

## **4 RESULTADOS.**

## 4. RESULTADOS

### 4.1 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Las características clínicas de la muestra estudiada se resumen en la tabla IX. Eran 78 sujetos, todos hombres de raza blanca (fototipos II, III y IV), con edades comprendidas entre los 41 y los 70 años (media 58,18 DE 7,74 años). El consumo en paquetes-año para el grupo de fumadores y exfumadores oscilaba de 3 a 152, con una mediana de 40 y un rango intercuartil de 26-72.

Tabla IX.- Descripción de la muestra

Variable	n
n total	78
Edad, media (DE)	58,2 (7,7)
Consumo de corticoides inhalados:	
-No, n (%)	58 (84)
-Consumo 800µg/día, n (%)	7 (10)*
-Consumo > 800µg/día, n (%)	4 (6)*
Consumo de corticoides sistémicos:	
-No, n (%)	62 (79)
-Si, n (%)	16 (21)
Tabaquismo:	
-No, n (%)	20 (25,6)
-Si, n (%)	58 (74,4)
Consumo de tabaco en fumadores (paq-año), mediana (rango intercuartil)	40 (26-72)

DE : desviación estándar. \* Tras excluir a los que simultáneamente eran consumidores de corticoides sistémicos

Los 78 pacientes fueron divididos en tres grupos atendiendo al consumo actual de tabaco: 20 no fumadores, 35 exfumadores y 23 fumadores activos (tablas X y XI).

Tabla X.- Clasificación de la muestra en función del consumo actual de tabaco

	NO FUMADORES	FUMADORES	
		Exfumadores	Fumadores
Número, n (%)	20 (25,6)	35 (44,9)	23 (29,5)
Edad, media (DE)	59,1 (8)	58 (8,4)	57,6 (6,8)
Consumo de corticoides inhalados:			
-No, n (%)	19 (95)	21 (70)	18 (94,7)
-Consumo 800µg/día, n (%)	0	6 (20)*	1 (5,3)*
-Consumo > 800µg/día, n (%)	1 (5)	3 (10)*	0*
Consumo de corticoides sistémicos:			
-No, n (%)	17 (85)	28 (80)	17 (74)
-Si, n (%)	3 (15)	7 (20)	6 (26)
Paquetes-año, mediana (rango intercuartil)	-	45 (28)	56 (34,5)
Consumo de cigarrillos, n (%) pacientes:			
-<10 c/día	-	5 (14%)	4 (17%)
-10-29c/día	-	14 (40%)	13 (57%)
- 30c/día	-	16 (46%)	6 (26%)

DE: desviación estándar; \* Tras excluir a los que simultáneamente eran consumidores de corticoides sistémicos

Tabla XI.- Pruebas funcionales respiratorias en función del consumo actual de tabaco

	n total	NO FUMADORES		EXFUMADORES		FUMADORES	
		n	m (DE)	n	m (DE)	n	m (DE)
FEV1%	70	18	85 (17)	31	55 (30)	21	69 (28)
FVC%	70	18	83 (15)	31	64 (21)	21	74 (19)
FEV1/FVC%	70	18	76 (7)	31	60 (17)	21	66 (16)
RV/TLC%	54	10	42 (8,2)	25	50 (13,6)	19	51 (10,7)
DLCO	24	4	101 (55)	11	108 (17)	9	101 (22)
KCO	24	4	102 (56)	11	102 (24)	9	90 (19)
PBD, % positivas	55	11	9	26	27	18	17

## 4.2 EFECTO DE LA EDAD SOBRE LAS FIBRAS ELÁSTICAS DE LA PIEL Y SOBRE LA FUNCIÓN RESPIRATORIA

Las variables continuas edad, densidad de las fibras elásticas profundas (EP%), densidad de las fibras elásticas superficiales (ES%), número de fibras elásticas profundas por mm<sup>2</sup> (númEP), número de fibras elásticas superficiales por mm<sup>2</sup> (númES), FEV1%, RV/TLC% y KCO, mostraron una distribución normal.

No hallamos diferencias significativas en cuanto a la edad entre los no fumadores, los exfumadores y los fumadores activos, tanto analizados conjuntamente como al comparar fumadores con exfumadores y no fumadores con fumadores y exfumadores conjuntamente (F+EF). (Tablas XII, XIII, XIV).

Tabla XII.- Comparativa de la media de edad según el hábito de fumar

	No fumador	Exfumador	Fumador	<i>p</i>
Edad, m (DE)	59,1 (7,96)	58,03 (8,36)	57,61 (6,77)	ns

Tabla XIII.- Comparativa de la media de edad entre fumadores y exfumadores

	Exfumador	Fumador	<i>p</i>
Edad, m (DE)	58,03 (8,36)	57,61 (6,77)	ns

Tabla XIV.- Comparativa de la media de edad entre fumadores+exfumadores y no fumadores

	No fumador	F+EF	<i>p</i>
Edad, m (DE)	59,1 (7,96)	57,86 (7,71)	ns

No hallamos una correlación significativa entre la edad y las **variables morfológicas** EP%, númEP, y númES. Únicamente ES% presentó una correlación

inversa significativa con la edad ( $p=0,035$ ). Al categorizar la variable edad en tres grupos (41-50, 51-60 y 61-70 años), se objetivó un ligero incremento en los valores de EP% y de númEP dependiente de la edad, aunque las diferencias entre los tres grupos, así como entre los grupos de mayor y de menor edad, no fueron significativas (Tabla XV).

Tabla XV.- Parámetros morfométricos de las fibras elásticas en relación con la edad

	<b>41-50 años</b>	<b>51-60 años</b>	<b>61-70 años</b>	<b><i>p</i></b>
n	10	30	29	---
EP%, m(DE)	13,77 (4,6)	14,04 (3,96)	14,66 (3,14)	ns
númEP%, m(DE)	619 (139)	627 (225)	649 (205)	ns
ES%, m(DE)	5,3 (1,4)	5,5 (1,8)	4,5 (1,1)	$p=0,03$
númES, m(DE)	2324 (621)	2524 (804)	2420 (876)	ns

Tampoco hallamos una correlación significativa entre la edad y los **parámetros de función respiratoria** analizados: FEV1%, RV/TLC% y KCO. Al categorizar la variable edad en tres grupos (41-50, 51-60 y 61-70 años), no se observaron variaciones de interés entre ellos.

### 4.3 EFECTO DEL CONSUMO DE CORTICOIDES SOBRE LAS FIBRAS ELÁSTICAS DE LA PIEL

Aunque no hemos hallado ninguna referencia en la búsqueda bibliográfica que hemos llevado a cabo sobre posibles alteraciones de las fibras elásticas de la piel secundarias al consumo de corticoides, hemos analizado, en los individuos consumidores de corticoides, la posible existencia de un efecto dosis-respuesta sobre los distintos parámetros morfométricos. Para ello, consideramos que los individuos que reciben tratamiento con corticoides sistémicos tienen un consumo superior a los que están en tratamiento con corticoides inhalados. En ninguno de los casos hemos hallado diferencias significativas entre los dos grupos (Tabla XVI).

Tabla XVI.- Efecto dosis-respuesta del consumo de corticoides sobre las fibras elásticas de la piel

	<b>Corticoides inhalados</b>	<b>Corticoides sistémicos</b>	<i>P</i>
EP%, m(DE)	15,76 (2,88)	15,95 (5,25)	ns
NumEP, m(DE)	696 (290)	644 (146)	ns
ES%, m(DE)	4,31 (1,86)	5,22 (2,02)	ns
NúmES, m(DE)	1928 (682)	2431 (658)	ns

Sin embargo, es conocido que el consumo de corticoides sistémicos puede provocar una atrofia de la dermis a través de una disminución de la sustancia fundamental y de las fibras de colágeno. Secundariamente, la disminución de estos dos componentes podría conllevar un incremento relativo del área ocupada por las fibras elásticas de la dermis, aunque no del número. Por su parte, el consumo de corticoides inhalados a dosis altas (> 800 µg/día) parece que podría tener una repercusión similar sobre la dermis, aunque no está completamente establecido si estos efectos serían independientes de un posible consumo concomitante de corticoides sistémicos.

#### 4.4 REPERCUSIÓN DEL ABANDONO DEL HÁBITO DE FUMAR SOBRE LAS FIBRAS ELÁSTICAS DE LA PIEL Y SOBRE LA FUNCIÓN PULMONAR

Para los individuos fumadores y exfumadores, el consumo de tabaco fue analizado como número de paquetes-año. Dado que la variable continua número de paquetes-año no siguió una distribución normal, fue categorizada (paq-añocat) en tres grupos: 0, 1-40 y >40 paquetes-año. El valor 40 corresponde a la mediana del consumo de paquetes-año en el grupo de fumadores y exfumadores.

Al realizar el análisis comparativo de los individuos fumadores con los exfumadores, aunque los fumadores activos presentaron unos valores de EP%, númEP y ES% superiores a los de los exfumadores, estas diferencias no fueron significativas (Tabla XVII).

Tabla XVII.- Efecto del abandono del hábito de fumar sobre las fibras elásticas de la piel

	<b>Exfumador</b>	<b>Fumador</b>	<b><i>p</i></b>
EP%, m(DE)	14,89 (3,6)	16 (3,9)	ns
NumEP, m(DE)	639 (202)	711 (202)	ns
ES%, m(DE)	5,1 (1,8)	5,27 (1,4)	ns
NúmES, m(DE)	2490 (700)	2317 (601)	ns

Tampoco hallamos diferencias significativas de FEV1%, RV/TLC% y KCO entre fumadores y exfumadores (Tabla XVIII).

Tabla XVIII.- Efecto del abandono del hábito de fumar sobre la función pulmonar

	<b>Exfumador</b>	<b>Fumador</b>	<b><i>p</i></b>
FEV1%, m(DE)	54,94 (30,3)	68,52 (28,3)	ns
RV/TLC%, m(DE)	49,88 (13,6)	50,74 (10,7)	ns
KCO, m(DE)	102 (24)	90 (19)	ns

En relación con el consumo de tabaco, los individuos exfumadores presentaron un consumo significativamente inferior al de los fumadores activos (Tabla XIX).

Tabla XIX.- Consumo de tabaco de fumadores y no fumadores

	<b>Exfumador</b>	<b>Fumador</b>	<b><i>p</i></b>
Consumo > 40 paq-año, n (%)	13 (37%)	15 (65%)	0,036

Dado que no hemos hallado diferencias significativas entre fumadores y exfumadores ni respecto a la edad ni respecto a los distintos parámetros morfométricos y espirométricos valorados, estos dos grupos a partir de ahora serán analizados conjuntamente como individuos fumadores (F+EF).



## **4.5 EFECTO DEL CONSUMO DE TABACO SOBRE LAS FIBRAS ELÁSTICAS DE LA PIEL**

Los posibles efectos que el consumo de tabaco puede ejercer sobre las fibras elásticas de la piel fueron estudiados mediante morfometría estática primero y técnicas de inmunohistoquímica después.

### **4.5.1 Estudio mediante morfometría estática**

La observación al microscopio óptico de las muestras teñidas con orceína, valoradas retrospectivamente, ya ponía de manifiesto que las fibras elásticas de la dermis media y profunda de los individuos fumadores eran en general más numerosas y más fragmentadas que las de los no fumadores (Fig. 5 y 6). Por su parte, las fibras elásticas de la dermis superficial no mostraban aparentemente diferencias entre fumadores y no fumadores, aunque si se podían observar importantes variaciones individuales e incluso entre papilas distintas de un mismo individuo.

El análisis de los efectos del consumo de tabaco sobre los parámetros morfométricos de las fibras elásticas de la piel fue realizado en dos etapas. En primer lugar, se llevó a cabo un estudio comparativo de los no fumadores con los fumadores: primero se procedió a comparar las medias de los parámetros morfométricos entre ambos grupos y, posteriormente, se realizaron los correspondientes análisis de regresión lineal, con las variables morfométricas como variable dependiente y con el número de paq-año como variable independiente. En una segunda etapa, se analizó la existencia de un posible efecto dependiente de la dosis del consumo de tabaco sobre las fibras elásticas de la piel.

