

## LA ARTERIA PULMONAR ES EL PRINCIPAL PRODUCTOR DE REACTANTES DE FASE AGUDA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA

C. Calero-Acuña<sup>1,2</sup>, E. Arellano-Orden<sup>1</sup>, N. Moreno-Mata<sup>1,2</sup>, C. López-Ramírez<sup>1</sup>, V. Sánchez López<sup>1</sup>, J.L. López-Villalobos<sup>1,2</sup>, M. Abad Arranz<sup>1</sup>, A. Blanco-Orozco<sup>1</sup>, J.L. López-Campos<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Unidad Médico-Quirúrgica de Enfermedades Respiratorias, Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), Hospital Universitario Virgen del Rocío/Universidad de Sevilla. Sevilla. España.

<sup>2</sup>CIBER de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Instituto de Salud Carlos III, Madrid. España.

### Resumen:

**Introducción.** El origen de la inflamación sistémica en la EPOC sigue estando poco aclarada. Hemos tratado de comparar la expresión de los niveles de reactantes de fase aguda en pacientes con EPOC y los fumadores sanos (controles), tanto en las arterias pulmonares locales como en leucocitos de sangre periférica y plasma.

**Método.** Los pacientes se clasificaron como EPOC o fumadores sanos según los resultados de la espirometría. Las arterias pulmonares, leucocitos de sangre periférica y las muestras de plasma se obtuvieron de todos los sujetos incluidos. La expresión génica de la proteína C-reactiva (PCR) y el amiloide sérico A (AAS1, AAS2, y AAS4) se evaluó en muestras de tejidos y leucocitos de sangre periférica mediante RT-PCR. Los niveles de PCR y AAS se midieron mediante ensayos inmunoenzimáticos.

**Resultados.** Se incluyeron un total de 40 pacientes con EPOC y 62 fumadores sanos, reclutados desde comienzos del año 2011 hasta finales del 2012. Tanto PCR y AAS se sobreexpresan en la arteria pulmonar en comparación con los leucocitos de sangre periférica. En los pacientes con EPOC, en la arteria pulmonar, los niveles de expresión génica de la PCR, el AAS1, y el AAS2 fueron 8-, 56-, y 2,3 veces mayor que en los leucocitos de sangre periférica, respectivamente. No se observó correlación entre los niveles plasmáticos de marcadores inflamatorios y su expresión en la arteria pulmonar y leucocitos de sangre periférica.

**Conclusiones.** La sobreexpresión de AAS en las arterias pulmonares en comparación con los leucocitos de sangre periférica sugiere que el pulmón puede ser la principal fuente de AAS en pacientes con EPOC. Otras fuentes potenciales de inflamación sistémica en la EPOC (por ejemplo, el hígado) necesitan un examen más detallado.

**Palabras clave:** reactantes de fase aguda, Amiloide Sérico A, proteína C Reactiva, EPOC, arteria Pulmonar.

### THE PULMONARY ARTERY IS THE MAIN PRODUCER OF ACUTE PHASE REACTANTS IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

**Introduction.** The origin of systemic inflammation in COPD is still not completely clear. We have attempted to compare the expression levels of acute phase reactants in patients with COPD and healthy smokers (controls), both in the local pulmonary artery and in peripheral blood leukocytes and plasma.

**Method.** Patients were classified as having COPD or being healthy smokers according to spirometry results. The pulmonary artery, peripheral blood leukocyte and plasma samples were obtained from all included subjects. Genetic expression of the C-reactive protein (CRP) and serum amyloid A (SAA1, SAA2 and SAA4) was evaluated in tissue samples and peripheral blood leukocytes using RT-PCR. CRP and SAA levels were measured using immunoenzymatic assays.

**Results.** A total of 40 patients with COPD and 62 healthy smokers were included, recruited between early 2011 and late 2012. Both CRP and SAA was overexpressed in the pulmonary artery in comparison with peripheral blood leukocytes. In patients with COPD, genetic expression levels of CRP, SAA1 and SAA2 in the pulmonary artery were 8, 56, and 2.3 times higher than in peripheral blood leukocytes, respectively. No correlation was observed between inflammatory marker plasma levels and their expression in the pulmonary artery and peripheral blood leukocytes.

**Conclusions.** The overexpression of SAA in pulmonary arteries in comparison with peripheral blood leukocytes suggests that the lung may be the main source of SAA in patients with COPD. Other potential sources of systemic inflammation in COPD (for example, the liver) require more detailed examination.

**Keywords:** acute phase reactants, serum amyloid A, C-reactive protein, COPD, pulmonary artery

Recibido: 12.07.2016. Aceptado: 22.07.2018

Dra. Carmen Calero Acuña

[ccalero-ibis@us.es](mailto:ccalero-ibis@us.es)

## INTRODUCCIÓN

Aunque la presencia de inflamación sistémica ha sido ampliamente documentada en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), aún no está aclarado el origen de esta inflamación. En la actualidad, sigue siendo un controvertido tema de debate si la respuesta inflamatoria sistémica puede influir en las manifestaciones clínicas y la expresión de los diferentes fenotipos de la EPOC<sup>1</sup>.

