

Estrategias diagnósticas en el asma de difícil control

O. Asensio de la Cruz

Unidad de Neumología, Alergia e Inmunología Pediátrica. Hospital de Sabadell. Corporació Sanitaria Parc Taulí. España.

RESUMEN

Las definiciones de asma y los consensos actuales para el diagnóstico y tratamiento del mismo continúan teniendo limitaciones. Probablemente son útiles para la gran mayoría de casos pero en ciertos subgrupos clínicos son claramente limitados. Probablemente porque dentro de lo que mejor deberíamos enumerar “síndrome asmático” pueden haber diferentes fenotipos de asma y los consensos no diferencian las actuaciones sobre los mismos. Esto sería de especial importancia en el asma de difícil control que aunque poco frecuente sí es causa de importante morbilidad y coste sanitario. Mejoras en los instrumentos de valoración de la función pulmonar, del tipo de inflamación de las vías aéreas y del control clínico sobre el asma nos deben permitir empezar a aproximarnos mejor al diagnóstico y tratamiento de los diferentes fenotipos, hecho que en la actualidad depende prácticamente de forma exclusiva de la clínica del paciente y de la experiencia del clínico.

Pero antes de catalogar a un niño de asma de difícil control nos deberemos contestar las siguientes preguntas: ¿se trata efectivamente de asma?, ¿hay comorbilidades que dificultan el control?, ¿el tratamiento y su cumplimiento es el adecuado? Para ello será preciso revisar el diagnóstico diferencial aplicando las exploraciones complementarias pertinentes y comprobar la adecuación y cumplimiento del tratamiento. Una vez descartado “el falso” asma de difícil control deberemos explorar la existencia de resistencia al tratamiento y si es así nos encontraremos delante de un verdadero asma de difícil control o asma refractario. Es en este nivel donde se deberán aplicar estrategias diagnósticas por parte del especialista con exploraciones, que en la actualidad aún son en ocasiones agresivas y/o técnicamente dificultosas, que nos permitan diferenciar o caracterizar escenarios que requerirán probable-

mente diferentes aproximaciones terapéuticas presentes y futuras.

INTRODUCCIÓN

Los consensos actuales sobre el manejo del asma lo clasifican en función de su gravedad con el fin de recomendar las medidas terapéuticas más apropiadas en cada caso. Para ello se utilizan de forma combinada factores como síntomas, utilización de medicamentos, alteración funcional, etc. Sin embargo no disponemos de ningún instrumento que de forma precisa nos permita caracterizar la gravedad ni definir una entidad tan prevalente como el asma¹. A pesar de ello siguiendo estos consensos basados en la administración de fármacos más potentes y a dosis más elevadas a mayor gravedad, la mayoría de casos de asma se controlan adecuadamente, en su mayor parte con dosis bajas o medias de corticoides inhalados².

Aun así hay pacientes que no parecen corresponderse exactamente a los prototipos de asma de los consensos y son entre ellos donde se encuentran pacientes que no responden a las terapéuticas convencionales y su evolución no es la esperada. Es entre estos casos donde encontramos un subgrupo que de forma genérica podemos catalogar de asma de difícil control.

DEFINICIÓN

La definición de asma de difícil control (ADC) no está adecuadamente establecida. Ha habido diferentes aproximaciones de la GINA (Global Iniciativa para el Asma), GEMA (Guía Española para el Manejo del Asma) y otras sociedades como la ATS (American Thoracic Society). La Sociedad Europea de Respiratorio (ERS) elaboró un documento de consenso donde sugiere que los niños en que su asma permanece mal controlado a pesar del tratamiento con más de 800 µg/día de budesonida o dosis

Correspondencia: Dr. O. Asensio de la Cruz.

Cartagena, 252, 3º3ª 08025 Barcelona. España.