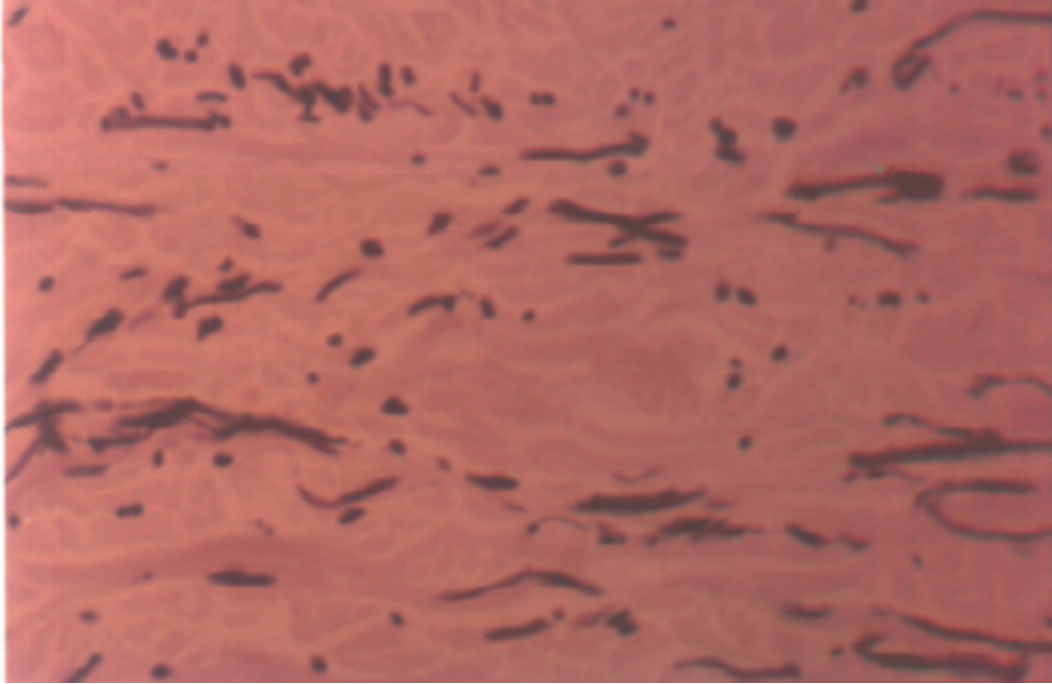


Fig. 5 – Microfotografía de las fibras elásticas de la dermis media y profunda de un individuo no fumador, con una densidad media de fibras elásticas del 12% (Orceína, x400)

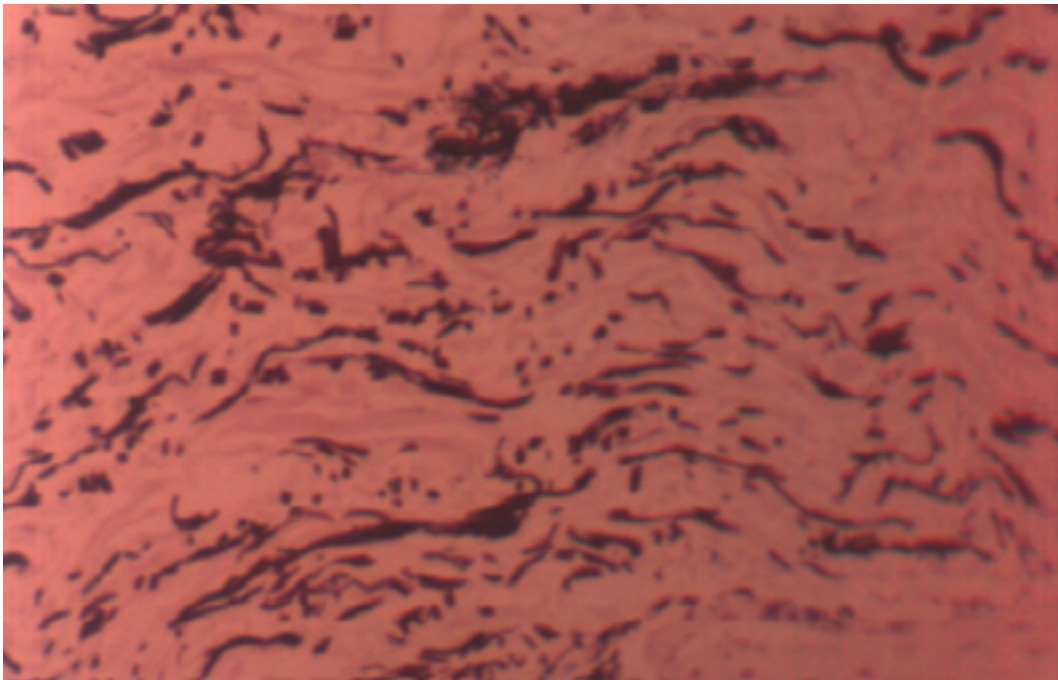


Fig. 6 - Microfotografía de las fibras elásticas de la dermis media y profunda de un individuo fumador, con una densidad media de fibras elásticas del 20% (Orceína, x400)

#### 4.5.1.1 Análisis comparativo de los no fumadores con los fumadores

Al analizar mediante morfometría estática las fibras elásticas de la dermis media y profunda, los individuos fumadores (F+EF) presentaron un incremento significativo tanto del área relativa ocupada por las fibras elásticas (EP%) como del número de fibras por mm<sup>2</sup> (númEP) respecto a los no fumadores (NF). En relación con las fibras elásticas superficiales, ninguno de los parámetros analizados (área relativa (ES%) y número de fibras (númES)) mostró diferencias significativas entre fumadores y no fumadores (Tabla XX).

Tabla XX.- Efecto del consumo de tabaco sobre las fibras elásticas de la piel

	No fumador	Fumador	p
EP%, m(DE)	11,67 (2,1)	15,32 (3,7)	<0,001
NúmEP, m(DE)	557 (191)	667 (203)	0,041
ES%, m(DE)	4,74 (1,4)	5,17 (1,6)	ns
NúmES, m(DE)	2529 (1098)	2421 (661)	ns

#### 4.5.1.2 Análisis de regresión lineal

Una vez objetivada la existencia de diferencias significativas de las variables morfométricas EP% y númEP de los no fumadores respecto a los fumadores, se procedió a determinar el grado de influencia del consumo de tabaco sobre las alteraciones de las fibras elásticas de la piel. Para ello se llevaron a cabo por separado los análisis de regresión lineal con las variables EP% y númEP como variables dependientes, y consumo de tabaco como variable independiente. El consumo de tabaco mostró un valor predictivo significativo de las variaciones de EP% y una tendencia a él en el caso del númEP (Tabla XXIII).

Tabla XXIII.- Regresiones lineales simples. Valores predictivos

<b>Variable dependiente</b>	<b>Variable independiente</b>	<b>n</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
EP%	Consumo de tabaco	69	0,145	0,001
NúmEP	Consumo de tabaco	69	0,043	0,088

A fin de evitar el posible sesgo inducido por el consumo de corticoides, el análisis fue repetido excluyendo del estudio a los individuos consumidores de corticoides sistémicos así como a los consumidores de corticoides inhalados a dosis > 800µg/día. Tanto para EP% como para númEP el consumo de tabaco mostró un valor predictivo significativo (Tabla XXIV).

Tabla XXIV.- Regresiones lineales simples. Valores predictivos tras excluir a los consumidores de corticoides sistémicos e inhalados a dosis &gt;800µg/día

<b>Variable dependiente</b>	<b>Variable independiente</b>	<b>n</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
EP%	Consumo de tabaco	50	0,164	0,004
NúmEP	Consumo de tabaco	50	0,118	0,015

#### **4.5.1.3 Análisis de un posible efecto dependiente de la dosis del consumo de tabaco sobre las fibras elásticas de la piel**

En una segunda etapa, se analizó si el incremento hallado en EP% y númEP estaba en relación con la cantidad de paquetes-año fumados.

Al analizar conjuntamente la totalidad de la muestra, únicamente la variable EP% mostró diferencias significativas entre los no fumadores, los fumadores de hasta 40 paquetes-año y los fumadores de más de 40 paquetes-año (Tabla XXI).

Tabla XXI.- Totalidad de la muestra. Efecto dosis-respuesta del consumo de tabaco sobre las fibras elásticas de la piel

	<b>No fumadores</b>	<b>Fumadores ≤ 40 paq-año</b>	<b>Fumadores &gt; 40 paq-año</b>	<b><i>p</i></b>
EP%, m(DE)	11,67 (2,1)	15,3 (4)	15,3 (3,4)	<0,001
NumEP, m(DE)	557 (191)	667 (210)	666 (199)	ns
ES%, m(DE)	4,74 (1,4)	5,47 (1,63)	4,89 (1,59)	ns
NúmES, m(DE)	2529 (1098)	2542 (582)	2310 (721)	ns

Sin embargo, al centrarnos en el grupo de individuos fumadores (F+EF), ninguna de las variables morfométricas mostró diferencias significativas entre los consumidores de hasta 40 paquetes-año y los consumidores de más de 40 paquetes-año (Tabla XXII). Al categorizar la variable paq-año en 5 grupos (1-20, 21-40, 41-60, 61-80, >80), tampoco hallamos diferencias significativas de las variables morfométricas entre los distintos grupos ni tampoco al comparar los poco consumidores (1-20 paq-año) con los grandes consumidores (más de 80 paq-año) ( $p=0,1$ , siendo  $n=6$  y  $7$  respectivamente).

Tabla XXII.- Individuos fumadores (F+EF). Efecto dosis-respuesta del consumo de tabaco sobre las fibras elásticas de la piel

	<b>Fumadores ≤ 40 paq-año</b>	<b>Fumadores &gt; 40 paq-año</b>	<b><i>p</i></b>
EP%, m(DE)	15,3 (4)	15,3 (3,4)	ns
NumEP, m(DE)	667 (210)	666 (199)	ns
ES%, m(DE)	5,47 (1,63)	4,89 (1,59)	ns
NúmES, m(DE)	2542 (582)	2310 (721)	ns

Respecto al número de cigarrillos/día, tampoco hallamos diferencias significativas en las distintas variables morfométricas entre los poco fumadores, los fumadores medios y los grandes fumadores.

## **4.5.2 Estudio mediante inmunohistoquímica**

Una vez establecida mediante los estudios morfométricos la existencia de alteraciones de las fibras elásticas de la dermis media y profunda secundarias al consumo de tabaco, se procedió a intentar determinar sobre cual o cuales de los componentes de estas fibras elásticas ejercían sus efectos los componentes tóxicos del humo del tabaco. Para ello, se procedió a analizar para estas fibras las posibles relaciones entre las inmunotinciones para la elastina y para el componente P-amiloide (CPA), representativas del material amorfo y del componente microfibrilar de las fibras elásticas, respectivamente, y las variables morfométricas y de consumo de tabaco. Para finalizar con los estudios mediante inmunohistoquímica, en el último apartado se exponen los resultados obtenidos con las inmunotinciones con los anticuerpos antilisozima, antifibronectina, anti inhibidores de las proteasas plasmáticas (antialfa-1-antitripsina, antialfa-1-antiquimiotripsina, y antialfa-2-macroglobulina), así como con las tinciones con las lectinas Concanavalina A (ConA) y *Triticum vulgare* (WGA).

### **4.5.2.1 Estudio de las fibras elásticas de la dermis media y profunda. Inmunotinciones para la elastina y para el componente P-amiloide**

El análisis univariante realizado con las inmunotinciones para la elastina y para el CPA como variables independientes demostró que las alteraciones en ambas inmunotinciones eran predictoras de la existencia de variaciones en EP% ( $R^2=0,085$  y  $0,174$ , respectivamente). Cuando se tomó el númEP como variable dependiente, únicamente el CPA mostró un valor predictivo significativo ( $R^2=0,137$ ) (Tabla XXV).

