

L. Prieto

Sección de Alergología.  
Hospital Universitario  
Dr. Peset. Valencia.  
Proyecto NAOMI

## Revisión

# Determinación de las concentraciones de óxido nítrico exhalado en el asma. Aspectos técnicos y utilidad clínica

**E**n la actualidad se acepta que la inflamación bronquial es la alteración fundamental en el asma<sup>1</sup> y, por este motivo, durante los últimos años se han realizado importantes esfuerzos para identificar marcadores de inflamación bronquial mediante métodos no invasivos. En este sentido, la determinación de estos marcadores en aire exhalado o en el condensado del aire exhalado resulta extremadamente atractiva.

El aire exhalado contiene mediadores volátiles como el óxido nítrico (NO), monóxido de carbono (CO), etano y pentano<sup>2-6</sup> y sustancias no volátiles como el peróxido de hidrógeno<sup>7,8</sup>. Sin duda, la determinación de NO exhalado (ENO) ha recibido mayor atención que cualquiera de los otros mediadores enumerados, de manera que durante los últimos 7 años se han publicado cientos de investigaciones sobre este mediador en el asma. En esta revisión se exponen someramente los aspectos técnicos de la determinación de NO exhalado y se analizan las evidencias acerca de su utilidad en el asma.

## PRODUCCIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO EN LAS VÍAS AÉREAS

El NO endógeno se produce a partir de la L-arginina, mediante la enzima sintetasa del óxido nítrico (NOS) (fig. 1). Existen al menos tres isoformas de esta enzima, dos de las cuales se expresan constitutivamente e incluyen la NOS neuronal (NOS1 o nNOS), expresada predominantemente en las neuronas y la NOS endotelial (NOS3 o eNOS), que se expresa sobre todo en las células endoteliales. La tercera isoforma es la inducible (NOS2 o iNOS), que tiene una actividad mucho mayor que las anteriores y puede inducirse por citocinas inflamatorias, endotoxinas e infecciones víricas y cuya expresión se incrementa en las enfermedades inflamatorias<sup>9-15</sup>. No obstante, recientemente se ha demostrado que, en individuos con asma, tanto la inhalación de L-arginina como de D-arginina se asociaba con aumentos significativos de las concentraciones de NO exhalado. Puesto que la D-arginina no es un sustrato para la NOS, estos resultados sugieren que el incremento de las concentraciones de NO exhalado en determinadas enfermedades respiratorias pudiera deberse, al menos en parte, a su generación a través de una vía no enzimática<sup>16</sup>.

No se han identificado con precisión las células del aparato respiratorio que producen NO, aunque parece probable que, en gran medida, este mediador proceda de las células del epitelio bronquial. Existen evidencias de que los pacientes asmáticos muestran un incremento de la expresión de NOS2 en las células epiteliales bronquiales<sup>9,15</sup>. Además, las infecciones víricas se asocian con aumentos transitorios de las concentraciones de ENO y se ha demostrado que la infección por rinovirus o por virus respiratorio sincitial induce la expresión de

Correspondencia:  
Dr. L. Prieto  
Sección de Alergología  
Hospital Universitario Dr. Peset  
C/ Gaspar Aguilar 90  
46017 Valencia  
e-mail: prieto\_jes@gva.es

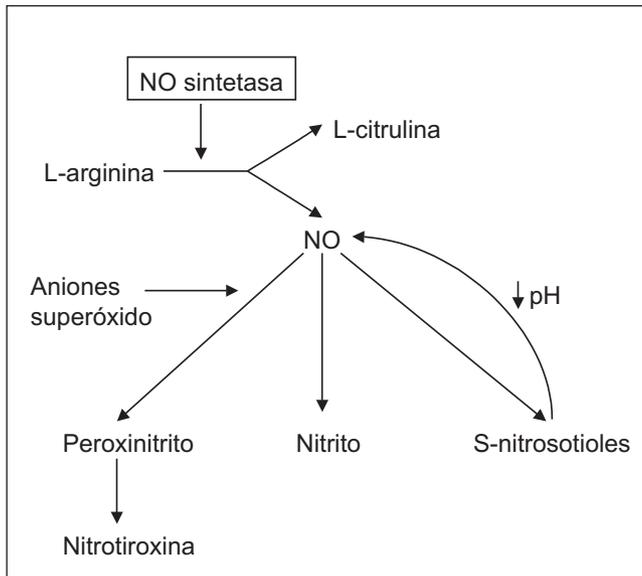


Fig. 1. Síntesis de óxido nítrico (NO) en las vías aéreas. Para explicación, ver texto.

NOS2 por las células epiteliales de los pacientes con asma, probablemente como consecuencia de un aumento de la transcripción a través de determinados factores de transcripción como el STAT-1 y el factor nuclear  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ )<sup>17,18</sup>. La NOS2 puede expresarse también en otros tipos de células como los macrófagos alveolares, eosinófilos y otras células inflamatorias<sup>19</sup>, pero la contribución de cada célula a las concentraciones de ENO es desconocida.

El NO puede generarse también a través de mecanismos independientes de la NOS. En una importante proporción, el NO se libera a partir de los s-nitrosotioles (fig. 1) y también a partir de la protonación del nitrito para formar nitroso, que libera NO a pH ácido. Se ha demostrado que esta vía de generación de NO pH-dependiente es importante durante los episodios agudos de asma, en los que ocurre un descenso del pH en las vías aéreas<sup>20</sup>.

La producción de NO en las vías aéreas y los efectos de los diferentes factores que pueden influir sobre su determinación en el aire exhalado puede explicarse utilizando un modelo bicompartimental<sup>21</sup>. El primer compartimento es el alveolar y el segundo el bronquial (fig. 2). Durante la espiración, el aire del alveolo es transportado a través de las vías aéreas y enriquecido por el NO que difunde desde la pared de las mismas. De acuerdo con la ley de Fick, la liberación de NO hacia la luz bronquial es proporcional a la diferencia de concentraciones entre la pared bronquial y la luz. Por tanto, en cada punto de la luz bronquial existen dos factores que determinan la concentración de NO en el aire en tránsito. El primero es el flujo de aire

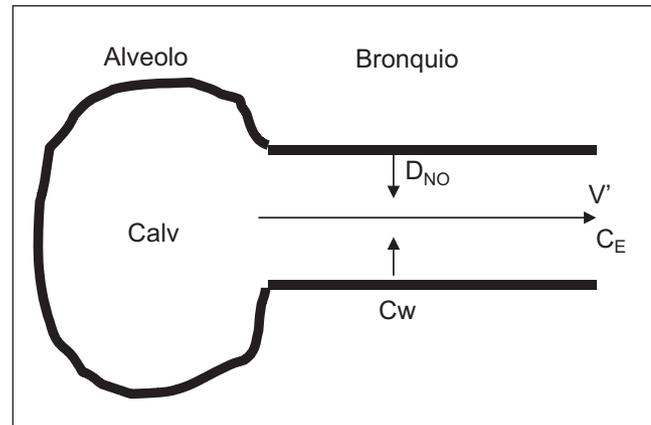
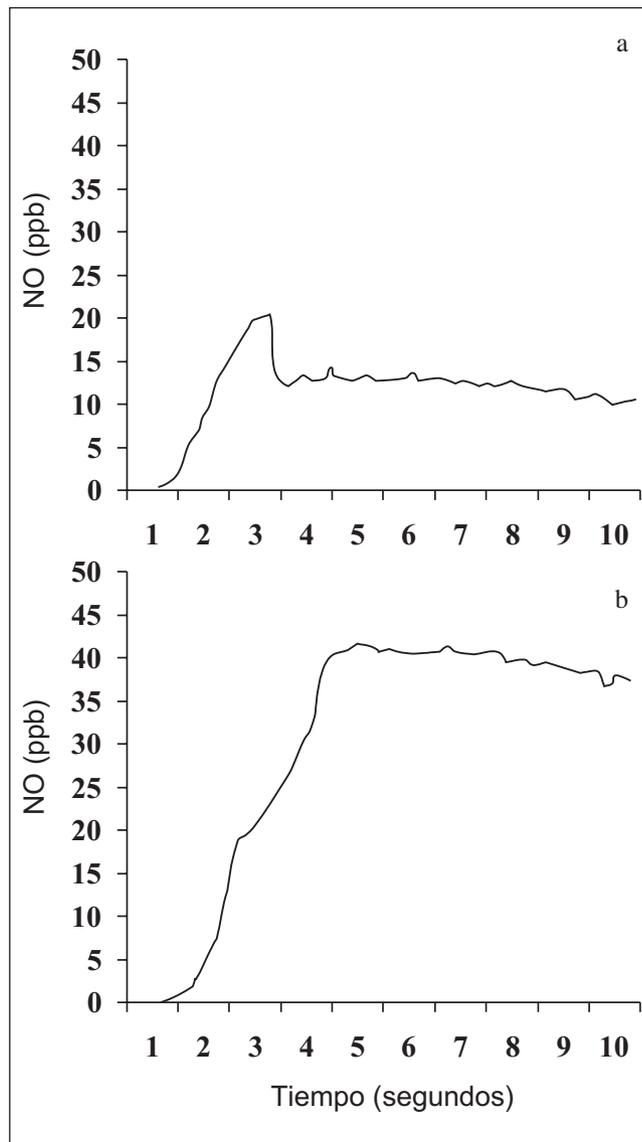


Fig. 2. Modelo bicompartimental para el análisis de óxido nítrico (NO) exhalado. Calv = concentración alveolar de óxido nítrico;  $V'$  = flujo;  $C_w$  = concentración de óxido nítrico en la pared de las vías aéreas;  $C_E$  = concentración de óxido nítrico en aire exhalado;  $D_{\text{NO}}$  = capacidad de difusión de óxido nítrico. Tomado de Jörres RA<sup>21</sup>.

desde la parte distal de la luz bronquial hasta el punto en cuestión. El segundo factor es la capacidad de difusión del NO desde la pared bronquial hacia la luz. De acuerdo con esto, la concentración al final del tubo bronquial, es decir, el nivel de ENO, es el resultado acumulativo del transporte longitudinal más la difusión lateral de NO a lo largo del tubo bronquial completo. El valor inicial para este proceso viene determinado por la concentración de NO en el aire alveolar (fig. 2).

La difusión de NO hacia la luz bronquial viene determinada por la concentración de NO en la pared bronquial ( $C_w$ ). Esta concentración es el resultado de un equilibrio entre su producción y su eliminación, que incluye la pérdida por difusión hacia la luz bronquial. Además, el flujo espiratorio es un factor que tiene una influencia decisiva sobre la concentración de NO en el aire exhalado (al final del tubo). A flujos altos, el tiempo para que el NO difunda hacia la columna de aire disminuye. Finalmente, la capacidad de difusión de NO ( $D_{\text{NO}}$ ) debe disminuir cuando la pared bronquial esté engrosada y debe aumentar cuando la superficie de difusión se incremente. Parece razonable esperar que la superficie de difusión disminuya durante la broncoconstricción, lo que estaría en concordancia con las reducciones de la concentración de NO exhalado que se han observado tras la broncoconstricción con histamina o con agonistas indirectos<sup>22,23</sup>. Por otra parte, la superficie del área implicada en la producción de NO pudiera estar incrementada en los pacientes con asma, comparado con los individuos sanos, como consecuencia de que el proceso inflamatorio (generador de NO) se extiende hasta las vías aéreas más pequeñas. En gran parte, este modelo es teórico, pero



**Fig. 3.** Curvas de óxido nítrico (NO) exhalado obtenidas en un mismo paciente: a) mediante un sistema convencional que utiliza un flujo elevado (250 ml/seg), y b) mediante un método de detección que utiliza flujos bajos (45 ml/seg). Puede observarse que, con flujos altos, se detecta un pico inicial de NO, que se sigue de *plateau*, mientras que el pico inicial desaparece cuando la determinación se realiza a flujos bajos y sin pausa al final de la inspiración. Además, las concentraciones de óxido nítrico exhalado son más altas cuando se obtienen a flujos bajos.

permite comprender muchos de los hallazgos experimentales que se indicarán posteriormente.

## MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO EXHALADO

Para la determinación de NO exhalado puede utilizarse el método de registro *on-line* (la concentración de

NO se determina en el aire exhalado directamente al trazador) o el método *off-line* (el aire exhalado se almacena en balones apropiados y la determinación de NO en la muestra se realiza con posterioridad). Los fundamentos teóricos, las características técnicas de los equipos y la metodología de cada una de las técnicas puede encontrarse en la normativa de la *European Respiratory Society*<sup>24</sup> y de la *American Thoracic Society*<sup>25</sup>. La diferencia más importante entre ambas normativas se concreta en que la *European Respiratory Society* recomienda utilizar una tasa de flujo espiratorio de 10 a 15 L/minuto (es decir, 167 a 250 ml/segundo), mientras que la *American Thoracic Society* recomienda utilizar un flujo de 45 a 50 ml/segundo. Esta diferencia es importante, pues, como se ha indicado anteriormente, las concentraciones de ENO presentan una fuerte dependencia de la tasa de flujo a la que se realiza la determinación<sup>26,27</sup>. En consecuencia, los estudios que han utilizado flujos elevados detectan concentraciones de ENO más bajas que aquellos que han empleado flujos bajos.

La tasa de flujo utilizada para la determinación de ENO ha sido muy variable entre los diferentes estudios, dependiendo de las características del equipo utilizado en cada centro, lo que dificulta la comparación de las concentraciones de NO encontradas por diferentes autores. Parece evidente la necesidad de utilizar flujos bajos para determinar la concentración de ENO mediante la técnica *on-line*, pues de esta manera se consigue mayor capacidad discriminativa<sup>27</sup>.

Un segundo aspecto técnico importante es la necesidad de evitar que el aire procedente de las vías aéreas bajas se contamine por aire de vías aéreas superiores. Las concentraciones de NO en el aire exhalado nasal son mucho más altas que las encontradas en el aire exhalado oral<sup>27-29</sup>. Por tanto, es importante evitar que el aire procedente de cada uno de estos compartimentos se mezcle y esto se consigue exhalando frente a una resistencia en la boca. De esta manera se consigue una presión en la boca entre 5 y 20 cm de H<sub>2</sub>O, que condiciona una elevación del velo del paladar, con lo que se cierra la comunicación con la nasofaringe. De esta manera se consigue eliminar la contaminación del aire exhalado con NO nasal<sup>26</sup>, de forma que las concentraciones detectadas reflejan con bastante exactitud las concentraciones de NO en el aire que procede de las vías aéreas inferiores<sup>31-33</sup>. No obstante, las concentraciones de NO determinadas directamente en la luz bronquial (mediante fibrobroncoscopia) de los pacientes con asma son ligeramente mayores que las encontradas en aire exhalado<sup>34</sup>.

Los estudios que han determinado la influencia del NO ambiental sobre las concentraciones de ENO han aportado resultados contradictorios. Algunos autores han comunicado que el NO ambiental no tiene influencia alguna sobre las concentraciones de NO exhalado, tanto en individuos sanos<sup>35</sup> como en pacientes con asma<sup>35-37</sup> o con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)<sup>37</sup>. Por el contrario, otros estudios han encontrado que el NO ambiental tiene una importante influencia sobre la concentración de ENO, tanto en individuos sanos<sup>38,39</sup>, como en niños con asma<sup>40,41</sup> o con fibrosis quística<sup>40</sup>. A pesar de estos datos contradictorios, parece conveniente que los equipos utilizados para la determinación de ENO incorporen un sistema para reducir a cero (o a menos de 5 ppb) las concentraciones de NO en el aire inhalado por el paciente y esta actitud ha sido recomendada por la *American Thoracic Society*<sup>25</sup>.

Aunque, en los primeros estudios publicados, las concentraciones de ENO se expresaban mediante el pico de NO<sup>37,42-48</sup>, las guías actuales<sup>24,25</sup> recomiendan medir la concentración de NO media en la meseta (*plateau*) de la curva (fig. 3). De hecho, los trazadores de quimioluminiscencia para la determinación de ENO comercializados durante los últimos años incorporan un *software* para medir la concentración únicamente durante la meseta y, con estos trazadores, no suele observarse el pico inicial que se describía con los sistemas convencionales, a no ser que se realice una larga pausa de apnea tras la inspiración.

La técnica de registro *on-line* se encuentra mejor estandarizada que la de registro *off-line*, aunque esta última puede aportar algunas ventajas. Por ejemplo, la técnica *off-line* parece más versátil, pues permite obtener muestras de aire exhalado que pueden almacenarse para ser analizadas posteriormente, lo que evita la necesidad de trasladar el trazador. Además, se ha comunicado que algunos niños pueden tener dificultades para mantener una tasa de flujo espiratorio uniforme y esto puede dificultar decisivamente la determinación *on-line*<sup>49</sup>. Este problema puede resolverse mediante el registro *off-line*, sobre todo si se incorporan determinadas modificaciones técnicas recientes<sup>41,50-52</sup>, que obvian la necesidad de colaboración por parte del niño. No obstante, conviene tener en cuenta que las concentraciones de ENO obtenidas por cada una de estas técnicas son diferentes y que, en consecuencia, los resultados no son intercambiables<sup>51,53,54</sup>.

**Tabla I.** Factores que modifican las concentraciones de óxido nítrico exhalado en individuos sanos

Incremento (ref)	Reducción (ref)
L-arginina (58,59)	Maniobras espirométricas (66,67)
Enalapril (60)	Ejercicio físico (68)
Lechuga o espinacas (61,62)	Ciclo menstrual (69)
Formaldehído (63)	Reducción de temperatura (70)
Infecciones respiratorias (44,64)	Hábito tabáquico (37,71)
NO <sub>2</sub> ambiental (65)	Exposición pasiva al humo de tabaco (72)
	Ingesta de alcohol (73)

## FACTORES QUE MODIFICAN LAS CONCENTRACIONES DE ÓXIDO NÍTRICO EXHALADO EN INDIVIDUOS SANOS

Las concentraciones de ENO son independientes de la edad y sexo<sup>55</sup> y muestran una buena repetibilidad con cualquiera de las dos técnicas recomendadas para su determinación<sup>44,56,57</sup>. Independientemente de los factores técnicos señalados previamente, muchos otros pueden modificar las concentraciones de ENO (tabla I) y es importante tenerlos en cuenta a la hora de interpretar los resultados.

La influencia de determinados factores no se ha aclarado definitivamente. Por ejemplo, algunos autores han encontrado que las concentraciones ambientales de ozono incrementaban los niveles de ENO<sup>74</sup>, mientras que otros no han conseguido confirmar esta observación<sup>75</sup>.

## ENFERMEDADES QUE CURSAN CON MODIFICACIONES DE LAS CONCENTRACIONES DE ÓXIDO NÍTRICO EN AIRE EXHALADO

Hace aproximadamente 9 años, Alving et al<sup>76</sup> comunicaron que las concentraciones de ENO estaban incrementadas en los pacientes asmáticos, cuando se comparaban con las encontradas en los individuos sanos. Estos resultados se confirmaron posteriormente por Kharitonov et al<sup>77</sup> y, desde entonces, han sido muchos los estudios que han coincidido en esta observación. Sin embargo, las concentraciones de ENO pueden estar alteradas en otros muchos procesos respiratorios (tabla II).

Han sido muchos los estudios que han determinado las concentraciones de ENO en los pacientes con EPOC. Sin embargo, al contrario de lo que ha ocurrido en el as-

**Tabla II.** Enfermedades respiratorias que cursan con alteraciones de las concentraciones de óxido nítrico exhalado

Incremento (ref)	Reducción (ref)
Asma (76,77)	Tos crónica sin HRB (81)
Rinitis alérgica (78,79)	Fibrosis quística (83,84)
Infecciones respiratorias víricas (44,64)	Esclerosis sistémica con hipertensión pulmonar (86)
Bronquiectasias (80)	Discinesia ciliar primaria (87)
Tos crónica + HRB (81)	Hipertensión pulmonar primaria (89)
Bronquiolitis obliterante (82)	Distrés respiratorio del adulto (92)
Esclerosis sistémica sin enfermedad pulmonar intersticial (85)	
Fibrosis pulmonar idiopática (88)	
Tuberculosis pulmonar (90)	
Cáncer pulmonar (91)	

HRB: hiperrespuesta bronquial.

ma, los resultados de los mismos han sido discordantes y, en ocasiones, contradictorios. Algunos autores han comunicado que las concentraciones de ENO eran más elevadas en los pacientes con EPOC que en los controles sanos<sup>93-96</sup>, mientras que otros no han conseguido confirmar estas observaciones<sup>53,97-99</sup> e incluso han encontrado concentraciones más bajas en pacientes con EPOC que en sujetos sanos<sup>100</sup>. Parece probable que esta discordancia pueda deberse a diferencias en las características de las poblaciones estudiadas. Recientemente se ha demostrado que las concentraciones de ENO estaban incrementadas en aquellos pacientes con EPOC que presentaban cierto grado de reversibilidad de la obstrucción<sup>101</sup>, por lo que parece probable que los incrementos de las concentraciones de ENO estén identificando a una población de pacientes con EPOC que presentan características similares al asma y que probablemente responderán favorablemente al tratamiento con corticoides<sup>101</sup>. No obstante, estas impresiones deben confirmarse experimentalmente. Algunos datos iniciales parecen indicar que las concentraciones de ENO aumentan durante las exacerbaciones de la EPOC<sup>102</sup>.

## ÓXIDO NÍTRICO EXHALADO Y ASMA BRONQUIAL

El estudio de las concentraciones de ENO en el asma ha recibido gran atención por parte de muchos investigadores durante los últimos 7 años. Sin duda, esto ha venido condicionado por la alta prevalencia de esta

enfermedad y por la escasa sensibilidad de los parámetros de función pulmonar para identificar las modificaciones del proceso inflamatorio bronquial<sup>103</sup>. Se ha hipotetizado que el ENO es un marcador de inflamación bronquial<sup>104</sup> y su nula agresividad lo ha convertido en muy atractivo para uso clínico. Sin embargo, antes de recomendar su utilización en clínica, conviene revisar la amplia experiencia acumulada durante los últimos años.

### Factores que modifican las concentraciones de óxido nítrico exhalado en los pacientes asmáticos

Prácticamente cada uno de los factores que afectan a las concentraciones de ENO en los individuos sanos (tabla I) son capaces de modificar, en la misma dirección, sus concentraciones en asmáticos. Algunos otros factores pueden modificar las concentraciones de ENO en el asma.