Correo electrónico: 16333oac@comb.es, oasensio@cspt.es

TABLA 1. Diagnóstico diferencial del asma

Fibrosis quística
Discinesia ciliar primaria
Malformaciones pulmonares congénitas
Laringotraqueobroncomalacias
Anillos vasculares
Bronquiectasias
Bronquiolitis obliterante
Aspiración de cuerpo extraño
Aspiraciones recurrentes
Enfermedad cardíaca
Disfunción de cuerdas vocales
Reflujo gastroesofágico
Incoordinación deglutoria
Inmunodeficiencias

equivalente de otro corticoide inhalado, deberían ser catalogados de tener asma de difícil control³. Otros grupos incluyen los β_2 -adrenérgicos de acción prolongada y otros autores se refieren al ADC cuando no se controla con todo el arsenal terapéutico adecuado por su gravedad. Mal control se define como la necesidad de broncodilatadores más de tres veces por semana, ausencia escolar de más de 5 días al trimestre o un episodio o más de sibilancias al mes. El estudio TENOR de Hayden en 2002 (Epidemiology and Natural History of Asthma: Outcomes and Treatment Regimens) donde se incluyeron 4.742 pacientes con asma grave o de difícil control demostró que dichos paciente requieren más controles, realizan un mayor número de visitas a emergencias y tienen una peor calidad de vida⁴. A pesar que el asma grave no supera el 20% de la población asmática, se calcula que el ADC puede corresponder al 5%, representando una pequeña proporción de los mismos pero una parte importante como causa de la morbilidad, mortalidad y coste de la enfermedad. Se calcula que consumen entre el 50-80% de los recursos destinados para el control del asma.

Una amplia heterogeneidad dentro del asma de difícil control ha sido descrita por diferentes autores^{3,5}. Probablemente en el asma de difícil control también coexisten un espectro de fenotipos diferentes de asma. Su conocimiento y caracterización nos debe permitir una mejor aproximación terapéutica al mismo, con lo que podamos disminuir la gran morbilidad y coste de este pequeño grupo de pacientes⁶. Sería recomendable no catalogar a un paciente de tener un asma de difícil control hasta haberlo observado y controlado por un especialista respiratorio pediátrico durante un período mínimo de 6 meses.

ESTRATEGIA DIAGNÓSTICA

En la aproximación diagnóstica al ADC será importante responder a una serie de preguntas. ¿Estamos realmente delante de un asma? ¿Existen otras comorbilidades que pueden agravar el asma y explicar la mala respuesta al tratamiento? ¿La dosis, la vía y el cumplimiento del trata-

miento son los adecuados? ¿Estamos delante de un fenotipo de asma que requiere una aproximación terapéutica específica diferente?⁷.

Confirmación diagnóstica de asma

Un primer paso imprescindible es el confirmar el diagnóstico de asma. A falta de mejores instrumentos el diagnóstico lo basaremos en la historia clínica, la evidencia fisiológica de la variabilidad y reversibilidad de la obstrucción bronquial y en la exclusión de posibles diagnósticos alternativos que pueden simular asma.

Diagnóstico diferencial

En algunos pacientes el diagnóstico incorrecto de asma es la causa de la falta de respuesta al tratamiento convencional del asma. La frase de que “no todo lo que pita es asma” probablemente es en el ADC donde tiene más razón de ser.

Una vez confirmado que presenta las características definitorias básicas de asma se debe pasar a excluir posibles diagnósticos alternativos que las pueden incluir entre sus síntomas o signos (tabla 1)⁸⁻¹¹.

Diagnóstico de asma de difícil control

Hablaremos de ADC cuando una vez confirmado el diagnóstico de asma y descartados otros posibles diagnósticos que pueden confundirse con el asma, este reciba un adecuado tratamiento para su grado de gravedad (dosis y vías de administración) y su control no sea el adecuado¹². Algunos pacientes pueden estar subdiagnosticados y subtratados. En algunos estudios hasta un 60% de pacientes con asma grave no ha recibido aún tratamiento antiinflamatorio adecuadamente.

Causas de asma de difícil control

Aparte de reales causas de ADC (diferentes fenotipos con diferente fisiopatología que probablemente precisarán estrategias terapéuticas diferenciadas) son también causa de mal control del asma, tras la indicación de un adecuado tratamiento: pacientes mal cumplidores, mal percibidores de sus síntomas, o que asocian a su asma comorbilidades no bien identificadas y tratadas. La realización de un estudio sistemático puede permitir encontrar alguna comorbilidad, diagnóstico alternativo hasta el 32% de los casos¹³ (tabla 2).

