

> ORIGINAL

Óxido Nítrico en aire exhalado: Valores de referencia en población sana

Pedro J. Marcos Rodríguez, Gema Rodríguez Trigo, Iria Vidal García, Sergio Varela Vales, María del Pilar Sanjuán López, Héctor Vereza Hernando

Servicio de Neumología. Complejo Hospitalario Universitario A Coruña. A Coruña.

RESUMEN

OBJETIVOS: Tradicionalmente la principal manera de monitorizar la evolución de una enfermedad inflamatoria y crónica como es el asma ha sido basada en datos clínicos. En los últimos años han ido apareciendo nuevos métodos que tienen como objetivo determinar el grado de inflamación de la vía aérea de una manera no invasiva. Una de ellas es la determinación del óxido nítrico en el aire exhalado (FE_{NO}). Antes de que se extienda el uso de este test, es necesario desarrollar unos valores de referencia que permitan interpretar los valores de FE_{NO} detectados. El objetivo de este estudio ha sido determinar los valores de referencia en población adulta y sana, analizar la existencia de posibles confusores (sexo, edad) y determinar potenciales efectos secundarios a la realización de dichas exploraciones.

SUJETOS Y MÉTODOS: Se incluyeron sujetos con edades comprendidas entre 18 y 65 años, sin antecedentes de tabaquismo y sanos, determinado por sus antecedentes médicos y la exploración física. Se realizó la medición de FE_{NO} por el método "online" de respiración simple mediante un analizador de quimioluminiscencia NIOX (Nitric Oxide Monitoring System, Aerocrine, Sweden).

RESULTADOS: El valor medio \pm desviación estándar de FE_{NO} en una población adulta y sana fue de 18 ± 11 partes por billon (ppb), rango:2-54. Se detectaron valores significativamente más altos ($p=0.003$) al comparar los hombres (22 ppb) con respecto a las mujeres (15ppb). No se encontraron correlaciones significativas entre los niveles de FE_{NO} y la edad de los sujetos. No se describieron problemas o efectos adversos en relación con el procedimiento.

CONCLUSIONES: La medición de FE_{NO} con el NIOX es sencilla y segura. Los niveles medios en población adulta, sana y no fumadora son de 18 ppb, siendo significativamente más elevados en los hombres que en las mujeres.

PALABRAS CLAVE: Óxido nítrico, valores de referencia, asma, alergia.

Correspondencia: Pedro J. Marcos Rodríguez. Servicio de Neumología
Complejo Hospitalario de Ourense
C/Ramon Puga 52-56. 32005 Ourense

Correo electrónico: pedro.jorge.marcos.rodriguez@sergas.es

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, está universalmente aceptado por parte de la comunidad científica que el asma es una enfermedad inflamatoria crónica, que cursa con episodios de obstrucción bronquial total o parcialmente reversible y con una reconocida y demostrable hipersensibilidad de la vía aérea¹. Dado el carácter inflamatorio y crónico de la enfermedad, se ha hecho fundamental intentar determinar el grado de control evolutivo o terapéutico mediante su monitorización.

Hasta el momento, los médicos nos hemos basado en datos principalmente clínicos para intentar monitorizar o controlar la enfermedad. También se han empleado, más bien desde el lado experimental que clínico, métodos que aportaban información sobre la morfología y la citología de la vía aérea de los enfermos como la obtención de muestras de biopsia y lavado broncoalveolar mediante técnicas broncoscópicas². El importante grado de invasividad y de complicación técnica ha impedido su uso generalizado y rutinario. Por este motivo en los últimos años se han realizado importantes esfuerzos con el objetivo de obtener biomarcadores de inflamación bronquial mediante métodos no invasivos que se correspondan con aquellos otros obtenidos de una manera más agresiva. En esta dirección, se han ido desarrollando técnicas relativamente novedosas como son el análisis de marcadores inflamatorios en esputo inducido, en el aire exhalado o en su condensado^{3,4}.

