



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARIA DE SALUD**

INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

**EFICACIA DEL ESPUTO INDUCIDO EN LA EVALUACIÓN DEL CONTROL
DEL ASMA EN NIÑOS Y ADOLESCENTES.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:

ESPECIALISTA EN PEDIATRIA

P R E S E N T A:

DR. VÍCTOR ANTONIO MONROY COLÍN

TUTOR DE TESIS:

DR. JOSE GUADALUPE HUERTA LÓPEZ

COTUTOR DE TESIS:

DR. HORACIO DEL OLMO TÉLLEZ



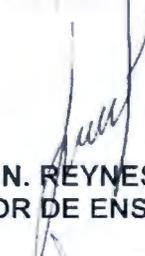
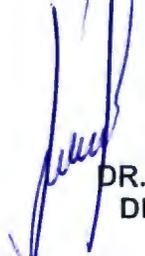
MÉXICO, D.F.

MMX

**EFICACIA DEL ESPUTO INDUCIDO EN LA EVALUACION DEL
CONTROL DEL ASMA EN ESCOLARES Y ADOLESCENTES.**



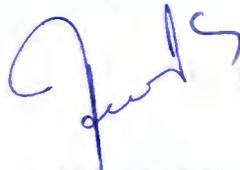
**DR. GUILLERMO SOLOMON SANTIBAÑEZ
DIRECTOR GENERAL INP.
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE
ESPECIALIZACION EN PEDIATRIA**



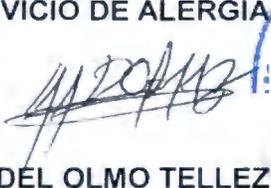
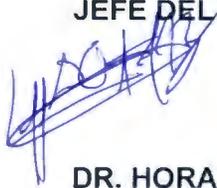
**DR. JOSE N. REYNES MANZUR
DIRECTOR DE ENSEÑANZA**



**DRA. MIRELLA VAZQUEZ RIVERA
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO**



**DR. JOSE G. HUERTA LOPEZ
TUTOR DE TESIS
JEFE DEL SERVICIO DE ALERGIAS**



**DR. HORACIO DEL OLMO TELLEZ
CO-TUTOR DE TESIS**

Dedicatorias

A mi madre, motivadora incansable y pilar en mi formación.

A mis hermanos, Alejandro y Uriel por sus palabras de aliento y por compartir los momentos buenos y malos.

A Tere, mi inspiración y el amor de mi vida.

A Miguel y José Alberto, por darle a mi proceso de formación la sonrisa y el apoyo necesarios.

A mis compañeros, por compartir juntos el arduo y gratificante camino de la Pediatría.

A todos los niños del Instituto Nacional de Pediatría, por dejarme aprender más sobre ellos y darme todos los días una lección de vida.

A mis profesores, por brindarme un poco de su inmensa sabiduría y enseñarme el arte de la medicina.

Índice

| | |
|--|----|
| 1. Antecedentes..... | 3 |
| 2. Justificación..... | 6 |
| 3. Objetivos..... | 8 |
| 4. Material y métodos..... | 8 |
| 5. Pruebas diagnósticas en el asma..... | 10 |
| a) Espirometría..... | 10 |
| b) Flujometría..... | 10 |
| 6. Pruebas para medir el control del asma..... | 11 |
| a) Espujo inducido..... | 11 |
| I. Técnica del espujo inducido..... | 15 |
| II. Complicaciones o eventos adversos en la prueba de espujo inducido..... | 17 |
| III. Otros parámetros medibles en el espujo inducido..... | 18 |
| b) Medición del Óxido Nítrico exhalado (eNO)..... | 18 |
| I. Técnica de la medición el eNO..... | 19 |
| II. Relación del eNO con la inflamación de la vía aérea en asmáticos..... | 20 |
| 7. Relación entre los marcadores de inflamación en espujo inducido y enfermedad..... | 20 |
| 8. Utilidad en la valoración de la respuesta al tratamiento..... | 22 |
| 9. Conclusiones..... | 25 |
| 10. Bibliografía..... | 26 |

Eficacia del esputo inducido en la evaluación del control del asma en escolares y adolescentes. Revisión sistemática.

Tesista: Dr. Víctor Antonio Monroy Colín

Tutor: Dr. José Guadalupe Huerta López

1. Antecedentes.

El asma es un trastorno inflamatorio crónico de las vías aéreas inferiores en el que intervienen varios tipos de células, en particular eosinófilos, mastocitos y linfocitos T, que en individuos genéticamente predispuestos genera un aumento de la obstrucción de las vías aéreas a estímulos físicos, químicos y farmacológicos. Se caracteriza por la presencia de episodios recurrentes de sibilancias, tos y disnea secundarios a obstrucción bronquial difusa, de intensidad variable, que revierte en forma espontánea, total o parcialmente, o por la acción de drogas broncodilatadoras. El asma se caracteriza además por hiperreactividad bronquial. Siendo la inflamación un proceso esencial en el inicio y progresión de la misma; los tratamientos antiinflamatorios se asocian con mejoría sintomática y funcional importante. A pesar de ello, la medición directa de marcadores de inflamación no forma parte del abordaje de los enfermos con asma de manera rutinaria. (Guidos-Fogelbach, Rodríguez-Velasco, & Almeida-Arvizu, 2006). El asma es una enfermedad común en la que el proceso inflamatorio juega un papel fundamental como factor clave en su patogénesis. La inflamación ha sido asociada con limitación persistente al flujo aéreo y a la severidad del cuadro; en particular la inflamación eosinofílica, la cual tiene una fuerte asociación con la actividad clínica en comparación con la inflamación neutrofílica. En los niños con asma eosinofílica severa se ha encontrado una alta incidencia de sibilancias, despertares nocturnos (marcador importante de severidad) y un incremento en la obstrucción de la vía aérea en reposo. (Kim, Yull y Callaway 2009)

El asma es un problema de salud de gran importancia a nivel mundial. En algunos países, como Nueva Zelanda, su prevalencia llega a superar el 25%. En México no tenemos datos confiables acerca de su frecuencia en la población, pero sabemos que alrededor del 8% de los niños presentan este padecimiento. Desafortunadamente, el diagnóstico y manejo del asma son heterogéneos y en muchos casos inadecuados, con la consiguiente disminución en la calidad de vida y aumento en el costo económico, el sufrimiento, y la mortalidad. Ante la gravedad del problema, en diferentes países y Asociaciones se han formado grupos de trabajo para la elaboración de Consensos basados en la evidencia actual, que sirvan como guía para el diagnóstico y manejo. Ejemplo de estos Consensos son las Guías del Reino Unido, Canadá, Estados Unidos de América, la Unión Internacional Contra la Tuberculosis y las Enfermedades Respiratorias (UICER) y las de la Iniciativa Global para el Asma (GINA). (Sociedad Mexicana de Neumología y Cirugía de Tórax, 2005). En diversos reportes en Chile se estima que al menos uno de cada siete niños sufre de asma; si bien en su mayoría son formas leves, su inicio ocurre en la niñez, manifestando su cronicidad en

edad escolar. Existen muchos reportes que describen su aumento, sin embargo, las razones de ellos aún permanecen en el área de la investigación. (Sánchez, 2006). En México el asma es una de las 10 primeras causas de utilización de los servicios de salud, especialmente los de urgencias y de consulta externa. En cuanto a su frecuencia, contamos con pocos estudios publicados en revistas indexadas, en los que se encontró que entre 5 y 15% de los niños en escuelas primarias la sufrían.

Su prevalencia se ha estimado gracias a grandes estudios poblacionales, siendo el más relevante para Latinoamérica el Estudio Internacional de Asma y Alergia en la Infancia (ISAAC, por sus siglas en inglés). El ISAAC es un proyecto mundial de investigación sobre la prevalencia y factores de riesgo asociados a asma y enfermedades alérgicas en la infancia. El total de centros colaboradores (donde se desarrolla efectivamente cada estudio) es de 156, distribuidos en los 5 continentes del planeta. ISAAC América Latina. (Lezana & Arancibia, 2006)

Cuadro 1. Prevalencia de asma en 36264 niños de 6-7 años de edad

| <i>Centro</i> | <i>N</i> | <i>Asma (%)</i> |
|----------------------|----------|-----------------|
| Cuernavaca | 3097 | 5.1 |
| Costa Rica | 2942 | 26.9 |
| David-Panamá | 3043 | 19.3 |
| Sao Paulo | 3005 | 10.0 |
| Asunción | 2966 | 6.1 |
| Puerto Alegre | 2846 | 16.8 |
| Rosario | 3007 | 6.5 |
| Santiago Sur | 3182 | 10.5 |
| Santiago | 1458 | 4.1 |
| Centro | | |
| Buenos Aires | 3005 | 6.6 |
| Montevideo | 3071 | 12.0 |
| Valdivia | 3136 | 16.5 |
| Punta Arenas | 3060 | 10.4 |

El Estudio Internacional sobre Asma y Alergias en la Niñez (ISAAC) se diseñó para poder comparar las prevalencias de asma, rinoconjuntivitis alérgica y eczema de poblaciones de diferentes países y analizar sus tendencias en el tiempo. Su objetivo es contribuir a elaborar hipótesis de trabajo sobre las causas de los patrones observados y, consiguientemente, de las causas del asma, la rinitis y el eczema. En la fase I se estudiaron 463 801 niños de 13–14 años de edad en 155 instituciones sanitarias de 56 países y 257 800 niños de 6–7 años en 91 centros de 38 países. Se observaron variaciones de hasta 20 veces en la prevalencia de sibilancia reciente (en los 12 meses previos) entre los centros estudiados de Australia, Nueva Zelanda, Reino Unido y República de Irlanda y de los centros de la Región de las Américas (Cuadro 1). En la fase II se profundizó en la búsqueda de los posibles factores etiológicos en niños de 9–11 años en 30 centros de 22 países. (Lezana & Arancibia, 2006)