**Alergenos inhalados.** La exposición a los alergenos ejerce una importante influencia sobre las concentraciones de ENO. En 1995, Kharitonov et al<sup>48</sup> demostraron que, en los pacientes con asma alérgica, las concentraciones de ENO aumentaban significativamente coincidiendo con la respuesta tardía funcional a la provocación bronquial con el alergeno. Estudios posteriores han confirmado estas observaciones<sup>34,105,106</sup> y, en el caso de algunos antígenos ocupacionales, se ha encontrado que la concentración de ENO aumentaba tras la prueba de provocación bronquial con el alergeno, incluso en pacientes que no sufrían deterioro funcional alguno<sup>107</sup>. Otros estudios han encontrado que, en los pacientes con asma alérgica, la exposición natural a los alergenos se asociaba con incrementos significativos de las concentraciones de ENO<sup>108-113</sup>.

En los asmáticos sensibilizados, la inhalación del alergeno apropiado induce broncoconstricción e inflamación bronquial<sup>103</sup>. Parece improbable que el efecto de los alergenos sobre las concentraciones de ENO sea consecuencia de los incrementos en el tono del músculo liso bronquial, pues la obstrucción inducida por otros broncoconstrictores directos e indirectos se asocia con reducciones significativas de ENO<sup>22,23,114</sup>. En consecuencia, parece tentador aceptar que el efecto de los alergenos sobre las concentraciones de ENO ocurre como consecuencia de sus efectos proinflamatorios y que, por tanto, las modificaciones del ENO pudieran reflejar la intensidad de la inflamación inducida por la exposición alérgica. Sin embargo, no se ha encontrado una relación entre los cambios en los marcadores de inflamación, inducidos por la provocación bronquial con el alergeno, y las modificaciones de las concentraciones de ENO originadas por la misma<sup>107</sup>.

Los incrementos de las concentraciones de ENO tras la exposición alérgica pueden originarse por mecanismos al menos parcialmente independientes de los que inducen la inflamación bronquial. Recientemente se ha comunicado que, tras una prueba de esfuerzo, las concentraciones de ENO disminuyen en los asmáticos que sufren broncoconstricción, mientras que aumentan significativamente en aquellos que no experimentan obstrucción tras el ejercicio<sup>115</sup>. Estos datos sugieren que la liberación de NO puede representar un mecanismo protector frente a la obstrucción inducida por el ejercicio. Por tanto, es posible aventurar la hipótesis de que los incrementos de ENO tras la exposición alérgica pueden obedecer a un mecanismo protector frente a la obstrucción inducida por agentes que inducen obstrucción por mecanismo indirecto. Aunque esta explicación parece atractiva, algunos datos preliminares no parecen confirmarla. Se ha demostrado que la inhibición de la síntesis endógena de NO no producía modificaciones de la respuesta funcional tardía a la provocación bronquial con el alérgeno<sup>116</sup>.

Otra posible explicación para los incrementos de ENO durante la exposición a los alérgenos pudiera ser la de que este mediador esté indicando la presencia de alergia y no su expresión fenotípica. Aunque esta hipótesis necesita confirmarse definitivamente, son muchos los datos experimentales que parecen apoyarla. En primer lugar, se ha demostrado que los pacientes con asma alérgica presentaban concentraciones de ENO significativamente más altas que los individuos con asma idiopática<sup>117</sup>. Además, las concentraciones de ENO eran similares en los pacientes con asma idiopática y en los individuos sanos<sup>118</sup>. Todos estos datos, junto con la observación de una fuerte correlación entre las concentraciones de IgE sérica total y los niveles de ENO<sup>117</sup>, en los pacientes con asma, sugieren que la sensibilización a alérgenos es más importante que su expresión fenotípica para explicar los incrementos de ENO.

Por otra parte, se ha demostrado que los individuos con rinitis alérgica que nunca han presentado síntomas de asma<sup>78,79,119-121</sup> ni hiperrespuesta bronquial a estímulos broncoconstrictores directos o indirectos<sup>122</sup> y que, por tanto, no expresan ninguna de las manifestaciones fenotípicas del asma, presentan incrementos de las concentraciones de ENO, cuando se comparan con los controles sanos. Además, esto mismo se ha observado en individuos sanos sensibilizados a algún inhalante<sup>123-124</sup>. Indudablemente, esto puede ser consecuencia de la presencia de inflamación subclínica en las vías aéreas de estos individuos<sup>125</sup>, pero

estos datos sugieren también que la sensibilización a alérgenos inhalados y la exposición a los mismos<sup>126</sup> es suficiente para que aumenten las concentraciones de ENO. Esta última afirmación adquiere mayor verosimilitud si se tiene en cuenta que los mecanismos genéticos que regulan la expresión de la sensibilización a alérgenos inhalados son importantes también en la expresión de los mecanismos enzimáticos que generan la síntesis de NO en las vías aéreas<sup>127</sup>.

**Fármacos.** Algunos de los fármacos utilizados para el tratamiento del asma pueden modificar las concentraciones de ENO. Tanto los corticoides inhalados<sup>128-132</sup> como los orales<sup>133</sup> reducen intensamente las concentraciones de ENO en los pacientes con asma y parece que también en los pacientes con EPOC, aunque, en esta última entidad, los resultados de los estudios publicados son contradictorios<sup>134,135</sup>. En los asmáticos, esta reducción se observa con dosis muy bajas de corticoides inhalados<sup>128</sup>, pero ha sido difícil demostrar una relación dosis-respuesta<sup>128,136</sup>. Algunos estudios han encontrado que las concentraciones de ENO aumentan a los pocos días de reducir drásticamente las dosis de corticoides inhalados<sup>45</sup>.

Con respecto a los antagonistas del receptor de cisteinil-leucotrienos, los resultados de los estudios publicados hasta la actualidad han sido discordantes. En niños asmáticos, Bisgaard et al<sup>137</sup> han encontrado que el tratamiento con 5 mg al día de montelukast reducía significativamente las concentraciones de ENO, incluso en aquellos niños tratados concomitantemente con corticoides inhalados. Por el contrario, un estudio publicado más recientemente<sup>132</sup>, no ha conseguido demostrar un efecto similar para zafirlukast. No obstante, en este último estudio<sup>132</sup>, el número de pacientes analizados fue demasiado pequeño (n=8), por lo que no puede descartarse un error tipo II.

Un único estudio ha encontrado que, en los pacientes con asma, el tratamiento con teofilina oral a dosis bajas no modificaba significativamente las concentraciones de ENO<sup>138</sup>.

Algunos autores han estudiado los efectos del tratamiento con  $\beta$ -adrenérgicos sobre las concentraciones de ENO en los pacientes con asma. Garnier et al<sup>139</sup> encontraron que la administración de una dosis única de 400  $\mu$ g de salbutamol inhalado, tras una prueba de provocación bronquial con metacolina, no modificaba significativamente las concentraciones de ENO. Otro estudio ha demostrado que la nebulización de una dosis única de 5 mg de salbutamol no modificaba las concentraciones de ENO durante la hora siguiente a su administración<sup>47</sup>. Además, el tratamiento

con salmeterol durante una semana tampoco inducía modificaciones de este mediador<sup>47</sup>. Por el contrario, Silkoff et al<sup>140</sup> han encontrado que, en pacientes asmáticos tratados con corticoides inhalados, la administración de una dosis única de salbutamol inhalado se asociaba con incrementos de las concentraciones de ENO, que persistían hasta una hora después de administrar el fármaco. En consecuencia, parece que el tratamiento con  $\beta$ -adrenérgicos de acción prolongada (salmeterol) no modifica las concentraciones de ENO, pero una dosis única de salbutamol puede aumentar las concentraciones de este mediador, quizás como consecuencia directa de la broncodilatación, con la consiguiente facilitación de la difusión del NO.

Se han publicado algunos datos al respecto de los efectos de fármacos que pueden utilizarse en el futuro para tratar el asma. La inhalación del receptor para la IL-4 reducía significativamente las concentraciones de ENO<sup>141</sup>. Además, en niños con asma leve-moderada, el tratamiento con el anticuerpo monoclonal anti-IgE (omalizumab) protegía frente a los incrementos de ENO que se observaban tras reducir la dosis de corticoides inhalados<sup>142</sup>. No se ha estudiado el efecto de la inmunoterapia ni de las cromonas.

### Relación entre las concentraciones de óxido nítrico exhalado y las manifestaciones clínicas del asma

Algunos autores han determinado la relación entre las concentraciones de ENO y los síntomas de asma (tabla III). En un grupo de 25 niños con asma, Artlich et al<sup>56</sup> encontraron que las concentraciones de ENO eran significativamente más altas en aquellos que habían presentado síntomas durante las dos semanas previas a la determinación que en los que habían permanecido asintomáticos durante este período de tiempo. Además, esto se observaba tanto en los niños tratados con corticoides inhalados como en aquellos que únicamente utilizaban  $\beta$ -adrenérgicos a demanda. Previamente, Stirling et al<sup>143</sup> habían comunicado resultados similares en adultos. Estos últimos autores encontraron que, en pacientes con asma de difícil control (sintomáticos a pesar del tratamiento con dosis  $\geq 2000$   $\mu\text{g}$  al día de corticoides inhalados y/o con corticoides orales), las concentraciones de ENO se correlacionaban con la frecuencia de los episodios de asma y con las necesidades de  $\beta$ -adrenérgicos de rescate.

Por el contrario, Horvath et al<sup>144</sup> encontraron que los pacientes con asma alérgica que persistían sintomáticos a pesar del tratamiento con corticoides inhalados, mostraban concentraciones de ENO similares a las encontradas en los

**Tabla III.** Relación entre las concentraciones de óxido nítrico exhalado y la intensidad de los síntomas de asma

Autor	Técnica	Características	Relación
Artlich et al <sup>56</sup>	Off-line	Niños asmáticos	Sí
Stirling et al <sup>143</sup>	On-line	Asma de difícil control	Sí
Horvath et al <sup>144</sup>	On-line	Asma alérgica	No
Chan-Yeung et al <sup>145</sup>	On-line	Asma ocupacional	No
Al-Ali et al <sup>146</sup>	On-line	Asma alérgica	No
Ludviksdottir et al <sup>118</sup>	Off-line	Asma alérgica e idiopática	No
Sippel et al <sup>36</sup>	On-line	Asma alérgica e idiopática	Sí

individuos sanos. Estos hallazgos sugerían claramente que los síntomas de asma, en pacientes tratados con corticoides inhalados, podían persistir a pesar de la normalización de las concentraciones de ENO. Otro estudio realizado en pacientes con asma ocupacional tampoco ha conseguido demostrar una relación entre las concentraciones de ENO y el grado de afección respiratoria, evaluado de acuerdo con los criterios propuestos por la *American Thoracic Society*<sup>145</sup>.

Resultados similares a los anteriores han sido aportados por Al-Ali et al<sup>146</sup>. En un grupo de 26 pacientes con asma alérgica, tratados únicamente con  $\beta$ -adrenérgicos a demanda, estos autores no encontraron correlación entre las concentraciones de ENO y la puntuación de síntomas o las necesidades de  $\beta$ -adrenérgicos de rescate. Otros autores tampoco han conseguido detectar una relación entre las concentraciones de ENO y la puntuación de síntomas, analizando individualizadamente a los pacientes con asma alérgica y a aquellos con asma idiopática<sup>118</sup>.

