

Óxido nítrico exhalado: utilidad del modelo bicompartimental

RAQUEL CASITAS MATEO, FRANCISCO GARCÍA RÍO

Resumen

Los modelos bicompartimentales proporcionan una información más precisa de la contribución de las distintas porciones de las vías aéreas al óxido nítrico (NO) exhalado.

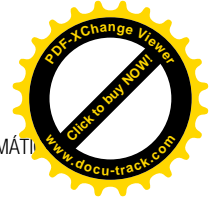
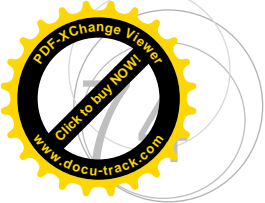
La concentración de NO en la pared de las vías aéreas ($C_{aw,NO}$) y el máximo flujo de producción de NO en las vías aéreas ($J'_{aw,NO}$) reflejan la tasa de producción tisular de NO, son sensibles a los corticosteroides y pueden mostrar cambios originados a corto plazo. La capacidad de difusión de NO en la pared de las vías aéreas ($D_{aw,NO}$) depende de diversos determinantes físicos y anatómicos de las vías aéreas, como el área de la superficie de intercambio de gases. La $D_{aw,NO}$ puede verse modificada por cambios estructurales y fisiológicos que caracterizan el remodelado de las vías aéreas y suceden a largo plazo.

La concentración alveolar de NO ($C_{alv,NO}$) representa el grado de inflamación de la pequeña vía. La persistencia de una $C_{alv,NO}$ elevada en pacientes tratados con corticosteroides inhalados podría reflejar la incapacidad de estos fármacos para alcanzar localizaciones distales por la heterogeneidad de la ventilación accinar.

En definitiva, el análisis compartimentalizado del NO exhalado proporciona elementos que pueden permitir una mejor caracterización de los enfermos con asma.

Introducción

El óxido nítrico (NO) es un gas lipofílico de vida media muy corta que difunde libremente desde su lugar de producción y no se almacena localmente¹. Es rápidamente inactivado por el oxígeno mediante la conversión en nitratos y nitritos, y también reacciona con el anión supe-



róxico para originar peroxinitrito, un potente oxidante que puede nitrosar proteínas y dar lugar a productos de peroxidación lipídica, como las lipoxinas².

El NO es producido por una amplia variedad de tipos celulares que incluyen células epiteliales, nerviosas, endoteliales e inflamatorias. En su forma endógena, se produce por la oxidación del aminoácido L-arginina, mediante la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS). La reacción produce L-citrulina y es oxígeno- y NADPH-dependiente². Existen al menos tres isoformas de NOS, de las cuales una es inducible y dos constitutivas, siendo denominadas NOS1 y NOS3, según predomine su expresión neuronal o endotelial, respectivamente^{2,4}. En los pulmones, la NOS1 es expresada por las fibras no-adrenérgicas no-colinérgicas y genera NO que actúa como relajante del músculo liso. La NOS3 se detecta en el endotelio pulmonar y en el epitelio alveolar y bronquial. Tanto la NOS1 como la NOS3 son resistentes a los corticoides⁴.

La isoforma inducible de NOS (iNOS o NOS2) presenta una gran actividad y, cuando está activada, es capaz de producir hasta mil veces más NO que las isoformas constitutivas^{2,5}. Es estimulada por diversas citocinas proinflamatorias (factor de necrosis tumoral alfa y beta, interferón gamma, interleucina 1 β), productos bacterianos (endotoxinas), moléculas de adhesión y por otros estímulos (virus, alérgenos o contaminantes ambientales)⁵⁻⁷. En el árbol respiratorio, se encuentra en células epiteliales, endotelio, músculo liso vascular y de las vías aéreas, fibroblastos, mastocitos y neutrófilos⁵. A diferencia de las isoformas constitutivas, la NOS2 resulta sensible a los corticoides.

A su vez, el NO participa en tres vías metabólicas diferenciadas: proteínas hemo, S-nitrosilación y reac-

tividad con productos de NADPH oxidasa que originan especies reactivas oxidantes². En concentraciones normales, el NO contribuye en los pulmones a la neurotransmisión, vasodilatación, broncodilatación e incremento de la respuesta inmune. Sin embargo, en altas concentraciones, parece actuar como agente inflamatorio.

Por sus características gaseosas, el NO puede ser medido en el aire exhalado en animales y humanos y servir para el diagnóstico y manejo de diversas enfermedades respiratorias⁸. Los valores elevados de NO exhalado apreciados en algunas enfermedades podrían ser el resultado de una sobreactividad de la vía oxidativa, reflejando una inducción de la actividad NOS2 por citoquinas proinflamatorias⁵.

El procedimiento *on-line* más habitual para determinar la fracción exhalada de óxido nítrico (FE_{NO}) es la técnica de la respiración única, en la que el sujeto inhala gas libre de NO hasta capacidad pulmonar total para espirar durante aproximadamente seis segundos, tiempo requerido para que la $FENO$ alcance una meseta. La maniobra debe ser repetida tres veces para garantizar su reproducibilidad. La FE_{NO} resulta inversamente proporcional al flujo espiratorio al que se determina⁹, por lo que se recomienda su medida a 50 mL/s⁸. Por otra parte, la espiración contra una presión positiva origina el cierre del velo del paladar e impide que el NO de las vías respiratorias superiores origine un valor falsamente elevado de la FE_{NO} ⁹.

Modelo bicompartimental

Inicialmente, se consideró que el NO exhalado se producía en las vías aéreas de mayor calibre. Me-

dante la medida directa del perfil de exhalación de NO a través de un catéter intrabronquial¹⁰, se demostró que el NO exhalado se originaba principalmente en las vías aéreas de conducción. Además, la concentración de NO exhalado alcanza pronto una meseta, que resulta más compatible con su producción bronquial, puesto que los gases alveolares muestran una pendiente más lenta y casi nunca alcanzan dicha meseta¹¹. La dependencia del flujo espiratorio, también es concordante con esta posibilidad. A flujos más lentos, el aire exhalado tiene más tiempo para enriquecerse en NO a lo largo de su paso por las vías aéreas. Esta visión supone una notable diferencia con el intercambio del oxígeno o del CO₂, ya que considera que el intercambio gaseoso ocurría en las propias vías aéreas y que era controlado por el flujo espiratorio. Por el contrario, los procesos de intercambio gaseoso que se produ-

cen en los alvéolos, son más dependientes del tiempo que del flujo¹¹.

Sin embargo, esta concepción se ha modificado parcialmente al comprobar que tanto los alvéolos como las vías aéreas de conducción tienen capacidad de producir NO¹¹⁻¹³. Se acepta que los cambios dinámicos del NO en el aire espirado se explican mejor mediante un modelo pulmonar constituido por dos compartimentos adyacentes, alveolar y bronquial (Figura 1).