La fase III consistió en una repetición de la encuesta de la fase I, realizada 5–10 años después para examinar, entre otras cosas, las tendencias de las prevalencia de asma en los centros y países participantes y examinar las hipótesis propuestas durante la fase I, a la luz de los estudios

ecológicos subsecuentes y de otras investigaciones recientes. En este artículo se describen detalladamente los resultados obtenidos, esta vez en 304,679 niños de 13–14 años en 106 centros de 56 países y en 193 404 niños de 6–7 años en 66 centros de 37 países. Se solicitó a cada centro participante que se realizara la fase III del estudio de la misma manera en que se realizó la fase I. Los resultados obtenidos demostraron que la prevalencia de síntomas de asma se ha reducido internacionalmente, en particular en niños de 13–14 años. Por regiones, esta prevalencia ha disminuido en los países de habla inglesa y en Europa Occidental, mientras que ha aumentado en los países en que la prevalencia era baja, como en los de América Latina. Aunque se observaron cambios menores en la prevalencia de la sibilancia, el porcentaje de niños que informaron haber tenido asma aumentó significativamente, lo que posiblemente refleja la mayor atención que ahora se presta a esta enfermedad o cambios en los criterios de diagnóstico de esta enfermedad. Las conclusiones de este estudio son, en primer lugar, la demostración que en la mayoría de los países con alta prevalencia, particularmente en los países de habla inglesa, la prevalencia de los síntomas de asma puede haber llegado a su pico y haber empezado a declinar. Este hallazgo es consistente con los resultados de otros estudios recientes realizados en niños y adultos. Hay algunas excepciones a esta regla: en Europa, Alemania y Finlandia han mostrado incrementos en la prevalencia de síntomas de asma durante la fase III con respecto a lo encontrado durante la fase I. (Pearce, Ait-Khaled, & Beasley, 2007)

De los países de habla inglesa de América, se observó un incremento de la prevalencia en Barbados. Segundo, algunos países que tenían prevalencias intermedias o altas durante la fase I mostraron incrementos significativos durante la fase III, tanto en América Latina —Argentina, Chile, Costa Rica, México y Panamá— como en Europa Oriental —Ucrania y Rumania— y África —Túnez, Marruecos y Argelia—, además de Barbados. Tercero, con la excepción de la India, todos los países con niveles muy bajos de prevalencia de síntomas de asma en la fase I informaron aumentos durante la fase III, aunque solamente resultaron significativos los incrementos observados en China e Indonesia. Por último, prácticamente todos los países —independientemente del nivel de la prevalencia de síntomas— informaron aumentos en la prevalencia de toda la vida de asma entre las fases I y III. De hecho, estos aumentos resultaron más pronunciados en los países con las mayores prevalencias medias entre las dos fases de estudio, a pesar de que muchos de esos países informaron reducciones en las prevalencias de síntomas de asma en ese lapso. Según los resultados de la fase III de este estudio, el considerable incremento en la prevalencia de síntomas de asma en los países latinoamericanos puede llevar a que en el futuro, el asma deje de describirse como una enfermedad propia de los países de habla inglesa para convertirse en una enfermedad de los países de habla hispana y portuguesa. (Pearce, Ait-Khaled, & Beasley, 2007)

El asma no controlada continúa representando un impacto en la salud y economía de las sociedades. En Estados Unidos de 1979 a 1999 las muertes por 100,000 habitantes atribuidas o relacionadas a asma se estimaron entre 0.9 a 1.7, la cual fue disminuyendo a 1.5 en 2002. Según estimaciones recientes casi 20 millones de personas fueron diagnosticadas en 2003, incluyendo aproximadamente 6.2 millones de niños menores de 18 años. Los picos de prevalencia en niños se sitúan entre los 5 y 17 años de edad, incrementándose en la edad adulta más en mujeres que en varones y más en raza negra que caucásica. El asma descontrolada aún es causa de cerca de 500,000 hospitalizaciones y más de 4000 muertes anuales en EUA, representando el 40% aquellos pacientes menores de 15 años

de edad. Los costos anuales generados a partir de estas hospitalizaciones ascienden a cerca de 16 billones de dólares al año. (Navarro, Rice, & Schaecher, 2007)

Los medicamentos para el asma son utilizados para revertir y prevenir los síntomas por lo que unos se utilizan como rescate y otros para lograr el control a largo plazo para prevención de exacerbaciones y mejoría de la función pulmonar, para lograr que el paciente tenga una vida activa y productiva. En esta revisión nos enfocamos al tratamiento crónico, específicamente a los medicamentos disponibles, sin olvidar que la educación al paciente y el control ambiental son también aspectos fundamentales para lograr controlar el asma. El reporte del panel de expertos NHLBI (GINA) reconoce que los principales objetivos del tratamiento del asma son los siguientes: 1. Mantenimiento de la función pulmonar normal o lo más cercano a lo normal. 2. Mantener los niveles de actividad normal incluyendo el ejercicio. 3. Prevención de síntomas crónicos 4. Evitar exacerbaciones frecuentes. 5. Evitar efectos adversos de los medicamentos y la remodelación de la vía aérea. (Banegas-Matamoros, 2003)

Cuadro 2. Clasificación de la Severidad del Asma Crónica

| Severidad | Síntomas | Síntomas Nocturnos | Flujometría |
|----------------------|--|---------------------------|---------------------------------------|
| Severa persistente | Continuos, con actividad física limitada | Frecuentes | < de 60% predicho, variabilidad > 30% |
| Moderada Persistente | Uso diario de beta agonistas, actividad física limitada con frecuencia | Más de una vez por semana | >60% y <80%, variabilidad 30% |
| Leve Persistente | Más de una vez por semana | Más de 2 veces al mes | >80%, variabilidad 20-30% |
| Intermitente | | | >80% |

2. Justificación.

Dentro del Instituto Nacional de Pediatría y otras instituciones en México, existe la necesidad de investigación respecto a los métodos más objetivos para evaluar la respuesta al tratamiento en pacientes pediátricos con asma; en nuestro Instituto se cuenta con varios servicios que manejan constantemente pacientes asmáticos y que de una u otra forma no se cuentan con los métodos para aplicación de nuevas pruebas de evaluación de la respuesta al tratamiento, basándose únicamente en la actualidad en la clínica. La investigación que se realizó, se encaminó a evaluar la información disponible respecto a las pruebas diagnósticas (esputo inducido, prueba del óxido nítrico, espirometría, etc.) que nos ayuden a medir objetivamente la respuesta al tratamiento.

Por otra parte, sabemos que la investigación médica en diversas áreas, incluyendo la Pediatría y la Alergología, se basa fundamentalmente en estudio enfocados a determinar las causas de las

enfermedades y su tratamiento; quedando de esta manera pocos estudios destinados a pruebas diagnósticas y al pronóstico de los padecimientos. Por lo anterior surge el interés de evaluar mediante esta revisión narrativa la eficacia de las pruebas diagnósticas que ayudan a medir objetivamente la respuesta al tratamiento en el paciente asmático. Dichas pruebas han sido evaluadas recientemente en población pediátrica pero no existen estudios que determinen su eficacia o aplicabilidad en pacientes menores de 18 años. Además, acorde a la visión y misión del Instituto Nacional de Pediatría es importante mantenerse a la vanguardia en la generación y aplicación del conocimiento en beneficio de la población que se atiende; consideremos entonces la importancia que representa el determinar si ambas pruebas son de utilidad para nuestros pacientes. La propia Colaboración Cochrane ha abordado la necesidad de realizar investigación en relación a las pruebas diagnósticas conformando en 1995 el Grupo de Estudio de Pruebas Diagnósticas además de interesarse en la evaluación de éstas dos pruebas de relativa reciente aparición. (Petsky, Kynaston, Li, Cates, Lasserson, & Chang, 2008). (Secretaría de Salud, México, 2008).

Desde 1973 McFadden y cols. en un estudio realizado en el servicio de urgencias con pacientes en crisis asmáticas severas detectaron rápida mejoría en la función en el calibre de las vías aéreas grandes pero poca mejoría en el calibre de las vías aéreas pequeñas a pesar de la desaparición de los síntomas y signos clínicos; los autores concluyeron que la medición del FEV1 es un método incompleto pues es insensible para detectar obstrucción a nivel de la vía aérea pequeña o periférica que representa los bronquios de tamaño < 2 mm mas allá de la generación 7ma - 8va del árbol bronquial, esta se conoce como zona clínicamente silenciosa puesto que a pesar de presentar cambios inflamatorios continuos, el paciente puede estar asintomático, tener espirometría normal y correr el riesgo de desarrollar recaída, la patología a este nivel es relativamente resistente al tratamiento. Actualmente se está retomando esta observación y se ha enfocado los estudios a desarrollar métodos más sensibles para medir el grado de obstrucción a este nivel promoviendo el uso de métodos radiográficos no invasivos para valoración de la vía aérea periférica como ser la tomografía de alta resolución que mide el engrosamiento de la pared bronquial y el grado de atrapamiento de aire regional. (Guidos-Fogelbach, Rodríguez-Velasco, & Almeida-Arvizu, 2006).

Un número de grupos de investigadores han demostrado la asociación entre el óxido nítrico exhalado (FeNO) y los eosinófilos en la vía aérea, medidos broncoscópicamente utilizando lavado bronquioalveolar o biopsia endobronquial en niños y adolescentes con asma. Existen estudios en adultos probando la correlación entre métodos no invasivos de medición de la inflamación en vías aéreas (Fortuna, y otros 2007) sin embargo, no hay datos completos que investiguen en estos grupos de edad la relación entre marcadores no invasivos de inflamación (eosinófilos en esputo inducido y FeNO) y aquellas pruebas invasivas mencionadas previamente.

3. Objetivos.

Objetivo específico primario.

- a) Evaluar la eficacia del esputo inducido sobre los síntomas clínicos para valorar la respuesta al tratamiento en escolares y adolescentes asmáticos

Objetivos secundarios.

- a) Conocer la sensibilidad y especificidad, valor predictivo positivo y negativo del esputo inducido
- b) Conocer las pruebas disponibles para evaluar el control y la severidad del asma en niños y adolescente.
- c) Conocer las ventajas y desventajas de dichas pruebas y la manera en que se realizan.

4. Material y Métodos.

Se realizó una revisión sistemática de la literatura utilizando los siguientes criterios para la selección de los estudios:

Tipos de Estudios:

- Todos los ensayos clínicos con asignación al azar del ajuste del tratamiento del asma en base a la medición de marcadores inflamatorios y eosinófilos en el esputo inducido comparados con la espirometría así como metaanálisis, ensayos clínicos o serie de casos que evalúen los parámetros previamente mencionados.

Tipos de participantes:

- Pacientes pediátricos de 6 a 18 años con diagnóstico clínico de asma, de cualquier sexo y raza.

