

Óxido nítrico exhalado en el asma infantil

Exhaled nitric oxide in pediatric asthma

Dr. Francisco Álvarez Caro^a, Lic. Alejandro Pérez Guirado^a, Lic. Paloma Ruiz del Árbol Sánchez^b, Lic. Ángeles de Miguel Mallén^b y Dr. Prof. Francisco Álvarez Berciano^c

RESUMEN

El óxido nítrico exhalado se ha convertido en una nueva arma diagnóstica en la práctica clínica diaria en pediatría. En este sentido, la medición del óxido nítrico proporciona una valiosa información acerca de la naturaleza de la inflamación subyacente; puede tener utilidad tanto para el diagnóstico de asma como para distinguir qué pacientes se pueden beneficiar más del tratamiento antiinflamatorio. Además, puede ser útil en la predicción de exacerbaciones y como guía para efectuar modificaciones terapéuticas. Por todo ello, el pediatra debe conocer su interpretación y aplicaciones. Este artículo revisa sus principales aplicaciones en el asma pediátrico.

ABSTRACT

Exhaled nitric oxide has become a new diagnostic tool in pediatric daily practice. It provides valuable information on the nature of the underlying inflammation, being useful to establish the diagnosis and to differentiate which patients could benefit more from the anti-inflammatory treatment. As well, it can be useful in predicting asthmatic exacerbations and be used as a guide to make therapeutic modifications. Taking everything into account, the pediatrician has to know its interpretation and its applications. This manuscript reviews the main applications of exhaled nitric oxide in pediatric asthma.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento sobre el papel del óxido nítrico (NO) ha cambiado mucho en los últimos años. En 1987 se descubrió que, el factor relajante endotelial, no era otro que el radical libre NO. Hoy se conoce su importante participación en la mayoría de los sistemas orgánicos biológicos. A nivel vascular se comporta como potente vasodilatador, pero a nivel respiratorio como broncodilatador; potencia la actividad ciliar y es un importante neurotransmisor de la vía no adrenérgica, no colinérgica.^{1,2}

El NO es un radical libre gaseoso, que se forma en la vía aérea y en el endotelio vascular por acción de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) que

actúa oxidando la L-arginina a citrulina, para formar NO.³

Se han identificado tres isoformas de la NOS, de las cuales dos son constitutivas (inducen la formación de NO en condiciones normales y son reguladas por estímulos naturales biológicos) y una inducible (su expresión aumenta en estados inflamatorios).^{4,5}

- Tipo I, óxido nítrico sintasa constitutiva neuronal (ncNOS, por su sigla en inglés), identificada por primera vez en estructuras nerviosas.
- Tipo II, óxido nítrico sintasa inducible (iNOS, por su sigla en inglés), producida fundamentalmente por macrófagos.
- Tipo III, óxido nítrico sintasa constitutiva endotelial (ecNOS, por su sigla en inglés), producida mayoritariamente por células endoteliales vasculares.

Las NOS constitutivas (ncNOS y ecNOS) son calcio-calmodulina dependientes y se activan por elevaciones del calcio intracelular en respuesta a determinados estímulos biológicos.

La iNOS no es calcio-calmodulina dependiente y se sintetiza fundamentalmente en los macrófagos alveolares en respuesta a estímulos inflamatorios inducidos por citoquinas, como interferón gamma, factor de necrosis tumoral alfa, factor de necrosis tumoral beta, interleucina 1 y endotoxinas.^{4,5}

Dada la escasa relevancia del NO producido por las NOS constitucionales, cualquier elevación significativa del NO estará relacionada con el grado de inflamación existente, y en el caso del NO exhalado, con el grado de inflamación pulmonar. Por tanto, la concentración de NO en el aire exhalado se comporta como un medidor de la inflamación pulmonar, es decir, como un "inflamómetro".

- a. Servicio de Pediatría. Hospital Carmen y Severo Ochoa, Cangas del Narcea.
- b. Servicio de Pediatría. Hospital Central de Asturias, Oviedo.
- c. Área de Pediatría. Facultad de Medicina. Universidad de Oviedo. Asturias.

Correspondencia:
Dr. Francisco
Álvarez Caro:
franciscoalvarez130@
msn.com

Conflicto de intereses:
Ninguno que declarar.

Recibido: 19-7-10
Aceptado: 20-8-10

El NO ejerce determinados efectos sobre la vía aérea:

- Relajador del músculo liso, vascular y bronquial; siendo mayor sobre los vasos que sobre los bronquios, por lo que el edema de la mucosa bronquial secundario a la vasodilatación predomina sobre el efecto broncodilatador, siendo el resultado neto la obstrucción de la vía aérea.^{6,7}
- En presencia de anión superóxido es oxidado a peroxinitrito (OOON-), potente tóxico que contribuye al daño del epitelio bronquial característico del asma.^{8,9}
- Algunos estudios señalan que promueve la diferenciación linfocitaria TH₂ sobre la TH₁ y favorece la hiperproducción de interleucina 4 y 5, ambas características del asma atópico.¹⁰
- Otros trabajos señalan que inhibe la apoptosis eosinofílica y favorece la eosinofilia característica del asma.¹¹

