

# Possono i corticosteroidi influenzare la sensazione di dispnea durante broncocostrizione nell'asma?\*

Rita Ottanelli, MD; Elisabetta Rosi, MD; Isabella Romagnoli, MD;  
Michela Grazzini, MD; Loredana Stendardi, MD; Roberto Duranti, MD;  
Giorgio Scano, MD, FCCP

**Premessa:** Alcuni aspetti contraddittori sulla percezione della dispnea (PD) in asmatici potrebbero dipendere dalla interrelazione tra i seguenti fattori: 1. l'influenza dell'ostruzione di base sulla abilità del paziente di percepire un ulteriore aumento della resistenza delle vie aeree, 2. gli effetti dell'infiammazione eosinofila delle vie aeree, 3. l'iperresponsività bronchiale (BHR) e, 4. gli effetti dell'inalazione degli steroidi (ICS).

**Obiettivo:** Noi abbiamo ipotizzato che se l'infiammazione delle vie aeree influenza in una certa misura ed entità la PD nell'asmatico, gli ICS possono invertire gli effetti dell'infiammazione sulla PD.

**Metodi:** Sono stati studiati 100 pazienti asmatici suddivisi in 4 gruppi: pazienti ostruiti ICS naive (gruppo I) o ICS trattati (gruppo II) e pazienti non ostruiti ICS naive (gruppo III) o ICS trattati (gruppo IV). La PD su scala VAS era valutata durante l'ostruzione bronchiale alla metacolina ed era quantificata come slope ( $\Delta\text{VAS}/\Delta\text{FEV}_1$ ) e come score ad una caduta del  $\text{FEV}_1$  compresa tra 5 e 20% del controllo. BHR era valutata in termini di  $\text{PC}_{20}\text{FEV}_1$ . Veniva anche eseguita la conta degli eosinofili sull'escreato indotto. La valutazione statistica era centrata sulle analisi di regressione, della varianza, e fattoriale.

**Risultati:** Per una caduta del  $\text{FEV}_1$  tra 5 e 20% del controllo lo score VAS era più basso nel gruppo II, leggermente più alto nel gruppo I, ancora più alto nel gruppo IV ed il più alto nel gruppo III. Nei pazienti come gruppo, BHR correlava con la PD ma non con età, score clinico, durata della malattia, ostruzione di base. Nei pazienti ostruiti ICS-trattati la conta degli eosinofili correlava negativamente con PD. L'analisi fattoriale forniva 4 fattori sui quali gravavano separatamente ICS, eosinofili, e  $\text{FEV}_1$ ;  $\text{PC}_{20}$  e PD erano associati su un quarto fattore. L'analisi *post hoc* eseguita dividendo i pazienti in ICS-naive e ICS-trattati ha mostrato che nel primo gruppo la conta degli eosinofili e BHR erano associati negativamente alla PD, mentre nel secondo gruppo la conta degli eosinofili era associata positivamente con la PD.

**Conclusione:** L'infiammazione eosinofila delle vie aeree può aumentare la PD ma l'associazione di eosinofili con ICS può ridurre la PD. (CHEST Edizione Italiana 2002; 1:14-21)

**Parole chiave:** asma, broncocostrizione, dispnea, corticosteroidi eosinofili iperresponsività

**Abbreviazioni:** BCM=beclometasone; BHR=iperresponsività bronchiale; ICS=corticosteroide inalato;  $\text{PC}_{20}$ =concentrazione provocativa di metacolina che cause la caduta del 20% del  $\text{FEV}_1$ ; PD=percezione della dispnea;  $\text{PD}_{20}$ =percezione della dispnea quando il  $\text{FEV}_1$  si riduce del 20% rispetto al valore post soluzione fisiologica; VAS=scala analogica visiva; VC=capacità vitale

\*Dal Dipartimento di Medicina Interna (Dr. Ottanelli, Duranti e Scano), Sezione di Immunoallergologia e Malattie dell'Apparato Respiratorio, Università di Firenze e Fondazione don C. Gnocchi (IRCCS) Pozzolatico, Firenze.

Finanziato dal Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica, Italia e dalla Fondazione Don C. Gnocchi (IRCCS). Manoscritto ricevuto in data 9 ottobre 2000; revisione accettata in data 6 aprile 2001.

Corrispondenza: Prof. G. Scano, MD, FCCP, Dipartimento di Medicina Interna, Sezione di Immunoallergologia e Malattie dell'Apparato Respiratorio, Università di Firenze, Viale Morgagni 87 50134 Firenze, Italia; e-mail: g.scano@dmi.unifi.it

(CHEST 2001; 120:770-777)

La dispnea ha una genesi multifattoriale<sup>1</sup> e gli esatti meccanismi che la determinano, in corso di asma, non sono ancora completamente conosciuti. È stato suggerito che molti fattori influenzino la percezione della dispnea (PD) durante broncocostrizione nei pazienti asmatici: fattori meccanici quali l'attivazione dei muscoli inspiratori della gabbia toracica,<sup>2-4</sup> l'iperinsufflazione polmonare,<sup>5</sup> l'adattamento temporale,<sup>6-8</sup> l'iperresponsività bronchiale,<sup>6</sup> e fattori psicologici<sup>9</sup> emozionali e cognitivi.<sup>10</sup> Inoltre, il ruolo dell'infiammazione ed il trattamento antinfiammatorio nella modulazione della PD sono stati

investigati solo recentemente.<sup>11-14</sup> È stato osservato che la PD correla negativamente con la flogosi eosinofila delle vie aeree sia in pazienti con asma lieve-moderato<sup>13</sup> che in pazienti con asma grave.<sup>14</sup> Questo potrebbe spiegare la benefica influenza del trattamento antinfiammatorio con steroidi per via inalatoria (ICS) sulla PD, osservata in pazienti con asma lieve-moderato.<sup>11,13</sup> Peraltro, studi<sup>12,14</sup> sull'effetto degli ICS sulla percezione della dispnea hanno fornito risultati contrastanti. La severità della malattia, nonostante la terapia con ICS, è stata avocata a spiegare l'osservazione che la flogosi eosinofila delle vie aeree riduce direttamente la PD,<sup>14</sup> anche se un effetto centrale diretto degli ICS sull'acuità della percezione non è stato escluso.<sup>12,14</sup> Non è stato ancora chiaramente capito perché gli ICS, che agiscono modulando la flogosi bronchiale,<sup>15</sup> possano essere associati ad un decremento o ad un incremento della PD. Inoltre, l'osservazione che gli ICS possono ridurre la PD è stata riportata sia nell'asma lieve-moderato<sup>12</sup> che nell'asma grave,<sup>14</sup> mentre l'incremento di PD è stato osservato in pazienti con asma lieve-moderato e ciò non rende le cose più chiare.<sup>11,13</sup>

