

# Óxido nítrico exhalado: aplicaciones en pediatría

N. Cobos Barroso

Unidad de Neumología Infantil y Fibrosis Quística. Hospital Materno infantil Vall d'Hebron. Barcelona.

De acuerdo con el concepto actual de asma, las características fundamentales que la definen son tres: la inflamación crónica de la vía aérea, la obstrucción bronquial reversible total o parcialmente y la hiperrespuesta bronquial<sup>1</sup>. Por ello, en general, el control de los síntomas, de la función pulmonar y de la hiperrespuesta se valoran como índices indirectos de la inflamación asmática subyacente<sup>2</sup>.

Sin embargo, no todos los trabajos demuestran una buena correlación entre el grado de obstrucción de la vía aérea y la intensidad de la inflamación, o entre ésta y la hiperrespuesta bronquial<sup>3</sup>, posiblemente debido a que se están valorando distintos aspectos de la enfermedad en tiempos diferentes de su máxima expresión.

Así se comprende que algunos autores afirmen que hasta que dispongamos de mejores marcadores de la inflamación bronquial no invasivos, estos tres componentes del fenotipo asmático deben ser utilizados para optimizar el cuidado de los pacientes<sup>4</sup>.

La inflamación bronquial que en el asmático adulto se demuestra incluso en el asma leve intermitente<sup>5</sup> puede ser objetivada mediante biopsia bronquial o lavado broncoalveolar, determinando en las muestras obtenidas no sólo la estirpe y la densidad celular, sino productos biológicos del tipo de las citocinas proinflamatorias, linfocinas, chemocinas, proteínas derivadas del eosinófilo, etcétera.

Parece evidente que estos métodos agresivos no son utilizables en la práctica diaria habitual, y mucho menos en pediatría. Por ello, sería deseable disponer de parámetros mediante técnicas no agresivas, cuyas determinaciones en suero, esputo, orina o aire exhalado, conlleven una buena correlación con los valores de los mismos parámetros evaluados en la luz o en la pared bronquial.

Las muestras en suero tienen el inconveniente de la extracción, que en los niños resulta generalmente traumática. Además, los estudios de la proteína catiónica del eosinófilo (PCE) y de la proteína X del eosinófilo

(PXE) tienen el inconveniente de que son determinaciones caras, precisan una manipulación muy estricta y no son del todo concluyentes.

Las determinaciones en esputo inducido tampoco son muy viables en los niños pero, además, la propia inducción del esputo ocasiona 24 h después cambios en la composición del mismo<sup>6</sup>. Por otro lado, la concentración de PCE en el esputo se correlaciona con la gravedad clínica del asma, aunque no existen diferencias significativas entre los pacientes con asma leve o moderada<sup>7</sup>.

Otra posibilidad estriba en valorar la inflamación bronquial mediante el estudio de algunos gases en el aire exhalado. Básicamente, se han estudiado dos moléculas: el óxido nítrico (ON) y el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), pero ha sido el estudio del ON el que ha despertado mayor interés, dado que es un radical libre que participa en los mamíferos en múltiples reacciones.

El ON es una molécula simple y difusiva, que en 1992 fue nominada "molécula del año"<sup>8</sup>. En 1991 se había demostrado la existencia de ON en el aire exhalado, como producto de síntesis endógena tanto en humanos como en animales, mediante estudios de quimioluminiscencia<sup>9</sup>, técnica muy sensible basada en la reacción del ON con el ozono generando NO<sub>2</sub> que, al estabilizarse, emite una radiación lumínica proporcional a la concentración de ON en el aire exhalado, expresada en unidades ppb, del inglés *parts per billion*.

Los mamíferos sintetizan el ON mediante la enzima óxido-nítrico-sintasa (ONS) que convierte el aminoácido L-arginina en L-citrulina y ON.

Existen dos formas constitutivas de dicha enzima que son dependientes del calcio y producen pequeñas cantidades fisiológicas de ON en respuesta a agonistas que aumentan el calcio intracelular. Ambas formas constitutivas se localizan en el epitelio de la vía aérea.