VALORACIÓN DE LA INFLAMACIÓN EN EL ASMA

El hallazgo fundamental en la patogenia del asma es la inflamación crónica de la vía aérea, caracterizada por la presencia de células inflamatorias y liberación de mediadores de la inflamación. Consiguientemente, el tratamiento con agentes antiinflamatorios, especialmente corticoides inhalados y antileucotrienos, constituye un pilar fundamental.¹²

En este sentido, el instaurar y modificar el tratamiento antiinflamatorio se basa habitualmente en la frecuencia de síntomas y gravedad de las crisis comunicadas por el niño o los padres.

Sin embargo, la relación entre el grado de inflamación bronquial y la frecuencia de síntomas clínicos, grado de control o gravedad del asma, es en muchos casos débil o ausente.¹³⁻¹⁵ De igual modo, las pruebas de función pulmonar se correlacionan muy débilmente con el grado de inflamación de la vía aérea.^{15,16} Esta falta de correlación implica que las decisiones terapéuticas, en ocasiones, puedan ser inapropiadas.

Es por ello, que los primeros artículos científicos que relacionaron la concentración de la fracción exhalada de NO (FeNO) con grado de inflamación eosinofílica, generaron grandes expectativas para el FeNO como marcador de inflamación en el manejo del asma.¹⁷⁻¹⁹

La medición del FeNO es un método no invasivo, fácilmente reproducible, que proporciona información valiosa del estado del niño asmático, lo cual le confiere el valor de ser una herramienta útil para monitorizar el tratamiento.

SISTEMAS DE MEDIDA

Entre los sistemas de medida, tradicionalmente se ha empleado el método de quimioluminiscencia.²⁰ Se trata de dispositivos costosos, estáticos, que precisan mantenimiento y calibración periódicos. La medición puede realizarse *on-line* (a tiempo real) u *off-line* (el aire se almacena y se cuantifica con posterioridad). Son equipamientos de alta fiabilidad, pero que por su complejidad quedan restringidos a laboratorios de fisiología respiratoria o a fines de investigación.

También disponemos de un medidor portátil, que utiliza un método electroquímico, con la ventaja de ser de manejo sencillo y no requerir calibración. Además, sigue las recomendaciones de la Sociedad Estadounidense del Tórax (*American Thoracic Society*, ATS) y de la Sociedad Respiratoria Europea (*European Respiratory Society*, ERS), ha demostrado excelente concordancia con el método de quimioluminiscencia, presenta buena repetibilidad y puede ser realizado por la mayoría de niños colaboradores (>4-5 años).^{19,21,22}

El niño debe vaciar completamente sus pulmones, luego debe inspirar profundamente a través de un filtro desechable que se incorpora en cada medición, para eliminar el NO del aire ambiental. A continuación se realiza una espiración a flujo constante, que debe ser de 50 ml/seg. Para ello, el niño debe mantener una animación dentro del límite superior e inferior durante toda la espiración que debe durar unos 10 segundos. Finalmente, una vez realizada la prueba, aparecen en la pantalla los valores de FeNO expresados en partes por billón (ppb).

VALORES DE REFERENCIA Y FACTORES MODIFICADORES

Los valores de referencia presentan un amplio intervalo de variabilidad. En la *Tabla 1* se recogen los factores no relacionados con la inflamación eosinofílica que lo pueden influenciar.

El primero de ellos es la tasa de flujo espiratorio,^{23,24} de modo que su concentración se relaciona inversamente con el flujo. Para evitar este factor confusorio, las ATS/ERS establecen una tasa de flujo de 50 ml/seg como patrón de medición.²² Otro factor es la concentración de NO en el aire ambiental,²³ por lo que se recomienda la inhalación de aire con una concentración de NO inferior a 5 ppb.²²

Además sus valores varían con la edad; son más elevados en adultos que en niños y, en éstos, tanto más cuanto mayor sea su edad. Se ha sugerido que el crecimiento y el consiguiente aumento de la superficie de la vía aérea podría ser el responsable.²⁵⁻²⁷

La etnia también influye; así, la etnia china tiene valores más elevados que la caucásica, por variaciones en la secuencia del gen que codifica la iNOS.²⁸

El ejercicio físico^{29,30} o la espiración forzada^{31,32} pueden producir una reducción transitoria del FeNO, de ahí la relevancia de la cronología de las pruebas funcionales, siendo importante realizar su determinación antes de cualquier otra técnica, como la espirometría.

La obstrucción de la vía aérea,^{31,33} lo mismo que el alcohol o el tabaco,^{34,35} reduce el FeNO. Por el contrario, alimentos ricos en nitratos aumentan sus valores, por lo que conviene evitarlos antes de su medición.³⁶

Teniendo en cuenta estos factores se acepta que el intervalo de referencia de FeNO es el que se recoge en la *Tabla 2*.

