forma correcta. El dispositivo Alair® emitía un sonido regular que indicaba que el tratamiento se estaba realizando de forma correcta durante los 10 segundos de activación.
- Número de activaciones fallidas: éstas eran activaciones no efectivas dado que no se emitía radiofrecuencia a la pared bronquial, principalmente por mal contacto de algún electrodo. El dispositivo Alair® lo detectaba de forma automática y emitía un sonido para indicar que no se había podido efectuar la emisión de radiofrecuencia.

5.5. Biopsias bronquiales

Para el estudio histopatológico de la vía respiratoria se obtuvieron de 3 a 4 biopsias bronquiales de las carinas de división bronquial subsegmentaria del LII (B8-10) con fórceps (Modelo 1556, Boston Scientific, Marlborough, MA, USA) en tres momentos diferentes:

- Basal: durante la primera sesión de TB, donde se trataba el LID.
- 3 semanas post-TB: durante la tercera sesión de TB, donde se trataba ambos LLSS.
- 6 meses post-TB: durante una broncoscopia convencional extra, bajo sedación superficial y sin el uso de TOT.

Todas las biopsias se fijaron en formalina y se incluyeron en parafina. A cada biopsia se le asignaba un código de anonimización y se almacenaban con dicho código en el biobanco del Institut de Recerca Biomèdica del propio centro. Para cada biopsia se hicieron 11 cortes de 4 μ m cada uno, que se destinaron a la tinción con hematoxilina-eosina (1 por cada biopsia) y los 10 restantes se almacenaron para los estudios de IHQ posteriores.

La lámina teñida con hematoxilina-eosina fue utilizada para evaluar la integridad de la biopsia y señalar su idoneidad para el análisis morfométrico posterior. Las biopsias con artefactos de tinción, mayor presencia de cartílago, vasos sanguíneos o ausencia de tejido subepitelial fueron excluidas del análisis (97). Para la detección del músculo liso bronquial se realizó estudio IHQ con un anticuerpo monoclonal anti-actina alfa del músculo liso (clona 1a4, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) según el protocolo normalizado de laboratorio (**Anexo 1**). Para la detección de tejido conectivo se utilizó la tinción de tricrómico de Masson.

Como no existen valores de referencia de los índices medidos en las biopsias bronquiales, se escogieron 4 sujetos controles del biobanco de biopsias bronquiales del Institut de Recerca Biomèdica de Sant Pau, a los que se les aplicó el mismo protocolo tanto de tinciones e IHQ, como de análisis morfométrico que se detalla a continuación.

Los controles eran sujetos no asmáticos, no fumadores, que eran sometidos a una broncoscopia por cualquier indicación (como por ejemplo el estudio de hemoptisis en ausencia de hallazgos radiológicos). Estos controles no tenían antecedentes de enfermedades respiratorias que afectaran a ningún segmento bronquial.

5.6. Morfometría cuantitativa

Se utilizaron dos equipos distintos para escanear las láminas: una cámara digital (DP72, Olympus) utilizando un objetivo a 4 aumentos (software Cell-D[®]) y un escáner digital (escáner 3DHISTECH[®], Budapest, Hungary, Europe). Todas las imágenes digitalizadas fueron calibradas con una microregla de 2 mm impresa dividida en intervalos de 1 μ m (Leica Microsystems, Barcelona, España). Las imágenes calibradas de las biopsias bronquiales fueron procesadas utilizando una tableta digital (Wacom Intuos M[®], Wacom Europe GmbH, Düsseldorf, Alemania) para delinear el perímetro del área de la muestra y medir cada zona de interés.

Las imágenes digitales se analizaron con el software ImageJ[®] (v.1.43m, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) para realizar un algoritmo de extracción de color que detectaba y medía la superficie de las zonas teñidas en píxeles. La suma de píxeles en cada muestra se normalizó dividiendo por el área total analizada para obtener los índices de MML y la MTC (**Figura 7**). Los valores de los distintos índices fueron comparados con las biopsias de sujetos controles.

El análisis morfométrico de las láminas fue realizado de forma ciega por dos observadores independientes (OA y AM) en 10 sujetos (los 4 controles y 5 sujetos tratados con TB). Al hallarse una buena correlación interobservador, el resto de láminas fueron evaluadas por un único investigador (AM) a ciegas.

Figura 7. Ejemplo de cuantificación morfométrica mediante el software ImageJ® de una lámina de biopsia bronquial con inmunohistoquímica para alfa actina.

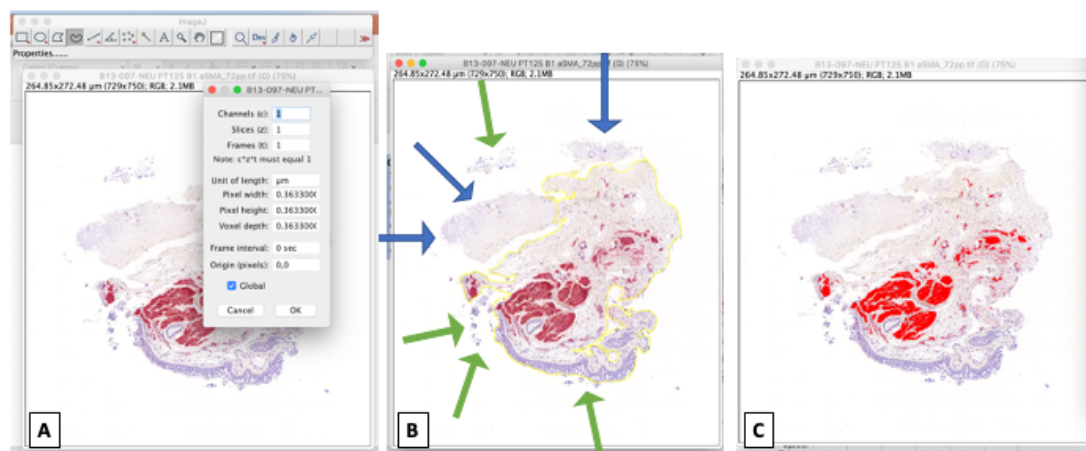


Lámina de biopsia bronquial escaneada (IHQ para alfa actina). A: Calibración de la imagen con microregla Leica (se ajusta el equivalente entre micrómetros y píxeles). B: delineación del área de la biopsia (línea amarilla) obviando la zona de cartilago (flechas azules) y fragmentos externos (moco, epitelio fragmentado) a la biopsia (flechas verdes). C: extracción de color (en este caso rojo para la alfa actina) para calcular los píxeles y su reconversión a micrómetros.

5.7. El paciente “respondedor”

Se tuvieron en cuenta los siguientes criterios para definir a continuación el grado de respuesta a termoplastia bronquial:

- Aumento de 0,5 puntos o más en el cuestionario mini AQLQ.
- Aumento de 3 puntos o más en el cuestionario ACT.
- Disminución en el número de agudizaciones graves (1 o más).
- Valoración global del paciente con respecto al tratamiento con TB como “buena” o “muy buena”.

Se clasificaron los pacientes en: respondedor (si cumplía todos los criterios), parcialmente respondedor (si cumplía al menos un criterio) y no respondedor (si no cumplía ningún criterio). De los tres grupos se analizaron las características clínicas, funcionales y de inflamometría basales, a los 6 meses y a los 12 meses post-TB.

5.8. Análisis Estadístico

Los resultados se presentan como mediana y rango intercuartílico para las variables continuas no paramétricas, y media y desviación estándar para las variables continuas que seguían una distribución normal. Para las variables categóricas, se presentan como porcentajes. Para evaluar los cambios en la MML y la MTC se utilizó la prueba de Friedman para variables no paramétricas. Se realizó un análisis post-hoc con la prueba de Wilcoxon para medidas pareadas para comparar la MML y la MTC en los diferentes puntos temporales. Para comparar diferencias entre controles y medidas basales en pacientes asmáticos se utilizó la prueba U de Mann-Whitney. La prueba exacta de Fisher se usó para comparar las variables cualitativas. Se utilizó la prueba no paramétrica r de Spearman para correlaciones entre variables cuantitativas. Para evaluar la concordancia de las medidas de variables cuantitativas entre dos observadores independientes se analizó el coeficiente de correlación interclase.

La significancia estadística se definió con un p-valor inferior a 0,05. Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 21 (IBM® SPSS® Statistics 21, Armonk, New York, EUA) y el software GraphPad Prism Version 6 (GraphPad Software Inc., San Diego, California, EE.UU.).

6. RESULTADOS

6. Resultados

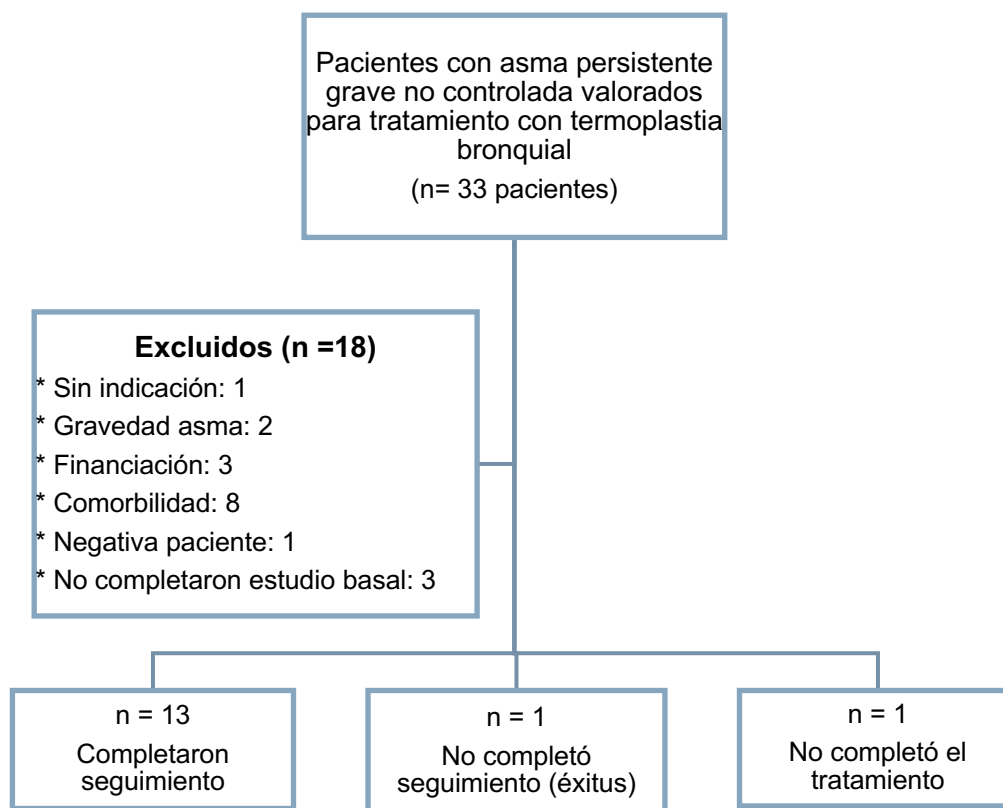
Se valoraron 33 pacientes con AGNC para tratamiento con TB. De éstos se excluyeron 18 pacientes y 15 se incluyeron para tratamiento. Se resume el diagrama de flujo en la **figura 8**.

Las comorbilidades que motivaron la exclusión de los pacientes como posibles candidatos a TB fueron:

- Edad > 80 años: 1.
- Infección crónica por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a ciprofloxacino, en tratamiento con antibiótico inhalado, sin claras bronquiectasias en la TC torácica: 1.
- Bronquiectasias: 3.
- EPOC enfisematoso y asma con obstrucción fija al flujo aéreo (FEV₁ 26%): 1.
- Síndrome de Churg-Strauss: 1.
- Fibrilación auricular: 1.
- Cardiopatía hipertensiva: 2.

De los 15 pacientes incluidos en el estudio completaron el tratamiento 14 (un paciente no completó el tratamiento por complicaciones graves asociadas a la realización de la primera sesión de TB), y una paciente completó el tratamiento, pero no el seguimiento por éxitus no atribuible a la TB.

Figura 8. Diagrama de flujo que muestra la selección y seguimiento de los pacientes en el estudio.



6.1. Características basales

6.1.1. Demográficas y clínicas

Todos los pacientes incluidos tenían diagnóstico de asma confirmado según la GINA (84). Como prueba objetiva para confirmar el asma fue necesaria la realización de prueba de provocación bronquial con metacolina en 3 pacientes (20%). El resto de los pacientes tenían documentada la obstrucción bronquial y la reversibilidad con la prueba broncodilatadora. En la **tabla 1** se resumen los datos demográficos, clínicos y funcionales de los pacientes incluidos en el estudio.

Tabla 1. Características demográficas y clínicas de los pacientes incluidos en el estudio.

	Basal (n=15)
Mujeres, n (%)	13 (86,7)
Edad (años)	45 (38-60)
Peso (kg)	65 (58-74)
Talla (cm)	159 (157-164)
IMC (kg/m²)	27,5 (22,8-33,3)
FEV₁ pre-bd (L)	1,99 (1,47-2,28)
FEV₁ pre-bd (%)	67 (55-83)
FEF_{25-75%} pre-bd (mL)	0,83 (0,47-1,35)
FEF_{25-75%} pre-bd (%)	29 (23-50)
ACT	12 (9-16,2)
Mini AQLQ	3,8 (2,87-5,04)
nº Agudizaciones año previo	9 (5-10)
nº Hospitalizaciones año previo	0 (0-2)
Uso de LABA, n (%)	15 (100)
Uso de CI (>1000 mcg/día beclometasona, o equivalente), n (%)	15 (100)
Uso de LAMA, n (%)	15 (100)
Uso de CO, n (%)	6 (40)
Dosis CO (mg)	7,5 (5-16,25)
Uso de Triamcinolona 50mg mensual intramuscular, n (%)	2 (13,3)
Uso de Teofilina, n (%)	3 (20)
Uso de Montelukast, n (%)	13 (86,7)
Uso de Omalizumab, n (%)	7 (46,6)
• Actual	2 (13,3)
• Pasado	5 (33,3)
Uso de broncodilatador de rescate, n (%)	
• Mensual	1 (6,7)
• Semanal	5 (33,3)
• Casi a diario	2 (13,3)
• Varias veces al día	7 (46,7)

Valores expresados en mediana (rango intercuartílico), si no se especifica lo contrario. Kg: kilogramos; L: litros; cm: centímetros; m: metro; IMC: índice de masa corporal; ACT: *Asthma Control Test*; AQLQ: *Asthma Quality of Life Questionnaire*; LABA: broncodilatador β_2 adrenérgico de larga duración; CI: corticoide inhalado; mcg: microgramo; LAMA: broncodilatador antimuscarínico de larga duración; CO: corticoide oral; mg: miligramo.

Se completó el estudio funcional respiratorio con volúmenes pulmonares estáticos y transferencia de monóxido de carbono (DLCO), también ajustada por volumen alveolar (KCO). Se observaron los siguientes valores basales de volumen residual y capacidad pulmonar total: 130% (113,25 – 179,5) y 117,5% (102,5 – 132,5), respectivamente. El valor de DLCO fue de 81% (71,75 – 97,5) y KCO 85% (81 – 99,5).

Entre las comorbilidades asociadas al asma más comunes se encontraron:

- 10 pacientes (71,4%) estaban por encima de su peso recomendado, de los cuales 6 (42,8%) estaban en rango de obesidad.
- La poliposis nasosinusal en 8 pacientes (53,3%), todos recibían tratamiento farmacológico (corticoides inhalados) y en 5 pacientes se había realizado tratamiento quirúrgico (33,3%).
- 7 pacientes (46,7%) tenían atopia documentada.
- Otras comorbilidades asociadas fueron: hipotiroidismo en 3 pacientes (20%) (todos ellos correctamente tratados y con niveles de hormonas tiroideas en valores de referencia en el momento de la valoración para TB); trastornos de la esfera psiquiátrica en 2 pacientes (en tratamiento y controlados); problemas digestivos como hernia de hiato y enfermedad por reflujo gastroesofágico en 5 pacientes (33,3%), correctamente tratados y con los síntomas controlados; síndrome de apnea e hipoapnea del sueño en 2 pacientes (33,3%) en tratamiento con CPAP, bien adaptados y síntomas controlados; accidente cerebrovascular hacía 10 años en una paciente, sin secuelas; neoplasia de mama en una paciente, 6 años antes del tratamiento con TB, y que fue tratada con cirugía, radioterapia y quimioterapia, en remisión; una paciente con una vía accesoria aurículo-ventricular bidireccional, que fue ablacionada antes del tratamiento con TB, y de lo cual estaba estable en el momento de incluirla en el estudio; intolerancia antiinflamatorios no esteroideos en 7 pacientes.