Tabla XXV.- Totalidad de la muestra. Regresiones lineales simples.

Valores predictivos

<b>Variable dependiente</b>	<b>Variable independiente</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
EP%	Inmunotinción para la elastina	0,085	0,029
	Inmunotinción para el CPA	0,174	0,003
NúmEP	Inmunotinción para la elastina	0,005	ns
	Inmunotinción para el CPA	0,137	0,008

Posteriormente, se llevaron a cabo por separado los análisis de regresión lineal en individuos no fumadores y en fumadores (F+EF). En el primer grupo, ni la elastina ni el CPA mostraron un valor predictivo significativo de los cambios en EP% ni en númEP. Por su parte, en el grupo de fumadores, las variaciones en ambos componentes de las fibras elásticas (elastina y CPA) mostraron un valor predictivo significativo de las variaciones en EP% ( $R^2=0,177$  y  $R^2=0,25$ , respectivamente), aunque únicamente el CPA mostró además un valor predictivo significativo del númEP ( $R^2=0,106$ ) (Tabla XXVI).

Tabla XXVI.- Individuos fumadores. Regresiones lineales simples. Valores predictivos

<b>Variable dependiente</b>	<b>Variable independiente</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
EP%	Inmunotinción para la elastina	0,177	0,01
	Inmunotinción para el CPA	0,25	0,002
NúmEP	Inmunotinción para la elastina	0,005	ns
	Inmunotinción para el CPA	0,106	0,05

Finalmente, se analizó la posible existencia de una relación entre el consumo de tabaco y las inmunotinciones para la elastina y para el CPA. Aunque en ninguno de los dos casos se halló una correlación significativa, para el CPA se obtuvo una cierta tendencia ( $p=0,1$ , siendo  $n=54$ ).

No se halló relación entre ambas inmunotinciones (elastina y CPA) y el FEV1%.

#### 4.5.2.2 Otras tinciones e inmunotinciones

Las inmunotinciones con los anticuerpos (Ac) anti inhibidores de las proteasas plasmáticas (antialfa-1-antitripsina, antialfa-1-antiquimiotripsina, y antialfa-2-macroglobulina), con los Ac antilisozima, así como las tinciones con las lectinas ConA y WGA, fueron todas ellas negativas en la dermis superficial.

En relación a la dermis media y profunda, también fueron negativas las inmunotinciones con el Ac antialfa-1-antitripsina y antialfa-1-antiquimiotripsina, así como las tinciones con las lectinas ConA y WGA. La inmunotinción con el Ac antialfa-2-macroglobulina fue positiva en el 30% de los casos, mientras que la inmunotinción con el Ac antilisozima mostró en la mayoría de los casos una tinción tenue de las fibras elásticas. Sin embargo, en ninguno de los dos casos se halló relación con la edad, con el consumo de tabaco, con las variables morfométricas ni espirométricas, ni con el resto de las inmunotinciones (Tabla XXVII).

Respecto a la inmunotinción con los Ac antifibronectina, ésta mostró una tinción difusa de toda la dermis, adoptando un patrón reticular en la dermis papilar y un patrón fibrilar en la dermis reticular, sin relación aparente con las fibras elásticas. En algunas preparaciones se observaba la presencia de una banda no compacta por debajo de la membrana basal (Tabla XXVII).

Tabla XXVII.- Resultados de las inmunotinciones con los anticuerpos anti inhibidores de las proteasas plasmáticas, antilisozima, antifibronectina y de las tinciones con las lectinas

		<b>Dermis superficial</b>	<b>Dermis media y profunda</b>
Ac anti inhibidores de las proteasas	Antialfa-1-antitripsina	-	-
	Antialfa-1-antiquimiotripsina	-	-
	Antialfa-2-macroglobulina	-	30% positivas
Lectinas	Concanavalina A (ConA)	-	-
	<i>Triticum vulgare</i> (WGA)	-	-
Ac. Antilisozima		-	+ (ver texto)
Ac. Antifibronectina		+ (ver texto)	+ (ver texto)



## 4.6 EFECTO DEL CONSUMO DE TABACO SOBRE LA FUNCIÓN PULMONAR

### 4.6.1 Análisis comparativo de los no fumadores con los fumadores

Como era de esperar, existen diferencias significativas entre los fumadores (F+EF) y los no fumadores respecto tanto al FEV1% como al RV/TLC%. No hallamos diferencias significativas respecto a KCO, probablemente debido al escaso número de pacientes y/o a la menor sensibilidad de esta variable (Tabla XXVIII).

Tabla XXVIII.- Efecto del consumo de tabaco sobre la función pulmonar

	No fumadores		Fumadores		<i>p</i>
	n	media (DE)	n	media (DE)	
FEV1%	18	85,1 (16,9)	52	60,4 (30)	<0,001
RV/TLC%	10	42 (8,2)	44	50 (12,3)	0,048
KCO	4	101,5 (55,8)	20	96,5 (22)	ns

### 4.6.2 Análisis del efecto dosis-respuesta del consumo de tabaco sobre la función pulmonar

Posteriormente, se analizó la relación entre las alteraciones halladas de FEV1% y RV/TLC% y la cantidad de paquetes-año fumados.

Al analizar conjuntamente la totalidad de la muestra (NF, F y EF), hallamos una correlación inversa significativa entre el consumo de tabaco (0, 40, > 40 paquetes-año) y FEV1% ( $p=0,001$ ), y una correlación positiva significativa respecto a RV/TLC% ( $p=0,003$ ).

Al centrarnos en el grupo de individuos fumadores, aunque los consumidores de hasta 40 paquetes-año presentaron unos valores de FEV1% superiores a los de los fumadores de más de 40 paquetes-año, estas diferencias no fueron significativas, probablemente debido a la gran variabilidad individual existente dentro de cada grupo. Sí que hallamos diferencias significativas entre ambos grupos al analizar la variable RV/TLC% (Tabla XXIX).

Tabla XXIX.- Efecto dosis-respuesta del consumo de tabaco sobre la función pulmonar

	<b>F+EF ≤ 40 paq-año</b>	<b>F+EF &gt; 40 paq-año</b>	<b><i>p</i></b>
FEV1%, m(DE)	65 (32)	56 (28)	ns
RV/TLC%, m(DE)	46 (11)	54 (12)	0,028

Al categorizar la variable paq-año en 5 grupos (1-20, 21-40, 41-60, 61-80, >80), aunque hallamos una disminución progresiva del FEV1% con el incremento del consumo de tabaco, las diferencias entre los distintos grupos así como entre los de menor consumo (1-20 paq-año) y los de mayor consumo (>80 paq-año) no fueron significativas (Tabla XXX).

Tabla XXX.- Efecto dosis-respuesta del consumo de tabaco sobre la función pulmonar. Variable paq-año categorizada en 5 grupos

<b>paq-año</b>	<b>1-20</b>	<b>21-40</b>	<b>41-60</b>	<b>61-80</b>	<b>&gt;80</b>	<b><i>p</i></b>
n	8	17	9	9	9	--
FEV1%, m(DE)	66,3(25)	64,7(35)	59,6(31)	52,3(30)	56,1(26)	0,8

Respecto al número de cigarrillos/día, tampoco hallamos diferencias significativas en los parámetros de función respiratoria FEV1% y RV/TLC% entre los poco fumadores, los fumadores medios y los grandes fumadores.

## **4.7 RELACIÓN ENTRE LA AFECCIÓN DE LAS FIBRAS ELÁSTICAS DE LA PIEL Y EL DETERIORO DE LA FUNCIÓN PULMONAR**

El análisis para determinar la posible relación entre las alteraciones de la función pulmonar y las de las fibras elásticas de la piel se llevó a cabo en tres etapas.

En una primera fase, se analizó la existencia de posibles correlaciones entre las distintas variables de función respiratoria (FEV1%, RV/TLC%, KCO) con los parámetros morfométricos de las fibras elásticas de la piel (EP%, ES%, númEP%, númES%), a fin de determinar cuál o cuales de las variables morfométricas eran más significativas a la hora de llevar a cabo los análisis estadísticos. Posteriormente, se procedió a realizar el análisis multivariante para determinar si las correlaciones halladas eran independientes de otros factores de confusión como el consumo de tabaco.

En una segunda etapa, y para confirmar la independencia de la asociación entre las variaciones de las variables morfométricas y las de función respiratoria del factor de confusión consumo de tabaco, se repitió el análisis univariante tras excluir a los individuos fumadores.

En una tercera etapa, y a fin de eliminar un posible sesgo inducido por el consumo de corticoides, se repitieron los análisis univariantes y de regresión múltiple eliminando del estudio los pacientes consumidores de corticoides sistémicos y de corticoides inhalados a dosis superiores a 800 µg/día.

## 4.7.1 Influencia de las alteraciones de las fibras elásticas de la piel sobre los valores de la espirometría forzada

### 4.7.1.1 Análisis con la totalidad de la muestra

Al correlacionar el FEV1% con las variables morfométricas, únicamente EP% mostró una correlación inversa significativa con el FEV1% ( $p < 0,001$ ).

Los análisis univariantes llevados a cabo con las variables consumo de tabaco y EP% como variables independientes, y FEV1% como variable dependiente, mostraron que tanto el consumo de tabaco como EP% eran predictoras de la existencia de alteraciones en FEV1% (Tabla XXXI).

Tabla XXXI.- Totalidad de la muestra. Regresiones lineales simples. Valores predictivos

Variable dependiente	Variable independiente	n	R <sup>2</sup>	p
FEV1%	Consumo de tabaco	70	0,149	0,001
	EP%	62	0,181	<0,001

Posteriormente, se llevó a cabo el correspondiente análisis de regresión múltiple que mostró que los efectos de EP% sobre el FEV1% eran independientes del consumo de tabaco (Tabla XXXII).

Tabla XXXII.- Totalidad de la muestra. Análisis de regresión múltiple

Variable dependiente	Variables independientes	p	R <sup>2</sup> (parcial)	R <sup>2</sup> (modelo)
FEV1%	Consumo de tabaco	0,008	0,11	0,274
	EP%	0,014	0,15	

#### 4.7.1.2 Análisis tras excluir a los fumadores

A fin de confirmar la existencia de una asociación entre EP% y FEV1% independiente del consumo de tabaco, se llevó a cabo el análisis univariante únicamente con los individuos no fumadores, y los resultados obtenidos mostraron un valor predictivo prácticamente significativo de las variaciones de EP% sobre el FEV1% (Tabla XXXIV).

Tabla XXXIV.- Individuos no fumadores. Análisis univariante

Variable dependiente	Variable independiente	n	R <sup>2</sup>	p
FEV1%	EP%	18	0,219	0,05

En la tabla XXXIII podemos ver de un modo más sencillo cómo la relación entre el deterioro de las fibras elásticas de la piel y la función pulmonar se ve agravada cuando introducimos la variable consumo de tabaco.

Tabla XXXIII.- Efecto aditivo de las alteraciones de las fibras elásticas de la piel y del consumo de tabaco sobre la función pulmonar

TABACO	EP%	n	FEV1%, m(DE)	n	RV/TLC%, m(DE)
0	<13,5*	15	87 (15,63)	7	38,86 (7)
0	13,5*	3	75,33 (23,29)	3	49,33 (6,11)
+	< 13,5*	15	65,73 (33,69)	12	47,5 (13,15)
+	13,5*	29	53,34 (27,51)	25	53,52 (11,51)

13,5 = mediana de EP%

#### 4.7.1.3 Análisis tras excluir a los consumidores de corticoides

En una tercera etapa, se procedió a excluir del estudio a los individuos consumidores de corticoides sistémicos así como a los consumidores de corticoides inhalados a dosis > 800µg/día. Al realizar las correspondientes regresiones lineales simples, ambas variables independientes mantuvieron un valor predictivo significativo (Tabla XXXV).