Sulla base delle precedenti osservazioni abbiamo ipotizzato che l'infiammazione delle vie aeree influenzi attraverso varie vie la PD e che la terapia con ICS possa modificare la flogosi ed i suoi effetti sulla PD. In pazienti con asma bronchiale Rubinfield e Pain,<sup>8</sup> hanno mostrato che il deterioramento della funzione respiratoria può aumentare la percezione dell'esacerbazione acuta, e Burdon e coll.<sup>6</sup> hanno osservato in pazienti con ostruzione bronchiale un livello di dispnea simile a quello di pazienti non ostruiti. Ottanelli e coll.<sup>7</sup> hanno recentemente osservato, in pazienti con iniziale ostruzione delle vie aeree, una ridotta percezione dell'esacerbazione acuta in confronto a pazienti senza ostruzione. L'apparente discrepanza tra i risultati degli studi di Ottanelli<sup>7</sup> e Burdon<sup>6</sup> è probabilmente dovuta al maggior livello di ostruzione indotta nello studio di Burdon rispetto a quello di Ottanelli. Nondimeno, in entrambi i casi l'adattamento temporale che determina un'alta soglia di percezione delle modificazioni acute polmonari<sup>6</sup>, è stata considerata la ragione delle differenti risposte in pazienti ostruiti e non ostruiti. Pertanto nel presente lavoro abbiamo studiato pazienti asmatici trattati con ICS e non trattati con ICS, con e senza ostruzione bronchiale e infiammazione delle vie aeree.

## MATERIALI E METODI

### Pazienti

100 pazienti (65 maschi) di età compresa tra 16 e 75 anni (media 41.5) con diagnosi di asma bronchiale secondo i criteri

del NHLBI.<sup>16</sup> In tutti i pazienti l'asma era stabile e persistente, ed era classificata come lieve o lieve-moderata sulla base della frequenza dei sintomi, la necessità di  $\beta_2$  agonisti per il trattamento dei sintomi, la funzione di base delle vie aeree, e una concentrazione di metacolina, che provocava una caduta del FEV<sub>1</sub> del 20% inferiore a 8 mg/mL. Nessun paziente aveva storia di fumo. In 4 pazienti i test allergologici cutanei risultavano positivi ai comuni allergeni inalanti. I soggetti sensibili ai pollini erano studiati al di fuori della stagione di pollinazione. La durata della malattia variava da 1 a 20 anni. Ciascun paziente era in condizioni di stabilità clinica al momento dello studio (es. stabilità del FEV<sub>1</sub>, misura domiciliare del PEF e risposta ai  $\beta_2$  agonisti). Sulla base del loro rapporto FEV<sub>1</sub>/VC i pazienti erano divisi in ostruiti e non ostruiti, con un rapporto FEV<sub>1</sub>/VC pari al 70%.<sup>17</sup> Quarantanove pazienti presentavano un'ostruzione delle vie aeree; di questi 19 erano ICS-non trattati (naive) 30 ICS trattati. Cinquantuno pazienti erano non ostruiti, di questi 26 non trattati e 25 trattati. Pertanto noi abbiamo studiato i seguenti quattro gruppi: pazienti ostruiti non trattati con ICS (gruppo I), pazienti ostruiti trattati con ICS (gruppo II), pazienti non ostruiti non trattati con ICS (gruppo III), pazienti non ostruiti trattati con ICS (gruppo IV). Tutte le terapie con broncodilatatori erano sospese almeno 12 h prima dell'inizio dello studio. Nessun paziente riferiva infezioni respiratorie acute nelle quattro settimane precedenti l'inizio dello studio. Il consenso informato era fornito da ciascun paziente, e lo studio era approvato dal comitato etico locale.

### Scores clinici

Il grado di severità dell'asma era valutato attraverso una versione modificata dell'"Asthma severity score" proposto da Brooks et al.<sup>18</sup> I possibili scores erano compresi tra 0 e 20. Gli scores di severità dell'asma erano basati su: (1) frequenza media degli attacchi di wheezing e/o oppressione toracica durante una giornata, score da 0 a 4 (0, nessuno; 1, due attacchi/anno; 2, attacchi mensili; 3, attacchi settimanali; 4, attacchi giornalieri); (2) frequenza di attacchi di asma notturni, score da 0 a 4 (0, nessuno; 1, due attacchi/anno; 2, attacchi mensili; 3, attacchi settimanali; 4, attacchi giornalieri); (3) dispnea cronica da sforzo (scala di dispnea modificata MRC,<sup>19</sup> da 0, non dispnea a 4, dispnea nel vestirsi e lavarsi); (4) terapia richiesta per il controllo dell'asma, score da 0 a 4 (0, nessuna terapia con  $\beta_2$  agonista o 1/2 volte/anno; 1,  $\beta_2$  in modo intermittente; 2, broncodilatatori giornalmente; 3, broncodilatatori in associazione con ICS; 4, CCS per via orale); (5) frequenza della tosse, scores da 0 a 4 (0, no tosse; 1, 2 attacchi/anno; 2, episodi mensili; 3, episodi settimanali; 4, episodi giornalieri).

### Misure

I volumi polmonari statici e dinamici venivano misurati secondo la procedura standard<sup>20</sup> con uno spirometro ad acqua (Pulmonet Gotard; SensorMedics Corp; Yorba Linda, CA). I valori normali dei volumi polmonari erano quelli proposti dalla Comunità Europea per il Carbone e l'Acciaio.<sup>21</sup>

*Stimolazione bronchiale:* Ogni paziente è stato sottoposto al test di stimolazione bronchiale aspecifica con metacolina.<sup>22</sup> Il test è stato effettuato mediante inalazione di concentrazioni crescenti di metacolina in tampone fosfato tramite un nebulizzatore DeVilbiss 646 (DeVilbiss Co, Somerset, PA), (output 0.13 ml/min), usando il metodo del volume corrente. Con questo metodo 4 ml di soluzione erano introdotti nel nebulizzatore e venivano fatti inalare per 2 minuti. La soluzione di metacolina veniva conservata a 4°C e nebulizzata a temperatura ambiente. Inizialmente è stata nebulizzata soluzione salina, seguita a 5

minuti di intervallo da metacolina in concentrazioni progressivamente doppie da 0.015 a 8 mg/ml. Il test veniva interrotto alla concentrazione di metacolina che causava la riduzione del FEV<sub>1</sub> del 20% rispetto alla soluzione salina (PC<sub>20</sub> FEV<sub>1</sub>). Dalla curva logaritmica dose-risposta, è stata considerata la concentrazione di metacolina che causa la caduta del FEV<sub>1</sub> del 20% rispetto alla salina (PC<sub>20</sub> FEV<sub>1</sub>) come precedentemente descritto.