Entre los factores inflamatorios que pueden aumentar el FeNO, destacan las infecciones del tracto respiratorio superior.³⁷⁻⁴¹ Durante la infección viral se produce un aumento de expresión de la iNOS, demostrado para el virus influenza A, vi-

rus sincicial respiratorio y rinovirus, por lo cual las recomendaciones de la ATS/ERS recomiendan posponer su medición hasta haber desaparecido por completo la infección.²²

Otro factor que aumenta el FeNO es el estado atópico. Los niveles de FeNO en sujetos atópicos son más elevados que en no atópicos, con independencia de los síntomas asmáticos.⁴²⁻⁴⁵ Otros estudios muestran que el FeNO se correlaciona con la concentración de IgE total, IgE específica y el grado de positividad de la prueba de dermopunción (*prick test*), tanto en alérgicos con asma como en alérgicos no asmáticos.^{42,43,46-48} En cualquier caso, las concentraciones de FeNO en los sujetos atópicos son más altas que en los asmáticos no atópicos y la atopía es un cofactor importante en la variación de sus valores, tanto en asmáticos como en no asmáticos.^{43,46,49,50}

No obstante, además del asma, atopía e infecciones respiratorias, los valores de FeNO pueden verse modificados en enfermedades respiratorias y extrarrespiratorias (*Tabla 3*).

TABLA 1. Factores no inflamatorios que influyen en el FeNO

Factor	Efecto sobre el FeNO
Flujo espiratorio	Disminución a flujos altos
Contaminación ambiental	Puede aumentar valores
Edad	Aumento
Sexo	No efecto claro en niños
Etnia	Valores más elevados en etnia china
Espirometría	Reducción transitoria
Ejercicio	Reducción transitoria
Obstrucción bronquial	Reducción
Alcohol	Reducción
Alimentos ricos en nitratos	Aumento
Fumador activo	Reducción
Fumador pasivo	Incierto
Hora del día	Incierto

FeNO: fracción exhalada de NO.

TABLA 2. Valores de referencia de FeNO (partes por billón)

	Bajo	Normal	Intermedio	Alto
Inflamación eosinofílica	Ausente	Improbable	Presente pero leve	Importante
Adultos	< 5	5-25	25-50	> 50
Niños	< 5	5-25	25-35	> 35

FeNO: fracción exhalada de NO.

TABLA 3. FeNO en distintas enfermedades

FeNO elevado	Cambios variables en el FeNO	FeNO disminuido
Asma	Bronquiectasias	Fibrosis quística
Rinitis alérgica	Displasia broncopulmonar	Discinesia ciliar
Infecciones víricas	Alveolitis fibrosante	Síndrome de dificultad respiratorio
Bronquiolitis obliterante	Sarcoidosis	
Bronquitis eosinofílica	EPOC	
Síndrome hepatopulmonar		
Cirrosis hepática		

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; FeNO: fracción exhalada de NO.

Es destacable que la fibrosis quística (FQ) presente valores bajos de FeNO, en parte porque su inflamación no es eosinofílica, sino neutrofílica, existiendo además una expresión disminuida de iNOS⁵¹⁻⁵³ y un aumento de actividad de la enzima arginasa, que disminuye la cantidad de sustrato para la formación de NO.^{54,55}

La discinesia ciliar primaria presenta igualmente expresión disminuida de iNOS,⁵⁶⁻⁵⁹ pero el hecho más llamativo de esta entidad es que los valores de NO nasal (nNO) son extremadamente bajos, lo cual hace que su determinación pueda ser una herramienta de pesquisa previa a la biopsia bronquial.

APLICACIONES DEL FeNO EN EL ASMA PEDIÁTRICO

En este sentido, está bien establecido que:

- El FeNO se correlaciona con el grado de inflamación eosinofílica de la vía aérea. Así lo exponen trabajos que lo correlacionan con el recuento de eosinófilos en esputo, en lavado broncoalveolar o con el grado de infiltración eosinofílica de la pared bronquial.⁶⁰⁻⁶⁶
- Determinados fármacos, como corticoides inhalados y, en menor medida, antileucotrienos, disminuyen la inflamación eosinofílica y también los valores de FeNO.⁶⁷⁻⁷²

La posible gama de aplicaciones del FeNO se recoge en la *Tabla 4*.

1. **Diagnóstico de asma:** su sensibilidad varía en 47-86% y la especificidad en 92-93%,^{45,73-75} concretamente, Kostikas y cols., tomando como valor límite 19 ppb, obtuvieron una sensibilidad del 67% y una especificidad del 85%.⁷⁶ Mientras que para Narang y cols., tomando como límite valores >25 ppb, el valor predictivo negativo para el diagnóstico de asma fue del 80% y el positivo del 100%.⁵⁹

TABLA 4. Aplicaciones del FeNO

Pesquisa de asma en estudios epidemiológicos.
Diagnóstico de inflamación eosinofílica de la vía aérea.
Predicción de respuesta al tratamiento antiinflamatorio.
Selección de modalidades de tratamiento adicionales a los corticoides inhalados.
Predicción de las exacerbaciones de asma.
Predicción de las recaídas tras la remisión clínica.
Titulación de la dosis de antiinflamatorios.
Adherencia al tratamiento antiinflamatorio.