Aunque no formaba parte del protocolo del estudio, un subgrupo de pacientes había sido sometido a una broncoscopia exploratoria previa indicada por parte de su médico responsable como parte de estudio por asma grave. En el resto, la exploración broncoscópica completa se practicó coincidiendo con la primera sesión de tratamiento

con TB. En ningún caso, los hallazgos endoscópicos conllevaron la suspensión o contraindicación del tratamiento con TB. Los hallazgos macroscópicos de la exploración broncoscópica fueron los siguientes:

- Árbol traqueobronquial de aspecto normal en 5 pacientes (35,7%).
- Hiperemia difusa de la mucosa bronquial de aspecto inflamatorio en 5 pacientes (35,7%).
- Traqueobroncomalacia leve-moderada en 4 pacientes (28,57%).

6.1.2. Radiológicas

El hallazgo más habitual de la TCAR torácica fue la presencia de engrosamiento de la pared bronquial en 10 pacientes (66,67%), siguiéndole la presencia de atrapamiento aéreo en 7 pacientes (46,67%). En un caso se objetivó un foco inflamatorio bronquiolar (6,67%) sin repercusión clínica, y sin alteraciones radiológicas a destacar en un paciente (6,67%).

6.1.3. Inflamometría

Hubo un caso (paciente nº15) que no pudo cursarse esputo inducido. De los restantes, no se pudo analizar la muestra por ser de mala calidad en 3 pacientes (14,3%). Se pudieron analizar 11 esputos, de los cuales 5 (34,7%) eran de alta calidad.

El fenotipo inflamatorio resultante fue:

- Eosinofílico: 5 pacientes (45,45%).
- Neutrofilico: 1 paciente (9,1%).
- Paucigranulocítico: 5 pacientes (45,45%).

Los datos basales en cuanto a IgE, eosinófilos en sangre, FE_{NO} y TAEp se resumen en la **tabla 2**.

Tabla 2. Características basales de parámetros de inflamometría.

	Basal (n=15)
Espuito inducido (% células)	
• Eosinófilos	1,4 (0,33-19,35)
• Neutrófilos	52,55 (26,3-55,83)
• Macrófagos	43,85 (28,18-67,93)
IgE	71 (22-287)
Eosinófilos en sangre (x10⁶/L)	360 (170-550)
FE_{NO} (ppb)	38 (18-79)
TAEp (°C)	34,41 (34-34,49)

Valores expresados en mediana (rango intercuartílico), si no se especifica lo contrario. IgE: inmunoglobulina E; FE_{NO}: fracción de óxido nítrico exhalado; ppb: partículas por billón; TAEp: temperatura del aire exhalado *plateau*; °C: grados centígrados.

A pesar de que se obtuvo muestra de *e-nose* en los pacientes antes y después del tratamiento con TB, la muestra fue insuficiente para poder proceder a su análisis.

6.2. Sesiones de termoplastia bronquial

De los 15 pacientes incluidos el tratamiento se realizó el tratamiento completo (3 sesiones) en 14 pacientes. Se recogen los datos de las sesiones en la **tabla 3**.

Tabla 3. Resumen de las sesiones de termoplastia bronquial.

	1ª sesión (LID) (n=15)	2ª sesión (LII) (n=14)	3ª sesión (LLSS) (n=14)
Activaciones	68 (62-82)	70 (52,5-88,5)	81 (69-121,25)
Fallidas	11 (6-16)	8 (2,75-10,5)	11 (6-21)
Duración	60 (50-68)	48 (42,75-56,5)	62,50 (50-81,25)

Los datos se expresan en mediana (rango intercuartílico). LID: lóbulo inferior derecho; LII: lóbulo inferior izquierdo; LLSS: lóbulos superiores; min: minutos.

6.3. Eficacia Clínica

Para los datos de eficacia clínica se hizo el análisis en base a los pacientes que habían completado el tratamiento (n=14). En la **tabla 4** se recogen los principales resultados.

Tabla 4. Resultados de eficacia clínica.

	Basal	12 meses	Valor de p
Mini AQLQ	3,7(2,85-4,13)	5,74 (4,53-6,8)	0,009
Sujetos con cambio $\geq 0,5$ puntos, n (%)	--	6 (42,86)	
ACT	12 (10,5-13,25)	21 (14-25)	0,011
Sujetos con cambio ≥ 3 puntos, n (%)	--	7 (50)	
Agudizaciones (nº/sujeto/año)	5,5 (4,75-10)	2 (0-5,5)	0,000
Hospitalizaciones (nº/sujeto/año)	0 (0-2)	0 (0-1,5)	0,524

Los datos se expresan en mediana (rango intercuartílico), si no se especifica lo contrario. AQLQ: *Asthma Quality of Life Questionnaire*; ACT: *Asthma Control Test*.

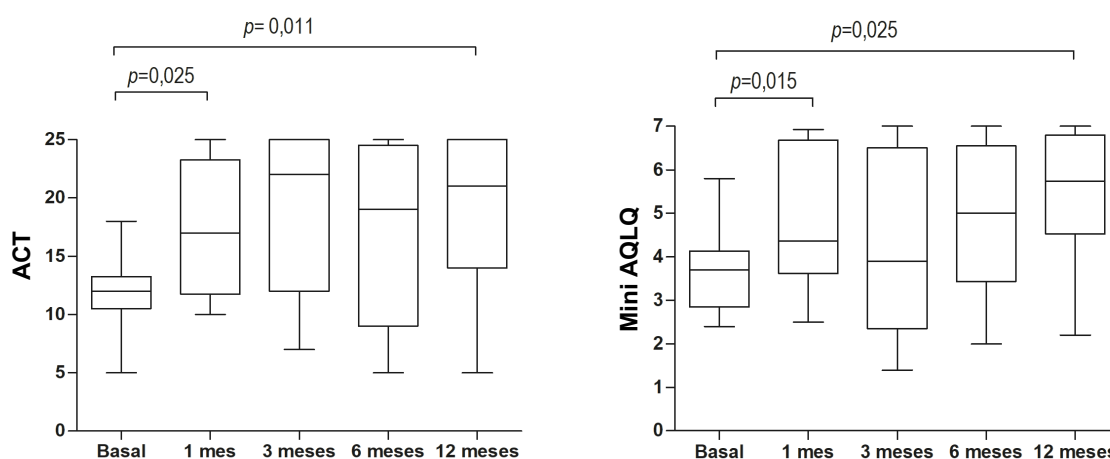
6.3.1. Calidad de vida

Los pacientes mejoraron la puntuación en el cuestionario de calidad de vida mini AQLQ tras el tratamiento con TB ($p=0,009$) (**tabla 4**). En el análisis post-Hoc (prueba de Wilcoxon) se observaron diferencias en las visitas al mes [4,37 (3,62 – 6,68), $p=0,015$], 6 meses [5 (3,44 – 6,55), $p=0,028$] y 12 meses post-TB [5,74 (4,53 – 6,8), $p=0,025$], con respecto a la puntuación basal [3,7 (2,85 – 4,13)] (**figura 9**). A pesar de que en el tercer mes post-TB la puntuación en el cuestionario disminuyó, las diferencias no fueron significativas. Se observó un aumento en la puntuación del cuestionario clínicamente relevante desde el primer mes post-TB (al finalizar el periodo de tratamiento) con un incremento neto de 2,17 (0,71 – 2,66) y 1,53 (0,57 – 2,64) puntos a los 6 y 12 meses post-TB, respectivamente.

6.3.2. Control del asma

Los pacientes aumentaron la puntuación en el cuestionario ACT tras el tratamiento con TB ($p=0,011$) (**figura 9**). En el análisis post-Hoc (prueba de Wilcoxon) se observó un aumento de la puntuación en las visitas al mes [17 (11,75 – 23,25), $p=0,025$], 3 meses [22 (12 – 25), $p=0,011$], 6 meses [19 (9 – 24,5), $p=0,010$] y 12 meses post-TB [21 (14 – 25), $p=0,025$], con respecto a la puntuación basal [12 (10,5 – 13,25)]. Hubo un aumento en la puntuación del cuestionario clínicamente relevante desde el primer mes post-TB (al finalizar el periodo de tratamiento) con un incremento neto de 8 (2,25 – 10,5) y 8,5 (1,5 – 11) a los 6 y 12 meses post-TB, respectivamente (**tabla 4**).

Figura 9. Evolución del cuestionario ACT y mini AQLQ durante el estudio.



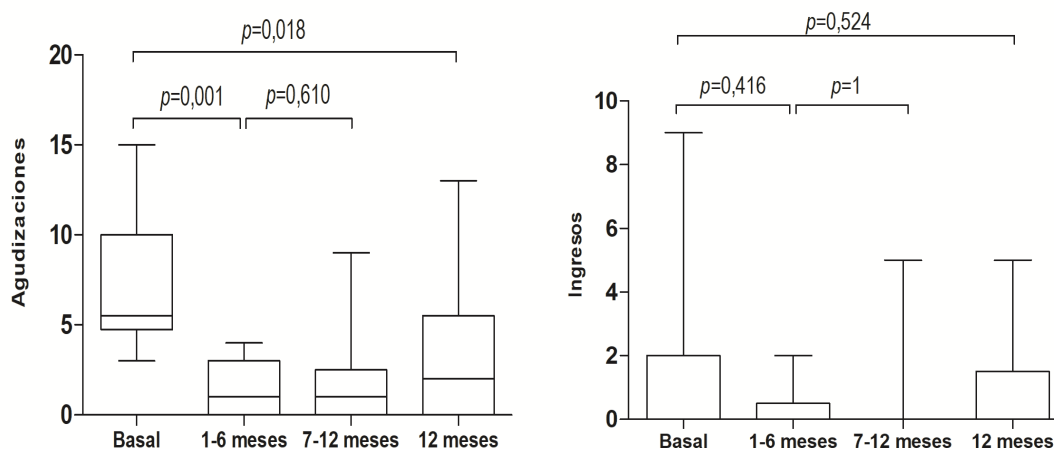
ACT: *Asthma Control Test*; AQLQ: *Asthma Quality of Life Questionnaire*.

6.3.3. Agudizaciones e ingresos

La TB redujo las agudizaciones asmáticas graves (**tabla 4**). En el análisis post-Hoc (prueba de Wilcoxon) se observaron diferencias en las visitas a los 6 meses [1 (0 – 3), $p=0,001$] y a los 12 meses post-TB [2 (0 – 5,5), $p=0,018$]. No se observaron diferencias entre el primer y segundo semestre post-TB [1 (0-3) vs 1 (0-2,5), respectivamente; $p=0,610$] (**figura 10**).

Aunque hubo una tendencia a la disminución en el número de ingresos (**figura 10**), las diferencias no fueron significativas (**tabla 4**).

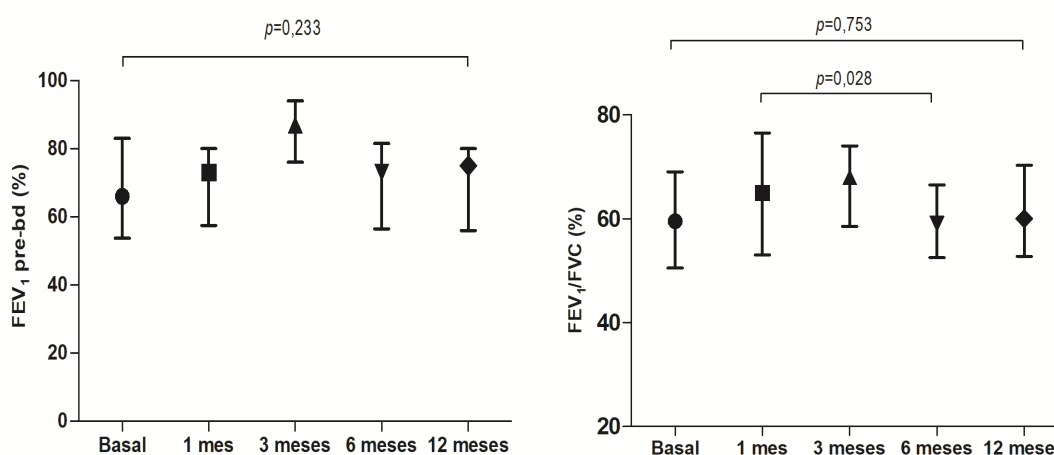
Figura 10. Agudizaciones graves e ingresos hospitalarios antes y después del tratamiento con TB.



6.3.4. Función pulmonar e inflamometría

Tras una tendencia inicial a la mejoría en la relación FEV₁/FVC pre-broncodilatador a los 3 meses post-TB con respecto al basal, se observó una caída significativa a los 6 meses post-TB [70 (59-74 vs 59 (52,5-66,5), respectivamente; $p=0,028$] (**figura 11**). No hubo diferencias a los 6 ni los 12 meses post-TB con respecto al basal (**tabla 5**).

Figura 11. Cambios en parámetros de función pulmonar: FEV₁ (%) y FEV₁/FVC pre-broncodilatador.



FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; FVC: capacidad vital forzada; FEF: flujo espiratorio forzado.

Tabla 5. Evolución funcional según espirometría en pacientes tratados con TB.

	Basal	1 mes	3 meses	6 meses	12 meses	Valor de p
Pre-broncodilatador						
FVC (L)	3,39 (2,57 – 3,64)	3,95 (2,72 – 3,71)	3,15 (2,84 – 3,86)	3,02 (2,87 – 3,85)	3,29 (2,69 – 3,76)	0,552
FVC (%)	91 (84,25 – 97,25)	86 (79,5 – 92,5)	92 (88 – 100)	96 (81,5 – 102)	91,50 (85,25 – 100,75)	0,429
FEV₁ (L)	1,99 (1,45 – 2,31)	1,96 (1,55 – 2,12)	2,08 (1,69 – 2,28)	1,76 (1,57 – 2,3)	2 (1,55 – 2,45)	0,450
FEV₁ (%)	67 (53,57 – 83)	73 (57,5 – 80)	81 (59 – 74)	73 (56,5 – 81,5)	75 (56 – 80)	0,233
FEV₁/FVC	59 (50,5 – 69)	64,50 (51 – 73,5)	70 (59 – 74)	59 (52,5 – 66,5)	60 (52,75 – 70,25)	0,034
FEF_{25-75%} (L)	0,83 (0,44 – 1,44)	1,22 (0,58 – 1,42)	1,15 (0,69 – 1,67)	1,10 (0,5 – 1,2)	1 (0,56 – 1,33)	0,161
FEF_{25-75%} (%)	29 (22,25 – 58)	45,50 (25,5 – 61,75)	55 (29 – 61)	35 (24 – 47,5)	40,50 (20,5 – 53,75)	0,401
Post-broncodilatador						
FVC (L)	3,33 (2,77 – 3,1)	3,20 (2,86 – 3,93)	3,32 (2,83 – 4,06)	3,30 (2,91 – 3,87)	3,30 (2,53 – 3,33)	0,799
FVC (%)	99 (86,25 – 107,75)	94 (89,25 – 97,5)	96 (89 – 105)	97 (84,25 – 103,75)	93 (87 – 105)	0,695
FEV₁ (L)	1,98 (1,65 – 2,84)	2,27 (1,7 – 2,38)	2,28 (1,85 – 2,78)	1,94 (1,62 – 2,38)	2,07 (1,63 – 2,63)	0,452
FEV₁ (%)	84 (62,75 – 90,25)	83,50 (73,5 – 87,5)	87 (76 – 94)	77,50 (64,75 – 88,75)	82 (80 – 87)	0,295
FEF_{25-75%} (L)	1 (0,65 – 1,65)	1,44 (0,69 – 1,81)	1,47 (1,05 – 1,92)	1,07 (0,54 – 1,62)	1,20 (0,74 – 1,55)	0,042
FEF_{25-75%} (%)	44 (24,25 – 91)	52,50 (30 – 78)	56 (54 – 82)	56,50 (35 – 74)	55 (52 – 63)	0,116

FVC: capacidad vital forzada; FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; FEF: flujo espiratorio forzado.

Tampoco se objetivaron diferencias en los valores de volúmenes pulmonares estáticos y la transferencia de monóxido de carbono a los 6 meses post-TB (**tabla 6**).