**Dispnea:** La dispnea era descritta dai pazienti come un disagio specifico associato con il respiro.<sup>23</sup> La PD durante broncostrizione indotta da metacolina era valutata mediante scala analogica visiva (VAS) subito dopo l'inalazione di ogni dose di metacolina e prima della misura del FEV<sub>1</sub>.<sup>5,6,11,24</sup> La scala VAS è una linea orizzontale di 10 cm che indica "nessuna sensazione di affanno" all'estrema destra e "il massimo affanno provato" all'estrema sinistra. Veniva chiesto ai pazienti di tracciare una linea verticale sulla linea orizzontale. Lo score di dispnea veniva espresso come la distanza in mm del marker dall'estrema sinistra della VAS.<sup>24</sup> Abbiamo inoltre raccomandato ai pazienti di indicare solo la sensazione di dispnea e di ignorare altre sensazioni come tosse irritativa, irritazione della gola, cefalea, faringite. Durante il test i soggetti non erano a conoscenza della risposta bronchiale alla metacolina.

**Induzione ed analisi dell'escreato:** L'induzione dell'escreato veniva effettuata come descritto da Ronchi e coll.<sup>25</sup> 10 minuti dopo l'inalazione di 200 µg di Fenoterolo, veniva nebulizzata una soluzione salina ipertonica con nebulizzatore a ultrasuoni (Fisonex; Fisons Corp., Rochester, NY, USA) per periodi di 5 minuti fino a 20 minuti complessivamente. La concentrazione della salina veniva aumentata dal 3 al 4%, ad intervalli di 10 minuti. Ogni 5 minuti veniva misurato il FEV<sub>1</sub>. L'induzione dell'escreato non causava sintomi fastidiosi ed il FEV<sub>1</sub> non subiva riduzioni maggiori del 20%. Ogni 5 minuti il paziente veniva invitato a tossire, a produrre escreato in una piastra di Petri e a raccogliere la saliva separatamente. L'analisi citologica e il dosaggio della proteina cationica eosinofila (ECP) venivano effettuate come descritto da Ronchi e coll.<sup>12</sup> Dopo aver esaminato le caratteristiche macroscopiche dell'escreato, venivano isolati i "plugs" cellulari liberi da contaminazione salivare e successivamente sospesi in soluzione allo 0.1% di Ditiotreitolo (DTT) e incubati per 30 minuti a 37°C. Le cellule venivano poi centrifugate a 1500 rpm. per 10 min. e quindi sospese in soluzione fisiologica per due volte consecutive e successivamente citocentrifugate a 300 g. per 15 min. I vetrini asciugati all'aria venivano colorati con May-Grunwald-Giemsa. Le cellule venivano esaminate al microscopio ottico; veniva poi effettuata una conta differenziale su almeno 600 cellule non squamose. Veniva determinato il volume del campione di escreato ed aggiunto un ugual volume di DTT (0.1%). Il campione veniva incubato a 37°C per 20 min., e centrifugato a 2000 rpm per 10 min. Il sopranatante veniva conge-

lato a -80°C per la successiva analisi. Il dosaggio di ECP veniva eseguito con metodo fluorimmunoenzimatico (CAP, ECP FEIA KABI Pharmacia). Anticorpi anti ECP legati in modo covalente all'immunoCAP, reagivano con ECP presente nel campione. Dopo lavaggio, venivano aggiunti al complesso anticorpi anti ECP legati ad un enzima. In seguito, dopo incubazione, l'enzima non legato veniva lavato via e veniva aggiunto il substrato dell'enzima. La fluorescenza era misurata in Fluoro-Count 96 (Kabi Pharmacia). La sensibilità di questa tecnica è <0.5 mg/l.

#### Protocollo

La spirometria e l'induzione dell'escreato venivano effettuati nel primo giorno. 24 ore dopo ciascun paziente veniva sottoposto al test di broncostimolazione aspecifica con metacolina.

#### Analisi dei dati

I valori di PC<sub>20</sub> FEV<sub>1</sub> sono stati trasformati logaritmicamente per l'analisi statistica. Una regressione lineare per dati parametrici e non parametrici era applicata opportunamente per valutare la correlazione tra scores di dispnea e riduzione del FEV<sub>1</sub>.

PD era valutata come slope e intercetta delle variazioni di VAS sul decremento del FEV<sub>1</sub> in % del valore predetto e PD al 5 e al 20% del FEV<sub>1</sub> misurato dopo inalazione di soluzione salina. La PD era definita come la percezione di dispnea associata alla riduzione del 20% del FEV<sub>1</sub> dopo inalazione di soluzione salina. Le differenze tra i quattro sottogruppi erano valutate con l'analisi della varianza e l'analisi univariata della varianza per misure ripetute (Split plot).<sup>26</sup> Il test di Bonferroni veniva utilizzato per comparazioni tra sottogruppi.

