

Fracción de óxido nítrico exhalado como biomarcador en asma

Fraction of exhaled nitric oxide as biomarker in asthma

GUSTAVO ADOLFO HINCAPIÉ DÍAZ, MD.⁽¹⁾; JAVIER IVÁN LASSO APRÁEZ, MD.⁽²⁾

Resumen

El asma es un síndrome heterogéneo en el cual la identificación y utilización de biomarcadores, puede contribuir a agrupar los pacientes en fenotipos y predecir quienes responderán a una terapia específica y evaluar además la respuesta al tratamiento. Un biomarcador ideal debe tener relevancia clínica, alta sensibilidad, ser confiable, repetible, simple, rápido, económico y contar con buena correlación con la respuesta al tratamiento. Se describen los diferentes biomarcadores utilizados en asma y se profundiza en la fracción de óxido nítrico exhalado su fisiopatología y utilidad clínica en el abordaje de pacientes asmáticos, su biosíntesis y regulación, su relación con la inflamación en el asma, se describen los estudios relacionados con el diagnóstico del asma y la fracción exhalada de óxido nítrico y como puede servir como herramienta para iniciar el tratamiento, cuáles son sus valores normales y los avances en la estandarización de la medición que han permitido que se convierta en un biomarcador que permite evaluar la inflamación de la vías aéreas.

Palabras clave: biomarcadores en asma, fracción de óxido nítrico exhalada, eosinófilos, periostina.

Abstract

Asthma is a heterogeneous syndrome in which the identification and utilization of biomarkers can help in grouping patients according to phenotypes, and predicting which patients will respond to a specific therapy. Biomarkers are also useful for assessing the response to treatment. An ideal biomarker should have clinical relevance, as well as high sensitivity and reliability. It should be repeatable, simple, fast, cheap, and have a good correlation with the response to treatment. We describe the biomarkers used in asthma, laying emphasis on the fraction of exhaled nitric oxide, its pathophysiology and clinical usefulness, its biosynthesis and regulation, and its relation with inflammation in asthma. We describe the studies related with the diagnosis of asthma and the fraction of exhaled nitric oxide, and show how it can be used as a tool for beginning the treatment. We discuss its normal values, and the advancements in the standardization of its measurement. All these factors have made it possible to assess inflammation of the airways by means of this biomarker.

Keywords: biomarkers in asthma, fraction of exhaled nitric oxide, eosinophils, periostin.

⁽¹⁾Coordinador del Servicio de Neumología del Hospital Militar Central. Profesor Asociado de la Universidad Nueva Granada. Bogotá, Colombia.

⁽²⁾Internista. Neumólogo del Hospital Universitario San Ignacio. Profesor ad-honorem de la Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

Correspondencia: Gustavo Adolfo Hincapié Díaz, correo electrónico: gahincapie@gmail.com

Recibido: 05/05/15. **Aceptado:** 23/05/15.

Introducción

El asma es un síndrome heterogéneo. No obstante, la clasificación en fenotipos y endotipos puede mejorar el entendimiento y el tratamiento de la enfermedad. La identificación y utilización de biomarcadores, particularmente aquellos unidos a la inflamación mediada por linfocitos T ayudadores tipo 2 (TH2), pueden contribuir a agrupar a los pacientes en fenotipos, predecir quienes responderán a una terapia específica y evaluar la respuesta de un tratamiento (1).

Los biomarcadores están presentes en el esputo, el aire exhalado y la sangre de pacientes con asma. Se incluyen eosinófilos y neutrófilos en esputo, fracción de óxido nítrico exhalado (FENO, del inglés *fractional exhaled nitric oxide*), eosinofilia sanguínea, IgE y periostina. Muchos de estos biomarcadores se asocian con inflamación eosinofílica propagada principalmente por citocinas tipo 2 tales como interleucina 5 (IL-5) e IL-13, las cuales son liberadas por células TH2 y células linfoides innatas tipo 2 (1).

En respuesta a un estímulo las células dendríticas (CD) en la vía aérea liberan IL-4 y OX40, las cuales promueven la diferenciación de linfocitos T en linfocitos TH2. Estas células en contacto con linfocitos B-alérgico específicos, estimulan la producción de IgE (1), que se une luego a la superficie de los mastocitos y basófilos y ante una nueva exposición al alérgeno se liberan citocinas, histamina y leucotrienos. Las células TH2 migran al epitelio y a la submucosa de la vía aérea y liberan IL-5 e IL-13 promoviendo la inflamación eosinofílica y la remodelación de la pared bronquial (1).