La proteína C reactiva (PCR) y el amiloide A sérico (AAS) forman parte del grupo de reactantes de fase aguda más comunes (RFA) que se encuentran incrementados en la EPOC<sup>2, 3</sup> aunque sus fuentes biológicas no han sido claramente identificadas<sup>4</sup> Se ha sugerido que el exceso de producción de mediadores inflamatorios locales en el compartimento pulmonar es el responsable de la extensión a la circulación sistémica.<sup>5</sup>

Sin embargo, esta hipótesis se contradice con la falta de correlación entre la expresión local y sistémica de los biomarcadores inflamatorios en EPOC<sup>6</sup>. Por otra parte, los marcadores de inflamación en el esputo inducido no mostraron una asociación significativa con sus niveles en plasma<sup>6</sup>.

En investigaciones anteriores llevados a cabo en tejidos normales, así como en experimentación con animales y en estudios *in vitro*, se ha demostrado que los tejidos del pulmón son capaces de sintetizar y secretar RFA<sup>2, 7, 8</sup>. Nuestro grupo ha demostrado en trabajos realizados con anterioridad que los bronquios y el parénquima pulmonar son capaces de sintetizar PCR y AAS en la EPOC en comparación con los fumadores que no desarrollaron la enfermedad (los fumadores sanos)<sup>9</sup> En particular, se observó que la expresión de marcadores de inflamación es diferente en los fibroblastos, células epiteliales, y macrófagos<sup>10</sup>. Sin embargo, el papel de los leucocitos de sangre periférica como una fuente potencial de marcadores de inflamación sistémica en la EPOC aún no ha sido evaluado. La posible participación de la pared arterial y / o leucocitos de sangre periférica en la inflamación de la EPOC también explicaría la asociación conocida con eventos cardiovasculares adversos<sup>11</sup>.

Por esta razón, hemos diseñado un estudio de casos y controles con el objetivo de comparar la expresión de los niveles de RFA en pacientes con EPOC y los fumadores sanos tanto en la pared de la arteria pulmonar como a nivel sistémico (leucocitos de sangre periférica y plasma).

## MÉTODO

Ética: el protocolo de estudio fue aprobado por la Junta de Revisión Institucional del Hospital Virgen del Rocío, Sevilla, España. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado por escrito antes de su inclusión en el estudio

Participantes en el estudio: fueron incluidos pacientes consecutivos con sospecha de cáncer de pulmón primario a los que se le iba a realizar una cirugía de resección pulmonar programada (neumectomía o lobectomía). Los pacientes fueron incluidos en el estudio el día antes de la cirugía. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: 1) edad <40 años, 2) antecedentes de infecciones respiratorias agudas en los dos meses previos a la intervención, 3) una neoplasia diagnosticada previamente, 4) tratamiento con radioterapia y/o quimioterapia, y 5) presencia de enfermedades inflamatorias crónicas. La cantidad de tiempo transcurrido entre la abertura de la capa cutánea y la extracción de la muestra anatómica se midió en todos los participantes. Los casos con un intervalo superior a 3 horas fueron excluidos debido al potencial aumento de los marcadores inflamatorios relacionados con la cirugía. Se comprobó la historia clínica de los pacientes para verificar que recientemente se habían sometido a una prueba de función pulmonar. Los participantes con un cociente entre el volumen espiratorio forzado en un segundo (FEV1) / capacidad vital forzada (FVC) <0,7 fueron considerados como EPOC. Todos los fumadores sanos restantes se incluyeron como controles. Los participantes en el estudio completaron un cuestionario estandarizado centrándose en su historial médico, hábito de tabaco, y el uso actual de drogas. También se registró la estadificación TNM de la lesión primaria<sup>12</sup> y el abordaje quirúrgico. Se entregó una muestra de pulmón para su análisis microbiológico antes de la resección quirúrgica para evaluar la colonización microbiana. También se examinaron muestras microbiológicas obtenidas con la broncoscopia. Después de la cirugía, una sección del parénquima pulmonar y la sección disponible más grande de la arteria pulmonar reseca se recogieron para su posterior estudio. Las muestras situadas en situación más distal de la lesión primaria se identificaron y se procesaron inmediatamente. La muestra anatómica restante se procesó para el diagnóstico anatómico-patológico de la lesión primaria. En todos los participantes se recogió una muestra de sangre venosa periférica antes de la cirugía.