FeNO: fracción exhalada de NO.

2. **Predicción de la respuesta al tratamiento antiinflamatorio:** el FeNO es un predictor de respuesta al tratamiento antiinflamatorio más fiable que otros métodos de evaluación como la espirometría, la prueba de broncodilatación o la medida de hiperreactividad bronquial.^{77,78} Así, pacientes con valores más altos de FeNO tienen más probabilidades de respuesta al tratamiento esteroideo. Es más, algunos estudios señalan que niños con valores más elevados de FeNO son más proclives a responder a esteroides inhalados que a antileucotrienos.^{79,80} Rabinovitch y cols.⁸¹ se propusieron determinar qué marcadores permitirían identificar una buena respuesta a montelukast. Estudiaron 27 niños asmáticos tratados con montelukast durante 10 semanas. Encontraron que aquellos con una alta relación leucotrieno E4 en orina/FeNO mostraban una mejor respuesta al tratamiento; dicho de otro modo, aquellos con valores más elevados de leucotrieno E4 en orina o más bajos de FeNO serían mejores respondedores al montelukast.
3. **Predicción de las exacerbaciones de asma:** se sabe que los valores de FeNO comienzan a elevarse antes de las exacerbaciones y se mantienen elevados durante ellas.^{82,83} Sin embargo, la evidencia es bastante limitada acerca del papel predictor de las exacerbaciones asmáticas. En este sentido, Fritsch y cols.⁸⁴ le otorgan una sensibilidad del 80% y una especificidad del 60%.
4. **Predicción de las recaídas tras la remisión clínica y supresión del tratamiento antiinflamatorio:** los niveles de FeNO medidos en niños en remisión clínica y un mes después de la supresión del tratamiento antiinflamatorio pueden predecir la aparición de una recaída en los próximos meses. Pjinenburg y cols.⁸³ postulan que el valor límite de 49 ppb tiene un valor predictivo positivo del 92% de recaída en los próximos 6 meses.
5. **Ajuste de la dosis de corticosteroides:** Pjinenburg y cols.⁸⁵ demostraron que cuando las decisiones terapéuticas se basan en la combinación de frecuencia e intensidad de síntomas y valores de FeNO, los resultados terapéuticos son mejores que cuando las decisiones se toman sólo en función de los síntomas. Este dato también fue corroborado por Smith y cols.⁸⁶

Existen varias cuestiones que merecen análisis y consideración. La primera de ellas es que se necesitan ulteriores investigaciones para evaluar el FeNO como guía para modificar los esteroides inhalados; en este sentido, sería de utilidad contar

con dos valores límite para definir tres posibles elecciones terapéuticas: aumento, disminución o mantenimiento de la dosis. Ahora bien, dada la variabilidad de sus valores de unos asmáticos a otros, lo verdaderamente útil sería poder contar con puntos de corte individuales basados en los valores propios de cada paciente. En este sentido, la monitorización domiciliaria del FeNO podría ser una alternativa futura que permitiera conocer los valores propios de cada paciente para permitir tomar decisiones terapéuticas con mejores resultados.

ALGORITMO DE INTERPRETACIÓN

Pjinenburg y cols.⁸³ han desarrollado un algoritmo para la interpretación de los resultados del FeNO (Tabla 5). Algunas consideraciones en relación con este algoritmo son las siguientes:

- *Valores bajos de FeNO (< 5 ppb):* debería excluirse la discinesia ciliar primaria y la FQ.
- *Valores normales de FeNO (5-25 ppb):* implican ausencia de inflamación eosinofílica. En los

niños no tratados con corticoides inhalados deben considerarse otras patologías diferentes del asma atópica. En niños tratados con esteroides inhalados, si están sintomáticos, debería revisarse el diagnóstico y descartar otras patologías.

Por el contrario, si está asintomático, implica buena adherencia al tratamiento y debería intentarse reducir, e incluso suspender, el tratamiento antiinflamatorio.

- *Valores intermedios o moderadamente elevados de FeNO (25-35 ppb):* si no se está recibiendo tratamiento antiinflamatorio, puede indicar la necesidad de instaurarlo, sobre todo si el niño está sintomático. Frecuentemente, indica la existencia de infección viral concomitante o aumento de la exposición alérgica.

Si está recibiendo esteroides inhalados y tiene síntomas, aparte de los supuestos anteriores, debe considerarse que no realice adecuadamente el tratamiento, o que la dosis sea insuficiente.