A nivel pulmonar, el ON endógeno, producido mayoritariamente en el epitelio del árbol bronquial, es un broncodilatador discreto, vasodilatador potente, mediador del sistema inhibitorio no adrenérgico no colinérgico, posee una actividad antimicrobiana importante e interviene en la diferenciación celular.

Por otra parte, existe también una forma inducible de ONS (iONS), independiente del calcio, que se expresa in vivo en las células epiteliales bronquiales y en los

Correspondencia: Dr. N. Cobos Barroso, Unidad de Neumología Infantil y Fibrosis Quística. Hospital Materno infantil, Vall d'Hebron. Barcelona.

Recibido: 12-5-98; aceptado para su publicación: 26-5-98.

(Arch Bronconeumol 1998; 34: 371-373)

macrófagos durante ciertos procesos inflamatorios, e in vitro tras estimulación con citocinas, endotoxinas y lipopolisacáridos. Esta iONS produce grandes cantidades de ON y la bloquea los corticoides, cosa que no ocurre con las isoformas constitutivas.

Concentraciones locales elevadas de ON favorecen la inhibición de la diferenciación de las células CD4+ T helper (Th) en Th-1, productoras de IL-2 e IFN- $\gamma$ . En consecuencia, se produce un aumento de Th-2, secretoras de IL-4, IL-5 e IL-10, que favorecen la producción de IgE, y la adhesión y acumulación de eosinófilos. Además, la IL-10 tiene un efecto inhibitorio de la actividad Th-1 y, por otra parte, aunque la IL-4 tiene un efecto inhibitorio de la iONS en el macrófago, no tiene este efecto sobre la célula epitelial. Es decir, que inmunológicamente el aumento de la producción local de ON favorece y perpetúa un patrón celular y de mediadores de inflamación similar al encontrado en asmáticos tanto atópicos como no atópicos, por lo que la inhibición de la actividad de la iONS podría dar como resultado la inhibición de la inflamación eosinofílica en el asma. También sabemos, por un lado, que los corticoides inhiben la actividad de la iONS y, por otro, que son efectivos para controlar el asma y que suprimen la inflamación de la vía aérea.

Los asmáticos presentan un aumento de la concentración de ON exhalado (ONE) respecto a los controles<sup>10,11</sup>, en relación con la elevada presencia de iONS en el epitelio bronquial del asmático y escasez de iONS en el bronquio sano<sup>12</sup>. También se ha descrito un aumento de la concentración de ONE en bronquiectasias y en estados sépticos y una disminución en los fumadores y en la hipertensión pulmonar y sistémica.

Por todo lo dicho, no es de extrañar el gran interés que se ha generado en la medición del ONE como método no invasivo, en la evaluación y monitorización de la inflamación bronquial del paciente asmático<sup>13</sup>.

En la literatura pediátrica existen todavía pocos estudios y, al igual que sucede con los adultos, los valores obtenidos tanto en los sujetos control como en los asmáticos varían en función del modelo de analizador y del método empleado<sup>14-16</sup>.

Recientemente, se han publicado las recomendaciones europeas para la medición de la concentración del ONE mediante una *task force report*<sup>17</sup> en la que se describe la metodología utilizando un analizador de ON por quimioluminiscencia, un analizador de CO<sub>2</sub>, y un sistema que permita mantener un flujo estable de 250 ml/s, que a su vez origine una presión retrógrada de 50 mmH<sub>2</sub>O en la boca, suficiente para ocluir las fosas nasales e impedir la mezcla del aire procedente de las vías respiratorias altas, muy rico en ON, con el aire procedente del espacio broncoalveolar, cuya concentración de ON es centenas de veces menor.

Utilizando este modelo de analizador, hemos determinado la concentración de ONE en un grupo de 37 niños sanos hallándoles un valor medio de 3,1 ppb, con un rango de 1 a 6.

Sólo conocemos un grupo que utilice también este modelo en niños y sus resultados son similares a los nuestros con una media de 4,8 ppb<sup>18</sup>.