Niveles de expresión de genes en tejido y en sangre: la expresión de marcadores inflamatorios en

el tejido y leucocitos de sangre periférica se analizó mediante transcripción inversa PCR cuantitativa (RT-qPCR), un método que consta de tres pasos (extracción de ARN, transcripción inversa a ADNc, y amplificación de genes). Se aisló ARN de tejidos frescos con un kit TriSure (Bioline, Londres, Reino Unido). Las muestras posteriormente fueron sometidas a tratamiento DNasa usando RNasa libre de DNasa (QIAGEN GmbH, Hilden, Alemania) y el ADNc fue sintetizado utilizando un kit de síntesis de ADNc iScript™ (Bio-Rad, Hercules, CA, EE.UU.). Cada mezcla de reacción de amplificación de 25 l compuesto 5 ADNc l (10 ng / l), 12,5 l SYBR® Green PCR Master Mix (Stratagene, La Jolla, CA, EE.UU.) y 7,5 cebadores  $\mu$  l / H<sub>2</sub>O. RT- qPCR se realizó en un 7900 Real-Time System Aplicada Biosystems® PCR (Life Technologies, Grand Island, NY, EE.UU.) bajo las siguientes condiciones de ciclo: 95°C durante 15 s, 60°C durante 30 s y 72°C durante 40 s, 40 ciclos. 18S.

La expresión de ARN ribosómico (ARNr) se utilizó como control interno para la normalización de la expresión del gen diana. La lista de los cebadores utilizados para amplificar los genes de interés se proporciona en la Tabla 1. Se han identificado tres genes de AAS estrechamente vinculados en seres humanos (AAS1, AAS2, y AAS4). Su síntesis se activa por citocinas proinflamatorias liberadas tras la activación de los monocitos / macrófagos<sup>13</sup>.

Mediciones de marcadores inflamatorios en plasma: se recogieron muestras de sangre (5 ml) por punción venosa en ácido-K3 etilendiaminotetraacético (EDTA) en tubos (Vacuette, Bio-One GmbH, Greiner, Austria). Las muestras se centrifugaron inmediatamente, y las alícuotas de plasma se almacenaron a -80 °C hasta inmediatamente antes del análisis. Los niveles plasmáticos de PCR (I + D del sistema, Minneapolis, MN, EE.UU.) y AAS (Anogen, Mississauga, Ontario, Canadá) se midieron utilizando kits de inmunoensayo enzimático disponibles en el mercado, según el protocolo de los fabricantes.

Análisis estadístico: se estimaron las medias y las desviaciones estándar para las variables continuas y frecuencias y porcentajes para las variables categóricas. Los valores de expresión génica relativa se evaluaron con los datos de expresión génica del método  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ <sup>14</sup>. Se compararon según la localización anatómica mediante la prueba de suma de rangos de Wilcoxon. Se utilizó la prueba t de Student para probar las diferencias en las variables continuas entre los pacientes con EPOC y controles. Los datos categóricos se compararon con la prueba de  $\chi^2$ . Las asociaciones entre la expresión génica del tejido y los niveles plasmáticos

de biomarcadores inflamatorios se analizaron con el coeficiente de correlación de Spearman. Todas las hipótesis de pruebas se llevaron a cabo a un nivel del 5% de significación (dos colas), utilizando el software de análisis estadístico SPSS versión 20.0 (SPSS, IBM Corporation, Somers, NY, EE.UU.).

## RESULTADOS

Pacientes y procedimientos: fueron incluidos en el estudio 40 pacientes con EPOC y 62 fumadores sanos reclutados desde comienzos del año 2011 hasta finales del 2012. Las principales características de los participantes del estudio se resumen en la Tabla 1. Los procedimientos quirúrgicos consistieron en neumectomías (17,6%), lobectomías (78,4%) y resecciones atípicas (4%). Las operaciones se realizan en el hemitórax derecho y el izquierdo con una frecuencia de 54,9% y 45,1% de los pacientes, respectivamente. El carcinoma epidermoide tuvo una frecuencia de 42,2% y los adenocarcinomas un 31,4% siendo estos dos tipos de tumores los tipos histológicos más comunes. Los resultados del examen patológico no encontraron células neoplásicas malignas en el 7,8% de los pacientes del estudio.

La expresión de reactantes de fase aguda en la arteria pulmonar: expresión de la PCR en la arteria pulmonar fue significativamente mayor en los pacientes con EPOC que en los fumadores sanos. Por otra parte, la expresión AAS2 fue 100% mayor en los pacientes con EPOC que en los controles ( $p = 0,028$ ; Figura 1, panel B). En la arteria pulmonar, hemos encontrado correlaciones positivas significativas entre la expresión de la PCR y AAS1 ( $r = 0,403$ ,  $p=0.001$ ), así como entre AAS1 y AAS4 ( $r = 0,494$ ,  $p=0.001$ ). Se observaron diferencias significativas en términos de expresión AAS2 entre fumadores sanos y pacientes EPOC GOLD I ( $p = 0,010$ ), así como entre EPOC GOLD I y II GOLD ( $p = 0,012$ ; Figura 2, panel A).