Los corticoides inhalados (CI) continúan siendo la piedra angular del tratamiento del asma, pero son ineficaces en algunos pacientes quienes presentan síntomas persistentes y exacerbaciones frecuentes. El mayor conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad ha permitido entender que se trata de un síndrome heterogéneo con perfiles patogénicos distintos, de tal forma que una estrategia personalizada de tratamiento dirigido a características específicas en el futuro proporcionará alivio y control de la enfermedad (2).

Biomarcadores en asma

Con el propósito de clasificar la heterogeneidad de la enfermedad se ha subdividido el asma en *fenotipos* o grupos de individuos que comparten características similares como síntomas o variables clínicas cuantificables.

Los *endotipos* hacen referencia a la subdivisión de la enfermedad basada en la fisiopatología. Los endotipos son más objetivos y potencialmente más útiles en el entendimiento del asma (3).

En 2012, Wenzel dividió el asma en dos grandes fenotipos: asma TH2 y no TH2. Dentro del primer grupo están los pacientes con asma inflamatoria clásica que responden al tratamiento con CI como los niños con asma alérgica; y en el segundo se incluyen los individuos con asma-obesidad y asma-neutrofílica quienes usualmente son resistentes a los CI (4).

La identificación de los fenotipos en asma, necesita del uso de biomarcadores. Un biomarcador ideal debería tener las siguientes características (5):

1. Tener relevancia clínica, es decir que cambie en un periodo de tiempo corto y su cambio refleje un proceso fisiopatológico o respuesta al tratamiento.
2. Poseer alta sensibilidad, especificidad y valores predictivos, permitiendo la identificación real del fenotipo y excluyendo otros.
3. Ser confiable, repetible, simple, rápido y económico.
4. Contar con buena correlación con la respuesta al tratamiento.

Recuento celular en esputo

Los eosinófilos en esputo son un fuerte predictor de inflamación TH2 de la vía aérea, y los neutrófilos en esputo representan un fenotipo diferente de asma severa potencialmente menos susceptible a la terapia TH2 dirigida. Su determinación en esputo es técnicamente difícil y no está disponible en la mayoría de los entornos clínicos. Es necesario disponer de un marcador más eficiente, menos invasivo y que pueda predecir el tipo de células inflamatorias en el esputo con exactitud (6).

Periostina

Es una proteína de la matriz extracelular, originalmente descubierta en los osteoblastos, que se encuentra en las células mesenquimales de varios órganos. El gen que la codifica (POSTN) es altamente expresado en el epitelio de la vía aérea de pacientes con asma. Actúa como ligando e integrina implicada en la remodelación. Shidu et al. probaron de manera experimental que la periostina es secretada por las células epiteliales en respuesta a IL-4 e IL-13, contribuyendo a la activación del factor beta transformante del crecimiento (TGF- β , del inglés *transforming growth factor beta*), incremento de la síntesis de colágeno y remodelación de la vía aérea (7).

Es útil para la medición de la severidad del asma, y sus niveles disminuyen con los CI. Los pacientes asmáticos que no tienen aumento de la periostina se han denominado TH2 *low* que significa que tienen niveles bajos de IL-13 e IL-5, en contraste con los TH2 *high* que tienen alta expresión de estas citocinas.

Fracción de óxido nítrico exhalado (FENO)

En esta revisión se profundizará sobre los principales aspectos de este biomarcador, su fisiología y la utilidad clínica en el abordaje de los pacientes asmáticos.

El óxido nítrico (ON) es un gas de radicales libres que actúa como mediador paracrino en varios tejidos, inicialmente identificado como factor relajante derivado del endotelio (8).

Posteriormente se reconoció como parte de una nueva familia de moléculas llamadas *gasotransmisores*, mediadores gaseosos responsables de una variedad de procesos fisiológicos (9). El ON es producido en la conversión de L-arginina a L-citrulina por acción de la óxido nítrico sintetasa (ONS). Esta enzima produce ON en estados inflamatorios como el asma. En los primeros estudios se encontró que el ON en el aire exhalado de los asmáticos era dos a tres veces más alto que en los controles sanos (10).