El aire exhalado es conducido desde el alveolo a través de las vías aéreas, en las que es enriquecido con el NO procedente de la pared bronquial. Esto supone que en cada punto del tubo, existen dos determinantes de la concentración local de NO: el flujo que trae el aire que contiene NO desde una porción más distal y la difusión local de NO desde la

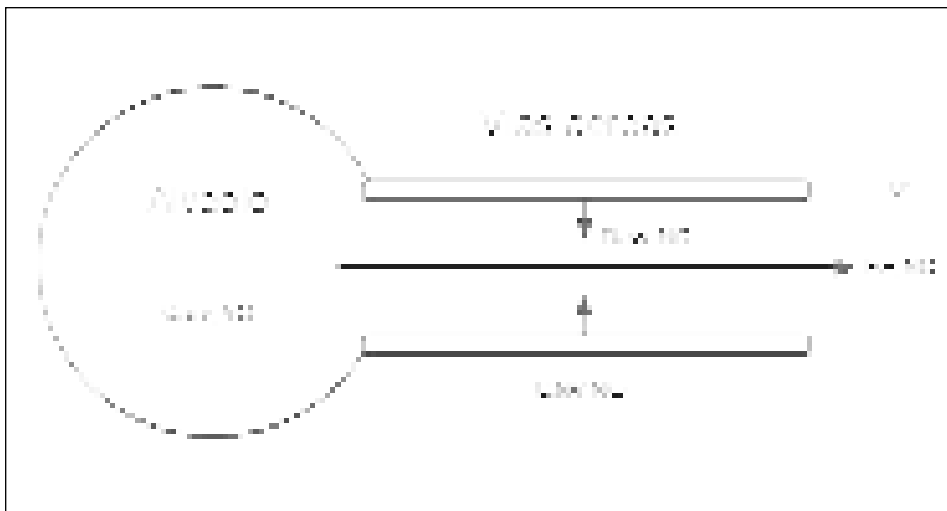
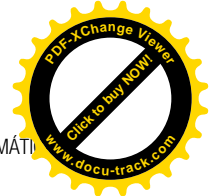
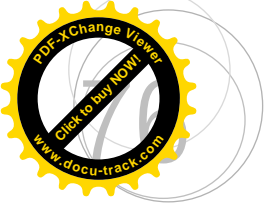


Figura 1.- Representación esquemática del modelo bicompartimental para el análisis del óxido nítrico exhalado. El aire del espacio alveolar, con una concentración de NO alveolar ($C_{av,NO}$), pasa a través de las vías aéreas con un flujo (V'). Durante su paso, el NO difunde desde las paredes de las vías aéreas, donde se mantiene una concentración fija de NO ($C_{aw,NO}$), a la luz bronquial. La concentración de NO exhalado que se ha acumulado al final es FE,NO . La liberación de NO desde las paredes de las vías aéreas depende de la capacidad de difusión de NO de las vías aéreas, que se denomina $D_{aw,NO}$.



pared de las vías aéreas a la luz¹¹. Según la ley de Fick, la liberación local de NO será proporcional a la diferencia entre la luz y la pared de las vías aéreas. Si el punto de partida es la concentración de NO en el alveolo, la concentración de NO exhalado será el resultado acumulado del transporte longitudinal más la difusión lateral de NO a lo largo de toda su longitud.

La fuente que determina la salida de NO hacia la luz bronquial es la concentración de NO en la pared de las vías aéreas ($C_{aw,NO}$). De tal forma, que esta concentración sería la alcanzada en el aire exhalado después de un periodo de apnea muy prolongado. La extrapolación de medidas de la concentración de NO exhaladas a flujos espiratorios muy bajos, permite aproximar la situación de flujo cero y estimar la concentración de NO en la pared de las vías aéreas. En realidad, este modelo supone una simplificación, puesto que reduce la totalidad del árbol bronquial a un único tubo, y considera a la $C_{aw,NO}$ como la media de todas las vías aéreas. En definitiva, la $C_{aw,NO}$ sería la concentración efectiva de NO en la mucosa bronquial. Análisis más sofisticados demuestran que la $C_{aw,NO}$ varía localmente e introducen compartimentos adicionales, demostrando que la $C_{aw,NO}$ es el resultado final del equilibrio entre la producción celular de NO y su depleción, incluyendo su difusión pasiva al torrente circulatorio y a las vías aéreas¹⁴.

En contraste con la situación anterior, un flujo espiratorio extremadamente alto no permitiría que durante su tránsito a través de las vías aéreas, el aire exhalado tuviese tiempo para enriquecerse con NO de la pared bronquial. Entonces, la extrapolación a flujos espiratorios muy elevados, permite equiparar la concentración de NO exhalado a la concentración

alveolar de NO ($C_{alv,NO}$)¹¹. Tanto las medidas realizadas a flujos espiratorios elevados como el análisis anteriormente comentado del origen del NO exhalado, hacen suponer que la $C_{alv,NO}$ resulte muy reducida.

En definitiva, las concentraciones alveolar y bronquial de NO pueden ser obtenidas mediante situaciones que permitan extrapolar el flujo espiratorio a cero ($C_{aw,NO}$) o a infinito ($C_{alv,NO}$). No obstante, el problema radica en que no resulta posible aplicar modelos de extrapolación lineal, puesto que la curva que representa el NO exhalado frente al flujo espiratorio no sigue una línea recta¹¹ (Figura 2). Surgen aquí los distintos modelos de aproximación. Si la liberación del NO desde la pared de las vías aéreas hacia su luz bronquial se produjese a un flujo constante, la cantidad de NO liberado dependería sólo del tiempo disponible para el paso a través de las vías aéreas y sería inversamente proporcional al flujo espiratorio. Sin embargo, se ha comprobado que la producción de NO por las paredes de las vías aéreas no es constante¹². De hecho, las curvas de concentración de NO exhalado vs. flujo espiratorio corresponden a una hipérbola (Figura 2), por lo que parece asumible que la liberación de NO por la pared de las vías aéreas disminuye a flujos bajos (en los que existen elevadas concentraciones de NO en el espacio aéreo) y aumentan a flujos altos¹¹. Parece pues que el transporte de NO es regulado por gradientes de concentración, que dependen de la concentración de NO en la luz de las vías aéreas.