Expresión de reactantes de fase aguda en leucocitos de sangre periférica: se encontró que la expresión de PCR, AAS1, y AAS4 en leucocitos de sangre periférica difieren significativamente entre los pacientes con EPOC y los fumadores sanos. En línea con los resultados obtenidos en la arteria pulmonar, la expresión de AAS2 fue 100% mayor en los pacientes con EPOC que en los controles (Figura 1, panel B). Hubo una correlación positiva entre la expresión de AAS1 y AAS4 ( $r = 0,985$ ,  $p \leq 0.001$ ). Se encontraron diferencias significativas entre EPOC GOLD I y los fumadores sanos en términos de expresión de AAS1 ( $p = 0,037$ ) y AAS4 ( $p = 0,018$ ). Además, no se observaron diferencias significativas en términos de expresión de AAS4

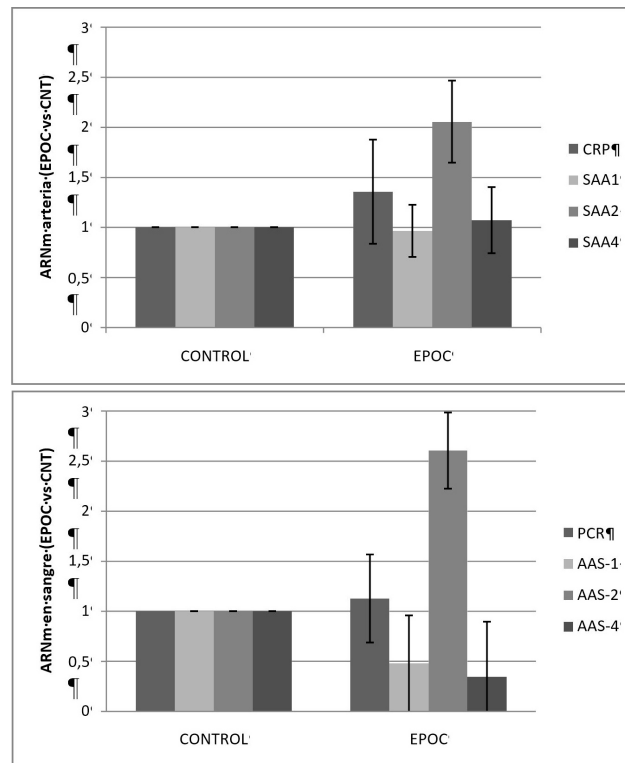
entre los EPOC GOLD I y GOLD II ( $p = 0,030$ ; Figura 2, panel C).

Comparación de la expresión de RFA entre los diferentes tejidos: a continuación se realizó una comparación de la expresión de los RFA en la arteria pulmonar, y leucocitos de sangre periférica (Figura 3). En comparación con los leucocitos de sangre periférica, la expresión de AAS fue significativamente mayor en la arteria pulmonar (8 veces mayor para AAS1,  $p \leq 0,001$ ; 50 veces mayor para AAS2,  $p \leq 0,001$ ; y 2,3 veces mayor para AAS4,  $p = 0,019$ ). Sin embargo, no se observaron diferencias en la expresión de PCR entre la arteria pulmonar, y leucocitos de sangre periférica.

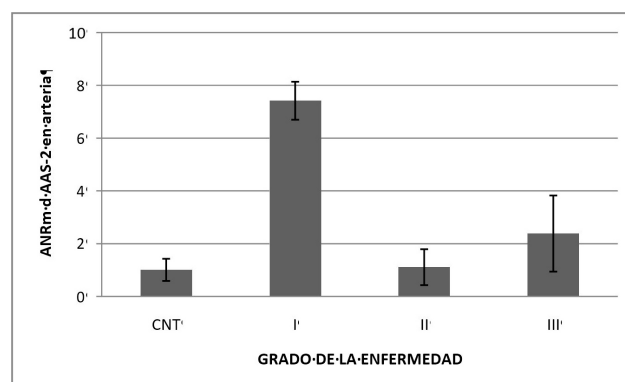
Las asociaciones entre la expresión de reactantes de fase aguda en diferentes tejidos: a continuación, se investigó las asociaciones entre expresión de RFA en la arteria pulmonar y leucocitos de sangre periférica. Se identificaron correlaciones positivas significativas para la expresión de PCR en la arteria pulmonar y leucocitos de sangre periférica ( $r = 0,195$ ,  $p = 0,04$ ). Se identificaron las diferencias más marcadas en la expresión de tejido para AAS2. Cinco participantes del estudio tenían antecedentes de enfermedad cardiovascular. Sin embargo, la expresión RFA no difirió significativamente en pacientes con y sin enfermedad cardiovascular (datos no mostrados).