Exámenes complementarios

En base a la anamnesis, la exploración física, el funcionalismo respiratorio, radiología de tórax y exploraciones ya realizadas, se completaran en función de la sospecha clínica (diagnóstico diferencial, comorbilidades) y la experiencia del clínico¹⁴. Puede ser de ayuda un ingreso hospitalario para un más cercano control del paciente y su ambiente familiar. La realización de exámenes complementarios propios de un centro especializado como

la fibrobroncoscopia, biopsia bronquial, lavado broncoalveolar (LBA), esputo inducido, determinación de NO exhalado^{15,16}, estudio ciliar, etc., pueden ser necesarios para la mejor caracterización de este grupo reducido de pacientes, para avanzar en el conocimiento y mejor tratamiento de los mismos¹⁷.

FENOTIPOS DEL ADC

Hablaríamos de fenotipo de asma al conjunto de características clínicas y/o anatomopatológicas que tienden a ir asociadas y que son útiles en algún sentido para entender la fisiopatología o mejorar la respuesta al tratamiento de una enfermedad.

Los componentes básicos que pueden caracterizar un fenotipo de asma son: la extensión y naturaleza de la inflamación, el grado de hiperreactividad bronquial y la extensión de la obstrucción al flujo aéreo su irreversibilidad y persistencia.

Hay muchos mecanismos de inflamación de la vía aérea potencialmente diferentes. Asumir que sibilancias es igual a inflamación eosinófila de la vía aérea o incluso necesariamente inflamación de cualquier tipo, puede ser un error. Aunque tradicionalmente y especialmente en el asma del niño mayor la inflamación asmática ha sido considerada como mediada por el linfocito Th2 y conducida por el eosinófilo, estudios sobre resultados de LBA, biopsia bronquial y esputo inducido demuestran que hasta en un 50% de los casos pueden ser asma no predominantemente eosinofílico. Tratamientos con anticitoquinas (IL-5, IL-12) claramente y de forma importante reducen la eosinofilia periférica en sangre y en la vía aérea y en cambio se observa poco cambio en la gravedad del asma. Fenotipos de asma no inflamatorios también han sido descritos.

La hiperreactividad bronquial (HRB) en el modelo tradicional se considera como otra de las características definitorias de asma secundaria a la inflamación y responsable de los síntomas. Pero es conocido que no siempre hay buena correlación individual entre la gravedad y la HRB. Las diferentes pruebas de hiperreactividad (ejercicio, provocación con alérgenos, metacolina, etc.) pueden tener diferentes correlaciones con los síntomas y la inflamación. Observándose poca correlación con la eosinofilia siendo más habitualmente un fenómeno de superposición.

La limitación persistente al flujo aéreo puede ser debida a la reducción anatómica del calibre de la vía aérea por sucesos ocurridos antenatal o posnatalmente. Antenatalmente parecen tener importancia el hábito de fumar materno, la atopia materna y la hipertensión materna durante el embarazo. Posnatalmente las bronquiolitis obliterantes secundarias a infecciones virales, reflujo gastroesofágico o aspiraciones repetidas. El remodelado y la alteración de la compliancia de la pared de la vía aérea pueden también ser causa posnatal.

TABLA 2. Causas de asma de difícil control

Mal cumplimiento (causa más frecuente)
Mal percibidores
Factores asociados al asma que lo agravan (comorbilidades)
Factores exacerbadores no identificados
Exposición no controlada a alérgenos
Exposición ocupacional
Enfermedades de la vía aérea superior
Rinitis
Sinusitis
SAOS
Reflujo gastroesofágico
Enfermedades sistémicas
Tirotoxicosis
Síndrome carcinoide
Vasculitis
Fármacos (betabloqueantes, AINE, Inh ACE)
Infecciones crónicas
Mycoplasma
<i>Chlamydia</i>
Tabaco
Factores psicológicos
Factores sociales
Diferentes fenotipos fisiopatológicos de asma
Asma corticosensible
Asma corticorresistente
Asma no eosinofílico
Inflamación eosinofílica persistente sin síntomas
Asma no inflamatorio con hiperreactividad bronquial persistente
Limitación fija al flujo aéreo
Hiperreactividad persistente sin eosinofilia
...