Tipos de intervención:

- Todos los ensayos controlados aleatorios de tratamiento específico para el asma basados en el recuento de eosinófilos en el esputo inducido en comparación con la espirometría, considerando el uso de otras intervenciones si todos los participantes tienen acceso a las mismas.

Tipo de medidas de resultado:

- a) Medida de resultado primario:
 - Exacerbaciones del asma

b) Medidas de resultado secundarias:

- o Diferencia media de las medidas de resultado relacionadas con el asma
- o Proporción que experimentó efectos adversos de las intervenciones
- o Proporción que experimentó complicaciones
- o Se determinará la proporción de participantes que no logró mejorar con el tratamiento y la media de la mejoría clínica con el uso de la siguiente jerarquía de medidas de evaluación:
 - i) Hospitalización, visitas a servicios de urgencias, frecuencia de las exacerbaciones y ciclos cortos de corticoesteroides orales de rescate.
 - ii) Sintomático (calidad de vida) evaluado por el paciente
 - iii) Sintomático evaluado por los padres o cuidadores
 - iv) Sintomático evaluado por los médicos
 - v) Índices de espirometría y flujometría
 - vi) Betaagonista utilizado

I. Estrategia de búsqueda para la identificación de los estudios:

Se realizaron búsquedas en el Registro Especializado de Ensayos Clínicos Controlados del Grupo Cochrane de Vías Respiratorias (Cochrane Airways Group Specialised Register of Trials). Además los ensayos se identificaron de las siguientes fuentes:

- i. Registro Cochrane Central de Ensayos Controlados (Cochrane Central Register of Controlled Trials, CENTRAL)
- ii. MEDLINE (2000 hasta agosto de 2009)
- iii. ARTEMISA (2000 hasta agosto de 2009)
- iv. LILACS (2000 hasta agosto de 2009)
- v. SCIELO (2000 hasta agosto de 2009)

II. Métodos de Revisión:

La búsqueda bibliográfica del título, resumen o los descriptores se realizó para cada estudio seleccionado para identificar los ensayos potencialmente pertinentes para la revisión completa.

III. Conflictos de interés:

No se tuvo ningún conflicto de interés, se declara no contar con ningún financiamiento que pudiera sesgar los resultados del presente estudio.

5. Pruebas diagnósticas en el asma.

a) *Espirometría.*

La espirometría es la prueba más efectiva para confirmar el diagnóstico de asma. Con ella es posible valorar objetivamente la función de las vías aéreas y el volumen pulmonar. La espirometría muestra el grado de obstrucción de los bronquios al medir el volumen de aire expulsado de bronquios y pulmones. También nos permite saber si aumenta la obstrucción ante un estímulo (hiperreactividad) o disminuye al aplicar un medicamento (reversibilidad). Para que el resultado de la espirometría sea confiable, debe ser realizada y evaluada por personal especialmente entrenado. Los parámetros más importantes en la espirometría para el diagnóstico de asma son el Volumen Espiratorio Forzado al Primer Segundo (VEF1), la Capacidad Vital Forzada (CVF) y la relación entre ambos parámetros: VEF1/CVF.

VEF1: En condiciones normales, el 75% o más del volumen de aire que se espira forzosamente sale durante el primer segundo de la espirometría, si los bronquios están obstruidos la salida será más lenta y el VEF1 disminuirá.

VEF1/CVF: Se considera que hay atrapamiento aéreo cuando esta relación aumenta por arriba del 80%.

b) *Flujometría*

Otra forma de medir la obstrucción bronquial es la flujometría. Es menos exacta que la espirometría, y sólo mide un parámetro: la velocidad máxima del flujo, o Flujo Espiratorio Pico (PEF por sus siglas en inglés), pero es más sencilla y barata. La medición del PEF es la mejor forma de monitorizar el asma, mientras que la espirometría es la mejor forma para confirmar el diagnóstico. El flujómetro mide la velocidad del aire al espirar forzosamente; si los bronquios están obstruidos la velocidad disminuirá y los valores serán menores que los normales. La velocidad del flujo será diferente de acuerdo al género, edad, estatura y raza. Para saber cuál es el PEF normal para cada paciente, se utilizan las tablas de valores Predichos o Teóricos Normales. Una vez que se obtiene el valor de la flujometría del paciente, se compara con sus valores normales o predichos y se calcula el porcentaje que representa. (Sienra-Monge, Del Río-Navarro, & Baeza-Bacab, 1999)

$$\% \text{ del PEF predicho} = \frac{\text{PEF observado} \times 100}{\text{PEF predicho}}$$

La flujometría es útil para el diagnóstico, y para la valoración de la evolución y la respuesta bronquial ante diferentes situaciones, así como para hacer más seguro el autocontrol. La flujometría tiene variaciones importantes en la misma persona. Por ejemplo, disminuye cuando hay una agudización, aumenta al aplicarse un broncodilatador y por las tardes, por lo que es necesario realizarla en diferentes situaciones y saber cuál es la flujometría más alta que ha alcanzado el paciente estando controlado (Mejor PEF personal). En la práctica esta medida individualizada es más útil que el valor predicho. Normalmente la flujometría es ligeramente mayor por las tardes que

por las mañanas, pero la diferencia entre mañana y tarde no es mayor a 5%. En el asmático mal controlado la diferencia aumenta, a esta diferencia se le llama % de variabilidad.

$$\% \text{ de variabilidad} = \frac{\text{Flujometría por la mañana} \times 100}{\text{Flujometría por la tarde}}$$

En los pacientes asmáticos el aumento de la variabilidad anuncia una agudización aun antes de que parezcan o aumenten los síntomas. Se le puede pedir al paciente que realice en su casa la flujometría por la mañana y por la noche, durante una o dos semanas. La diferencia de más de 15% entre la mañana y la noche o ante situaciones específicas es muy sugestiva de asma. (Mackenney, 2007).

6. Pruebas para medir el control del asma.

Los eosinófilos producen proteínas citotóxicas y leucotrienos que son capaces de dañar el epitelio de las vías aéreas y son también un factor predisponente para perpetuar el reclutamiento celular de manera continua. Los neutrófilos juegan un rol más relevante en las exacerbaciones, síntomas nocturnos, dificultad para tratar el asma y en la mala respuesta al tratamiento corticoesteroide. La intensidad del proceso de inflamación puede ser medida directa o indirectamente. La biopsia bronquial y el lavado bronquioalveolar han sido utilizados para analizar los patrones de respuesta celular en respuesta celular en relación a la severidad clínica, a los subtipos de células, a la activación de células inflamatorias y a la expresión y producción de citocinas y mediadores inflamatorios mediados por eosinófilos. En años recientes, los marcadores de actividad inflamatoria han sido evaluados en asmáticos utilizando técnicas mucho menos invasivas como la medición de óxido nítrico exhalado y el esputo inducido.

La gravedad y el control del asma pueden medirse subjetiva y objetivamente (Cuadros 2 y 3). La evaluación del porcentaje de eosinófilos en el análisis de esputo mide directamente la inflamación de las vías respiratorias, y es un método para la monitorización objetiva del asma. Las intervenciones para el tratamiento del asma se han basado tradicionalmente en los síntomas y la espirometría. Las medidas objetivas tradicionales incluyen la monitorización por el flujo máximo, la espirometría y el grado de hiperreactividad de las vías respiratorias. (Sorkness, 2008).

a) *Esputo inducido*

La prueba de esputo inducido tiene por finalidad la obtención de células inflamatorias del tracto respiratorio inferior mediante la inhalación de solución salina hipertónica. En asma, origina indirectamente broncoconstricción mediante la degranulación de células cebadas; además de inducir mayor producción de moco. El esputo es una mezcla de saliva y de secreciones del árbol bronquial inferior. La prevalencia de células inflamatorias difiere en los distintos compartimientos de la vía aérea. En la luz bronquial, las células predominantes son (en orden decreciente) macrófagos,

neutrófilos, linfocitos y células epiteliales bronquiales. En el esputo sólo rara vez se observan eosinófilos. El análisis del esputo inducido proporciona datos similares (pero no idénticos) a las secreciones obtenidas con el lavado bronquial y el lavado broncoalveolar. (Kim, Yull y Callaway 2009) El análisis del esputo inducido es un método reproducible para estudiar la inflamación de las vías respiratorias en el asma. El análisis de esputo se usa cada vez más como una prueba no invasiva para determinar la inflamación de las vías respiratorias y puede proporcionar información útil para el diagnóstico y el tratamiento del asma. Los marcadores obtenidos del esputo inducido incluyen el recuento diferencial de células (en particular eosinófilos y neutrófilos) y la determinación de la proteína catiónica eosinofílica. En los pacientes asmáticos el porcentaje de eosinófilos en el esputo inducido es significativamente mayor que en los pacientes no asmáticos. En las personas con asma también se ha descrito la inflamación por neutrófilos de las vías respiratorias. (Corradi, Zinelli, & Caffarelli, 2007) (Gonzales, Malcoe, Myers, & Espinoza, 2007)

La gran aplicación de la inducción del esputo es ser un estudio no invasivo que mide la inflamación de la vía aérea de gran utilidad en niños: el uso de broncoscopia o biopsias está limitado debido a razones éticas y de seguridad. La inducción del esputo también permite el análisis de mediadores incluyendo proteínas y citocinas que están presentes en la fase del fluido de la muestra de esputo.

La evaluación de la inflamación de las vías respiratorias con medidas cuantitativas en lugar de datos subjetivos permite potencialmente al médico ajustar individualmente las intervenciones para el asma. Sin embargo, el esputo inducido y el análisis de esputo requieren un trabajo intensivo y no está ampliamente disponible en los laboratorios que no son de investigación. La solución salina hipertónica usada para inducir el esputo también puede aumentar los síntomas del asma momentáneamente. Para obtener el espécimen de esputo inducido se emplean soluciones salinas a distinta concentración (desde 0.9% a 7%). En pacientes con asma estable la solución salina hipertónica es más eficaz en la inducción de esputo que la solución al 0.9%. La tonicidad de la solución no parece influir en el recuento de células pero la influencia sobre la concentración de marcadores no se conoce. Las inhalaciones más prolongadas permiten obtener muestras de bronquios más distales y los nebulizadores ultrasónicos son los mejores dispositivos para efectuar el procedimiento. (Johnson, Ownby, Zoratti, Alford, Williams, & Joseph, 2002).