Las asociaciones entre la expresión génica reactante de fase aguda y sus concentraciones plasmáticas: PCR en plasma mostró una tendencia hacia niveles más altos en los pacientes con EPOC ( $4,4 \pm 1,73$  mg / ml) que en los fumadores sanos ( $3,8 \pm 2,04$  mg/ml,  $p > 0,05$ ). Las concentraciones de AAS en plasma fueron significativamente mayores en los pacientes con EPOC ( $5,6 \pm 1,3$  mg / ml) que en los controles ( $4,6 \pm 21$  mg/ml,  $p = 0,031$ ). Fue evidente una asociación positiva significativa entre la PCR de plasma y los niveles de AAS ( $p = 0,617$ ,  $p \leq 0,001$ ). Sin embargo, no hubo correlación significativa entre los niveles plasmáticos de RFA y su expresión génica en la arteria pulmonar, y leucocitos de sangre periférica. Niveles de AAS aumentaron de forma paralela a la gravedad de la EPOC (Figura 4).

**Figura 1.** Expresión génica de reactantes de fase aguda en fumadores sin enfermedad (CONTROL) y pacientes EPOC en diferentes tejidos: arteria pulmonar (panel A) y en células sanguíneas (panel B). No había diferencias significativas ( $p > 0,05$ )



**Figura 2:** Panel A: Perfil de expresión génica de AAS-2 en la arteria pulmonar de acuerdo al grado de EPOC. Panel B and C: Perfil de expresión génica de AAS-1 y AAS-2 en las células sanguíneas de acuerdo al grado de EPOC. Abreviaturas: CNT, fumadores resistentes (controles); I, EPOC GOLD I; II, EPOC GOLD II; III, EPOC GOLD III



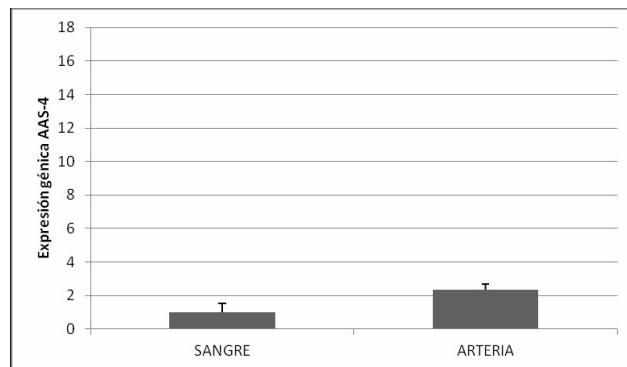
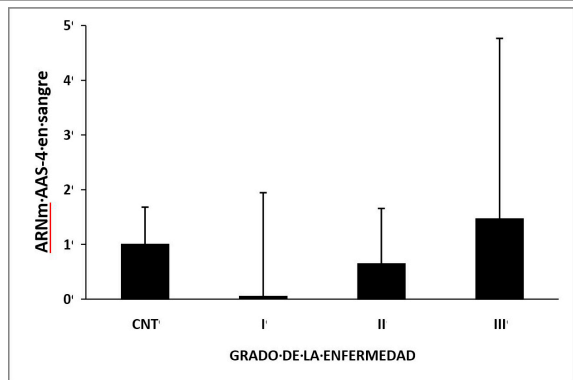
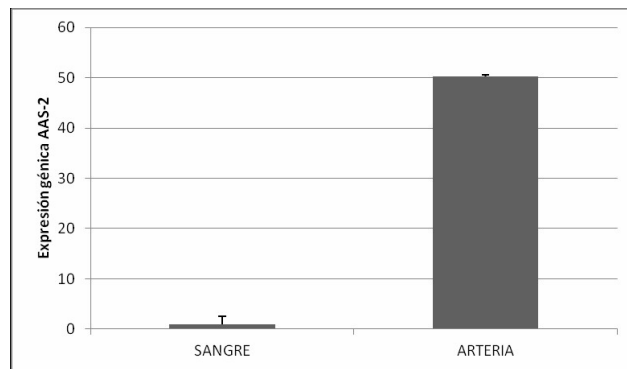
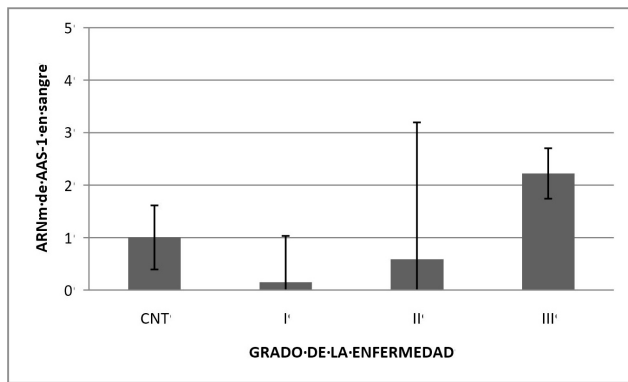
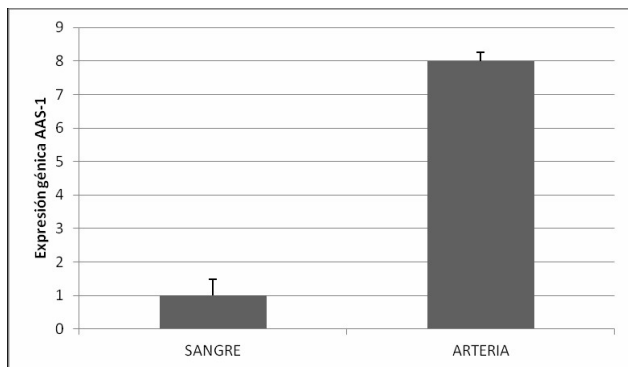
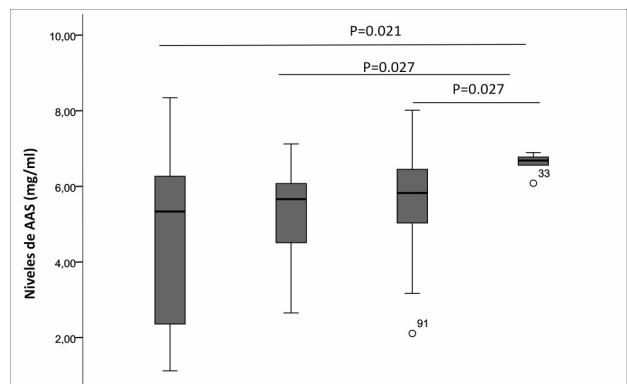
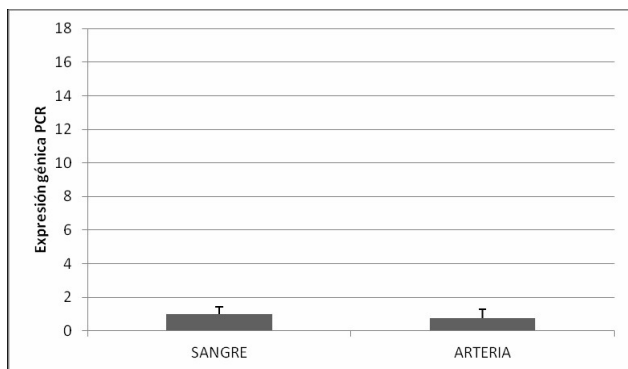