L'analisi fattoriale è stata usata per determinare le dimensioni che definiscono il modello delle correlazioni.<sup>27</sup> L'analisi fattoriale è una tecnica statistica applicata ad un singolo insieme di variabili per scoprire quali di esse formano sotto insiemi coerenti relativamente indipendenti l'uno dall'altro. Le variabili che correlano l'una con l'altra, in gran parte indipendenti da altri sotto insiemi di variabili, sono unite nei fattori. In particolare, l'analisi fattoriale viene usata allo scopo di ridurre un vasto insieme di variabili in un più piccolo ed espressivo insieme di variabili, in modo da condensare le informazioni contenute in un certo numero di parametri originali, in un più piccolo insieme di dimensioni (fattori) con minima perdita di informazione. Ciascuna delle variabili originali impiegate nell'analisi si dice che "pesa" sui fattori, in grande o in piccola parte, sulla base della correlazione ottenuta fra ciascuna variabile ed il fattore stesso. In generale, ogni variabile pesa (cioè correla più altamente con) su un singolo fattore. I fattori vengono così identificati sulla base

**Tabella 1—Dati funzionali dei 100 pazienti\***

Gruppi	Pazienti n°	Sesso		Età (anni)	Peso (kg)	Altezza (cm)	Atopia (positiva)	Durata di malattia (mesi)	ICS (µg)	Scores		
		F	M							clinici (a.u.)†	Eosinofili (%)	
<b>Ostruiti</b>												
ICS-naive (gruppo I)	19	15	4	39.3 ± 14.1 (16-66)	69.1 ± 17.8	1.67 ± 0.084	15	9.68 ± 14 (1-48)	—	7.73 ± 2.76	11.8 ± 15.4 (0.0-47.2)	
ICS-trattati (gruppo II)	30	19	11	48.9 ± 18.4 (17-75)	68.6 ± 12.9	1.65 ± 0.11	23	79.5 ± 70.5 (5-240)	800 ± 249	9.6 ± 3.8	12.2 ± 19.1 (0.0-72)	
<b>Non Ostruiti</b>												
ICS-naive (gruppo III)	26	16	10	38.1 ± 15.7 (19-69)	73.7 ± 14.9	1.67 ± 0.08	19	9.23 ± 12.5 (1-48)	—	6.07 ± 3.07	13.5 ± 20.6 (0-78.7)	
ICS-trattati (gruppo IV)	25	15	10	38.2 ± 15.0 (12-58)	70.9 ± 16.0	1.66 ± 0.07	17	76.4 ± 72.7 (3-240)	780 ± 253.3	7.6 ± 3.4	5.89 ± 12.6 (0-62.3)	

\*I valori sono medie ± SD (range).

†au = arbitrary units.

**Tabella 2—Dati funzionali dei 100 pazienti\***

Gruppo	VC, % pv	FRC, % pv	FEV <sub>1</sub> , % pv	FEV <sub>1</sub> /VC, %	PC <sub>20</sub> , mg/ml†
Ostruiti ICS-naïve (gruppo I)	97.8 ± 11.9 ‡ (80 - 111)	118.6 ± 26.8 (88-142)	76.8 ± 13.5 § (53.1-94.6)	63.4 ± 5.02 § (57-69)	0.45    (0.07-2.6)
Ostruiti ICS-trattati (gruppo II)	107.9 ± 12.1 ‡ (80 - 120)	120.5 ± 16.7 ¶ (96-136)	84.9 ± 11.7 # (49.5-94.3)	63 ± 5.09 # (48-69)	0.64 (0.07-2.6)
Non Ostruiti ICS-naïve (gruppo III)	110.1 ± 13.1 ‡ (104-130)	101.4 ± 13.1 (84-115)	99.5 ± 9.54 §# (90-119)	79.4 ± 4.96 §# 79.5 (73-87)	1.2 (0.26-6.64)
Non Ostruiti ICS-trattati (gruppo IV)	108.2 ± 11.2 (87-122)	96.7 ± 14.7 ¶ (85-118)	100.5 ± 11.4 §# (89-115)	80.3 ± 3.23 §# 80.4 (76-89)	1.25    (0.4-7.4)
F valore	3.44	4.50	22.9	82.35	4.10
p value	0.02	0.007	0.0001	0.0001	0.008

\*I valori sono medie ± SD (range). FRC = capacità funzionale residua.

†Media geometrica.

‡p < 0.05 (gruppo I vs gruppi II e III).

§p < 0.0001 (gruppo I vs gruppi III e IV).

||p < 0.05 (gruppo I vs gruppo IV).

¶p < 0.05 (gruppo II vs gruppo IV).

#p < 0.0001 (gruppo II vs gruppi III e IV).

del peso delle variabili sui fattori stessi. Alla fine del processo, i fattori estratti, vengono ruotati nello spazio multidimensionale per ottenere fattori più semplici e più facilmente interpretabili e per conservare l'indipendenza tra i fattori stessi. Sono disponibili molte opzioni di rotazione. Abbiamo scelto di ruotare la soluzione iniziale per semplificare i fattori stessi (Varimax rotation option). I fattori estratti e i pesi che le variabili hanno su di essi, sono stati riportati mediante rotated factor matrix.

In questo studio l'analisi fattoriale è stata utilizzata per determinare se, in pazienti con asma clinicamente stabile, PD, funzione respiratoria, BHR, e infiammazione delle vie aeree sono riconducibili ad uno o a differenti fattori. Dettagli della tecnica sono stati descritti precedentemente.<sup>25</sup>

## RISULTATI

I dati antropometrici, clinico-funzionali e biologici per i quattro gruppi di pazienti sono elencati nelle Tabelle 1 e 2. I gruppi erano appaiati ( $\chi^2$  analisi) per età, sesso, atopia e scores clinici. I gruppi 1 e 3 erano appaiati per durata di malattia e i gruppi 2 e 4 erano appaiati per durata di malattia e dosaggio giornaliero di ICS. Nei gruppi 2 e 4 la durata della

malattia era significativamente maggiore che nei gruppi 2 e 3.

### Analisi della varianza

La VC era più piccola nel gruppo 1 che nei gruppi 1 e 3, la CFR era maggiore nel gruppo 2 che nel gruppo 4 e la PC<sub>20</sub> era più alta nel gruppo 4 che nel gruppo 1 (Tabella 2). La Tabella 3 mostra lo slope e l'intercetta della variazione in VAS associata alle variazioni di FEV<sub>1</sub>. Per ciascun soggetto abbiamo osservato una correlazione lineare significativa ( $r > 0.7$ ) tra il decremento del FEV<sub>1</sub> espresso come percentuale del valore predetto e lo score di broncocostrizione espressa in termini di VAS ( $p=0.03-0.0001$ ) durante l'inalazione di metacolina. Nessuna differenza era osservata nello slope e intercetta tra i vari gruppi di pazienti ostruiti e non ostruiti, ICS naïve e ICS trattati. Quando i gruppi erano comparati (analisi univariata della varianza) per un decremento da 5 a 20% di FEV<sub>1</sub> dopo inalazione di soluzione salina (fig. 1) lo score di dispnea era più basso nel gruppo 2 (pazienti ostruiti e ICS trattati), era leggermente più alto nel gruppo 4 (non ostruiti ICS trattati), alto nel gruppo 1 (ostruiti ICS naïve) e decisamente più elevato nel gruppo 3 (non ostruiti ICS naïve). In particolare, il gruppo 2 differiva dai gruppi 4, 1 e 3 ( $p < 0.001$  per tutte le comparazioni); il gruppo 4 differiva dai gruppi 1 e 3 ( $p < 0.001$ ); il gruppo 3 differiva dal gruppo 1 ( $p < 0.001$ ). In generale questi dati indicano che i pazienti trattati esibivano un più basso PD score dei pazienti non trattati indipendentemente dalla presenza di ostruzione bronchiale. In particolare l'osservazione che la PD era più alta in pazienti ostruiti naïve che in non ostruiti trattati dà valore a questa affermazione.