Con la finalidad de reducir el riesgo de broncoespasmo, la inducción puede ir precedida por la inhalación de un β_2 -agonista. Además, la prueba puede combinarse con una prueba de provocación bronquial a diversas sustancias o alérgenos. Dicha combinación es útil no sólo para obtener muestras de esputo sino también para comprobar la existencia de hiperreactividad bronquial. Sin embargo, es menos cómoda para el enfermo y puede inducir mayor broncoconstricción. La función pulmonar debe ser monitoreada en forma continua durante el procedimiento. En el 60% al 100% de los adultos y niños de más de 6 años se obtienen muestras adecuadas de esputo. El recuento celular total y diferencial es reproducible en un mismo individuo y en la actualidad se dispone de parámetros de normalidad obtenidos a partir del estudio de adultos y niños normales, hecho esencial si el procedimiento se realiza para establecer la existencia de una determinada enfermedad. En voluntarios sanos, los macrófagos y neutrófilos son las células predominantes. Los eosinófilos suelen representar menos del 2.75% de las células. (Lovett, Whitehead, & Gibson, 2007)

Cuadro 3. Comparación de las pruebas para evaluación del control del asma.
(Lex, Ferreira, Zacharasiewicz, & Nicholson, 2006)
(Smith, Cowan, Filsell, & al., 2004) (Gibson, Henry & Thomas, 2000)

| <i>Prueba</i> | <i>Sensibilidad (%)</i> | <i>Especificidad (%)</i> | <i>Valor predictivo positivo (%)</i> | <i>Valor predictivo negativo (%)</i> |
|---|-------------------------|--------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Espuito inducido | 86 | 88 | 80 | 92 |
| Espirometría | 62 | 100 | 100 | 83 |
| Oxido nítrico | 88 | 79 | 70 | 92 |
| Proteína catiónica eosinofílica en suero | 50 | 50 | -- | -- |

En 1992 se describió el primer reporte del análisis del esputo inducido en niños con asma. (Pin, Gibson, & Kolendowicz, 1992). Twaddell et al fueron de los primeros grupos en evaluar la pertinencia y seguridad de la prueba de esputo inducido en niños. (Twaddell, Gibson, Carty, Wooley, & Henry, 1996) Así, utilizando solución salina nebulizada ultrasónicamente para inducir el esputo en niños con asma aguda dentro de la primer hora de llegada al centro hospitalario y una segunda medición dentro de los 14 días siguientes después de la resolución de la exacerbación y recibiendo pretratamiento con broncodilatador, con monitorización del PEF durante el procedimiento del esputo inducido; demostraron que la prueba puede realizarse sin efectos adversos en niños con asma aguda, siendo la principal caída en el PEF durante la inducción del esputo en comparación con el basal de un 5.3% durante el evento agudo y de 3.4% durante la resolución de la crisis. Un tiempo de nebulización más corto se necesitó durante la crisis aguda que durante el seguimiento (7.8 vs 13.9 min). También describen que durante la crisis asmática hubo un intenso infiltrado celular en el esputo (34×10^6 células x ml) el cual se resolvió tras la remisión de la exacerbación (1.9×10^6 células x ml). Los infiltrados fueron heterogéneos comprendiendo eosinófilos, neutrófilos y mastocitos.

Los estudios reportados inicialmente (Tabla 1) evaluaron pacientes pediátricos, estableciendo limitaciones en pacientes menores de 6 años debido a la técnica de espirometría poco factible en ese grupo etéreo así como la limitante de un volumen tidal bajo que limita la dosis de solución salina que se puede administrar. La inhalación de solución salina hipertónica puede causar estrechamiento de la vía aérea el cual se puede reducir con el pretratamiento con beta-agonista. (Gibson, Henry, & Thomas, 2000)

Tabla 1. Esputo inducido en niños con asma y controles.

| Autor | % de éxito | Sujetos (n) | | % Eosinófilos | | PEC $\mu\text{g.L}^{-1}$ | |
|------------------|------------|-------------|---------|---------------|---------|--------------------------|---------|
| | | Asma | Control | Asma | Control | Asma | Control |
| Pin [19] | 76 | 13 | 26 | 1.7 | 0.15 | - | - |
| Twaddell [32] | 92 | 8 | 0 | 33 | - | - | - |
| Gibson [] | 92 | 61 | 109 | 8 | 0.3 | - | - |
| Piacentini [] | 100 | 9 | 0 | 2.2 | - | - | - |
| Mattes [] | 96 | 25 | 9 | 2.2 | 0.4 | 453 | 234 |
| Lonkvist [] | 100 | 10 | 0 | - | - | 28 | - |
| Oh [] | 100 | 30 | 14 | 5.9 | 0.8 | 141 | 36 |
| Grootendorst [] | 95 | 20 | 0 | 0.4 | - | 193 | - |
| Gibson [] | 88 | 42 | 0 | 16 | - | 1077 | - |

Modificado de Gibson, P., Henry, R., & Thomas, P. Noninvasive assesment of airway inflammation in children: induced sputum, exhaled nitric oxide and breath condensate. *Eur Respir J*, 2000;16: 1008-15.

Los rangos de éxito reportados en la obtención del esputo inducido en niños fueron del 76 al 100%. El éxito dependió de factores relacionados a los niños, al método utilizado, al proceso de recolección de la muestra. El uso de solución salina hipertónica resulta en un éxito mayor, mayor cantidad de esputo y un tiempo de recolección menor en comparación con el uso de solución salina isotónica. Durante la exacerbación del asma, el tiempo que tomó recolectar la muestra fue más corto y el esputo fue expectorado mayormente de manera espontánea que después de la resolución de la crisis asmática. (Gibson, Henry, & Thomas, 2000)

Palomino y colaboradores evaluaron 96 niños y adolescentes en Sao Paulo, Brasil en edades comprendidas entre 6 y 18 años que padecían exacerbaciones del asma a los cuales se les realizó espirometría y prueba del esputo inducido obteniéndose lo que permitió describir las características del esputo en niños y adolescentes con diferentes grados de severidad del asma tanto en una fase estable de tratamiento como en las exacerbaciones. Los resultados de ese estudio se muestran en la Tabla 2 (Palomino, y otros 2005).

Tabla 2. Tipo de células en el esputo de acuerdo a severidad.

| | Leve | Moderado | Severo | Exacerbación | p |
|------------------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|-----------|
| Cell $\times 10^6/\text{ml}$ | 2.2 \pm 2.4 | 1.5 \pm 1.7 | 1.4 \pm 1.4 | 5.4 | NS |
| % Eosinófilos | 4.9 \pm 4.8 | 8.4 \pm 13.5 | 12.6 \pm 21.1 | 0.7 \pm 1 | NS |
| % Neutrófilos | 35.7 \pm 23* | 47.2 \pm 24.1* | 44.8 \pm 29.8* | 80.8 \pm 13.2* | *p < 0.05 |
| % Macrófagos | 48.8 \pm 20.9** | 37.1 \pm 23 | 38.4 \pm 29.6 | 13.6 \pm 9.3** | **p>0.05 |
| % Linfocitos | 1.28 \pm 2.5 | 1.14 \pm 2.9 | 0.32 \pm 0.8 | 0 | NS |
| % Cél. epiteliales | 0.8 \pm 0.2 | 2.1 \pm 0 | 0.28 \pm 0 | 1.63 \pm 0 | NS |

Modificado de: Palomino ALM, Bussamara MHCF, Saraiva-Romanholo BM, Martins MA, Nunes MPT, Rodrigues JC. Induced sputum in children and adolescents with asthma: safety, clinical applicability and inflammatory cells aspects in stable patients and during exacerbation. *J Pediatr (Rio J)*. 2005;81(3):216-24.

I. Técnica del esputo inducido

Colección de la muestra de esputo

Las muestras para esputo inducido se obtienen utilizando un nebulizador ultrasónico, enseñándole al paciente para lavar con agua su boca y nariz previo al procedimiento. Posterior a ello se pide al paciente que inhale a través de un aboquilla solución salina isotónica o hipertónica estéril durante 30 segs, 2 min y después sucesivamente periodos de 4 minutos hasta alcanzar un tiempo de nebulización de 20 minutos. El PEF se mide 1 minutos después de cada periodo de nebulización. Si la caída en el PEF es mayor a 10% del basal, si el paciente lo solicita o si el PEF se obtiene menor al 40% del valor predicho se administra una dosis de beta-agonista suplementario. Posteriormente se indica al paciente que tosa o expectore el esputo posterior a cada dosis de solución salina. Cada episodio de tos debe evaluarse por el investigador la limpieza de la faringe (Fig 1). Se solicita al niño que inhale profundamente para posteriormente depositar el esputo dentro de un contenedor estéril. (Twaddell, Gibson, Carty, Wooley, & Henry, 1996)

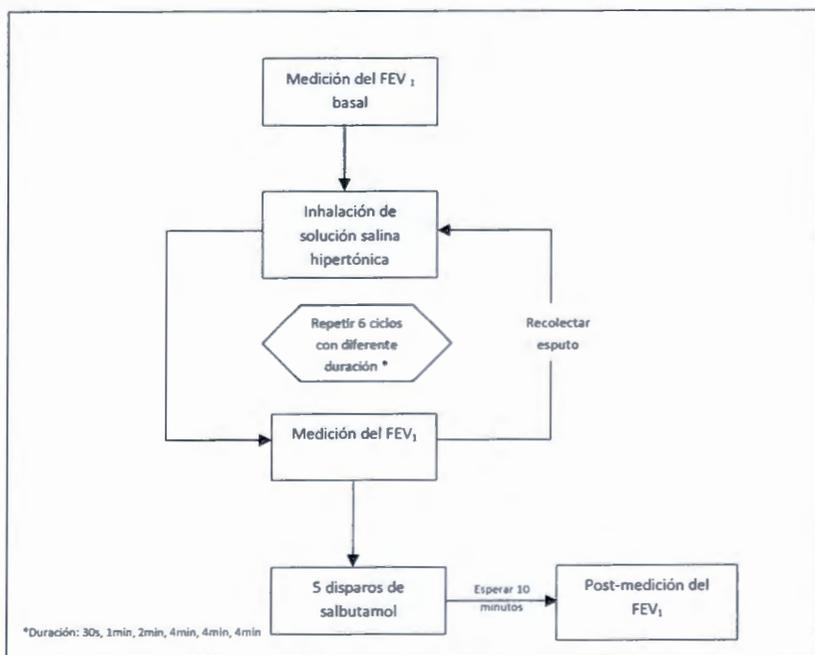


Fig. 1. Procedimiento sugerido para la inducción del esputo. Modificado de: Li et al. *Induced sputum in childhood asthma. Hong Kong Med J* 2005;11:289-94.