Figura 3. Comparación de niveles de expresión génica de reactantes de fase aguda en células sanguíneas y arteria pulmonar de paciente con EPOC

Figura 4. Concentración de AAS en plasma (mg/ml) en fumadores resistentes (controles, CNT) y pacientes con diferentes grados de EPOC.



**Tabla 1.** Características generales de los participantes en el estudio

	Fumadores (n=62)	EPOC (n=40)	p*
Hombres (n)	48 (77.4%)	37 (92.5%)	0.029
Edad (años)	64.4 ± 13.5	67.4 ± 8.01	NS
Consumo tabaco (paq-año)	43.5 ± 34.7	69.7 ± 33.1	0.001
Índice Charlson-edad	4.9 ± 2.2	5.7 ± 1.7	NS
FVC (%)	98.7 ± 20.45	91.6 ± 19	NS
FEV1 (%)	94.0 ± 19.89	69.0 ± 18.4	< 0.001
FEV1/FVC (%)	77.1 ± 6.9	59.0 ± 9.7	< 0.001

Datos expresados en mediana y desviación estándar para variables continuas y frecuencias y porcentajes para variables categóricas. \*Valor de P fue calculado con el Test de Student (variables continuas) o el test  $\chi^2$  (variables categóricas). Abreviaturas: FVC, capacidad vital forzada; FEV1, volumen espiratorio en el primer segundo; NS, no significativo.

## DISCUSIÓN

En el presente estudio, se realizó una comparación de la expresión de RFA en la arteria pulmonar, y los leucocitos de sangre periférica de pacientes con EPOC. También se midió la PCR en plasma y las concentraciones de AAS con el objetivo de establecer si existen asociaciones significativas con su expresión génica del tejido. Nuestros resultados indican que la expresión de RFA, tanto PCR como AAS es mayor en la arteria pulmonar en comparación con la sangre periférica. Sin embargo, no se encontró asociación entre la expresión de moléculas inflamatorias en el pulmón y sus niveles plasmáticos circulantes.