A la vista de los resultados de los diferentes estudios analizados, no puede aventurarse una opinión definitiva acerca de la relación entre las concentraciones de ENO y las manifestaciones clínicas del asma, pues tres estudios han encontrado una relación aceptable, mientras que cuatro no lo han hecho. Las causas de estos resultados discordantes son seguramente múltiples, pero las más importantes pueden concretarse en la disparidad de los criterios de selección, las diferencias en la proporción de pacientes tratados con corticoides inhalados y, sobre todo, las diferencias a la hora de definir la gravedad de las manifestaciones clínicas. En este sentido, los resultados del estudio de Sippel et al<sup>36</sup> pueden resultar ilustrativos. En un grupo de 100 individuos con asma, estos autores determinaron la relación entre las concentraciones de ENO y el grado de control de la enfermedad durante los días previos a la determinación o la gravedad de la enfermedad

(presencia de obstrucción fija, antecedentes de insuficiencia respiratoria, necesidad de asistencia en urgencias). Encontraron que los pacientes que comunicaban síntomas de asma durante las dos semanas previas a la determinación de ENO tenían concentraciones más altas de este mediador que los individuos que habían permanecido asintomáticos durante el mismo período y estas diferencias se mantenían tras realizar ajustes para la utilización de corticoides inhalados. Por el contrario, cuando se compararon las concentraciones de ENO en los pacientes que habían presentado síntomas entre uno y seis meses antes de la determinación y aquellos que habían permanecido asintomáticos durante el mismo período, las diferencias no fueron significativas. Además, las concentraciones de ENO no se relacionaban con la gravedad de la enfermedad. En consecuencia, el estudio demuestra claramente que la determinación de ENO aporta información útil acerca del grado de control reciente del asma, pero no acerca de su evolución durante los meses previos o de la gravedad global de la enfermedad.

#### Relación entre las concentraciones de óxido nítrico exhalado y los parámetros de función pulmonar

En la tabla IV se resumen los resultados de los diferentes estudios que han determinado la relación entre las concentraciones de ENO y los parámetros de función pulmonar en el asma. De los 16 estudios que han analizado la relación con los parámetros espirométricos, 11 no consiguieron identificarla, mientras que cinco sí que la encontraron, aunque, en la mayoría de ellos, ésta fue bastante débil. Indudablemente, las diferencias en los criterios de selección, proporción de pacientes con asma alérgica y metodología para la determinación pueden ser responsables, al menos en parte, de estos resultados discordantes. Sin embargo, cuando se analizan detalladamente las características de las poblaciones estudiadas, parece que el tratamiento con corticoides inhalados es el factor que ha ejercido una influencia más decisiva. La mayoría de los estudios que incluyeron pacientes asmáticos tratados con corticoides inhalados no consiguieron demostrar correlación significativa<sup>56,108,143,144,147</sup>. Por el contrario, esta relación pudo demostrarse en algunos<sup>22,151</sup>, pero no en otros estudios<sup>131,150</sup> que seleccionaron pacientes tratados con  $\beta$ -adrenérgicos a demanda. Además, algunos autores han determinado la relación entre las concentraciones de ENO y los parámetros espirométricos, analizando independientemente los resultados obtenidos en los pacientes tratados con corticoides inhalados y en aquellos que únicamente recibían tratamiento

**Tabla IV.** Relación entre las concentraciones de óxido nítrico exhalado y los parámetros de función pulmonar en asmáticos

Autor	Técnica	Parámetro función	Correlación
Piacentini et al <sup>108*</sup>	On-line	FEV <sub>1</sub>	r = NS
Artlich et al <sup>56*</sup>	Off-line	FEV <sub>1</sub> , FEF <sub>25-75</sub>	r = NS
Silvestri et al <sup>147*</sup>	On-line	FEV <sub>1</sub> , FVC, FEF <sub>25-75</sub>	r = NS
Stirling et al <sup>143</sup>	On-line	FEV <sub>1</sub> , FEV <sub>1</sub> /FVC, PEFv	r = NS
Horvath et al <sup>144</sup>	On-line	FEV <sub>1</sub>	r = NS
Chan-Yeung et al <sup>145#</sup>	On-line	FEV <sub>1</sub>	r = NS
Crater et al <sup>148</sup>	On-line	FEV <sub>1</sub> , FEF <sub>25-75</sub>	FEV <sub>1</sub> : r = -0,42 FEF <sub>25-75</sub> : r = -0,40
Lim et al <sup>131</sup>	On-line	FEV <sub>1</sub> , PEFv	FEV <sub>1</sub> = NS PEFv: r = 0,65
Al-Ali et al <sup>146</sup>	On-line	FEV <sub>1</sub> , PEFv	FEV <sub>1</sub> : r = NS PEFv: r = 0,58
Ludviksdottir et al <sup>118</sup>	Off-line	FEV <sub>1</sub> , FVC, sGaw, PEFv	r = NS
Lim et al <sup>149</sup>	On-line	FEV <sub>1</sub> , PEFv	r = NS
Silvestri et al <sup>150*</sup>	On-line	FEV <sub>1</sub> , FVC, FEF <sub>25-75</sub>	r = NS
Ichinose et al <sup>151</sup>	On-line	FEV <sub>1</sub>	r = -0,53
Piacentini et al <sup>152*</sup>	On-line	FEV <sub>1</sub> , PEFv	FEV <sub>1</sub> : r = -0,35 PEFv: r = NS
Ho et al <sup>22</sup>	On-line	FEV <sub>1</sub>	r = 0,90
Jatakanon et al <sup>153</sup>	On-line	PEFv	r = NS
Berlyne et al <sup>154</sup>	On-line	FEV <sub>1</sub> , FEV <sub>1</sub> /FVC	FEV <sub>1</sub> : r = -0,36 FEV <sub>1</sub> /FVC: r = -0,38

FEV<sub>1</sub> = volumen espiratorio forzado en el primer segundo; FVC = capacidad vital forzada; sGaw = conductancia específica; PEFv = variabilidad circadiana del flujo espiratorio pico; FEF<sub>25-75</sub> = flujo espiratorio entre el 25 y el 75% de la capacidad vital forzada; \* niños; # asma ocupacional; NS = no significativa.

con  $\beta$ -adrenérgicos a demanda. Berlyne et al<sup>154</sup> estudiaron 38 asmáticos no tratados con corticoides inhalados y 35 pacientes que recibían tratamiento con estos fármacos. Estos autores encontraron una correlación significativa entre las concentraciones de ENO y el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV<sub>1</sub>) o el FEV<sub>1</sub>/capacidad vital (VC) únicamente en el grupo no tratado con corticoides inhalados. En el mismo sentido parecen apuntar los resultados comunicados por Ichinose et al<sup>151</sup>. En un grupo de 18 asmáticos que no habían recibido tratamiento con corticoides inhalados durante al menos los 6 meses previos, estos autores demostraron una relación significativa entre las concentraciones de ENO y el FEV<sub>1</sub>, pero la misma desaparecía al cabo de 8 semanas de tratamiento con corticoides inhalados. Todos estos datos parecen sugerir que la relación entre las concentraciones de ENO y los parámetros

espirométricos puede identificarse más fácilmente en los asmáticos no tratados con corticoides inhalados. Sin embargo, los resultados de un estudio reciente no apoyan esta última afirmación. Piacentini et al<sup>152</sup> estudiaron la relación entre las concentraciones de ENO y el FEV<sub>1</sub> en 36 niños asmáticos tratados con corticoides inhalados y en 27 tratados únicamente con  $\beta$ -adrenérgicos a demanda. La correlación entre ambos parámetros sólo era significativa en el grupo tratado con corticoides inhalados. No obstante, este estudio se realizó en niños con asma por ácaros que permanecían en un entorno libre de alérgeno y este último factor pudo haber influido decisivamente en los resultados.

Solamente un estudio ha analizado la relación entre las concentraciones de ENO y los parámetros espirométricos en el curso de un episodio agudo de asma. En esta situación, se ha encontrado una correlación significativa entre las concentraciones de ENO y el FEV<sub>1</sub> o los FEF<sub>25-75</sub><sup>148</sup>.

Por otra parte, un total de siete estudios han determinado la relación entre las concentraciones de ENO y la variabilidad circadiana del pico de flujo espiratorio (PEF) en pacientes con asma (tabla IV). Únicamente dos de ellos<sup>131,146</sup> encontraron relación significativa entre ambos

parámetros, mientras que en los cinco restantes ésta no fue evidente<sup>118,143,149,152,153</sup>.

Cualquiera que sea la explicación para la discordancia entre los diferentes estudios, el análisis de los mismos sugiere que la relación entre las concentraciones de ENO y los parámetros de función pulmonar (espirometría o determinaciones de PEF), si realmente existe, es débil. En consecuencia, parece que la información aportada por ambas determinaciones no es equivalente y quizás pueda resultar complementaria.

### Relación entre las concentraciones de óxido nítrico exhalado y la hiperrespuesta bronquial

Un total de 16 estudios han analizado la relación entre las concentraciones de ENO y la respuesta bronquial a la estimulación con broncoconstrictores directos (histamina o metacolina) en el asma (tabla V). Once de los estudios analizados seleccionaron pacientes que no estaban realizando tratamiento con corticoides inhalados<sup>131,145,146,150,151,153-158</sup> y, en la mitad de ellos (seis estudios) se identificó una correlación significativa<sup>131,146,153,155-157</sup>, mientras que los cinco restantes no lograron identificarla. Por otra parte, 9 estu-

**Tabla V.** Relación entre las concentraciones de óxido nítrico exhalado y la hiperrespuesta bronquial

Autor	Técnica	Estímulo	CI	Correlación
De Gouw et al <sup>155</sup>	<i>On-line</i>	Histamina	No	r = -0,59
Horvath et al <sup>144</sup>	<i>On-line</i>	Metacolina	Sí	r = NS
Dupont et al <sup>156</sup>	<i>On-line</i>	Histamina	No	r = -0,65
			Sí	r = NS
Chan-Yeung et al <sup>145</sup> #	<i>On-line</i>	Metacolina	No	r = NS
			Sí	r = NS
Lim et al <sup>131</sup>	<i>On-line</i>	Metacolina	No	r = -0,64
Verleden et al <sup>157</sup>	<i>On-line</i>	Histamina	No	r = -0,45
			Sí	r = NS
Van den Toorn et al <sup>158</sup>	<i>On-line</i>	Metacolina	No	r = NS
		AMP	No	r = -0,51
Al-Ali et al <sup>146</sup>	<i>On-line</i>	Histamina	No	r = -0,52
Ludviksdottir et al <sup>118</sup>	<i>Off-line</i>	Metacolina	Sí	r = -0,52
Scollo et al <sup>159</sup>	<i>Off-line</i>	Ejercicio	Sí	r = 0,61
Silvestri et al <sup>150*</sup>	<i>On-line</i>	Metacolina	No	r = NS
Ichinose et al <sup>151</sup>	<i>On-line</i>	Metacolina	No	r = NS
Piacentini et al <sup>152*</sup>	<i>On-line</i>	Metacolina	Sí	r = NS
Ho et al <sup>22</sup>	<i>On-line</i>	Histamina	Sí	r = NS
Jatakanon et al <sup>153</sup>	<i>On-line</i>	Metacolina	No	r = -0,64
Berlyne et al <sup>154</sup>	<i>On-line</i>	Metacolina	No	r = NS
			Sí	r = -0,35
Leuppi et al <sup>160</sup>	<i>Off-line</i>	Histamina	Sí	r = NS
		Manitol	Sí	r = NS

CI = Corticoides inhalados; AMP = adenosina 5'-monofosfato; \* niños; # asma ocupacional; NS = no significativa.

dios han analizado la relación entre las concentraciones de ENO y la respuesta bronquial a agonistas broncoconstrictores directos en asmáticos tratados con corticoides inhalados y, en la mayoría de ellos (siete estudios), no se encontró correlación<sup>22,144,145,152,156,157,160</sup>. A la vista de estos resultados, puede concluirse que la relación entre las concentraciones de ENO y el grado de hiperrespuesta bronquial a los agonistas broncoconstrictores directos puede detectarse en los pacientes asmáticos no tratados con corticoides inhalados, pero la misma desaparece en los que reciben tratamiento con estos fármacos. Además, parece que los corticoides inhalados no modifican paralelamente las concentraciones de ENO y la respuesta a agonistas directos, pues algunos estudios no han encontrado una relación entre los efectos de los corticoides inhalados sobre la respuesta a histamina<sup>129</sup> o metacolina<sup>161</sup> y las modificaciones inducidas por estos agentes sobre las concentraciones de ENO, aunque no todos los autores coinciden en esta observación<sup>151</sup>.