Tabla XXXV.- Regresiones lineales simples. Valores predictivos tras excluir a los consumidores de corticoides sistémicos e inhalados a dosis > 800µg/día

<b>Variable dependiente</b>	<b>Variable independiente</b>	<b>n</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
FEV1%	Consumo de tabaco	50	0,088	0,036
	EP%	43	0,156	0,009

## 4.7.2 Influencia de las alteraciones de las fibras elásticas de la piel sobre los volúmenes pulmonares

### 4.7.2.1 Análisis con la totalidad de la muestra

De las distintas variables morfométricas, y al igual que ocurría con el FEV1%, únicamente EP% mostró una correlación significativa con RV/TLC% ( $p=0,001$ ).

Los análisis univariantes llevados a cabo con las variables consumo de tabaco y EP% como variables independientes, y RV/TLC% como variable dependiente, mostraron que tanto el consumo de tabaco como EP% constituían variables predictivas de la existencia de alteraciones en RV/TLC% (Tabla XXXVI).

Tabla XXXVI.- Totalidad de la muestra. Regresiones lineales simples. Valores predictivos

<b>Variable dependiente</b>	<b>Variable independiente</b>	<b>n</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
RV/TLC%	Consumo de tabaco	54	0,16	0,003
	EP%	47	0,184	0,003

Posteriormente, se llevó a cabo el correspondiente análisis de regresión múltiple que mostró que los efectos de EP% sobre RV/TLC% eran independientes del consumo de tabaco (Tabla XXXVII).

Tabla XXXVII.- Totalidad de la muestra. Análisis de regresión múltiple

<b>Variable dependiente</b>	<b>Variabes independientes</b>	<b><i>p</i></b>	<b>R<sup>2</sup> (parcial)</b>	<b>R<sup>2</sup> (modelo)</b>
RV/TLC%	Consumo de tabaco	0,003	0,18	0,332
	EP%	0,018	0,20	

#### 4.7.2.2 Análisis tras excluir a los fumadores

A fin de confirmar la existencia de una asociación entre EP% y RV/TLC% independiente del consumo de tabaco, se llevó a cabo el análisis univariante únicamente con los individuos no fumadores. Los resultados obtenidos, aunque no mostraron un valor predictivo significativo de las variaciones de EP% sobre RV/TLC%, sí que se objetivó una tendencia a él (Tabla XXXVIII).

Tabla XXXVIII.- Individuos no fumadores. Regresión lineal simple. Valor predictivo

<b>Variable dependiente</b>	<b>Variable independiente</b>	<b>n</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b><i>p</i></b>
RV/TLC%	EP%	10	0,323	0,086

#### 4.7.2.3 Análisis tras excluir a los consumidores de corticoides

En una tercera etapa, se procedió a excluir del estudio a los individuos consumidores de corticoides sistémicos así como a los consumidores de corticoides inhalados a dosis > 800µg/día. Al realizar las correspondientes regresiones lineales simples, únicamente

el consumo de tabaco mostró un valor predictivo prácticamente significativo (Tabla XXXIX).

Tabla XXXIX.- Regresiones lineales simples. Valores predictivos tras excluir a los consumidores de corticoides sistémicos e inhalados a dosis > 800µg/día

<b>Variable dependiente</b>	<b>Variable independiente</b>	<b>n</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
RV/TLC%	Consumo de tabaco	38	0,088	0,071
	EP%	32	0,071	ns

### 4.7.3 Influencia de las alteraciones de las fibras elásticas de la piel sobre la capacidad de difusión pulmonar

#### 4.7.3.1 Análisis con la totalidad de la muestra

Al correlacionar la KCO con las variables morfométricas, sólo hallamos una correlación significativa en el caso del númES (p=0,012).

En los análisis univariantes llevados a cabo con las variables consumo de tabaco y númES como variables independientes, y KCO como variable dependiente, únicamente el númES resultó ser variable predictiva de la existencia de alteraciones en la KCO (R<sup>2</sup>=0,315, p=0,012) (Tabla XL).

Tabla XL.- Totalidad de la muestra. Regresiones lineales simples. Valores predictivos

<b>Variable dependiente</b>	<b>Variable independiente</b>	<b>n</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
KCO	Consumo de tabaco	24	0,004	ns
	NúmES	19	0,315	0,012



#### 4.7.3.2 Análisis tras excluir a los fumadores

Al excluir del estudio a los individuos fumadores, la variable númES perdió su efecto predictivo significativo sobre la KCO ( $p > 0,1$ , siendo  $n=4$ ).

#### 4.7.3.3 Análisis tras excluir a los consumidores de corticoides

En una tercera etapa, se procedió a excluir del estudio a los individuos consumidores de corticoides sistémicos así como a los consumidores de corticoides inhalados a dosis  $> 800\mu\text{g/día}$ . En las correspondientes regresiones lineales simples, únicamente el númES mostró un valor predictivo significativo de las variaciones en la KCO (Tabla XLI).

Tabla XLI.- Regresiones lineales simples. Valores predictivos tras excluir a los consumidores de corticoides sistémicos e inhalados a dosis  $> 800\mu\text{g/día}$

Variable dependiente	Variable independiente	n	$R^2$	$p$
KCO	Consumo de tabaco	21	0,071	ns
	NúmES	17	0,264	0,035

## **5 DISCUSIÓN.**

## 5. DISCUSIÓN

La presencia de cambios cutáneos en individuos fumadores de cigarrillos fue apreciada hace ya más de un siglo. En este sentido, estudios recientes han puesto de manifiesto que el hábito de fumar constituye un factor de riesgo independiente para el desarrollo precoz de arrugas faciales en los individuos de raza caucásica.

Con el presente estudio hemos tratado de determinar cuál es el substrato patológico de las alteraciones cutáneas que presentan los individuos fumadores. Para ello, se ha efectuado un análisis comparativo de las fibras elásticas de la piel de los individuos fumadores y exfumadores con las de los no fumadores.

Si se confirma que los cambios cutáneos que presentan los individuos fumadores son secundarias, al menos en parte, a las alteraciones que produce el tabaco en las fibras elásticas de la dermis, se podría pensar que estas mismas alteraciones de las fibras elásticas podrían ser, en parte, el sustrato patológico de los efectos del consumo de tabaco sobre distintos órganos internos, especialmente el pulmón. En este sentido, la valoración de las fibras elásticas de la piel podría constituir un marcador del estado de las fibras elásticas de estos órganos internos. Para probar esta hipótesis, hemos estudiado la posible existencia de una correlación entre las alteraciones de las fibras elásticas de la piel y las alteraciones de las fibras elásticas del pulmón, analizadas estas últimas a través del estado de la función pulmonar.

## **5.1 EFECTOS DEL HÁBITO DE FUMAR SOBRE LAS FIBRAS ELÁSTICAS DE LA PIEL**

### **5.1.1 Estudios mediante morfometría estática**

En primer lugar se llevó a cabo un análisis comparativo de las fibras elásticas de la dermis de los individuos fumadores (F) con las de los exfumadores (EF). Al no hallar diferencias significativas entre ambos grupos ni respecto a los parámetros morfométricos ni tampoco respecto a la edad ni a las variables espirométricas, estos dos grupos fueron analizados conjuntamente como fumadores. En una segunda etapa, se procedió al estudio comparativo de las fibras elásticas de la dermis de los fumadores (F+EF) con las de los no fumadores. Finalmente, se analizó si las alteraciones de las fibras elásticas de la piel secundarias al consumo de tabaco eran dependientes de la dosis.

#### **5.1.1.1 Análisis comparativo de los exfumadores con los fumadores activos**

Al analizar comparativamente los individuos fumadores con los exfumadores, hallamos que los primeros presentaban unos valores de EP% y númEP superiores a los de los exfumadores. Sin embargo, estas diferencias no llegaron a ser significativas ( $p > 0,2$  en ambos casos). Tampoco hallamos diferencias significativas entre ambos grupos respecto a las fibras elásticas superficiales (ES% y númES). Por otra parte, la media del consumo de tabaco de los fumadores fue significativamente superior a la de los exfumadores. Este mayor consumo de tabaco de los fumadores respecto a los exfumadores podría ser la causa de que los que habían abandonado el hábito de fumar presentasen unos valores morfométricos mejores (aunque con diferencias no estadísticamente significativas) que los fumadores activos. Por lo tanto, en base a los

resultados obtenidos no existe ninguna evidencia de que el abandono del hábito de fumar tenga un efecto positivo sobre las fibras elásticas de la piel.

De los distintos estudios llevados a cabo para analizar los efectos del consumo de tabaco sobre la piel, únicamente Model (Model, 1985) y Ernster y cols. (Ernster y cols., 1995) analizaron por separado a los individuos exfumadores de los fumadores activos. Model definió el concepto de “cara del fumador”, que se caracteriza por la presencia de uno o más de los siguientes criterios: 1) arrugas que irradian en ángulo recto desde los labios superior e inferior y del ángulo externo de los ojos, líneas profundas en las mejillas y zona de la mandíbula; 2) aspecto demacrado de la cara con prominencia de las estructuras óseas subyacentes; 3) piel atrófica, con ligera pigmentación grisácea; 4) tez pletórica, ligeramente anaranjada, purpúrica y rojiza. Este autor halló una menor frecuencia de esta “cara de fumador” en los exfumadores (8% de los casos) que en los fumadores activos (46% de los casos). No halló ningún caso entre los no fumadores. Por su parte, Ernster y cols. (Ernster y cols., 1995) hallaron que tanto hombres como mujeres fumadores presentaban un mayor riesgo para el desarrollo de arrugas faciales que los no fumadores (hombres: OR=2,3, IC95% 1,2-4,2; mujeres: OR=3,1, IC95% 1,6-5,9). Además, las mujeres exfumadoras, pero no los hombres, presentaban un riesgo intermedio entre las fumadoras y las no fumadoras (OR=1,8, IC95% 1-3,1).

#### **5.1.1.2 Análisis comparativo de los no fumadores con los fumadores**

Los resultados de este estudio demuestran la existencia de diferencias significativas en las fibras elásticas de la dermis media y profunda de los individuos fumadores respecto a los no fumadores. Los análisis mediante morfometría estática de estas fibras mostraron que los individuos fumadores y exfumadores (F+EF) presentaban un

incremento significativo del área relativa ocupada (EP%) y del número de las fibras elásticas (númEP) respecto a los no fumadores. Después de controlar por consumo de corticoides, la variable consumo de tabaco (analizada como paq-añocat) mantenía una asociación significativa con EP% ( $p=0,001$ ) y con númEP ( $p=0,015$ ). De todo ello podemos concluir que el hábito de fumar constituye un factor de riesgo independiente para el desarrollo de alteraciones de las fibras elásticas de la dermis media y profunda, tanto de EP% como de númEP, y sería responsable de un 16 y de un 12%, respectivamente, de esa variabilidad.

Estos resultados están en la misma línea que los publicados por Frances y cols. y Lister y cols. (Frances y cols., 1991; Lister y cols., 1999). Frances y cols., en su estudio llevado a cabo sobre 10 individuos fumadores y 10 controles, observaron que las fibras elásticas de los individuos fumadores eran más numerosas, más gruesas y más fragmentadas que las de los no fumadores. Después de controlar por edad, sexo, exposición solar (biopsias procedentes de la piel de la cara interna del brazo) y tratamientos que pudieran afectar al tejido conectivo, hallaron un incremento significativo en el área relativa y en el número de fibras elásticas de la dermis media y profunda de los fumadores respecto a los no fumadores. Resultados similares se desprenden del estudio llevado a cabo por Lister y cols. sobre biopsias de piel de la nalga. Sin embargo, estos autores no controlaron por sexo ni por posibles tratamientos que pudieran afectar al tejido conectivo. Ninguno de estos autores tampoco halló diferencias significativas entre no fumadores y fumadores respecto a las fibras elásticas superficiales. Por su parte, Boyd y cols. (Boyd y cols., 1999), al analizar biopsias de piel procedentes de zonas expuestas a la RUV (frente y mejillas), hallaron un incremento significativo de la cantidad de elastosis en la piel de los fumadores respecto a la de los no fumadores. Este estudio, sin embargo, no controla por sexo ni por consumo de

fármacos que puedan alterar las fibras elásticas. Además, al proceder las biopsias de zonas de piel fotoexpuesta, el control de la variable exposición solar es cuestionable.