Biosíntesis y regulación

En el tracto respiratorio el ON es producido por células epiteliales, nervios de las vías aéreas, células inflamatorias y células del endotelio vascular (11). La ONS existe en tres isoformas que se expresan en la vía aérea: ONS constitutiva neural (nONS), ONS constitutiva endotelial (eONS) y ONS inducible (iONS). En el pulmón el ON derivado de las isoformas constitutivas de ONS media el desarrollo pulmonar, la relajación del músculo liso, la protección contra los estímulos broncoconstrictores y la motilidad ciliar. El ON derivado de la isoforma inducible iONS media algunos mecanismos de defensa inespecíficos contra patógenos en la sepsis, así como en enfermedades inflamatorias crónicas (12).

La mayoría de estos efectos proviene de la formación de peroxinitrito (ONOO $^-$), un oxidante altamente reactivo sintetizado por la reacción de ON con el anión superóxido (O $_2^-$) generado en la vía aérea inflamada (figura 1) (13).

FENO en inflamación y asma

La inflamación pulmonar aumenta significativamente la síntesis de ON en las células inflamatorias por activación de la iONS en un proceso dependiente del factor nuclear kappa-beta (NF- κ B, del inglés *nuclear factor kappa-beta*). Debido a su estado gaseoso, el ON difunde al aire que pasa a través de la vía aérea durante la exhalación. Se prevé una concentración alta de ON en el aire exhalado, en la inflamación aguda o crónica de la vía aérea como asma, bronquitis aguda viral o bacteriana, neumonitis infecciosa y enfermedades autoinmunes con compromiso pulmonar. Dos enfermedades son la excepción, la fibrosis quística por razones aún no dilucidadas y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) a través de inhibición de la síntesis de ON endógeno por el alto contenido de ON en el humo de cigarrillo (14).

La inflamación de la vía aérea en asma es un proceso crónico variable en el tiempo, responsable de hiperreactividad bronquial, obstrucción y remodelación estructural.