La relación entre las concentraciones de ENO y la respuesta a la estimulación con agonistas broncoconstrictores indirectos ha recibido menos atención. En asmáticos no tratados con corticoides inhalados, Van den Toron et al<sup>158</sup> encontraron una correlación significativa entre las concentraciones de ENO y el grado de hiperrespuesta bronquial a adenosina 5'-monofosfato (AMP). Además, se ha demostrado una relación entre los efectos del tratamiento con corticoides orales o inhalados sobre las con-

centraciones de ENO y sobre la respuesta a AMP<sup>161</sup>. Sin embargo, los estímulos pro-inflamatorios no parecen modificar paralelamente ambos parámetros, de forma que, en pacientes con asma alérgica, no se ha encontrado relación entre las modificaciones inducidas por la exposición antigénica sobre las concentraciones de ENO y sobre la respuesta a la estimulación bronquial con AMP<sup>162</sup>.

Un estudio ha demostrado una correlación significativa entre las concentraciones de ENO y la intensidad de la broncoconstricción inducida por el ejercicio, en un grupo de asmáticos tratados con corticoides inhalados<sup>159</sup>. Además, se ha comunicado que los niños asmáticos que presentaban obstrucción inducida por el ejercicio mostraban concentraciones de ENO más elevadas que aquellos que no la sufrían<sup>163</sup>.

En conclusión, aunque la relación entre las concentraciones de ENO y el grado de hiperrespuesta bronquial, en los pacientes con asma, dista mucho de ser perfecta, parece que la respuesta a los estímulos indirectos, como AMP y ejercicio, se relaciona mejor con las concentraciones de ENO que la respuesta a los estímulos directos.

#### Relación entre las concentraciones de óxido nítrico exhalado y los marcadores de inflamación bronquial (tabla VI)

Un total de 8 estudios han determinado la relación entre el ENO y la proporción de eosinófilos en muestras

**Tabla VI.** Relación entre las concentraciones de óxido nítrico exhalado y los marcadores de inflamación bronquial en el asma

Autor	Técnica	Muestra	Marcador de inflamación	Correlación
Piacentini et al <sup>108*</sup>	<i>On-line</i>	Espujo inducido	Eosinófilos	r = 0,44
			ECP	r = NS
Obata et al <sup>107#</sup>	<i>On-line</i>	Espujo inducido	Eosinófilos	r = 0,56
Silvestri et al <sup>147*</sup>	<i>On-line</i>	Sangre	Eosinófilos	r = 0,56
Chan-Yeung et al <sup>145#</sup>	<i>On-line</i>	Espujo inducido	Eosinófilos	r = 0,42
Crater et al <sup>148</sup>	<i>Off-line</i>	Sangre	Eosinófilos	r = 0,34
Lim et al <sup>131</sup>	<i>On-line</i>	BAL	Eosinófilos	r = 0,64
Lim et al <sup>149</sup>	<i>On-line</i>	Biopsia	Eosinófilos	r = NS
Piacentini et al <sup>152*</sup>	<i>On-line</i>	Suero	ECP	r = NS
Jatakanon et al <sup>153*</sup>	<i>On-line</i>	Espujo inducido	Eosinófilos	r = 0,48
Berlyne et al <sup>154</sup>	<i>On-line</i>	Espujo inducido	Eosinófilos	r = 0,47
Tsujino et al <sup>164</sup>	<i>On-line</i>	Espujo inducido	Eosinófilos	r = 0,77
Leuppi et al <sup>160</sup>	<i>Off-line</i>	Espujo inducido	Eosinófilos	r = NS
Payne et al <sup>165*</sup>	<i>On-line</i>	Biopsia	Eosinófilos	r = 0,67
Van den Toorn et al <sup>166</sup>	<i>On-line</i>	Biopsia	Inmunotinción MBP	r = 0,35
Horvath et al <sup>144</sup>	<i>On-line</i>	Espujo inducido	Eosinófilos	r = 0,65

BAL = lavado broncoalveolar; ECP = proteína catiónica del eosinófilo; MBP = proteína básica mayor; NS = no significativa; \* niños; # asma ocupacional.

de esputo inducido. Siete encontraron correlación estadísticamente significativa<sup>105,107,108,153,144,154,164</sup>. En muestras de biopsia bronquial, los resultados han sido más discordantes, pues dos estudios encontraron correlación significativa<sup>165,166</sup>, mientras que otro no pudo detectarla<sup>149</sup>. Finalmente, todos los estudios publicados hasta la actualidad han encontrado correlación entre la eosinofilia en sangre<sup>147,148</sup> o en el lavado broncoalveolar<sup>131</sup> y las concentraciones de ENO.

No obstante, en los estudios que identificaron correlación significativa entre el grado de inflamación eosinofílica y las concentraciones de ENO, ésta fue bastante débil, lo que parece indicar que los niveles elevados de ENO traducen algunos, pero no todos, de los aspectos de la inflamación bronquial en el asma. Son necesarios estudios que determinen la relación entre las concentraciones de ENO y marcadores de inflamación diferentes de los relacionados con la presencia o activación de los eosinófilos. Además, puesto que la relación entre las concentraciones de ENO y el grado de inflamación eosinofílica desaparece en los pacientes tratados con corticoides inhalados<sup>108,154,164</sup>, parece que la información proporcionada por cada parámetro, para determinar la respuesta al tratamiento, no es intercambiable. Indudablemente, esto debe determinarse en estudios prospectivos.

#### **Utilidad de la determinación de óxido nítrico exhalado para el control evolutivo del asma**

Han sido muchos los estudios que han demostrado que los parámetros de función pulmonar habitualmente recomendados para el control evolutivo del asma no son suficientemente sensibles ni específicos para determinar la presencia e intensidad de la inflamación bronquial<sup>167-169</sup> o sus modificaciones como consecuencia del tratamiento antiinflamatorio<sup>170,171</sup>. En consecuencia, parecen necesarios marcadores no invasivos, que aporten información acerca de la intensidad de la inflamación bronquial. Durante los últimos años, algunos autores han investigado la utilidad de la determinación de ENO para el control evolutivo del asma.

Horvath et al<sup>144</sup> concluyeron que la determinación de peróxido de hidrógeno en el condensado del aire exhalado parecía más útil que el NO para evaluar el grado de inflamación en los pacientes con asma. Sin embargo, estos autores no aportan datos prospectivos y fundamentan su conclusión en el grado de correlación de cada uno de los mediadores con los parámetros de función pulmonar.

Parece evidente que muchos pacientes asmáticos controlados con una dosis moderadamente elevada de cor-

ticoides inhalados, se mantienen estables tras reducir drásticamente la dosis de estos fármacos. Sin embargo, algunos otros se agudizan tras reducir las dosis del corticoide. La determinación de ENO pudiera ayudar a identificar estas dos poblaciones, proporcionando una información extremadamente útil desde un punto de vista clínico y evitando el sobretratamiento con corticoides inhalados. Éste ha sido el objetivo de algunos estudios recientes.

Jatakanon et al<sup>172</sup> seleccionaron un grupo de pacientes con asma que permanecían en situación estable utilizando dosis altas de corticoides inhalados. Se redujeron drásticamente las dosis de estos fármacos y se observó la evolución de la enfermedad y su relación con las modificaciones de las concentraciones de ENO. Estos autores encontraron que las concentraciones de ENO, antes de reducir la dosis de corticoides inhalados, eran similares en los pacientes que se deterioraban y en aquellos que permanecían adecuadamente controlados. En consecuencia, concluyeron que la determinación de ENO no parecía útil para indicar una reducción de las dosis de corticoides en los asmáticos estables. Sin embargo, cuando se analizaron las modificaciones de las concentraciones de ENO tras reducir las dosis de corticoides inhalados, se observó que éstas eran mayores en los pacientes que se agudizaron que en aquellos que permanecieron estables. Estos datos sugieren que las modificaciones de las concentraciones de ENO pueden identificar precozmente a los pacientes asmáticos que se descompensarán tras reducir la dosis de corticoides inhalados. Esto parece razonable, si se tiene en cuenta que las concentraciones de ENO se relacionan bien con los síntomas de asma durante los días previos<sup>36</sup>.

Más recientemente, Leuppi et al<sup>173</sup> han estudiado la relación entre las modificaciones de ENO y de los parámetros clásicos de control del asma, tras reducir las dosis de corticoides inhalados, en un grupo de 50 pacientes. Las dosis del corticoide inhalado se redujeron a la mitad cada 8 semanas y, si los pacientes continuaban estables con dosis de 200 µg al día de budesonida o de 125 µg al día de fluticasona, se suspendieron estos fármacos. Estos autores encontraron que la determinación de ENO no resultaba útil para identificar a los pacientes que se agudizaban tras reducir las dosis de corticoides inhalados ni para identificar precozmente estas agudizaciones.

Por otra parte, Jones et al<sup>174</sup> han encontrado que, en pacientes asmáticos estabilizados con corticoides inhalados, la determinación de las modificaciones de ENO, durante un período de observación de 8 semanas, resultaba

útil para identificar a los pacientes que se agudizaban tras la retirada de estos fármacos.

