



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

**DETERMINACIÓN Y COMPARACIÓN DE NIVELES DE OXIDO
NÍTRICO EXHALADO EN NIÑOS OBESOS CON Y SIN ASMA.**

TESIS

**PARA OBTENER TÍTULO EN LA
SUBESPECIALIDAD DE**

**ALERGIA E INMUNOLOGÍA
PEDIÁTRICA**

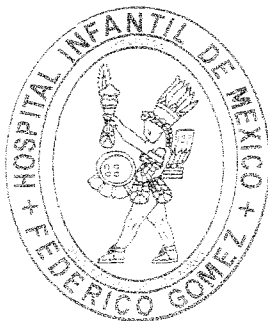
PRESENTA:

DR. ABEL MARCELO MONCADA ALCON

**TUTOR DE TESIS
DR. JUAN JOSÉ LUIS SIENRA MONGE.**

**ASESORES DE TESIS
DRA. BLANCA ESTELA DEL RÍO
NAVARRO.
DR. MIGUEL ÁNGEL ROSAS VARGAS.**

**DEPARTAMENTO DE ALERGIA E
INMUNOLOGÍA CLÍNICA**



MÉXICO, D. F. AGOSTO 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

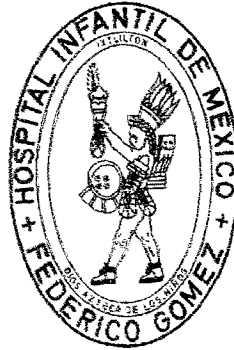
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO.



**HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ**

**Determinación y comparación de niveles de
óxido nítrico exhalado en niños obesos con y
sin asma.**

Tesis que para obtener el título de especialidad en

**ALERGIA E INMUNOLOGÍA
PEDIÁTRICA**

P R E S E N T A

DR. ABEL MARCELO MONCADA ALCON

TUTOR DE TESIS

DR. JUAN JOSÉ LUIS SIENRA MONGE.

ASESORES DE TESIS

DRA. BLANCA ESTELA DEL RÍO NAVARRO.

DR. MIGUEL ÁNGEL ROSAS VARGAS.

DEPARTAMENTO DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA

MEXICO, DF. AGOSTO DEL 2006.

**TUTOR DE TESIS
DR. JUAN JOSÉ LUIS SIENRA MONGE.
INVESTIGADOR TITULAR DEPARTAMENTO DE ALERGIA E
INMUNOLOGÍA CLÍNICA
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**

ASESORES DE TESIS

**DRA. BLANCA ESTELA DEL RÍO NAVARRO
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA**

**DR. MIGUEL ÁNGEL ROSAS VARGAS.
JEFE DE SERVICIO DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA**

Agradecimientos.

Con todo el respeto que se merecen, doy gracias a todos los niños que pasaron por mis manos y me enseñaron todo lo que aprendí sobre ellos; sus tristezas y alegrías y me hicieron sentir cada día más útil; sin la colaboración de ellos nada de esto se cumpliría.

Doy gracias a Dios, que siempre esta con nosotros y nos cuida; que ha guiado mis pasos en el pasar de los días y me ha permitido realizarme en lo profesional y personal.

Gracias querida esposa, que sin ti no hubiese llegado a donde estoy y haberme dado toda la paciencia y sabiduría que tienes.

A ti Mariana, hija mía que me enseñaste lo mas bello de esta vida: el sentirse padre y gozar de tu sonrisa sincera, haciéndome olvidar todo aquello inverosímil que tiene la vida.

Gracias a todos mis maestros, que supieron orientarme, molestarme, impulsarme y mantenerme en la cuerda de lo ideal en el campo académico sin olvidar que también somos personas.

Gracias a ustedes de relaciones exteriores, por ofrecerme esta oportunidad de poder realizarme en lo profesional y con gusto sembrare los conocimientos aprendidos en mi país de origen: BOLIVIA.

Y finalmente un agradecimiento muy especial a dos seres, por los cuales ahora escribo estas palabras, "Mis padres" que forjaron en mí este temple, para poder llegar hasta donde estoy ahora, gracias por permitirme tener ante mis ojos esta vida que día a día me impulsa a seguir adelante.

"Determinación y comparación de niveles de óxido nítrico exhalado
en niños obesos con y sin asma"

Dr. Abel Marcelo Moncada Alcon

Tesis propuesta para obtener el título en

Alergia e Inmunología Clínica Pediátrica

**Universidad Nacional
Autónoma de México**

2006

Índice

Resumen.	Pag.1.
Introducción.	Pag.2.
Marco teórico.	Pag.5.
Antecedentes.	Pag.19.
Planteamiento del problema.	Pag.20.
Justificación.	Pag.21.
Objetivos.	Pag.22.
Hipótesis.	Pag.22.
Material y métodos.	Pag.23.
Resultados.	Pag.27.
Discusión.	Pag.29.
Conclusión.	Pag.31.
Referencias.	Pag.32.

Resumen.

Se considera al Oxido Nítrico Exhalado (INOX) como un marcador inflamatorio de la vía aérea. Cuando sus niveles son mayores de 20 a 30 ppb se relaciona con la presencia de eosinofilia pulmonar.

Con la determinación de INOX pueden ser detectadas en etapas tempranas las alteraciones a nivel pulmonar producidas por los cambios inflamatorios de la obesidad (sistémicos y locales). Con el fin de establecer la relación causal precisa entre las dos enfermedades se buscaron los niveles de INOX.

Método.

Estudio prospectivo en adolescentes obesos con y sin asma con un índice de masa corporal (IMC), arriba del percentil 95 según tablas de Cole, que fueron evaluados con mediciones de INOX según especificaciones internacionales.

Resultados.

Se incluyeron 87 pacientes; 48 asmáticos (55,2%) y 39 no asmáticos (44,8%); edad promedio 12 años (10-16 años); IMC promedio 28,84 kg/m² (22,34-43,5); INOX promedio 10,4 ppb (0,3-16,5 ppb); sin diferencias estadísticas entre los dos grupos. En el análisis comparativo entre sujetos obesos con y sin asma, no hallamos diferencias significativas entre ambos grupos (T de students).

Conclusiones.

Si bien nuestro estudio no halló diferencias significativas entre ambos grupos, el tamaño de la muestra es insuficiente para poder realizar una aseveración referente al tipo inflamatorio que predomina en el sujeto obeso asmático; también pudo influir que todo paciente asmático que ingreso al estudio estuvo libre de síntomas y fueron clasificados como asma leve intermitente o persistente. Llama la atención que el promedio de INOX en 4 pacientes con inmunoterapia sea de 5,4 ppb (0,4-8,4); por debajo del valor normal alto (10 ppb) publicados en sujetos saludables y con fibrosis quística; lo cual podría indicar un fenómeno modulador del proceso inflamatorio subyacente de la inmunoterapia, datos que deberán ser confirmados con ampliación de la muestra.

Determinación y comparación de niveles de óxido nítrico exhalado en niños obesos con y sin asma.

Introducción:

La prevalencia mundial de obesidad en escolares y adolescentes aumentó significativamente en las dos últimas décadas, llegando a describirse asociación entre el Índice de masa corporal (IMC) y asma. Aún no está claro que es primero; la obesidad como factor de riesgo de asma o el asma que limita la actividad física y predispone a obesidad.

En la encuesta nacional de salud del año 2000, se determinó que el exceso de peso (obesidad más sobrepeso) en el grupo de adolescentes masculinos de 10 a 17 años en hombres en el área metropolitana de la ciudad de México fue de 28% y en mujeres de 30.1%.¹ Y la prevalencia de asma en México es del 9,9% entre los 13 a 14 años.

En la tercera encuesta nacional de salud y nutrición del año 2001 se describe la asociación entre asma e IMC, pero no con atopía o recuento de eosinófilos². Se ha visto que la obesidad modifica la función respiratoria y existe una relación indirectamente proporcional entre el IMC y la función pulmonar.^{3 4} Los estudios epidemiológicos sugieren que la obesidad produce un grado de inflamación mayor en las vías aéreas inferiores.^{5 6} Sin embargo esta relación aún es contradictoria. En el estudio de To y cols.,⁷ no se presentó una asociación estadísticamente significativa entre estas variables en niños canadienses, de 4 a 11 años con diagnóstico médico de asma y con IMC mayor del 85% de su percentil. Sin embargo una de las fallas de este estudio fue que consideraron al sobrepeso y la obesidad como única variable. En otros estudios; Hombres y mujeres adultos con asma y sobrepeso al ser analizados ambos géneros por separado, la asociación fue estadísticamente significativa en las mujeres.^{8 9} De igual manera se encontró asociación ganancia de peso y

riesgo de desarrollar asma en niñas de 6 a 14 años, no encontrándose en niños.¹⁰

Hay trabajos que apoyan el hecho que la obesidad por si misma es un estado proinflamatorio, donde se han encontrado niveles elevados de leptina y citocinas proinflamatorias como Interleucinas (IL) 1 y 6. La IL1 incrementa la producción de IL5, que activa y aumenta la sobrevida de los eosinófilos. La IL6 favorece la producción de IgE y se encuentra directamente relacionada con los niveles altos de histamina, lo que podría explicarnos su participación como mediador en el proceso inflamatorio.¹¹

En la obesidad se ha visto que existe una asociación directa entre PCR, IL1, IL6 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), estas últimas están expresadas constitutivamente por los adipocitos y ambas tienen correlación con la cantidad de grasa corporal.¹²

La leptina proteína proinflamatoria,¹³ que se ha visto elevada en obesos y asmáticos. Esta es producida por los adipocitos de tejido adiposo blanco, que se ha asociado con el incremento de la actividad de estas células y las reservas energéticas del organismo.¹⁴ En modelos animales, la administración de leptina exógena estimula la producción de TNF- α , IL-6 e IL-12 además de aumentar la fagocitosis de macrófagos, activar las células NK y los linfocitos. Estas células están en la fase proinflamatoria y en los procesos inflamatorios de la vía aérea, determinan el tipo de lesión y extensión del daño tisular.

Visser,¹⁵ determinó en mujeres obesas adultas que existe un aumento de la PCR, que refleja de forma indirecta la producción de IL-6. Recientemente se ha considerado que la IL6 en conjunción con la ciclooxigenasa 2 (COX-2), intervienen en el desarrollo de asma y obesidad. Ambos estimulan la producción de prostaglandina E2, (PGE2), que a su vez promueve la inflamación y expresión de citocinas tipo Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13), asociadas a la respuesta inflamatoria alérgica en el asma.¹⁶

La determinación de Oxido Nítrico (NO) es fácil, barata y rápida; provee información de la inflamación de la vía aérea en el asma. Se produce por la conversión de arginina vía oxido nítrico sintasa que se encuentra elevada en distintos procesos inflamatorios en pulmones de humanos, es afectada por el tratamiento con corticoides inhalados donde se ha visto su descenso. Un incremento de la basal de mas de 10 ppb o más del 60% del basal tiene un valor predictivo positivo del 80% de falla en el control de asma, exacerbación de los síntomas y caída del PEF, requiriendo medicación de rescate.¹⁷

El NO en el asma tiene un valor predictivo positivo y negativo del 90%, con sensibilidad del 85% y especificidad del 80%, en niños entre 3,8 y 7,5 años evaluados, usando el diagnostico clínico como estándar de oro, tuvo una sensibilidad del 86% y especificidad del 92%, con valor predictivo positivo y negativo de 78 y 95% respectivamente.¹⁶

La determinación de NO ha demostrado tener una buena relación con la presencia de síntomas de asma en niños.¹⁸ Se han hecho estudios tratando de estandarizar sus valores en niños y adolescentes,¹⁹ sin embargo las escalas varían de uno a otro estudio. Se ha demostrado en niños y adolescentes que el grado de inflamación es mayor en mujeres,²⁰ invirtiéndose esa relación en los adultos.²¹

En estudios poblacionales se encontró niveles elevados de NO en sujetos con asma y atopia versus sujetos con asma sin atopia⁵⁹.