Como la liberación de NO desde la pared de las vías aéreas a su luz se realiza por un proceso de difusión pasiva, la constante que describe el flujo de NO se denomina $D_{aw,NO}$, también llamada capacidad de difusión de NO en las vías aéreas¹¹. Partien-

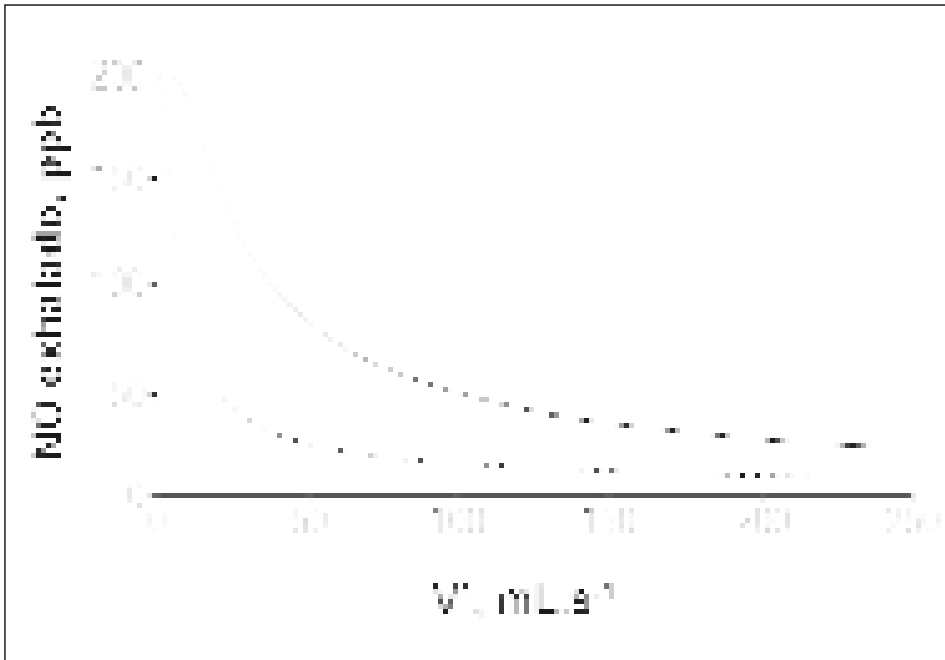


Figura 2.- Dos representaciones de la relación entre el NO exhalado y el flujo espiratorio (V'). Se muestran las curvas correspondientes a una Daw,NO de 25 (—) y 5 $\text{pl.s}^{-1}.\text{ppb}^{-1}$ (---) pero con iguales Caw,NO y $Calv,NO$.

do de unas mismas $Calv,NO$ y Caw,NO , la existencia de diferentes Daw,NO determinará un comportamiento distinto de las curvas FE,NO vs. flujo espiratorio (V') (Figura 2). Una Daw,NO más baja originará que el área bajo la curva sea menor. La Daw,NO depende de diversos factores, como la intensidad de la conversión química y el proceso de transporte¹. Puede disminuir por un aumento del grosor de las

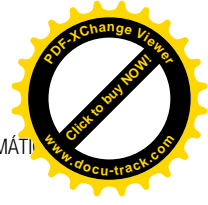
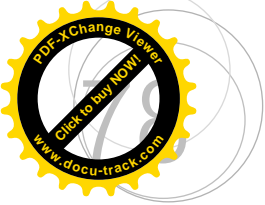
capas de fluido de las vías aéreas que impida la difusión y puede aumentar por el incremento de la superficie disponible para la liberación de NO¹¹. En pacientes con asma, parece existir un incremento de la superficie de difusión, por lo que la Daw,NO aumentaría.

El modelo bicompartimental se concreta en la siguiente ecuación diferencial parcial^{13,15}:

$$FE,NO = Caw,NO - \left(1 - e^{-Daw,NO \cdot V'}\right) \cdot Calv,NO \cdot e^{-Daw,NO \cdot V'} \quad [1]$$

Donde FE,NO representa la concentración exhalada de NO, Caw,NO la concentración de NO efectiva en la pared de las vías aéreas, $Calv,NO$ la concentración media de NO en los alveolos, Daw,NO la capa-

cidad de difusión total de NO en las vías aéreas y V' el flujo espiratorio. FE,NO, Caw,NO y $Calv,NO$ pueden ser expresadas en ppb, V' en L.s^{-1} y Daw,NO en $\text{pl.s}^{-1}.\text{ppb}^{-1}$ ¹⁵.



A flujos espiratorios (V') muy bajos, la relación $Daw,NO/V'$ resulta mayor, por lo que la potencia $e^{-Daw,NO/V'}$ tiende a cero. Por tanto, a flujos espiratorios muy reducidos, la FE,NO prácticamente sólo dependerá de la $Calv,NO$. Por el contrario, a flujos espiratorios muy altos, $e^{-Daw,NO/V'}$ tiende a uno, por lo que la FE,NO dependerá prácticamente sólo de la $Calv,NO$.

Este modelo representa una simplificación, en la que no se tienen en consideración otros factores como la falta de homogeneidad en la capacidad de difusión de NO en las vías aéreas o la existencia de compartimentos adicionales (barreras para la difusión, conversiones químicas, etc.), pero supone una aproximación bastante intuitiva.

La ecuación [1] se puede simplificar como:

$$FE,NO = Calv,NO + (Caw,NO - Calv,NO) \cdot e^{-Daw,NO/V'} \quad [2]$$

A flujos espiratorios (V') elevados, el cociente $Daw,NO/V'$ es muy pequeño, por lo que la expresión $e^{-Daw,NO/V'}$ se pueda aproximar a $1 - Daw,NO/V'$.

Con ello, la ecuación [2] puede ser expresada del siguiente modo:

$$FE,NO = Calv,NO + (Caw,NO - Calv,NO) \cdot \frac{Daw,NO}{V'} \quad [3]$$

Como habitualmente, la $Calv,NO$ supone menos del 2% de la Caw,NO , se puede suprimir del segundo término de la ecuación anterior:

$$FE,NO = Calv,NO + Caw,NO \cdot \frac{Daw,NO}{V'} \quad [4]$$

Por último, si se multiplica la ecuación [4] por el flujo espiratorio (V'), se obtiene:

$$FE,NO \cdot V' = Calv,NO \cdot V' + Caw,NO \cdot Daw,NO \quad [5]$$

El producto $FE,NO \cdot V'$ representa la tasa de eliminación de NO desde las vías aéreas ($V'NO$), mientras que el producto $Caw,NO \cdot Daw,NO$ corresponde

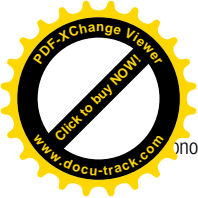
al máximo flujo de NO en el compartimento bronquial ($J'_{aw,NO}$, en $nl.s^{-1}$). Por último, es posible reducir esta expresión a una relación lineal:

$$V'NO = Calv,NO \cdot V' + J'_{aw,NO} \quad [6]$$

Realizando determinaciones de la $V'NO$ a dos flujos espiratorios diferentes, los métodos lineales de Tsoukias¹⁴ y de Pietropaoli¹⁶ proporcionan valores de $Calv,NO$ (pendiente de la recta) y $J'_{aw,NO}$ (ordenada en el origen).

Frente a estos métodos lineales, que sólo proporcionan algunos de los parámetros que caracterizan

los modelos bicompartimentales, se han desarrollado técnicas no lineales. Estas requieren la realización de medidas de NO exhalado a más flujos espiratorios diferentes, pero proporcionan una información más amplia, a costa de métodos de cálculo más complejos. Mediante un procedimiento de regresión no lineal, la técnica de Silkoff¹⁵ determina



los tres términos de la ecuación [3], es decir $Calv,NO$, Caw,NO y Daw,NO .