Para explorar estas características fenotípicas, una vez descartados otros diagnósticos y factores agravadores algunos autores (Protocolo del Royal Brompton. A Bush) proponen un protocolo de estudio de respuesta a corticoides sistémicos (por vía oral con controles de niveles de cortisol o por vía intramuscular con triamcinolona acetónido) durante 2 semanas. En el mismo se comprobaría la respuesta clínica, del funcionalismo respiratorio y de los biomarcadores de inflamación bronquial (NOe, eosinófilos en esputo inducido, biopsia bronquial, LBA, etc.) previamente analizados tras 2 semanas de tratamiento (tabla 3).

Según este protocolo en la primera visita donde se incluiría al paciente tras un extensa revisión del diagnóstico y tratamiento se le administraría un diario de síntomas. En la segunda visita, 2 semanas después, se valorarían de nuevo los síntomas y de ser persistentes se realizaría una espirometría, prueba broncodilatadora y la determinación de biomarcadores no invasivos de inflamación como la determinación del óxido nítrico exhalado y la celularidad del esputo inducido, iniciándose el tratamiento con corticoides orales tipo metilprednisolona a 2 mg/kg/día o i.m. con triamcinolona. En la tercera visita a las 2 semanas, se volvería a revisar el diario de síntomas, la función pulmonar y los biomarcadores de inflamación. En esta fase se realizaría también broncoscopia,

TABLA 3. Exámenes complementarios

Test del sudor, estudio genético para la fibrosis quística
Estudio ciliar estructural y funcional
Radiografía de tórax, TC (inspiratorias-espирatorias), radiografía de senos, RM
Fibrobroncoscopia, biopsia bronquial, LBA
Transito esófago-gastroduodenal
Ecocardiografía, ECG
Laringoscopia
Estudio inmunitario
PRICK, IgE específicas
Estudio tiroideo
Estudio de cumplimiento (niveles de cortisol, etc.)
Polisomnografía
Estudios virales e infecciosos
Estudios sobre resistencia a fármacos: receptores de corticoides y β ₂ -adrenérgicos
NO exhalado
Eosinofilia en esputo inducido
Estudio psicológico
Interconsulta a asistente social
Estudio de cotinina en orina

Prueba terapéutica con corticoides sistémicos y valoración de la respuesta clínica, funcional e antiinflamatoria: Protocolo de estudio de respuesta a tratamiento con corticoides durante 2 semanas. (A. Bush. Royal Brompton Hospital de Londres.)

biopsia bronquial y LBA y en caso de resistencia al tratamiento estudio de receptores de corticoides. Diversos autores demuestran un engrosamiento precoz de la membrana basal reticular en los niños con asma de difícil control^{18,19}.

Este protocolo ha sido validado éticamente y desde el punto de vista de seguridad en anteriores estudios y a partir de él se pueden reconocer diferentes fenotipos del asma bronquial de difícil control²⁰ (fig. 1).

ASMA SENSIBLE A LOS CORTICOIDES

Probablemente el fenotipo más frecuente. El paciente tras el tratamiento está asintomático, con función normal y sin signos de inflamación de la vía aérea ni en los biomarcadores ni en la biopsia bronquial. Desde el punto de vista estratégico nos debería permitir el rebajar los corticoides a la mínima dosis donde se mantuviera con un control adecuado de los síntomas y sin aparición de inflamación en los biomarcadores. Si la prednisolona no puede reducirse a unas dosis tolerables en función de los efectos secundarios que produce podrían ensayarse