Análisis del esputo.

Existen dos métodos para analizar el esputo, el método de la “muestra seleccionada” y el de la “muestra completa”. El primero de ellos (método de la “muestra seleccionada”) consiste en colocar el esputo en una caja de Petri y el excedente se removió de la saliva circundante con una pipeta de aspiración. Mediante microscopía invertida es posible identificar células del tracto respiratorio inferior en acúmulos de células redondas algunas de las cuales son más largas y con membranas onduladas sugestivas de macrófagos pulmonares. Los frotis se preparan y tiñen con cromotropo 2R (C2R) para eosinófilos y con azul de toluidina seguido de una fijación de Carnoy’s para células metacromáticas (mastocitos y basófilos). El conteo de células se expresa como el porcentaje de células positivas a partir de un bloque de 400 células nucleadas en tinción con C2R y de 1,500 células con tinción de azul de toluidina. Una alícuota de 300 microlitros de esputo se diluye en 2.7ml de ditiotreitól en una concentración de 1:10. La solución se agita circularmente por 30 a 120 minutos a temperatura ambiente hasta que toda la solución quede homogénea. Posteriormente, la solución se pasa a través de un filtro de nylon de 50 micras para remover las células escamosas epiteliales y los detritus. Se toma una alícuota de 100 microlitros de la solución previamente preparada y se mezcla con un volumen igual de violeta de genciana, ácido acético glacial y agua destilada y el total de células se cuenta en un hemocitómetro (cámara de Neubauer).

La suspensión de células se lava en solución salina-buffer-fostato y se centrifuga, se deseca, se mezcla y se tiñe con la técnica de la fosfatasa alcalina-fosfatasa anti alcalina (APAAP). Como marcador específico de neutrófilos se utiliza un anticuerpo monoclonal murino dirigido a la elastasa de neutrófilos humana. Los eosinófilos se detectan utilizando un anticuerpo monoclonal EG2 dirigido a la forma secretada de la proteína catiónica eosinofílica y mediante la técnica de tinción inmunohistoquímica APAAP. Se incluyen en los ensayos controles positivos. El porcentaje de células positivas se determina por el conteo de 400 células en campos aleatorios y se expresa el número como el porcentaje del total. (Twaddell, Gibson, Carty, Wooley, & Henry, 1996)

En 2000, Gibson y colaboradores establecieron los valores normales de la celularidad del esputo inducido en niños. El esputo inducido se puede obtener de niños mayores de 6 años, demostrándose por Gibson y colaboradores un índice de éxito en niños entre 68 y 100%. La mayoría de los estudios han determinado como valores normales en niños un valor de eosinófilos en esputo de 2.5-3% (Tabla 3). (Gibson, Henry, & Thomas, 2000). Los eosinófilos en esputo correlacionan con marcadores objetivos de severidad de la enfermedad en niños asmáticos sin tratamiento previo con esteroides y en asma severa. Los niveles de marcadores inflamatorios se reportaron menores en niños con uso previo de cortico esteroides.

La calidad de las muestras de esputo inducido en niños se reporta como buena a satisfactoria en la mayoría de los estudios, sin embargo, los datos rara vez ha sido provistos para validar dicha situación. En particular, el exceso de contaminación salival se ha reportado como parte de un componente de calidad en algunos estudios. Un porcentaje de células escamosas mayor al 50% constituye una contaminación excesiva y la muestra debe recolectarse.

Tabla 3. Conteo de células en esputo en niños normales.

| | Normal | Atópico normal | No atópico normal |
|------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| CTC | 6.14 (1.2-9.08); 1.5 (0.8-3.9) | 1.75 (0.89-2.6); 1.0 (0.55-2.15) | 8.04 (0.63-15.5); 1.8 (1.05-6) |
| Eosinófilos (%) | 1.57 (0.62-2.52); 0.3 (0-1.05) | 2.16 (0.83-3.48); 0.5 (0-2.8) | 1.13 (0-2.54); 0 (0-0.6) |
| Mastocitos (%) | 0.024 (0-0.05); 0 (0-0) | 0.03 (0-0.07); 0 (0-0) | 0.02 (0-0.06); 0 (0-0) |

Modificado de: Gibson, P., Henry, R., & Thomas, P. *Noninvasive assesment of airway inflammation in children: induced sputum, exhaled nitric oxide and breath condensate.* *Eur Respir J*, 2000;16: 1008-15. CTC= Conteo Total de Células.

El conteo de eosinófilos en esputo se encuentra elevado en el asma aguda y dichas células disminuyen con el uso de corticoesteroides. Por lo tanto, hay una estrecha relación satisfactoria entre el conteo de eosinófilos en esputo y las mediciones de función pulmonar. Estudios que comparan el lavado bronquiloalveolar, el lavado bronquial para inducir la técnica del esputo en adultos han mostrado que hay buena correlación entre el tipo de células recuperadas del esputo mediante broncoscopia. La eosinofilia en esputo tiene una sensibilidad del 70% y especificidad de 90% comparada con los niveles séricos de proteína catiónica eosinofílica (PCE), la cual posee una sensibilidad del 50% y especificidad del 50%. En niños, el nivel de PCE y la mejora del estado clínico en el asma tratada con corticoesteroides inhalados se ha asociado con caída en los niveles de PCE en esputo pero sin cambios en los niveles séricos de la misma.

En el esputo normal las células dominantes en niños sanos son los macrófagos y el límite normal de eosinófilos en esputo en niños es de 2.5%. Los eosinófilos juegan un papel importante en la patogénesis del asma. Los niveles de eosinófilos y la PCE se encuentran más elevados en el esputo de asmáticos que en aquel de pacientes normales y podrían no ser completamente suprimidos por la terapia corticoesteroides.

La eosinofilia en esputo puede reflejar actividad de la enfermedad en niños asmáticos e incrementa varias veces su valor durante las exacerbaciones del asma. Los niveles de eosinófilos en esputo correlacionan con marcadores objetivos de severidad de la enfermedad en niños asmáticos y los niveles más altos de eosinófilos en esputo y PCE se asocian con mayor grado de obstrucción. (Gibson, Henry, & Thomas, 2000). Además, el grado de eosinofilia en esputo también correlaciona con el grado de respuesta de la vía aérea y el número de eosinófilos disminuye al evitar algunos alérgenos.

II. Complicaciones o eventos adversos en la prueba de esputo inducido

En general, la inducción del esputo en niños es un procedimiento seguro. Los efectos adversos reportados incluyen tos, obstrucción aérea, vómito y ansiedad. El mecanismo de producción del esputo después del uso de solución hipertónica no ha sido establecido. Los mecanismos potenciales incluyen una reducción en la viscosidad traqueobronquial del moco, aumento en la depuración ciliar, aumento en la producción de moco o incremento en el volumen de secreciones respiratorias. La inhalación de solución salina hipertónica también puede causar broncoconstricción y tos, las

cuales son mediadas por degranulación de mastocitos y estimulación de nervios aferentes en la vía aérea.

Con el uso de premedicación a base de un agonista beta 2 adrenérgico, la caída en la función pulmonar durante la prueba de esputo inducido mayor al 10% de la basal del paciente en cuestión se presenta solo en el 6% de los casos. Sin el uso de esta premedicación una proporción mayor de niños experimentan una reducción de su función pulmonar, sin embargo, aún esta reducción puede ser fácilmente reversible con el uso de beta 2 agonistas.

Cuando la obstrucción al flujo aéreo se presenta durante la inducción del esputo, la nebulización debe detenerse y se debe administrar un beta 2 agonista como salbutamol (200 microgramos) vía inhalador presurizado o espaciador o bien, se puede administrar salbutamol (2.5-5mg) mediante nebulización. El oxígeno puede requerirse en un episodio más severo. La respuesta a esta intervención deberá monitorearse a través del PEF o el VEF1. (Grootendorst, Henry, Pin, Ryttila, & Wark, 2002).

III. Otros parámetros medibles en el esputo inducido

Las proteínas liberadas de los gránulos de los eosinófilos como la PCE puede ocurrir al activarse el eosinófilo y/o al lisarse. El nivel de PCE en el sobrenadante del esputo se puede utilizar como marcador de degranulación del eosinófilo. En niños normales los niveles de PCE en esputo pueden detectarse en niveles tan altos como aquellos reportados en sangre. El origen de la PCE en muestras de esputo no eosinofílicas no está claro. En el asma controlada hay de dos a tres veces más niveles de PCE en esputo. Niveles extremadamente altos, mayores a $1,000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ han sido reportados en niños con asma aguda grave, sugiriendo una intensa degranulación de eosinófilos en las exacerbaciones del asma.

Los mastocitos rara vez se visualizan en el esputo de niños sanos. Son vistos infrecuentemente en el esputo de niños asmáticos, donde sus niveles correlacionan con las respuesta de la vía aérea a solución salina al 4.5%. Células epiteliales también pueden encontrarse en el esputo de un número incrementado de pacientes con asma no controlada. Cuando mejora el control del asma y la exposición a alérgenos, la descamación epitelial se reduce. (Piacentini, Vicentini, Mazzi, Chilosi, Mastinoti, & Boneo, 1998)

b) Medición del Oxido Nítrico exhalado(eNO)

El oxido nítrico endógeno es un mediador de vasodilatación y broncodilatación; se sintetiza a partir de la L-arginina por la enzima que se conoce como Oxido Nítrico Sintetasa (NOS). En una enfermedad inflamatoria como el asma el incremento de la producción de Oxido Nítrico exhalado es debido a la inducción de la producción por citoquinas pro-inflamatorias de varias células que incluyen eosinófilos, macrófagos alveolares, células del músculo liso y células endoteliales. La técnica lo que mide es la fracción de oxido nítrico exhalado, recientemente ha sido aprobada por la Sociedad Americana de Tórax se conoce como el Método Sencillo de Respiración lineal (SBLO);

consiste en exhalar contra una resistencia con una presión oral de 5-10 cm de agua, el óxido nítrico es medido por un analizador químico luminiscente. Una ventaja considerable de esta prueba es que los niveles de Oxido nítrico pueden aumentar antes que se detecten cambios en otros parámetros como la función pulmonar o antes de que aparezcan los síntomas. El Oxido Nítrico exhalado es un marcador de la inflamación bronquial no invasivo, seguro, sensible, reproducible e instantáneo para medir la inflamación bronquial y puede ser usado para la evaluación periódica de los pacientes asmáticos. Una de las desventajas es el costo y la dificultad para hacer la prueba en niños pequeños que no cooperan. (Corradi, Zinelli, & Caffarelli, 2007). Tres estudios en niños se han publicado subrayando la importancia del monitoreo del óxido nítrico exhalado, mostrando un importante valor predictivo para las exacerbaciones del asma durante el ajuste de las dosis de esteroide inhalado. (Zacharasiewicz, Erin y Bush, Noninvasive monitoring of airway inflammation and steroid reduction in children with asthma. 2006).