La técnica no es invasiva y tiene la capacidad de ofrecer de forma indirecta el estado del asmático en correlación con niveles de eosinófilos y pruebas de reto con metacolina, obteniéndose en tiempo real y sin preparación.²² Coadyuvando en la decisión terapéutica.

Recientemente se propuso su uso como herramienta para el control del asma, Pijnenburg,²³ determino que el NO es un método efectivo para predecir las recaídas de asma en las primeras 4 semanas, después de haber terminado el tratamiento con esteroides inhalados.

Se le considera como un buen marcador de la inflamación de la vía aérea y se relaciona con eosinofilia a nivel pulmonar.²⁴ Dicha asociación ha sido demostrada por biopsias, por esputo inducido o lavados bronquioalveolares en niños,²⁵²⁶ se ha visto que el uso de corticoesteroides inhalados reduce la cantidad de NO y de eosinófilos.²⁷ También hay asociación con IgE sérica total, rinitis alérgica y número de pruebas cutáneas positivas.²⁸

Marco teórico:

El óxido nítrico (NO) ha sido considerado como un contaminante presente en el ambiente y humo de cigarrillo, es destructor del ozono, y precursor de la lluvia ácida. Desde el descubrimiento en 1987, que es similar al factor relajante derivado del endotelio (EDRF), su importancia en el aparato respiratorio esta siendo actualmente dilucidada.

Tiene una vida media corta (1-5 segundos) y un electrón no apareado, actuando como un radical libre, que reacciona con otras moléculas como; el oxígeno, radicales superóxido o metales de transición. Es una molécula mensajera que regula varias funciones biológicas (regulación de flujo sanguíneo, reactividad plaquetaria, neurotransmisión no adrenergica no colinérgica y memoria; y a elevadas concentraciones funciona como mecanismo de defensa en contra de tumores y patógenos). Existe también evidencia que actúa como regulador de la función pulmonar en enfermedades pulmonares.²⁹

Fuente celular y biosíntesis.

En el aparato respiratorio es producido por una amplia variedad de células incluyendo; epiteliales, nervios de la vía aérea, células inflamatorias y del endotelio vascular. Dada las muchas localizaciones donde se produce, su actividad fisiológica a nivel pulmonar es difícil de determinar. La actividad depende de factores locales, incluyendo la cantidad y actividad de las enzimas responsables de producirlo, el nivel de estrés oxidativo, y la cantidad de captación de moléculas antioxidantes como hemoglobina y glutatión, es generado por oxidación de un quinto electrón del nitrógeno guanidinio terminal sobre el aminoácido L arginina. La reacción es tanto dependiente de oxígeno y NADPH y comparten el coproducto de L citrulina mas NO en una estequiometria de 1 a 1. Esta reacción es catalizada por NO sintasa (NOS) la cual existe en tres distintas formas; 1) NOS neural constitutiva (NOS-I o nNOS); 2) NOS inducible (NOS-II o iNOS); y 3) NOS endotelial constitutiva (NOS-III o eNOS). Los genes de estas enzimas se encuentran en los cromosomas 12,17 y 7. La NOS se divide en dos dominios la reductasa y oxigenasa.³⁰

Funcionalmente, NOS se divide en constitutiva e inducible, la primera esta presente en plaquetas, neuronas, células epiteliales y endoteliales, es dependiente de calcio y calmodulina y libera en pocos segundos femtomoles o picomoles de NO por estimulación del receptor por agonistas como acetilcolina y bradicinina. Expresión de iNOS se presenta en macrófagos, neutrófilos, hepatocitos, y células epiteliales, mesangiales, endoteliales y músculo liso

vascular. Es regulada a nivel pre transnacional y puede ser inducida por citocinas proinflamatorias como TNF α , IFN γ e IL 1 β . El iNOS libera grandes cantidades de NO proinflamatorio varias horas después de la exposición y puede continuar de manera sostenida (horas o días).

La localización subcelular de estas tres isoformas es aún controversial, nNOS y iNOS son proteínas solubles mientras que eNOS es blanco de una fracción subcelular, específicamente el plasmalema. En el endotelio se ha mostrado que la asociación de eNOS y caveolina suprimen la actividad de eNOS.

Mecanismo de acción.

El NO se difunde rápidamente del punto de síntesis, puede atravesar la membrana celular, interactúa con sitios moleculares intracelulares y tiene una inestabilidad intrínseca. El mejor sitio de ligando es el hierro en el grupo heme de la guanilato ciclasa, estimulando la conversión de GTP a cGMP y media los efectos biológicos atribuidos a NO derivado de cNOS. Además, actúa en otras acciones que son independientes de guanilato ciclasa y cGMP. Los niveles elevados de NO liberado por iNOS, actúa como un efector inmune de la muerte de células tumorales. De hecho se ha reportado que inhibe el crecimiento o mata un buen número de hongos, parásitos y bacterias. Estos mecanismos se deben a inhibición de la síntesis de DNA por inactivación de la reductasa ribonucleotida y por deaminación directa de DNA.

La interacción con blancos moleculares representa una vía importante para su ruptura e inactivación. Siendo la interacción con el anión superóxido el más importante, forma el anión de peroxinitrito, el cual es una molécula citotóxica potente. Otro mecanismo de inactivación in vivo, involucra la reacción con oxígeno molecular para formar nitritos, que en presencia de hemoproteínas, se oxidan formando nitratos.³¹

Métodos de detección.

Su presencia en los sistemas biológicos es usualmente inferido por sus efectos fisiológicos como; incremento de la concentración de CMPC, producción de citrulina, o cambios en la respuesta funcional producida por inhibidores de NOS. Estos métodos proveen información indirecta sobre su producción y tienen grados diferentes de especificidad. Medirlo de forma directa es difícil, debido a la escasa cantidad presente (usualmente en concentración de nanomoles) y su labilidad en presencia de Oxígeno, actualmente es medido por espectroscopia y electroanalítico.

Los métodos espectroscópicos incluyen quimioluminiscencia, espectroscopia de luz ultravioleta visible y resonancia paramagnética electrónica. Los ensayos de quimioluminiscencia se basan en medir la intensidad de la radiación fluorescente, emitida después de la oxidación química del NO por ozono, utilizando un tubo fotomultiplicador sensible. El producto de esta reacción emite un fotón y el número total de fotones, es proporcional a su concentración. El método espectroscópico para determinarlo,

se base en la reacción de Griess, la cual se realiza con una mezcla de Acido sulfanílico y N-etilendiamina. La N-etilendiamina reacciona con él y un espectro del producto de esta reacción se muestra en una banda a 548 nanometros. La absorbancia de este pico es proporcional a su concentración. Otro método espectroscópico es la luz Ultravioleta visible, se basa en la rápida oxidación de hemoglobina reducida a metahemoglobina por NO, Es detectado por los cambios característicos observados en el pico de absorbancia de Soret de hemoglobina de 433 nm a 406nm. La resonancia paramagnética del electrón puede ser utilizada para monitorizar moléculas con electrones no pareados como el NO. De hecho, es una molécula gaseosa paramagnética con electrón no pareada en el orbital π . En este método, una trampa de giro como la hemoglobina es utilizada para estabilizarlo, estas trampas de giro, son compuestos que interactúan con radicales inestables, produciendo un compuesto más estables, como la Nitrosil-hemoglobina (NO-Hb), que puede ser detectado por la resonancia.³²

Los métodos electroquímicos ofrecen varias alternativas que no están disponibles por espectroscopia, se basan en la oxidación electroquímica de NO sobre electrodos sólidos.³³

La elevada sensibilidad y la rápida respuesta del método electroquímico permite la monitorización *in situ* de la cinética de niveles de NO sobre la superficie de tejidos o cultivos celulares. Sin embargo, para medirlo en órganos intactos como el pulmón, donde la información cinética no es el blanco, se prefiere métodos espectroscópicos.

Papel fisiológico en la vía aérea.

a) NO y broncodilatación.

Desde el descubrimiento de vasodilatadores conteniendo NO como el trinitrato de glicerol y nitroprusiato sódico, que inducen relajación del músculo liso aislado de la vía aérea, con activación la guanilato ciclasa, e incremento del CMPC, se ha buscado la posibilidad de utilizarlo inhalado para provocar un efecto broncodilatador en animales y humanos.

En cobayos anestesiados la broncoconstricción inducida por metacolina se reduce al inhalar NO en concentraciones de 5 ppm a 300ppm. Además, una elevada concentración 300 ppm, causa broncodilatación mínima del basal. En conejos anestesiados y ventilados de forma mecánica el añadir 80 ppm mas el gas inhalado previene un incremento en la resistencia a metacolina nebulizada. Sin embargo ningún efecto se ha visto sobre la *compliance*, sugiriendo que el previene la contracción de vía aérea grande mas que de la pequeña. Si es inhalado a concentraciones de 80 ppm no tiene efectos en individuos normales y en pacientes con EPOC, pero tiene un pequeño efecto broncodilatador en pacientes asmáticos. Existe evidencia que además de activar la guanilil ciclasa, relaja el músculo liso bronquial por otro mecanismo, participa en la vía metabólica del tilo para formar nitrosotioles (RS-NO), que están presentes en la

vía aérea de sujetos normales y tienen sustancialmente una vida media mayor que el NO a concentraciones fisiológicas de oxígeno y poseen actividad broncodilatadora potente, no dependiente de la vía del CMPC, y esta presente en concentraciones suficientes que influye en el tono de la vía aérea. Recientemente se ha encontrado que asma grave se asocia con bajas concentraciones de RS-NO en la vía aérea, sugiriendo que la deficiencia de tal mecanismo endógeno broncodilatador se debe a una degradación acelerada en los pulmones de pacientes asmáticos graves, contribuyendo al broncoespasmo grave y refractario.³⁴