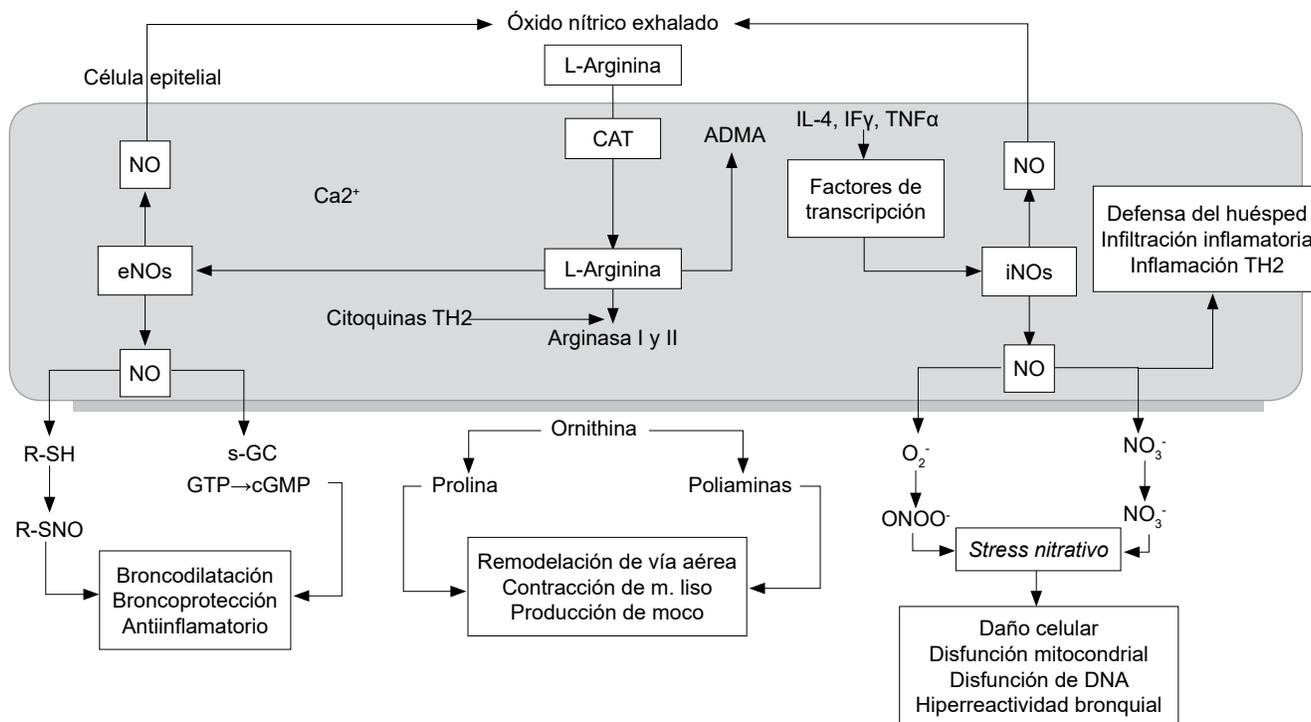


Figura 1. Modelo de la síntesis de óxido nítrico y regulación en las vías aéreas. La L-arginina es transportada dentro de la célula epitelial, por vía del sistema de transporte del aminoácido catiónico (CAT) y puede ser metabolizada por cualquiera de las isoenzimas de óxido nítrico sintetasa y las arginasas I y II. Fisiológicamente hay activación por agonistas del receptor y aumento de la concentración de Ca^{2+} intracelular y activación de cNOS la cual cataliza la síntesis de ON, que se une a grupos thiol formando la S-nitrosothiol (R-SNO) o guanil ciclasa soluble (sGC), estimulando la conversión de GTP a cGMP todos con un papel regulatorio en la fisiología de la vía aérea. Las citocinas proinflamatorias [IL-4, interferón γ (INF γ) y factor de necrosis tumoral (TNF α)] activan los factores de transcripción que inducen la expresión de la isoenzima iNOS la cual libera ON con efectos benéficos, pero también deletéreos. La unión de ON con moléculas como radicales superóxido ($O_2^{\cdot-}$) y metales de transición causan el “stress nitrativo”. En asma, las citocinas TH2 en conjunto con el polimorfismo genético producen sobreexpresión de las arginasas I y II que incrementa la prolina y poliaminas. Finalmente, la dimetil arginina asimétrica (ADMA), que es un análogo de la L arginina, compete inhibiendo las isoformas de NOS, generando $O_2^{\cdot-}$ y consecuentemente “stress nitrativo”.

Hay varios tipos de inflamación en asma: eosinofílica, neutrofílica y mixta con pocos neutrófilos. La inflamación predominante en asma es la eosinofílica, sensible a los corticosteroides. La infiltración eosinofílica se correlaciona con aumento de la fracción de ON exhalado (FENO) tanto en niños como en adultos con asma y durante las exacerbaciones (15, 16).

De acuerdo con los resultados del *National Health and Nutrition Examination Survey 2007-2010* (NHANES), el percentil 95 para FENO es 39 partes por billón (ppb) para sujetos de 12 a 80 años y 36 ppb para niños menores de 12 años. Valores superiores indican alto riesgo de inflamación de la vía aérea (17).

Utilidad de la FENO en la tamización del asma

Algunos estudios muestran excelente correlación. Investigaciones realizadas en pacientes con rinitis alérgica, encontraron que muchos tenían hiperreactividad bronquial subclínica, y se asociaba al desarrollo de asma en el futuro (18, 19).

Lee et al. investigaron la utilidad de la FENO en la tamización de asma en niños chinos en edad escolar. Midieron la FENO en controles y en niños con diagnóstico médico de rinitis alérgica (RA), asma o dermatitis atópica (DA). Encontraron que el asma y la RA tenían una asociación independiente con FENO

umentada, concluyendo que otras enfermedades además de asma deben ser consideradas cuando se use la FENO como una herramienta de detección (20).

De otra parte, Ciprandi et al. encontraron que los niños con RA o asma y FENO mayor a 34 ppb tuvieron reversibilidad después de la administración de broncodilatador, especialmente si estaban sensibilizados a alérgenos perennes, sugiriendo que FENO y el patrón de exposición a alérgenos ayudaría a la identificación de niños quienes tendrían beneficio de estudio pulmonar (21).

Schleich et al. examinaron la capacidad de la FENO para predecir un resultado positivo en la prueba de provocación con metacolina en pacientes con VEF₁ normal. Encontraron que la FENO mayor a 34 ppb tuvo valor predictivo positivo (VPP) de 88%, especificidad de 95%, sensibilidad de 35% y valor predictivo negativo (VPN) de 66% respecto a una prueba de metacolina positiva; puesto que ésta es dispendiosa y consume tiempo en su elaboración, la FENO tiene un papel en la detección temprana de hiperreactividad bronquial en pacientes asintomáticos, pues permite un seguimiento cercano de quienes están en riesgo de desarrollar asma (22).