### **5.1.1.3 Análisis de un posible efecto dependiente de la dosis del consumo de tabaco sobre las fibras elásticas de la piel**

Al analizar la totalidad de la muestra, observamos la existencia de diferencias significativas en el valor de EP% entre los no fumadores, los fumadores de hasta 40 paq-año y los fumadores de más de 40 paq-año. Sin embargo, al centrarnos en el grupo de fumadores, no hallamos una correlación significativa entre las alteraciones de las fibras elásticas de la piel (EP%) y el número de paquetes-año fumados. Este resultado indica que la correlación significativa hallada al analizar la totalidad de la muestra (NF+EF+F) entre EP% y paq-año, es fundamentalmente a expensas de las diferencias entre los fumadores y los no fumadores. Por tanto, en base a estos datos no podemos establecer que la relación existente entre el consumo de tabaco y las alteraciones de las fibras elásticas de la piel sea dependiente de la dosis, resultados en la misma línea que los hallados por Lister y cols. (Lister y cols., 1999).

## **5.1.2 Estudios mediante inmunohistoquímica**

### **5.1.2.1 Estudio de las fibras elásticas de la dermis media y profunda. Inmuntinciones para la elastina y para el componente P-amiloide**

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que las variaciones que presenta la variable EP% están relacionadas con variaciones en sus dos componentes principales, la elastina ( $R^2=0,085$ ) y el componente P-amiloide ( $R^2=0,174$ ). El hecho de no hallar esta correlación en los individuos no fumadores y sí en el grupo de fumadores y exfumadores, lleva a suponer que las variaciones de EP% y númEP que se correlacionan

con las de la elastina y con las del CPA son fundamentalmente debidas al consumo de tabaco. Por otra parte, nuestros resultados muestran que el CPA presenta un valor predictivo de las alteraciones en EP% superior al de la elastina; asimismo, únicamente el CPA presenta un valor predictivo de las alteraciones del númEP así como una tendencia a la correlación con el consumo de tabaco. Todo ello parece indicar que los cambios de las fibras elásticas de la piel secundarios al consumo de tabaco serían debidos más a las alteraciones que éste provoca sobre el CPA que a las que provoca sobre la la elastina.

#### **5.1.2.2 Otras tinciones e inmunotinciones**

El aumento de la densidad y del número de las fibras elásticas de las dermis media y profunda (EP% y númEP, respectivamente) que presentan los individuos fumadores respecto a los no fumadores, podría tener su origen en dos procesos bien diferenciados. En primer lugar, podría ser secundario a una sobreproducción de tejido elástico inducida por los distintos componentes del humo del tabaco, de forma similar a lo que ocurre en algunas neoplasias (Davies y Mera, 1987). Una segunda posibilidad sería que los componentes del humo del tabaco indujeran un proceso degenerativo de las fibras elásticas de la piel, similar a lo que ocurre con el tejido elástico de la piel fotoenvejecida (Braverman y Fonferko, 1982). Para intentar aclarar esta disyuntiva, se llevaron a cabo las tinciones con lectinas (Concanavalina A y *Triticum vulgare*) y con los anticuerpos antiinhibidores de las proteasas plasmáticas, ambos indicadores de neoformación de fibras elásticas. La negatividad obtenida en prácticamente la totalidad de estas tinciones, tanto en los individuos fumadores como en los no fumadores, parece indicar que los cambios que presentan las fibras elásticas de la piel de los individuos fumadores (aumento del área ocupada y del número) serían secundarios más a un proceso degenerativo que a un proceso de síntesis. A diferencia de lo que ocurre con la piel



fotoenvejecida, las alteraciones inducidas por los componentes del humo del tabaco afectarían predominantemente las fibras elásticas de la dermis media y profunda (en el fotoenvejecimiento se alteran las fibras elásticas superficiales), y serían menos intensas, sin llegar a la degeneración y desorganización en masas amorfas que hallamos en el tejido elastótico de la piel fotodañada.

La menor intensidad de las alteraciones de las fibras elásticas secundarias al consumo de tabaco respecto a las que hallamos en el fotoenvejecimiento, junto con la afección de capas más profundas de la dermis, nos aporta un substrato patológico que nos permite explicar porqué el tabaco por sí solo sería incapaz de modificar el aspecto macroscópico de la piel, como parece indicar el hecho que los individuos fumadores de raza blanca presentan una piel aparentemente normal en zonas no fotoexpuestas, y los de raza negra tanto en las zonas fotoexpuestas como en las no fotoexpuestas. Asimismo, la existencia de estas alteraciones microscópicas de la dermis inducidas por el consumo de tabaco nos aporta la explicación del efecto potenciador que ejerce el tabaco sobre los cambios secundarios a la radiación solar, con un mayor desarrollo de arrugas faciales en los individuos fumadores de raza blanca respecto a los no fumadores.

Estas alteraciones de las fibras elásticas de la piel secundarias al hábito de fumar (cambios microscópicos sin aparente traducción macroscópica) presentan cierto paralelismo con las descritas en el pulmón por Hogg y cols. (Hoggs y cols, 1994). Estos autores hallaron que la pérdida de elasticidad que presenta el tejido pulmonar secundaria al consumo de tabaco parecería estar más relacionada con un incremento microscópico del tamaño de los espacios aéreos que con el grado de destrucción pulmonar visible macroscópicamente. En esta misma línea, Gelb y cols. (Gelb y cols, 1993) no encontraron una relación entre el grado de enfisema pulmonar visible mediante

tomografía computadorizada y el grado de deterioro de la función pulmonar en los individuos con enfermedad pulmonar obstructiva crónica avanzada.

La positividad tenue de la inmunotinción con los anticuerpos antilisozima de las fibras elásticas de la dermis media y profunda que presentan la mayoría de los individuos concuerda con los resultados aportados por Albrecht y cols. (Albrecht y cols., 1991), quien halló una inmunotinción negativa en el grupo de adolescentes y jóvenes y positiva en el grupo de mayores de 56 años. Nuestros resultados adelantarían hasta los 40 años la edad a partir de la cual es posible hallar una positividad de las fibras elásticas de la piel con este anticuerpo. Por otro lado, dada la procedencia de todas nuestras muestras de piel de zonas no fotoexpuestas, la correlación que estos autores hallaron de esta inmunotinción con el grado de daño actínico no tiene traducción en nuestros resultados. Asimismo, no hemos hallado ninguna relación entre esta inmunotinción y el consumo de tabaco.

Respecto a la inmunotinción con los anticuerpos antifibronectina, la tinción difusa que obtuvimos de toda la dermis, adoptando un patrón reticular en la dermis papilar y un patrón fibrilar en la dermis reticular, sin relación aparente con las fibras elásticas, está en acorde con los resultados obtenidos por Fyrand (Fyrand, 1979) mediante técnicas de inmunofluorescencia indirecta. Estos patrones reticular y papilar podrían ser debidos a la relación de la fibronectina con las fibras colágenas. Al igual que Fyrand y que Frances y cols. (Fyrand, 1979; Frances y cols, 1991), en algunas preparaciones pudimos observar la presencia de una banda no compacta por debajo de la membrana basal, aunque no hallamos relación con el consumo de tabaco, a diferencia de los resultados obtenidos por estos últimos autores.

## 5.2 RELACIÓN ENTRE LAS FIBRAS ELÁSTICAS DE LA PIEL Y LA FUNCIÓN PULMONAR

Los resultados de este estudio demuestran que existe una correlación estadísticamente significativa entre las alteraciones de las fibras elásticas de la piel y las alteraciones de la función pulmonar.

Respecto a las fibras elásticas de la piel, de las variables morfométricas analizadas únicamente la densidad media de las fibras elásticas de la dermis media y profunda (EP%) mostró una correlación con los valores de la espirometría forzada (FEV1%) y con los volúmenes pulmonares (RV/TLC%). En relación con la capacidad de difusión pulmonar, ésta mostró una correlación estadísticamente significativa con el número de fibras elásticas de la dermis superficial (númES). Ni el número de fibras elásticas de la dermis media y profunda (númEP) ni la densidad media de las fibras elásticas de la dermis superficial (ES%) mostraron relación alguna con la función pulmonar. Dado que EP% también constituía la variable más significativa al analizar los efectos del consumo de tabaco sobre las fibras elásticas de la piel tanto en este estudio como en los llevados a cabo por Frances y cols, Lister y cols. y Boyd y cols. (Frances y cols., 1991; Lister y cols., 1999; Boyd y cols., 1999), podemos considerar a éste parámetro morfométrico como el más sensible y representativo de las alteraciones que pueden presentar las fibras elásticas de la dermis.

La variable EP% resultó ser un valor predictivo significativo de las alteraciones de la función pulmonar analizadas tanto mediante espirometría forzada (FEV1%) como mediante espirometría estática (RV/TLC%). Al ajustar por el consumo de tabaco, EP% mantuvo su independencia tanto para FEV1% como para RV/TLC%, y mostró en ambos casos un valor predictivo superior ( $R^2=0,15$  y  $R^2=0,20$ , respectivamente) al del

consumo de tabaco ( $R^2=0,11$  y  $R^2=0,18$ , respectivamente). En este mismo sentido, al eliminar del modelo a los individuos fumadores, el valor predictivo de EP% fue prácticamente significativo para FEV1% ( $p=0,05$ , siendo  $n=18$ ) y mostró una tendencia en el caso de RV/TLC% ( $p=0,086$ , siendo  $n=10$ ). Asimismo, el efecto predictivo de EP% sobre FEV1% se mantuvo prácticamente significativo y superior al del consumo de tabaco cuando se excluyó del análisis a los individuos consumidores de corticoides sistémicos y de corticoides inhalados a dosis que podrían ejercer algún grado de actividad sistémica sobre la piel. Respecto a RV/TLC%, EP% perdió el efecto predictivo significativo al excluir del análisis a los individuos consumidores de corticoides. Sin embargo, esta pérdida de significación podría ser debida más a la disminución importante del tamaño de la muestra que a la falta de una asociación entre RV/TLC% y EP%. La falta de una correlación entre EP% y KCO podría ser debida, por una parte, a la menor  $n$  de la muestra analizada y, por otra parte, a la mayor variabilidad de esta prueba para valorar la función respiratoria debido a la gran cantidad de factores que la alteran, como el volumen de sangre que pasa por el parénquima pulmonar, la concentración y afinidad de la hemoglobina circulante, la fracción inspirada de oxígeno, el grosor del espacio intersticial y el estado de la vía aérea.

Respecto a la correlación significativa hallada entre númES y KCO, la pérdida de significación al excluir a los fumadores, junto con la falta de correlación de esta variable morfométrica con el consumo de tabaco y con FEV1% y RV/TLC%, ambos parámetros de función pulmonar más específicos, nos llevó a considerar sin trascendencia a esta relación en el análisis de resultados.

En el estudio llevado a cabo por Lange y Schnohr (Lange y Schnohr, 1994), estos autores ya describieron la existencia de una relación estadísticamente significativa,

aunque débil, entre el desarrollo de arrugas faciales y el deterioro de la función pulmonar en fumadores, pero no en no fumadores. Las diferencias, cuantitativas más que cualitativas, de estos resultados en comparación a los obtenidos en nuestro estudio, podrían ser explicadas por la mayor precisión y objetividad que presenta la variable EP% de una zona no fotoexpuesta respecto a la variable arrugas faciales (número y intensidad) como parámetro para cuantificar las alteraciones de las fibras elásticas de la piel.