La determinación de la concentración de ONE en otro grupo de 36 niños asmáticos nos ha permitido comprobar que muchos de los niños afectados de asma leve intermitente, sin tratamiento antiinflamatorio de base, hallándose asintomáticos y con función pulmonar normal tienen una concentración de ONE elevada, lo que parecería indicar la existencia de inflamación asmática en su vía aérea. Cuando se les administró budesonida inhalada, se normalizaron sus valores de ONE a las 2 semanas.

Por otro lado, otro grupo de niños afectados de asma moderada persistente seguían tratamiento con budesonida inhalada. Hallándose en fase estable, asintomáticos y con función pulmonar normal, el 60% de los mismos tenían una concentración de ONE superior a la normal. A todos estos niños les doblamos la dosis de budesonida y a las 2 semanas también se había normalizado su ONE<sup>19,20</sup>.

Estos hechos estarían de acuerdo con aquellos trabajos que demuestran la persistente inflamación de la lámina propia de la vía aérea a pesar del tratamiento corticoide inhalado y la falta de correlación entre el grado de inflamación y las manifestaciones clínicas y funcionales que habitualmente utilizamos para valorar la gravedad del asma<sup>21</sup>.

Parece pues demostrado que la concentración del ONE es un marcador de la inflamación bronquial ya que disminuye en los asmáticos tras el tratamiento corticoide sistémico o inhalado<sup>11,14,20</sup>. También disminuye la concentración de ON nasal tras la administración tópica de corticoides en la rinitis alérgica. Además, el valor del ONE aumenta en la fase tardía de la provocación con el alérgeno, en la que sabemos que existe inflamación<sup>22</sup>, pero no se correlaciona con el grado de obstrucción bronquial, puesto que ni aumenta tras la provocación con histamina ni varía tras la administración de broncodilatadores<sup>23</sup>.

Estudios recientes correlacionan significativamente el aumento de la concentración de ONE con el grado de hiperrespuesta bronquial en los pacientes asmáticos no tratados con corticoides, lo que sugiere una actividad proinflamatoria del ON<sup>24</sup>.

Aunque el diagnóstico de asma es muy clínico, existen una serie de tests de confirmación como las pruebas de provocación con metacolina, histamina, ejercicio, test de broncodilatación, monitorización del flujo espiratorio máximo, etc. Sin embargo, precisamos de algún test que nos permita valorar el grado de inflamación bronquial, que sea de fácil realización, barato, de resultado inmediato, no agresivo y validado<sup>17,21</sup>.

Además, debería de servir para monitorizar la enfermedad y la respuesta a la terapéutica antiinflamatoria. Los diferentes trabajos comentados nos permiten plantear la hipótesis de que la determinación de la concentración del ONE pueda ser este test, aunque de momento desconozcamos el papel exacto que desempeña en la patogenia del asma.

En conclusión, podríamos decir que existe un aumento significativo de la concentración de ONE en los asmáticos respecto de los controles, en muchos casos, incluso en niños con asma leve intermitente, completamente asintomáticos y con una función pulmonar nor-

mal. Cabe por lo tanto preguntarnos cuántos de estos niños, dado que no reciben tratamiento antiinflamatorio alguno, evolucionarán mal a largo plazo desarrollando incluso una remodelación bronquial secundaria a la persistencia de sus fenómenos inflamatorios.

En algunos casos, a pesar de recibir tratamiento con corticoides inhalados, el ONE se mantiene elevado, lo que posiblemente traduce la persistente inflamación asmática y plantea interrogantes sobre si las dosis que reciben estos pacientes son suficientes a pesar de su estabilidad clínica y funcional.

Los corticoides inhalados a las dosis adecuadas disminuyen y normalizan la concentración de ONE.

Son necesarios estudios longitudinales que relacionen la concentración de ONE con los parámetros clínicos, funcionales y otros marcadores de la inflamación bronquial para valorar el justo papel del ONE en el tratamiento de los pacientes asmáticos.