El óxido nítrico (NO) es un gas producido por varios tipos de células pulmonares, incluyendo células inflamatorias, endoteliales y epiteliales de la vía aérea. El NO es el producto de la oxidación del grupo guanidina terminal de la L-arginina reacción producida por acción de la enzima NO sintetasa (NOS). La NO sintetasa tiene tres isoformas, una de ellas (NOS2 o iNOS) tiene una mayor actividad y puede inducirse por citoquinas inflamatorias, endotoxinas e infecciones respiratorias y cuya expresión se incrementa en las enfermedades inflamatorias⁵. Estudios recientes han establecido que el NOe diferencia con un alto poder de discriminación a los sanos de los asmáticos, por lo que podría ser una herramienta a emplear en el diagnóstico de asma^{6,7}. También se ha descrito como una importante herramienta para monitorizar el curso clínico de la enfermedad⁸, lo que podría orientar a un cambio en la actitud terapéutica. La medición del NO en el aire exhalado (FE_{NO}) es una

técnica cada vez más empleada en los laboratorios de función pulmonar, esto ha estimulado la necesidad de poseer valores de referencia para la medición de FE_{NO} por los equipos comercializados actualmente. Son pocos los estudios que analizan los valores de FE_{NO} en población sana y con resultados divergentes en función del equipo empleado. El objetivo principal de este estudio fue establecer los valores de referencia de FE_{NO} en población adulta y sana. Objetivos secundarios fueron analizar la existencia de posibles confundidores (sexo edad) y determinar potenciales efectos secundarios a la técnica en su determinación.

SUJETOS Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló en el hospital Juan Canalejo. Los sujetos que participaron fueron reclutados aleatoriamente y todos ellos eran trabajadores del centro hospitalario en el momento de la determinación.

Se incluyeron voluntarios con edades comprendidas entre 18 y 65 años, sin antecedentes de tabaquismo y sanos, determinado por sus antecedentes médicos y la exploración física.

Se excluyeron del estudio aquellos que presentaban historia de enfermedad cardiovascular, respiratoria, hepática, renal, inmunológica, gastroenterológica, dermatológica, neurológica o psiquiátrica así como enfermedad pulmonar activa, incluyendo tuberculosis. Así mismo se descartaron todos aquellos que referían asma, rinitis, atopia o historia clínica compatible con alguna de ellas. También se eliminaron del análisis los sujetos con síntomas de infección respiratoria de vías altas o bajas en las 3 semanas previas a la determinación y los que estuvieran tomando o hubieran tomado algún fármaco durante la semana previa a la determinación

Se realizó la medición de FE_{NO} siguiendo el método "online" de respiración simple mediante un analizador de quimioluminiscencia NIOX (Nitric Oxide Monitoring System, Aerocrine, Sweden) siguiendo las recomendaciones de la American Thorathic Society¹⁰. EL analizador fue calibrado diariamente con oxígeno libre de NO. Para ello el sujeto se sentaba de manera confortable, con el instrumento en posición adecuada y se le explicaba en que consistía la técnica. No se empleó clip nasal. El sujeto introducía la pieza bucal del aparato NIOX e inhalaba NO libre de oxígeno hasta capacidad

pulmonar total durante 2 o 3 segundos. Posteriormente, el sujeto comenzaba a exhalar contra una resistencia a una presión de 15cm H₂O para asegurar que el paladar blando estuviera cerrado, y así prevenir una potencial contaminación de origen nasal. El flujo de exhalación determinado fue de 50mL/seg. El FE_{NO} fue calculado durante los últimos dos segundos de la exhalación. El tiempo de duración de la exhalación fue de 10 segundos. Todos los sujetos realizaron un mínimo de tres determinaciones y un máximo de 5. El intervalo entre cada inhalación fue de al menos 30 segundos. Los niveles finales de FE_{NO} fueron calculados como la media de los valores de tres maniobras válidas. Se consideraron como correctas aquellas determinaciones con una desviación menor de 2.5ppb o un 10%. Todas las determinaciones fueron realizadas por la misma persona, entre las 15 y las 20 horas en el laboratorio de función pulmonar del Servicio de Neumología del centro. Se recogió la hora a la que comieron por última vez. Al final del procedimiento, se les preguntó si presentaron algún efecto indeseable relacionado con la realización de la prueba.