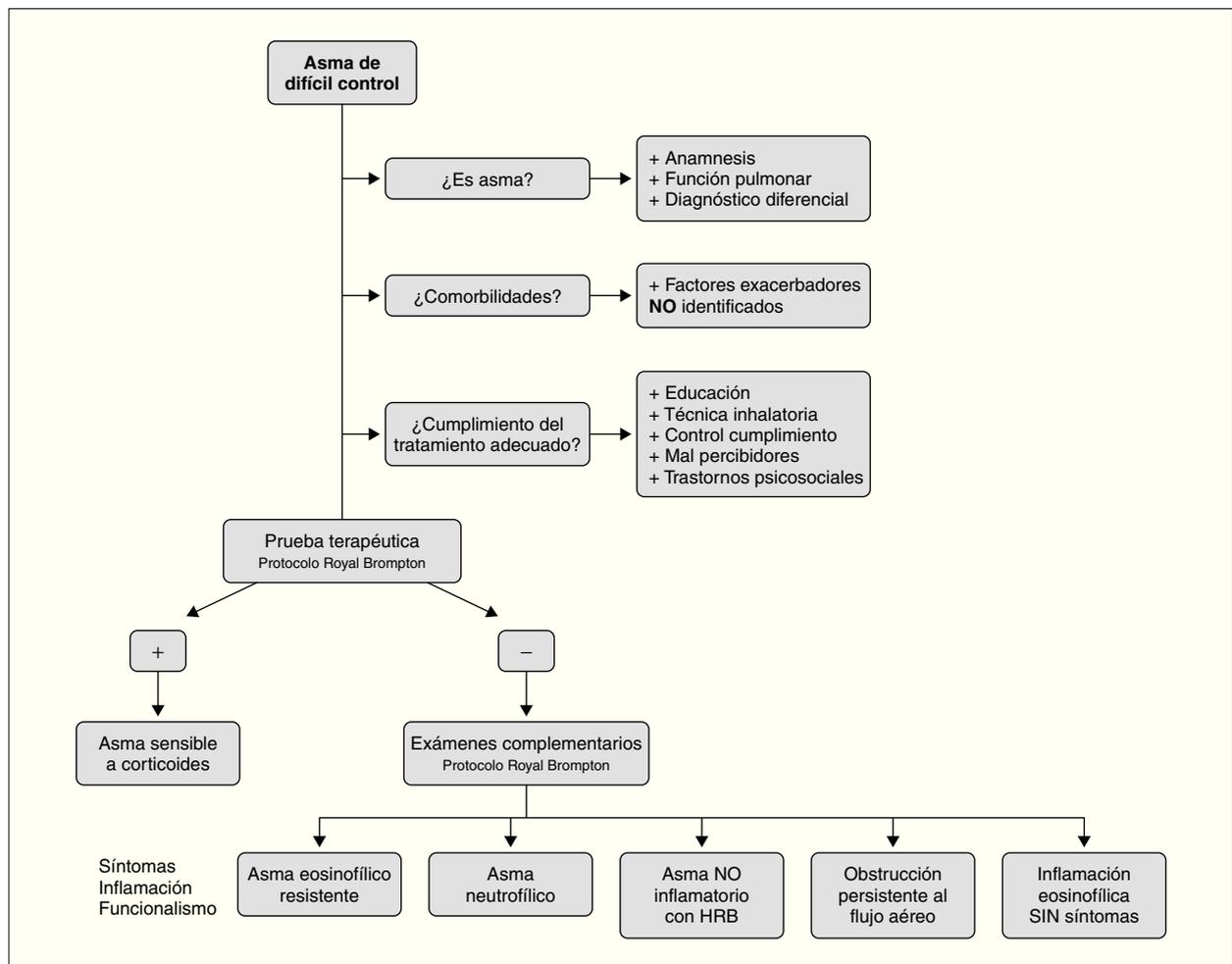


Figura 1. Estrategia diagnóstica del asma de difícil control. HRB: hiperrespuesta bronquial.

fármacos como la ciclosporina aunque la experiencia es de poca eficacia en este grupo de pacientes. En caso de precisar dosis muy altas de corticoides para el control clínico deberían explorarse causas de posible resistencia secundaria a los corticoides.

ASMA RESISTENTE A CORTICOIDES EOSINOFÍLICO

Pacientes sintomáticos después de asegurar el tratamiento corticoideo y que presentan inflamación predominantemente eosinofílica. Es en este grupo donde se encuentran anomalías en la unión con el receptor de los corticoides y translocaciones del receptor citoplasmático al núcleo.

Las posibles causas de resistencia son controvertidas aunque se cree que la no adherencia al tratamiento la puede favorecer. La deficiencia congénita de receptores, con un descenso del número de los mismos, es muy rara. La resistencia secundaria es mucho más común. En esta observamos un número normal o aumentado de receptores pero con una reducida afinidad por los corticoides. Una de las posibles causas puede ser la persistente y a veces inadvertida exposición a alérgenos en pacientes sensibilizados lo que causaría a partir de los linfocitos T una liberación de IL-2 e IL-4 las cuales modularían esta resistencia.