El hallazgo de una correlación entre las alteraciones de las fibras elásticas de la dermis y las alteraciones de la función pulmonar, junto con el hecho de que la función respiratoria están en estrecha relación con el estado de las fibras elásticas del pulmón, nos permite sugerir la existencia de un paralelismo o de un mecanismo común en las variaciones de las fibras elásticas de ambos órganos. Como consecuencia de todo ello, podríamos presumir el estado de las fibras elásticas del pulmón a través de los resultados del análisis de las fibras elásticas de la piel.

La relación entre el consumo de tabaco y el deterioro de la función pulmonar está bien establecida. Sin embargo, únicamente un 20-50% de los fumadores desarrollarán EPOC (Hogg y cols, 1994; Fletcher y Peto, 1977). Este hecho sugiere la existencia de otros factores propios del individuo que modularían la respuesta al humo del tabaco, como el déficit de alfa1-antitripsina y posiblemente también la existencia de una hiperreactividad de las vías aéreas (O'Connor y cols., 1995).

El presente estudio ha mostrado que las alteraciones de las fibras elásticas de la piel constituyen, probablemente como reflejo del estado de las fibras elásticas del pulmón,

un factor predictivo positivo e independiente para el desarrollo de alteraciones de la función pulmonar. En este sentido, los individuos no fumadores con una densidad alta de fibras elásticas de la dermis presentaron unos valores de función pulmonar más próximos al límite de la normalidad (FEV1% disminuido y RV/TLC% aumentado) que los no fumadores con una densidad baja. Por su parte, el consumo de tabaco mostró un efecto adicional a estas alteraciones de las fibras elásticas sobre la función pulmonar, de tal forma que los individuos fumadores con una densidad de fibras elásticas elevada mostraron unos valores de función pulmonar más alterados (FEV1% disminuido y RV/TLC% aumentado) que los fumadores con una densidad baja. En ambos casos, estos valores fueron peores a los hallados en los no fumadores, independientemente de la densidad de las fibras elásticas.

De todo ello podemos concluir que el estado basal de las fibras elásticas de la dermis, al igual que ocurre con la existencia de un déficit de alfa-1-antitripsina y parece que podría ocurrir con la existencia de una hiperreactividad bronquial, constituye un factor de riesgo más o un indicador del riesgo para el desarrollo de EPOC tanto en los individuos fumadores como en los no fumadores. Sin embargo, y centrándonos en el grupo de fumadores, probablemente existan otros muchos factores de riesgo aun no definidos, y sea el conjunto de todos ellos lo que determine el grado de susceptibilidad de un individuo a los efectos tóxicos de los distintos componentes del humo del tabaco.

### 5.3 LIMITACIONES DEL ESTUDIO

- Al tratarse de un estudio transversal, no podemos descartar completamente que sea el deterioro de la función pulmonar el responsable de las alteraciones en EP%, por ejemplo, a través de la disminución de la oxigenación tisular, y no al revés. Para corroborarlo, sería necesario un estudio prospectivo.

- Respecto al consumo de corticoides, y también por tratarse de un estudio transversal, la dosis de corticoides recibida por los pacientes se basa sólo en criterios clínicos, por lo que resulta difícil obtener una correcta historia sobre el consumo previo, principalmente en lo que se refiere a cursos de tratamientos sistémicos durante las reagudizaciones. Además, y en relación con los corticoides inhalados, presenta una gran dificultad el cálculo de la dosis recibida, dadas las variaciones en el tiempo tanto de la dosis prescrita como de su cumplimiento, así como la utilización de forma más o menos correcta de la técnica de inhalación.

- También por tratarse de un estudio transversal, no podemos descartar con toda certeza que sea el consumo de corticoides secundario a la disminución del FEV1% el responsable de las alteraciones de EP%. La falta de un efecto dependiente de la dosis entre toma de corticoides y EP%, la falta de referencias bibliográficas sobre este posible efecto, junto con la persistencia de la relación entre EP% y FEV1% después de excluir aquellos pacientes consumidores de corticoides sistémicos y de corticoides inhalados a dosis superiores a 800 µg/día, sugieren la hipótesis planteada en el presente estudio.

- Al estar toda la muestra constituida por hombres, no podemos saber si los resultados obtenidos son extrapolables a mujeres.

- Además de los factores controlados en este estudio, podrían existir otros muchos que influyeran sobre las fibras elásticas de la piel y que no hubiesen sido considerados, como el tipo de dieta, la contaminación ambiental, entre otros. La homogeneidad demográfica de la población analizada nos permite considerar que, de existir una influencia de estos factores, ésta sería uniforme para toda la muestra y, por tanto, no tendría porqué influir en los resultados obtenidos.



## **6 CONCLUSIONES.**

## 6. CONCLUSIONES

1.- El hábito de fumar constituye un factor de riesgo independiente para el desarrollo de alteraciones de las fibras elásticas de la dermis media y profunda.

2.- En este estudio no hemos podido establecer que el efecto que el consumo de tabaco tiene sobre las fibras elásticas de la piel sea dependiente de la dosis.

3.- El hábito de fumar comporta una alteración de los dos componentes principales de las fibras elásticas de la dermis, la matriz amorfa y el componente microfibrilar, siendo las de este último de mayor intensidad.

4.- Los hallazgos inmunohistoquímicos sugieren que en los individuos fumadores tanto el aumento de la densidad como del número de las fibras elásticas de la dermis son secundarios más a un proceso degenerativo que a un proceso de síntesis.

5.- El abandono del hábito de fumar no parece conllevar una reversibilidad del proceso de degeneración de las fibras elásticas de la piel.

6.- Las alteraciones de las fibras elásticas de la dermis media y profunda constituyen un factor predictivo significativo e independiente de las alteraciones de la función pulmonar, observable ya en los no fumadores.

7.- El consumo de tabaco ejerce un efecto nocivo adicional al de las alteraciones de las fibras elásticas sobre la función pulmonar.

## **7 BIBLIOGRAFÍA.**

## 7. BIBLIOGRAFIA

Ackerman NR, Beebe JR. Release of lysosomal enzymes by alveolar mononuclear cells. *Nature* 1974;247:475-477

Aizen E, Gilhar A. Smoking effects on skin wrinkling in the aged population. *Int J Dermatol* 2001;40:431-433

Albert EN. Developing elastic tissue. An electron microscopic study. *Am J Pathol* 1972;69:89-94

Albrecht S, From L, Kahn HJ. Lysozyme in abnormal dermal elastic fibers of cutaneous aging, solar elastosis and pseudoxanthoma elasticum. *J Cutan Pathol* 1991;18:75-80

Allen HB, Johnson BL, Diamond SM. Smoker's wrinkles?. *JAMA* 1973;225:1067-1069

American Thoracic Society. Standardization of spirometry: 1987 Update. *Am Rev Respir Dis* 1987;136:1285-1298

Auerbach O, Hammond EC, Garfinkel L, Benante C. Relation of smoking and age to emphysema. Whole-lung section study. *N Engl J Med* 1972;286:853-857

Autio P, Karjalainen J, Risteli L, Risteli J, Kiistala U, Oikarinen A. Effects of an inhaled steroid (budesonide) on skin collagen synthesis of asthma patients *in vivo*. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1172-1175

Baló J, Banga I. The elastolytic activity of pancreatic extracts. *Biochem J* 1950;46:384-387

Belch JJ, McArdle BM, Burns P, Lowe GD, Forbes CD. The effects of acute smoking on platelet behavior, fibrinolysis and haemorheology in habitual smokers. *Thromb Haemost* 1984;51:6-8

Bieth JG. Natural and synthetic inhibitors of pancreatic and leucocyte elastase. *Frontiers Matrix Biol* 1980;8:216-222

Brincat M, Moniz CJ, Studd JW, Darby A, Magos A, Emburey G, et al. Long-term effects of the menopause and sex hormones on skin thickness. *Br J Obstet Gynaecol* 1985;92:256-259

Blue ML, Janoff A. Possible mechanisms of emphysema in cigarette smokers. Release of elastase from human polymorphonuclear leucocytes by cigarette smoke condensate in vitro. *Am Rev Respir Dis* 1978;117:317-325

Bologna JL, Braverman IM, Rousseau ME, Sarrel PM. Skin changes in menopause. *Maturitas* 1989;11:295-304

Boyd AS, Stasko T, King LE, Cameron GS, Pearse AD, Gaskell SA. Cigarette smoking-associated elastotic changes in the skin. *J Am Acad Dermatol* 1999;41:23-26

Branchet MC, Boisnic S, Frances C, Robert AM. Skin thickness changes in normal aging skin. *Gerontology* 1990;36:28-35

Braverman IM, Fonferko E. Studies in cutaneous aging: I. The elastic fiber network. *J Invest Dermatol* 1982;78:434-443

Braverman IM. Elastic fiber and microvascular abnormalities in aging skin. *Dermatol Clin* 1986;4:391-405

Breathnach SM, Melrose SM, Bhogal B, de Beer FC, Dyck RF, Tennent G, et al. Amyloid P component is located on elastic fibre microfibrils in normal human tissue. *Nature* 1981;293:652-654

Breathnach SM, Melrose SM, Bhogal B, de Beer FC, Black MM, Pepys MB, et al. Immunohistochemical studies of amyloid P component distribution in normal human skin. *J Invest Dermatol* 1983;80:86-90

Breathnach SM, Pepys MB, Hintner H. Tissue amyloid P component in normal human dermis is non-covalently associated with elastic fiber microfibrils. *J Invest Dermatol* 1989;92:53-58

Burton JL. Disorders of connective tissue. En: Rook A, Wilkinson DS, Ebling FJG, directores. *Textbook of Dermatology*. 5<sup>a</sup> ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1993. p. 1763-1825

Capewell S, Reynolds S, Shuttleworth D, Edwards C, Finlay AY. Purpura and dermal thinning associated with high dose inhaled corticosteroids. *BMJ* 1990;300:1548-1551

Cotta-Pereira G, Guerra-Rodrigo F, Bittencourt-Sampaio S. Oxytalan, elaunin, and elastic fibers in the human skin. *J Invest Dermatol* 1976;66:143-148

Cottone M, Rosselli M, Orlando A, Oliva L, Puleo A, Cappello M, et al. Smoking habits and recurrence in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1994;106:643-648

Cryer PE, Haymond MW, Santiago JV, Shah SD. Norepinephrine and epinephrine release and adrenergic mediation of smoking-associated hemodynamic and metabolic events. *N Eng J Med* 1976;295:573-577

Dahlbäck K, Löfberg H, Dahlbäck B. Localization of vitronectin (S-protein of complement) in normal human skin. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1986;66:461-467

Dahlbäck K, Löfberg H, Alumets J, Dahlbäck B. Immunohistochemical demonstration of age-related deposition of vitronectin (S-protein of complement) and terminal complement complex on dermal elastic fibers. *J Invest Dermatol* 1989;93:727-733

Dahlbäck K, Ljungquist A, Löfberg H, Dahlbäck B, Engvall E, Sakai LY. Fibrillin immunoreactive fibers constitute a unique network in the human dermis: immunohistochemical comparison of the distributions of fibrillin, vitronectin, amyloid P component, and orcein stainable structures in normal skin and elastosis. *J Invest Dermatol* 1990;94:284-291

Daniell HW. Smoker's wrinkles: a study in the epidemiology of "crow's feet". *Ann Int Med* 1971;75:873-880

Davies JD, Barnard K, Young EW. Immunoreactive elastin in benign breast tissues. An immunoperoxidase study. *Virchows Arch Path Anat Physiol* 1982;398:109-117

Davies JD, Young EW. Congo blue: a rapid stain for elastic fibres. *J Clin Pathol* 1982;35:789-791