Por último, se han elaborado aproximaciones matemáticas basadas en modelos mixtos. Entre estas, la técnica de Hogman¹⁷ realiza determinaciones del NO exhalado con tres flujos espiratorios (bajo, medio y alto) y utiliza el método lineal de Tsoukias para determinar la $Calv,NO$ de la ecuación [4]. Dicho valor se aplica a la ecuación [2] para determinar Caw,NO

y Daw,NO por regresión no lineal. Por último, el $J'aw,NO$ se calcula como el producto de la Caw,NO y la Daw,NO .

La técnica de George es otro modelo mixto¹⁸. A partir de los valores de la FE,NO a tres flujos espiratorios diferentes, determina la $Calv,NO$ como la ordenada en el origen de la recta correspondiente a la ecuación [3]. $J'aw,NO$ y Daw,NO son calculados utilizando la ecuación:

$$FE,NO = J'aw,NO / Daw,NO + (Calv,NO - J'aw,NO / Daw,NO) \cdot e^{-J'aw,NO / V} \quad [7]$$

Finalmente, la Caw,NO es calculada desde la ecuación:

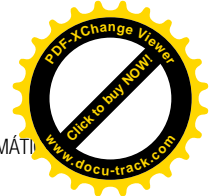
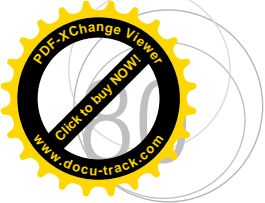
$$J'aw,NO = Caw,NO \cdot Daw,NO \quad [8]$$

Pese al considerable desarrollo de estos modelos, todavía no se han generado valores de referencia globalmente contrastados. Como aproximación orientativa, se considera que la $Calv,NO$ oscila de 1,0 a 5,6 ppb, el $J'aw,NO$ de 420 a 1280 $pl \cdot s^{-1}$, la Daw,NO de 3,1 a 9,2 $pl \cdot s^{-1} \cdot ppb^{-1}$ y la Caw,NO de 75 a 225 ppb¹⁸.

Los modelos bicompartimentales proporcionan una explicación sencilla para justificar la dinámica del intercambio de NO . Sin embargo, su simplificación conlleva algunas limitaciones. La región correspondiente a los bronquiolos respiratorios y terminales no se incluye en un modelo bicompartimental¹⁹. Asumen una producción homogénea de NO a lo largo de las vías aéreas, circunstancia que no se corresponde con la realidad, especialmente en algunas enfermedades que presentan una localización muy heterogénea de sus focos inflamatorios. Además, requieren maniobras con flujos espiratorios muy altos o muy bajos, que no siempre resul-

tan fácilmente aceptados. Pero quizá la limitación más importante, provenga de la demostrada difusión axial del NO y de la propia geometría de las vías aéreas. En este sentido, se ha comprobado que los dos compartimentos propuestos no resultan completamente estancos y que una porción de la $Calv,NO$ puede corresponder a NO producido en el compartimento bronquial que mediante difusión axial retrógrada llega a los alveolos^{19,20}.

Reconocidas estas limitaciones, en los últimos años se han desarrollado nuevas aproximaciones matemáticas y técnicas. Se han elaborado modelos de espiración a múltiples flujos constantes que incorporan el modelo de difusión axial y se adaptan a una geometría en trompeta²¹. También se han propuesto modelos de espiración a flujos variables, al finalizar una apnea o durante la respiración a volumen corriente²². Incluso, se ha diseñado un modelo tri-compartimental respirando a volumen corriente, que evita las maniobras espiratorias prolongadas a flu-



jos muy altos, que pueden resultar incómodas para niños o enfermos con un deterioro funcional importante²³. Sin embargo, los datos sobre la validación de estos últimos procedimientos en enfermos con asma son muy limitados y todavía se dispone de muy escasa información que permita interpretar su potencial valor clínico.

Potenciales aplicaciones

Las diferentes técnicas propuestas para desarrollar el modelo bicompartimental de producción del óxido nítrico exhalado han tenido un desarrollo limitado. Todavía se dispone de poca información sobre su aplicación en grupos de pacientes con asma y sobre su utilidad en la toma de decisiones diagnósticas o terapéuticas. No obstante, existe un creciente conocimiento del valor y significado de los diferentes parámetros que caracterizan los dos compartimentos pulmonares, de los que se desprenden potenciales aplicaciones clínicas.

COMPARTIMENTO BRONQUIAL

La concentración de NO en la pared de las vías aéreas ($C_{aw,NO}$) refleja la tasa de producción de NO por unidad de tejido y resulta dependiente de la isoforma inducible de la NOS, cuya actividad es reducida por los corticosteroides. Diversos estudios confirman que se encuentra elevada en los pacientes con asma. Silkoff et al¹⁵ determinaron la $C_{aw,NO}$ en 10 sujetos sanos y en 25 asmáticos no fumadores y sin tratamiento con corticosteroides inhalados en las 6 semanas previas, evaluando además el efecto de dos semanas de tratamiento con beclometasona inhalada (1000 $\mu\text{g}/\text{día}$). Comprobaron

que los enfermos con asma tenían una $C_{aw,NO}$ elevada, que disminuía después del tratamiento.

Además, la $C_{aw,NO}$ parece guardar relación con la sensibilización IgE. De hecho, en un grupo de 288 adultos del European Community Respiratory Health Survey II, se ha descrito que la sensibilización IgE (suma de los títulos de IgE específicas) mantiene una relación significativa con la $C_{aw,NO}$, pero no con la concentración alveolar de NO²⁴. Además del incremento de actividad de la iNOS en las células epiteliales de las vías aéreas, se ha propuesto que las elevadas $C_{aw,NO}$ de los enfermos con asma también podrían ser debidas a un incremento de la actividad S-nitrosoglutation reductasa con un aumento de la liberación de NO por fragmentación de S-nitrosotioles²⁵ o a la disminución del pH en el líquido de revestimiento del epitelio de las vías aéreas, que puede aumentar la liberación de NO a través de la protonación de nitritos y la producción de ácido nitroso²⁶.

En el ya mencionado estudio de Silkoff et al¹⁵, se comprobó que la capacidad de difusión de NO en las vías aéreas ($D_{aw,NO}$) también es mayor en pacientes asmáticos no fumadores y sin tratamiento esteroideo que en los sujetos control. Sin embargo, y a diferencia de la $C_{aw,NO}$, el tratamiento con corticosteroides inhalados no lograba reducir la $D_{aw,NO}$ de los enfermos con asma¹⁵. Tampoco se han hallado diferencias en la $D_{aw,NO}$ entre un grupo de adultos con asma sin tratamiento previo con corticosteroides y otro que utilizaba corticosteroides inhalados de forma regular, aunque en ambos grupos de enfermos la $D_{aw,NO}$ fue superior a los controles sanos²⁷. A su vez, en los pacientes con asma, la $D_{aw,NO}$ mostró una relación significativa con el calibre de las vías aéreas, evaluado tanto mediante



el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV_1) como a través de la capacidad vital forzada (FVC)²⁷.