Otra posible causa de resistencia y no necesariamente excluyente con las anteriores es el cambio en el fenotipo de una subunidad del receptor para los corticoides que podría condicionar una disminución en su afinidad por los mismos. El papel que pueden desempeñar algunas infecciones latentes aún está por dilucidar.

En este grupo podría ensayarse durante un mínimo de 3 meses fármacos ahorradores de corticoides como la ciclosporina y si es bien tolerada y eficaz, posteriormente intentar bajar el tratamiento corticoideo, primero oral y posteriormente inhalado, al mínimo posible.

Asma resistente a corticoides con inflamación neutrofílica

Estos pacientes están con síntomas, los biomarcadores de inflamación para el eosinófilo son negativos y se encuentra inflamación en el esputo inducido y la biopsia bronquial por el neutrófilo²¹. No queda claro aún el papel del neutrófilo en este fenotipo, si realmente tiene un papel central en la fisiopatología o sencillamente es un reflejo del efecto de tratamientos prolongados con corticoides que prolongarían la supervivencia de los neutrófilos retrasando su apoptosis. Otras hipótesis abogarían porque su presencia fuera secundaria a un estímulo desconocido como una posible infección oculta. En la actualidad hay pocos trabajos que hayan demostrado que la disminución de neutrófilos en la vía aérea condicione una mejora en la gravedad del asma. Aunque la experiencia de diferentes grupos así lo hace pensar.

Posibles tratamientos, asumiendo que el reducir los neutrófilos puede ser beneficioso, podrían ser el uso de los antileucotrienos, el uso de macrólidos para bloquear la producción de IL-8 o acelerar la apoptosis del neutrófilo con teofilinas orales.

Hiperreactividad persistente no inflamatoria

Los niños de este fenotipo persisten con síntomas, no se les encuentra ningún signo de inflamación y característicamente tienen una función pulmonar con una marcada reversibilidad a la broncodilatación. Los mecanismos fisiopatológicos de este grupo no están claros pero tampoco el continuar tratándolos con antiinflamatorios. Se podría valorar la respuesta a β_2 -adrenérgicos inhalados a dosis altas o por vía oral β_2 -agonistas de larga duración. En caso de fracaso algunos grupos proponen el utilizar infusiones continuas de terbutalina subcutánea, en algunos casos con buenos resultados.

Limitación persistente del flujo aéreo

Este puede formar parte de otros fenotipos descritos o presentarse como tal de forma individualizada. Se caracterizaría por una obstrucción bronquial no reversible, ausencia de inflamación y ausencia de cambios en la función pulmonar tras el tratamiento con corticoides. Causas frecuentes de este fenotipo son la bronquiolitis obliterante, o reflujo gastroesofágico o aspiraciones graves. Menos frecuentemente pueden ser también causa el rechazo a un trasplante, reacciones a fármacos y enfermedades vasculares del colágeno. En general son pacientes en los que se les ha ido escalando el tratamiento y "lo llevan todo". Es posible que el tratamiento pueda reducirse hasta que se observe evidencia de inflamación y/o hiperreactividad bronquial. Frecuentemente nos podremos sorprender de que el tratamiento prácticamente puede discontinuarse por completo.

Inflamación eosinofílica sin síntomas

Este fenotipo donde ha sido mejor descrito es en adolescentes mal cumplidores que tienen un estilo de vida prácticamente normal y podrían ser dados de alta en cualquier consulta externa. Sin embargo una investigación más detallada demuestra una inflamación eosinofílica persistente en la biopsia bronquial. La interpretación de estos hallazgos en general son puras conjeturas y las recomendaciones terapéuticas difíciles de realizar. Es posible que los eosinófilos provoquen una inflamación subclínica que pueda ser causa de remodelado precoz o posterior evolución a la limitación persistente del flujo aéreo.

Si este fenotipo lo observamos en un paciente con un ADC se debería tratar como un asma sensible a los corticoides y si es en el adulto joven "asintomático" el realizar un seguimiento más cercano y reinstaurar tratamiento antiinflamatorio de base, parecería aceptable.