Figura 1. Distribución por edad de los Sujetos estudiados

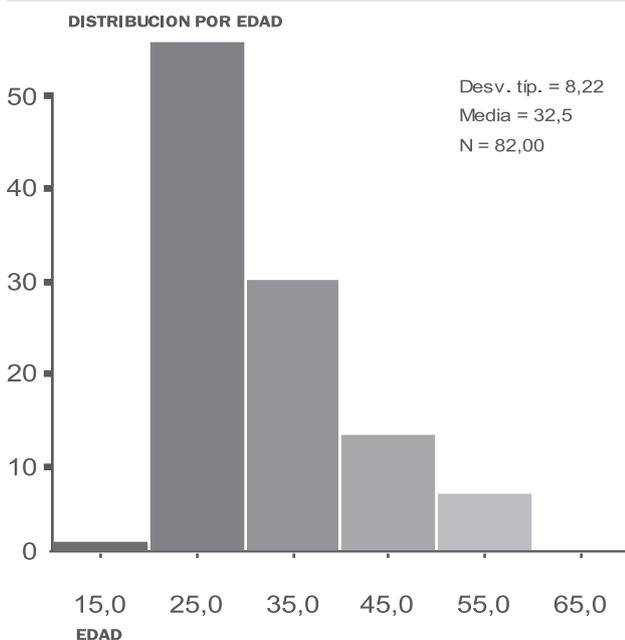
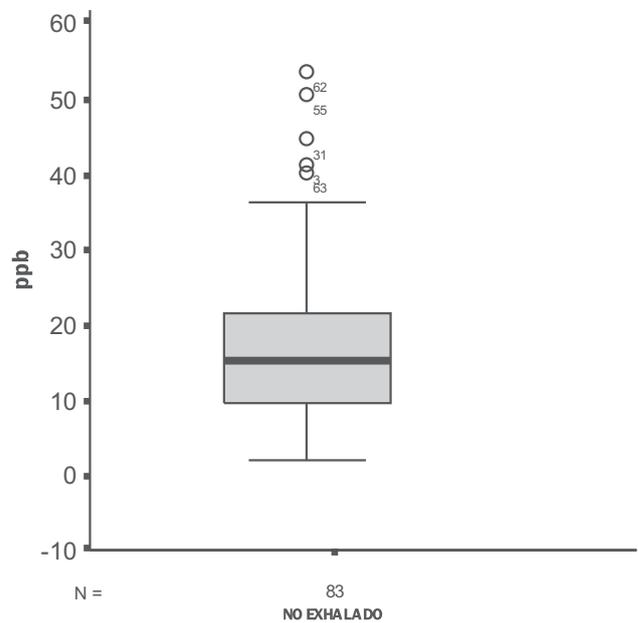


Figura 2. Niveles de FE_{NO}



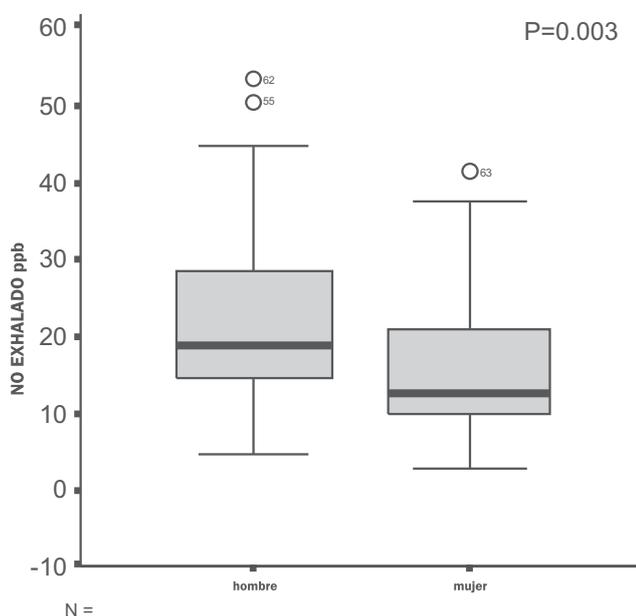
RESULTADOS

Se incluyó a un total de 83 sujetos. En la figura 1 se recoge la distribución por edades, siendo la edad media de 32 años (Desviación Standard -DS- 8, rango: 19-56). La distribución por sexos mostraba un predominio femenino con 52(62%) mujeres y 32(38%) hombres. La determinación se realizó tras una media de 3,7 horas (DS 1,8) después de la última ingesta. El valor medio de FE_{NO} fue de 18 ppb, DS 11, rango:2-54 (Figura 2). Siendo sus valores significativamente más altos (p=0.003) al comparar los hombres (22 ppb) con respecto a las mujeres (15ppb) (Figura 3). No se encontró una correlación significativa entre los niveles de FE_{NO} y la edad de los sujetos. No se describieron problemas o efectos adversos en relación con el procedimiento.