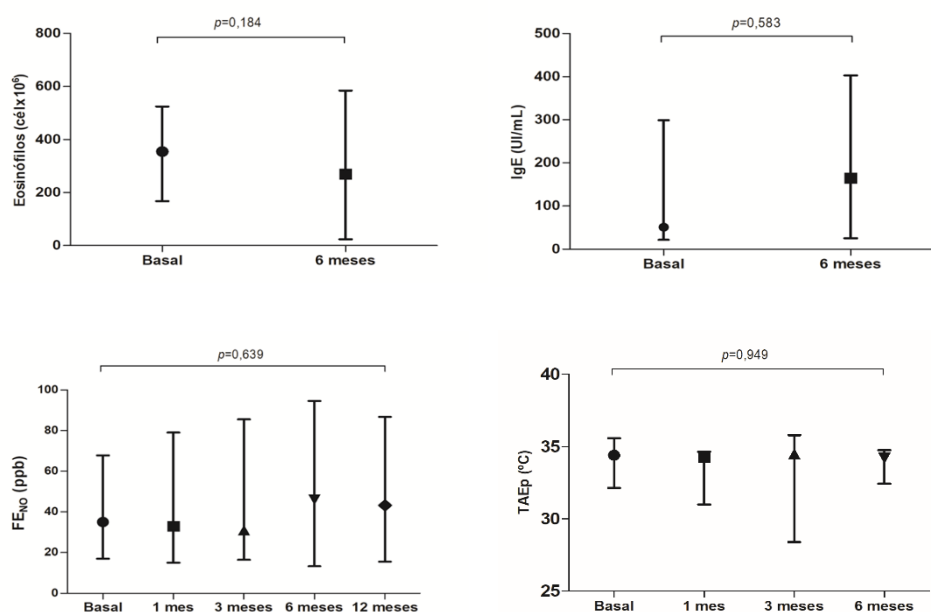
Tabla 6. Volúmenes pulmonares estáticos y transferencia de monóxido de carbono.

	Basal	6 meses	Valor de p
VR (%)	130 (113,25-179,5)	147,5 (119,75-174,75)	0,824
CPT (%)	117,5 (102,5-132,5)	116 (104,25-129)	0,790
DLCO (%)	81 (71,75-97,5)	82 (77-97,5)	0,271
KCO (%)	85 (81-99,5)	89,50 (81,5-98,75)	0,346

Valores expresados en mediana (rango intercuartílico). VR: volumen residual; CPT: capacidad pulmonar total; DLCO: transferencia de monóxido de carbono; KCO: transferencia de monóxido de carbono ajustado por volumen alveolar.

No se observaron diferencias en los diferentes parámetros de inflamometría, como los eosinófilos en sangre periférica, IgE, FE_{NO}, ni TAE_p (**figura 12**).

Figura 12. Cambios en los parámetros de inflamometría tras tratamiento con TB.



Gráficas expresadas en Mediana (rango intercuartílico). IgE: Inmunoglobulina E; FE_{NO}: fracción de óxido nítrico exhalado; ppb: partículas por billón; TAE_p: Temperatura del aire exhalado *plateau*.

De los pacientes que completaron el seguimiento a los 6 meses (13 pacientes) se cursó esputo inducido en 10 casos, y uno se excluyó por mala calidad de la muestra. De los 9 restantes, 5 tenían predominio de eosinófilos, un paciente predominio de neutrófilos y 3 pacientes eran paucigranulocíticos. Los resultados fueron superponibles al estudio pre-TB.

6.3.5. Cambios en el tratamiento basal del asma

Aunque no era objetivo del estudio valorar la disminución del tratamiento de mantenimiento para el asma, se registraron los cambios de tratamiento. Se registró retirada de corticoides orales en 2 pacientes y reducción de LAMA en 7 pacientes. El resto de tratamiento se mantuvo sin cambios (**tabla 7**).

Tabla 7. Cambios registrados en el tratamiento de mantenimiento.

	Basal (n=15)	12 meses (n=14)
Uso de LABA, n (%)	15 (100)	14 (100)
Uso de CI, n (%)	15 (100)	14 (100)
Uso de LAMA, n (%)	15 (100)	7 (50)
Uso de CO, n (%)	8 (53,3)	6 (42,86)
Uso de Teofilina, n (%)	3 (20)	3 (21,42)
Uso de Montelukast, n (%)	13 (86,7)	13 (92,88)
Uso de Omalizumab, n (%)	7 (46,6)	7 (50)
• Actual	2 (13,3)	2 (14,29)
• Pasado	5 (33,3)	5 (35,71)

LABA: broncodilatador β_2 adrenérgico de larga duración; CI: corticoide inhalado; LAMA: broncodilatador antimuscarínico de larga duración; CO: corticoide oral.

6.3.6. Satisfacción con la termoplastia bronquial

De los 14 pacientes que completaron el tratamiento con TB, 13 respondieron al cuestionario de satisfacción con el tratamiento: 5 pacientes (38,5%) valoraron la experiencia como muy buena, 3 pacientes buena (23,1%), 4 pacientes regular (30,8%) y un paciente la valoró negativamente (7,7%).

6.4. Seguridad

Periodo de tratamiento

El periodo de tratamiento comprende desde el inicio de la primera sesión de TB, donde se trata el LID, hasta un mes después de la última sesión de TB, donde se tratan ambos LLSS. No hubo complicaciones en 3 pacientes en la primera sesión (20%), 4 pacientes en la segunda sesión (28,57%) y 2 pacientes en la tercera (14,29%).

La complicación más habitual fue la aparición de síntomas leves respiratorios (disnea, tos, expectoración mucosa, molestias torácicas inespecíficas, odinofagia) que se han agrupado para una mejor interpretación de los resultados (**tabla 8**). Se etiquetaron como “leves” por no haber requerido una intervención médica específica para su manejo. Cuando el conjunto de síntomas encajaba dentro de un diagnóstico clínico-radiológico concreto, se decidía agruparlos para facilitar su interpretación. En la **figura 13** se resumen las complicaciones durante el periodo de tratamiento.

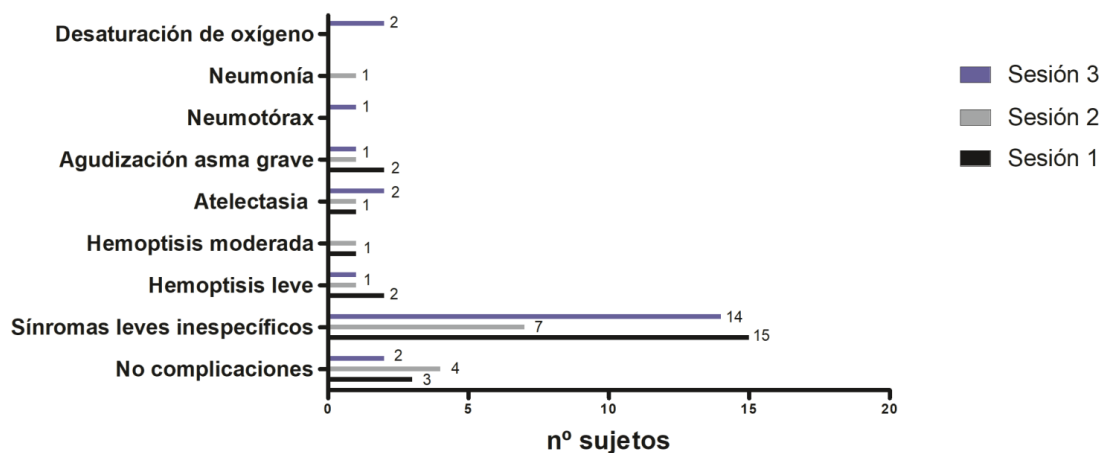
Todas las complicaciones aparecieron durante las primeras 24 horas post-tratamiento y se resolvieron en el plazo de una semana.

Tabla 8. Conjunto de síntomas leves relacionados con el tratamiento con TB.

	1ª Sesión (LID)	2ª Sesión (LII)	3ª Sesión (LLSS)
Disnea	4	2	3
Tos	6	3	5
Expectoración	0	0	0
Molestia torácica inespecífica	4	2	4
Odinofagia	1	0	2
Total	15	7	14

LID: lóbulo inferior derecho; LII: lóbulo inferior izquierdo; LLSS: lóbulos superiores.

Figura 13. Complicaciones en el periodo de tratamiento.



El paciente nº 15 presentó una agudización grave del asma al finalizar la primera sesión de TB (LID) con necesidad de traslado a una unidad de críticos, sin llegar a precisar IOT ni ventilación mecánica invasiva. Por este motivo, una vez recuperado se decidió no realizar las siguientes sesiones de TB y discontinuar el tratamiento.

En todos los casos de atelectasia del lóbulo tratado, con intensificación del tratamiento broncodilatador y fisioterapia respiratoria, se resolvieron en un plazo de 24 horas.

La única neumonía documentada mediante radiografía de tórax a las pocas horas de finalizar la segunda sesión de TB hizo buena respuesta al tratamiento antibiótico empírico con amoxicilina/ácido clavulánico oral y se alargó el ingreso durante 48 horas al ser un paciente que procedía de otra comunidad autónoma.

Durante la tercera sesión de TB se observó desaturación de oxígeno en dos casos. No llegó a precisar el uso de oxígeno suplementario ni ventilación mecánica invasiva. Se recuperó espontáneamente.

Hubo un caso de neumotórax del hemitórax tratado a las pocas horas de haber finalizado la tercera sesión que requirió la colocación de un tubo de drenaje pleural para su completa resolución a las 24 horas.

Periodo de seguimiento hasta los 12 meses post-TB

Durante el periodo de seguimiento hubo un éxitus no relacionado con el tratamiento con TB (accidente cerebrovascular).

No se objetivó un empeoramiento de la función pulmonar al año post-TB con respecto al basal (**tabla 5**). Tampoco hubo cambios en el número de ingresos al año post-TB, ni un incremento del número de agudizaciones (**figura 10**).

A nivel radiológico, en dos pacientes se describieron bronquiectasias a los 6 meses post-TB (15,4%), etiquetadas por el radiólogo como “leves” y no visibles en los TACs previos. No hubo otros cambios a destacar en la TCAR torácica (**tabla 9**).

Tabla 9. Hallazgos radiológicos basal y 6 meses pos-TB.

	Basal (n=14)	6 meses post-TB (n=13)
Normalidad	1 (7,1)	3 (23,1)
Engrosamiento pared bronquial	9 (64,3)	7 (53,8)
Atrapamiento aéreo	6 (42,9)	4 (30,8)
Bronquiectasias	0 (0)	2 (15,4)
Dilatación pared bronquial (no BQ)	0 (0)	1 (7,7)
Foco inflamatorio bronquiolar	1 (7,1)	1 (7,7)
Consolidación parenquimatosa	0 (0)	1 (7,7)

Datos expresados en número de sujetos (porcentaje). TB: termoplastia bronquial; BQ: bronquiectasias.

6.5. Cambios histopatológicos

6.5.1. Biopsias bronquiales

Se obtuvieron un total de 145 biopsias entre los 3 procedimientos: 44 en el estudio basal, 50 a las 3 semanas post-TB y 41 a los 6 meses post-TB. Fueron aptas para el análisis el 86,36% de las biopsias obtenidas en el estudio basal [3 (3 – 3)], el 80% de las biopsias obtenidas a las 3 semanas post-TB [3 (2,25 – 3,75)], y el 75,6% de las obtenidas a los 6 meses pos-TB [2,5 (2 – 3,75)] (**tabla 10**). Hubo dos casos en los que no pudo obtenerse biopsias a los 6 meses post-TB: en el paciente nº6 por éxitus durante el periodo de seguimiento, y en el paciente nº13 por agudización asmática que impidió la realización de la broncoscopia de control.

Tabla 10. Relación de biopsias obtenidas y aptas para el análisis morfométrico.

Paciente	Basal		3 semanas post-TB		6 meses post-TB	
	Obtenidas	Analizadas	Obtenidas	Analizadas	Obtenidas	Analizadas
1	3	3	3	3	4	4
2	3	3	4	4	4	3
3	3	3	4	3	3	2
4	4	4	4	4	3	3
5	5	3	4	3	4	2
6	4	2	5	2	--	--
7	2	1	4	2	3	0
8	4	3	4	3	3	2
9	4	2	4	2	3	3
10	3	3	3	2	4	4
11	4	3	4	3	4	4
12	3	3	4	4	3	2
13	2	2	4	2	--	--
14	3	3	3	3	3	2
TOTAL	44	38	50	40	41	31

TB: Termoplastia bronquial

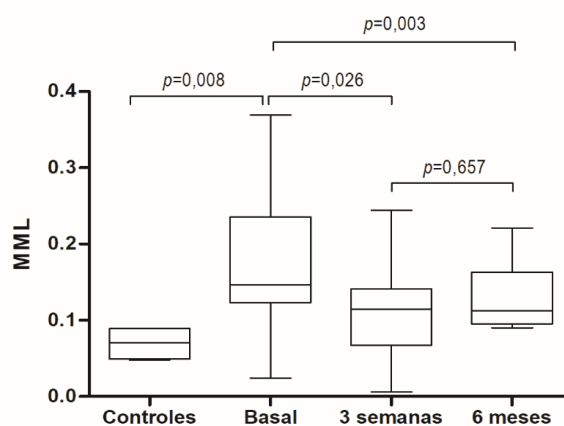
6.5.2. Morfometría cuantitativa

En un primer análisis de 5 pacientes (basal, 3 semanas y 6 meses post-TB) y 3 controles, dos investigadores (OA y AM) realizaron el análisis morfométrico. El coeficiente de correlación interobservador resultó 0,926 (IC 95%: 0,810 – 0,971). Al haber buena concordancia entre ambos, el análisis morfométrico de las muestras restantes fue realizado por un solo investigador (AM).

Masa de músculo liso

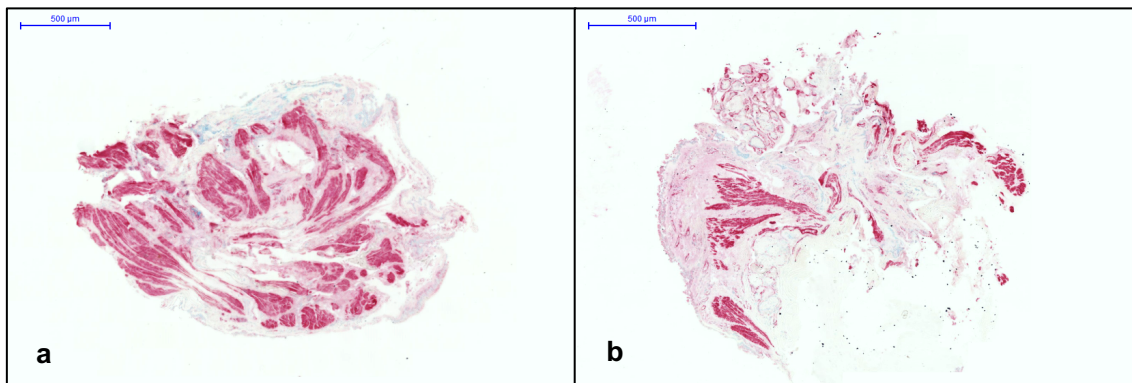
En comparación con los controles sanos, los pacientes asmáticos tenían una mayor MML antes del tratamiento con TB [0,071 (0,049 – 0,089) vs 0,156 (0,137 – 0,252), respectivamente; $p=0,008$]. La prueba de Friedman detectó cambios significativos en la MML tras el tratamiento ($p=0,001$). En el análisis post-Hoc con la prueba de Wilcoxon se observaron diferencias en la MML a las 3 semanas con respecto al basal [0,118 (0,068 – 0,137) vs 0,156 (0,137 – 0,252), respectivamente; $p=0,026$] y también a los 6 meses post-TB con respecto al basal [0,112 (0,095 – 0,163) vs 0,156 (0,137 – 0,252), respectivamente; $p=0,003$]. No hubo diferencias entre las 3 semanas post-TB y los 6 meses post-TB ($p=0,657$). (figuras 14 y 15). La intensidad del cambio de MML a los 6 meses post-TB fue -0,047 (-0,067 / -0,041)

Figura 14. Diferencias en la MML entre sujetos controles y pacientes asmáticos sometidos a TB (pre-TB, 3 semanas y 6 meses post-TB).