**Tabella 3—Variazioni in VAS e in FEV<sub>1</sub> durante challenge con metacolina**

Gruppo	VAS	
	Slope	Intercetta
Ostruiti ICS-naïve (gruppo I)	1.60 ± 0.93	-28.8 ± 40.3
Ostruiti ICS-trattati (gruppo II)	1.21 ± 1.08	-25.1 ± 56.7
Non Ostruiti ICS-naïve (gruppo III)	1.90 ± 1.03	-10.0 ± 23.1
Non Ostruiti ICS-trattati (gruppo IV)	1.84 ± 1.20	-15.5 ± 31.6
F valore	2.34	1.06
p value	0.07	0.30

I valori sono medie ± SD.

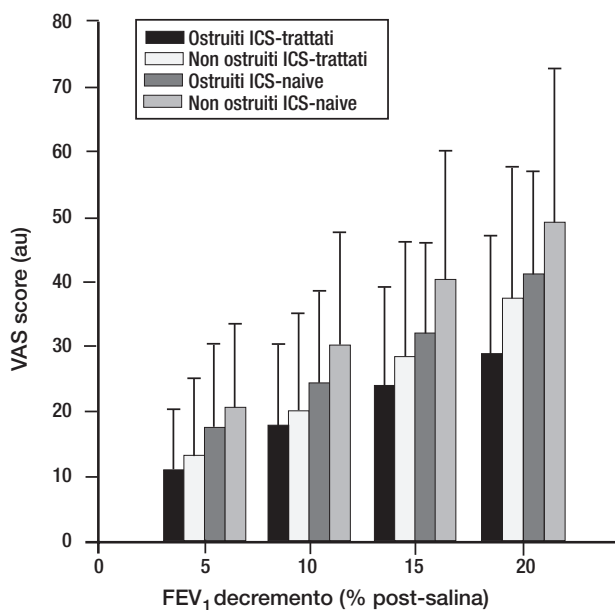


FIGURA 1. Percezione della dispnea durante broncocostrizione. Valori medi  $\pm$  SD.

### Correlazioni

$PC_{20}$  era correlata a  $PD_{20}$  nei pazienti come gruppo ( $p < 0.001$ ;  $\rho = 0.25$ ). Età, durata di malattia, score clinici e  $FEV_1$  non erano significativamente correlati con gli slope e con la  $PD_{20}$  ( $p = 0.19$  a  $0.95$ ) mentre nei pazienti come gruppo non c'era correlazione tra conta degli eosinofili, slope e  $PD_{20}$ . Una correlazione negativa (modello esponenziale,  $y = \exp[a+bx]$ ) nei pazienti ostruiti ICS trattati (gruppo 2) era osservata tra conta degli eosinofili e slope VAS. Queste correlazioni non erano significative negli altri sottogruppi.

### Analisi fattoriale

**Analisi primaria:** l'analisi fattoriale era eseguita includendo età,  $FEV_1$  (litri), durata di malattia, conta degli eosinofili,  $PC_{20}$ , uso di ICS, dosaggio giornaliero (0, 500, 1000  $\mu$ g), e dispnea sulla scala VAS. Il test di Bartlett della sfericità mostra che le variabili usate correlavano ( $\chi^2$ , 103.005; gradi di libertà, 21;  $p=0.000$ ). Quattro fattori spiegavano il 70% della varianza nei dati; le correlazioni con le variabili originali ottenute per ciascun fattore sono mostrate nella Tabella 4. I risultati non cambiavano quando la conta degli eosinofili era espressa come numero totale di cellule presenti. Come mostrato nella tabella, il  $FEV_1$  e l'età pesavano sul fattore I, ICS e durata della malattia pesavano sul fattore II, slope VAS e  $PC_{20}$  pesavano sul fattore III, conta degli eosinofili e  $PC_{20}$  pesavano sul fattore IV. Un'analisi ulteriore è stata effettuata dividendo i pazienti in

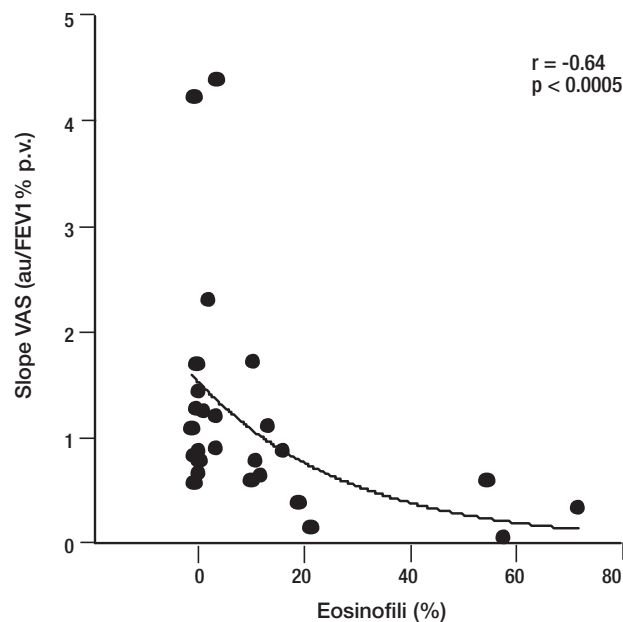


FIGURA 2. Correlazione tra slope della VAS e percentuale di eosinofili nell'espettorato durante broncocostrizione.

due sottogruppi, includendo le stesse variabili descritte precedentemente in ciascun sottogruppo. I sottogruppi erano simili per età, sesso, funzione polmonare, analisi dell'escreato e BHR come indicato dai risultati per ciascun gruppo; l'analisi era comparabile all'analisi dell'intero gruppo di pazienti. Infatti, l'analisi fattoriale sceglieva 4 fattori che pesavano in modo simile, e che spiegavano il 79.5 della varianza in un gruppo e 78.3 nell'altro.