Más allá de los sistemas clásicos adrenérgicos y colinérgicos que manejan el tono bronquial, existe un sistema neural no adrenérgico no colinérgico (NANC) que existe en la vía aérea de animales y humanos el cual media la contracción NANC excitatorio y la relajación NANC inhibitorio. Evidencia actual indica que el NO actúa como un neurotransmisor en el sistema NANC inhibitorio, y neurotransmisión nitrérgica se ha mostrado no solo en la vía aérea sino también en intestinos, vejiga y órganos de la reproducción. Tinción inmunohistoquímica de nNOS se muestra en los nervios de la vía aérea de cobayos y humanos. Nervios inmunoreactivos a NOS están presentes en vasos de la vía aérea, músculo liso de la vía aérea y lámina propia. Neuronas inmunoreactivas a NOS se han encontrado en ganglios parasimpáticos y en ganglios sensoriales y simpáticos que se encuentran en la vía aérea y se encuentran más proximal que distal. NO es liberado de nervios periféricos por nNOS y está activado por el ingreso de calcio cuando el nervio está despolarizado. Media aproximadamente la mitad de la respuesta relajante NANC inhibitoria en traquea de cobayos *in Vitro*, y el péptido intestinal vasoactivo (VIP) debería estar involucrado en la segunda parte de la respuesta relajante NANC inhibitorio. En humanos la respuesta NANC inhibitoria en vía aérea central y periférica es completamente mediado por NO. Es más, la inhibición de NOS potencia la broncoconstricción neural colinérgica sin influir la liberación neural de acetilcolina, sugiriendo que el nNOS maneja NO como un antagonista funcional de la vía colinérgica excitatoria actuado post sinapsis y no a nivel pre sinapsis. También se ha observado que NO liberado en asociación con estimulación nerviosa regula la magnitud de la respuesta NANC excitatoria en la vía aérea de cobayos. Relajación inducida por NO neural está alterada en inflamación alérgica de la vía aérea, aunque no existan cambios en la nNOS, indicando que la actividad alterada de la NOS neural en presencia de inflamación alérgica desencadena exacerbación de asma.³⁵

b) NO y broncoprotección.

Hiperreactividad de la vía aérea (HRA), el principal hallazgo de asma, está definida como el incremento fácil y del grado de estrechez de la vía aérea en respuesta a un estímulo broncoconstrictor. Varios estudios muestran la habilidad de NO endógeno para influir sobre la HRA basal. Se ha mostrado que inhibidores de NOS potencian la broncoconstricción inducida por histamina, como también que modula la broncoconstricción inducida por bradicinina, ácido cítrico, taquicinina, agonista selectivo NK y receptor activado proteasa 2 en

cobayos, así como broncoconstricción aguda inducida por inhalación de alérgeno potenciado por inhibidores de NOS en cobayos sensibilizados, sugiriendo modulación de la reacción asmática temprana en modelos animales.³⁶ La perfusión intratraqueal de preparaciones de bradicinina, endotelina-1, sustancia P, adenosina, y péptido relacionado al gen de calcitonina provoca relajación dependiente de concentración. La relajación es revertida al añadir los inhibidores, indicando que el efecto relajante esta mediado por la liberación de NO endógeno. Este efecto fue imitado al remover el epitelio de la vía aérea, sugiriendo que el epitelio de la vía aérea libera NO, el cual contrarresta la contracción de músculo liso. Este aspecto resalta la importancia funcional del epitelio en la HRA, no solo se considera como una barrera física protectora sino también como un modulador del tono broncomotor por liberación de sustancias relajantes. Se ha demostrado liberación de NO inducido por bradicinina en la vía aérea de cobayos, no se libera si el medio esta libre de Ca, lo cual sugiere que la vía NOSc dependiente de Ca esta involucrada en la liberación de NO broncoprotector. El paso siguiente de liberación tiene un efecto parácrino sobre el músculo liso, dependiente del incremento de CMPC en la célula efectora. De hecho, la bradicinina incrementa los niveles de CMPC en la vía aérea de cobayos y este efecto es bloqueado por inhibidores de NOS en preparaciones de epitelio desnudo, sugiriendo que el mediador final de la broncoprotección es el GMPc.

La HRA es inducida por alérgenos e infecciones virales pero se ha visto que los inhibidores de NOS no potencian dicha reactividad y que la HRA inducida por virus es completamente bloqueada por concentraciones bajas de L-arginina inhalada, sugiriendo que es dependiente de la deficiencia de NO endógeno protector. Se proponen que una deficiencia de cNOS contribuye al incremento de HRA posterior a la respuesta temprana al alérgeno (4 a 6 horas) y recuperación de NOSi ayuda a revertir la HRA en la fase tardía (24 a 48 horas) en cobayos.³⁷ La exposición de lipopolisacáridos (LPS) inhibe la síntesis de NO y estos niveles reducidos coinciden con el periodo de incremento de HRA a histamina. Al contrario, 48 horas después de la exposición con LPS la respuesta broncoconstrictora a histamina se atenúa en asociación con niveles elevados de NO en el lavado broncoalveolar, sugiriendo que la síntesis sea por activación del gen iNOS por inducción de citocinas del NF-kB.

En estudios clínicos se encontró potenciación de la HRA con inhibidores de NOS, sugiriendo un rol protector del NO en asma leve, es más, se encontró que es mayor con bradicinina que con metacolina, indicando una respuesta específica a un determinado mediador y hay inhibición de NOS alterada en pacientes con asma grave, posiblemente debido a la reducción o ausencia de cNOS en la vía aérea de estos pacientes.³⁸ Se ha visto que el tratamiento de asma grave con altas dosis de corticoides son menos reactivos a bradicinina, pero que el tratamiento con inhibidor de NOS marcadamente incrementa la HRA a bradicinina como en pacientes con asma leve. Sugiriendo que altas dosis de corticoides renuevan la actividad de cNOS al suprimir la expresión de iNOS.

c) NO y vasos.

La liberación de NO de células endoteliales en la circulación pulmonar parece regular el tono basal y contrarresta la vasoconstricción hipóxica. La isoforma eNOS esta presente en sujetos saludables pero su expresión esta infrarregulada en pacientes con hipertensión pulmonar primaria, lo cual sugiere que la vasoconstricción pulmonar y el incremento de las capas musculares lisas en los vasos pulmonares, que son hallazgos de esta enfermedad y se deben a una expresión alterada de eNOS. Esta liberación alterada de NO, también se ha visto en EPOC y fibrosis quística.

El NO endógeno regula el tono vascular bronquial basal y el exógeno incrementa la vasodilatación bronquial después de la inhalación de humo de cigarrillo, la vasculatura de la vía aérea se dilata in vivo cuando los animales son ventilados con NO.

Se ha reportado resultados contradictorios sobre su papel en la permeabilidad vascular. Los inhibidores del NOS inhiben el paso de plasma por la microvasculatura de la vía aérea inducido por sustancia P y leucotrieno D4 pero no por histamina, sugiriendo que NO endógeno juega un papel importante en la extravasación de plasma inducida por algunos mediadores inflamatorios. Hay incremento de la extravasación de plasma inducido por sustancia P y Leucotrieno D4 por aumento de NO endógeno en la traquea y principalmente bronquios, pero no en la vía aérea intrapulmonar, sugiriendo que existe una regulación diferencial del flujo de proteínas en diferentes sitios anatómicos de la microvasculatura de la vía aérea, esto es de gran relevancia en el asma.³⁹

d) NO y secreciones de la vía aérea.

Inhibidores de NOS no alteran la secreción de mocos, pero inhiben la secreción inducida por metacolina y bradicinina de glándulas aisladas. Es más, el NO generado por dinitrato de isosorbide induce incremento de la secreción, sugiriendo que tiene una actividad estimuladora en la secreción de glándulas submucosas de la vía aérea.⁴⁰ Otros secretagogos como el factor activador de plaquetas, histamina y TNF alfa incrementan la liberación de mucina, efecto bloqueado por inhibidores de NOS, indicando que estos mediadores provocan la secreción de mucina por un mecanismo intracelular.

Inhibidores son capaces de enlentecer el movimiento ciliar al ser estimulados con isoporterenol, bradicinina y sustancia P, este efecto es completamente revertido con L-arginina, un precursor de NO. La motilidad ciliar es un importante mecanismo de defensa del epitelio de la vía aérea y esta exacerbada por el iNOS inducido de macrófagos alveolares.⁴¹

El transporte anormal de electrolitos produce cambios en el volumen y composición del líquido en la superficie de la vía aérea, como en la fibrosis quística. Recientemente se ha encontrado que la modulación de los canales iónicos es por NO, el cual activa tanto los canales aniónicos apicales y canales

de potasio basolateral vía dependiente de GMPc. Como tal, es un regulador fisiológico del movimiento iónico transepitelial y los cambios en su generación y actividad pueden jugar una parte importante en la patogénesis de enfermedades pulmonares caracterizados por hipersecreción.

Papel fisiopatológico.

a) NO e inflamación de la vía aérea.

La producción elevada de NO endógeno resulta en un efecto deletéreo a largo plazo y puede estar envuelto en la inflamación eosinofílica que caracteriza al asma. Se sugiere que juega un rol en los mecanismos inespecíficos de defensa en contra de patógenos y puede estar involucrado en la señalización entre macrófagos y linfocitos T (LT), los LT CD4 son importantes en la defensa del huésped y se han asociado con enfermedades inflamatorias crónicas. Los LT colaboradores (Th) son de dos tipos de acuerdo al patrón de citocinas secretadas cuando se activan, Th1 que liberan IL-2 e IFN-gama mientras que los Th2 producen IL-4, IL-5 e IL-10. Estos patrones de producción de citocinas determinan sus funciones, los primeros activan a los macrófagos a producir NO y matar patógenos y su inhibición por análogos de L-arginina resulta en incremento en la susceptibilidad a infecciones parasitarias como Leishmania, Mycobacteria y Plasmodium.

Los segundos secretan IL-4 importante para la producción de IgE, y para la expresión de moléculas de adhesión vascular (VCAM-1) las cuales son requeridas para la adhesión selectiva de eosinófilos. El balance entre linfocitos Th1 y Th2 determina el resultado de muchas enfermedades. Utilizando modelos murinos de linfocitos T clonados, la evidencia muestra que linfocitos Th1 pueden ser activados por antígenos específicos para producir grandes cantidades de NO. Es más, este puede inhibir la secreción de IL-2 e IFN-gama por linfocitos Th1 pero no sobre la producción de IL-4 por linfocitos Th2. De esta manera se ha visto que ejerce un efecto auto regulador sobre linfocitos Th1. Cuando es derivado de células epiteliales de la vía aérea, macrófagos, y linfocitos Th1 amplifica y perpetúa la respuesta inflamatoria mediada por linfocitos Th2, tanto en asma no alérgica y alérgica. Los iNOS pueden ser inducidos por células epiteliales por exposición de citocinas proinflamatorias como TNF-alfa e IL-1beta secretada por macrófagos, e IFN-gama secretado por linfocitos Th1. Es posible que infecciones virales puedan inducir iNOS en células epiteliales de la vía aérea, aumentando la secreción de NO durante las exacerbaciones de asma.