Mientras tanto seguiremos preguntándonos: ¿es el ONE el nuevo marcador de la inflamación de la vía aérea?

## BIBLIOGRAFÍA

- Guidlines for the diagnosis and management of asthma. EPR 2. NIH Publication N.º 97-4051. Bethesda. National Institute of Health. 1997.
- O'Byrne PM, Hargreave FE. Non invasive monitoring of airway inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 100-102.
- Crimi E, Spanevello A, Neri M et al. Dissociation between airway inflammation and airway hyperresponsiveness in allergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 4-8.
- Haley KJ, Drazen JM. Inflammation and airway function in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 1-3.
- Vignola AM, Canzani P, Campbell AM et al. Airway inflammation in mild intermittent and persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 403-409.
- Holz O, Richter K, Jörres RA et al. Changes in sputum composition between two induction performed on consecutive days. *Thorax* 1998; 53: 83-86.
- Fujimoto K, Kubo K, Matsuzawa Y, Sekiguchi M. Eosinophil cationic protein levels in induced sputum correlate with the severity of bronchial asthma. *Chest* 1997; 112: 1.241-1.247.
- Koshland DE Jr. The molecule of the year. *Science* 1992; 258: 1.861.
- Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pig and humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 181: 852-857.
- Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J* 1993; 6: 1.368-1.370.
- Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan Sinclair R, Shinebourne EA, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatics patients. *Lancet* 1994; 343: 133-135.
- Guo FH, De Raeve HR, Rice TW, Stuehr DJ, Thunnissen FB, Erzurum SC. Continuous nitric oxide synthase by inducible nitric oxide synthase in normal airway epithelium in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7.809-7.813.
- Barnes PJ, Kharitonov SA. Exhaled nitric oxide: a new lung function test. *Thorax* 1996; 51: 233-237.
- Artlich A, Hagenah JU, Jonas S, Arhens P, Gortner L. Exhaled nitric oxide in childhood asthma. *Eur J Pediatr* 1996; 155: 698-701.
- Nelson BV, Sears S, Woods J et al. Expired nitric oxide as a marker for childhood asthma. *J Pediatrics* 1977; 130: 423-427.
- Dötsch J, Demirakça S, Terbrack HG, Hüls G, Rasher W, Köhl PG. Airway nitric oxide in asthmatic children and patients with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 1996; 9: 2.537-2.540.
- Kharitonov S, Alving K, Barnes PJ. "ERS task force report": exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. *Eur Respir J* 1997; 10: 1.683-1.693.
- Balfour-Lynn MI, Laverty A, Dinwiddie R. Reduced upper airway nitric oxide in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1996; 75: 319-322.
- Reverté C, Gartner S, Cobos N, Liñán S, Moreno A, González M. Óxido nítrico exhalado en niños normales y asmáticos. *Ann Esp Pediatr* 1998; 48 (Supl 110): 45.
- Gartner S, Reverté C, Cobos N, Moreno A, Liñán S, Pena M. Efecto de la budesonida sobre el óxido nítrico exhalado y la proteína catiónica eosinofílica sérica. *Ann Esp Pediatr* 1998; 48 (Supl 110): 44.
- Sont J, Van Krieken JH, Evertse CE, Hooijer R, Willems LNA, Sterk PJ. Relationship between the inflammatory infiltrate in bronchial biopsy specimens and clinical severity of asthma in patients treated with inhaled steroids. *Thorax* 1997; 51: 496-502.
- Kharitonov SA, O'Connor BJ, Evans DJ, Barnes PJ. Allergen-induced late asthmatic reactions are associated with elevations of exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1.894-1.899.
- Garnier P, Fajac I, Dessanges JF et al. Exhaled nitric oxide during acute changes of airways calibre in asthma. *Eur Respir J* 1996; 9: 1.134-1.138.
- Jatakanon A, Kim S, Kharitonov SA, Chung KF, Barnes PJ. Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils and metacolina responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax* 1998; 53: 91-95.