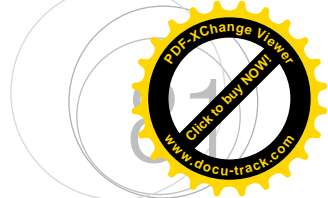
En definitiva, la información disponible en asmáticos confirma que la Daw,NO es independiente de los corticosteroides y guarda relación con el calibre de las vías aéreas. Desde una perspectiva global, la Daw,NO depende del área de la superficie que emite NO, de su solubilidad, de la difusión molecular y de su consumo químico, del grosor de la capa de tejido y de la producción de NO²⁷. En este sentido, el incremento de la Daw,NO apreciado en los enfermos con asma podría ser debido a la extensión de la reacción inflamatoria a la pequeña vía aérea, que supone un aumento del área de producción de NO, insensible al efecto de los corticosteroides, probablemente por la participación de un mecanismo mediado por las NOS constitutivas. Por tanto, la Daw,NO podría ser un parámetro útil para monitorizar estudios de intervención que modifiquen selectivamente la inflamación en las vías aéreas centrales o periféricas.

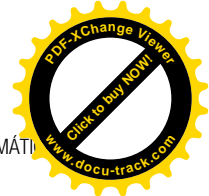
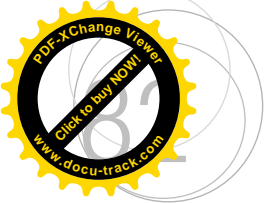
No obstante, como algunos de los factores determinantes de la Daw,NO resultan dependientes de los corticosteroides (área de producción por extensión de la inflamación a otras porciones de las vías aéreas o consumo químico con liberación de superóxido), es posible que el grosor de la pared de las vías aéreas desempeñe un factor regulador independiente del efecto a corto plazo de los esteroides. En este sentido, tanto el acúmulo de capas de moco, que incrementa el grosor de la pared de las vías aéreas para el paso de NO, como el año epitelial y la fibrosis subepitelial que caracterizan al remodelado de las vías aéreas podrían ser responsables de los cambios en la Daw,NO apreciados en el asma^{15,27}.

Diversas series han referido que el máximo flujo de NO en el compartimento bronquial ($J'aw,NO$) también se encuentra elevado en los enfermos con asma^{15,28}. En un reciente estudio, que pretendía valorar la aplicabilidad de los parámetros que caracterizan el modelo bicompartimental del NO en estudios de campo sobre población escolar, se comprobó que el $J'aw,NO$ mostró una gran consistencia entre los distintos modelos utilizados para su determinación (lineales, no lineales y mixtos) y que discriminaba a niños con asma de escolares no asmáticos²⁹.

A su vez, el $J'aw,NO$ guarda relación con diversos indicadores clínicos, funcionales e inflamatorios del asma. En niños con asma leve, el $J'aw,NO$ resulta mayor en los que tienen síntomas que en los asintomáticos y, a su vez, en estos que en los controles sanos³⁰. En estos niños, el $J'aw,NO$ guarda relación con la intensidad de los síntomas y con la limitación al flujo espiratorio medida a través de los flujos mesoespiratorios³⁰. En adultos con asma tratados con corticosteroides inhalados, el máximo flujo de NO en las vías aéreas ($J'aw,NO$) se relaciona con la función pulmonar basal (expresada como porcentaje del FEV_1 predicho o por el cociente FEV_1/FVC), así como con el grado de hiperrespuesta de las vías aéreas (PC²⁰ a la metacolina)¹⁵.

La relación del $J'aw,NO$ con la reversibilidad bronquial resulta de especial interés, ya que, en cierto modo, ésta refleja el estado inflamatorio de las vías aéreas con capa de músculo liso. Dicha relación se evaluó en 179 niños con asma leve (69 sin tratamiento previo con esteroides) y en 21 controles no atópicos ni asmáticos de la misma edad³¹. La respuesta broncodilatadora alcanzó una moderada correlación con el $J'aw,NO$, pero sólo en los niños que no habían recibido corticosteroides inhalados. Se





comprobó que un incremento del $FEV_1 \geq 8\%$ tras la administración de broncodilatadores alcanza un valor predictivo positivo del 83% para detectar un $J'aw,NO$ elevado³¹.

La relación del $J'aw,NO$ con la hiperrespuesta bronquial y con marcadores inflamatorios se ha visto reforzado por otros hallazgos. En adultos con asma y sin uso previo de corticosteroides inhalados, el $J'aw,NO$ guarda relación con la reactividad bronquial, expresada mediante la pendiente de la curva dosis-respuesta a la metacolina, y con los niveles de proteína X en los eosinófilos de sangre periférica (Figura 3)³².

A diferencia de lo que sucede con la capacidad de difusión de NO en las vías aéreas (Daw,NO), el máximo flujo de NO en las vías aéreas ($J'aw,NO$) es sensible a los corticosteroides inhalados. Diversos estudios confirman el efecto de estos fármacos sobre el $J'aw,NO$. En 25 adultos con asma, que nun-

ca habían sido tratados con corticosteroides inhalados, dos semanas de tratamiento con beclometasona logran reducir el $J'aw,NO$ ¹⁵. Cuatro semanas de tratamiento con fluticasona, también han logrado disminuir el $J'aw,NO$ en 40 adultos con asma moderada-grave, mientras que no afectan a la concentración alveolar de NO³². A su vez, se ha comprobado que la disminución del $J'aw,NO$ inducida por los corticosteroides inhalados en los enfermos con asma se asocia a una reducción de la intensidad de sus síntomas, a una mejoría de la función pulmonar y a una disminución de marcadores séricos de inflamación eosinófila²⁸.

En definitiva, los parámetros que caracterizan el compartimento bronquial de la exhalación del óxido nítrico aportan información complementaria sobre distintas facetas del asma, que podrían resultar útiles en la valoración de estos enfermos o en la planificación de intervenciones. La concentración de