TABLA 5. Algoritmo de interpretación del FeNO

FeNO (ppb)	Intervalo	Inflamación eosinofílica	Interpretación sin CI	Interpretación con CI
< 5	Bajo	Improbable	<i>Considerar:</i> - Discinesia ciliar primaria - Fibrosis quística	
5-25	Normal	Poco probable	<i>Considerar:</i> - Bronquitis disneizante - Reflujo gastroesofágico - Anomalías congénitas - Inmunodeficiencias - Sinusitis - Disfunción cuerdas vocales - Ansiedad - Hiperventilación	Sintomático: - Revisar diagnóstico Asintomático: - Buena adherencia al tratamiento - Reducir dosis o suspender CI
25-35	Intermedio	Presente en bajo grado	Si sintomático: <i>Considerar:</i> - CI - Infección viral - Exposición alérgica	Sintomático: <i>Considerar:</i> - Infección o exposición alérgica - Escasa adherencia al tratamiento - Técnica inhalatoria incorrecta - Iniciar CI o añadir BAAP o ARLT Asintomático: - No cambiar el tratamiento
> 35	Alto	Significativa	Probable asma Muy probable respuesta a corticoides inhalados	Sintomático: (Ver valor intermedio) <i>Considerar además:</i> - Exacerbación inminente o recaída - Resistencia esteroidea Asintomático: - No cambiar el tratamiento

CI: corticoides inhalados; BAAP: B₂-agonistas de acción prolongada; ARLT: antagonistas de los receptores de los leucotrienos. FeNO: fracción exhalada de NO; ppb: partes por billón.

- *Valores elevados de FeNO (> 35 ppb)*: si existen síntomas, indican inflamación no controlada. Si no está recibiendo esteroides inhalados, el diagnóstico de asma es muy probable y la respuesta a ellos probablemente sea buena, tanto mejor cuanto mayor sea la elevación. En niños ya tratados con esteroides debe considerarse que el tratamiento sea ineficaz, por error de la técnica inhalatoria, incumplimiento terapéutico o infradosificación. En niños sintomáticos pueden indicar la posibilidad de recaída, exacerbación inminente o resistencia al tratamiento esteroideo. Si está asintomático no debería modificarse el tratamiento, ya que intentar bajar la dosis antiinflamatoria, probablemente implicaría gran riesgo de recaída.

CONCLUSIONES

- Como inflamómetro, el FeNO proporciona una valiosa información acerca de la naturaleza de la inflamación subyacente, que complementa a la información clínica y a las pruebas de función pulmonar.
- La determinación del FeNO es un método sencillo, no invasivo y de resultado inmediato.
- La determinación de FeNO en asmáticos refleja valores más elevados que en población no asmática y se correlaciona con otros marcadores de inflamación y con el grado de actividad de la enfermedad.
- El FeNO es útil para ayudar al diagnóstico de asma y para distinguir qué pacientes se pueden beneficiar más del tratamiento antiinflamatorio.
- El FeNO disminuye tras el tratamiento con antiinflamatorios, por lo que su registro nos faculta para emplear más eficientemente dicho tratamiento.
- El FeNO es útil para predecir las exacerbaciones y efectuar la reducción o la supresión de la terapia antiinflamatoria.
- El registro seriado del FeNO es un complemento a la valoración clínica y a la espirometría, que nos permite evaluar la respuesta al tratamiento con corticoides inhalados o antileucotrienos, al par que ayuda a predecir exacerbaciones y permite detectar incumplimiento terapéutico.
- El FeNO es un marcador de inflamación eosinofílica de la vía aérea que tiene el potencial de servir como indicador de la adecuada terapia antiinflamatoria y de racionalizar y mejorar su ajuste en niños asmáticos. ■