Davies JD, Mera SL. Elastosis in breast carcinoma: II. Association of protease inhibitors with immature elastic fibres. *J Pathol* 1987;153:317-324

Davis BE, Koh HK. Faces Going Up in Smoke. A Dermatologic Opportunity for Cancer Prevention. *Arch Dermatol* 1992;128:1106-1107

Dawson JF, Brochier J, Schmitt D, Saeland S, Thivolet J. Elastic fibres: histological correlation with orcein and a new monoclonal antibody, HB8. *Br J Dermatol* 1984; 110:539-546

Deutsch TA, Esterly NB. Elastic fibers in fetal dermis. *J Invest Dermatol* 1975; 65:320-323

Dintenfass L. Elevation of blood viscosity, aggregation of red cells, hematocrit values and fibrinogen levels in cigarette smokers. *Med J Aust* 1975;20:617-620

Ebling FJG, Eady RAJ, Leigh IM. Anatomy and organization of human skin. En: Rook A, Wilkinson DS, Ebling FJG, eds. *Textbook of Dermatology*. 5th ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1993. p. 49-123

Eriksson MO, Hagforsen E, Lunding IP, Michaelsson G. Palmoplantar pustulosis: a clinical and immunohistological study. *Br J Dermatol* 1998;138:390-398

Ernster VL, Grady D, Miike R, Black D, Selby J, Kerlikowke K. Facial wrinkling in men and women, by smoking status. *Am J Public Health* 1995;85:78-82

Fanning J, Cleary EG. Identification of Glycoproteins associated with elastin-associated microfibrils. *J Histochem Cytochem* 1985;33:287-294

Fleischmajer R, Timpl R. Ultrastructural localization of fibronectin to different anatomic structures of human skin. *J Histochem Cytochem* 1984;32:315-321

Fletcher C, Peto R. The natural history of chronic airflow obstruction. *BMJ* 1977;1:1645-1648

Fräki JE, Schechter NM, Lazarus GS. Human skin proteinases as inflammatory mediators. *Br J Dermatol* 1983;109 (suppl 25):72-76

Frances C, Robert L. Elastin and elastic fibers in normal and pathologic skin. *Int J Dermatol* 1984;23:166-179

Frances C, Branchet MC, Boisnic S, Lesty CL, Robert, L. Elastic fibers in normal human skin. Variations with age: a morphometric analysis. *Arch Gerontol Geriatr* 1990;10:57-67

Frances C, Boisnic S, Hartmann DJ, Dautzenberg B, Branchet MC, Le Charpentier Y, et al. Changes in the elastic tissue of the non-sun-exposed skin of cigarette smokers. *Br J Dermatol* 1991;125:43-47

Frances C. Smoking and the skin. *Int J Dermatol* 1992;31:779-780

Frances C. Tobacco and skin. *Nouv Dermatol* 1993;12:237-239

Frances C. Smoker's wrinkles: epidemiological and pathogenic considerations. *Clin Dermatol* 1998;16:565-570

Fullmer H, Lillie R. Some aspects of the mechanisms on orcein staining. *J Histochem Cytochem* 1958;4:64-68

Fyrand O. Studies on fibronectin in the skin. I. Indirect immunofluorescence studies in normal human skin. *Br J Dermatol* 1979;101:263-270

Gawlik Z. Morphological and morphochemical properties of the elastic system in the motor organ of man. *Folia Histochem Cytochem* 1965;3:233-251

Gelb AF, Schein M, Kuei J, Tashkin DP, Muller NL, Hogg JC, Epstein JD, Zamel N. Limited contribution of emphysema in advanced chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:1157-1161

Ghomrasseni S, Dridi M, Bonnefoix M, Septier D, Gogly G, Pellat B, et al. Morphometric analysis of elastic skin fibres from patients with: cutis laxa, anetoderma, pseudoxanthoma elasticum, and Buschke-Ollendorf and Williams-Beuren syndromes. *JEADV* 2001;15:305-311

Gibson MA, Hatzinikolas G, Davis EC, Baker E, Sutherland GR, Mecham RP. Bovine latent transforming growth factor beta 1-binding protein 2: molecular cloning, identification of tissue isoforms, and immunolocalization to elastin-associated microfibrils. *Mol Cell Biol* 1995;15:6932-6942

Gilchrist BA. Skin aging and photoaging: an overview. *J Am Acad Dermatol* 1989;21:610-613

Godfrey RWA, Lorimer S, Majumdar S, Adelroth E, Johnston PW, Rogers AV, et al. Airway and lung elastic fibre is not reduced in asthma nor in asthmatics following corticosteroid treatment. *Eur Respir J* 1995;8:922-927



Goldfischer S, Coltoff-Schiller B, Schwartz E, Blumenfeld OO. Ultrastructure and staining properties of aortic microfibrils (oxytalan). *J Histochem Cytochem* 1983;31:382-390

Gomori G. Aldehyde-fuchsin: a new stain for elastic tissue. *Am J Clin Pathol* 1950;20:665-666

Goud SN, Kaplan AM. Inhibition of natural killer-cell activity in mice treated with tobacco specific carcinogen NNK. *J Toxicol Environ Health* 1999;56:131-144

Grady D, Ernster V. Does Cigarette Smoking Make You Ugly and Old?. *Am J Epidemiol* 1992;135:839-842

Haapasaari K, Rossi O, Risteli J, Oikarinen A. Effects of long-term inhaled corticosteroids on skin collagen synthesis and thickness in asthmatic patients. *Eur Respir J* 1998;11:139-143

Hamon MD, Walker F. The distribution of amyloid P component in normal human skin. *Whirchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1982;40:411-415

Hanania NA, Chapman KR, Kesten S. Adverse effects of inhaled corticosteroids. *Am J Med* 1995;98:196-207

Hautamaki RD, Kobayashi DK, Senior RM, Shapiro SD. Requirement for macrophage elastase for cigarette smoke-induced emphysema in mice. *Science* 1997;277:2002-2004

Highman B. Improved methods for demonstrating amyloid in paraffin sections. *Arch Pathol* 1946;41:559-562

Hind CR, Joyce H, Tennent GA, Pepys MB, Pride NB. Plasma leucocyte elastase concentrations in smokers. *J Clin Pathol* 1991;44:232-235

Hintner H, Dahlbäck K, Dahlbäck B, Pepys MB, Breathnach SM. Tissue vitronectin in normal adult human dermis is non-covalently bound to elastic tissue. *J Invest Dermatol* 1991;96:747-753

Hogg JC, Wright JL, Wiggs BR, Coxson HO, Opazo A, Pare PD. Lung structure and function in cigarette smokers. *Thorax* 1994;49:473-478

Hornebeck W, Robert L. Elastase-like enzymes in aorta and human breast carcinomas: quantitative variations with age and pathology. *Adv Exp Med Biol* 1979;79:145-164

Ippen M, Ippen H. Approaches to a prophylaxis of skin aging. *J Soc Cosmetic Chemists* 1965;16:305-308

Janoff A. Purification of human granulocyte elastase by affinity chromatography. *Lab Invest* 1973;29:458-464

Joffe I. Cigarette Smoking and Facial Wrinkling. *Ann Int Med* 1991;115:659

Jordan R, Hewitt N, Lewis W, Kagan H, Franzblau C. Regulation of elastase-catalyzed hydrolysis of insoluble elastin by sythetic and naturally occurring hydrofobic ligands. *Biochemistry* 1974;13:3497-3503

Jorgensen LN, Kallehave F, Christensen E, Siana JE, Gottrup F. Less collagen production in smokers. *Surgery* 1998;123:450-455

Kadunce DP, Burr R, Gress R, Kanner R, Lyon JL, Zone JJ. Cigarette smoking: risk factor for premature facial wrinkling. *Ann Int Med* 1991;114:840-844

Keski-Oja J, Vaheri A, Ruoslahti E. Fibroblast surface antigen (SF): the external glycoprotein lost in proteolytic stimulation and malignant transformation. *Int J Cancer* 1976;17:261-264

Khan AM, Walker F. Age related detection of tissue amyloid P in the skin. *J Pathol* 1984;143:183-186

Kligman LH. Intensification of ultraviolet induced dermal damage by infrared radiation. *Arch Dermatol Res* 1982;272:229-238

Kligman LH, Kligman AM. Reflections on heat. *Br J Dermatol* 1984;110:369-375

Lange P, Groth S, Nyboe J, Mortensen J, Appleyard M, Jensen G, Schnohr P. Decline of the lung function related to the type of tobacco smoked and inhalation. *Thorax* 1990;45:22-26

Lange P, schnohr P. The relationship between facial wrinkling and airflow obstruction. *Int J Dermatol* 1994;33:123-126

- Lapierre CM, Pierard GE. The mechanical forces, a neglected factor in the age-related changes in the skin. *G Ital Chir Dermatol Oncol* 1987;2:201-210
- Laurent P, Janoff A, Kagan HM. Cigarette smoke blocks cross-linking of elastin *in vitro*. *Am Rev Respir Dis* 1983;127:189-192
- Lavker RM. Structural alterations in exposed and unexposed aged skin. *J Invest Dermatol* 1979;73:59-66
- Lavker RM, Zheng P, Dong G. Morphology of aged skin. *Dermatol Clin* 1986;4:379-389
- Lawson WH. Elastic fibre staining: a modification of the Weigert Sheridan method. *J Tech Meth* 1936;16:42-44
- Legrand Y, Caen J, Booyse FM, Rafelson ME, Robert B, Robert L. Studies on a human blood platelet protease with elastolytic activity. *Biochim Biophys Acta* 1973;309:406-413
- Lipworth BJ. Systemic adverse effects of inhaled corticosteroid therapy. A systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med* 1999;159:941-955
- Lister RK, Barnes R, Khorshid M, Cerio R, Tidman N, Bataille V. Structural changes in non-sun-exposed skin of smokers: histological assessment of dermal thickness and elastin. *Br J Dermatol* 1999;141 (suppl. 55):24
- McCusker K. Mechanisms of respiratory tissue injury from cigarette smoking. *Am J Med* 1992;93 (suppl 1A):18S-21S
- Mera SL, Lovett F, Davies JD. The effects of preliminary proteolysis on the immunohistochemical and dye staining properties of elastic fibres. *Histochem J* 1985;17:243-257
- Mera SL, Davies JD. Staining of normal and pathological elastic fibres. *Broadsheet* 1986;115:1-12
- Mera SL, Davies JD. Elastosis in breast carcinoma: immunohistochemical characterization of elastic fibres. *J Pathol* 1987;151:103-110
- Mera SL, Lovell CR, Russel R, Davies JD. Elastic fibres in normal and sun-damaged skin: an immunohistochemical study. *Br J Dermatol* 1987;117:21-27

Merimsky O, Inbar M. Cigarette smoking and skin cancer. *Clin Dermatol* 1998;16:585-588

Mills CM, Srivastava ED, Harvey IM, Swift GL, Newcombe RG, Holt PJA, et al. Smoking habits in psoriasis: a case control study. *Br J Dermatol* 1992;127:18-21

Mills CM, Hill SA, Marks A. Altered inflammatory responses in smokers. *BMJ* 1993a;307:911

Mills CM, Peters TJ, Finlay AY. Does smoking influence acne?. *Clin Exp Dermatol* 1993b;18:100-101

Mills CM, Marks R. Environmental factors influencing rosacea. *Clin Exp Dermatol* 1996;21:172-173

Mills CM, Hill SA, Marks R. Transdermal nicotine suppresses cutaneous inflammation. *Arch Dermatol* 1997;133:823-825

Mills CM. Cigarette smoking, cutaneous immunity, and inflammatory response. *Clinics in Dermatology* 1998;16:589-594