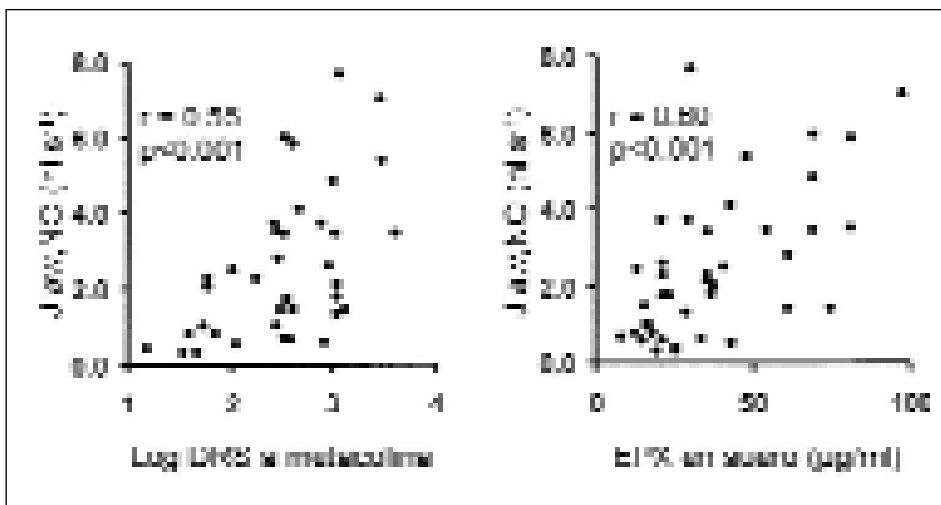
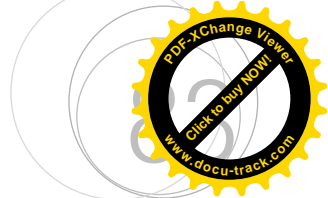
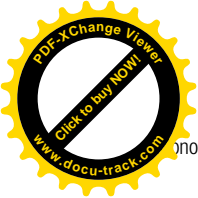


Figura 3.- Relación entre la máxima tasa de producción de NO por las vías aéreas ($J'aw,NO$) de enfermos con asma y la pendiente de la curva dosis-respuesta (DRS) a la metacolina y con los niveles de proteína X en los eosinófilos (EPX) de sangre periférica. Modificado de Lehtimäki et al³².



NO en la pared de las vías aéreas (Caw,NO) y el máximo flujo de producción de NO en las vías aéreas ($J'aw,NO$) reflejan fundamentalmente la tasa de producción tisular de NO y, por tanto, son más sensibles a la intervención con corticosteroides y pueden mostrar cambios que se originen a corto plazo (días o semanas). Incluso se ha llegado a especular que el $J'aw,NO$ podría constituir un indicador de la sobre-regulación de la producción de NO por el sistema nervioso no-adrenérgico no-colinérgico¹⁵. Por otra parte, la capacidad de difusión de NO en la pared de las vías aéreas (Daw,NO) resulta condicionada por diversos determinantes físicos y anatómicos de las vías aéreas, tales como la solubilidad gaseosa y el área de la superficie de intercambio de gases¹⁸. La Daw,NO puede verse modificada por los cambios estructurales y fisiológicos que caracterizan el remodelado de las vías aéreas y se producen a lo largo de un periodo de tiempo más prolongado^{15,27}.

COMPARTIMENTO ALVEOLAR

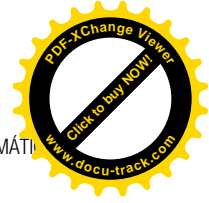
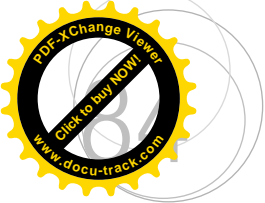
En general, se considera que la concentración alveolar de NO ($Calv,NO$) no suele estar elevada o experimenta un leve incremento en los pacientes con asma^{20,32}, tanto por la menor cuantía de la producción alveolar como por el aumento de la capacidad de difusión alveolo-capilar, que facilita su rápido paso al lecho vascular, donde se une a la hemoglobina.

Sin embargo, existen indicios que algunos grupos concretos de enfermos con asma podrían tener niveles elevados de $Calv,NO$. Mahut et al³⁰ determinaron la $Calv,NO$ en niños con asma leve y tratamiento con corticosteroides inhalados. Comprobaron que la $Calv,NO$ fue mayor en niños sintomáticos que en los

asintomáticos, mientras que no existían diferencias entre estos últimos y los controles sanos. A partir de este hallazgo, especulan que el incremento en la producción alveolar de NO podría reflejar el reclutamiento distal de células inflamatorias, suponiendo un riesgo de asma aguda³⁰.

En asmáticos adultos no fumadores, clínicamente estables y en tratamiento con corticosteroides inhalados, también se han referido valores elevados de $Calv,NO$, no relacionados con el FEV_1 , y que disminuyen tras un ciclo de corticosteroides sistémicos (33). Este hallazgo resulta especialmente importante, ya que podría reflejar la persistencia o falta de supresión con las dosis habituales de corticosteroides inhalados de la reacción inflamatoria a nivel alveolar o de los bronquiolos respiratorios. Diversas evidencias muestran que la $Calv,NO$ guarda relación con el grado de inflamación de la pequeña vía. Los eosinófilos recuperados mediante lavado broncoalveolar en enfermos con asma grave, se relacionan con la $Calv,NO$ ³⁴. De igual forma, se ha demostrado la existencia de una relación entre la $Calv,NO$ y los eosinófilos pulmonares en biopsias de ratones estimulados por alérgenos³⁵ así como con parámetros funcionales de afectación de la vía aérea distal, como el lavado de nitrógeno³⁶. En definitiva, aunque es evidente que los corticosteroides inhalados disminuyen la actividad de la iNOS en las vías aéreas, parece que tienen una limitada capacidad para actuar a nivel más distal.

Pese a estos aspectos, parece que la $Calv,NO$ no es un adecuado marcador de mal control o gravedad en la totalidad de enfermos con asma. Un reciente estudio multicéntrico, que incluyó a 107 niños y 93 adultos, no fumadores, estables y con tratamiento regular, entre el que destacaba el uso de corticoste-



roides inhalados en 165 enfermos, pone en evidencia sus limitaciones³⁷. Ni en el momento de la inclusión ni después de un seguimiento durante 12 semanas, se identificó relación alguna de la Calv,NO con la puntuación del *Asthma Control Questionnaire* ni diferencias en función de la clasificación de gravedad según la GINA³⁷.

Sin embargo, la Calv,NO podría ser un marcador clínico de cierta utilidad en pacientes seleccionados. En un grupo de 40 enfermos con asma recién diagnosticada que nunca habían utilizado corticosteroides, Lehtimäki et al³⁸ compararon aquellos que tenían síntomas nocturnos con los que se encontraban asintomáticos. El J'aw,NO se encontraba similarmente elevado en los dos grupos de asmáticos en relación con los controles sanos³⁸. Este hallazgo entra en aparente contradicción con la demostración de una mayor expresión diurna de la iNOS vascular en los asmáticos con síntomas nocturnos en relación con los que no los tienen³⁹. Es posible que la mayor actividad enzimática no se manifieste con un mayor J'aw,NO por la corta vida media del NO en fase tisular, de modo que no difunde en grandes cantidades de los vasos bronquiales a las vías aéreas. De hecho, la concentración de NO exhalado correlaciona con la expresión de iNOS en el epitelio de las vías aéreas, pero no en la lámina propia⁴⁰.