MML: masa de músculo liso

Figura 15. Detección de músculo liso bronquial mediante inmunohistoquímica en biopsias bronquiales de pacientes asmáticos tratados con TB.

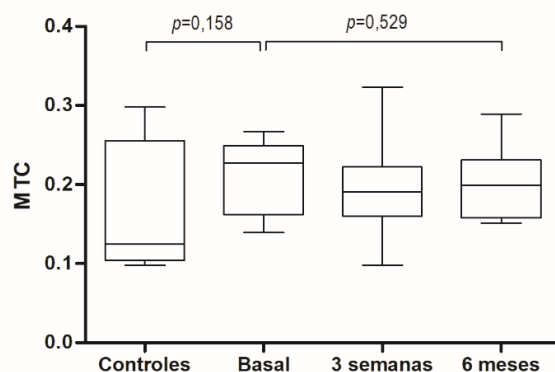


Biopsias bronquiales obtenidas pre-TB (a) y 6 meses post-TB (b). Inmunohistoquímica con anticuerpo monoclonal anti-alfa actina del músculo liso (clona 1A4, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

Masa de tejido conectivo

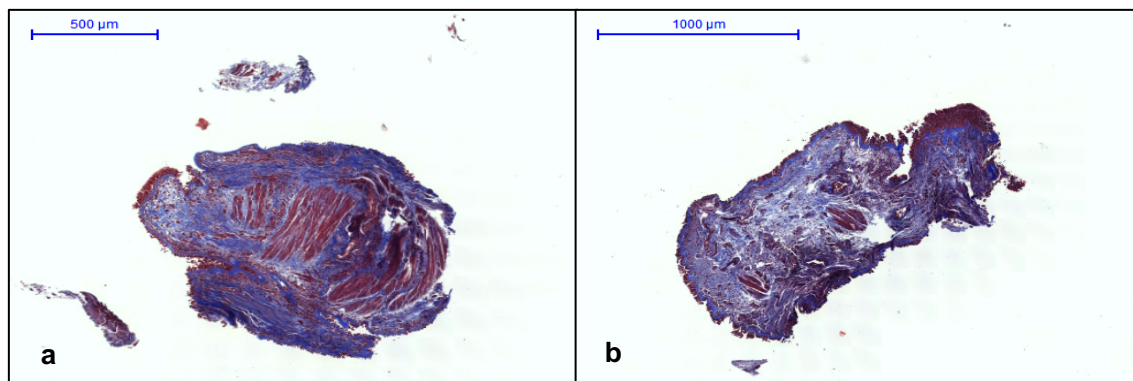
No hubo diferencias en la MTC entre sujetos sanos [0,125 (0,104 – 0,248)] y pacientes antes del tratamiento con TB [0,225 (0,166 – 0,238)] ($p=0,158$). No se hallaron cambios en la MTC post-TB ($p=0,529$) (**figura 16**). Se observó una tendencia inicial a la reducción de MTC a las 3 semanas con respecto al basal, aunque las diferencias no fueron significativas [0,169 (0,152 – 0,219); $p=0,470$]. Tampoco se observaron diferencias a los 6 meses post-TB con respecto al basal [0,199 (0,158 – 0,231); $p=0,423$], ni entre las 3 semanas post-TB y los 6 meses post-TB ($p=0,182$) (**figura 17**). La intensidad del cambio de MTC a los 6 meses post-TB fue -0,008 (-0,059 – 0,012).

Figura 16. Diferencias en la MTC entre sujetos controles y pacientes asmáticos sometidos a TB (pre-TB, 3 semanas y 6 meses post-TB).



MTC: masa de tejido conectivo.

Figura 17. Detección de colágeno mediante la tinción con Tricrómico de Masson en biopsias bronquiales de pacientes asmáticos tratados con TB.



Biopsias bronquiales obtenidas pre-TB (a) y 6 meses post-TB (b). Tricrómico de Masson.

6.6. Correlaciones clínico-funcionales y con los cambios morfométricos

A nivel basal se observó únicamente una correlación positiva entre los niveles de IgE y la MML ($p=0,012$). La MTC no se correlacionó con ningún parámetro clínico, ni de función pulmonar o inflamometría, y tampoco con los cuestionarios de síntomas o calidad de vida (**tabla 11**). A los 6 meses post-TB se observó una correlación significativa entre el número de agudizaciones y la MTC ($r=0,621$; $p=0,041$), y entre la MTC y la FVC% post-broncodilatador ($r=-0,802$; $p=0,005$). A los 12 meses post-TB se observó la misma correlación positiva entre la MTC y las agudizaciones ($r=0,604$; $p=0,049$). No se hallaron otras correlaciones entre la MML ni la MTC a los 6 y 12 meses post-TB y los distintos parámetros clínicos (**figura 18**), funcionales, de inflamometría ni con la puntuación en los cuestionarios de síntomas o calidad de vida (**tabla 11**).

La intensidad del cambio de MML y MTC a los 6 meses post-TB, con respecto al basal, tampoco se correlacionó con la intensidad del cambio de los distintos parámetros clínicos (agudizaciones, ingresos hospitalarios, ACT, mini AQLQ), funcionales o inflamometría.

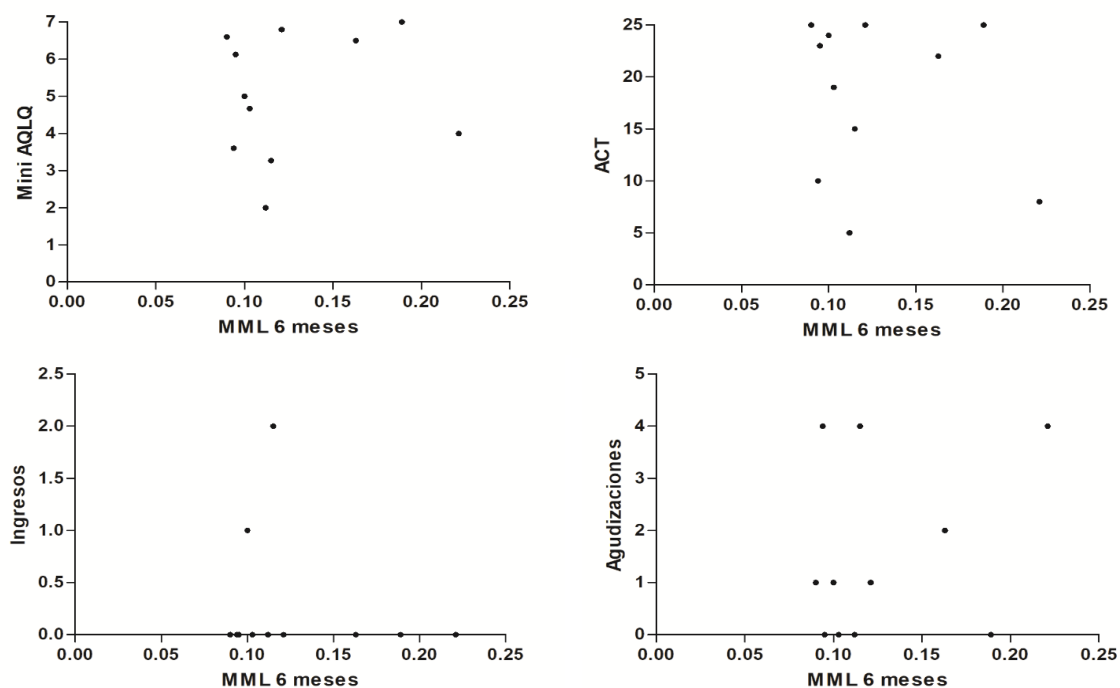
Tampoco se observó correlación entre la MML y la MTC ($r=-0,164$; $p=0,631$).

Tabla 11. Correlaciones entre los parámetros morfométricos, clínicos, funcionales e inflamometría.

	MML	MTC
	<i>r</i> [*]	<i>r</i> [*]
Basal	MML basal	MTC basal
Puntuación ACT	- 0,235	-0,129
Puntuación mini AQLQ	0,350	-0,341
Nº Agudizaciones	0,260	-0,385
Nº Ingresos	0,100	0,169
FEV ₁ pre-broncodilatador (L)	0,148	-0,070
FEV ₁ pre-broncodilatador (%)	0,044	-0,198
Eosinófilos (x10 ⁹ cél/mm ³)	0,281	0,306
IgE (UI/mL)	0,649[†]	-0,213
FE _{NO} (ppb)	0,284	0,310
TAE	-0,169	0,159
Eosinófilos esputo inducido (%)	-0,130	0,427
Neutrófilos esputo inducido (%)	-0,280	-0,049
Resultados a los 6 meses post-TB	MML 6 meses	MTC 6 meses
Puntuación ACT	-0,110	0,073
Puntuación mini AQLQ	0,136	0,100
Nº Agudizaciones	0,133	0,621[†]
Nº Ingresos	-0,054	-0,162
FEV ₁ pre-broncodilatador (L)	-0,145	0,064
FEV ₁ pre-broncodilatador (%)	-0,110	-0,196
Eosinófilos (x10 ⁹ cél/mm ³)	0,173	0,082
IgE (UI/mL)	0,427	0,491
FE _{NO} (ppb)	0,055	-0,079
Eosinófilos esputo inducido (%)	-0,190	0,071
Neutrófilos esputo inducido (%)	0,024	-0,619
Resultados a los 12 meses post-TB	MML 6 meses	MTC 6 meses
Puntuación ACT	-0,213	0,006
Puntuación mini AQLQ	-0,229	-0,072
Nº Agudizaciones	0,300	0,604[†]
Nº Ingresos	0,335	-0,052
FEV ₁ pre-broncodilatador (L)	-0,136	-0,009
FEV ₁ pre-broncodilatador (%)	-0,023	-0,260
FE _{NO} (ppb)	0,321	0,679

* Correlación de Spearman; [†] $p < 0,05$.

Figura 18. Correlación entre la MML y parámetros clínicos a los 6 meses post-TB.

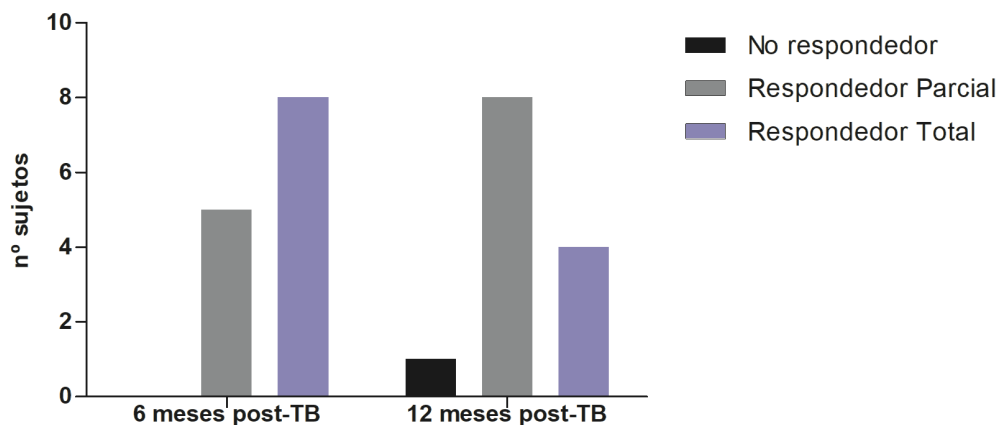


AQLQ: *Asthma Quality of Life Questionnaire*; ACT: *Asthma Control Test*; MML: masa de músculo liso.

6.7. Paciente “respondedor” vs “no respondedor”

De los 14 pacientes que completaron el tratamiento, sólo 13 completaron el seguimiento. De estos 13, 8 pacientes fueron respondedores totales (61,5%) y 5 pacientes respondedores parciales (38,5%) a los 6 meses post-TB. A los 12 meses post-TB hubo un paciente no respondedor (7,7%), 8 pacientes respondedores parciales (61,5%) y 4 pacientes respondedores totales (30,8%) (**figura 19**). A continuación, se exponen las diferencias entre las características basales por grupos.

Figura 19. Grado de respuesta a los 6 y 12 meses post-TB.



n°: número; TB: termoplastia bronquial.

6 meses post-termoplastia bronquial

En la **tabla 12** se muestran la magnitud del cambio en el número de agudizaciones, puntuación en los cuestionarios ACT y mini AQLQ a los 6 meses post-TB, así como la clasificación del grado de respuesta en función de estos parámetros. El tratamiento con TB se aplicó de igual manera a ambos grupos, ya que no se detectaron diferencias en el número de aplicaciones de RF ni en el tiempo dedicado a cada sesión (**tabla 13**).

Tabla 12. Parámetros de respuesta clínica a los 6 meses post-TB.

	Cambio ACT	Cambio mini AQLQ	Cambio agudizaciones	Satisfacción con TB	Grado respuesta
1	14	2,93	-9	Buena	T
2	7	1,2	-5	Buena	T
3	3	0,4	-2	Mala	P
4	0	-0,53	-6	Mala	P
5	10	2,7	-8	Buena	T
6					
7	3	1,97	-5	Buena	T
8	9	2	-10	Buena	T
9	6	0,54	-3	Buena	T
10	12	2,33	-4	Buena	T
11	1	0,4	-11	Mala	P
12	0	-0,8	-9	Mala	P
13	-4	-1,13	-3	Mala	P
14	10	2,54	-2	Buena	T

T: total; P: parcial; NR: no respondedor.

Tabla 13. Resumen de aplicación de TB entre pacientes respondedores parciales y totales.

	Respondedor parcial (n=5)	Respondedor total (n=8)	Valor de p
Activaciones S1	68 (63 – 71)	71 (44,75 – 94,75)	0,833
Tiempo S1 (min)	50 (50 – 66,5)	55 (45,5 – 68,75)	0,833
Activaciones S2	68 (54,5 – 100,5)	63 (48 – 85,75)	0,435
Tiempo S2 (min)	50 (38 – 61,5)	45 (42,25 – 54,25)	0,622
Activaciones S3	81 (73 – 126)	84,50 (54 – 114,5)	0,622
Tiempo S3 (min)	60 (52,5 – 62,5)	67,50 (46,25 – 96,75)	0,524

Datos expresados en mediana (rango intercuartílico). Min: minutos; S: sesión.

Aunque en el grupo respondedor parcial se detectó una mayor cantidad de MML con respecto al grupo respondedor total, las diferencias no fueron significativas. No se hubo diferencias en cuanto a la MTC. Se resumen los datos en la **tabla 14**.

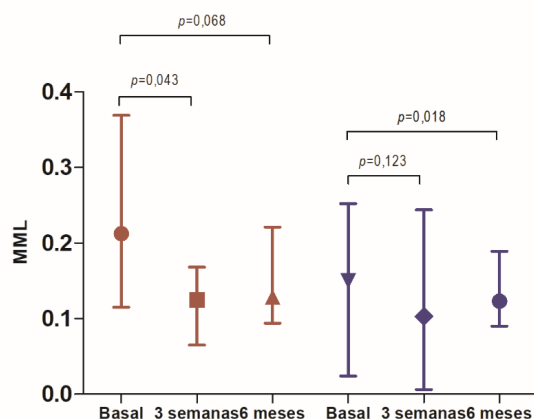
Tabla 14. Diferencias en la MML y MTC entre pacientes respondedores parciales y totales.

	Respondedor parcial (n=5)	Respondedor total (n=8)	Valor de <i>p</i>
MML basal	0,261 (0,143 – 0,369)	0,156 (0,126 – 0,230)	0,435
MML 3 semanas post-TB	0,132 (0,105 – 0,149)	0,110 (0,065 – 0,118)	0,354
MML 6 meses post-TB	0,114 (0,099 – 0,195)	0,103 (0,095 – 0,163)	0,788
MTC basal	0,200 (0,155 – 0,249)	0,225 (0,183 – 0,238)	0,622
MTC 3 semanas post-TB	0,166 (0,148 – 0,192)	0,181 (0,152 – 0,219)	0,354
MTC 6 meses post-TB	0,191 (0,163 – 0,268)	0,199 (0,153 – 0,231)	0,927

MML: masa de músculo liso; MTC: masa de tejido conectivo; TB: termoplastia bronquial.

Se evaluó la evolución de la MML para cada grupo. En el grupo respondedor parcial se observó una reducción a las 3 semanas post-TB, aunque las diferencias a los 6 meses post-TB no fueron significativas. En el grupo respondedor total, la reducción de MML se mantuvo a los 6 meses post-TB (**figura 20**). No hubo diferencias en la MTC.