BIBLIOGRAFÍA

1. Belvisi MG, Ward JK, Mitchell JA, Barnes PJ. Nitric oxide as a neurotransmitter in human airways. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1995;329:97-110.
2. Combes X, Mazmanian M, Gourlain H, Herve P. Effect of 48 hours of nitric oxide inhalation on pulmonary vasoreactivity in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156: 73-7.
3. Gaston B, Drazen JM, Loscalzo J, Stamler JS. The biology of nitrogen oxides in the airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:538-51.
4. Marletta MA. Nitric oxide synthase: aspects concerning structure and catalysis. *Cell* 1994;78:927-30.
5. Nathan C, Xie QW. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell* 1994;78:915-8.
6. Ialenti A, Ianaro A, Moncada S, Di Rosa M. Modulation of acute inflammation by endogenous nitric oxide. *Eur J Pharmacol* 1992;211:177-82.
7. Kuo HP, Liu S, Barnes PJ. The effect of endogenous nitric oxide on neurogenic plasma exudation in guinea-pig airways. *Eur J Pharmacol* 1992;221:385-8.
8. Brunelli L, Crow JP, Beckman JS. The comparative toxicity of nitric oxide and peroxynitrite to *Escherichia coli*. *Arch Biochem Biophys* 1995;316:327-34.
9. Witzemann TM, Gardner CR, Laskin JD, Quinones S, et al. Production of nitric oxide and peroxynitrite in the lung during acute endotoxemia. *J Leukoc Biol* 1994;56:759-68.
10. Barnes PJ, Liew FY. Nitric oxide and asthmatic inflammation. *Immunol Today* 1995;16:128-30.
11. Hebestreit H, Dibbert B, Balatti I, Braun D, et al. Disruption of gas receptor signaling by nitric oxide in eosinophils. *J Exp Med* 1998;187:415-25.
12. Castillo Laita JA, De Benito Fernández J, Escribano Montaner A, Fernández Benítez M, et al. Consenso sobre tratamiento del asma en pediatría. *An Pediatr (Barc)* 2007;67:253-73.
13. Louis R, Lau LC, Bron AO, Roldaan AC, et al. The relationship between airways inflammation and asthma severity. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161: 9-16.
14. Van den Toorn L, Overbeek SE, de Jongste JC, Leman K, et al. Airway inflammation is present during clinical remission of atopic asthma. *Am J Resp Crit Care Med* 2001;164: 2107-13.
15. Wilson N, Bridge P, Spanevello A, Silverman M. Induced sputum in children: feasibility, repeatability and relation of findings to asthma severity. *Thorax* 2000;55:768-74.
16. Spergel JM, Fogg MI, Boksaczanin-Knosala A. Correlation of exhaled nitric oxide, spirometry and asthma symptoms. *J Asthma* 2005;42: 879-83.
17. Masaro AF, Mehta S, Lilly CM, Kobzik L, et al. Elevated nitric oxide concentrations in isolated lower airways gas of asthmatic subjects. *Am J Resp Crit Care Med* 1996;153: 1510-4.
18. Hyde RW, Geigel EJ, Olszowka AJ, Krasney JA, et al. Determination of production of nitric oxide by lower airways of humans. *J Appl Physiol* 1997;82:1290-6.
19. Paraskakis E, Brindici C, Fleming L, Krol R, et al. Measurement of bronchial and alveolar nitric oxide production in normal children and children with asthma. *Am J Resp Crit Care Med* 2006;174: 260-7.
20. Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, et al. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;181:852-7.
21. Buchvald F, Baraldi E, Carraro S, Gaston B, et al. Measurements of exhaled nitric oxide in healthy subjects age 4 to 17 years. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:1130-6.
22. American Thoracic Society; European Respiratory Society. ATS/ERS Recommendations for standardized procedures