Desde la descripción del óxido nítrico (NO) como mediador en 1987, las observaciones en animales y humanos han demostrado que el NO es detectable en el aliento exhalado. Muchas publicaciones han demostrado que niveles elevados de este gas se encuentran en adultos y niños con asma quienes no utilizan esteroides inhalados. Los estudios de NO exhalado (eNO) han mostrado ampliamente que en el asma la elevación de dichos niveles es vista en aquellos pacientes que no utilizan esteroides inhalados así como en aquellos que tienen exacerbaciones de su enfermedad. El eNO también se eleva en otras condiciones como infecciones respiratorias superiores, mientras que en el síndrome de Kartagener se encuentran disminuido tal y como sucede en la ingestión de alcohol y el consumo de cigarrillos. El eNO se relaciona con la respuesta bronquial y tanto en niños como en adultos muestra una pequeña correlación con mediciones aisladas de espirometría o cambios agudos en el FEV. (Gibson, Henry, & Thomas, 2000). La FeNO es un marcador de la inflamación en vías aéreas que involucra las vías de estrés oxidativas.

I. Técnica de la medición del eNO

El eNO se mide mediante la quimioluminiscencia utilizando una maniobra para cerrar el paladar blando y evitar la contaminación con gas nasal. Si las concentraciones de NO en el ambiente son altas, entonces se contará con aire exhalado no libre de NO. Un método alternativo, particularmente utilizado en estudios epidemiológicos grandes, considera el uso de una mascarilla impermeable al gas. En población pediátrica se cuenta con la desventaja de contaminación por uso de mascarillas necesarias para la recolección en este grupo de pacientes. (Spahn 2007)

Con el dispositivo de quimioluminiscencia el niño inhala hasta su capacidad vital total (CVT) e inmediatamente exhala en una constante de flujo de 50ml/seg hasta un NO meseta de más de 2 segundos que se alcanza durante la exhalación de por lo menos 8 segundos.

Los estudios sugieren que la concentración de eNO medida en niños puede ser más baja que en adultos, pero cuando se corrige en base al índice de masa corporal, estas diferencias pueden parecer insignificantes.

Las indicaciones para realizar esta prueba en niños se describen por Zacharasiewicz y ellas son: medición del estado asmático en comparación con controles sanos, correlación con otros métodos rutinarios para diagnóstico de asma. Puede utilizarse además para monitorear efectos del tratamiento, medición de la adherencia, y predecir exacerbaciones para permitir reducción en las dosis de esteroides inhalados (Figura 1) (Zacharasiewicz, 2007). Los valores de referencia en niños entre 4 y 17 años se encuentran en un rango de entre 15 a 25 ppb, con un incremento de 1 ppb por año de vida. Las infecciones respiratorias agudas pueden causar un cambio en el FeNO sin correlacionar con el control del asma. La ingesta de ciertos alimentos y exposición a ciertos alérgenos también pueden incrementar sus niveles.

II. Relación del eNO con la inflamación de la vía aérea en asmáticos.

El eNO es generado por isoformas de la NOS en el epitelio de la vía aérea y desde los macrófagos pulmonares. La NOS constitutiva (tipo III) es probablemente la responsable de los niveles basales de eNO vistos en sujetos sanos. Si las vías aéreas se inflaman, entonces la NOS inducible (iNOS, tipo II) se expresa en el epitelio y esto causa un aumento en los niveles de eNO. Además las células inflamatorias también expresan iNOS y esto contribuye a esos niveles elevados. En niños, los niveles de eNO se encuentran positivamente correlacionados con los niveles absolutos de eosinófilos en esputo, con número de eosinófilos absolutos en sangre periférica y con los niveles de PCE en esputo.

En niños, los niveles de eNO se han encontrado elevados en casos de atopia. Además, se han encontrado niveles elevados en asociación a temporada de pólenes en pacientes asmáticos sensibles a los mismos a pesar de notarse pequeños cambios en los estudios de espirometría. Pocos estudios (sobre todo en población pediátrica), han demostrado utilidad de la medición de eNO como un marcador surrogado en el control a largo plazo del asma. (Lonkqvist, Hallden, & Dahlen, 1999)

7. Relación entre los marcadores de inflamación en esputo inducido y enfermedad

La eosinofilia del esputo se asocia con asma; estrías células liberan mediadores y citocinas proinflamatorias involucrados en la patogenia de la enfermedad. Existe eosinofilia en el esputo en el 80% de los pacientes asmáticos que no han sido tratados con esteroides. Asimismo, la proteína catiónica de eosinófilos (ECP), la albúmina y el fibrinógeno se elevan en sujetos con asma. Por su parte, la eosinofilia en el esputo se relaciona con la actividad de la enfermedad, exacerbaciones asmáticas y asma ocupacional. La evitación de alérgenos inhalantes se ha asociado con descenso de los eosinófilos en esputo de niños.(Spahn 2007) Sin embargo, existe poca correlación entre los eosinófilos de esputo o la ECP y asma evaluada en forma espirométrica, sintomática o por la hiperreactividad bronquial. La heterogeneidad en la inflamación parece ser particularmente importante en asma grave aguda y en asma no eosinofílica. En el primer caso se ha detectado un aumento en el número de neutrófilos; este hecho es importante porque estas células liberan elastasa

que predispone a infección y a mayor duración y gravedad de los síntomas asmáticos. Por su parte, los pacientes con asma no eosinofílica responden escasamente a los esteroides. (Guidos-Fogelbach, Rodríguez-Velasco, & Almeida-Arvizu, 2006)

En diversos estudios se ha probado la relación entre la eosinofilia en el esputo inducido y el patrón clínico del asma en edades pediátricas. Gibson y colaboradores evaluaron 146 niños asmáticos y 37 controles (niños sanos) para realizar en ellos la prueba del esputo inducido con solución salina hipertónica. En ellos se evaluó la frecuencia de episodios de asma 12 meses previos en los cuales se encontró un incremento en los eosinófilos del esputo reportándose incremento en el 1.5% de los episodios infrecuentes, 2.3% en los episodios frecuentes y 3.8% en los episodios persistentes; todos ellos comparados con el incremento de los eosinófilos en esputo inducido de los controles en solo 1% de los casos. En dicho estudio se determinó que los niños con más episodios frecuentes de asma muestran un incremento en la inflamación de la vía aérea, caracterizado por la presencia de eosinofilia en esputo y descamación bronquial de células epiteliales. (Gibson, y otros 2003).

Covar y colaboradores determinaron la seguridad y aplicación del esputo inducido en niños con asma; realizando la inducción del esputo inducido, medición del óxido nítrico exhalado, la cuenta de eosinófilos circulantes y la medición de proteína catiónica eosinofílica. De los 117 pacientes analizados, 99 contaron con muestra adecuada. En 9 sujetos la realización de la prueba terminó con broncoespasmo concluyéndose que la inducción del esputo en niños es relativamente poco invasiva y un procedimiento seguro que puede dar información sobre la inflamación eosinofílica y la respuesta al tratamiento. Ellos determinaron que la inducción del esputo con solución hipertónica fue exitosa en tres cuartas partes de sus pacientes; obteniéndose broncoespasmo en 8% de los pacientes a pesar de la premedicación con 360 microgramos de albuterol; sin embargo, dicho broncoespasmo fue reversible fácilmente con el propio albuterol. (Covar, y otros 2004).

Tabla 4. Sensibilidad, especificidad, VPN y VPP de las pruebas para medir la inflamación de la vía aérea.

| | Sensibilidad (%) | Especificidad (%) | VPP (%) | VPN (%) |
|--|------------------|-------------------|---------|---------|
| Eosinófilos en esputo: | | | | |
| >0% | 78 | 64 | 64 | 78 |
| >2.5% | 33 | 91 | 75 | 63 |
| FeNO >23ppb | 70 | 79 | 64 | 77 |
| Eosinófilos en esputo >0% y FeNO > 23ppb | 44 | 91 | 80 | 67 |
| Eosinófilos en esputo > 2.5% y FeNO > 23ppb | 33 | 100 | 100 | 65 |

Modificado de: Lex C, Ferrerira A, Zacharasiewicz A et al. Airway eosinophilia in children with severe asthma, predictive values of noninvasive tests. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:1286-91. VPP: valor predictivo positivo. VPN: valor predictivo negativo. Ppb: partes por billón.

8. Utilidad en la valoración de la respuesta al tratamiento

Las decisiones en el manejo del asma en edades pediátricas tradicionalmente se han basado en la mejoría de los síntomas, resultados en el flujo espiratorio máximo o en la espirometría simple además de la frecuencia con la que se usan los medicamentos de rescate. Sin embargo, la fisiología anormal de la vía aérea no siempre es medida y estas medidas no correlacionan estrechamente con la inflamación eosinofílica de la vía aérea subyacente como un predictor de exacerbaciones asmática y precursor de la remodelación de la vía aérea. En estudios publicados (Green, Brightling y McKenna, 2002), más del 80% de los sujetos sin tratamiento con corticoesteroides y más del 50% de los tratados con corticoesteroides con síntomas concomitantes tienen una cuenta de eosinófilos en esputo anormal. De esta manera, el monitoreo de las cuentas de eosinófilos permite un mejor control sobre el asma y provee una guía útil para el manejo (Li, y otros 2005).