Futuros trabajos deben ir validando estos resultados y estudios aleatorizados a doble ciego contra placebo deberán demostrar las evidencias necesarias para poder recomendar tratamientos más específicos²². El problema del número reducido de pacientes nos obligará probablemente a realizar estudios multicéntricos. Mientras tanto avanzar en el desarrollo de instrumentos más asequibles y menos agresivos para caracterizar mejor los diferentes fenotipos de asma, nos debe permitir generalizar su estudio e ir mejorando el conocimiento de su fisiopatología.^{23,24}

BIBLIOGRAFÍA

- Bacharier LB, Strunk RC, Mauger D, White D, Lemanske RF, Sorkness CA. Classifying Asthma severity in children. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170:426-32.
- Hernández MD, Cuéllar J, Muñoz Cano A, Giner A. Estrategia diagnóstica en el asma de difícil control. *Alergol Immunol Clin.* 2000;15:135-44.
- ERS Task Force. Difficult/therapy-resistant asthma. *Eur Respir J.* 1999;13:1198-208.
- Dolan CM, Frarer KE, Bleecker ER, et al. Design and baseline characteristics of the epidemiology and natural history of asthma: outcomes and treatment regimens (TENOR) study: a large cohort of patients with severe and difficult-to-treat asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2004;92:32-9.
- De Blic J, Tillie-Leblond I, Tonnel AB, Jaubert F, Scheinmann P, Gosset P. Difficult asthma in children: an analysis of airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:94-100.
- Wenzel S. Pathology of difficult asthma. *Paediatric respiratory reviews.* 2003;4:306-11.
- Iliescu C, Tillie-Leblond I, Deschildre A, De Blic J. L'asthme difficile de l'enfant. *Archives de Pédiatrie.* 2002;9:1264-73.
- Yigla M, Tov N, Solomonov A, Rubin AE, Harley D. Difficult to control asthma and obstructive sleep apnea. *J Asthma.* 2003;40:865-71.
- Thomas PS, Geddes DM, Barnes P. Pseudo-steroid resistant asthma. *Thorax.* 1999;54:352-6.
- Harrison BDW. Difficult asthma. *Thorax.* 2003;58:555-6.
- Barnes PJ, Woolcock. Difficult asthma. *Eur Respir J.* 1998;12:1209-18.
- Everard ML. Role of inhaler competence and contrivance in difficult asthma. *Pediatr Respir Rev.* 2003;4:135-42.
- Robinson DS, Campbell DA, Durham SR, Pfeffer J, Barnes PJ, Chung KF. Systematic assessment of difficult-to-treat asthma. *Eur Respir J.* 2003;22:478-83.
- Marchac V, Emond S, Mamou-Mani T, Biham C, Bourgeois M, De Blic J, et al. Thoracic CT in pediatric patients with difficult to treat asthma. *AJR Am J Roentgenol.* 2002;179:1245-52.
- Payne DNR, Wilson NM, James H, Agrafioti C, Bush A. Evidence for different subgroups of difficult asthma in children. *Thorax.* 2001;56:345-50.
- Stirling RG, Kharitonov SA, Campbell D, Robinson DS, Durham SR, Cheng KF, et al. Increase in exhaled nitric oxide levels in patients with difficult asthma and correlation with symptoms and disease severity despite treatment with oral and inhaled corticosteroids. *Thorax.* 1998;53:1030-4.
- Reverte C. Infants amb sibilancias: cap a on anem? *Pediatria Catalana.* 2004;64:177-87.
- Payne DNR, Rogers AV, Adelroth E, Bandi V, Guntupalli KK, Bush A, et al. Early Thickening of the reticular basement membrane in children with difficult asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167:78-82.
- Yamasaki A, Tomita K, Sano H, Watanabe M, Makino H, Kurai J, et al. Measuring Subepithelial thickness using endobronchial ultrasonography in a patient with asthma: a case report. *Lung.* 2003;181:115-20.
- McKenzie SA, Bush A. Difficult asthma in children. *Thorax.* 2002;57:915-6.
- Balfour-Lynn I. Difficult asthma: beyond the guidelines. *Arch Dis Child.* 1999;80:201-6.
- Jatakanon A, Uasuf C, Maziak W, Lim S, Chung KF, Barnes PJ. Neutrophilic inflammation in severe persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160:1532-9.
- Cicutto L, Downey GP. Biological Markers in diagnosing monitoring and treating asthma. *AACn clinical Issues.* 2004;15:97-111.
- García A, Adler M, Humbert M. Difficult asthma. *Allergy.* 2003;58:114-21.