A la vista de los resultados de los estudios anteriores, es evidente que la información acerca de la utilidad de la determinación de ENO para el control evolutivo del asma es escasa y contradictoria, por lo que determinadas opiniones recientes parecen precipitadas<sup>175</sup>. Hasta que este aspecto no se conozca con mayor profundidad, la determinación de ENO quedará limitada al campo de la investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- National Heart, Lung and Blood Institute. Guidelines for the diagnosis and management of asthma. NIH Publication No. 97-4051, 1997.
- Gustaffson LE, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. *Biochem. Biophys Res Commun* 1991; 181: 852-857.
- Zayasi K, Sekizawa K, Okinaga S, Yamaya M, Obrui T, Sasaki H. Increased carbon monoxide in exhaled air of asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1140-1143.
- Horvath I, Donnelly LE, Kiss A, Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Raised levels of exhaled carbon monoxide are associated with an increased expression of heme oxygenase-1 in airway macrophages in asthma: a new marker for oxidative stress. *Thorax* 1998; 53: 668-672.
- Kneepkens CM, Ferreira C, Lepage G, Roy CC. The hydrocarbon breath test in the study of lipid peroxidation: principles and practice. *Clin Invest Med* 1992; 15: 163-186.
- Seabra L, Braganza JM, Jones MF. A system for the quantitative determination of hydrocarbons in human breath. *J Pharm Biomed Anal* 1991; 9: 693-697.
- Nowak D, Autczok A, Krol M, Pietras T, Sharia B, Biolastewicz P, et al. Increased content of hydrogen peroxide in the expired breath of cigarette smokers. *Eur Respir J* 1996; 9: 652-657.
- Dohlman AW, Black HR, Royall JA. Expired breath hydrogen peroxide is a marker of acute airway inflammation in pediatric patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 955-960.
- Hamid Q, Springall DR, Riveros-Moreno V, Chanez P, Howarth P, Redington A, et al. Induction of nitric oxide synthase in asthma. *Lancet* 1993; 342: 1510-1513.
- Marshall HE, Stamler JS. NO waiting to exhale in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 685-687.
- Ten Hacken NHT, Postma DS, Drak G, Smith M, Kraan J, Timens W. Increased vascular expression of iNOS at day but not at night in asthmatic subjects with increased nocturnal airway obstruction. *Eur Respir J* 2000; 16: 445-451.
- Silkoff PE, Robbina RA, Gaston B, Landberg JOM, Townley RG. Endogenous nitric oxide in allergic airway disease. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 438-448.
- Sanders P, Slekierski ES, Richards SM, Porter JD, Imani F, Proud D. Rhinovirus infection induces expression of type 2 nitric oxide synthase in human respiratory epithelial cells *in vitro* and *in vivo*. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 235-243.
- Kao YT, Piedra PA, Larsen GL, Colasurdo GN. Induction and regulation of nitric oxide synthase in airway epithelial cells by respiratory syncytial virus. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 532-539.
- Redington AE, Meng QH, Springall DR, Evans TJ, Cremonin C, Maclouf J, et al. Increased expression of inducible nitric oxide synthase and cyclo-oxygenase-2 in the airway epithelium of asthmatic subjects and regulation by corticosteroid treatment. *Thorax* 2001; 56: 351-357.
- Chambers DC, Ayres JG. Effect of nebulised L-arginine on exhaled nitric oxide in steroid naive asthma. *Thorax* 2001; 56: 602-606.
- Gao FH, Combair SA, Zheng S, Dweik RA, Eissa NT, Thomasson MJ, et al. Molecular mechanisms of increased nitric oxide (NO) in asthma: evidence for transcriptional and post-translational regulation of NO synthesis. *J Immunol* 2000; 164: 5970-5980.
- Xie Q, Kashiwarbara Y, Nathan C. Role of transcription factor NF- $\kappa$ B/rel in induction of nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 1994; 269: 4705-4708.
- Tijima H, Duguet A, Enm SY, Hamid Q, Eidelman D. Nitric oxide and protein nitration are eosinophil dependent in allergen-challenged mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1233-1240.
- Hunt JF, Fang K, Malik R, Snyder A, Malhotra N, Platts-Mills TAE, et al. Endogenous airway acidification: implications for asthma pathophysiology. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 694-699.
- Jörres RA. Modelling the production of nitric oxide within the human airways. *Eur Respir J* 2000; 16: 555-560.
- Ho LP, Wood FJ, Robson A, Innes JA, Greening AP. The current single exhalation method of measuring exhaled nitric oxide is affected by airway calibre. *Eur Respir J* 2000; 15: 1009-1013.
- De Gouw HWFM, Hendriks J, Woltman AM, Twiss MI, Sterk PJ. Exhaled nitric oxide (NO) is reduced shortly after bronchoconstriction to direct and indirect stimuli in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 315-319.
- Kharitonov S, Alving K, Barnes PJ. Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. *Eur Respir J* 1997; 10: 1683-1693.
- American Thoracic Society. Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children-1999. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 2104-2117.
- Silkoff PE, McClean PA, Slutsky AS, Furlatt HG, Hoffstein E, Wakita S, et al. Marked flow-dependence of exhaled nitric oxide using a new technique to exclude nasal nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 260-267.
- Kroesbergen A, Jobsis O, Bel EHD, Hop WCJ, de Jongste JC. Flow-dependency of exhaled nitric oxide in children with asthma and cystic fibrosis. *Eur Respir J* 1999; 14: 871-875.
- Kimberly B, Nejadnik B, Giraud GD, Holden WE. Nasal contribution to exhaled nitric oxide at rest and during breath-holding in humans. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 829-836.
- Lundberg JO, Farkas-Szallasi T, Weitzberg E, Rinder J, Lidholm J, Anggaard A, et al. High nitric oxide production in human paranasal sinuses. *Nature Med* 1995; 1: 370-373.
- Dillon WC, Hampel V, Schultz PJ, Rubins JB, Archer SL. Origins of breath nitric oxide in humans. *Chest* 1996; 110: 930-938.
- Kharitonov SA, Chung KF, Evans D, O'Connor BJ, Barnes PJ. Increased exhaled nitric oxide in asthma is mainly derived from the lower respiratory tract. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 1773-1780.
- Kharitonov SA, Barnes PJ. Nasal contribution to exhaled nitric oxide during exhalation against resistance or during breath holding. *Thorax* 1997; 52: 540-544.
- Massaro AP, Mehta S, Lilly CM, Kahzik L, Reilly JJ. Elevated nitric oxide concentrations in isolated lower airway gas of asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 1510-1514.
- Dweik RA, Comhair SAA, Gaston B, Thunnissen FBJM, Farver C, Thomasson MJ, et al. NO chemical events in the human airway during

- the immediate and late antigen-induced asthmatic response. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98: 2622-2627.
35. Piacentini GL, Bodini A, Vino L, Zanolla L, Costella S, Vicentini L, et al. Influence of environmental concentrations of NO on the exhaled NO test. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1299-1301.
36. Sippel JM, Holden WE, Tilles SA, O'Hollaren M, Cook J, Thukkani N, et al. Exhaled nitric oxide levels correlate with measures of disease control in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 645-650.
37. Robbins RA, Floreani AA, von Essen SG, Sisson JH, Still GE, Rubinstein I, et al. Measurement of exhaled nitric oxide by three different techniques. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 1631-1635.
38. Therminarias A, Flore P, Faure-Juvin A, Oddou MF, Delaire M, Grimbert F. Air contamination with nitric oxide. Effect on exhaled nitric oxide response. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 791-795.
39. Corradi M, Pelizzoni A, Majori M, Cuomo A, De Munari E, Pesci A. Influence of atmospheric nitric oxide concentration on the measurement of nitric oxide in exhaled air. *Thorax* 1998; 53: 673-676.
40. Dotsch J, Demiraksa S, Terbrock HG, Hals G, Rascher W, Kuhl PG. Airway nitric oxide in asthmatic children and patients with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 1996; 9: 2537-2540.
41. Jöbsis Q, Schellekens SL, Kroesbergen A, Hop WCJ, de Jongste JC. Off-line sampling of exhaled air for nitric oxide measurement in children: methodological aspects. *Eur Respir J* 2001; 17: 898-903.
42. Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan-Sinclair R, Shineburne EA, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994; 343: 133-135.
43. Persson MG, Zetterström O, Agrenins V, Ihre E, Gustafsson LE. Single-breath nitric oxide measurements in asthmatic patients and smokers. *Lancet* 1994; 343: 146-147.
44. Kharitonov SA, Yates D, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of normal human subjects with upper respiratory tract infections. *Eur Respir J* 1995; 8: 295-297.
45. Kharitonov SA, Yates DH, Chung KF, Barnes PJ. Changes in the dose of inhaled steroid affect exhaled nitric oxide levels in asthmatic patients. *Eur Respir J* 1996; 9: 196-201.
46. Yates DH, Kharitonov SA, Robbins RA, Thomas PS, Barnes PJ. The effect of alcohol ingestion on exhaled nitric oxide. *Eur Respir J* 1996; 9: 1130-1133.
47. Yates DH, Kharitonov SA, Barnes PJ. Effect of short-and long-acting inhaled  $\beta_2$ -agonists on exhaled nitric oxide in asthmatic patients. *Eur Respir J* 1997; 10: 1483-1488.
48. Kharitonov SA, O'Connor BJ, Evans DJ, Barnes PJ. Allergen-induced late asthmatic reactions are associated with elevation of exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1894-1899.
49. Jobsis Q, Schellekens SL, Kroesbergen A, Hop WCJ, de Jongste JC. Sampling of exhaled nitric oxide in children: end-expiratory plateau, balloon and tidal breathing methods compared. *Eur Respir J* 1999; 13: 1406-1410.
50. Baraldi E, Scollo M, Zaramella C, Zanconato S, Zacchello F. A simple flow-driven method for on line measurement of exhaled NO starting at the age of 4 to 5 years. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1828-1832.
51. Jöbsis Q, Raatgeep HC, Hop WCJ, de Jongste JC. Controlled low flow off line sampling of exhaled nitric oxide in children. *Thorax* 2001; 56: 285-289.
52. Djupesland PG, Quian W, Haight JSJ. A new method for the remote collection of nasal and exhaled nitric oxide. *Chest* 2001; 120: 1645-1650.
53. Rutgers SR, Meijer RJ, Kerstjens HA, van der Mark ThW, Koëter GH, Postma DS. Nitric oxide measured with single-breath and tidal-breathing methods in asthma and COPD. *Eur Respir J* 1998; 12: 816-819.
54. Silkoff PE, Stevens A, Pak J, Bucher-Bartelson B, Martin RJ. A method for the standardized offline collection of exhaled nitric oxide. *Chest* 1999; 116: 754-759.
55. Baraldi E, Azzolin NM, Cracco A, Zacchello F. Reference values of exhaled nitric oxide for healthy children 6-15 years old. *Pediatr Pulmonol* 1999; 27: 54-58.
56. Artlich A, Busch T, Lewandowski K, Jones S, Gartner L, Fulke KJ. Childhood asthma: exhaled nitric oxide in relation to clinical symptoms. *Eur Respir J* 1999; 13: 1396-1401.
57. Purokivi M, Randell J, Hirvonen MR, Tukainen H. Reproducibility of measurements of exhaled NO, and cell count and cytokine concentrations in induced sputum. *Eur Respir J* 2000; 16: 242-246.
58. Kharitonov SA, Lubec G, Lubec B, Hjelm M, Barnes PJ. L-arginine increases exhaled nitric oxide in normal human subjects. *Clin Sci* 1995; 88: 135-139.
59. Sapienza MA, Kharitonov SA, Horvath I, Chung KF, Barnes PJ. Effect of inhaled L-arginine on exhaled nitric oxide in normal and asthmatic subjects. *Thorax* 1998; 53: 172-175.
60. Sumino H, Nakamura T, Kanda T, Sato K, Sakamaki T, Takahashi T, et al. Effect of enalapril on exhaled nitric oxide in normotensive and hypertensive subjects. *Hypertension* 2000; 36: 934-940.
61. McKnight GM, Smith LM, Drummond RS, Duncan CW, Golden M, Benjamin N. Chemical synthesis of nitric oxide in the stomach from dietary nitrate in humans. *Gut* 1997; 40: 211-214.
62. Olin AC, Aldenbratt A, Ekman A, Ljungkvist G, Jungersten L, Alving K, et al. Increased nitric oxide in exhaled air after intake of a nitrate-rich meal. *Respir Med* 2000; 95: 153-158.
63. Franklin P, Dingle P, Stick S. Raised exhaled nitric oxide in healthy children is associated with domestic formaldehyde levels. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1757-1759.
64. Murphy AW, Platt-Mills TAE, Lobo M, Hayden F. Respiratory nitric oxide levels in experimental human influenza. *Chest* 1999; 114: 452-456.
65. Chambers DC, Ayres JG. Effects of nitrogen dioxide exposure and ascorbic acid supplementation on exhaled nitric oxide in healthy humans subjects. *Thorax* 2001; 56: 774-778.
66. Deykin A, Massaro AF, Coulston E, Drazen JM, Israel E. Exhaled NO following repeated spirometry or repeated plethysmography in healthy individuals. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 261: 1237-1240.
67. Silkoff PE, Wakita S, Chatkin J, Ansarin K, Gutierrez C, Caramori M, et al, Chapman KR. Exhaled nitric oxide after beta2-agonist inhalation and spirometry in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999; 159: 940-944.
68. Phillips CR, Giraud GD, Holden WE. Exhaled nitric oxide during exercise: site of release and modulation by ventilation and blood flow. *J Appl Physiol* 1996; 80: 1865-1871.
69. Kharitonov SA, Logan-Sinclair RB, Busset CM, Shinebourne EA. Peak expiratory nitric oxide differences in men and women: relation to the menstrual cycle. *Br Hearst J* 1994; 72: 243-245.
70. Pendergast DR, Krosney JA, De Roberts D. Effects of immersion in cool water on lung-exhaled nitric oxide at rest and during exercise. *Respir Physiol* 1999; 115: 73-81.
71. Kharitonov SA, Robbins RA, Yates DH, Keatings V, Barnes PJ. Acute and chronic effects of cigarette smoking on exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 609-612.
72. Yates DH, Breen H, Thomas PS. Passive smoke inhalation decreases exhaled nitric oxide in normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1043-1046.