Model D. Smoker's face: an underrated clinical sign? *BMJ* 1985;291:1760-1762

Morrison D, Strieter RM, Donnelly SC, Burdick MD, Kunkel SL, MacNee W. Neutrophil chemokines in bronchoalveolar lavage fluid and leukocyte-conditioned medium from nonsmokers and smokers. *Eur Respir J* 1998;12:1067-1072

Mosely LH, Finseth F, Goody M. Nicotine and its effects on wound healing. *Plast Reconstr Surg* 1978;61:570-575

Mosher DF, Furcht LT. Fibronectin: review of its structure and possible functions. *J Invest Dermatol* 1981;77:175-180

Muley T, Wiebel M, Schulz V, Ebert W. Elastolytic activity of alveolar macrophages in smoking-associated pulmonary emphysema. *Clin Invest* 1994;72:269-276

Nadler JL, Velasco JS, Horton R. Cigarette smoking inhibits prostacyclin formation. *Lancet* 1983;336:1248-1250

O'Connor GT, Sparrow D, Weiss ST. A prospective longitudinal study of methacholine airway responsiveness as a predictor of pulmonary-function decline: the Normative Aging Study. *Am J Respir Crit Car Med* 1995;152:87-92

O'Doherty CJ, Macintyre C. Palmoplantar pustulosis and smoking. *BMJ* 1985;291:861-864

O'Hare PM, Fleischer AB, D'Agostino RB, Feldman SR, Hinds MA, Rasette SA, et al. Tobacco smoking contributes little to facial wrinkling. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 1999;12:133-139

Ogushi F, Hubbard RC, Vogelmeier C, Fells GA, Crystal RG. Risk factors for emphysema. Cigarette smoking is associated with reduction in the association rate constant of lung alpha 1-antitrypsin for neutrophil elastase. *J Clin Invest* 1991;87:1060-1065

Osman M, Kaldany RRJ, Cantor JO, Turino GM, Mandl I. Stimulation of lung lysyl oxidase activity in hamsters with elastase-induced emphysema. *Am Rev Respir Dis* 1985;131:169-170

Ramírez A, Moragon M, Valcuende F, Castells A. Estudio de las alteraciones de los oligosacáridos de superficie en las lesiones precancerosas. *Med Cut ILA* 1987;15:489-492

Ranvier L. *Precis technique d'histologie*. Paris, Librairie F. Savy, 1868;1875-1882

Reus WF, Robson MC, Zachary L, Hegggers JP. Acute effects of tobacco smoking on blood flow in the cutaneous micro-circulation. *Br J Plast Surg* 1984;37:213-215

Ribera M, Ferrándiz C. Las arrugas del fumador. *Med Clin (Barc)* 1994;102:333-334

Roark EF, Keene DR, Haudenschild CC, Godyna S, Little CD, Argraves WS. The association of human fibulin-1 with elastic fibers: an immunohistological, ultrastructural, and RNA study. *J Histochem Cytochem* 1995;43:401-411

Robert C, Lesty C, Robert AM. Ageing of the skin: study of elastic fiber network modifications by computerized image analysis. *Gerontology* 1988;34:291-296

Roca J, Segarra L, Rodríguez R. Static lung volumes and single breath diffusing capacity reference values for a Latin population. *Am Rev Respir Dis* 1985;131:A352

Roca J, Sanchís J, Agustí-Vidal A, Segarra F, Navajas D, Rodríguez-Roisin R, et al. Spirometric reference values from a Mediterranean population. *Bull Eur Physiopathol Respir* 1986;22:217-224

Ross R, Bornstein P. The elastic fiber. I. The separation and partial characterization of its macromolecular components. *J Cell Biol* 1969;40:366-381

Sakai LY, Keene DR, Engvall D. Fibrillin a new 350-kD glycoprotein, is a component of extracellular microfibrils. *J Cell Biol* 1986;103:2499-2509

Samet J, Lange P. Longitudinal studies of active and passive smoking. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:5257-5265

Sandberg LB, Soskel NT, Leslie JG. Elastin structure, biosynthesis and relation to disease states. *N Engl J Med* 1981;304:566-579

Schamburg-Lever G, Alroy J, Ucci A, Lever WF. Cell surface carbohydrates in proliferative epidermal lesions. *J Cutan Pathol* 1986;13:163-171

Schaumburg-Lever G. Ultrastructural localization of lectin-binding sites in the normal skin. *J Invest Dermatol* 1990;94:465-470

Schmitt D, Chignol MC, Brochier J, Thivolet J. HB8: a monoclonal antibody recognizing elastic fibre microfibrils. *Br J Dermatol* 1986;114:661-665

Schnohr P, Lange P, Nyboe J, Appleyard M, Jensen G. Does smoking increase the degree of wrinkles on the face? The Copenhagen City Heart Study. *Ugeskr Laeger* 1991;153:660-662

Schwartz E, Goldfischer S, Coltoff-Schiller B, Blumenfeld OO. Extracellular matrix microfibrils are composed of core proteins coated with fibronectin. *J Histochem Cytochem* 1985;33:268-274

Senior RM, Bielefeld DR, Starcher BC. Comparison of the elastolytic effects of human leucocyte elastase and porcine pancreatic elastase. *Adv Exp Med Biol* 1977;79:249-261

Sherwin MA, Gastwirth CM. Detrimental effects of cigarette smoking on lower extremity wound healing. *J Foot Surg* 1990;29:84-87

Shine B, Fells P, Edwards OM, Weetman AP. Association between Graves' ophthalmopathy and smoking. *Lancet* 1990;335:1261-1263

Silverstein MD, Lashner BA, Hanauer SB. Cigarette smoking and ulcerative colitis: a case-control study. *Mayo Clin Proc* 1994;69:425-429

Silverstein P. Smoking and wound healing. *Am J Med* 1992;93 (suppl 1A):22S-24S

Skurnik Y, Shoenfeld Y. Health effects of cigarette smoking. *Clin Dermatol* 1998;16:545-556

Smith JB. Cigarette smoking and inflammatory skin disease. *Arch Dermatol* 1997;133:901-902

Solly S. Clinical lectures on paralysis. *Lancet* 1856;ii:641-643

Starcher BC. Determination of the elastin content of tissues by measuring desmosine and isodesmosine. *Anal Biochem* 1977;79:11-15

Taipale J, Miyazono K, Heldin CH, Keski-Oja J. Latent transforming growth factor-beta 1 associates to fibroblast extracellular matrix via latent TGF-beta binding protein. *J Cell Biol* 1994;124(1-2):171-181

Takema Y, Yorimoto Y, Kawai M, Imokawa G. Age related changes in the elastic properties and thickness of the human facial skin. *Br J Dermatol* 1994;131:641-648

Torres V, Alonso A. Fibras elásticas. *Piel* 1990;5:36-45

Travis J, Bowen J, Bough R. Human alpha-1-antichymotrypsin: interaction with chymotrypsin-like proteinases. *Biochemistry* 1978;17:5651-5656

Tsuji T, Hamada T. Age-related changes in human dermal elastic fibres. *Br J Dermatol* 1981;105:57-63

Uitto J. Biochemistry of the elastic fibers in normal connective tissues and its alterations in diseases. *J Invest Dermatol* 1979;72:1-10

Uitto J, Paul JL, Brockley K, Pearce RH, Clark JG. Methods in Laboratory Investigation. Elastic fibers in human skin: quantitation of elastic fibers by

computerized digital image analyses and determination of elastin by radioimmunoassay of desmosine. *Lab Invest* 1983;49:499-505

Uitto J, Rosenbloom J. Fibras elásticas. En: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolf K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB, directores. *Dermatología en Medicina General*, 5ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2001. p. 271-282

Unna PG. Über die Taenzer'sche Färbung des elastischen Gewebes. *Monatshefte prakt Dermatol* 1890;11:366-367

Van Adrichem LN, Hovius SE, van Strik R, van der Meulen JC. Accute effects of tobacco smoking on microcirculation of the thumb. *Br J Plast Surg* 1992;45:9-11

Van Noorden S, Polak JM. Immunocytochemistry today, technique and practice. En: Polak JM, Van Noorden S, directores. *Immunocytochemistry*. Bristol: John Wright; 1983. p. 11-42

Varadi D. Studies on the chemistry and fine structure of elastic fibers from normal adult skin. *J Invest Dermatol* 1972;59:238-246

Verhoeff FH. Some new staining methods of wide applicability, including a rapid differential stain for elastic tissue. *JAMA* 1908;50:876-877

Virtanen I, Kariniemi AL, Holthöfer H, Lehto VP. Fluorochrome-coupled lectins reveal distinct cellular domains in human epidermis. *J Histochem Cytochem* 1986;34:307-315

Waeber B, Schaller MD, Nussberger J, Bussein JP, Hofbauer KG, Brunner HR. Skin blood flow reduction induced by cigarette smoking: role of vasopresin. *Am J Physiol* 1984;247:H895-901

Weigert C. Über eine Methode Zur Färbung elastischer Fasern. *Zentralb allg Pathol* 1898;9:289-292

Weitz JI, Crowley KA, Landman SL, Lipman BI, Yu J. Increased neutrophil elastase activity in cigarette smokers. *Ann Intern med* 1987;107:680-682

Wolf R, Tur E, Wolf D. The effect of smoking on skin moisture and on surface lipids. *Int J Cosmet Sci* 1992;14:83-88



Wollina W, Schaarschmidt HH, Hipler C, Knopf B. Distribution of glycoconjugates in human skin appendages. *Acta Histochem* 1989;87:87-93

Zimmermann DR, Dours-Zimmermann MT, Schubert M, Bruckner-Tuderman L. Versican is expressed in the proliferating zone in the epidermis and in association with the elastic network of the dermis. *J Cell Biol* 1994;124:817-825

## **8 ABREVIATURAS.**

## 8. ABREVIATURAS

µg : microgramo

µm : micrómetro

Ac : anticuerpo

AcMo: anticuerpo monoclonal

ADN : ácido desoxiribonucleico

ARNm : ácido ribonucleico mensajero

CO : monóxido de carbono

Con A : concanavalina A (lectina)

CPA : componente P-amiloide

DE : desviación estándar

DLCO : capacidad de transferencia del monóxido de carbono (mL/min/mmHg)

EF : exfumador

EP% : área relativa ocupada por las fibras elásticas de la dermis profunda (%)

EPOC : enfermedad pulmonar obstructiva crónica

ES% : área relativa ocupada por las fibras elásticas de la dermis superficial (%)

F : fumador

FEV1: volumen espiratorio máximo en el primer segundo (L/seg)

FEV1% : volumen espiratorio máximo en el primer segundo (% del valor teórico)

FVC : capacidad vital forzada (L)

FVC% : capacidad vital forzada (% del valor teórico)

IC95% : intervalo de confianza del 95%

KCO : transferencia de monóxido de carbono corregida por el volumen alveolar

(mL/min/mmHg/L) ( $KCO=DLCO / VA$ )

kDa : kilodalton

L : litro

m : media

m (DE) : media (desviación estandar)

M : molar

ml : mililitro

mm : milímetro

mm<sup>2</sup>: milímetro cuadrado

NF : no fumador

nm : nanómetro

ns : no significativo

NúmEP : número de fibras elásticas de la dermis profunda por mm<sup>2</sup>

NúmES : número de fibras elásticas de la dermis superficial por mm<sup>2</sup>

OR : *odds ratio*

p: grado de significación estadística

Paq-añocat : consumo en paquetes-año categorizado (0, 1-40, >40)

PFR : pruebas funcionales respiratorias

PGI<sub>2</sub> : prostaciclina

RER : retículo endoplasmático rugoso

RV/TLC : volumen residual / capacidad pulmonar total

RV/TLC% : volumen residual / capacidad pulmonar total (% del valor teórico)

seg : segundo

SXE: seudoxantoma elástico

UV : ultravioleta

UVB : ultravioleta B

VA : volumen alveolar

VV%: volumen ocupado por las fibras elásticas de la dermis (%)

WGA : aglutinina del germen de trigo o *Triticum vulgare*