Fukuhara et al. tamizaron pacientes con tos, disnea y sibilancias, y hallaron que la FENO mayor de 40 ppb tuvo una sensibilidad del 78,6%, y una especificidad del 89,5% para identificar asma (23).

En conclusión, los estudios con FENO demuestran su utilidad como prueba de tamizaje de asma en pacientes con rinitis alérgica y síntomas de hiperreactividad bronquial.

FENO en el diagnóstico del asma

Un meta-análisis de 21 estudios de casos y controles (n=4691) evaluó la capacidad de la FENO como marcador diagnóstico del asma, encontrando sensibilidad, especificidad, *likelihood ratio* (LR) positivo, LR negativo y *odds ratio* diagnóstico (DOR) de 78%, 74%, 3,7, 0,35 y 11,37, respectivamente. Los autores concluyeron que la FENO tiene baja sensibilidad y especificidad para diagnosticar el asma, pero que su utilidad mejora cuando se usa en combinación con manifestaciones clínicas y pruebas de función pulmonar (24).

Una revisión sistemática reciente de la literatura y metaanálisis de 25 estudios prospectivos investigó la exactitud diagnóstica de la FENO para el diagnóstico del asma. La sensibilidad, especificidad y DOR para la población estudiada (n=3.983) fue 72%, 78% y 15,92 respectivamente. El área bajo la curva ROC fue 0,88. En el análisis por subgrupos el DOR para pacientes tosedores crónicos, sin uso de corticosteroides o no fumadores fue 35,36, 21,40 y 19,84 respectivamente, concluyéndose en este estudio que la FENO es exacta para el diagnóstico del asma en estos subgrupos de pacientes (25).

En las guías actuales se recomienda utilizar FENO para diferenciar asma de otras enfermedades respiratorias, con alta sensibilidad y alta especificidad de acuerdo con los puntos de corte aplicados. La medición de la FENO en pacientes con síntomas respiratorios es un buen predictor de asma. Tiene como limitación que no todos los pacientes asmáticos tienen inflamación que se relacione con aumento de la FENO. Las guías de la *American Thoracic Society* (ATS) señalan que la FENO en 26 ppb es un punto de corte de buena correlación con eosinofilia significativa en esputo (>3%). La FENO menor de 25 ppb tiene un VPN de 85% para inflamación eosinofílica. Un valor inferior a 25 ppb (<20 ppb en niños) predice mala respuesta a los CI, en tanto que la FENO mayor a 50 ppb (>35 ppb en niños) es predictor de buena respuesta a los CI. Valores de FENO entre 25 y 50 ppb (20 - 35 ppb en niños) deben ser interpretados con cautela (13, 26).

La FENO superior a 31 ppb tiene un VPP de 82% para diagnóstico de asma, en tanto que la menor de 12 ppb tiene VPN de 81% para descartarla (27). Además, la FENO es sensible a la pérdida de control del asma. De otra parte, valores de FENO por encima de 300% del valor normal, identifican personas en riesgo de uso excesivo de rescataadores y uso de esteroide oral (28).

En las guías recientes del *National Institute for Health and Care Excellence* (NICE), publicadas *on line*, se recomienda usar FENO en adultos y jóvenes mayores de 16 años si se está pensando el diagnóstico de asma, considerando positivo un valor de FENO de 40 ppb o más. En niños entre 5 y 16 años,

recomiendan usar un valor de FENO de 35 ppb o más como positivo en los casos de incertidumbre, espirometría normal o broncoprovocación negativa (29).

FENO como herramienta para indicar tratamiento

Mediciones de FENO menores a 45 ppb se asocian a mejoría clínica, espirométrica y de la hiperreactividad bronquial con el uso de CI (30).

Taylor, en una recopilación de varios estudios, encontró, en sujetos con síntomas respiratorios inespecíficos, que la FENO tuvo VPP y VPN altos para predecir respuesta a los CI y por tanto mejoría (31).