- for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:912-30.
23. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1693-722.
 24. Silkoff PE, McClean PA, Slutsky AS, Furlott HG, 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;155:260-7.
 25. Franklin PJ, Taplin R, Stick SM. A community study of exhaled nitric oxide in healthy children. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:69-73.
 26. Kisson N, Duckworth LJ, Blake KW, Murphy SP, et al. Fe(NO): relationship to exhalation rates and online versus bag collection in healthy adolescents. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:539-45.
 27. Avital A, Uwyyed K, Berkman N, Bar-Yishay E, et al. Exhaled nitric oxide is age-dependent in asthma. *Pediatr Pulmonol* 2003;36:433-8.
 28. Wong GW, Liu EK, Leung TF, Yung E, et al. High levels and gender difference of exhaled nitric oxide in Chinese schoolchildren. *Clin Exp Allergy* 2005;35:889-93.
 29. Kippelen P, Caillaud C, Robert E, Masmoudi K, et al. Exhaled nitric oxide level during and after heavy exercise in athletes with exercise induced hypoxaemia. *Pflugers Arch* 2002;444:397-404.
 30. Scollo M, Zanconato S, Ongaro R, Zaramella C, et al. Exhaled nitric oxide and exercise induced bronchoconstriction in asthmatic children. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1047-50.
 31. Kisson N, Duckworth LJ, Blake KW, Murphy SP, et al. Effect of beta₂-agonist treatment and spirometry on exhaled nitric oxide in healthy children and children with asthma. *Pediatr Pulmonol* 2002;34:203-8.
 32. Deykin A, Masaro AF, Coulston E, Drazen JM, et al. Exhaled nitric oxide following repeated spirometry or repeated plethysmography in healthy individuals. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1237-40.
 33. Garnier P, Fajac I, Dessanges JF, Dall'Áva-Santucci J, et al. Exhaled nitric oxide during acute changes of airways calibre in asthma. *Eur Respir J* 1996;9:1134-8.
 34. Yates DH, Kharitonov SA, Robbins RA, Thomas PS, et al. The effect of alcohol ingestion on exhaled nitric oxide. *Eur Respir J* 1996;9:1130-3.
 35. Kharitonov SA, Robbins RA, Yates D, Keatings V, et al. Acute and chronic effects of cigarette smoking on exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:609-12.
 36. Olin AC, Aldenbratt A, Ekman A, Ljungkvist G, et al. Increased nitric oxide in exhaled air after intake of a nitrate-rich meal. *Respir Med* 2001;95:153-8.
 37. De Gouw HW, Grünberg K, Schot R, Kroes AC, et al. Relationship between exhaled nitric oxide and airway hyperresponsiveness following experimental rhinovirus infection in asthmatic subjects. *Eur Respir J* 1998;11:126-32.
 38. Murphy AW, Platts-Mills TA, Lobo M, Hayden F. Respiratory nitric oxide levels in experimental human influenza. *Chest* 1998;114: 452-56.
 39. Sanders SP, Proud D, Permutt S, Siekierski ES, et al. Role of nasal nitric oxide in the resolution of experimental rhinovirus infection. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:697-702.
 40. Sanders SP, Siekierski ES, Richards SM, Porter JD, et al. Rhinovirus infection induces expression of type 2 NOS in human respiratory epithelial cells *in vitro* and *in vivo*. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:235-43.
 41. Gentile DA, Doyle WJ, Belenky S, Ranck H, et al. Nasal and oral NOS levels during experimental RSV infection of adults. *Act Otolaryngol* 2002;122:61-6.
 42. Franklin PJ, Turner SW, Le Souef PN, Stick SM. Exhaled nitric oxide and asthma: complex interactions between atopy, airway responsiveness, and symptoms in a community population of children. *Thorax* 2003;58:1048-52.
 43. Jouaville LF, Annesi-Maesano I, Nguyen LT, Bocage AS, et al. Interrelationships among asthma, atopy, rhinitis and exhaled nitric oxide in a population-based sample of children. *Clin Exp Allergy* 2003;33:1506-11.
 44. Saito J, Inoue K, Sugawara A, Yoshikawa M, et al. Exhaled nitric oxide as a marker of airway inflammation for an epidemiologic study in schoolchildren. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:512-6.
 45. Brussee JE, Smit HA, Kerkhof M, Koopman LP, et al. Exhaled nitric oxide in 4-year-old children: relationship with asthma and atopy. *Eur Respir J* 2005;25(3):455-61.
 46. Barreto M, Villa MP, Martella S, Ronchetti F, et al. Exhaled nitric oxide in asthmatic and non-asthmatic children: influence of type of allergen sensitization and exposure to tobacco smoke. *Pediatr Allergy Immunol* 2001;12:247-56.
 47. Strunk RC, Szefer SJ, Phillips BR, Zeiger RS, et al. Childhood asthma research and education network of the National heart, lung and blood Institute. Relationship of exhaled nitric oxide to clinical and inflammatory markers of persistent asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112: 883-92.
 48. Cardinale F, de Benedictis FM, Muggeo V, Giordano P, et al. Exhaled nitric oxide, total serum IgE and allergic sensitization in childhood asthma and allergic rhinitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2005;16:236-42.
 49. Frank TL, Adisesh A, Pickering AC, Morrison JF, et al. Relationship between exhaled nitric oxide and childhood asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1032-6.
 50. Silvestri M, Sabatini F, Spallarossa D, Fregonese L, et al. Exhaled nitric oxide levels in non-allergic and allergic mono- or polysensitized children with asthma. *Thorax* 2001;56: 857-62.
 51. Kelley TJ, Drumm ML. Inducible nitric oxide synthase expression is reduced in cystic fibrosis murine and human airway epithelial cells. *J Clin Invest* 1998;102:1200-7.
 52. Downey D, Elborn JS. Nitric oxide, iNOS, and inflammation in cystic fibrosis. *J Pathol* 2000;190:115-6.
 53. Moeller A, Horak F Jr, Lane C, Knight D, et al. Inducible NO synthase expression is low in airway epithelium from young children with cystic fibrosis. *Thorax* 2006;61:514-20.
 54. Grasemann H, Ioannidis I, Tomkiewicz RP, de Groot H, et al. Nitric oxide metabolites in cystic fibrosis lung disease. *Arch Dis Child* 1998;78:49-53.
 55. Grasemann H, Schwiertz R, Grasemann C, Vester U, et al. Decreased systemic bioavailability of L-arginine in patients with cystic fibrosis. *Respir Res* 2006;9:7:87.
 56. Xue C, Botkin SJ, Johns RA. Localization of endothelial NOS at the basal microtubule membrane in ciliated epithelium of rat lung. *J Histochem Cytochem* 1996;44:463-71.
 57. Arnal JF, Flores P, Rami J, Murris-Espin M, et al. Nasal nitric oxide concentration in paranasal sinus inflammatory diseases. *Eur Respir J* 1999;13(2):307-12.
 58. Baraldi E, Pasquale MF, Cangiotti AM, Zanconato S, et al. Nasal nitric oxide is low early in life: case study of two infants with primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J* 2004;24(5):881-3.
 59. Narang I, Ersu R, Wilson NM, Bush A. Nitric oxide in chronic airway inflammation in children: diagnostic use and pathophysiological significance. *Thorax* 2002;57(7):586-9.
 60. Nelson BV, Sears S, Woods J, Ling CY, et al. Expired nitric oxide as a marker for childhood asthma. *J Pediatr* 1997;130(3):423-7.
 61. Mattes J, Storm van's Gravesande K, Reining U, Alving K, et al. NO in exhaled air is correlated with markers of eosinophilic airway inflammation in corticosteroid-dependent childhood asthma. *Eur Respir J* 1999;13(6):1391-5.