La administración de budesonida se asocia con reducción marcada del número de eosinófilos en esputo, tanto en asma como en enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Finalmente, la evaluación de eosinofilia permite identificar la entidad clínica denominada "bronquitis eosinofílica sin asma" que puede ser una causa importante de tos crónica. La patología se observa en el 15% al 20% de los enfermos con tos crónica y predice la respuesta de la tos a los esteroides. La valoración de la eosinofilia en el esputo mejora el control del asma y provee una guía útil para el tratamiento además de que la evidencia reciente sugiere que la estrategia de tratamiento dirigida a la normalización de la eosinofilia de la vía aérea reduce las exacerbaciones de asma y las hospitalizaciones. El recuento de los eosinófilos en el esputo se correlaciona bien con la severidad del asma y los flujos espiratorios, existiendo una adecuada correlación entre el recuento de eosinófilos del esputo, el lavado broncoalveolar y la biopsia bronquial de sujetos asmáticos.

El recuento de eosinófilos en esputo varía sustancialmente en respuesta a diferentes dosis y duración del tratamiento con corticoesteroides. La enfermedad asmática es una patología inflamatoria crónica de las vías aéreas que se caracteriza por obstrucción variable del flujo de aire e hiperreactividad bronquial (HRB). (Spahn 2007) Se acepta que la inflamación es un proceso esencial en el inicio y progresión del asma. De hecho, los tratamientos antiinflamatorios -corticoides inhalados- se asocian con mejoría sintomática y funcional importante. A pesar de ello, la medición directa de marcadores de inflamación no forma parte del abordaje de los enfermos con asma (Petsky, Kynaston, Li, Cates, Lasserson, & Chang, 2008).

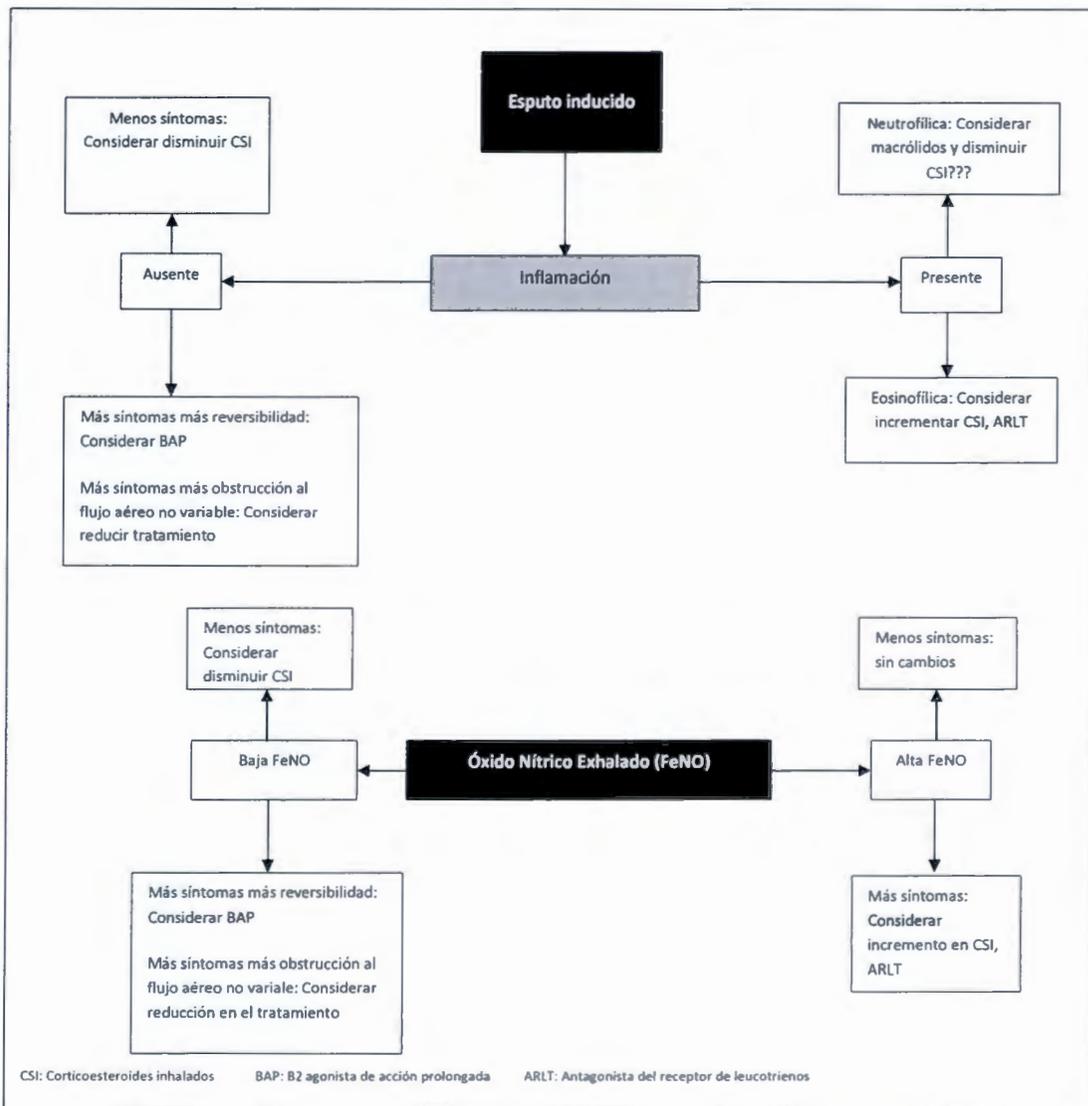


Fig. 2. Usos potenciales de la información obtenida del monitoreo inflamatorio en niños con asma. Modificado de: Zacharasiewicz A, Erin EM, Bush A. Noninvasive monitoring of airway inflammation and steroid reduction in children with asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006;6:155-60.

Lovett y colaboradores reportaron en su estudio la observación de que la inflamación en la vía aérea con incremento en los eosinófilos del esputo inducido se asocia con un peor pronóstico de los niños con asma. Los pacientes de su estudio presentaron un patrón clínico más severo de asma durante el seguimiento con más sibilancias, aumento de los despertares nocturnos y empeoramiento de la calidad de vida debido al asma. (Spahn 2007) Los niños con asma eosinofílica también tuvieron un mayor grado de obstrucción al flujo aéreo comparados con el grupo de niños sin asma eosinofílica. (Lovett, Whitehead y Gibson 2007). Los sujetos con asma eosinofílica tuvieron significativamente un decremento en el FEV1/FVC basal en comparación con los sujetos sin asma eosinofílica. Después de la administración de un beta 2 agonista, la relación FEV1/FVC mejora y no hay diferencia entre el asma eosinofílica y la no eosinofílica. En el estudio de Lovett se demostró por primera vez que la eosinofilia en esputo se relaciona con pronóstico adverso del asma en niños.

Lex y colaboradores realizaron un estudio para determinar la utilidad de la eosinofilia en esputo para ajustar el tratamiento en pacientes con asma de difícil control. Se obtuvo el esputo inducido de 20 niños entre 8 y 15 años de edad con asma de difícil control antes y después del uso de corticoesteroide sistémico (prednisona 40mg/día por 14 días o una dosis única de 80mg de triamcinolona intramuscular). Los sujetos se definieron como "eosinofílicos" si el porcentaje basal de eosinófilos en esputo era > 2.5% y como "no eosinofílicos" si el porcentaje basal era <2.5%. La respuesta clínica al tratamiento se evaluó mediante datos clínicos y espirometría y se definió como un incremento del FEV1 pre-broncodilatador mayor al 9% del predicho y/o una mejoría clínica significativa. Los eosinófilos en el esputo cayeron en el grupo "eosinofílico" sin presentarse cambios en el grupo de "no eosinofílicos"; acompañándose además de una mejoría clínica significativa y mejoría en los criterios de función pulmonar (Tabla 4). Concluyendo de esta manera que el uso de altas dosis de esteroide sistémico son útiles en el asma de difícil control aún en aquellos con ausencia de eosinofilia en el esputo. (Lex, Jenkins, y otros 2007).

Meijer y cols. (Meijer, y otros 2002) y Green y cols. (Green, Brightling y Woltmann, y otros 2002) encontraron que los eosinófilos en el esputo fueron parámetros útiles para predecir la respuesta al esteroide mientras que en el estudio de Gordon y colaboradores (Gordon, y otros 2002) la mejoría en el FEV1 después de un mes de esteroide inhalado en todos los pacientes con asma leve no correlacionó con la presencia de eosinofilia en esputo.

9. Conclusiones.

El esputo inducido es una técnica segura en niños la cual tiene riesgos aceptables. El procedimiento puede llevarse a cabo por técnicos capacitados. La seguridad y el procedimiento es similar en niños y adultos. Es necesario estandarizar la secuencia de inhalación, medición de la función de la vía aérea y uso del nebulizador ultrasónico.

La premedicación con broncodilatadores mejora el éxito y la tolerabilidad de la prueba en niños. La eosinofilia en el esputo caracteriza al asma en niños, la cual se relaciona con la severidad del asma y la falla al tratamiento con corticoesteroides.

La eosinofilia en esputo inducido y la concentración de óxido nítrico exhalado son los predictores más precisos de las exacerbaciones del asma en niños y adolescentes. La inclusión de dichos parámetros en la toma de decisiones clínicas reduce considerablemente la inflamación en las vías aéreas y por ende reduce el uso de esteroides inhalados.

La eosinofilia en esputo se asocia con un patrón más severo de asma que se caracteriza por un mayor número de episodios de sibilancias y despertares nocturnos, así como empeoramiento de la calidad de vida e incremento del grado de obstrucción de la vía aérea.