**Analisi post hoc:** L'analisi ulteriore è stata condotta dividendo i pazienti in due sottogruppi sulla base della terapia con ICS, con le stesse variabili incluse nell'analisi primaria. Nella *post hoc*, i pazienti ICS naive erano più giovani ( $p < 0.05$ ), non presentavano differenze nella conta degli eosinofili ( $p > 0.05$ ), nella funzione polmonare ( $p > 0.05$ ) o nella  $PC_{20}$  ( $p > 0.05$ ) ma con differente PD ( $p < 0.05$  a  $p < 0.01$ ). In pazienti ICS-naive e ICS-trattati, 4 e 3 fattori, rispettivamente, spiegavano una simile percentuale della varianza. La conta degli eosinofili era associata con PD, positivamente in pazienti ICS-naive e negativamente in pazienti ICS-trattati. La  $PC_{20}$  era sia un fattore indipendente nei pazienti ICS-naive, o associata con PD nei pazienti ICS-trattati (Tabella 5). In entrambi i gruppi, la durata della malattia "pesava" su un fattore indipendente (fattore III).

### DISCUSSIONE

I nostri dati mostrano: 1) un basso VAS score in rapporto a modificazioni acute di  $FEV_1$  in pazienti

**Tabella 4—Analisi fattoriale dei dati funzionali, clinici e biologici in 100 pazienti asmatici\***

Variabili	Fattore I	Fattore II	Fattore III	Fattore IV
Durata di malattia	0.108058	<b>0.891043</b>	0.100096	0.0002655
Età	<b>0.886412</b>	0.114376	0.0732175	0.105187
FEV <sub>1</sub>	<b>-0.850015</b>	0.011227	0.0466611	-0.150092
logPc <sub>20</sub> FEV <sub>1</sub>	-0.06303	0.0258901	<b>0.612387</b>	<b>-0.505698</b>
Eosinofili	0.0173668	-0.0302959	0.102798	<b>0.873475</b>
Slope VAS	0.0540203	-0.00999358	<b>0.855124</b>	0.179672
ICS	0.240618	<b>0.858743</b>	-0.106505	-0.0521209
Eigenvalue	1.76	1.42	1.18	1.009
Varianza totale, %	25.23	20.35	16.9	14.42

\*I valori in grassetto sono maggiormente significativi.

ICS trattati; 2) una correlazione negativa tra conta degli eosinofili e PD in pazienti ostruiti ICS trattati. Questi dati sono in linea con gli studi sugli effetti dell'infiammazione eosinofila e degli ICS sulla PD.<sup>11-14</sup> L'infiammazione eosinofila delle vie aeree è stata proposta come un determinante della dispnea<sup>13, 14, 29</sup> attraverso meccanismi che interessano sia le vie automatiche che controllano la dispnea<sup>5,30</sup> che i nervi afferenti interessati nella PD.<sup>13</sup> In't Veen e coll.<sup>14</sup> hanno suggerito che l'infiammazione delle vie aeree caratterizzata dall'infiltrazione eosinofila, nonostante il trattamento con ICS, era associata a ridotta percezione dell'ostruzione delle vie aeree. Gli autori ritengono che l'influenza sia della severità dell'asma che dell'uso degli ICS possa essere la più plausibile spiegazione della correlazione PD/eosinofili. A questo proposito, deve essere ricordato che lo stesso effetto di ICS sulla dispnea è stato osservato in differenti tipi di asma: inadeguatamente controllata dai soli broncodilatatori per via inalatoria,<sup>12</sup> severamente instabile,<sup>14</sup> e moderata come nel presente studio. In accordo con tali dati, Higgs e Laszlo<sup>12</sup> hanno trovato una riduzione dei sintomi di asma con terapia a base di beclometasone senza alcun miglioramento dei risultati dei test bronchiali, come mostrato dal fatto che gli slope di Borg su

PEF erano meno ripidi quando i pazienti ricevevano beclometasone piuttosto che cromoglicato o teofillina. Secondo Higgs e Laszlo questo effetto potrebbe essere dovuto alla riduzione della flogosi bronchiale per effetto del beclometasone.<sup>12</sup> Al contrario altri ricercatori hanno riportato il ruolo positivo degli ICS su PD. Roismann e coll.<sup>13</sup> trovavano una correlazione negativa tra PD indotta da bradichinina e entità della infiammazione eosinofila nella mucosa delle vie aeree, ma in disaccordo con in't Veen e coll.<sup>14</sup> la correlazione negativa sembrava essere propria dei soggetti che non erano stati trattati con ICS. Per contro i soggetti che ricevevano ICS avevano più bassa infiltrazione eosinofila e più alta PD di quelli che non usavano questi agenti. Boulet e coll.<sup>11</sup> hanno confermato un maggior score di sintomi per un dato grado di caduta del flusso espiratorio in pazienti trattati con ICS che in pazienti che usavano solo broncodilatatori al bisogno. È stato suggerito<sup>13</sup> che il processo infiammatorio asmatico con la flogosi eosinofila delle vie aeree, presente anche in casi di asma più lieve,<sup>15,25</sup> possa ridurre la PD probabilmente a causa del danno dei recettori sensoriali delle vie aeree. In accordo, l'aumento della PD con terapia inalatoria potrebbe essere il risultato della riduzione del processo infiammatorio e della riacquistata inte-