DISCUSIÓN

Tras la realización del estudio podemos concluir que el valor medio de óxido nítrico de aire exhalado en una población adulta, sana y no fumadora es de 18ppb. Estos datos coinciden con los expuestos

Figura 3. Niveles de FE_{NO} en función del sexo



anteriormente por otros autores como Kkaritonov S (16.3ppb) y Gómez FP(18ppb) , al estudiar comparativamente los valores de FE_{NO} en población sana con respecto a población asmática^{11,12}.

En este trabajo se encontraron valores significativamente más elevados al comparar los niveles de FE_{NO} en hombres con respecto a las mujeres. Existe divergencia en los trabajos publicados a este respecto, encontrándose algunos en los que existe unos niveles más elevados en población masculina^{13,14,15} con respecto a otros en donde no se han encontrado diferencias al respecto^{16,17,18}. Greaseman¹³ en su estudio genético de la NO sintetasa, demostró que eran las variaciones genéticas a nivel del gen de la NO sintetasa neuronal un contribuyente de la variabilidad en las concentraciones de FE_{NO} en mujeres sanas.

No se encontraron diferencias significativas en al analizar los niveles de FE_{NO} con respecto a la edad del sujeto, observaciones ya previamente reflejadas en la población adulta¹⁵, y sobre la que existe una mayor controversia en las edades pediátricas¹⁹.

Al haberse realizado la técnica en un mismo rango horario, no se ha podido investigar la variación circadiana de los niveles de FE_{NO}, que si bien existen estudios que no han sido capaces de demostrar su repercusión^{20,11}, un estudio realizado en niños sanos y asmáticos sí lo ha demostrado²¹.

La medición del FE_{NO} fue posible en el 100% de los participantes del estudio, y ninguno de ellos describió efectos secundarios o reacciones adversas a la prueba.

Este estudio presenta unas limitaciones que nos gustaría destacar. La gran mayoría de los sujetos que han participado son trabajadores en activo del Hospital de A Coruña , principalmente residentes, lo que explicara una edad media como la obtenida, este dato aunque pudiera constituir por sí mismo un sesgo de selección, no consideramos que debiera afectar a la determinación del FE_{NO} obtenida. El nivel de salud de los sujetos fue realizada en función de la historia clínica básica y de los antecedentes personales médicos, sin haberse realizado pruebas de screening básicas como una analítica sanguínea, un electrocardiograma o un radiografía de tórax. Además, a ningún sujeto se les realizó una espirometría ni test cutáneos para descartar un proceso asmático o atópico asintomático que pudiera alterar los resultados. Así mismo no se determinaron la talla, el peso o el índice de masa corporal, factores potencialmente relacionados con los niveles de Fe_{NO}¹⁵. Tampoco se reflejó el tipo de dieta realizada, especialmente comida rica en nitratos o en cafeína, ya que se ha encontrado una relación con los niveles de FE_{NO}^{22,23}.

En conclusión, la medición de FE_{NO} con el NIOX es sencilla y segura. Los niveles medios en población adulta, sana y no fumadora son de 18, siendo significativamente más elevados en los hombres que en las mujeres.

AGRADECIMIENTOS:

A todos los amigos, compañeros y trabajadores del Hospital de A Coruña que han participado amablemente como controles sanos en este estudio.