Figura 20. Cambios en la MML según grado de respuesta a TB.



En rojo, los pacientes con respuesta parcial. En azul, los pacientes con respuesta total.

Al analizar las características clínicas entre ambos grupos, aunque en el grupo de respondedores parciales tenían un mayor IMC, peor calidad de vida, y mayor número de agudizaciones e ingresos que el grupo respondedor total, las diferencias no fueron significativas. Asimismo, en el grupo respondedor total había niveles de FE_{NO} y eosinófilos en sangre periférica mayores que en el grupo respondedor parcial, pero de nuevo las diferencias no fueron significativas. La única variable en la que se observaron diferencias fue en la puntuación del cuestionario ACT, siendo peor en el grupo respondedor parcial. Los datos se resumen en la **tabla 15**.

Tabla 15. Características basales entre pacientes respondedores parciales y totales a los 6 meses post-TB.

	Respondedor parcial (n=5)	Respondedor total (n=8)	Valor de <i>p</i>
Edad	45 (35-45)	43 (37,5 – 57)	0,435
Peso (kg)	96 (76,5 – 97)	64,5 (57,75 – 74)	0,943
Talla (cm)	159 (158,5 – 162)	161 (154,75 – 164,5)	0,833
IMC (kg/m²)	35,30 (64,5 – 75)	27,5 (22,45 – 32,93)	0,724
ACT	9 (7 – 10,5)	13 (11,75 – 14,25)	0,019
Mini AQLQ	3,20 (3 – 3,4)	3,97 (3,63 – 4,13)	0,354
Agudizaciones	9 (7 – 12)	7,5 (3 – 10)	0,284
Ingresos	2 (1 – 5,5)	0 (0 – 0,25)	0,127
FEV₁ (%) pre-bd	67 (64,5 – 75)	77,5 (62,5 – 85)	0,524
FEF_{25-75%} (%) pre-bd	29 (27,5 – 39,5)	42 (25,25 – 84,25)	0,724
FEV₁ (%) post-bd	89 (74 – 101,5)	85 (77,5 – 88)	0,354
FEF_{25-75%} (%) post-bd	38 (31,5 – 73,5)	48,5 (34,75 – 92)	0,435
VR (%)	158 (144 – 166)	127,5 (92,25 – 215,5)	0,622
IgE	30 (24,5 – 182,5)	70,5 (11,93 – 539,25)	0,435
Eosinófilos SP	170 (105 – 220)	360 (225 – 915)	0,284
FE_{NO} (ppb)	22 (14,5 – 35,5)	23 (13,25 – 88,5)	0,833
TAE (°C)	34,41 (34,41 – 34,42)	34,37 (33,54 – 34,93)	0,662
Eosinófilos EI (%)	2 (1,15 – 13,5)	2,2 (0 – 18,55)	0,630
Neutrófilos EI (%)	54 (34,35 – 61,5)	53,7 (27,95 – 56,75)	0,921
Macrófagos EI (%)	28 (24,35 – 55,65)	41,25 (27,78 – 69,38)	0,630

Datos expresados en mediana (rango intercuartílico). Kg: kilogramos; cm: centímetros; IMC: índice de masa corporal; ACT: *Asthma Control Test*; AQLQ: *Asthma Quality of Life Questionnaire*; FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; FEF: fracción de aire espirado forzado; VR: volumen residual; IgE: inmunoglobulina E; SP: sangre periférica; FE_{NO}: fracción de óxido nítrico exhalado; TAE: temperatura del aire exhalado; EI: esputo inducido.

Al analizar la respuesta de variables clínicas, funcionales y de inflamometría a los 6 meses del tratamiento entre ambos grupos (respondedor total y parcial), se observó una mayor puntuación en el ACT, mini AQLQ, tenían una TAEp menor y habían reducido más el número de agudizaciones. A pesar de la tendencia a la mejoría en el FEV₁% pre broncodilatador, las diferencias no fueron significativas (**tabla 16**).

Tabla 16. Respuesta a los 6 meses post-TB entre respondedores totales y parciales.

	Respondedor parcial (n=5)	Respondedor total (n=8)	Valor de p
ACT	10 (5 – 15)	23 (19 – 25)	0,002
Mini AQLQ	2,64 (2 – 3,27)	6,5 (5,62 – 6,9)	0,002
Agudizaciones	2 (0 – 2)	0 (0 – 0,5)	0,045
Ingresos	1 (0 – 4)	0 (0)	0,354
FEV₁% preBD	71 (70 – 99)	81 (53 – 82)	0,435
IgE	1119,5 (43 – 2196)	113 (16,01 – 640,5)	0,109
TAE	34,58 (34,41 – 34,75)	34,14 (33,2 – 34,2)	0,024
FE_{NO}	57,5 (8 – 107)	28 (13,5 – 77)	0,755
Eosinófilos SP	4 (0 – 8)	270 (155 – 810)	0,354

TB: termoplastia bronquial; ACT: *Asthma Control Test*; AQLQ: *Asthma Quality of Life Questionnaire*; FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; IgE: inmunoglobulina E; TAE: temperatura del aire exhalado; FE_{NO}: fracción de óxido nítrico exhalado; SP: sangre periférica.

12 meses post-termoplastia bronquial

En la **tabla 17** se muestran la magnitud del cambio en el número de agudizaciones, puntuación en los cuestionarios ACT y mini AQLQ a los 12 meses post-TB, así como la clasificación del grado de respuesta en función de estos parámetros. El tratamiento se aplicó sin diferencias a los pacientes incluidos en los tres grupos (**tabla 18**).

Tabla 17. Parámetros de respuesta clínica a los 12 meses post-TB.

	Cambio ACT	Cambio mini AQLQ	Cambio agudizaciones	Satisfacción con TB	Grado respuesta
1	14	2,93	-8	Buena	T
2	7	1,20	-4	Buena	T
3	11	ND	-1	Mala	P
4	10	ND	3	Mala	P
5	-1	1,07	-4	Buena	P
6					
7	ND	ND	-5	Buena	P
8	11	2,67	-10	Buena	T
9	2	0,40	-3	Buena	P
10	7	1,86	-3	Buena	T
11	ND	ND	-10	Mala	P
12	0	-0,60	-9	Mala	P
13	ND	ND	4	Mala	NR
14	10	2,54	0	Buena	P

ND: no disponible; T: total; P: parcial; NR: no respondedor.

Tabla 18. Resumen de aplicación de TB entre pacientes no respondedores, respondedores parciales y totales a los 12 meses post-TB.

	No respondedor (n=1)	Respondedores parciales (n=8)	Respondedores totales (n=4)	Valor de <i>p</i>
Activaciones S1	58	71 (68 – 80,25)	50,5 (36,75 – 89,75)	0,150
Tiempo S1 (min)	50	55 (47,75 – 65)	60 (42,5 – 79)	0,821
Activaciones S2	55	84,5 (57,5 – 104,25)	48 (46,5 – 66)	0,075
Tiempo S2 (min)	32	49,5 (44,75 – 55,25)	42,5 (40,5 – 54,25)	0,112
Activaciones S3	69	85 (77,75 – 128)	72 (43,75 – 114,5)	0,341
Tiempo S3 (min)	60	62,5 (51,25 – 94,25)	57,5 (41,25 – 73,75)	0,798

Datos expresados en mediana (rango intercuartílico). Min: minutos; S: sesión.

A los 12 meses post-TB hubo un paciente no respondedor. No hubo diferencias en los principales parámetros clínicos, funcionales e inflamatorios basales entre los pacientes de los tres grupos (**tabla 19**).

Tabla 19. Características basales entre pacientes no respondedores, respondedores parciales y totales a los 12 meses post-TB.

	No respondedor (n=1)	Respondedor parcial (n=8)	Respondedor total (n=4)	Valor de p
Edad	45	43 (33,25 – 48)	47,5 (38 – 57)	0,240
Peso	98	64,5 (57 – 79,5)	66 (58 – 74)	0,213
Talla	159	161 (155,5 – 165,25)	160,5 (157 – 164)	0,858
IMC	38,80	25,15 (22,45 – 32,83)	31,6 (27,5 – 35,7)	0,188
ACT	12	12,5 (8 – 13,5)	12,5 (11 – 14)	0,594
MiniAQLQ	3,60	3,5 (3,05 – 4,08)	4 (3,87 – 4,13)	0,778
Agudizaciones	5	7 (3 – 11,25)	10 (10 – 10)	0,775
Ingresos	2	0 (0 – 2,25)	0,5 (0 – 1)	0,405
FEV₁ (%) pre-bd	83	71 (64,25 – 85)	67,5 (55 – 80)	0,113
FEF_{25-75%} (%) pre-bd	50	36 (26,75 – 84,25)	30,5 (20 – 41)	0,122
FEV₁ (%) post-bd	89	86 (76,25 – 99)	74 (64 – 84)	0,122
FEF_{25-75%} (%) post-bd	25	69 (38,75 – 110)	33 (22 – 44)	0,031
VR	130	144 (92,25 – 187,75)	168 (125 – 211)	0,951
IgE	19	70,5 (26,23 – 575,25)	145 (3 – 287)	0,290
Eosinófilos SP	170	310 (30 – 427,5)	1080 (300 – 1860)	0,272
FE_{NO}	7	25 (13,25 – 66)	48,5 (18 – 79)	0,273
TAE	34,41	34,46 (34,31 – 34,93)	33,19 (32,14 – 34,24)	0,366
Eosinófilos EI	2	2,2 (0,23 – 21,48)	9 (0 – 18)	0,874
Neutrófilos EI	69	54,35 (20,93 – 56,75)	41,15 (29,6 – 52,7)	0,212
Macrófagos EI	28	41,25 (23,93 – 73,7)	48,85 (28,7 – 69)	0,550

Datos expresados en mediana (rango intercuartílico). Kg: kilogramos; cm: centímetros; IMC: índice de masa corporal; ACT: *Asthma Control Test*; AQLQ: *Asthma Quality of Life Questionnaire*; FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; FEF: fracción de aire espirado forzado; VR: volumen residual; IgE: inmunoglobulina E; SP: sangre periférica; FE_{NO}: fracción de óxido nítrico exhalado; TAE: temperatura del aire exhalado; EI: esputo inducido.

7. DISCUSIÓN

7. Discusión

La TB es un tratamiento reciente para el AGNC, cuyo mecanismo de acción se había demostrado únicamente en modelo animal (98). Los ensayos clínicos, donde se incluyeron pacientes con asma moderada-grave, demostraron que la TB era segura y mejoraba el control de la enfermedad al reducir las agudizaciones graves y mejorar la puntuación en los cuestionarios de síntomas y calidad de vida. Conocer el mecanismo de acción de este tratamiento es primordial para seleccionar mejor a los posibles candidatos, así como disponer de datos de seguridad y eficacia en práctica clínica real.

La presente tesis doctoral investiga la reducción de MML como posible mecanismo de acción, y además evalúa la seguridad y eficacia en práctica clínica real.

En el presente estudio, el examen histopatológico de las biopsias bronquiales de pacientes con asma grave demuestra una reducción de la MML a las 3 semanas de haber sido tratados con TB. Este efecto persiste al cabo de 6 meses. Nuestros resultados concuerdan con lo publicado por Chakir et al, donde se observó una disminución de músculo liso a las 3 semanas post-TB en 17 pacientes tratados, manteniéndose el efecto a las 8 semanas en los 9 pacientes que fueron biopsiados de nuevo (99). En otra serie de pacientes, si bien los autores no detectaron cambios en el músculo liso de forma tan temprana como nuestro grupo y el de Chakir et al, sí hallaron esta reducción al cabo de 6 semanas de haber recibido el tratamiento en 11 pacientes (100). El efecto de la TB sobre el músculo liso a largo plazo ha sido explorado, además de en nuestro estudio, por dos grupos más. Petrolani et al demostraron una reducción a los 3 meses post-TB en 15 pacientes (101), y Facciolongo et al a los 12 meses post-TB en otros 12 pacientes (102). Este efecto fue observado fuera del territorio bronquial tratado, mediante el análisis de biopsias bronquiales obtenidas del LM (101,103). Los autores proponen como hipótesis que el efecto de la radiofrecuencia sobrepasa los límites de la pared bronquial, apoyada en parte por los cambios radiológicos observados en los lóbulos no tratados (104,105). En nuestro estudio no se obtuvieron biopsias del LM para evaluar este efecto.

Al analizar otro cambio propio de la RB, como son los depósitos de colágeno, los resultados no son tan concordantes como sucede con la MML. En el presente estudio no se observaron cambios en la MTC, ni a corto ni a largo plazo con respecto al basal,

y tampoco correlación con los valores de MML. Otros autores han investigado el efecto de la TB sobre la MTC. Chakir et al detectaron una reducción en los depósitos de colágeno tipo 1 subepitelial a corto plazo, pero no llegó a explorar el efecto más allá de las 8 semanas post-TB (99). Contrariamente, Petrolani et al observaron una sustitución del músculo liso por tejido conectivo a los 3 meses post-TB (101).

En este trabajo, no hallamos ninguna correlación entre los parámetros de respuesta clínica y los cambios morfométricos en el músculo liso o el tejido conectivo. Estos resultados concuerdan con lo publicado previamente (99), aunque difieren de los resultados publicados por Petrolani et al, quienes hallaron relación entre la mejoría clínica a los 3 meses post-TB y la reducción de músculo liso bronquial (101). Es posible que el número de biopsias obtenidas por cada grupo, menor en nuestro estudio y en el grupo de Chakir et al, pueda haber influido a la hora de no hallar relación entre los parámetros morfométricos y clínicos. En nuestro caso, a los 6 meses post-TB sólo se pudo obtener biopsias bronquiales en 12 pacientes de los 14 tratados. Dado que a las 3 semanas post-TB ya demostramos cambios significativos en la MML de los 14 pacientes, se hizo un subanálisis correlacionando este cambio con la respuesta clínica a los 6 y 12 meses post-TB, pero tampoco hallamos relación alguna entre dichas variables (datos no mostrados en el apartado de resultados). En este estudio, los 5 pacientes con respuesta parcial a TB a los 6 meses del tratamiento tenían una reducción de la MML que sólo fue significativa a corto plazo (3 semanas). A diferencia de los respondedores totales (8 pacientes), cuya reducción de MML fue más patente a los 6 meses post-TB. No hubo cambios en la MTC en estos subgrupos.

A pesar de que este estudio incluye una serie pequeña de pacientes, los hallazgos sobre la MML en función del grado de respuesta clínica sugieren que los pacientes con una reducción persistente del músculo liso, principal órgano efector del broncoespasmo, tienen una mejor respuesta a TB, percibiendo más mejoría en los síntomas y la calidad de vida que los pacientes con una menor respuesta en la ablación del músculo bronquial. No obstante, la reducción de MML por sí sola es probable que no justifique la respuesta clínica y funcional a dicho tratamiento. Por una parte, se ha observado mejoría clínica en pacientes en los que no se ha observado una reducción de MML. Aunque esto podría ser como consecuencia de las limitaciones intrínsecas al método de morfometría cuantitativa, el hallazgo de otros investigadores, por ejemplo, en cuanto a la participación de la vía inflamatoria, o mecanismos apoptóticos, hace pensar que la RF afecta no sólo al músculo liso sino al resto de estructuras de la pared bronquial tanto de

forma estructural como funcional. En el LBA de 11 pacientes asmáticos sometidos a TB se demostró una disminución de eosinófilos en el recuento celular, así como un aumento en citoquinas proinflamatorias TGF- β 1 (106). Estos mismos autores exploraron en el mismo artículo la vía apoptótica, demostrando un aumento significativo de la citoquina pro-apoptótica *Transforming Necrosis Factor-related apoptosis inducing ligand*. Otros autores han explorado los cambios en la inervación de la pared bronquial, demostrando la reducción de fibras nerviosas asociadas al músculo liso a los 3 meses (101) y a los 12 meses post-TB en la submucosa y en el músculo liso (102). Recientemente, se ha descrito la regeneración del epitelio bronquial como posible diana de la TB, al reducirse la expresión de la mucina MUC5AC a largo plazo, y correlacionarse este hecho con la reducción de IL-13, un potente inductor de la secreción mucosa y de la hiperplasia de células calciformes (107).