**Tabella 5—Analisi fattoriale dei dati funzionali, clinici e biologici in pazienti ICS-naive e ICS-trattati\***

Variabile	ICS-Naive				ICS-Trattati		
	Fattore I	Fattore II	Fattore III	Fattore IV	Fattore I	Fattore II	Fattore III
Durata di malattia	-0.013319	0.00422901	<b>0.970473</b>	0.0389157	-0.08123	0.0849856	<b>0.946355</b>
Età	0.0701202	<b>-0.792475</b>	-0.409645	0.238804	<b>0.879244</b>	0.0838819	-0.245583
FEV <sub>1</sub>	0.0588514	<b>0.885124</b>	-0.223769	0.199911	<b>-0.906109</b>	0.156266	-0.127299
logPc <sub>20</sub> FEV <sub>1</sub>	0.0284802	0.0222792	0.025784	<b>0.982047</b>	0.110625	<b>0.568997</b>	0.0972618
Eosinofili	<b>0.883441</b>	-0.025529	0.000089	-0.134954	0.106156	<b>-0.800748</b>	0.193764
Slope VAS	<b>0.852794</b>	0.031499	-0.0299238	0.185455	0.243774	<b>0.687735</b>	0.260396
Eigenvalue	1.56	1.45	1.15	1.024	1.72	1.48	1.04
Varianza totale %	26.12	24.3	19.2	17.07	28.7	24.6	17.3

\*I valori in grassetto sono maggiormente significativi.

grità dell'epitelio bronchiale.<sup>13</sup> Alla luce di queste discrepanze per supportare i nostri dati abbiamo cercato di analizzare il relativo potenziale contributo della conta degli eosinofili e ICS sulla PD applicando l'analisi fattoriale che supera il problema dell'overlapping tra variabili. Alcune variabili infatti condividono un'alta percentuale della loro varianza con altre variabili come è il caso del FEV<sub>1</sub>.<sup>31</sup> Approfondimenti possono essere ottenuti da variabili che non sembrano essere correlate ad altre in un'analisi standard come era il caso dell'assenza di associazione tra VAS e conta di eosinofili nei sottogruppi diversi da quello ostruito trattato con ICS. Per le suddette ragioni, l'analisi fattoriale può essere successivamente utilizzata come tecnica di riduzione dei dati in studi clinici con pazienti che presentano numerose misure di outcome tra loro correlate.

Pertanto noi abbiamo cercato innanzitutto di determinare se le caratteristiche cliniche di malattia quali PD, ostruzione delle vie aeree, BHR, infiammazione eosinofila e terapia antinfiammatoria potessero ridursi a simili o differenti fattori in pazienti stabili con asma cronico. Come mostrato dall'analisi, le misure di ostruzione delle vie aeree (fattore 1), trattamento con ICS (fattore 2), BHR (fattore 3), conta degli eosinofili e PD (fattore 4), rimanevano importanti dimensioni nella valutazione dei pazienti con asma cronico. Tuttavia per meglio definire l'effetto potenziale dell'associazione di ICS con la conta degli eosinofili sulla PD, nell'analisi fattoriale post hoc i pazienti ICS naive erano separati dai pazienti trattati. I dati indicano che il numero degli eosinofili era associato con PD, positivamente nel gruppo naive e negativamente nel gruppo trattati. L'associazione positiva di eosinofili e PD in pazienti ICS naive è in accordo con i dati di in't Veen e coll.<sup>14</sup> L'associazione inversa tra conta eosinofili e PD nei pazienti trattati, riportata dagli stessi autori, indica la possibilità che la miscela ICS – eosinofili peggiori la PD. Tuttavia vale la pena notare che nel presente studio, come in altri studi l'infiammazione eosinofila era valutata sulla base della conta degli eosinofili in campioni di escreato indotto. Questo potrebbe spiegare le differenze con un altro studio che valutava la popolazione di cellule infiammatorie nella mucosa bronchiale di pazienti asmatici.<sup>13</sup> Negli studi di in't Veen<sup>14</sup> e Roismann<sup>14</sup> a differenza del nostro, l'infiammazione eosinofila non era significativamente correlata con la dispnea associata alla broncocostrizione indotta da metacolina. La discrepanza dei risultati tra i loro e il nostro studio può semplicemente essere dovuta alla differenza nel numero di

pazienti e nelle loro caratteristiche cliniche. Tentativi di correlare PD e BHR hanno mostrato che pazienti con alta responsività all'istamina percepivano meno la broncocostrizione rispetto ai soggetti meno responsivi.<sup>6</sup> Tuttavia la correlazione tra PC<sub>20</sub> e dispnea era debole nello studio di Burdon,<sup>6</sup> e ulteriori studi sullo stesso argomento<sup>9,11,12</sup> non hanno confermato quei risultati. I nostri dati indicanti che PD correlava con BHR in pazienti come gruppo, sono solo in parte in linea con gli studi di Burdon<sup>6</sup> nei quali l'effetto della terapia con ICS non veniva considerato. Nel presente studio, infatti, la PD era associata con BHR nei pazienti trattati ma era indipendente da BHR nei pazienti naive. Perciò, sia che fossero ostruiti o non ostruiti, i pazienti ICS trattati e ICS naive avevano una PC<sub>20</sub> simile. Ciò suscita dei dubbi sull'associazione tra BHR e PD mostrata nella tabella 4. I dati attuali tuttavia non permettono di scomporre gli effetti di ICS e BHR sulla PD. Come osservato in precedenti articoli sia nostri<sup>7</sup> che di altri autori,<sup>32</sup> in nessuno dei gruppi riportati nel presente studio l'ostruzione di base era associata con PD o PC<sub>20</sub>. È stata osservata una significativa variabilità individuale nella PD in alcuni pazienti che mostravano una ridotta funzione respiratoria senza dispnea e altri evidentemente dispnoici, con minimo deterioramento ventilatorio. Per quanto la spiegazione di questo sia probabilmente complessa, si può considerare che la dispnea ha importanti dimensioni affettive e spesso evoca risposte emozionali e comportamentali che possono variare da paziente a paziente.<sup>33</sup> Alcuni soggetti più paurosi di altri vanno quindi incontro ad ansia e ad una risposta esagerata; altri sono impavidi ed hanno una risposta insufficiente.