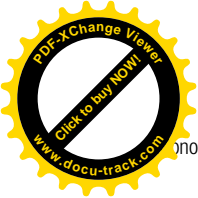
Por el contrario, Lehtimäki et al³⁸ comprobaron que la concentración alveolar de NO era superior en los asmáticos con síntomas nocturnos que en los asmáticos sin clínica nocturna o en los controles. Dado que el compartimento alveolar se corresponde a los alvéolos y a las pequeñas vías aéreas (bronquiolos respiratorios y terminales), parece que en el asma nocturna existe una inflamación periférica más activa. Esta posibilidad se refuerza por el hallazgo de

mayores niveles de mieloperoxidasa e IL-6 en los pacientes con síntomas nocturnos³⁸, lo que incluso sugiere un cierto componente de inflamación neutrófila. En consecuencia, parece que la medición de la concentración alveolar de NO podría ser útil para identificar un mayor grado de inflamación periférica en pacientes con síntomas nocturnos.

Además de ser un posible indicador del nivel de inflamación en la pequeña vía aérea, la Calv,NO también se relaciona con la función de las vías aéreas más distales. En 30 adultos asmáticos, con mal control de la enfermedad pese a la realización de un tratamiento convencional, y en un grupo control de sujetos sanos, se determinaron los índices de heterogeneidad de la ventilación en las vías aéreas de conducción (Scond) y en la zona accinar (Sacin) mediante la técnica de lavado de nitrógeno⁴¹. Aunque el Scond se encontraba elevado en los enfermos con asma, no se relacionaba con el J'aw,NO. En contraste, el Sacin se hallaba especialmente aumentado en el subgrupo de asmáticos más graves y se relacionaba con la Calv,NO⁴¹. También se ha demostrado que existe una relación entre la Calv,NO y la pendiente de la fase III del lavado de nitrógeno en enfermos con asma grave, mientras que dichos parámetros no se relacionan en pacientes con asma leve-moderada⁴².

En cierto modo, los niveles elevados de Calv,NO parecen mostrar una respuesta inflamatoria, no suficientemente controlada con los corticoides inhalados, que se relaciona con la percepción sintomática de los pacientes y que podría mostrar afectación concomitante del parénquima pulmonar.

Se puede especular que los niveles de Calv,NO que permanecen elevados en algunos pacientes con as-



ma tratados con corticosteroides inhalados, podrían reflejar la incapacidad de estos fármacos para alcanzar las localizaciones más distales por la gran heterogeneidad de su ventilación accinar. Por tanto, cabe considerar que existe una subpoblación de asmáticos en la que sería necesario un tratamiento alternativo (corticosteroides inhalados en micropartículas o corticosteroides sistémicos) para disminuir la inflamación en los bronquiolos respiratorios y mejorar su función. De todas formas, los resultados obtenidos hasta el momento con algunos fármacos todavía son discordantes. Mientras que algunos autores³³ demuestran mejoría de la Calv,NO de asmáticos tratados con corticoides sistémicos, otros no detectan dicho efecto^{34,42}. Tampoco se ha demostrado que el montelukast mejore la Calv,NO de pacientes ya tratados con fluticasona⁴³. Por último, en un ensayo clínico de pequeño tamaño (44) se ha comprobado que la ciclesonida, que parece tener una mejor penetración en las vías aéreas más periféricas por una mayor proporción de partículas ultrafinas, es más eficaz que el placebo en reducir la Calv,NO⁴⁴.

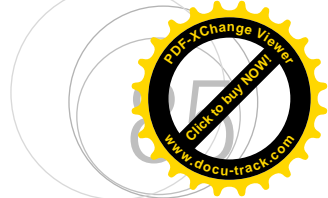
UNA VISIÓN GLOBAL: LOS PATRONES CLÍNICOS

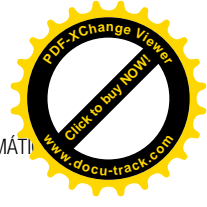
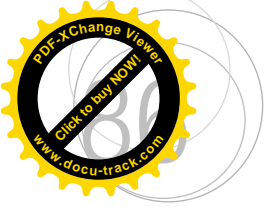
A falta de una evidencia más sólida, que resulta muy deseable, el conocimiento actual de la dinámica de la producción y exhalación del NO plantea diversas posibilidades clínicas. Además de lo ya comentado para cada parámetro aislado, una inter-

pretación integral del modelo bicompartimental podría definir patrones de enfermos con distintas manifestaciones clínicas y, por tanto, subsidiarios de intervenciones diferenciadas.

Un primer intento en este sentido ha sido realizado recientemente en un grupo de 200 niños diagnosticados de asma y que se encontraban estables⁴⁵. Según la concentración alveolar de NO y el máximo flujo de producción de NO en las vías aéreas, se diferenciaron cuatro grupos de enfermos: grupo I (Calv,NO y J'aw,NO normales), grupo II (J'aw,NO elevada con Calv,NO normal), grupo III (Calv,NO y J'aw,NO elevadas) y grupo IV (Calv,NO alta y J'aw,NO normal). Esta clasificación permitió identificar grupos de pacientes con un comportamiento diferenciado. Así, los niños incluidos en el grupo II tenían una mayor incidencia de atopia y utilizaban menos corticosteroides inhalados. Por el contrario, los niños incluidos en el grupo III tenían un mayor grado de obstrucción (menor cociente FEV₁/FVC), más reversibilidad bronquial, peor control de la enfermedad y una mayor morbilidad⁴⁵.

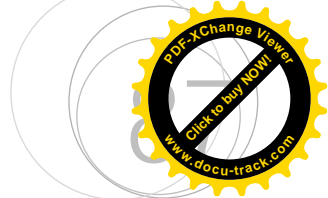
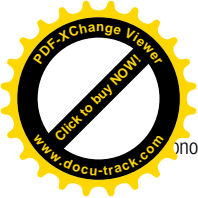
En definitiva, el análisis compartimentalizado del óxido nítrico exhalado proporciona información sobre distintos niveles de afectación de las vías aéreas de los enfermos con asma, por lo que podría constituir un instrumento para la diferenciación de grupos de enfermos. No obstante, la información disponible hasta la actualidad no resulta suficiente para alcanzar el grado de evidencia deseable.



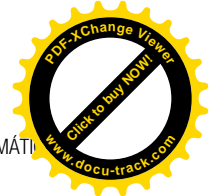
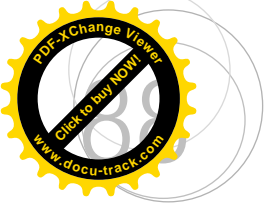


Bibliografía

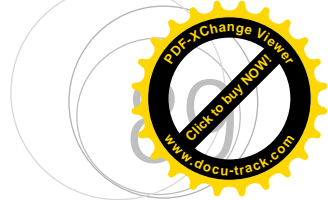
1. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-6.
2. Stewart L, Katial R. Exhaled nitric oxide. *Immunol Allergy Clin North Am* 2007; 27: 571-86.
3. Hamid Q, Springall DR, Riveros-Moreno V et al. Induction of nitric oxide synthase in asthma. *Lancet* 1993; 342: 1510-1513.
4. Marshall HE, Stamler JS. NO waiting to exhale in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 685-687.
5. Silkoff PE, Robbina RA, Gaston B, Landberg JOM, Townley RG. Endogenous nitric oxide in allergic airway disease. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 115: 438-448.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Kharitonov SA, Yates DH, Barnes PJ. Inhaled glucocorticoids decrease nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:454-7.
10. Silkoff PE, McClean PA, Caramori M, Slutsky AS, Zamel N. A significant proportion of exhaled nitric oxide arises in the large airways in normal subjects. *Respir Physiol* 1998; 113: 33-38.
11. Jörres RA. Modelling the production of nitric oxide within the human airways. *Eur Respir J* 2000;16:555-560.
12. Silkoff PE, McClean PA, Slutsky AS 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.