Estudios previos han demostrado que la inflamación en la EPOC no se limita a las vías respiratorias y los pulmones<sup>15</sup>, también se pueden encontrar a nivel sistémico<sup>16</sup>. Aunque el aumento de los niveles circulantes de PCR, la interleucina (IL) -6, IL-8 y factor de necrosis tumoral  $\alpha$  han sido estudiados en pacientes con EPOC<sup>17, 18</sup> el origen de la producción de estas moléculas proinflamatorias en esta entidad clínica siguen sin estar claros. El modelo más ampliamente aceptado que explica la inflamación sistémica en la EPOC postula que el exceso de producción de mediadores inflamatorios locales en el compartimento pulmonar puede extenderse a la circulación sistémica<sup>5</sup>. Es conocido que la PCR es un biomarcador conocido de

inflamación sistémica<sup>19, 20</sup>, pero respecto al AAS existen menos datos que demuestren que es un biomarcador inflamatorio en la EPOC. Aquí, hemos demostrado que la expresión tanto de PCR y AAS es más alta en el compartimento de la arteria pulmonar que en la sangre periférica. Curiosamente, no existe asociación significativa entre los niveles de los pulmones y la sangre.

La producción de la PCR y la expresión génica AAS es un factor clave que debe tenerse en cuenta en el análisis de biomarcadores inflamatorios en la EPOC. Aunque la enfermedad se caracteriza por una marcada inflamación de las vías respiratorias, y la vasculatura pulmonar<sup>21</sup>, la implicación anatómica puede mostrar una variabilidad interindividual significativa que resulta en última instancia en diferentes fenotipos de la enfermedad<sup>22, 23</sup>.

Las células endoteliales aórticas pueden secretar PCR<sup>24</sup> y el AAS se ha demostrado que se expresa en el endotelio<sup>25</sup>. Sin embargo, ningún estudio hasta la fecha se ha centrado en el papel potencial del lecho vascular pulmonar como una fuente de inflamación sistémica en la EPOC. Nuestros resultados indican que la expresión de AAS en pacientes con EPOC es mayor en la arteria pulmonar que en la sangre periférica. En una investigación inmunohistoquímica anterior, hemos demostrado que PCR y AAS en la EPOC son ambos expresados en la pared del vaso pulmonar<sup>9</sup>. Aquí, hemos ampliado nuestras observaciones anteriores mediante la

evaluación de sus niveles de expresión de genes tanto en los pulmones como en la sangre. Nuestros resultados actuales indican que existe una reacción inflamatoria más marcada en el compartimento local y no a nivel sistémico. En el compartimento periférico, hemos medido la expresión de RFA en leucocitos de sangre periférica, así como sus niveles plasmáticos circulantes. Los pacientes con EPOC tenían una mayor carga inflamatoria periférica en comparación con los fumadores sanos. Además, el grado de inflamación sistémica (medida por los niveles plasmáticos de marcadores inflamatorios) aumentó en paralelo con la gravedad de la EPOC. Sin embargo, la expresión génica RFA en el pulmón (vasculatura pulmonar) no se correlacionaba con su expresión en leucocitos de sangre periférica periféricos ni con sus niveles plasmáticos. Aunque se esperaría correlaciones significativas entre el plasma y la expresión tisular de RFA si la hipótesis del desbordamiento fuese cierta, por ello creemos que nuestros resultados deben ser interpretados con cautela. En consecuencia, debemos realizar algunas advertencias a cerca de nuestro estudio. En primer lugar, la cuantificación de ARNm no proporciona información sobre la producción final de una proteína funcional. En segundo lugar, numerosos RFA (incluyendo PCR y AAS) pueden ser sintetizados en el hígado, un órgano que no ha sido investigado específicamente en el actual trabajo. Ji y colaboradores<sup>26</sup> han estudiado previamente la actividad inflamatoria en diferentes compartimentos (por ejemplo, saliva, esputo, lavado broncoalveolar y suero / sangre) de los pacientes con EPOC estratificados de acuerdo a su condición de fumador. Los autores identificaron varias asociaciones entre diferentes marcadores inflamatorios, tanto a nivel local como sistémico. Serán necesarios más estudios de las respuestas inflamatorias en diversos compartimentos (por ejemplo, hígado, esputo, o saliva) para identificar otras posibles fuentes de inflamación sistémica en la EPOC.