Las grandes cantidades generadas de NO en el epitelio de la vía aérea resulta en la supresión de linfocitos Th1 y una reducción concomitante en los niveles de IFN-gama, seguido de una proliferación de linfocitos Th2. Utilizando un modelo animal alérgico se ha mostrado que las manifestaciones de enfermedad de la vía aérea alérgica, incluyendo la infiltración de células inflamatorias (eosinófilos), ruptura microvascular y oclusión de la vía aérea, son marcadamente menos graves en las mutaciones NOS2 que en los no mutados.

Es interesante que la supresión de la inflamación alérgica se acompañe de un marcado incremento en la producción de IFN-gama por linfocitos Th1 pero no por reducción en la secreción de IL-4 o IL-5. La producción elevada de IFN-gama en ratones es responsable de la supresión de eosinófilos y enfermedad, como in vivo el depletar este factor restaura la patología alérgica en estos animales. Por ello, la inflamación alérgica promueve NOS2 en la vía aérea por infraregulación de la actividad de IFN-gama: lo cual sugiere que inhibidores de estas moléculas pueden representar una estrategia terapéutica para enfermedades alérgicas incluyendo asma.⁴²

Inhibe la liberación de IL-12 de macrófagos, inductor de linfocitos Th1, previniendo su excesiva amplificación, incrementa la secreción de IL-4 en clones de linfocitos Th2, sugiriendo que a pesar de la compleja red de retroalimentación regula su producción, este incremento podría desencadenar la expansión de linfocitos Th2 una vez que es generado.⁴³

b) NO y la proliferación del músculo liso de la vía aérea.

In Vitro, su administración exógena reduce la síntesis de DNA y proliferación de células del músculo liso mediado por vías dependientes e independientes de GMPc. Estos efectos antiproliferativos sobre el músculo liso de la vía aérea puede llegar a ser un aspecto importante en futuras estrategias para prevenir la remodelación en pacientes con asma crónica o EPOC

Ha sido detectado en la exhalación de animales y humanos por quimioluminiscencia, cuya especificidad esta confirmada por cromatografía de gas y espectroscopia de masa. Se han detectado niveles elevados en pacientes con asma, en particular, en atópicos.⁴⁴ Se origina de forma predominante en la vía aérea inferior, y esta relacionado con inflamación eosinofílica y un incremento de iNOS sensible a corticoides. Es mas, sus niveles pueden reflejar presencia de exacerbaciones e índice de gravedad, otras enfermedades con niveles altos son; bronquiectasias, rinitis, y rechazo agudo del injerto pulmonar. Por el contrario, bajos niveles exhalado se ha reportado en pacientes con fibrosis quística, fenotipo PiZZ relacionado con deficiencia de alfa-1 antitripsina e hipertensión pulmonar. Los datos en EPOC son inconsistentes. El factor más importante puede ser la gravedad de la enfermedad para niveles elevados reportados en pacientes hospitalizados con una exacerbación de EPOC, mientras que niveles medidos meses después no difirieron de los controles.

Varios estudios se han realizado para evaluar la relación de niveles, parámetros de función pulmonar y otros marcadores de inflamación de la vía aérea. En asma se correlaciona con eosinófilos en esputo e HRA a metacolina, como también la variabilidad del flujo pico, con inflamación de la vía aérea eosinofílica, determinado en lavado broncoalveolar, sangre y orina, aunque hay estudios que no lo demostraron.⁴⁵

Se ha utilizado para monitorizar exacerbaciones, tanto espontáneas como producidas por reducción del tratamiento antiinflamatorio. Se puede postular que el tratamiento de asma con corticoides reduce los niveles espirados de NO debido a los efectos reductores de esteroides sobre la inflamación de la vía aérea subyacente en asma y efectos inhibitorios sobre la expresión de iNOS, la reducción es dependiente de dosis, y dosis bajas son suficientes para reducir los niveles elevados en pacientes con asma leve, pero aún se pregunta si los niveles bajos de NO reflejan un óptimo control de la inflamación o solo sea debe a la expresión de iNOS.⁴⁶ En asma grave, el proceso inflamatorio puede superar esta sensibilidad a esteroides, resultando en niveles elevados aún durante el tratamiento con altas dosis de corticoides orales. Los antagonistas de leucotrienos reduce también los niveles, aunque este efecto no es tan preciso como el obtenido con esteroides. Sin embargo, el tratamiento con antagonistas de receptor de leucotrienos previniendo el incremento de niveles de NO exhalado durante el descenso de esteroides en pacientes con asma.⁴⁷

Obesidad en la niñez y adolescencia.

Se define como un Índice de Masa Corporal (IMC) por encima del percentil 95 para niños de la misma edad y sexo, que afecta al 15% de los niños y adolescentes en USA en el periodo 1999-2002. De acuerdo al NHANES la prevalencia se duplico entre 1976-80 y 1999-2002. Aumento mas en afroamericanos, mexicanos y nativos, mas que en otros grupos, igual en ambos sexos y en todos los niveles socio económicos, el riesgo es mayor en personas nacidas con un peso mayor a 4000g y con obesidad en los padres.⁴⁸ Medir el IMC representa el primer paso para el diagnóstico.

El termino de riesgo de sobrepeso se aplica en niños o adolescentes con un IMC entre el percentil 85-95. Un IMC mayor o cerca al percentil 95 es altamente específico para incremento de grasa corporal. El cruzar una línea percentil es indicador temprano de riesgo. Aunque, debe ser considerado en el contexto de edad y patrones de crecimiento de la familia. En niños que nacieron pequeños pero genéticamente programados para ser altos este ajuste ocurre en los 5 primeros años de vida. Menos del 5% de los niños cruzan dos percentiles en las tablas de crecimiento del CDC después de los 4 años de edad. Quienes cruzan estas percentiles pueden tener un riesgo mayor de obesidad. Junto al incremento de la grasa visceral incrementa la probabilidad de morbilidad en adultos y jóvenes. La historia familiar de obesidad, patrones dietéticos y de actividad deberían ser rutinariamente evaluados. Los signos y síntomas que están mas frecuentemente asociados a obesidad con problemas congénitos o endocrinos son el hipogonadismo, talla baja, hallazgos dismórficos, anormalidad somática y retardo mental.⁴⁹

La experiencia clínica en centros de tercer nivel sugiere que anomalías endocrinas identificables o síndromes como causa de obesidad, representa menos del 1% en casos de obesidad.

En el laboratorio se presentan niveles elevados de enzimas hepáticas, que podría indicar esteatosis hepática, ocurre en el 10% de niños y adolescentes con obesidad. La Asociación americana de Diabetes recomienda pruebas rápidas de glucosa en niños mayores de 10 años con un IMC igual o mayor a la percentil 85 y dos de los siguientes factores de riesgo: Una historia familiar de diabetes tipo 2 en el primer y segundo grado de parentesco, raza no blanca y condiciones asociadas con resistencia a la insulina (acantosis nigricans, hipertensión, dislipidemias u ovarios poliquísticos) es incierto cuantos niños y adolescentes presentan estos criterios y el costo efectividad de ello es desconocido.

El tratamiento se basa en el mantenimiento de peso para niños entre 2 a 6 años quienes tienen un IMC cerca o más del 95 y sin complicaciones. Perder peso está indicado para niños de 2 a 6 años con complicaciones relacionadas al peso y niños mayores con IMC más del 95 con o sin complicaciones. Hay condiciones que requieren intervención urgente como el pseudo tumor cerebral, apnea del sueño, anomalías ortopédicas, diabetes tipo 2 e hipertensión, complicaciones psicológicas y sociales, riesgo de enfermedad asociada con obesidad posterior sugerida por la historia familiar, diabetes tipo 2, o enfermedad cardiovascular en el primer o segundo grado de parentesco. La unión familiar es básica para la terapia, si el niño o los padres o cuidadores no están motivados, cualquier tratamiento es probable que falle. Bajo tales circunstancias, se debe reforzar el comportamiento positivo, la motivación no debe ser vista como un todo o nada sino un proceso dinámico que se puede influir con el tiempo. Por ejemplo hablar acerca de trabajo escolar, tiempo en familia o exposición a sexo y violencia por TV pueden ser un poderoso motivador de controlar el tiempo televisión más que la obesidad.⁵⁰

Parte importante del tratamiento es la reducción de calorías y grasa, adherencia a una dieta pobre en hidratos de carbono, la integración de actividad física de forma diaria, participación en actividad física estructurada y vigorosa y la reducción de comportamiento sedentario.

Si los cambios en la dieta y nivel de actividad producen un déficit neto de energía, se puede perder peso, un retardo en la ganancia de peso puede ser alcanzado. La monitorización de aumentos o disminuciones de peso permiten a los padres trabajar juntos para alcanzar dichos objetivos en términos de dieta y actividad.

En el tratamiento involucra mantener el crecimiento y desarrollo normal con reducciones concurrentes en peso y grasa corporal. Para la mayoría de los niños con sobrepeso el objetivo es mantenerse con un peso. El objetivo a largo plazo debería ser un IMC por debajo de la percentil 85 para edad y sexo, y puede ser evaluado de acuerdo a mejoras en enfermedades coexistentes como hiperlipidemia, hiperinsulinemia, acantosis nigricans e hipertensión.⁵¹

Estudios en escolares basados en reducir el tiempo total de TV o pantalla y un incremento en la frecuencia e intensidad de actividad física son

efectivos. La lactancia y actividad física reducen la ganancia de peso o la prevención de enfermedad coexistentes con obesidad. Hay múltiples formas de modificar los hábitos alimenticios como la disminución del consumo de bebidas endulzadas, reducción de porciones en las horas de comidas y un incremento en el consumo de frutas y vegetales.

Obesidad e hiperreactividad de la vía aérea (HRA).

La obesidad aparece como un factor de riesgo para la HRA como también para asma. Litonjua y cols.⁵² reportan asociación entre IMC e inicio de HRA en un estudio longitudinal en sujetos masculinos. Aunque esta asociación no ha sido observada en otros estudios epidemiológicos, es digno de mencionar que ratones obesos demuestran HRA innata.

Obesidad y función pulmonar.