13. Tsoukias NM, George SC. A two-compartment model of pulmonary nitric oxide exchange dynamics. *J Appl Physiol* 1998; 85: 653-666.
14. Tsoukias NM, Tannous Z, Wilson AF, George SC. Single exhalation profiles of NO and CO₂ in humans: effect of dynamically changing flow rate. *J Appl Physiol* 1998; 85: 642-652.
15. Silkoff PE, Sylvester JT, Zamel N, Permutt S. Airway nitric oxide diffusion in asthma. Role of pulmonary function and bronchial responsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1218-1228.
16. Pietropaoli AP, Perillo IB, Torres A et al. Simultaneous measurement of nitric oxide production by conducting and alveolar airways of humans. *J Appl Physiol* 1999; 87: 1532-1542.
17. Hogman M, Holmkvist T, Wegener T et al. Extended NO analysis applied to patients with COPD, allergic asthma and allergic rhinitis. *Resp Med* 2002; 96: 24-30.
18. George SC, Hogman M, Permutt S, Silkoff PE. Modelling pulmonary nitric oxide exchange. *J Appl Physiol* 2004; 96: 831-839.
19. Shin HW, George SC. Impact of axial diffusion on nitric oxide exchange in the lungs. *J Appl Physiol* 2002;93:2070-80.
20. Kerckx Y, Michils A, Van Muylem A. Airway contribution to alveolar nitric oxide in healthy subjects and stable asthma patients. *J Appl Physiol* 2008; 104:918-924.
21. Condorelli P, Shin HW, Aledia AS, Silkoff PhE, George SC. A simple technique to characterize proximal and peripheral nitric oxide exchange using constant flow exhalations and an axial diffusion model. *J Appl Physiol* 2007; 102: 417-425.
22. Shin HW, Condorelli P, George SC. A new and more accurate technique to characterize airway nitric oxide using different breath-hold times. *J Appl Physiol* 2005; 98: 1869-77.
23. Condorelli P, Shin HW, George SC. Characterizing airway and alveolar nitric oxide exchange during tidal breathing using a three-compartment model. *J Appl Physiol* 2004; 96: 1832-1842.
24. Malinovschi A, Janson Ch, Holmkvist T, Norbäck D, Meriläinen P, Högman M. IgE sensitisation in relation to flow-independent nitric oxide exchange parameters. *Respir Res* 2006;7:92.
25. Fang K, Johns R, Macdonald T, Kinter M, Gaston B. S-nitrosoglutathione breakdown prevents airway smooth muscle relaxation in the guinea pig. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279: L716-L721.
26. Hunt JF, Fang K, Malik R et al. Endogenous airway acidification. Implications for asthma pathophysiology. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 694-699.



27. Shin HW, Rose-Gottron CM, Cooper DM, Newcombe RL, George SC. Airway diffusing capacity of nitric oxide and steroid therapy in asthma. *J Appl Physiol* 2004;96: 65-75.
28. Lehtimäki L, Kankaanranta H, Saarelainen S, Turjanmaa V, Moilanen E. Inhaled fluticasone decreases bronchial but not alveolar nitric oxide output in asthma. *Eur Respir J* 2001; 18: 635-639.
29. Linn WS, Rappaport EB, Berhane KT, Bastain TM, Salam MT, Gilliland FD. Extended exhaled nitric oxide analysis in field surveys of schoolchildren: a pilot test. *Pediatr Pulmonol* 2009; 44: 1033-42.
30. Mahut B, Delacourt Ch, Zerah-Lancner F, De Blic J, Harf A, Delclaux Ch. Increase in alveolar nitric oxide in the presence of symptoms in childhood asthma. *Chest* 2004; 125:1012-1018.
31. Puckett JL, Taylor RW, Leu SY et al. An elevated bronchodilator response predicts large airway inflammation in mild asthma. *Pediatr Pulmonol* 2010;45:174-81.
32. Lehtimäki L, Kankaanranta H, Saarelainen S et al. Extended exhaled NO measurement differentiates between alveolar and bronchial inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1557-1561.
33. Gelb AF, Taylor CF, Nussbaum E et al. Alveolar and airway sites of nitric oxide inflammation in treated asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 737-741.
34. Berry M, Hargadon B, Morgan A et al. Alveolar nitric oxide in adults with asthma: evidence of distal lung inflammation in refractory asthma. *Eur Respir J* 2005; 25: 986-991.
35. Iijima H, Duguet A, Eum SY et al. Nitric oxide and protein nitration are eosinophil dependent in allergen challenged mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1233-1240.
36. Battaglia S, den Hertog H, Timmers MC et al. Small airways function and molecular markers in exhaled air in mild asthma. *Thorax* 2005; 60: 639-644
37. Mahut B, Trinquart L, Le Bourgeois M et al. Multicentre trial evaluating alveolar NO fraction as a marker of asthma control and severity. *Allergy* 2010; 65: 636-644.
38. Lehtimäki L, Kankaanranta H, Saarelainen S, Turjanmaa V, Moilanen E. Increased alveolar nitric oxide concentration in asthmatic patients with nocturnal symptoms. *Eur Respir J* 2002; 20: 841-845.
39. Ten Hacken NH, Postma DS, Drok 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.
40. Gabbay E, Walters EH, Orsida B 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.



41. Verbanck S, Schuermans D, Vincken W. Inflammation and airway function in the lung periphery of patients with stable asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:611-616.
42. van Veen IH, Sterk PJ, Schot R, Gauw SA, Rabe KF, Bel EH. Alveolar nitric oxide versus measures of peripheral airway dysfunction in severe asthma. *Eur Respir J* 2006;27:951-6.
43. Fritscher LG, Rodrigues MT, Zamel N, Chapman KR. The effect of montelukast on exhaled nitric oxide of alveolar and bronchial origin in inhaled corticosteroid-treated asthma. *Respir Med* 2009;103:296-300.
44. Cohen J, Douma WR, ten Hacken NHT, Vonk JM, Oudkerk M, Postma DS. Ciclesonide improves measures of small airway involvement in asthma. *Eur Respir J* 2008;31:1213-1220.
45. Puckett JL, Taylor RW, Leu SY et al. Clinical patterns in asthma based on proximal and distal airway nitric oxide categories. *Respir Res* 2010;11:47