Syk et al. evaluaron en 187 pacientes con asma la medición del FENO como guía para ajustar el tratamiento antiinflamatorio. Es el primer estudio de asignación aleatoria y controlado en el que se estima FENO como guía en el tratamiento del asma. El cuestionario de control del asma (ACQ, del inglés *Asthma Control Questionnaire*) mejoró

significativamente en el primer año en el grupo seguido por FENO $-0,17$ [rango intercuartil {IQRm, su sigla en inglés}, $-0,67$ a $0,17$] vs. $0,0$ [IQR $-0,33$ a $0,50$], $p = 0,045$. No hubo cambios en el AQLQ (del inglés, *Asthma Quality of Life Questionnaire*), pero hubo cambio clínicamente significativo en las subpoblaciones de peor control. Las exacerbaciones se redujeron en más del 50% en el grupo guiado por FENO sin incrementar el uso de CI (32).

Valores normales

El rango de normalidad de FENO es muy amplio, luego la recomendación razonada es utilizar los puntos de corte. Olin et al. analizaron valores de referencia en población general y encontraron que la media está en 16 ppb, pero el rango es muy amplio (2,4 a 199 ppb). El percentil 25 está en 11 ppb y el percentil 75 en 22,3 ppb (33). En los pacientes sin asma pero con atopia, los límites de normalidad están en rangos de 27 a 57 ppb, valores que se superponen con los de pacientes asmáticos con eosinofilia (figura 2).

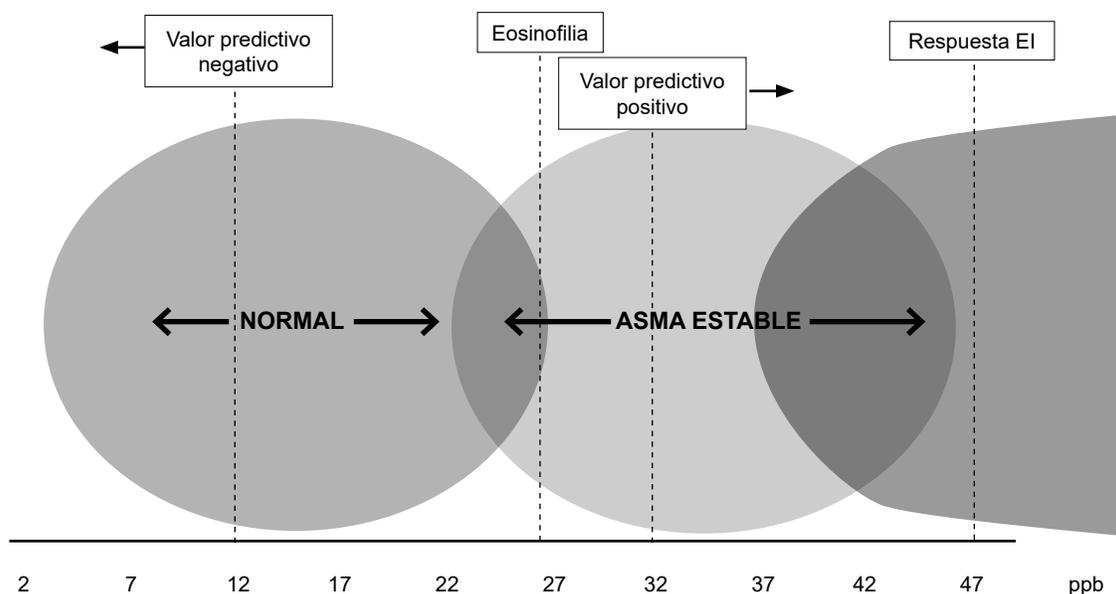


Figura 2. Representación esquemática de los niveles de distribución de la FENO. El valor promedio es 16 ppb, pero con rango entre 2,4–199 ppb. El punto de corte de 26 ppb es óptimo para correlacionar con eosinofilia en esputo. Sin embargo, un 20% de pacientes con valores superiores a este punto de corte no necesariamente tienen eosinofilia. En el estudio de Olin et al. el intervalo de confianza de 95% localiza la FENO en pacientes con asma estable entre 22 y 44 ppb. El punto de corte de 47 ppb es el valor óptimo para esperar respuesta con CI. De acuerdo con la guía ATS los valores por debajo de 12 ppb tienen VPN de 81% y por encima de 31 ppb el VPP es 82%.