El porque se puede alterar la función pulmonar en el obeso, obedece a tres postulados; el primero es mecánico, donde factores estáticos y dinámicos juegan un rol:

- Factores estáticos, el incremento de la pared abdominal y torácica causa una menor capacidad residual funcional. Dado que el volumen pulmonar es el determinante mayor de la vía aérea, los cambios relacionados con obesidad en la capacidad funcional residual afecta al músculo liso y por ende existe un acortamiento excesivo de la fibra muscular.
- Factores dinámicos; la acción respiratoria espontánea impone un tipo de respiración en el músculo liso que pueden ser más potente que los agentes broncodilatadores conocidos. El individuo obeso respira a altas frecuencias, pero con un volumen respiratorio menor comparado con el individuo normal y como resultado, este potente mecanismo broncodilatador se compromete y predispone a un incremento de la HRA.⁵³

Una segunda posible explicación, corresponde a diferencias en la anatomía de pulmones y vía aérea, en niños el componente mecánico de la obesidad podría afectar el crecimiento pulmonar, seguido de reducción de la función pulmonar, factor de riesgo para asma. Así mismo podría acelerar la remodelación de la vía aérea con cada exacerbación de asma. En sujetos asmáticos obesos el perder peso mejora la función pulmonar, pero la HRA permanece igual, esto concuerda con el rol de la obesidad en la remodelación de la vía aérea, la cual a menudo no es reversible.⁵⁴

Y una tercera posibilidad involucra un microambiente inflamatorio. En obesos, aun en la ausencia de un proceso inflamatorio, hay inflamación crónica sistémica de bajo grado, caracterizada por un incremento en leucocitos circulantes y concentraciones séricas aumentadas de citocinas, receptor de citocinas, quimiocinas y proteínas de fase aguda. El origen de esta inflamación parece ser, al menos en parte, el tejido adiposo. En el músculo liso de la vía

aérea, la obesidad se relaciona con un incremento de TNF alfa: receptores de TNF se expresan en el músculo liso y TNF alfa exógeno *in vitro* incrementa la contractilidad de la vía aérea de ratones a una variedad de agonistas contráctiles.⁵⁵

Obesidad y estado proinflamatorio.⁵⁶

El estado de obeso esta caracterizado por la llamada inflamación sistémica de bajo grado. De hecho, marcadores inflamatorios, como PCR e IL6, están incrementados en obesos comparado con sujetos sanos, aunque no en la misma extensión observada en la condición clásica inflamatoria. La presencia de inflamación sistémica ha sido ligada a un riesgo mayor para desarrollar enfermedad cardiovascular y diabetes tipo II, particularmente en el caso de adiposidad visceral.

a) Interacciones entre adipositos y células inflamatorias inmunes.

El tejido adiposo puede ser dividido en 2 tipos: blanco y pardo.

El blanco representa la mayoría en el organismo y es el sitio de almacenamiento de energía, mientras que el pardo es de termogénesis sin escalofríos, particularmente en mamíferos pequeños y neonatos. El tejido blanco esta compuesto de muchas células, siendo los adipositos los más abundantes. Dentro de los otros tipos están incluidos en el estroma de los cuales el 10% son CD14 CD31 macrófagos. El número de macrófagos presentes en el tejido blanco esta directamente correlacionado con adiposidad y con el tamaño del adiposito en humanos y ratones, sin diferencias significativas entre el tejido adiposo visceral y subcutáneo. Aunque se han reportado claras similitudes entre macrófagos, adipositos y preadipocitos, que pueden diferenciarse en macrófagos, estos 2 tipos celulares son distintos.

Niveles circulantes de TNF alfa e IL6 están directamente correlacionados con adiposidad y resistencia a la insulina. Los macrófagos son la mayor fuente de TNF alfa producida por el tejido adiposo blanco y contribuyen al 50% de IL6 derivada de tejido adiposo blanco.

b) Interacciones entre el tejido adiposo y el linfocito.⁵⁷

Aunque los linfocitos no constituyen el tejido adiposo blanco, a menudo hay una estrecha proximidad entre linfocitos y tejido adiposo blanco, particularmente en ganglios linfáticos, los cuales generalmente están cubiertos por un tejido adiposo pericapsular. Hay datos indican la presencia de 2 vías paracrinas interaccionando entre linfocitos y adyacentes adipositos. La leptina es un importante modulador de la función del LT, la evaluación de la interacción entre linfocitos y adipositos aun no ha recibido completa atención.

En obesidad humana y murina, hay cambios en las concentraciones séricas de hormonas y otros factores derivados del tejido adiposo que podría afectar la función de la vía aérea y desencadenar HRA. Estos factores son leptina, adiponectina e inhibidor del plasminógeno activado (PAI-1).

La hormona leptina actúa en el hipotálamo induciendo saciedad e incremento del metabolismo. Además de sus efectos en la regulación del peso corporal, también es proinflamatoria. Las células hematopoyéticas expresan receptores de leptina, mientras que los monocitos y macrófagos responden a ella con incremento de citocinas. Los linfocitos T CD4 expuestos a leptina demuestran respuesta proliferativa incrementada a mitógenos de Linfocitos T. Acoplado con el incremento de leptina observada en la obesidad, sus efectos proinflamatorios sugieren que esta hormona podría ser relevante en asma. En este contexto, es interesante notar que aun después de controlar el IMC, la leptina está incrementada en asmáticos varones comparado con niños no asmáticos. No se observa HRA en ratones sanos en los cuales se induce un incremento de dos veces más los niveles de leptina a través de infusión constante mediante un implante SC, aunque la falta del efecto podría deberse a la dosis utilizada. Sin embargo esta dosis fue suficiente para incrementar la reactividad de la vía aérea inducida por reto de ovoalbumina en ratones sensibilizados. El incremento de la reactividad de la vía aérea inducida por Ovoalbumina ocurrió en ausencia de algún efecto en el flujo de células inflamatorias o expresión de Th2 pero fue asociada con un incremento en la producción de IgE inducida por Ovoalbumina en el ratón tratado con leptina. Es posible que la habilidad de la leptina de aumentar la HRA inducida por Ovoalbumina es el resultado de un incremento de mastocitos activados.⁵⁸ La adiponectina es producto del gen más abundante del tejido adiposo, al contrario de muchas otras adipocinas, los niveles de adiponectina disminuyen con la obesidad y sus niveles se elevan con la pérdida de peso. Hay razón para creer que las concentraciones séricas de adiponectina observadas en los ratones obesos contribuyen a la predisposición de HRA en esta población. Aunque los efectos primarios de adiponectina son antiinflamatorios. Por ejemplo en células endoteliales, reduce la señalización TNF-alfa NF- κ B y reduce la expresión de ICAM; VCAM y selectina E. De forma importante inhibe la proliferación y migración de células de músculo liso vascular estimuladas por mitógenos. No sabemos si la adiponectina tiene efectos similares en el músculo liso, pero incrementa la masa muscular en la vía aérea como un hallazgo importante en el asma, y hay expresión de receptores AdipoR1 AdipoR2.

El PAI-1 es el inhibidor endógeno del plasminógeno tisular activado más importante junto con el uroplasminógeno activado, mayor inhibidor fisiológico de fibrinólisis y de activación de plasmina. Los adipositos producen y secretan PAI-1, aumentando en la obesidad y disminuye cuando se baja de peso. Su elevación podría tener efectos en la vía aérea y predisponer hiperreactividad. Así mismo PAI-1 es inducido en los pulmones después de la exposición de lipopolisacáridos (LPS), aerolizado y parece ser requerida para la remodelación de la vía aérea e HRA inducida por LPS en ratones, es requerida para

incrementar el depósito de colágeno y fibrina que ocurre en la vía aérea posterior a la sensibilización y reto crónico.

Asma.

Se define como la obstrucción reversible de la vía aérea de pequeño y gran calibre debido a diversos estímulos inmunitarios y no inmunitarios, caracterizado por episodios recurrentes de tos, opresión torácica, disnea y respiración dificultosa.

Representa la principal causa de consulta en los servicios de urgencias pediátricas, ingresos hospitalarios y ausentismo escolar.

Desde el punto de vista fisiopatológico, se caracteriza por edema e inflamación de la mucosa, contractura del músculo liso e hipersecreción de moco.

Las pruebas de función respiratorias se han desarrollado a través de diversos métodos específicos, con los cuales se evalúa objetivamente el funcionamiento del aparato respiratorio.

Estos procedimientos muestran tempranamente anomalías propias de la enfermedad, inclusive antes del inicio de síntomas o la presencia de hallazgos radiológicos siendo de gran utilidad para identificar y localizar el trastorno funcional.

Las pruebas de función mecánica constituyen una herramienta importante en el diagnóstico y seguimiento del asma, proveen información objetiva acerca de las condiciones del funcionamiento pulmonar.

Antecedentes:

Los cambios inflamatorios de la obesidad (sistémicos y locales) producen alteraciones a nivel pulmonar, son detectables en etapas tempranas por la determinación de Oxido Nítrico Exhalado (INOX). Algunos estudios han tratado de establecer la relación entre IMC e NO. Baraldi y col.⁵⁹ determinaron que el IMC se relaciona con el NO y que esta variable no cambia después de ajustar la edad y el sexo. Sin embargo no encontró asociación alguna con los cambios en la función pulmonar (volúmenes pulmonares).

Sin embargo hasta la fecha esta relación es contradictoria, el estudio de Leung y col.⁶⁰ concluye que los niveles de NO y de leucotrieno B4 se encuentran aumentados en los sujetos asmáticos, pero que estos marcadores inflamatorios no difieren entre los obesos y no obesos con asma.

En febrero del 2005 De Winter-deGroot y col.⁶¹ postulan que la obesidad podría sobre regular los mecanismos inflamatorios pulmonares. Mostraron que INOX estuvo asociado con el IMC y concluyó que el INOX podría ser el ligando entre obesidad y asma. Frente a esta hipótesis surgen otras contradictorias en las cuales no encuentran asociación entre obesidad y asma. No encontrándose asociación entre IMC y INOX en sujetos obesos no asmáticos. Tampoco existió asociación con el VEF1, edad y sexo. El grupo obeso asmático presentó niveles de INOX de 37,8 ppb versus los controles no asmáticos de 23,6 ppb. No encontrándose relación entre niveles de INOX y obesidad. Se postula que pacientes con asma tienen inflamación que enmascara el estado proinflamatorio de la obesidad.

Planteamiento del problema

Considerando que las patologías más frecuentes entre los adolescentes son: asma y obesidad. Los estudios de ISAAC (Internacional Study of Asthma and Allergy in Childhood), han determinado que la prevalencia de asma en el grupo de 13-14 años en México es del 9.9%.^{62, 63} y de obesidad alrededor del 20%. Además, asma representa la décima causa de egresos hospitalarios en adolescentes. Y la obesidad esta cerca del 30%.⁶⁴⁻⁶⁵

Con el fin de establecer la relación causal precisa entre las dos enfermedades y si existe un componente inflamatorio asociado entre sujetos obesos asmáticos y no asmáticos. Dado que el NO mide de forma indirecta el componente inflamatorio eosinofílico pulmonar. El propósito de este estudio es determinar si existe compromiso inflamatorio pulmonar tipo eosinófilico en sujetos con asma y obesidad que en los que no presentan y si existe en sujetos obesos con asma este patrón inflamatorio.

Es necesario también definir si estas patologías son consecuencia de una u otra enfermedad, ser enfermedades coexistentes y que sus efectos inflamatorios se suman y causan mayor daño pulmonar.

Justificación:

El estudio del NO es prometedor en niños, ya que es de fácil de realizar y no invasivo, provee datos relevantes en cuanto al manejo, seguimiento y control de asma.

El esclarecer un patrón inflamatorio diferente en sujetos obesos con asma y obesos sin asma, ayudaría al clínico a encarar el tratamiento de forma diferente entre grupos y coadyuvaría a dilucidar si realmente el componente proinflamatorio del sujeto obeso predispone a desarrollar asma.