La TB mejoró el control del asma, reduciendo las agudizaciones graves y mejorando la puntuación del cuestionario ACT. Estos efectos se acompañaron de una mejoría en la calidad de vida, medida mediante la versión abreviada del cuestionario AQLQ. Estos resultados concuerdan con lo publicado previamente por otros investigadores (99,101,102,108). El beneficio clínico observado en este trabajo se produjo desde el primer mes post-TB en parámetros como el ACT y el mini AQLQ, manteniéndose a los 6 meses y al año post-TB. A los 12 meses post-TB se superó el cambio mínimo que se considera clínicamente relevante tanto en el ACT [+ 8,5 puntos (1,5 – 11)] como en el mini AQLQ [+ 1,53 puntos (0,57 – 2,64)]. Al no disponer de un grupo control, no es posible determinar la influencia del sesgo de atención o efecto Hawthorne sobre la magnitud de los cambios observados tras el tratamiento con TB en los pacientes incluidos. Además, tal como se muestra en el ensayo clínico AIR2, la TB puede ejercer cierto efecto placebo en los pacientes tratados (74). No obstante, el resultado observado en el presente estudio supera el incremento medio en la puntuación del AQLQ (0,28) calculado en un metaanálisis sobre eficacia y seguridad de TB que publicó nuestro grupo (109). O'Reilly et al observaron en 7 pacientes tratados con TB una tendencia a la mejoría en parámetros clínicos, como el número de agudizaciones y hospitalizaciones, y mejoría en el cuestionario ACT a los 4 años post-TB, aunque no fue significativa (110). En esta misma serie de pacientes, en el primer análisis al año de finalizar el tratamiento con TB, las diferencias en el ACT sí fueron significativas (111).

Al igual que sucede con otros tratamientos para el asma grave, resulta complicado definir el concepto de eficacia clínica desde la visión simplista de la mejora en algún parámetro clínico de forma aislada. Nuestro grupo decidió agrupar diferentes variables clínicas según la intensidad de la mejoría observada (ACT, mini AQLQ, reducción de agudizaciones) y el nivel de satisfacción con el tratamiento, con el objetivo de establecer la eficacia de la TB en tres grados: respuesta total, parcial o ausencia de respuesta. Esta separación según grado de respuesta se utilizó, además, para evaluar las características basales entre grupos según respuesta con intención de esbozar un perfil de paciente candidato a TB. El resultado fue que a los 6 meses todos los pacientes habían respondido positivamente al tratamiento (8 pacientes de forma total, y 5 de forma parcial). Los pacientes considerados como respondedores parciales fueron a consecuencia de una percepción no positiva con la TB (según la pregunta de satisfacción a los 12 meses de haber finalizado el tratamiento) y/o por la baja puntuación en los cuestionarios de síntomas y calidad de vida (parámetros también influidos por la percepción subjetiva del paciente), aunque también estos habían reducido las agudizaciones (parámetro objetivo). Petrolani et al separaron a los 15 pacientes tratados en respondedores o respondedores pobres, en función de la puntuación del ACT a los 3 y 12 meses post-TB. Los 4 pacientes con una menor respuesta a la TB también redujeron en un 80% el número de agudizaciones graves, tal como sucede en nuestra muestra. Estos pacientes tenían mayor cantidad de MML y células neuroendocrinas en las biopsias bronquiales en comparación con los pacientes respondedores (101). En los pacientes incluidos en el presente estudio no hallamos diferencias entre ambos grupos en la cantidad de MML. Bicknell et al definieron el paciente “respondedor” si cumplía alguna de las siguientes características: disminución de al menos una agudización grave de asma, mejoría clínicamente significativa en los cuestionarios ACQ o AQLQ, y disminución en el tratamiento con corticoides orales u omalizumab sin que comportara un empeoramiento del control del asma (112). Según estos criterios el 50% de los pacientes que trataron (5/10) respondieron a TB. En nuestro trabajo la tasa de respuesta fue superior, ya que al agrupar los pacientes respondedores parciales (al menos un criterio) y los totales (todos los criterios) respondieron a TB el 100% a los 6 meses, y el 92,31% a los 12 meses post-TB.

Al analizar las características basales por grados de respuesta a termoplastia hallamos que los pacientes con una menor respuesta a termoplastia a los 6 meses post-tratamiento, tenían un perfil clínico basal más grave, con mayor número de

agudizaciones, un perfil inflamatorio no Th2, IMC mayor, que los clasificados como respondedores totales al tratamiento. No obstante, en ningún caso estas diferencias fueron significativas. El único parámetro donde observamos diferencias entre grupos fue el cuestionario ACT, con peor puntuación en los pacientes respondedores parciales a TB. Sin embargo, Langton et al hallaron en un estudio de cohortes con 77 pacientes tratados con TB que aquellos con una situación clínica basal peor eran los que mejor respuesta hacían al tratamiento (113).

La evaluación de los cambios en el tratamiento no fue objeto de estudio en este trabajo. No obstante, en dos pacientes se llegó a suspender el tratamiento con glucocorticoides. Otros grupos han explorado el efecto de la TB sobre la reducción y retirada de corticoides, con datos a favor (101,108), aunque también en contra (114). No se hallaron cambios en la función pulmonar tras el tratamiento con TB. Los resultados del efecto de la TB sobre la función pulmonar en otros estudios son contradictorios. Denner et al observaron una mejoría significativa en el FEV₁% a corto plazo, incluyendo el periodo de tratamiento, manteniéndose estable esta mejoría a los 12 meses post-TB (106), y hasta los 24 meses post-TB (114). Langton et al también hallaron una mejora en el FEV₁% (113).

Nuestro grupo aplicó las sesiones de TB con una ligera modificación, permitiendo la pérdida de visión de la punta del catéter, que es lo que recomienda el fabricante, e introduciendo el mismo siempre que no se notara resistencia, sin llegar a perder visión directa con la última marca situada a dos centímetros de la punta. Se publicaron datos de seguridad en los primeros 9 pacientes tratados, sin que se observara un incremento en las complicaciones en comparación con lo publicado en los ensayos clínicos (72–74). Con esta ligera modificación se incrementaron de forma significativa el número de activaciones con respecto a lo publicado en los estudios iniciales (115), aunque no hallamos ninguna correlación entre el número de activaciones y los parámetros de respuesta clínica. Langton et al observaron un mayor número de activaciones en los pacientes respondedores (definidos por un incremento igual o superior a 0,5 puntos en el cuestionario ACQ-5). No obstante, en un estudio posterior, el mismo grupo utilizó un broncoscopio con un diámetro externo menor (4,2 mm) para intentar alcanzar la vía aérea más pequeña, y, si bien demostraron un mayor número de activaciones con

respecto al broncoscopio convencional, este incremento no se acompañó de una mejoría clínica significativa (116).

En el presente trabajo, la mayoría de los efectos adversos aparecieron durante el periodo de tratamiento tras las sesiones de TB. Los pacientes experimentaron síntomas respiratorios generalmente leves-moderadas (tos, odinofagia, molestia torácica inespecífica, disnea) durante las primeras 24 horas post-TB y generalmente se resolvían en un plazo de 7 días, sin necesidad de tratamiento o con un mínimo tratamiento sintomático. Estos resultados concuerdan con lo publicado en los tres ensayos clínicos (72–74). La seguridad a largo plazo, a los 12 meses post-TB, no demostró un incremento en el número de agudizaciones graves, hospitalizaciones ni empeoramiento en la función pulmonar, en línea con los datos publicados de seguridad en el seguimiento a 5 años de los pacientes incluidos en los tres ensayos clínicos mencionados anteriormente (77,78,117). La aparición de atelectasias y tapones mucosos en zonas tratadas es relativamente frecuente después de la sesión de TB debido al edema que pueda ocasionarse en la pared bronquial, la hipersecreción de moco y la dificultad de drenaje en la fase aguda (118). En nuestro estudio la prevalencia de atelectasias fue menor que en otros estudios, donde se ha llegado a publicar hasta un 30% (104), probablemente gracias al manejo precoz con fisioterapia respiratoria para ayudar en el drenaje de secreciones tras cada sesión de TB. Como complicaciones muy graves en nuestra serie, hubo una agudización asmática de riesgo vital en un paciente tras finalizar la primera sesión de TB que obligó a permanecer ingresado en una unidad de críticos, aunque sin llegar a precisar ventilación mecánica invasiva. Tras revisar la literatura, creemos que este es el primer caso de agudización grave del asma requiriendo estancia en UCI tras sesión de TB. En el historial médico de este paciente no había registradas crisis de asma grave de riesgo vital. Tras este evento, se decidió suspender el tratamiento y no continuar con las sesiones posteriores. La otra complicación grave fue un caso de neumotórax tras la tercera sesión de termoplastia, donde se tratan ambos lóbulos superiores. Su aparición se detectó en las primeras 24 horas post-tratamiento ante la clínica de disnea y dolor torácico, mediante radiografía de tórax. Se insertó un tubo de drenaje torácico y se solucionó al cabo de 48 horas sin necesidad de intervención quirúrgica. Este paciente no tenía en la TC basal imágenes compatibles con enfisema ni bullas. El procedimiento se llevó a cabo sin complicaciones durante la sesión, a excepción de la presencia de tos, que no obligó a parar la sesión. Existen otros dos casos publicados de neumotórax en relación con la TB (119,120). En nuestra serie, hubo

un caso en un paciente que se orientó como neumonía leve tras la segunda sesión de TB y fue tratado con amoxicilina-clavulánico. Estudios anteriores han demostrado cambios radiológicos en la TC torácica a las pocas horas de finalizar la sesión, y que se resolvían espontáneamente al cabo de un mes (104,105). Estos cambios consistían en imágenes consolidativas peribronquiales y vidrio deslustrado en los lóbulos tratados, y engrosamiento de la pared bronquial transitoria (121). También se han reportado cambios radiológicos, principalmente la presencia de vidrio deslustrado hasta en un tercio de los lóbulos no tratados. Existen diversas hipótesis al respecto que podrían justificar dichos hallazgos, desde un proceso de neumonitis inflamatoria hasta fenómenos trombóticos de pequeño vaso pericondrales, como se hallaron en los estudios preliminares de la TB donde se analizaron los cambios histopatológicos tras TB en humanos (70) y perros (69). Otra hipótesis, sería el deslizamiento de secreciones mucosas y sangre a los lóbulos adyacentes tratados. En este estudio no se realizó ningún estudio radiológico sistemático a los pacientes sometidos a TB, por lo que no podemos evaluar los cambios radiológicos inmediatos, aunque es posible que nuestro paciente no tuviera realmente una neumonía y se tratara cambios inflamatorios no infecciosos en relación con el tratamiento con TB.

Dos pacientes incluidos en el presente estudio desarrollaron bronquiectasias, uno de ellos clasificadas por el radiólogo como leves, sin implicaciones clínicas asociadas. El hecho de que no estuvieran presentes en la TC torácica basal, sugiere que la TB esté implicada directamente en su aparición, tal como refieren otros autores (104). Se han publicado algunos casos aislados de bronquiectasias tras el tratamiento con termoplastia, algunos de ellos identificados de forma temprana al presentar síntomas como la hemoptisis (122), o tos persistente con expectoración (123). También se ha publicado como hallazgo en una TC de tórax por protocolo a los 6 meses post-TB en un paciente sin síntomas (104). El mecanismo causal de las bronquiectasias se desconoce (123). Nuestro grupo modificó ligeramente el protocolo de aplicación de TB, incrementando el número de activaciones, aunque no está claro si este hecho puede ser un factor de riesgo para el desarrollo futuro de bronquiectasias. Otro grupo que modificó el protocolo de aplicación de TB aumentando el número de activaciones, y así poder aumentar hipotéticamente la eficacia de TB, no realizaron TC torácica por protocolo que permitiera evaluar la relación entre la TB y las BQ (116,124). Aunque no haya sido una complicación frecuente, se necesitan futuras investigaciones para aclarar la verdadera magnitud y el posible mecanismo del desarrollo de bronquiectasias en

pacientes tratados con TB. No hubo ningún fallecimiento en relación con la TB. En nuestro estudio hubo un fallecimiento durante el periodo de seguimiento. Se trataba de una mujer de 72 años con factores de riesgo cardiovascular que falleció como consecuencia de un accidente cerebrovascular. Estudios en vida real han demostrado un mayor porcentaje de pacientes que sufren eventos adversos relacionados con la TB, aunque tan sólo una minoría fueron considerados clínicamente significativos (125). Otras complicaciones raras descritas en la literatura en relación a la TB, pero que no se han observado en este estudio, son la aparición de un absceso pulmonar (126) y complicaciones hemorrágicas (127).

Nuestro grupo participó en el registro internacional de termoplastia bronquial (www.clinicaltrials.gov, NCT02104856), donde se incluyeron los pacientes tratados en práctica clínica real y se analizaron datos de seguridad y eficacia clínica en un seguimiento a dos años después del tratamiento. Se trata de un estudio multicéntrico, abierto y prospectivo, donde participaron 18 centros en todo el mundo, con inclusión de 157 sujetos. Además de demostrar una reducción del consumo de recursos sanitarios, mejoró los parámetros de respuesta clínica, además de demostrarse un procedimiento seguro a los 2 años post-TB (128).

Este estudio tiene varias limitaciones. En primer lugar, al tratarse de un estudio realizado en un solo centro, y con un tamaño de la muestra pequeño, los resultados no pueden ser generalizados a otros pacientes con asma que reciban tratamiento con TB. En segundo lugar, la ausencia de un grupo control no permite evaluar el impacto de TB sobre aspectos como la calidad de vida y su potencial efecto placebo descrito por otros autores (74). La ausencia de grupo control creemos que no ha impedido valorar correctamente el efecto de la TB en las biopsias bronquiales, dado que el propio paciente actuaba como su control al obtenerse biopsias antes del tratamiento. Además, se compararon los parámetros histopatológicos basales de los pacientes asmáticos con biopsias bronquiales de controles sanos obtenidas del biobanco de biopsias bronquiales, hallándose, como era de esperar, diferencias entre dichas muestras. En tercer lugar, el efecto Hawthorne puede haber influido en una mejoría del control del asma durante el estudio.

8. CONCLUSIONES

8. Conclusiones

1- La termoplastia bronquial, un tratamiento endoscópico que aplica radiofrecuencia a la pared bronquial, disminuye la masa de músculo liso de los pacientes asmáticos. Este efecto se observa a corto plazo y se mantiene a los 6 meses después de haber finalizado el tratamiento.

2- La termoplastia bronquial conlleva mejoras en la calidad de vida, los síntomas, las exacerbaciones y el control del asma. Por todo ello, se le considera una opción terapéutica para algunos pacientes con asma grave no controlada.

3- La mayoría de los procedimientos fueron bien tolerados y los efectos adversos generalmente leves y transitorios. No obstante, existe cierto riesgo de desarrollar complicaciones graves (neumotórax, neumonía, crisis asmática) y, por tanto, la indicación y la aplicación del procedimiento deben realizarse con la máxima precisión y precaución posible.

4- No se ha observado una sustitución del músculo liso por fibrosis en las biopsias bronquiales de los pacientes asmáticos tratados con termoplastia bronquial.

5- La reducción de masa de músculo liso en las biopsias bronquiales de los pacientes tratados no se ha correlacionado con parámetros de respuesta clínica, funcionales ni de Inflammometría, por lo que no se puede establecer una relación causa-efecto con dicho cambio morfométrico.

6- Se precisan estudios prospectivos que incluyan un número mayor de pacientes, con grupos control, que permita profundizar en el mecanismo de acción de la termoplastia bronquial, así como la identificación de un fenotipo de asma grave que prediga una buena respuesta clínica al tratamiento con termoplastia bronquial.

9. LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN FUTURA

9. Líneas de investigación futura

Está previsto continuar con el análisis morfométrico de otros parámetros de la remodelación bronquial, como son la vascularización, el recuento de células inflamatorias, epitelio bronquial y mecanismos apoptóticos.

Evaluar a más largo plazo la seguridad y eficacia de la TB de los pacientes tratados con TB.