73. Persson MG, Gustafson LE. Ethanol can inhibit nitric oxide production. *Eur Respir J* 1992; 5: 99-100.
74. Olin AC, Ljungkvist G, Bake B, Hayberg S, Henriksson L, Toren K. Exhaled nitric oxide among pulp mill workers reporting gassing incidents involving ozone and chlorine dioxide. *Eur Respir J* 1999; 14: 828-831.
75. Nightingale JA, Rogers DS, Barnes PJ. Effect of inhaled ozone on exhaled nitric-oxide, pulmonary function, and induced sputum in normal and asthmatic subjects. *Thorax* 1999; 54: 1061-1069.
76. Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J* 1993; 6: 1368-1370.
77. Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan-Sinclair R, Shinebourne EA, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994; 343: 133-135.
78. Martin V, Bryden K, Devoy M, Howarth P. Increased levels of exhaled nitric oxide during nasal and oral breathing in subjects with seasonal rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 768-772.
79. Henriksen AH, Sue-Chu M, Holmen TL, Laughhammen A, Bjerner L. Exhaled and nasal NO levels in allergic rhinitis: relation to sensitization, pollen season and bronchial hyperresponsiveness. *Eur Respir J* 1999; 13: 301-306.
80. Kharitonov SA, Wells AU, O'Connor BJ, Cole PJ, Hansell DM, Logan-Sinclair RB, et al. Elevated levels of exhaled nitric oxide in bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1889-1893.
81. Chatkin JM, Ansarin K, Silkoff PE, McClean P, Gutiérrez C, Zamel N, et al. Exhaled nitric oxide as a noninvasive assessment of chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1810-1813.
82. Gabbay E, Walters EH, Orsida B, Whitford H, Ward Ch, Kotrimbos TC, et al. Post-lung transplant bronchiolitis obliterans syndrome (BOS) is characterized by increased exhaled nitric oxide levels and epithelial inducible nitric oxide synthase. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 2182-2187.
83. Thomas SR, Kharitonov SA, Scott SF, Hodson ME, Barnes PJ. Nasal and exhaled nitric oxide is reduced in adult patients with cystic fibrosis and does not correlate with cystic fibrosis genotype. *Chest* 2000; 117: 1085-1089.
84. Elphick HE, Demoncheaux EAG, Ritson S, Higenbottom TW, Everard ML. Exhaled nitric oxide is reduced in infants with cystic fibrosis. *Thorax* 2001; 56: 151-152.
85. Mondley YP, Lallou UG. Exhaled nitric oxide is elevated in patients with progressive systemic sclerosis without interstitial lung disease. *Chest* 2001; 119: 1449-1454.
86. Kharitonov SA, Cailles JB, Black CM, Du Bois RM, Barnes PJ. Decreased nitric oxide in the exhaled air of systemic sclerosis patients with pulmonary hypertension. *Thorax* 1997; 52: 1051-1055.
87. Karaday B, James AJ, Gultekin E, Wilson NM, Bush A. Nasal and lower airway level of nitric oxide in children with primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J* 1999; 13: 1402-1405.
88. Paredi P, Kharitonov SA, Loukides S, Pantelidis P, Du Bois RM, Barnes PJ. Exhaled nitric oxide is increased in active fibrosing alveolitis. *Chest* 1999; 115: 1352-1356.
89. Kaneko FT, Arroliga AC, Dweik RA, Comhair SA, Laskowski D, Opedisana R, et al. Biochemical reaction products of nitric oxide as quantitative markers of primary pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 917-923.
90. Wong CH, Liu CY, Lin HC, Yu CT, Chung KF, Kuo HP. Increased exhaled nitric oxide in active pulmonary tuberculosis due to inducible NO synthase upregulation in alveolar macrophages. *Eur Respir J* 1998; 11: 809-815.
91. Liu CY, Wang CH, Chen TC, Lin HC, Yu CT, Kuo HP. Increased level of exhaled nitric oxide and up-regulation of inducible nitric oxide synthase in patients with primary lung cancer. *Br J Cancer* 1998; 78: 534-541.
92. Brett SJ, Evans TW. Measurement of endogenous nitric oxide in the lungs of patients with the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 993-997.
93. Corradi M, Majori M, Cacciani GC, Consigli GF, de Munari E, Pesci A. Increased exhaled nitric oxide in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999; 54: 572-575.
94. Maziak W, Loukides S, Calpitt S, Sullivan P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 157: 998-1002.
95. Ausarin K, Chatkin JM, Ferreira MI, Gutierrez CA, Zamel N, Chapman KR. Exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease: relationship to pulmonary function. *Eur Respir J* 2001; 17: 934-938.
96. Montuschi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled carbon monoxide and nitric oxide in COPD. *Chest* 2001; 120: 496-501.
97. Kanazawa H, Shoji S, Yoshikawa T, Hirata K, Yoshikawa J. Increased production of endogenous nitric oxide in patients with bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 1244-1250.
98. Denle FM, Sippel JM, Osborne ML, Law S, Thakkani N, Holden WE. Increased exhaled nitric oxide in chronic bronchitis. Comparison with asthma and COPD. *Chest* 2000; 117: 695-701.
99. Rutgers SR, van der Mark ThW, Coers W, Moshage H, Timens W, Kauffman HF, et al. Markers of nitric oxide metabolism in sputum and exhaled air are not increased in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999; 54: 576-580.
100. Clini E, Bianchi L, Pagani M, Ambrosino N. Endogenous nitric oxide in patients with stable COPD: correlates with severity of disease. *Thorax* 1998; 53: 881-883.
101. Papi A, Romagnoli M, Baraldo S, Braccioni F, Guzzinati I, Saetta M, et al. Partial reversibility of airflow limitation and increased exhaled NO and sputum eosinophilia in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1773-1777.
102. Agusti AGN, Villaverde JM, Togores B, Bosch M. Serial measurements of exhaled nitric oxide during exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1999; 14: 523-528.
103. Prieto L, Gutiérrez V. Las limitaciones del modelo funcional de respuesta a la provocación bronquial con alérgenos en el asma. *Alergol Inmunol Clin* 2000; 15: 77-81.
104. Barnes PJ, Kharitonov SA. Exhaled nitric oxide: a new lung function test. *Thorax* 1996; 51: 233-237.
105. Paredi P, Leckie MJ, Horvath I, Allegra L, Kharitonov SA, Barnes PJ. Changes in exhaled carbon monoxide and nitric oxide levels following allergen challenge in patients with asthma. *Eur Respir J* 1999; 13: 48-52.
106. Khatri SB, Ozkan M, McCarty K, Laskowski D, Hammel J, Dweik RA, et al. Alterations in exhaled gas profile during allergen-induced asthmatic response. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1844-1848.
107. Obata H, Dittrick M, Chan H, Chan-Yeung M. Sputum eosinophils and exhaled nitric oxide during late asthmatic reaction in patients with western red cedar asthma. *Eur Respir J* 1999; 13: 489-495.
108. Piacentini GL, Badini A, Costella S, Vicentini L, Mazzi P, Sperandio S, et al. Exhaled nitric oxide and sputum eosinophil markers of inflammation in asthmatic children. *Eur Respir J* 1999; 13: 1386-1390.