10. Bibliografía.

1. Banegas-Matamoros, Jessica. Actualización del manejo de control del asma en niños. *Honduras Pediatrica*, 2003: XXIII(1):15-19.
2. Center for Evidence-Based Medicine, Oxford. Center for Evidence-Based Medicine. 2007. http://www.cebm.net/levels_of_evidence.asp (último acceso: 01 de Enero de 2009).
3. Corradi, Massimo, Chiara Zinelli, y Carlo Caffarelli. Exhaled breath biomarkers in asthmatic children. *Inflammation and Allergy*, 2007: 6(3):150-9.
4. Covar, R A, J D Spahn, R J Martin, P E Silkoff, y B S Sundstrom. Safety and application of induced sputum analysis in childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 114 (2004): 575-82.
5. Fortuna, AM, T Feixas, M Gonzalez, y P Casan. Diagnostic utility of inflammatory biomarkers in asthma: exhaled nitric oxide and induced sputum eosinophil count. *Respiratory Medicine* 101 (2007): 2416-21.
6. Garner, Rochelle, y Dafna Kohen. Changes in the prevalence of asthma among Canadian children. *Health Reports*, 2008: 19(2):45-51.
7. Gibson, P G, J L Simpson, R Hankin, H Powell, y R L Henry. Relationship between induced sputum eosinophils and the clinical pattern of childhood asthma. *Thorax* 58 (2003): 116-121.
8. Gibson, PG, JW Wlodarczyk, y MJ Hensley. Epidemiological association of airway inflammation with asthma symptoms and airway hyperresponsiveness in childhood. *Am J Respir Crit Care Med* 158 (1998): 36-41.
9. Gibson, PG, JW Wlodarczyk, y MJ Hensley. Epidemiological association of airway inflammation with asthma symptoms and airway hyperresponsiveness in childhood. *Am J Respir Crit Care Med* 158 (1998): 36-41.
10. Gibson, PG, M Norzila, K Fakes, J Simpson, y RL Henry. Pattern of airway inflammation and its determinants in children with severe asthma. *Pediatr Pulmonol* 28 (1999): 261-70.
11. Gibson, PG, RL Henry, y P Thomas. Noninvasive assesment of airway inflammation in children: induced sputum, exhaled nitric oxide and breath condensate. *Eur Respir J* 16 (2000): 1008-15.
12. Gonzales, Melissa, Lorraine Malcoe, Orrin Myers, y Judith Espinoza. Risk factors for asthma and cough among hispanic children in the southwestern United States of America, 2003-2004. *Rev Panam Salud Publica*, 2007: 21(5):274-81.
13. Gordon, P, LP Boulet, JL Malo, A Cartier, y C Lemiere. Assessment and evaluation of symptomatic steroid-naive asthmatics without sputum eosinophilia and their response to inhaled corticosteroids. *Eur Respir J* 20 (2002): 1364-69.

14. Green, RH, CE Brightling, G Woltmann, y AJ Wardlaw. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids. *Thorax* 57 (2002): 875-79.
15. Green, RH, CE Brightling, y CE McKenna. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet* 360 (2002): 1715-21.
16. Grootendorst, DC, J-W van den Bos, y JJ Romeijn. Inducen sputum in adolescents with severe stable asthma. Safety and the relationship of cell counts and eosinophilic cationic protein to clinical severity. *Eur Respir J* 13 (1999): 647-53.
17. Grootendorst, DC, R L Henry, I Pin, PH Rytala, y P Wark. Sputum induction in children. *Eur Respir J* 20 (2002): 44s-46s.
18. Guidos-Fogelbach, Guillermo Arturo, Jorge Gabriel Rodríguez-Velasco, y Víctor Manuel Almeida-Arvizu. Abordajes actuales y futuros para el tratamiento de las enfermedades inflamatorias de las vías aéreas inferiores. *Rev Alergia Mex*, 2006; 53(3):94-100.
19. Hassan, Rashidul, Luthful Kabir, y Asif Mahmud. Self-reported asthma symptoms in children and adults of Bangladesh: findings of the National Asthma Prevalence Study. *International J Epidemiol*, 2002; 31:483-88.
20. Holgate, ST, DE Davies, RM Powell, PH Howarth, y HM Haitchi. Local genetic and environmental factors in asthma disease pathogenesis: chronicity and persistence mechanisms. *Eur Respir J*, 2007; 29:793-803.
21. Johnson, Christine, Dennis Ownby, Edward Zoratti, Sharon Hensley Alford, L. Keoki Williams, y Christine Joseph. Environmental epidemiology of pediatric asthma and allergy. *Epidemiol Rev*, 2002; 24:154-75.
22. Kim, CK, Y Yull, y Z Callaway. The validity of induced sputum and bronchoalveolar lavage in childhood asthma. *Journal of Asthma* 46, n° 2 (2009): 105-12.
23. Lex, C, F Ferreira, A Zacharasiewicz, AG Nicholson, y Haslam PL. Airway eosinophilia in children with severe asthma: predictive values of noninvasive tests. *Am J Respir Crit Care Med* 174 (2006): 1286-91.
24. Lex, C, G Jenkins, N Wilson, A Zacharasiewicz, y E Erin. Does sputum eosinophilia predict the response to systemic corticosteroids in children with difficult asthma? *Pediatr Pulmonol* 42 (2007): 298-303.
25. Lex, Christiane, Flavia Ferreira, Angela Zacharasiewicz, y Andrew Nicholson. Airway Eosinophilia in Children with Severe Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006; 174(12):1286-91.
26. Lezana, Viviana, y J. Carlos Arancibia. Consideraciones epidemiológicas del asma en Latinoamérica. *Neumol Pediatr*, 2006; 1(2):45-48.

27. Li, AM, TWT Tsang, DFY Chan, RYT Sung, y TF Fok. Induced sputum in childhood asthma. *Hong Kong Med J* 11 (2005): 289-94.
28. Lonnkvist, K, G Hallden, y SE Dahlen. Markers of inflammation and bronchial reactivity in children with asthma, exposed to animal dander in school dust. *Pediatr Allergy Immunol* 13 (1999): 45-52.
29. Lovett, CJ, BF Whitehead, y PG Gibson. Eosinophilic airway inflammation and the prognosis of childhood asthma. *Clinical and Experimental Allergy*, 2007; 37:1594-601.
30. Mackenney, Jorge. Asma en pediatría. *Rev Med Clin Condes*, 2007; 18(2):133-44.
31. Mattes, J, K Storm-van's, y U Reinning. NO in exhaled air is correlated with markers of eosinophilic airway inflammation in corticosteroid-dependent childhood asthma. *Eur Respir J* 13 (1999): 1391-5.
32. Meijer, RJ, DS Postma, HF Kauffman, LR Arends, GH Koeter, y HA Kerstjens. Accuracy of eosinophils an eosinophilic cationic protein to predict steroid improvement in asthma. *Clin Exp Allergy* 32 (2002): 1096-1103.
33. Meneses-González, Fernando, Isabelle Romieu, Juan José Sienra-Monge, José Huerta-López, y Silvia Ruiz-Velasco. Asma en población infantil y su relación con los contaminantes ambientales aéreos de la ciudad de México. *Revista Alergia México*, 1996: XLIII(3):66-72.
34. Navarro, Robert, Gary K Rice, y Kenneth L Schaecher. Asthma management guidelines: updates, advances and new options. *JMCP*, 2007; 13(6);s1-13.
35. Oh, JW, HB Lee, y CR Kim. Analysis of induced sputum to examine the effects of inhaled corticosteroid on airway inflammation in children with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 82 (1999): 491-6.
36. Palomino, A L, M H Bussamara, B M Saraiva-Romanholo, M A Martins, M T Nunes, y J C Rodrigues. Induced sputum in children and adolescents with asthma: safety, clinical applicability and inflammatory cells aspects in stable patients and during exacerbation. *J Pediatr (Rio J)* 81, n° 3 (2005): 216-24.
37. Pearce, N, N Ait-Khaled, y R Beasley. Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax*, 2007; 62;757-65.
38. Petsky, HL, JA Kynaston, AM Li, CJ Cates, TJ Lasserson, y AB Chang. Intervenciones específicas basadas en el recuento de eosinófilos en el esputo versus síntomas clínicos para el asma en niños y adultos (Revisión Cochrane Traducida). *Biblioteca Cochrane Plus*, 2008: Número 2. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>.
39. Piacentini, GL, L Vicentini, P Mazzi, M Chilosi, L Mastinoti, y AL Boneo. Mite-allergen avoidance can reduce bronchial epithelial shedding in allergic asthmatic children. *Clin Exp allergy* 28 (1998): 561-7.

40. Pin, I, PG Gibson, y R Kolendowicz. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 47 (1992): 25-29.
41. Pita-Fernández, S, y S Pértegas-Díaz. Fisterra. 2008. <http://www.fisterra.com> (último acceso: 01 de Enero de 2008).
42. Portugal-Vivanco, José. ¿Cuál es la evaluación más apropiada para reconocer al asmático severo? *Enf Tórax*, 2001: 44(2).
43. Sánchez, Ignacio. Asma en niños: aumento de la prevalencia y aspectos fisiopatológicos. *Neumol Pediatr*, 2006: 1(1):2-3.
44. Santana-Rodríguez, C, S Castrillo-Bustamante, y C Moraleda-Redecilla. Diagnóstico del asma infantil, novedades. *Bol Pediatr*, 2007: 47(Supl 2):72-87.
45. Secretaría de Salud, México. Metodología para la integración de guías de práctica clínica. México, D.F., 2008.
46. Sienna-Monge, Juan José, Blanca Estela Del Río-Navarro, y Manuel Baeza-Bacab. Asma. *Salud Pública de México*, 1999: 41(1):64-70.
47. Smith, Andrew, Jan Cowan, Sue Filsell, y et al. Diagnosing Asthma: comparisons between exhaled nitric oxide measurements and conventional tests. *A J Respir Crit Care Med*, 2004: 169(4):473-78.
48. Sociedad Argentina de Pediatría. Consenso de Asma Bronquial 2007 1a parte. *Arch Argent Pediatr*, 2008: 106(1):61-68.
49. Sociedad Argentina de Pediatría. Consenso de Asma Bronquial 2007. 2a parte. *Arch Argent Pediatr*, 2008: 106(2):162-75.
50. Sociedad Mexicana de Neumología y Cirugía de Tórax. Consenso Mexicano de Asma. *Neumología y cirugía de tórax*, 2005: 64(s1):s9-44.
51. Sorkness, Christine. Traditional and new approaches to asthma monitoring. *Respir Care*, 2008: discussion 599-601.
52. Spahn, JD. Asthma biomarkers in sputum. *mmunol Allergy Clin N Am* 27 (2007): 607-22.
53. The Cochrane Collaboration. Manual de Revisores Cochrane. 2003.
54. Twaddell, SH, PG Gibson, K Carty, K L Wooley, y RL Henry. Assesment of airway inflammation in children with acute asthma using induced sputum. *Eur Respir J (Eur Respir J)* 9 (1996): 2104-08.
55. Wark, PA, y PG Gibson. Clinical usefulness of inflammatory markers in ashtma. *Am J Repir Med*, 2003: 2(1):11-19.

56. Zacharasiewicz, A. Fractional exhaled nitric oxide and induced sputum. *Ped Respir Rev* 8 (2007): 94-96.

57. Zacharasiewicz, A, EM Erin, y A Bush. Noninvasive monitoring of airway inflammation and steroid reduction in children with asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 6 (2006): 155-60.