10. BIBLIOGRAFÍA

10. Bibliografía

1. Fan Chung K, Wenzel SE, Brozek JL, Bush A, Castro M, Sterk PJ, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *Eur Respir J*. 2014;43:343–73.
2. Bousquet J, Jeffery PK, Buse WW, Johnson M, Vignola AM. State of the Art. Asthma: from bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161:1720–45.
3. Dombret MC, Alagha K, Boulet LP, Brillet PY, Joos G, Laviolette M, et al. Bronchial thermoplasty: a new therapeutic option for the treatment of severe, uncontrolled asthma in adults. *Eur Respir Rev*. 2014;23(134):510–8.
4. Plaza V, en representación de los coordinadores y revisores de la Guía Española para el Manejo del Asma (GEMA) 4.2. Disponible en: https://www.semfy.com/wp-content/uploads/2017/05/GEMA_4.2_final.pdf
5. Moore WC, Meyers DA, Wenzel SE, Teague WG, Li H, Li X, et al. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;181:315–23.
6. Lötvall J, Akdis CA, Bacharier LB, Bjermer L, Casale TB, Custovic A, et al. Asthma endotypes: A new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127:355–60.
7. Martínez-Moragón E, Serra-Batlles J, De Diego A, Palop M, Casan P, Rubio-Terrés C, et al. Coste económico del paciente asmático en España (estudio AsmaCost). *Arch Bronconeumol*. 2009;45:481–6.
8. Urrutia I, Aguirre U, Sunyer J, Plana E, Muniozgueren N, Martínez-Moratalla J, et al. Cambios en la prevalencia de asma en la población española del Estudio de Salud Respiratoria de la Comunidad Europea (ECRHS-II). *Arch Bronconeumol*. 2007;43:425–30.

9. Taylor DR, Bateman ED, Boulet LP, Boushey HA, Busse WW, Casale TB, et al. A new perspective on concepts of asthma severity and control. *Eur Respir J*. 2008;32:545–54.
10. Quirce S, Plaza V, Picado C, Vennera M, Casafont J. Prevalence of Uncontrolled Severe Persistent Asthma Patients in Pneumology and Allergy Hospital Units in Spain. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21:466-71.
11. Serra-Batlles J, Plaza V, Morejón E, Comella A, Brugués J. Costs of asthma according to the degree of severity. *Eur Respir J*. 1998;12:1322–6.
12. Heaney LG, Conway E, Kelly C, Johnston BT, English C, Stevenson M, et al. Predictors of therapy resistant asthma: Outcome of a systematic evaluation protocol. *Thorax*. 2003;58:561–6.
13. Wenzel SE. Asthma phenotypes: The evolution from clinical to molecular approaches. *Nat Med*. 2012;18:716–25.
14. Dahlén SE, Malmström K, Nizankowska E, Dahlén B, Kuna P, Kowalski M, et al. Improvement of aspirin-intolerant asthma by montelukast, a leukotriene antagonist: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:9–14.
15. Gibson PG, Yang IA, Upham JW, Reynolds PN, Hodge S, James AL, et al. Effect of azithromycin on asthma exacerbations and quality of life in adults with persistent uncontrolled asthma (AMAZES): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2017;390:659–68.
16. Brusselle GG, VanderStichele C, Jordens P, Deman R, Slabbynck H, Ringoet V, et al. Azithromycin for prevention of exacerbations in severe asthma (AZISAST): A multicentre randomised double-blind placebo-controlled trial. *Thorax*. 2013;68:322–9.
17. Gono H, Fujimoto K, Kawakami S, Kubo K. Evaluation of airway wall thickness and air trapping by HRCT in asymptomatic asthma. *Eur Respir J*. 2003;22:965–71.
18. Little SA, Sproule MW, Cowan MD, Macleod KJ, Robertson M, Love JG, et al. High

- resolution computed tomographic assessment of airway wall thickness in chronic asthma: Reproducibility and relationship with lung function and severity. *Thorax*. 2002;57:247–53.
19. Niimi A, Matsumoto H, Amitani R, Nakano Y, Mishima M, Minakuchi M, et al. Airway wall thickness in asthma assessed by computed tomography: Relation to clinical indices. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162:1518–23.
 20. Dunnill MS, Massarella GR, Anderson JA. A comparison of the quantitative anatomy of the bronchi in normal subjects, in status asthmaticus, in chronic bronchitis, and in emphysema. *Thorax*. 1969;24:176–9.
 21. Grainge CL, Lau LCK, Ward JA, Dulay V, Lahiff G, Wilson S, et al. Effect of bronchoconstriction on airway remodeling in asthma. *N Engl J Med*. 2011;364:2006–15.
 22. Al-Muhsen S, Johnson JR, Hamid Q. Remodeling in asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128:451–62.
 23. Lambrecht BN, Hammad H. The airway epithelium in Asthma The airway epithelium in asthma. *Nat Med*. 2012;18:684–92.
 24. Saglani S, Malmström K, Pelkonen AS, Malmberg LP, Lindahl H, Kajosaari M, et al. Airway remodeling and inflammation in symptomatic infants with reversible airflow obstruction. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171:722–7.
 25. Ramos-Barbón D. ¿Podemos modificar el remodelado bronquial en el asma? *Arch Bronconeumol*. 2005;41(SUPPL. 5):3–9.
 26. Ramos-Barbón D, Fraga-Iriso R, Brienza NS, Montero-Martínez C, Vereas-Hernando H, Olivenstein R, et al. T cells localize with proliferating smooth muscle α -actin+ cell compartments in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182:317–24.
 27. Hoshino M, Takahashi M, Aoike N. Expression of vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor, and angiogenin immunoreactivity in asthmatic airways and its relationship to angiogenesis. *J Allergy Clin Immunol*.

- 2001;107:295–301.
28. Chung AS, Ferrara N. Developmental and Pathological Angiogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2011;27:563–84.
 29. Benayoun L, Druilhe A, Dombret MC, Aubier M, Pretolani M. Airway structural alterations selectively associated with severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167:1360–8.
 30. Grigoraş A, Căruntu ID, Grigoraş CC, Mihăescu T, Amălinei C. Relationship between immunohistochemical assessment of bronchial mucosa microvascularization and clinical stage in asthma. *Rom J Morphol Embryol.* 2012;53:485–90.
 31. Salvato G. Quantitative and morphological analysis of the vascular bed in bronchial biopsy specimens from asthmatic and non-asthmatic subjects. *Thorax.* 2001;56:902–6.
 32. Prakash YS, Halayko AJ, Gosens R, Panettieri RA, Camoretti-Mercado B, Penn RB, et al. An official American thoracic society research statement: Current challenges facing research and therapeutic advances in airway remodeling. *Am J Respir Crit Care Med.* 2017;195:4–19.
 33. Wenzel SE, Szeffler S, Leung D, Sloan S, Rex M, Martin R. Bronchoscopic evaluation of severe asthma: persistent inflammation associated with high dose glucocorticoids. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156:737–43.
 34. Vrugt B, Wilson S, Underwood J, Bron A, de Bruyn R, Bradding P, et al. Mucosal inflammation in severe glucocorticoid-dependent asthma. *Eur Respir J.* 1999;13:1245–52.
 35. Busse WW, Wanner A, Adams K, Reynolds H, Castro M, Chowdhury B. Investigative bronchoprovocation and bronchoscopy in airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;172:807–16.
 36. Jeffery P, Holgate S, Wenzel S. Methods for the assessment of endobronchial biopsies in clinical research: Application to studies of pathogenesis and the effects

- of treatment. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168:S1-S17.
37. Molina C, Brun J, Coulet M, G B, Delage J. Immunopathology of the bronchial mucosa in late onset asthma. *Clin Allergy.* 1977;7:137–45.
 38. Djukanovic R. Bronchoscopy as a research tool for the study of asthma pathogenesis and effects of antiasthma drugs. *J Allergy Clin Immunol.* 1996;98:S41-S66.
 39. Balzar S, Wenzel SE, Chu HW. Transbronchial biopsy as a tool to evaluate small airways in asthma. *Eur Respir J.* 2002;20:254–9.
 40. Doberer D, Trejo Bittar HE, Wenzel SE. Should lung biopsies be performed in patients with severe asthma? *Eur Respir Rev.* 2015;24:525–39.
 41. López-Campos Bodineau JL, Fernández Guerra J, Moreno Arrastio L. Asma bronquial y biopsia transbronquial. Tres preguntas. *Arch Bronconeumol.* 2003;39:190.
 42. Colella S, Ravaglia C, Massaccesi C, D’Emilio V, Panella G, Fioretti F, et al. Does transbronchial lung cryobiopsy give useful information in asthmatic patients? *Multidiscip Respir Med.* 2019;14:12.
 43. Gupta S, Siddiqui S, Haldar P, Raj JV, Entwisle JJ, Wardlaw AJ, et al. Qualitative analysis of high-resolution CT scans in severe asthma. *Chest.* 2009;136:1521–8.
 44. Aysola RS, Hoffman EA, Gierada D, Wenzel S, Cook-Granroth J, Tarsi J, et al. Airway remodeling measured by multidetector CT is increased in severe asthma and correlates with pathology. *Chest.* 2008;134:1183–91.
 45. Gupta S, Siddiqui S, Haldar P, Entwisle JJ, Mawby D, Wardlaw AJ, et al. Quantitative analysis of high-resolution computed tomography scans in severe asthma subphenotypes. *Thorax.* 2010;65:775–81.
 46. Siddiqui S, Gupta S, Cruse G, Haldar P, Entwisle J, Mcdonald S, et al. Airway wall geometry in asthma and nonasthmatic eosinophilic bronchitis. *Allergy.* 2009;64:951–8.

47. Coxson HO, Quiney B, Sin DD, Xing L, McWilliams AM, Mayo JR, et al. Airway wall thickness assessed using computed tomography and optical coherence tomography. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;177:1201–6.
48. Hariri LP, Applegate MB, Mino-Kenudson M, Mark EJ, Medoff BD, Luster AD, et al. Volumetric optical frequency domain imaging of pulmonary pathology with precise correlation to histopathology. *Chest*. 2013;143:64–74.
49. Williamson JP, McLaughlin RA, Noffsinger WJ, James AL, Baker VA, Curatolo A, et al. Elastic properties of the central airways in obstructive lung diseases measured using anatomical optical coherence tomography. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183:612–9.
50. Coxson HO, Lam S. Quantitative assessment of the airway wall using computed tomography and optical coherence tomography. *Proc Am Thorac Soc*. 2009;6:439–43.
51. Drexler W. Ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *J Biomed Opt*. 2004;9:47-74.
52. De Lange EE, Altes TA, Patrie JT, Gaare JD, Knake JJ, Mugler JP, et al. Evaluation of asthma with hyperpolarized helium-3 MRI: Correlation with clinical severity and spirometry. *Chest*. 2006;130:1055–62.
53. Fain SB, Gonzalez-fernandez G, Peterson ET, Evans MD, Sorkness RL, Jarjour NN, et al. Evaluation of structure-function relationships in asthma using Multidetector CT and Hyperpolarized He-3 MRI. *Acad Radiol*. 2008;15:753–62.
54. Guo FH, Comhair SA, Zheng S, Dweik RA, Eissa NT, Thomassen MJ, et al. Molecular mechanisms of increased nitric oxide (NO) in asthma: evidence for transcriptional and post-translational regulation of NO synthesis. *J Immunol*. 2000;164:5970–80.
55. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, Irvin CG, Leigh MW, Lundberg JO, et al. An Official ATS Clinical Practice Guideline: Interpretation of Exhaled Nitric Oxide Levels (FENO) for Clinical Applications. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;184:602–15.

56. Dupont LJ, Demedts MG, Venderlen GM. Prospective evaluation of the validity of exhaled nitric oxide for the diagnosis of asthma. *Chest*. 2003;123:751–6.
57. Karrasch S, Linde K, Rücker G, Sommer H, Karsch-Völk M, Kleijnen J, et al. Accuracy of FENO for diagnosing asthma: A systematic review. *Thorax*. 2017;72:109–16.
58. Essat M, Harnan S, Gomersall T, Tappenden P, Wong R, Pavord I, et al. Fractional exhaled nitric oxide for the management of asthma in adults: A systematic review. *Eur Respir J*. 2016;47:751–68.
59. Petsky HL, Li A, Chang AB. Tailored interventions based on sputum eosinophils versus clinical symptoms for asthma in children and adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017; 8(8):CD005603.
60. Popov TA, Dunev S, Kralimarkova TZ, Kraeva S, DuBuske LM. Evaluation of a simple, potentially individual device for exhaled breath temperature measurement. *Respir Med*. 2007;101:2044–50.
61. Piacentini GL, Peroni D, Crestani E, Zardini F, Bodini A, Costella S, et al. Exhaled air temperature in asthma: Methods and relationship with markers of disease. *Clin Exp Allergy*. 2007;37:415–9.
62. Piacentini GL, Peroni D, Bodini A, Corradi M, Boner AL. Exhaled breath temperature as a marker of airway remodelling in asthma: a preliminary study. *Allergy*. 2008;63:484–5.
63. Crespo Lessmann A, Giner J, Torrego A, Mateus E, Torrejón M, Belda A, et al. Usefulness of the Exhaled Breath Temperature Plateau in Asthma Patients. *Respiration*. 2015;90:111-7.
64. Manolis A. The diagnostic potential of breath analysis. *Clin Chem*. 1983;29:5–15.
65. Gardner J, Bartlett PN. A brief history of of electronic noses. *Sensors and Actuators. Chemical*. 1994;18:210–1.
66. Dragonieri S, Schot R, Mertens BJ, Le Cessie S, Gauw SA, Spanevello A, et al. An electronic nose in the discrimination of patients with asthma and controls. *J*

- Allergy Clin Immunol. 2007;120:856–62.
67. Fens N, Zwinderman AH, van der Schee MP, de Nijs SB, Dijkers E, Roldaan AC, et al. Exhaled breath profiling enables discrimination of chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;180:1076–82.
 68. Danek CJ, Lombard CM, Dungworth DL, Cox PG, Miller JD, Biggs MJ, et al. Reduction in airway hyperresponsiveness to methacholine by the application of RF energy in dogs. *J Appl Physiol*. 2004;97:1946–53.
 69. Brown RH, Wizeman W, Danek C, Mitzner W. Effect of bronchial thermoplasty on airway distensibility. *Eur Respir J*. 2005;26:277–82.
 70. Miller JD, Cox G, Vincic L, Lombard CM, Loomas BE, Danek CJ. A prospective feasibility study of bronchial thermoplasty in the human airway. *Chest*. 2005;127:1999–2006.
 71. Cox G, Miller JD, McWilliams A, FitzGerald JM, Lam S. Bronchial thermoplasty for asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173:965–9.
 72. Cox G, Thomson NC, Rubin AS, Niven RM, Corris PA, Siersted HC, et al. Asthma control during the year after bronchial thermoplasty. *N Engl J Med*. 2007;356:1327–37.
 73. Pavord ID, Cox G, Thomson NC, Rubin AS, Corris PA, Niven RM, et al. Safety and efficacy of bronchial thermoplasty in symptomatic, severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;176:1185–91.
 74. Castro M, Rubin AS, Laviolette M, Fiterman J, Lima MDA, Shah PL, et al. Effectiveness and safety of bronchial thermoplasty in the treatment of severe asthma: A multicenter, randomized, double-blind, sham-controlled clinical trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;181:116–24.
 75. Juniper EF, Guyatt GH, Cox FM, Ferrie PJ, King DR. Development and validation of the Mini Asthma Quality of Life Questionnaire. *Eur Respir J*. 1999;14:32–8.
 76. Torrego A, Solà I, Muñoz AM, Roqué i Figuls M, Yepes-Nuñez JJ, Plaza V. Bronchial

- thermoplasty for moderate or severe persistent asthma in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014; 2014(3):CD009910.
77. Thomson NC, Rubin AS, Niven RM, Corris PA, Siersted HC, Olivenstein R, et al. Long-term (5 year) safety of bronchial thermoplasty: Asthma Intervention Research (AIR) trial. *BMC Pulm Med.* 2011;11:8.
 78. Wechsler ME, Laviolette M, Rubin AS, Fiterman J, Lapa e Silva JR, Shah PL, et al. Bronchial thermoplasty: Long-term safety and effectiveness in patients with severe persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132:1295–302.
 79. Doeing DC, Mahajan AK, White SR, Naureckas ET, Krishnan JA, Hogarth DK. Safety and Feasibility of Bronchial Thermoplasty in Asthma Patients with Very Severe Fixed Airflow Obstruction: A Case Series. *J Asthma.* 2013;50:215–8.
 80. Mayse ML, Laviolette M, Rubin AS, Lampron N, Simoff M, Duhamel D, et al. Clinical pearls for bronchial thermoplasty. *J Bronchol.* 2007;14:115–23.
 81. Bicknell S, Chaudhuri R, Thomson NC. How to: Bronchial thermoplasty in asthma. *Breathe.* 2014;10:49-59.
 82. Chadha M, Kulshrestha M, Biyani A. Anaesthesia for bronchoscopy. *Indian J Anaesth.* 2015;59:565–73.
 83. Matot I, Kramer MR. Sedation in outpatient bronchoscopy. *Respir Med.* 2000;94:1145–53.
 84. FitzGerald M, Bateman ED, Boulet L-P, Cruz AA, Haahtela T, Levy ML, et al. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2012. Disponible en: www.ginasthma.org
 85. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, et al. 2013 AHA/ACC/TOS Guideline for the Management of Overweight and Obesity in Adults. A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *Circulation.* 2014;129(Supplement 2):S102-38.