Non è stato escluso che gli ICS possano avere un effetto diverso a livello del SNC nei pazienti asmatici.<sup>12,14</sup> A questo proposito è stato ipotizzato che l'effetto centrale<sup>34</sup> degli ICS sulla severità dei sintomi attraverso l'inibizione della secrezione dell'ormone adrenocorticotropo,<sup>35</sup> risulti in una ridotta acuità sensoriale negli esseri umani.<sup>36</sup> I nostri dati sembrano essere in favore di un effetto associato tra conta degli eosinofili e ICS più che di un effetto dei soli ICS sulla PD. In conclusione noi abbiamo mostrato che la flogosi eosinofila delle vie aeree può aumentare la PD e che l'associazione tra numero di eosinofili e ICS può risultare in una riduzione della PD. È rilevante notare l'importanza di questa informazione per i pazienti in cui una ridotta consapevolezza dei sintomi potrebbe ritardare l'assunzione di una terapia urgente.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 Manning HI, Schwartzstein RM. Pathophysiology of dyspnea. *N Engl J Med* 1995; 333:1547-1553
- 2 Scano G, Seghieri G, Mancini M, Filippelli M, Duranti R, Fabbri A, et al. Dyspnea, peripheral airway involvement and respiratory muscle effort in patients with type I diabetes mellitus in good metabolic control. *Clin Sci* 1999; 96:499-506
- 3 O'Donnell DE. Breathlessness in patients with chronic airflow limitation. Mechanisms and management. *Chest* 1994; 106:904-912
- 4 Killian KJ, and Jones NL. Respiratory muscles and dyspnea. *Clin Chest Med* 1988; 9:237-248
- 5 Loughheed MD, Lam M, Forkert L, Webb KA, and O'Donnell DE. Breathlessness during acute bronchoconstriction in asthma: Pathophysiologic mechanisms. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:1452-1459
- 6 Burdon JGW, Juniper EF, Killian KJ, Hargreave FE, and Campbell JM. The perception of breathlessness in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126:825-828
- 7 Ottanelli R, Rosi E, Romagnoli I, Ronchi MC, Lanini B, Grazzini M et al. Perception of breathlessness and bronchial hyperresponsiveness in asthma. *Clin Sci* 2000; 98:681-687
- 8 Rubinfeld AR, Pain MCF. Conscious perception of bronchospasm as a protective phenomenon in asthma. *Chest* 1977; 72:154-158
- 9 Hudgel DW, Cooperson DM, and Kinsman RA. Recognition of added resistive loads in asthma. The importance of behavioural styles. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126:121-125
- 10 Peiffer C, Toumi M, Razzouk H, Marsac J, Lockhart A. Relationship between spontaneous dyspnea and lability of airway obstruction in asthma. *Clin Sci* 1992; 82:717-724
- 11 Boulet LP, Turcotte H, Cartier A, Milot A J, Côté J, Malo JL, et al. Influence of beclomethasone and salmeterol on the perception of methacholine-induced bronchoconstriction. *Chest* 1998; 114:373-379
- 12 Higgs CMB, and Laszlo G. Influence of treatment with beclomethasone, cromoglycate and theophylline on perception of bronchoconstriction in patients with bronchial asthma. *Clin Sci* 1996; 90:227-234
- 13 Roisman GL, Peiffer C, Lacronique JG, Le Cae A, Dusser DJ. Perception of bronchial obstruction in asthmatic patients. *J Clin Invest* 1995; 96:12-21
- 14 in't Veen JCCM, Smits HH, Ravensberg AJJ, Hiemstra PS, Sterk PJ, and Bel EH. Impaired perception of dyspnea in patients with severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1134-1141
- 15 Barnes PJ. New concept in the pathogenesis of bronchial hyperresponsiveness and asthma. *J All Clin Immunol* 1989; 83:1013-26
- 16 NHLBI. International consensus report on diagnosis and management of asthma. Publication No. 92-3091. Bethesda, Maryland 20892, USA: National Heart, Lung and Blood Institute, National Institutes of Health. *Eur Resp J* 1992; 5:601-41
- 17 Brooks SM, Bernstein L, Raghuprasad PK, Maccia CA, Mieczkowski L. Assessment of airway hyperresponsiveness in chronic stable asthma. *J All Clin Immunol* 1990; 85:17-26
- 18 Mahler DA, Wells CK. Evaluation of clinical methods for rating dyspnea. *Chest* 1988; 93:580-586
- 19 Scano G, Garcia Herrerros P, Stendardi L, Degre S, De Coster A, Sergysels R. Cardiopulmonary adaptation to exercise in coal miners. *Arch Environ Health* 1980; 35:360-66
- 20 European Community for Coal and Steel. Standardization of lung function tests. *Eur Resp J* 1993; 6 (suppl 16) 1-100
- 21 Sterk PJ, Fabbri LM, Quanjer PhH, Cockcroft DW, O'Byrne PM, Anderson SD et al. Airway Responsiveness. *Eur Respir J* 1993; 6, (suppl 16):53-83
- 22 Boulet LP, Leblanc P, and Turcotte H. Perception scoring of induced bronchoconstriction as an index of awareness of asthma symptoms. *Chest* 1994; 105:1430-33
- 23 Ronchi MC, Piragino C, Rosi E, Stendardi L, Tanini A, Galli G, et al. Do sputum eosinophils and ECP relate to the severity of asthma? *Eur Respir J* 1997; 10:1809-13
- 24 SPSS. Univariate repeated measures analysis using a Split Plot design approach. In: *SPSS Base 8.0 Applications guide*. Chicago (IL): SPSS Inc, 1998;172-175
- 25 Linderman RH, Merenda PF, Gold RZ. Introduction to bivariate and multivariate analysis. Glenview (IL): Scott Foresman, 1980
- 26 Sont JK, Booms P, Bel EH, Vandenbroucke JP, Sterk PJ. The severity of breathlessness during challenges with inhaled methacholine and hypertonic saline in atopic asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:38-44
- 27 Barnes PJ. Poorly perceived asthma. *Thorax* 1992; 47:408-409
- 28 Ries AL, Kaplan RM, Blumberg E. Use of multifactorial analysis in consolidate multiple outcome measures in chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Epidemiol* 1991; 44:497-503
- 29 Brand PL, Rijcken B, Schouten JP, Koëter GH, Weiss ST, Postma DS. Perception of airway obstruction in a random population sample. Relationship to airway hyperresponsiveness in the absence of respiratory symptoms. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146:396-401
- 30 Pedersen SE. Efficacy and safety of inhaled corticosteroids in children. In: *Scleimer RP, Busse WW, O'Byrne PM, eds. Inhaled glucocorticoids in asthma*. New York: Marcel Dekker, 1997; 551-606
- 31 Law CM, Marchant JL, Honour JW, Preece MA. Nocturnal adrenal suppression in asthmatic children taking inhaled beclomethasone dipropionate. *Lancet* 1986; 1: 942-944
- 32 Schraa JC, and Dirks JF. The influence of corticosteroids and theophylline on cerebral function. A review. *Chest* 1982; 82:181-5