62. Piacentini GL, Bodini A, Costella S, Vicentini L, et al. Exhaled nitric oxide and sputum eosinophil markers of inflammation in asthmatic children. *Eur Respir J* 1999;13(6):1386-90.
63. Piacentini GL, Bodini A, Costella S, Suzuki Y, et al. Exhaled nitric oxide, serum ECP and airway responsiveness in mild asthmatic children. *Eur Respir J* 2000;15(5):839-43.
64. van Den Toorn LM, Prins JB, Overbeek SE, Hoogsteden HC, et al. Adolescents in clinical remission of atopic asthma have elevated exhaled nitric oxide levels and bronchial hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162: 953-7.
65. Gibson PG, Henry RL, Thomas P. Noninvasive assessment of airway inflammation in children: induced sputum, exhaled nitric oxide, and breath condensate. *Eur Respir J* 2000;16(5):1008-15.
66. Lex C, Ferreira F, Zacharasiewicz A, Nicholson AG, et al. Airway eosinophilia in children with severe asthma: predictive values of noninvasive tests. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174(12):1286-91.
67. Baraldi E, Azzolin NM, Zanconato S, Dario C, et al. Corticosteroids decrease exhaled nitric oxide in children with acute asthma. *J Pediatr* 1997;131(3):381-5.
68. Tsai YG, Lee MY, Yang KD, Chu DM, et al. A single dose of nebulized budesonide decreases exhaled nitric oxide in children with acute asthma. *J Pediatr* 2001;139(3):433-7.
69. Beck-Ripp J, Griesse M, Arenz S, Köring C, et al. Changes of exhaled nitric oxide during steroid treatment of childhood asthma. *Eur Respir J* 2002;19(6):1015-9.
70. Straub DA, Moeller A, Minocchieri S, Hamacher J, et al. The effect of montelukast on lung function and exhaled nitric oxide in infants with early childhood asthma. *Eur Respir J* 2005;25(2):289-94.
71. Straub DA, Minocchieri S, Moeller A, Hamacher J, et al. The effect of montelukast on exhaled nitric oxide and lung function in asthmatic children 2 to 5 years old. *Chest* 2005;127(2):509-14.
72. Sorkness CA, Lemanske RF Jr, Mauger DT, Boehmer SJ, et al. Childhood asthma research and education network of the National heart, lung and blood Institute. Long-term comparison of 3 controller regimens for mild-moderate persistent childhood asthma: the pediatric asthma controller trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119(1):64-72.
73. Prasad A, Langford B, Stradling JR, Ho LP. Exhaled nitric oxide as a screening tool for asthma in school children. *Respir Med* 2006;100(1):167-73.
74. Thomas PS, Gibson PG, Wang H, Shah S, et al. The relationship of exhaled nitric oxide to airway inflammation and responsiveness in children. *J Asthma* 2005;42(4):291-5.
75. Malmberg LP, Pelkonen AS, Haahtela T, Turpeinen M. Exhaled nitric oxide rather than lung function distinguishes preschool children with probable asthma. *Thorax* 2003;58(6):494-9.
76. Kostikas K, Papaioannou AI, Tanou K, Koutsokera A, et al. Portable exhaled nitric oxide as a screening tool for asthma in young adults during pollen season. *Chest* 2008;133(4): 906-13.
77. Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, Filsell S, et al. Exhaled nitric oxide: a predictor of steroid response. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172(4):453-9.
78. Senna G, Passalacqua G, Schiappoli M, Lombardi C, et al. Correlation among FEV₁, nitric oxide and asthma control test in newly diagnosed asthma. *Allergy* 2007;62(2):207-8.
79. Szefer SJ, Phillips BR, Martínez FD, Chinchilli VM, et al. Characterization of within-subject responses to fluticasone and montelukast in childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115(2):233-42.
80. Zeiger RS, Szefer SJ, Phillips BR, Schatz M, et al. Childhood asthma research and education network of the National heart, lung and blood Institute. Response profiles to fluticasone and montelukast in mild-to-moderate persistent childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117(1):45-52.
81. Rabinovitch N, Strand M, Stuhlman K, Gelfand EW. Exposure to tobacco smoke increases leukotriene E₄-related albuterol usage and response to montelukast. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121(6):1365-71.
82. Roberts G, Hurley C, Bush A, Lack G. Longitudinal study of grass pollen exposure, symptoms, and exhaled nitric oxide in childhood seasonal allergic asthma. *Thorax* 2004;59(9):752-6.
83. Pijnenburg MW, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide in childhood asthma: a review. *Clin Exp Allergy* 2008;38(2):246-59.
84. Fritsch M, Uxa S, Horak F Jr, Putschoegl B, et al. Exhaled nitric oxide in the management of childhood asthma: a prospective 6-months study. *Pediatr Pulmonol* 2006;41(9):855-62.
85. Pijnenburg MW, Bakker EM, Hop WC, De Jongste JC. Titrating steroids on exhaled nitric oxide in children with asthma: a randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172(7):831-6.
86. Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, Herbison GP, et al. Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N Engl J Med* 2005;26;352(21):2163-73.