El punto de corte que se correlaciona con eosinofilia en esputo >3% es 26 ppb; sin embargo, pacientes con asma estable se encuentran en rango entre 22 y 44 ppb. Hay sobreposición entre los valores de la población normal y los de los individuos con asma estable. La guía ATS advierte que valores de FENO < 25 ppb indican que hay baja probabilidad de inflamación eosinofílica y por lo tanto mala respuesta a los CI. Por el contrario, la FENO > 50 ppb indica inflamación eosinofílica y usualmente respuesta a los CI. Valores de FENO entre 25 y 50 ppb deben ser interpretados con cautela y en el contexto clínico. Todas son recomendaciones fuertes con calidad de evidencia moderada (26).

En cuanto a las recomendaciones anteriores se sugiere hacer la interpretación y el análisis con base en la tabla 1.

Conclusiones

La FENO es una medición no invasiva, que revela la inflamación alérgica mediada por linfocitos TH2. Ayuda a los médicos a identificar pacientes con inflamación de la vía aérea, y a predecir su respuesta al tratamiento con CI.

La utilización de esta medición ayuda a encontrar los pacientes con mayor inflamación, hecho que se traduce en reducción de las exacerbaciones.

Los avances en la estandarización de la medición de la FENO han permitido que se convierta en un biomarcador que permite evaluar la inflamación de las vías aéreas. Dado que el asma es una enfermedad heterogénea con diversas presentaciones fisiopatológicas, la FENO ayuda a encontrar tal heterogeneidad permitiendo identificar los fenotipos.

Si bien su limitación son los valores de normalidad, es muy útil si se analiza a partir de los puntos de corte recomendados.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Tabla 1. Decisiones terapéuticas basadas en la FENO.

FENO ppb	Inflamación alérgica de la vía aérea	Considere
<25 ppb	Poco probable	Sintomático con CI Revise el diagnóstico
		Asintomático con CI Considere reducción de CI
25–35 ppb	Posible, interpretación cuidadosa	Sintomático con CI Adicione LABA Incremente dosis de CI Investigue infección Evalúe exposición a alérgenos
		Asintomático No cambie dosis de CI
>50 ppb	Probable	Sintomático Incremente dosis de CI Revise técnica de uso y adherencia Exacerbación Alta exposición a alérgeno Resistencia a esteroides
		Asintomático No cambie CI si hay estabilidad en valor de la FENO

Bibliografía

1. Deckers J, Branco Madeira F, Hammad H. Innate immune cells in asthma. *Trends Immunol.* 2013;34:540–7.
2. Busse WW. Asthma diagnosis and treatment: filling in the information gaps. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128:740–50.
3. Lötvald J, Akdis CA, Bacharier LB, Bjermer L, Casale TB, Custovic A, et al. Asthma endotypes: a new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127:355–60.
4. Wenzel SE. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat Med.* 2012;18:716–25.
5. Bartmiski G, Crossley M, Turcanu V. Novel biomarkers for asthma stratification and personalized therapy. *Expert Rev Mol Diagn.* 2015;15:415–30.
6. Hastie AT, Moore WC, Li H, Rector BM, Ortega VE, Pascual RM, et al. Biomarker surrogates do not accurately predict spu-