Objetivos

1. Determinar y comparar los niveles de Oxido Nítrico exhalado del adolescente obeso con asma y sin asma.
2. Determinar y comparar la inflamación a nivel pulmonar (por medio de NO) en adolescentes obesos con y sin asma persistente.

Hipótesis

El adolescente obeso asmático, tiene mayor inflamación pulmonar que el obeso no asmático.

Material y métodos

Estudio transversal en un grupo de adolescentes obesos con y sin asma con un índice de masa corporal arriba de la percentila 95% según Cole,⁶⁶ que serán evaluados con mediciones con oxido nítrico exhalado.

De acuerdo a los criterios de selección se reclutaran 108 pacientes de 10 a 16 años, sin importar el sexo, divididos en dos grupos: obesos sin asma y con asma. En el grupo de asmáticos habrá un grupo que este utilizando esteroides inhalados y otro que no los use. Esto puede ser posible y éticamente es correcto ya que las guías internacionales del manejo del asma permiten que este grupo de pacientes con asma leve persistente puedan tener o no esteroides de tratamientos controladores más el tratamiento de rescate con beta dos de acción corta⁶⁷.

Oxido nítrico exhalado.

La medición de la cantidad de oxido nítrico se realiza en un aparato ECO medics, modelo CLD88, Originario de Michigan, EU. El NO se mide por quimioluminiscencia. La técnica esta estandarizada por la Sociedad Americana del Tórax.

El sujeto inhala el oxido nítrico (NO) libre liberado por una cámara de NO Scruber Denox 88, Suiza. Después de inhalar se realizan las exhalaciones a una presión de 5-20 cm H₂O, evitando la contaminación de NO por las fosas nasales. La exhalación se mantiene con una tasa de flujo entre 30 a 50 mL/segundo hasta tener una meseta de 2 segundos⁶⁸ y un total espirado de 4 segundos. La maniobra de exhalación se repetirá hasta 3 veces por intento por 2 segundos y hasta obtener un nivel de concordancia del 5%.⁶⁹

El equipo que será empleado en esta prueba, pertenece al Instituto Nacional de Salud Pública, se encuentra en el área designada para estudios colaborativos con dicho instituto y participan activamente en este estudio.

Criterios de inclusión

- Sujetos de 10 a 16 años de edad, masculinos y femeninos.
- Con obesidad exógena, de acuerdo a Cole.
- Que tengan el diagnóstico médico de asma o síntomas como tos, disnea y sibilancias de 3 meses de evolución o por lo menos 2 episodios de broncoespasmo en los últimos 12 meses.

- Obesos de masculinos y femenino sin asma y sin síntomas respiratorios en los últimos 12 meses.
- Que deseen participar en el estudio y que firmen sus padres el consentimiento informado y el paciente el asentimiento.

Criterios de exclusión

- Sujetos que padezcan otra patología diferente a las mencionadas, ya sean crónicas o agudas.
- Pacientes con síndromes somatodismórficos (Síndrome de Prader Willi, Lawrence, Moon-Biedl, Carpenter, Summit, Cohen).
- Que no asistan a sus citas para valoración (antropometría y exploración física).
- Que deseen abandonar el estudio de manera voluntaria.
- Tanner avanzado, caracterizado por ser mayor a la percentila 97 para edad y sexo basado en los estándares publicados.

Criterios de eliminación.

- Uso de corticoides orales los últimos 3 meses.

Cálculo del tamaño de muestra

A partir de los datos de Balagopal,⁷⁰ el cambio en los niveles de proteína C reactiva en el grupo de la intervención fue de 3.08 ± 2.04 mg/l a 2.4 ± 2.04 mg/l.

Empleando el programa Primer of Biostatistic Versión 4.2 (McGraw Hill, Nueva York, EU) el tamaño de muestra fue de 37 pacientes por grupo para una prueba de t de Student pareada al que se deben añadir otros 13 pacientes para compensar las deserciones del estudio. Sin embargo con base a la tasa de éxito (pérdida de peso $\geq 5\%$) de estudios previos⁷¹, solo el 34% tienen cambios notables, por lo que se deben incluir 108 sujetos por grupo.

Definiciones operacionales

Variables independientes.

Asma.

Enfermedad inflamatoria cónica de la vía aérea, caracterizada por hiperreactividad y obstrucción del flujo aéreo, regularmente reversible; manifestada por tos, sibilancias y disnea.

Obesidad.

Es el exceso de grasa corporal. Cuando el IMC sea $>$ o igual a la percentila 95% para su edad se considera al sujeto obeso.⁷² La tabla de percentiles empleadas son las propuestas por Cole.

Oxido nítrico exhalado.

Es la medición de la cantidad de oxido nítrico, que exhala un paciente al someterse a la prueba.

VARIABLES DEPENDIENTES

Peso.

El peso mide la masa, se realiza en una báscula de pie y palanca, marca health o meter modelo 402 KL, calibrada el día 01 de abril del 2005. Que permita una lectura mínima de 100gr. Estos indicadores deben de tomarse de con ropa ligera, sin zapatos, de pie, los mismos días de la semana y con una diferencia de +/- 1 hora.

Talla.

Mide el tamaño de los segmentos. La medición se realiza con un estadímetro Holtain Limited Crymych, Dyfec (Gran Bretaña), anotando en centímetros (cm) el resultado. El sujeto debe estar descalzo sobre una superficie plana, haciendo ángulo recto con la barra vertical del estadímetro. La cabeza debe estar posicionada en el plano Frankfurt horizontal, (viendo directamente hacia el frente, con el borde orbitario inferior en el mismo plano que el conducto auditivo externo). Los brazos deben colgar libremente, las manos deben colocarse sobre la parte lateral externa del muslo. Los talones deben estar juntos con los bordes internos medios de los pies se formará un ángulo de 60°. Finalmente se pide al sujeto que inhale antes de deslizar la cabecera sobre el máximo punto superior de la cabeza del paciente.

IMC.

Es un indicador para medir de manera indirecta la grasa corporal. Se calcula al dividir el peso entre la talla al cuadrado. (Peso/Talla²)

Análisis estadístico.

Se estimaran medidas de tendencia central y dispersión; la comparación de las medias y proporciones se realizará con prueba de *t* student y Ji cuadrada, ANOVA para comparación de medias de grupo. Los datos serán analizados por Epi Info Versión 3.2 Enero 2004 (CDC, EEUU)

Cronograma

1ª Visita

El paciente es captado por consulta externa de Alergia o Clínica de Obesidad. Una vez que se corroboren criterios de inclusión o exclusión se comentará sobre el estudio, los objetivos y los beneficios posibles.

Firma de consentimiento informado y asentimiento por parte del paciente.

Se realiza una Historia Clínica completa por un médico especialista, toma de signos vitales (Frecuencia cardiaca, Frecuencia Respiratoria, Tensión Arterial), y medición de peso, talla e índice de masa corporal, pliegues cutáneos, diámetro abdominal, relación cintura cadera).

2da Visita (7 + 2 días):

Se realiza la prueba para medir el oxido nítrico exhalado. (área de investigación en Alergia y asma en conjunto con el Instituto Nacional de Salud Pública).

Consideraciones éticas

El estudio se hará bajo las condiciones enmarcadas de la declaración de Helsinki y dadas las características del mismo se considera que es de riesgo menor al mínimo.⁷³ Y fue aceptado por los comités de de ética, bioseguridad e investigación de la institución como parte del protocolo HIM 2005-043

Metas

1) Conocer y determinar si hay diferencias en obesos con y sin asma en el grado de inflamación pulmonar y datos antropométricos diversos.

Resultados

Se hizo un corte para fines de esta tesis con la realización de Oxido Nítrico exhalado en 87 adolescentes entre 11 a 17 años con una media de 12 años; 41 adolescentes varones (47,1%) y 46 adolescentes mujeres (52,9%).

Todos los procedimientos fueron realizados según las normas especificadas en el protocolo, y se tomo como resultado efectivo el promedio de tres esfuerzos repetibles.

Los adolescentes presentaron un IMC de 28,8 kg/m² (22,3 a 31,3). De ellos 48 pacientes presentaban Asma (55,2%) y 39 no lo presentaban (44,8%). De los pacientes asmáticos que se encontraban con medicación fueron 35 pacientes (72,9%) y sin medicación 13 pacientes (27,1%). De los que recibieron medicación 19 pacientes (39,6%) recibieron salbutamol, 4 pacientes (8,3%) Inmunoterapia y 12 pacientes (25%) corticoides inhalados.

Presentaron INOX en promedio de 10 ± 8,08 ppb. Los 87 pacientes realizaron la prueba de acuerdo a las normas establecidas, con esfuerzos respiratorios en promedio 35 ml/segundo con un esfuerzo de 2 a 3 segundos, con un nivel de concordancia entre los tres esfuerzos de menos del 5%.

No hubo diferencias estadísticas cuando se comparó ambos grupos. Ver Tabla No. 1.

Tabla No.1

Resultados de pacientes obesos con y sin asma.

	Asmáticos (n=48)		No Asmáticos (n=39)		Valor de p*
	Media	DE	Media	DE	
Edad (años)	12.46	± 1.57	12.19	± 1.85	NS
IMC(kg/m ²)	27,75	± 2,47	33,26	± 5.58	NS
Peso (Kg)	76.11	± 14,7	68.5	± 13.6	NS
Talla (cm)	155.7	± 7,85	154.58	± 9.1	NS
VEF1 (L/s)	2.96	± 0,57	2.99	± 0,59	NS
INOX (ppb)	11,58	± 8,45	11,2	± 7.71	NS
IL12 (mcg/dL)	59,21	± 20,83	59,09	± 21.20	NS

* NS = No significativo.

Del grupo con asma 25% de ellos fueron clasificados como asma leve persistente y el resto considerado como leve intermitente. Se consideró de acuerdo a la calidad de síntomas que presentaba.

Cuando se analizó el INOX y IL12, existió una correlación positiva entre ellos con una p de 0,0000.

Al clasificar los valores de INOX como normal cuando el resultado es de ≤ 10 ppb y anormal cuando es > 10 ppb. Según los resultados obtenidos en una población asmática y normal.⁷⁴ Obtuvimos que 25 pacientes (52,1%) presentaron INOX anormal en pacientes obesos con asma y 19 pacientes (48,7%) en sujetos obesos sin asma. No obtuvimos diferencias estadísticas significativas entre obesos con asma y sin asma ($p = 0,31$). Cuando se asocia nivel de INOX y tratamiento solo con Inmunoterapia se encuentra resultado significativo, tanto sí se analiza por separado y de forma conjunta. Ver tabla No.2.

Tabla No.2

INOX y tratamiento.

	INOX ≤ 10 ppb	INOX >10 ppb	INOX ppb		Valor de p*
	No. pacientes	No. Pacientes	Media	DE	
Obesos con asma	23	25	11,85	$\pm 8,45$	NS
Sin medicación	7	6	11,4	$\pm 8,44$	NS
Salbutamol	8	11	12,24	$\pm 9,6$	NS
Corticoide inhalado	4	8	12,9	$\pm 7,26$	NS
Inmunoterapia*	4	0	4,9	$\pm 3,93$	0,04
Obesos sin asma	20	19	11,24	$\pm 7,71$	NS

* NS = No significativo.