En conclusión, la carga inflamatoria de la EPOC parece ser mayor en el pulmón en comparación con la circulación periférica. En particular, no se observaron asociaciones entre la expresión de RFA pulmonares y sus niveles plasmáticos circulantes, por lo que la liberación de proteínas inflamatorias de los pulmones a la corriente sanguínea es poco probable. Con base en estos resultados, es necesario un estudio más detallado de otras fuentes potenciales de inflamación sistémica en la EPOC, por ejemplo, el hígado.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Nussbaumer-Ochsner Y, Rabe KF. Systemic manifestations of COPD. *Chest*. 2011; 139(1): 165-173.
2. Urieli-Shoval S, Cohen P, Eisenberg S et al. Widespread expression of serum amyloid A in histologically normal human tissues. Predominant localization to the epithelium. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*. 1998; 46(12): 1377-1384.
3. Pinto-Plata VM, Mullerova H, Toso JF et al. C-reactive protein in patients with COPD, control smokers and non-smokers. *Thorax*. 2006; 61(1): 23-28.
4. Sunyer J, Pistelli R, Plana E et al. Systemic inflammation, genetic susceptibility and lung function. *The European respiratory journal : official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology*. 2008; 32(1): 92-97.
5. Sinden NJ, Stockley RA. Systemic inflammation and comorbidity in COPD: a result of 'overspill' of inflammatory mediators from the lungs? Review of the evidence. *Thorax*. 2010; 65(10): 930-936.
6. Vernooy JH, Kucukaycan M, Jacobs JA et al. Local and systemic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease: soluble tumor necrosis factor receptors are increased in sputum. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2002; 166(9): 1218-1224.
7. Paivaniemi OE, Maasilta PK, Vainikka TL et al. Local C-reactive protein expression in obliterative lesions and the bronchial wall in posttransplant obliterative bronchiolitis. *Mediators of inflammation*. 2009; 2009: 510254.
8. Ramage L, Proudfoot L, Guy K. Expression of C-reactive protein in human lung epithelial cells and upregulation by cytokines and carbon particles. *Inhalation toxicology*. 2004; 16(9): 607-613.
9. Lopez-Campos JL, Calero C, Rojano B et al. C-reactive protein and serum amyloid a overexpression in lung tissues of chronic obstructive pulmonary disease patients: a case-control study. *International journal of medical sciences*. 2013; 10(8): 938-947.
10. Calero C, Arellano E, Lopez-Villalobos JL et al. Differential expression of C-reactive protein and serum amyloid A in different cell types in the lung tissue of chronic obstructive pulmonary disease patients. *BMC pulmonary medicine*. 2014; 14: 95.
11. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Pennells L et al. C-reactive protein, fibrinogen, and cardiovascular disease prediction. *The New England journal of medicine*. 2012; 367(14): 1310-1320.

12. Leon-Atance P, Moreno-Mata N, Gonzalez-Aragoneses F et al. Multicenter analysis of survival and prognostic factors in pathologic stage I non-small-cell lung cancer according to the new 2009 TNM classification. *Archivos de bronconeumologia*. 2011; 47(9): 441-446.
13. Malle E, De Beer FC. Human serum amyloid A (SAA) protein: a prominent acute-phase reactant for clinical practice. *European journal of clinical investigation*. 1996; 26(6): 427-435.
14. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nature protocols*. 2008; 3(6): 1101-1108.
15. Hogg JC, Chu F, Utokaparch S et al. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *The New England journal of medicine*. 2004; 350(26): 2645-2653.
16. Gan WQ, Man SF, Senthilselvan A et al. Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systematic review and a meta-analysis. *Thorax*. 2004; 59(7): 574-580.
17. Tanni SE, Pelegrino NR, Angeleli AY et al. Smoking status and tumor necrosis factor-alpha mediated systemic inflammation in COPD patients. *J Inflamm (Lond)*. 2010; 7: 29.
18. Agusti A, Edwards LD, Rennard SI et al. Persistent systemic inflammation is associated with poor clinical outcomes in COPD: a novel phenotype. *PloS one*. 2012; 7(5): e37483.
19. de Torres JP, Cordoba-Lanus E, Lopez-Aguilar C et al. C-reactive protein levels and clinically important predictive outcomes in stable COPD patients. *The European respiratory journal : official journal of the European Society for Clinical Respiratory Physiology*. 2006; 27(5): 902-907.
20. Ghobadi H, Fouladi N, Beukaghazadeh K et al. Association of High Sensitive CRP Level and COPD Assessment Test Scores with Clinically Important Predictive Outcomes in Stable COPD Patients. *Tanaffos*. 2015; 14(1): 34-41.
21. Wei J, Xiong XF, Lin YH et al. Association between serum interleukin-6 concentrations and chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis. *PeerJ*. 2015; 3: e1199.
22. Kim V, Criner GJ. The chronic bronchitis phenotype in chronic obstructive pulmonary disease: features and implications. *Current opinion in pulmonary medicine*. 2015; 21(2): 133-141.
23. Bafadhel M, Umar I, Gupta S et al. The role of CT scanning in multidimensional phenotyping of COPD. *Chest*. 2011; 140(3): 634-642.
24. Venugopal SK, Devaraj S, Jialal I. Macrophage conditioned medium induces the expression of C-reactive protein in human aortic endothelial cells: potential for paracrine/autocrine effects. *Am J Pathol*. 2005; 166(4): 1265-1271.
25. Lakota K, Resnik N, Mrak-Poljsak K et al. Colocalization of serum amyloid a with microtubules in human coronary artery endothelial cells. *J Biomed Biotechnol*. 2011; 2011: 528276.
26. Ji J, von Scheele I, Bergstrom J et al. Compartment differences of inflammatory activity in chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory research*. 2014; 15: 104.