86. Vega JM, Badia X, Badiola C, López-Viña A, Olaguíbel JM, Picado C, et al. Validation of the Spanish version of the asthma control test (ACT). *J Asthma*. 2007;44:867–72.
87. Schatz M, Kosinski M, Yaras AS, Hanlon J, Watson ME, Jhingran P. The minimally important difference of the Asthma Control Test. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124:719–23.
88. García-Río F, Calle M, Burgos F, Casan P, del Campo F, Gáldiz JB. Normativa SEPAR. Espirometría. *Arch Bronconeumol*. 2013;49:338–401.
89. Roca J, Sanchís J, Agustí-Vidal A, Segarra F, Navajas D, Rodríguez-Roisín R, et al. Spirometric reference values from a Mediterranean population. *Bull Eur Physiopathol Respir*. 1986;22:217–24.
90. Vignola AM, Rennar SI, Hargreave FE, Fah JV, Bonsignore MR, Djukanovic R, et al. Standardised methodology of sputum induction and processing. Future directions. *Eur Respir J Suppl*. 2002;37:51s–55s.
91. Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A, Evans S, Morris MM, Squillace D, et al. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;154:308–17.
92. Simpson JL, Scott R, Boyle MJ, Gibson PG. Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum. *Respirology*. 2006;11:54–61.
93. American Thoracic Society, European Respiratory Society. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171:912–30.
94. Sibila O, Garcia-Bellmunt L, Giner J, Merino JL, Suarez-Cuartin G, Torrego A, et al. Identification of airway bacterial colonization by an electronic nose in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Respir Med*. 2014;108:1608–14.
95. Jokinen K, Palva T, Sutinen S, Nuutinen J. Acquired tracheobronchomalacia. *Ann*

Clin Res. 1977;9:52–7.

96. Ernst A, Eberhardt R, Wahidi M, Becker HD, Herth FJF. Effect of routine clopidogrel use on bleeding complications after transbronchial biopsy in humans. *Chest*. 2006 ; 129:734–7.
97. Gordon IO, Husain AN, Charbeneau J, Krishnan JA, Hogarth DK. Endobronchial Biopsy: A Guide for Asthma Therapy Selection in the Era of Bronchial Thermoplasty. *J Asthma*. 2013;50:634–41.
98. Brown RH, Wizeman W, Danek C, Mitzner W. In vivo evaluation of the effectiveness of bronchial thermoplasty with computed tomography. *J Appl Physiol*. 2005;98:1603–6.
99. Chakir J, Haj-Salem I, Gras D, Joubert P, Beaudoin ÈL, Biardel S, et al. Effects of bronchial thermoplasty on airway smooth muscle and collagen deposition in asthma. *Ann Am Thorac Soc*. 2015;12:1612–8.
100. Denner DR, Doeing DC, Hogarth DK, Dugan K, Naureckas ET, White SR. Airway inflammation after bronchial thermoplasty for severe asthma. *Ann Am Thorac Soc*. 2015;12:1302–9.
101. Pretolani M, Bergqvist A, Thabut G, Dombret MC, Knapp D, Hamidi F, et al. Effectiveness of bronchial thermoplasty in patients with severe refractory asthma: Clinical and histopathologic correlations. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139:1176–85.
102. Facciolongo N, Di Stefano A, Pietrini V, Galeone C, Bellanova F, Menzella F, et al. Nerve ablation after bronchial thermoplasty and sustained improvement in severe asthma. *BMC Pulm Med*. 2018;18:29.
103. Petrolani M, Dombret MC, Thabut G, Knap D, Hamidi F, Debray MP, et al. Reduction of Airway Smooth Muscle Mass by Bronchial Thermoplasty in Patients with Severe Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;190:1452–4.
104. d’Hooghe JNS, van den Berk IAH, Annema JT, Bonta PI. Acute Radiological Abnormalities after Bronchial Thermoplasty: A Prospective Cohort Trial.

Respiration. 2017;94:258-62.

105. Debray MP, Dombret MC, Pretolani M, Thabut G, Alavoine L, Brillet PY, et al. Early computed tomography modifications following bronchial thermoplasty in patients with severe asthma. *Eur Respir J*. 2017;49(3) 1601565.
106. Denner DR, Doeing DC, Hogarth DK, Dugan K, Naureckas ET, White SR. Airway inflammation after bronchial thermoplasty for severe asthma. *Ann Am Thorac Soc*. 2015;12:1302–9.
107. Salem IH, Gras D, Joubert P, Boulet LP, Lampron N, Martel S, et al. Persistent reduction of mucin production after bronchial thermoplasty in severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019;199:536-8.
108. Arrigo R, Failla G, Scichilone N, La Sala A, Galeone C, Battaglia S, et al. How effective and safe is bronchial thermoplasty in “real life” asthmatics compared to those enrolled in randomized clinical trials? *Biomed Res Int*. 2016;2016: 9132198.
109. Muñoz-Fernández AM, Rodrigo-Troyano A, Pajares V, Torrego A. Safety of a Modified Protocol of Bronchial Thermoplasty. *Arch Bronconeumol*. 2018;54:345-346.
110. O’Reilly A, Browne I, Watchorn D, Egan JJ, Lane S. The efficacy and safety of bronchial thermoplasty in severe persistent asthma on extended follow-up. *QJM*. 2018;111:155–9.
111. Watchorn D, Sahadevan A, Egan JJ, Lane SJ. The efficacy of bronchial thermoplasty for severe persistent asthma: The first national experience. *Ir Med J*. 2016;109:406.
112. Bicknell S, Chaudhuri R, Lee N, Shepherd M, Spears M, Pitman N, et al. Effectiveness of bronchial thermoplasty in severe asthma in ‘real life’ patients compared with those recruited to clinical trials in the same centre. *Thorax*. 2015;9:267–71.
113. Langton D, Wang W, Sha J, Ing A, Fielding D, Hersch N, et al. Predicting the Response to Bronchial Thermoplasty. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2020;8:1253-

50.

114. Madsen H, Henriksen DP, Backer V, Siersted HC, Bjerring N, Ulrik CS. Efficacy of bronchial thermoplasty in patients with severe asthma. *J Asthma*. 2019;18:1–7.
115. Torrego A, Solà I, Munoz AM, Roqué i Figuls M, Yepes-Nuñez JJ, Alonso Coello P, et al. Bronchial thermoplasty for moderate or severe persistent asthma in adults. *Cochrane Database of Syst Rev*. 2014; 3:CD009910.
116. Langton D, Gaffney N, Wang WC, Thien F, Plummer V. Utility of a thin bronchoscope in facilitating bronchial thermoplasty. 2018;11:261–6.
117. Pavord ID, Thomson NC, Niven RM, Corris PA, Chung KF, Cox G, et al. Safety of bronchial thermoplasty in patients with severe refractory asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2013;111:402–7.
118. Facciolongo N, Menzella F, Lusuardi M, Piro R, Galeone C, Castagnetti C, et al. Recurrent lung atelectasis from fibrin plugs as a very early complication of bronchial thermoplasty: a case report. *Multidiscip Respir Med*. 2015;10:9.
119. Zhang Q, Zhang X, Xie J, Qiu R, Chen Y, Huang Z, et al. Bronchial Thermoplasty in the Treatment of Severe Asthma. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2016;39:183–8.
120. Funatsu A, Kobayashi K, Iikura M, Ishii S, Izumi S, Sugiyama H. A case of pulmonary cyst and pneumothorax after bronchial thermoplasty. *Respirol Case Reports*. 2017;6(2):e00286.
121. Mccambridge J, Kruklitis R. Transient bronchial wall thickening after bronchial thermoplasty for asthma. *J Bronchology Interv Pulmonol*. 2016;23:51-3.
122. Menzella F, Lusuardi M, Galeone C, Montanari G, Cavazza A, Facciolongo N. Heat-induced necrosis after bronchial thermoplasty: A new concern? *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2018;14:25.
123. Qiu M, Lai Z, Wei S, Jiang Q, Xie J, Qiu R, et al. Bronchiectasis after bronchial thermoplasty. *J Thorac Dis*. 2018;10:E721–6.

124. Langton D, Sha J, Ing A, Fielding D, Thien F, Plummer V. Bronchial thermoplasty: activations predict response. *Respir Res.* 2017;18:134.
125. Burn J, Sims AJ, Keltie K, Patrick H, Welham SA, Heaney LG, et al. Procedural and short-term safety of bronchial thermoplasty in clinical practice: evidence from a national registry and Hospital Episode Statistics. *J Asthma.* 2017;54:872–9.
126. Balu A, Ryan D, Niven R. Lung abscess as a complication of bronchial thermoplasty. *J Asthma.* 2015;52:740–2.
127. Nguyen DV, Murin S. Bronchial artery pseudoaneurysm with major hemorrhage after bronchial thermoplasty. *Chest.* 2016;149:e95–7.
128. Torrego Fernández A, Herth F, Muñoz AM, Puente L, Benedetti P, Facciolongo N, et al. Bronchial Thermoplasty Global Registry: Two Year Results. *Eur Respir J.* 2019; 54: PA3717.

11. ANEXOS

11. Anexos

Anexo 1. Protocolo normalizado de trabajo: Inmunohistoquímica alfa-actina

Sello del departamento	PROTOCOLO NORMALIZADO DE TRABAJO	Código: PNT-IH001
		Versión: 1304-01
		Fecha: 12/ABR/2013
TINCIÓN DE α-SMA EN BIOPSIAS HUMANAS		Pág. 1 de 4

I. PROPÓSITO

Describir el procedimiento estándar para la tinción de α -actina de músculo liso (α -SMA) en biopsias bronquiales u otra muestra de procedencia humana. Se realiza contratinción nuclear con verde de metileno.

II. APLICACIÓN

Este procedimiento se aplica a láminas (portaobjetos) con cortes de tejido humano fijado en formalina e incluido en parafina que sean procesados en el Dpto. de Pneumología Experimental del Institut de Recerca (salvo que otro protocolo sea especificado).

III. RESPONSABILIDAD

La responsabilidad es del personal cualificado para la tinción de las muestras que realice el procedimiento y que debe leer y aplicar el procedimiento descrito en este Protocolo Normalizado de Trabajo (PNT).

IV. DEFINICIONES

- TBS: Solución de Tris-HCl tamponada a pH 7.6
- Min: minutos de cada paso del proceso
- Y x Zmin = número de veces que se repite un paso del procedimiento (Y) y duración de cada repetición (Z).

V. MATERIALES Y EQUIPAMIENTO

- Campana de extracción de volátiles
- Lámina con corte de tejido
- Cubetas de tinción histológica
- Pinzas
- Micropipetas.
- Pipeteador automático
- Microscopio.
- Pipetas Pasteur
- Jeringa
- Filtro jeringa 0.22 μ m
- Cubreobjetos
- Pipetas graduadas (5 mL).
- Puntas micropipeta
- Cámara húmeda

Sello del departamento	PROTOCOLO NORMALIZADO DE TRABAJO	Código: PNT-IH001
		Versión: 1304-01
		Fecha: 12/ABR/2013
TINCIÓN DE α-SMA EN BIOPSIAS HUMANAS		Pág. 1 de 3

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • TBS fresco (1x) • Tris-HCl pH 8.5 • Agua destilada. • Verde metileno. • Xilol. • Etanol 100° • Etanol 95° • Etanol 70° • Butanol • Medio montaje Vecta-Mount® • Suero de caballo (Vector) | <ul style="list-style-type: none"> • Suero humano (Sigma) • Tritón X-100 • Tween-20 • Rotulador marcaje hidrofóbico • Lápiz con punta de diamante. • Anticuerpo anti-αSMA (Sigma) • Anticuerpo biotilado Ho anti-Mo • ABC-AP kit (Vector) • Vector-Red Kit para fosfatasa. • Timer |
|---|--|

I. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

En primer lugar se verifica bajo el microscopio que todas las láminas a procesar tengan tejido y el estado del mismo sea correcto. A continuación se realiza un marcaje del área que ocupa la muestra con el lápiz con punta de diamante en el reverso del portaobjetos para no perderla de vista en ningún momento. El protocolo a seguir se describe a continuación:

- 1) Desparafinación en campana de extracción de volátiles

– Xilol I (5min)	– Etanol 100° II (5min)
– Xilol II (5min)	– Etanol 95° (3min)
– Xilol III (5min)	– Etanol 70° (3min)
– Etanol 100° I (5min)	– TBS → 2 x 5min
- 2) Permeabilizar membranas → **20min**
Tritón X-100 al 0.2% en TBS
- 3) Lavados en TBS → 2 x **5min**
- 4) Marcar muestras con rotulador hidrofóbico
Se marca el área de tinción por la cara de la muestra para contener los líquidos de tinción sobre la muestra.
- 5) Bloqueo → **30min**
Solución de TBS con 0.1% de Tween-20 y 5% de suero de caballo.

- 1) Lavados con TBS → 2 x **5min**
- 2) Incubación con anticuerpo primario anti-alphaSMA (Mouse IgG, clone 1A4) → **40min**
 Diluyente: solución de TBS con 0.2% de Tween-20 y 2.5% de suero de caballo
 Anticuerpo: $[]_W = 5 \mu\text{g/mL}$ $[]_{\text{STOCK}} = 2 \text{mg/mL}$ (~1:400). Alícuota de $5 \mu\text{L} \rightarrow 1 \text{mL}$
- 3) Lavados con TBS → 2 x **5min**
- 4) Preparar ABC-AP
 5mL de PBS + 1 gota reactivoA + 1 gota de reactivoB
- 5) Incubación con anticuerpo secundario (Biotinilated Horse anti-mouse) → **30min**
 Anticuerpo secundario: $[]_W = 2-10 \mu\text{g/mL}$ $[]_{\text{STOCK}} = 1.5 \text{mg/mL}$. Alícuota de $8 \mu\text{L} \rightarrow 1 \text{mL}$
 Solución de TBS con $10 \mu\text{g/mL}$ de anticuerpo, 2.5% suero humano y 0.2% de Tween-20
- 6) Lavados con TBS → 2 x **5min**
- 7) Incubar con ABC-AP → **30min**
- 8) Lavados con TBS → 2 x **5min**
- 9) Incubar con Vector Red para fosfatasa → **MONITORIZAR** en microscopio
 2.5 mL Tris-HCl pH 8.5
 2.5 μL Tween-20
 1 gota reactivo1 + 1 gota reactivo2 + 1 gota reactivo3
- 10) Parar reacción con agua destilada → **5min**
- 11) Contratación nuclear con verde de metileno → **3min**
- 12) Deshidratar en campana de extracción de volátiles

<ul style="list-style-type: none"> - Agua destilada I (10 pases) - Agua destilada II (10 pases) - Agua destilada I (30 s agitación) - Butanol I (10 pases) - Butanol II (10 pases) 	<ul style="list-style-type: none"> - Butanol III (30 s agitación) - Xilol I (10 pases) - Xilol II (10 pases) - Xilol III (30 s agitación)
--	---
- 13) Montar con VectaMount® y cubreobjetos.

I. REFERENCIAS

N/AP

II. HISTORIAL DE ARCHIVO PNT

Nº Versión	Fecha Efectiva	Sección	Modificaciones/Revisiones
0413-01	12-04-2013	N/AP	Versión original.

Anexo 2: Becas y premios



Respira
Fundación Española
del Pulmón -SEPAR-

CONVOCATORIA BECAS SEPAP 2012
BECAS BECARIO

otorgada a

Dra. Ana María Muñoz Fernández

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

como investigadora adscrita al proyecto

Estudio de mecanismos fisiopatológicos y resultados de la aplicación de termoplastia bronquial en asma grave.

Barcelona, 16 de junio de 2013

Dra. Pilar de Lucas
Presidenta de SEPAR|RESPIRA

Dra. Inmaculada Alfageme
Directora del Comité Científico y de Investigación