Discusión

El propósito de este estudio fue establecer un mecanismo inflamatorio causal diferente entre sujetos obesos con o sin asma, medido por Oxido Nítrico exhalado. Este último se encuentra elevado en pacientes con asma leve a moderada⁷⁵, sin embargo en nuestro estudio se encontraron niveles de Oxido Nítrico bajos en promedio 10,8 ppb no pudiendo correlacionarse con los niveles asociados a eosinofilia, IgE y función pulmonar descrito por Saito y cols.⁷⁶ de 37,2 ppb. Seguramente se deba al tamaño de la muestra y la clasificación de asma donde el 75% de los sujetos obesos asmáticos fueron clasificados como Asma Leve Intermittente. Lo último si correlaciona con los valores encontrados en sujetos no atópicos sin síntomas del mismo estudio de 15,1 ppb.

No creemos que nuestros resultados hayan sido afectados por el uso de esteroides, ya que excluyendo a los 12 sujetos del análisis, este no cambia. Llama la atención los valores bajos obtenidos de Oxido Nítrico, ya que se describe valores de 25 ppb como valor predictivo positivo y negativo del 100% a 80% respectivamente para diagnóstico de asma y valores en promedio por encima de 16,9 ppb que se asocian a inflamación de la vía aérea eosinofílica.
77-78

Con los niveles tan similares de Oxido Nítrico exhalado entre ambos grupos, podríamos sugerir que Oxido Nítrico interviene muy poco en el estado pro inflamatorio del obeso, donde no existe disminución de la función pulmonar y tampoco se relaciona a un trastorno mecánico que afecta dicha función. Como se muestra al comparar el VEF1 de ambos grupos con el IMC, mostrando una correlación positiva.⁷⁹ Tampoco pudimos encontrar asociación de IMC y sexo femenino como se había descrito en dos estudios previos, a los cuales hicimos referencia.^{77,84}

Uno de los hallazgos del estudio, fue que aquellos sujetos obesos asmáticos recibiendo Inmunoterapia presentaban los niveles mas bajos de Oxido Nítrico comparado con el resto de la muestra ($p = 0,04$), sugiriendo que la inmunoterapia modula un proceso inflamatorio existente en individuos obesos asmáticos.

Este hallazgo podría indicar que el INOX podría ser utilizado para monitorizar la efectividad de la inmunoterapia, dado que estos 4 pacientes se encontraban en fase de mantenimiento de inmunoterapia convencional subcutánea. En otro estudio se observó la caída del INOX a la décima segunda semana de inmunoterapia en relación la nivel basal pre inmunoterapia, con valores por debajo de 8,9 ppb versus 12,6 ppb al ingreso al estudio ($p = 0,038$).⁸⁰

Se necesitan más estudios y una mayor muestra y seguimiento de estos pacientes para valorar el uso de INOX para medir la efectividad de inmunoterapia.

Si bien existe un nivel de Óxido Nítrico exhalado que debe considerarse como normal (<10 ppb), este nivel puede ser mantenido por muchos tipos celulares de una manera fisiológica; células endoteliales, epiteliales, neuronas y plaquetas, que expresan la Oxido Nítrico Sintasa de forma constitutiva. Pero la expresión de de Oxido Nítrico sintasa inducible obedece a un estímulo a nivel de macrófagos, neutrófilos, células de músculo liso vascular y endotelial y puede ser inducida por citocinas proinflamatorias como TNF alfa, IFNgamma e Interleucina 1.⁸¹ De acuerdo a nuestros resultados observamos que a mayor nivel de Oxido Nítrico exhalado mayor el nivel de IL12, pero sin diferencia significativa entre grupos; siendo IL12 una citocina proinflamatoria, que sugiere la existencia de un estado proinflamatorio; donde Oxido Nítrico actúa como inhibidor de macrófagos que producen IL12.

Otra explicación de la elevación sutil del Oxido Nítrico exhalado en algunos individuos y otros no de ambos grupos, es del efecto broncoprotector que tiene el Oxido Nítrico frente a un estímulo broncoconstrictor.

El efecto dual del Oxido Nítrico complica su análisis cuando se encuentra en niveles intermedios como es el caso de casi la mitad de nuestros pacientes. En la otra mitad podríamos indicar que no existe un proceso inflamatorio subyacente como ha sido descrito por otros estudios.

En este estudio no hemos podido establecer un estado inflamatorio en sujetos obesos sin asma, y exacerbado mucho más aún por asma al ser evaluados mediante Oxido Nítrico. Contraponiéndose a las hipótesis de relación asma y obesidad sugeridas por ejemplo con la relación asma y leptina, donde también pudo encontrarse un nexo entre inflamación y asma pero solo en varones.⁸² Lo que sugiere que el proceso inflamatorio en un obeso es ineficaz de alterar otro estado inflamatorio como asma. A pesar de la relación de un estado proinflamatorio en obesos,⁸³ este no ha podido ser demostrado en este estudio, talvez, por el número de muestra o el grado de Obesidad.

Hemos encontrado hallazgos similares a los reportados por Leung y cols donde los marcadores inflamatorios como INOX no difirieron entre niños obesos y no obesos con asma⁸⁴; si bien no tenemos una población control, los niveles bajos encontrados soportan esta aseveración. Tampoco hemos encontrado una asociación entre IMC e INOX en sujetos con asma, hallazgos similares a lo reportado por Kazaks y cols.⁸⁵

Conclusión.

Creemos que asma y obesidad son dos entidades separadas que coexisten en un individuo, pero hasta el momento no podemos aseverar que una de ellas desencadena la otra. El complejo estado inflamatorio de asma no se ve afectado por el estado proinflamatorio del obeso, tal vez porque este sea muy leve. Se necesitan más estudios para definir la situación de estas dos entidades patológicas.

El uso de INOX para monitorizar la efectividad de inmunoterapia, deberá ser motivo de debate y estudios en población no obesa.

Referencias.

- ¹ Del Rio-BE, Velázquez-O, Sánchez-C, Lara-A, Berber-A, et al. The high prevalence of overweight and obesity in Mexican children. *Obes res* 2004; 12:215-233.
- ² Von-Mutius E, Schwartz J, Neas LM, et al. Relation of body mass index to asthma and atopy in children: The National Health and Nutrition Examination Study III. *Thorax* 2001; 56: 835-8.
- ³ Lazarus-R, Colditz-G, Berkey-C, Speizer-F. Effects of body fat on ventilatory function in children and adolescents: cross sectional findings from a random population sample of school children. *Pediatr Pulmonol* 1997; 24 :187-194.
- ⁴ Xu-Järvelein, Pakkanen-J. Body build and atopy. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105: 393-394.
- ⁵ Luder E, Melnik TA, Dimaio M. Association of being overweight with greater asthma symptoms in inner city black and Hispanic children. *J Pediatr* 1998; 132: 699-703.
- ⁶ Von Mutius E, Schwartz J, Neas LM, et al. Relation of body mass index to asthma and atopy in children: the National Health and Nutrition Examination Study III. *Thorax* 2001; 56: 835-8.
- ⁷ To-T, Vidykhan-T, Dell-S, Tassoudji-M, Harris-J. Is obesity associated with asthma in young children? *J pediatr* 2004;144:162-8.
- ⁸ Shaheen-S, Sterne-J, Montgomery-S, Azima-H. Birth weight, body mass index and asthma in adults. *Thorax* 1999;54:396:402.
- ⁹ Jarvis-D, Chinn-S, Potts-J, Burney-P. On behalf of the European Community respiratory health Survey. Association of body mass index with respiratory symptoms and atopy. Results for ECHRS. *Clin Exp Allergy* 2002;32:831-837.
- ¹⁰ Gold D, Damokosh A, Dockery D, et.al. Body-Mass Index as a Predictor of Incident Asthma in a prospective cohort of children. *Pediatr Pulmonol* 2003;36:514-21.
- ¹¹ Fried S, Bunkin D, Greenberg A. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:847-50.
- ¹² Visser-M, Bouter-L, Mcquillan-G, Wener-M, Harris-T. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 1999;282(22)2131-2135.
- ¹³ Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Low-grade systemic inflammation in overweight children. *Pediatrics* 2001;107: E13.
- ¹⁴ Ahima- R.S, Flier-J.S. Leptin. *Annu. Rev. Physiol* 2000;62:413-437.
- ¹⁵ Raso GM, Pacilio M, Esposito E, Coppola A, Di Carlo R, Meli R. Leptin potentiates IFN-gamma-induced expression of nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in murine macrophage J774A.1. *Br J Pharmacol* 2002; 137: 799-804
- ¹⁶ Saga R. Relationship between bronchial hyperresponsiveness and development of asthma in wheezy infants. *Chest* 2001; 119(3): 685-90
- ¹⁷ Zeider M, Kleerup E, Tashkin D. Exhaled Nitric oxide in the assessment of asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2003; 10: 31-6.

- ¹⁸ Wilson-N, James-A, Uasuf-C, et al. Asthma severity and inflammation markers in children. *Pediatr Allergy Immunol* 2001; 12 :125-32.
- ¹⁹ Kissonn-N, Duckworth-L, Murphy-S, Silkoff-P. Exhaled nitric oxide measurements in childhood asthma: techniques and interpretation. *Pediatr Pulmonol* 1999; 28(4):282-96.
- ²⁰ Kisson N, Duckworth LJ, Blake KV, et al. FE(NO): relationship to exhalation rates and online versus bag collection in healthy adolescents. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 539–545.
- ²¹ Grasemann H, van's Gravesande KS, Buscher R, et al. Effects of sex and of gene variants in constitutive nitric oxide synthases on exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167:1113–1116
- ²² Strunck R, Szeffler S, Phillips B, et al. Relationship of exhaled nitric oxide to clinical and inflammatory markers of persistent asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112 (5): 883-92.
- ²³ Pijnenburg-M, Hofhuis-W, Hop-W, De Jongeste-J. Exhaled nitric oxide predicts asthma relapse in children with clinical asthma remission. *Thorax* 2005; 60(3):215-8.
- ²⁴ Payne Dn. Nitric oxide in allergic airway inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*.2003;3(2):133-7.
- ²⁵ Warke TJ, Fitch PS, Brown V, et al. Exhaled nitric oxide correlates with airway eosinophils in childhood asthma. *Thorax* 2002; 57: 383–7.
- ²⁶ Piacentini GL, Bodini A, Costella S, et al. Exhaled nitric oxide and sputum eosinophil markers of inflammation in asthmatic children. *Eur Respir J* 1999;13:1386–90
- ²⁷ Kharitonov-SA, Yates-DH, Barnes-PJ. Inhaled glucocorticoids decreases nitric oxide in the exhaled air of asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 454-7.
- ²⁸ Cardinale F, Benedictus FM, Muggeo V, et.al. Exhaled nitric oxide, total serum Ig E and allergic sensitization in childhood asthma and allergic rhinitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16:236-42.
- ²⁹ Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329:2002–12.
- ³⁰ Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J Biol Chem* 1993;268:12231–4.
- ³¹ Michel T, Feron O. Nitric oxide synthases: which, where, how, and why? *J Clin Invest* 1997;100: 2146–52.
- ³² Archer S. Measurement of nitric oxide in biological models. *FASEB J*. 1993;7:349–60.
- ³³ Malinski T, Czuchajowski L. Nitric oxide measurement by electrochemical methods. In: Feelish M, Stamler JS, eds. *Methods in nitric oxide research*. London: John Wiley & Sons, 1996: 319–39.
- ³⁴ Gaston B, Sears S, Woods J, et al. Bronchodilator S-nitrosothiol deficiency in asthmatic respiratory failure. *Lancet* 1998; 351: 1317–9.
- ³⁵ Lei Y-H, Barnes PJ, Rogers DF. Regulation of NANC neural bronchoconstriction in vivo in the guinea-pig: involvement of nitric oxide, vasoactive intestinal peptide and soluble guanylyl cyclase. *Br J Pharmacol* 1993;108:228–35.