- tum eosinophil and neutrophil percentages in asthmatic subjects. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132:72–80.
7. Sidhu SS, Yuan S, Innes AL, Kerr S, Woodruff PG, Hou L, et al. Roles of epithelial cell-derived periostin in TGF- β activation, collagen production, and collagen gel elasticity in asthma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107:14170–5.
 8. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 1980;288:373–6.
 9. Szabo C. Gaseotransmitters: new frontiers for translational science. *Sci Transl Med.* 2010;2:59ps54.
 10. Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J.* 1993;6:1368–70.
 11. Ricciardolo FLM. Multiple roles of nitric oxide in the airways. *Thorax.* 2003;58:175–82.
 12. Ricciardolo FLM. cNOS-iNOS paradigm and arginase in asthma. *Trends Pharmacol Sci.* 2003;24:560-63.
 13. Ricciardolo FLM. Revisiting the role of exhaled nitric oxide in asthma. *Curr Opin Pulm Med.* 2014;20:53–9.
 14. Dinh-Xuan AT, Annesi-Maesano I, Berger P, Chambellan A, Chanez P, Chinet T, et al. Contribution of exhaled nitric oxide measurement in airway inflammation assessment in asthma. A position paper from the French Speaking Respiratory Society. *Rev Mal Respir.* 2015;32:193–215.
 15. Ricciardolo FLM, Di Stefano A, Silvestri M, Van Schadewijk AM, Malerba M, Hiemstra PS, et al. Exhaled nitric oxide is related to bronchial eosinophilia and airway hyperresponsiveness to bradykinin in allergen-induced asthma exacerbation. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2012;25:175–82.
 16. Silkoff PE, Lent AM, Busacker AA, Katial RK, Balzar S, Strand M, et al. Exhaled nitric oxide identifies the persistent eosinophilic phenotype in severe refractory asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;116:1249–55.
 17. See KC, Christiani DC. Normal values and thresholds for the clinical interpretation of exhaled nitric oxide levels in the US general population: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2007-2010. *Chest.* 2013;143:107–16.
 18. Lee JE, Rhee CK, Lim JH, Lee SM, Shim YS, Lee C-T, et al. Fraction of exhaled nitric oxide in patients with acute eosinophilic pneumonia. *Chest.* 2012;141:1267–72.
 19. Marcon A, Cerveri I, Wjst M, Antó J, Heinrich J, Janson C, et al. Can an airway challenge test predict respiratory diseases? A population-based international study. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133:104-14.
 20. Calhoun KH. The role of fractional exhaled nitric oxide in asthma management. *Otolaryngol Clin North Am.* 2014;47:87–96.
 21. Ciprandi G, Tosca MA, Capasso M. High exhaled nitric oxide levels may predict bronchial reversibility in allergic children with asthma or rhinitis. *J Asthma Off J Assoc Care Asthma.* 2013;50:33–8.
 22. Schleich FN, Asandei R, Manise M, Sele J, Seidel L, Louis R. Is FENO50 useful diagnostic tool in suspected asthma? *Int J Clin Pract.* 2012;66:158–65.
 23. Fukuhara A, Saito J, Sato S, Sato Y, Nikaido T, Saito K, et al. Validation study of asthma screening criteria based on subjective symptoms and fractional exhaled nitric oxide. *Ann Allergy Asthma Immunol Off Publ Am Coll Allergy Asthma Immunol.* 2011;107:480–6.
 24. Li Z, Qin W, Li L, Wu Q, Wang Y. Diagnostic accuracy of exhaled nitric oxide in asthma: a meta-analysis of 4,691 participants. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8:8516–24.
 25. Guo Z, Wang Y, Xing G, Wang X. Diagnostic accuracy of fractional exhaled nitric oxide in asthma: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *J Asthma Off J Assoc Care Asthma.* 2016;53:404–12.
 26. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, Irvin CG, Leigh MW, Lundberg JO, et al. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;184:602–15.
 27. Schneider A, Schwarzbach J, Faderl B, Welker L, Karsch-Völkl M, Jörres RA. FENO measurement and sputum analysis for diagnosing asthma in clinical practice. *Respir Med.* 2013;107:209–16.
 28. Zeiger RS, Schatz M, Zhang F, Crawford WW, Kaplan MS, Roth RM, et al. Elevated exhaled nitric oxide is a clinical indicator of future uncontrolled asthma in asthmatic patients on inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128:412–4.
 29. National Institute for Health and Care Excellence. Asthma: diagnosis and monitoring of asthma in adults, children and young people. 2016. URL: Disponible en: <https://www.nice.org.uk/guidance/indevelopment/gid-cgwave0640/documents>. [Acceso 27 Abr 2016].
 30. Barnes PJ, Dweik RA, Gelb AF, Gibson PG, George SC, Grasmann H, et al. Exhaled nitric oxide in pulmonary diseases: a comprehensive review. *Chest.* 2010;138:682–92.
 31. Taylor DR. Advances in the clinical applications of exhaled nitric oxide measurements. *J Breath Res.* 2012;6:47102.
 32. Syk J, Malinowski A, Johansson G, Undén A-L, Andreasson A, Lekander M, et al. Anti-inflammatory treatment of atopic asthma guided by exhaled nitric oxide: a randomized, controlled trial. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2013;1:639-648-8.
 33. Olin A-C, Rosengren A, Thelle DS, Lissner L, Bake B, Torén K. Height, age, and atopy are associated with fraction of exhaled nitric oxide in a large adult general population sample. *Chest.* 2006;130:1319–25.