109. Piacentini GL, Badini A, Costella S, Vicentini L, Peroni D, Zanolla L, et al. Allergen avoidance is associated with a fall in exhaled nitric oxide in asthmatic children. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 1323-1324.
110. Simpson A, Custovic A, Pipis S, Adisesh A, Faragher B, Woodcock A. Exhaled nitric oxide, sensitization, and exposure to allergens in patients with asthma who are not taking inhaled steroids. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 45-49.
111. Baraldi E, Carra S, Dario G, Azzolin N, Ongara R, Marcer G, et al. Effect of natural grass pollen exposure on exhaled nitric oxide in asthmatic children. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 262-266.
112. Piacentini GL, Bodini A, Costella S, Vicentini L, Mazi P, Suzuki Y, et al. Exhaled nitric oxide in asthmatic children exposed to relevant allergens: effect of flunisolide. *Eur Respir J* 2000; 15: 730-734.
113. Piacentini GI, Del Giudice MJM, Badini A, Costella S, Vicentini L, Peroni D, et al. Exhaled NO reduced on allergen avoidance. *Allergy* 2001; 56: 251-252.
114. Kharitonov SA, Sapienza MA, Barnes PJ, Chung KF. Prostaglandins E2 and F2a reduce exhaled nitric oxide in normal and asthmatic subjects irrespective of airway caliber changes. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1374-1378.
115. Terada A, Fujisawa T, Togashi K, Miyazaki T, Katsumata H, Atsuta J, et al. Exhaled nitric oxide decreases during exercise-induced bronchoconstriction in children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1877-1884.
116. Taylor DA, Mc Grath JL, O'Connor BJ, Barnes PJ. Allergen-induced early and late asthmatic responses are not affected by inhibition of endogenous nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 156: 99-106.
117. Ho LP, Wood FJ, Robson A, Innes JA, Greening AP. Atopy influences exhaled nitric oxide levels in adult asthmatics. *Chest* 2000; 118: 1327-1331.
118. Ludviksdottir D, Janson C, Hayman M, Hedenstrom H, Bjornsson E, Boman G. Exhaled nitric oxide and its relationship to airway responsiveness and atopy in asthma. *Respir Med* 1999; 93: 552-556.
119. Gratziau Ch, Lignos M, Dassion M, Roussos Ch. Influence of atopy on exhaled nitric oxide in patients with stable asthma and rhinitis. *Eur Respir J* 1999; 14: 897-901.
120. Henriksen AH, Holmen TL, Bjermer L. Sensitization and exposure to pet allergens in asthmatics versus non-asthmatics with allergic rhinitis. *Respir Med* 2000; 95: 122-129.
121. Gratziau C, Rovina N, Lignos M, Vogialzis I, Roussos Ch. Exhaled nitric oxide in seasonal allergic rhinitis: influence of pollen season and therapy. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 409-416.
122. Prieto L, Gutiérrez V, Uixera S. Exhaled nitric oxide and bronchial responsiveness to adenosine 5'-monophosphate in subjects with allergic rhinitis. *Chest* (en prensa).
123. Horvath I, Barnes PJ. Exhaled monoxides in asymptomatic atopic subjects. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 1276-1280.
124. Moody A, Fergusson W, Wells A, Bartley J, Kolbe J. Increased nitric oxide production in the respiratory tract in asymptomatic Pacific Islanders: An association with skin prick reactivity to house dust mite. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 895-899.
125. Gutiérrez V, Prieto L, Torres V, Morales C, González E. Peak flow variability and sputum eosinophilia in allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998; 81: 143-150.
126. Prieto L, Uixera S, Gutiérrez V, Bruno S. Modifications of airway responsiveness to adenosine 5'-monophosphate and exhaled nitric oxide concentrations after the pollen season in subjects with pollen-induced rhinitis. *Chest* (en prensa).
127. Konno S, Hizawa N, Yamaguchi E, Jinushi E, Nishimura M. (CCCTT)n repeat polymorphism in the NOS2 gene promoter is associated with atopy. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 810-814.
128. Jatakanon A, Kharitonov S, Lim S, Barnes PJ. Effect of differing doses of inhaled budesonide on markers of airway inflammation in patients with mild asthma. *Thorax* 1999; 54: 108-114.
129. van Rensen ELJ, Straathof KCM, Veselik-Charvat MA, Zwinderman AH, Bel EH, Sterk PJ. Effect of inhaled steroids on airway hyperresponsiveness, sputum eosinophils, and exhaled nitric oxide levels in patients with asthma. *Thorax* 1999; 54: 403-408.
130. Kharitonov SA, Yates DH, Barnes PJ. Inhaled glucocorticoids decrease nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 163: 454-457.
131. Lim S, Jatakanon A, John M, Gilbey T, O'Connor BJ, Chung KF, et al. Effect of inhaled budesonide on lung function and airway inflammation. Assessment by various inflammatory markers in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 22-30.
132. Lanz MJ, Essendohr C, Llabre MM, Toledo Y, Lanz MA. The effect of low-dose inhaled fluticasone propionate on exhaled nitric oxide in asthmatic patients and comparison with oral zafirlukast. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001; 87: 283-288.
133. Massaro AF, Gaston B, Kita D, Fanta Ch, Stamler JS, Drazen JM. Exhaled nitric oxide levels during treatment of acute asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 800-803.
134. Loppow D, Schleiss MB, Kannies F, Taube C, Jorres RA, Mag-nussen H. In patients with chronic bronchitis a four week trial with inhaled steroids does not attenuate airway inflammation. *Respir Med* 2000; 95: 115-129.
135. Ferreira MI, Hazari MS, Gutierrez C, Zamel N, Chapman K. Exhaled nitric oxide and hydrogen peroxide in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Effects of inhaled beclomethasone. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1012-1015.
136. Silkoff PF, Mc Clean P, Spino M, Erlich LA, Slutsky AS, Zamel N. Dose-response relationship and reproducibility of the fall in exhaled nitric oxide after inhaled beclomethasone dipropionate therapy in asthma patients. *Chest* 2001; 119: 1322-1328.
137. Bisgaard H, Loland L, Aubier J. NO in exhaled air of asthmatic children is reduced by the leukotriene receptor antagonist montelukast. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1227-1231.
138. Lim S, Tomita K, Carramori G, Jatakanon A, Oliver B, Keller A, et al. Low-dose theophylline reduces eosinophilic inflammation but not exhaled nitric oxide in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 273-276.
139. Garnier P, Fujac I, Dessanges JF, Dell'Ara-Santucci J, Lockhart A, Dinh-Xuan AT. Exhaled nitric oxide during acute changes of airways calibre in asthma. *Eur Respir J* 1996; 9: 1134-1138.
140. Silkoff PE, Wakita S, Chatkin J, Ansarin K, Gutierrez C, Caramori M, et al. Exhaled nitric oxide after b2-agonist inhalation and spirometry in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 940-944.
141. Borish LC, Nelson HS, Lanz MJ, Claussen L, Whitmore JB, Agusti JM, et al. Interleukin-4 receptor in moderate atopic asthma. A phase III randomized, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1816-1823.
142. Silkoff PE, Milgrom H, Tran ZV, Romero F, Townley R, Gupta N, et al. Exhaled nitric oxide (ENO) and anti-inflammatory effects of a recombinant humanized monoclonal antibody to IgE (RHUMAB-E25) in pediatric asthma. *Chest* 2000; 118 (suppl): 101s (abstract).
143. Stirling RG, Kharitonov SA, Campbell D, Robinson DS, Durham SR, Chung KF, et al. Increase in exhaled nitric oxide levels in patients with difficult asthma and correlation with symptoms and disease severity.

- rity despite treatment with oral and inhaled corticosteroids. *Thorax* 1998; 53: 1030-1034.
144. Horvath I, Donnelly LC, Kiss A, Kharitonov SA, Lim S, Chung KF, et al. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1042-1046.
145. Chan-Yeung M, Obata H, Dittrick M, Chan H, Abboud R. Airway inflammation, exhaled nitric oxide, and severity of asthma in patients with western red cedar asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1434-1438.
146. Al-Ali MK, Ennes C, Howarth P. Exhaled nitric oxide: relationship to clinico-physiological markers of asthma severity. *Respir Med* 1998; 92: 908-913.
147. Silvestri M, Spallarossa D, Yourukava VF, Battistini E, Fregonese B, Rossi GA. Orally exhaled nitric oxide levels are related to the degree of blood eosinophilia in atopic children with mild-intermittent asthma. *Eur Respir J* 1999; 13: 321-326.
148. Crater SE, Peters EJ, Martin ML, Murphy AW, Platts-Mills TAE. Exhaled nitric oxide and airway obstruction in asthma patients with an acute exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 806-811.
149. Lim S, Jatakanon A, Meah S, Oates T, Chung KF, Barnes PJ. Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in mild to moderately severe asthma. *Thorax* 2000; 55: 184-188.
150. Silvestri M, Spallarossa D, Battistini E, Brusasco V, Rossi GA. Dissociation between exhaled nitric oxide and hyperresponsiveness in children with mild intermittent asthma. *Thorax* 2000; 55: 484-488.
151. Ichinose M, Takahashi T, Sugiura H, Endoh N, Miura M, Mashito Y, et al. Baseline airway hyperresponsiveness and its reversible component: role of airway inflammation and airway calibre. *Eur Respir J* 2000; 15: 248-253.
152. Piacentini GL, Badini A, Costela S, Suzuki Y, Zerman L, Peterson CGB, et al. Exhaled nitric oxide, serum ECP and airway responsiveness in mild asthmatic children. *Eur Respir J* 2000; 15: 839-843.
153. Jatakanon A, Lim S, Kharitonov SA, Chung KF, Barnes PJ. Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax* 1999; 53: 91-95.
154. Berlyne GS, Parameswaran K, Kamada D, Efthimiadis A, Hargrave FE. A comparison of exhaled nitric oxide and induced sputum as markers of airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 638-644.
155. De Gouw HWFM, Grünberg K, Schot R, Krols ACM, Dick EC, Sterk PJ. Relationship between exhaled nitric oxide and airway hyperresponsiveness following experimental rhinovirus infection in asthmatic subjects. *Eur Respir J* 1998; 11: 126-132.
156. Dupont LJ, Rochette F, Demedts MG, Verleden GM. Exhaled nitric oxide correlates with airway hyperresponsiveness in steroid-naïve patients with mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 894-898.
157. Verleden GM, Dupont LJ, Verpent AC, Demedts MG. The effect of cigarette smoking on exhaled nitric oxide in mild steroid-naïve asthmatics. *Chest* 1999; 116: 59-64.
158. Van den Toors LM, Prins JB, Overbeek SE, Hoogsteden HC, de Jongste JC. Adolescents in clinical remission of atopic asthma have elevated exhaled nitric oxide levels and bronchial hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 953-957.
159. Scollo M, Zanconato S, Ongaro R, Zaramella C, Zacchello F, Baraldi E. Exhaled nitric oxide and exercise-induced bronchoconstriction in asthmatic children. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1047-1050.
160. Leuppi JD, Salome CM, Jenkins CR, Koskela H, Brannan JD, Anderson SD, et al. Markers of airway inflammation and airway hyperresponsiveness in patients with well-controlled asthma. *Eur Respir J* 2001; 18: 444-450.
161. Van den Berge M, Kerstjens HAM, Meijer RJ, De Reus DM, Koëter GH, Kauffman HF, et al. Corticosteroid-induced improvement in the PC<sub>20</sub> of adenosine monophosphate is more closely associated with reduction in airway inflammation than improvement in the PC<sub>20</sub> of methacholine. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1127-1132.
162. Prieto L, Gutiérrez V, Torres V, Uixera S, Marín J. Effect of salmeterol on seasonal changes in airway responsiveness and exhaled nitric oxide in pollen-sensitive asthmatic subjects. *Chest* (en prensa).
163. Frank TL, Adisesh A, Pickering AC, Morrison JFK, Wright T, Francis H, et al. Relationship between exhaled nitric oxide and childhood asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1032-1036.
164. Tsujino I, Nishimura M, Kamachi A, Makita H, Munakata M, Miyamoto K, et al. Exhaled nitric oxide. Is it really a good marker of airway inflammation? *Respiration* 2000; 67: 645-651.
165. Payne DNP, Adcock MI, Wilson NM, Oates T, Scallan M, Busch A. Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in children with difficult asthma, after treatment with oral prednisolone. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1376-1381.
166. Van den Toorn LM, Overbeek SE, De Jongste JC, Leman K, Hoogsteden HC, Prins JB. Airway inflammation is present during clinical remission of atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 2107-2113.
167. Crimi E, Spanavello A, Neri M, Ind AW, Rossi GA. Dissociation between airway inflammation and airway hyperresponsiveness in allergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 4-9.
168. Djukanovic R, Wilson JW, Britten KW, Wilson SJ, Walls AF, Roche WR, et al. Quantitation of mast cells and eosinophils in the bronchial mucosa of symptomatic atopic asthmatics and healthy control subjects using immunohistochemistry. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 863-871.
169. Rosi E, Ronchi MC, Grazzini M, Duranti R, Scano G. Sputum analysis, bronchial hyperresponsiveness, and airway function in asthma: results of a factor analysis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 232-237.
170. Pizzichini MMM, Pizzichini E, Clelland L, Efthimiadis A, Mahony J, Dolovich J, et al. Sputum in severe exacerbations of asthma. Kinetics of inflammatory indices after prednisone treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1501-1508.
171. Faul JL, Leonard CT, Burke CM, Tormey VJ, Poulter LW. Fluticasone propionate induced alterations to lung function and the immunopathology of asthma over time. *Thorax* 1998; 53: 753-761.
172. Jatakanon A, Lim S, Barnes PJ. Changes in sputum eosinophils predict loss of asthma control. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 64-72.
173. Leuppi JD, Salome ChM, Jenkins ChR, Anderson SD, Xuan W, Marks GB, et al. Predictive markers of asthma exacerbation during stepwise dose reduction of inhaled corticosteroids. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 406-412.
174. Jones SL, Kittelson J, Cowan JO, Flannery EM, Hancox RJ, Mc Lachlan ChR, et al. The predictive value of exhaled nitric oxide measurements in assessing changes in asthma control. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 738-743.
175. Kharitonov SA, Barnes PJ. Does exhaled nitric oxide reflect asthma control?. Yes, it does!. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 727-728.