- ³⁶ Persson MG, Friberg SG, Gustafsson LE, et al. The promotion of patent airways and inhibition of antigen-induced bronchial obstruction by endogenous nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1995; 116: 2957–62.
- ³⁷ Folkerts G, Busse WW, Nijkamp FP, et al. Virus-induced airway hyperresponsiveness and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1708–20.
- ³⁸ Ricciardolo FLM, Di Maria GU, Mistretta A, et al. Impairment of bronchoprotection by nitric oxide in severe asthma. *Lancet* 1997; 350: 1297–8.
- ³⁹ Kubes P. Nitric oxide and microvascular permeability: a continuing dilemma. *Eur Respir J* 1997;10: 4–5.
- ⁴⁰ Nagaki M, Shimura MN, Irokawa T, et al. Nitric oxide regulation of glycoconjugate secretion from feline and human airways in vitro. *Respir Physiol* 1995;102:89–95.
- ⁴¹ Jain B, Rubinstein I, Robbins RA, et al. Modulation of airway epithelial cell ciliary beat frequency by nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;191:83–8.
- ⁴² Xiong Y, Karupiah G, Hogan S, et al. Inhibition of allergic airway inflammation in mice lacking nitric oxide synthase 2. *J Immunol* 1999;162:445–52.
- ⁴³ Huang FP, Niedbala W, Wei XQ, et al. Nitric oxide regulates Th1 cell development through the inhibition of IL-12 synthesis by macrophages. *Eur J Immunol* 1998;28:4062–70.
- ⁴⁴ Gratziau C, Lignos M, Dassiou M, et al. Influence of atopy on exhaled nitric oxide in patients with stable asthma and rhinitis. *Eur Respir J* 1999; 14: 897–901.
- ⁴⁵ Silvestri M, Spallarossa D, Frangova Y, et al. Orally exhaled nitric oxide levels are related to the degree of blood eosinophilia in atopic children with mild-intermittent asthma. *Eur Respir J* 1999;13: 321–6.
- ⁴⁶ Jatakanon A, Lim S, Barnes PJ. Changes in sputum eosinophils predict loss of asthma control. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161: 64–72.
- ⁴⁷ Tamaoki J, Kondo M, Sakai N, et al. Leukotriene antagonist prevents exacerbation of asthma during reduction of high-dose inhaled corticosteroid. The Tokyo Joshi-Idai Asthma Research Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1235–40.
- ⁴⁸ Hedley A, Ogden CL, Johnson CL, Carrol MD, Curtin LR, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity among U.S. children, adolescents, and adults, 1999-2002. *JAMA* 2004; 291: 2847-50.
- ⁴⁹ Dietz WH, Bellizzi MC. Introduction: the use of body mass index to assess obesity in children. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 123S-125S.
- ⁵⁰ Barlow SE, Dietz WH. Obesity evaluation and treatment: expert committee recommendations. *Pediatrics* 1998; 102: e29 (Web only). (Accessed March 14, 2005, at <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/102/3/e29>.)
- ⁵¹ Hill JO, Wyatt HR, Reed GW, Peters JC. Obesity and the environment: where do we go from here? *Science* 2003;299: 853-5.
- ⁵² Litonjua AA, Sparrow D, Celedon JC, DeMolles D, Weiss ST. Association of body mass index with the development of methacholine airway hyperresponsiveness in men: the Normative Aging Study. *Thorax* 2002;57:581-5.

-
- ⁵³ Yap JC, Watson RA, Gilbey S, Pride NB. Effects of posture on respiratory mechanics in obesity. *J Appl Physiol* 1995;79: 1199-205.
- ⁵⁴ Aaron SD, Fergusson D, Dent R, Chen Y, Vandemheen KL, Dales RE. Effect of weight reduction on respiratory function and airway reactivity in obese women. *Chest* 2004; 125:2046-52.
- ⁵⁵ Nawrocki AR, Scherer PE. The delicate balance between fat and muscle: adipokines in metabolic disease and musculoskeletal inflammation. *Curr Opin Pharmacol* 2004;4:281-9.
- ⁵⁶ Shore S, Fredberg J. Obesity, smooth muscle, and airway hyperresponsiveness. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115: 925-7.
- ⁵⁷ Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:911-9
- ⁵⁸ Litonjua AA, Sparrow D, Celedon JC, DeMolles D, Weiss ST. Association of body mass index with the development of methacholine airway hyperresponsiveness in men: the Normative Aging Study. *Thorax* 2002;57: 581-5.
- ⁵⁹ Baraldi E, de Jongste JC, European Respiratory Society, American Thoracic Society. Measurement of exhaled nitric oxide in children, 2001. *Eur Respir J* 2002;20: 223-37.
- ⁶⁰ Leung TF, Li CY, Lam CWK, Au CSS, Yung E, Chan IHS, Wong GWK, Fok TF. The relation between obesity and asthmatic airway inflammation. *Pediatr Allergy Immunol* 2004; 15: 344-350
- ⁶¹ De Winter-de Groot KM, Van der Ent CK, Prins I, Tersmette JM, Uiterwaal CS. Exhaled nitric oxide: the missing link between asthma and obesity? *J Allergy Clin Immunol* 2005;115: 419-20.
- ⁶² The international study of asthma and allergies in childhood (ISAAC) steering committee. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. *Lancet*. 1998; 351: 1225-1232.
- ⁶³ Del Rio-BE, Del Rio-JM, Rosas-M, Berber-A, Sienna-JJ. Prevalencia de asma al norte de la ciudad de México. Tesis para obtener el título de alergólogo Hospital Infantil de México Federico Gómez 2004.
- ⁶⁴ Santos Preciado J I, Villa Barragán J P, Garcia-Aviles M A, Leon-Alvarez G, Quezada-Bolaños S y Tapia-Conyer R. La transición epidemiológica de las y los adolescents en México. *Salud pública de México*. 2003;45: S140-152.
- ⁶⁵ Varios. Encuesta Nacional de Nutrición 1999.
- ⁶⁶ Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ* 2000; 320:1240-1243
- ⁶⁷ Global Initiative for asthma, GINA 2002. National Heart Lung and Blood institute.
- ⁶⁸ Kisson N, Duckworth L, Blake K, Murphy S, Taylor C, DeNicola L, Et.al. Exhaled Nitric Oxide Concentrations: Online versus offline values in Healthy Children. *Pediatr Pulmonol*. 2002; 33: 283-92.
- ⁶⁹ Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxid and nasal nitric oxide in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:2104-2117.

- ⁷⁰ Balagopal-P, George-D, Patton-N, Yarandi-H, Roberts-WL, Bayne-E, Gidding-S. Lifestyle-only intervention attenuates the inflammatory state associated with obesity: a randomized controlled study in adolescents. *J Pediatr*. 2005 Mar;146 (3):342-8.
- ⁷¹ Moraga F, Rebolla MJ, Borges P, Cáceres J, Castillo C. Tratamiento de la obesidad infantil: Factores pronósticos asociados a una respuesta favorable. *Rev Chil Pediatr*. 2003;74:374-380.
- ⁷² Epstein FH, Higgins M. Epidemiology of obesity. In: Björntorp P, Brodoff BN, eds. *Obesity*. Philadelphia: JB Lippincott Co, 1992:330-42
- ⁷³ Declaración de Helsinki de la asociación médica mundial 2000.
- ⁷⁴ Piacentini G.L, Bodini A, Costella S, Vicentini L, Mazzi P, Sperandio S, Et.al. exhaled nitric oxide and sputum eosinophil markers of inflammation in asthmatic children. *Eur Respir J* 1999; 13:1386-90.
- ⁷⁵ Strunk RC, Szefer SJ, Phillips BR, Zeiger RS, Chinchilla VM, Larsen G, et.al. Relationship of exhaled nitric oxide to clinical and inflammatory markers of persistent asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 883-92.
- ⁷⁶ Saito J, Inoue K, Sugawara A, Yoshikawa M, Watanabe K, Ishida T, et.al. Exhaled nitric oxide as a marker of airway inflammation for an epidemiologic study in schoolchildren. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:512-6.
- ⁷⁷ Narang I, Ersu R, Wilson NM, Bush A. Nitric oxide in chronic airway inflammation in children: diagnostic use and pathophysiological significance. *Thorax* 2002; 57:586-9.
- ⁷⁸ Warke TJ, Fitch PS, Brown V et.al. Exhaled Nitric Oxide correlates with airway eosinophils in childhood asthma. *Thorax* 2002; 20: 919-24.
- ⁷⁹ Zepeda Ortega B, Ito Tsuchiya FM., Del Río Navarro BE., Espinola Reyna GA., Blandón Vigil V., Sienna Monge J.J.L. Comparación de la función pulmonar e índices antropométricos en un grupo de adolescentes obesos asmáticos (OA) y no asmáticos (OnA). (Resultados Preliminares).
- ⁸⁰ Dinakar C, Van Osdol TJ, Barnes CS, Dowling PJ, Zeigler AW. Changes in exhaled nitric oxide levels with immunotherapy. *Allergy Asthma Proc*. 2006 Mar-Apr; 27(2):140-4.
- ⁸¹ Riciardolo F. Multiples roles of Nitric Oxide in the airways. *Thorax* 2003; 58:175-82.
- ⁸² Guler N, Kurerleri E, Ones U, Tamay Z, Salmayenli N, Darendeliler F. Leptin: Does it have any role in childhood asma?. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 254-9.
- ⁸³ Hukshorn C, Lindeman J, Toet K, Saris W, Eilers P, Kooistra T, et.al. Leptin and the proinflammatory state associated with human obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:1773-8.
- ⁸⁴ Leung TF, Li CY, Lam CWK, Au CSS, Yung E, Chan IHS. et.al. The relation between obesity and asthmatic airway inflammation. *Ped Allergy Immunol* 2004; 15: 344-50.
- ⁸⁵ Kazaks A, Uriu-Adams JY, Stern JS, Albertson TE. No significant relationship between exhaled nitric oxide and body mass index in people with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116: 929-30.