BIBLIOGRAFÍA:

- 1.- Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention. NHLBI/WHO Workshop Report. Bethesda: National Institutes of Health; 1996.
- 2.- Vignola AM, Canez P, Campbell AM et al. Airway inflammation in mild intermittent and persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 403-409.
- 3.- Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 ;163:1693-722.
- 4.- Kim CK, Hagan JB. Sputum tests in the diagnosis and monitoring of asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2004 ;93:112-22.
- 5.- Chambers DC, Ayres JG. Effect of nebulised L-arginina on exhaled nitric oxide in steroid naïve asthma. *Thorax* 2001; 56: 351-357.
- 6.- Dupont LJ, Demedts MG, Verleden GM. Prospective evaluation of the validity of exhaled nitric oxide for the diagnosis of asthma. *Chest*. 2003;123:751-6.
- 7.- Deykin A, Massaro AF, Drazen JM, Israel E. Exhaled nitric oxide as a diagnostic test for asthma: online versus offline techniques and effect of flow rate. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:1597-601.
- 8.- Kharitonov SA. Exhaled markers of inflammatory lung diseases: ready for routine monitoring? *Swiss Med Wkly*. 2004 3;134:175-92
- 9.- Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, Herbison GP, Taylor DR. Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N Engl J Med*. 2005 26;352:2163-73.
- 10.- Recommendations for standardized procedures for the on-line and off-line measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children-1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999 ;160:2104-17 .
- 11.- Kharitonov SA, Gonio F, Kelly C, Meah S, Barnes PJ. Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *Eur Respir J*. 2003 ;21:433-8.
- 12.- Gomez FP, Martinez Palli G, Barbera JA, Roca J, Rodriguez-Roisin R. Measurement of exhaled nitric oxide in healthy subjects. *Med Clin (Barc)*. 1998 13;111:1-5.
- 13.- Grasmann H, Storm van's Gravesande K, Buscher R, Drazen JM, Ratjen F. Effects of sex and of gene variants in constitutive nitric oxide synthases on exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 15;167:1113-6.
- 14.- Van der Lee I, van den Bosch JM, Zanen P. Reduction of variability of exhaled nitric oxide in healthy volunteers. *Respir Med*. 2002 ;96:1014-20.
- 15.- Tsang KW, Ip SK, Leung R, Tipoe GL, Chan SL, Shum IH, Ip MS, Yan C, Fung PC, Chan-Yeung M, Lam W. Exhaled nitric oxide: the effects of age, gender and body size. *Lung*. 2001;179:83-91.
- 16.- Sanchez Gutierrez C, Romero Romero B, Jimenez Solis R, Castillo Gomez J. Reproducibility of the technique for measuring nitric oxide in exhaled air in healthy subjects. *Arch Bronconeumol*. 2001 ;37:371-4.
- 17.- Ekroos H, Tuominen J, Sovijarvi AR. Exhaled nitric oxide and its long-term variation in healthy non-smoking subjects. *Clin Physiol*. 2000 ;20: 434-9.
- 18.- Baraldi E, Azzolin NM, Cracco A, Zacchello F. Reference values of exhaled nitric oxide for healthy children 6-15 years old. *Pediatr Pulmonol*. 1999 ;27:54-8.
- 19.- Buchvald F, Baraldi E, Carraro S, Gaston B, De Jongste J, Pijnenburg MW, Silkoff PE, Bisgaard H. Measurements of exhaled nitric oxide in healthy subjects age 4 to 17 years. *J Allergy Clin Immunol*. 2005 ;115:1130-6.
- 20.- Ten Hacken NH, van der Vaart H, van der Mark TW, Koeter GH, Postma DS. Exhaled nitric oxide is higher both at day and night in subjects with nocturnal asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 ;158:902-7.
- 21.- Mattes J, Storm van's Gravesande K, Moeller C, Moseler M, Brandis M, Kuehr J. Circadian variation of exhaled nitric oxide and urinary eosinophil protein X in asthmatic and healthy children. *Pediatr Res*. 2002 ;51:190-4.
- 22.- Olin AC, Aldenbratt A, Ekman A, Ljungkvist G, Jungersten L, Alving K, Toren K. Increased nitric oxide in exhaled air after intake of a nitrate-rich meal. *Respir Med*. 2001 ;95:153-8.
- 23.- Bruce C, Yates DH, Thomas PS. Caffeine decreases exhaled nitric oxide. *Thorax*. 2002 ;57:361-3.