



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN MÉDICA  
SECRETARÍA DE SALUD

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO "DR EDUARDO LICEAGA", O.D.  
SERVICIO DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA

"CORRELACION ENTRE LA FRACCIÓN EXHALADA DE ÓXIDO NÍTRICO (FENO) Y EL  
PORCENTAJE DE VEF<sub>1</sub> PARA EVALUAR DISMINUCIÓN PROGRESIVA DE LA FUNCIÓN  
PULMONAR EN ADULTOS CON ASMA ALÉRGICA"

TESIS DE POSGRADO  
PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
ESPECIALISTA EN ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA

PRESENTA:

**DR. ANTONIO ALBARRÁN GODÍNEZ**

ASESORES:

DRA. ANDREA AIDA VELASCO MEDINA

DR. GUILLERMO VELÁZQUEZ SÁMANO

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. 2020

Facultad de Medicina





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.

## TESIS

### TÍTULO:

**“CORRELACIÓN ENTRE LA FRACCIÓN EXHALADA DE ÓXIDO NÍTRICO (FENO) Y EL PORCENTAJE DE VEF<sub>1</sub> PARA EVALUAR DISMINUCIÓN PROGRESIVA DE LA FUNCIÓN PULMONAR EN ADULTOS CON ASMA ALÉRGICA”.**

### Servicio participante:

Servicio de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital General de México O.D

### Presenta:

Dr. Antonio Albarrán Godínez

Médico Residente de Segundo Año en la Especialidad de Alergia e Inmunología Clínica, Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, O.D.

Investigador principal

Alumno del curso universitario de Alergia e Inmunología Clínica, Universidad Nacional Autónoma de México

E-mail: [alban.med@gmail.com](mailto:alban.med@gmail.com)

**“CORRELACIÓN ENTRE LA FRACCIÓN EXHALADA DE ÓXIDO NÍTRICO (FENO) Y EL PORCENTAJE DE VEF<sub>1</sub> PARA EVALUAR DISMINUCIÓN PROGRESIVA DE LA FUNCIÓN PULMONAR EN ADULTOS CON ASMA ALÉRGICA”.**

**DR. ANTONIO ALBARRÁN GODÍNEZ**

PRESENTA

**DR. GUILLERMO VELÁZQUEZ SÁMANO**

DIRECTOR DE TESIS

JEFE DEL SERVICIO DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA

PROFESOR TITULAR DEL CURSO UNIVERSITARIO DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO, O.D.

**DRA. ANDREA AIDA VELASCO MEDINA**

ASESOR DE TESIS

MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA

PROFESOR ADJUNTO DEL CURSO UNIVERSITARIO DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO, O.D.

## DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

Dedico esta tesis a mi Madre, **Alicia Godínez Torres**, por el apoyo incondicional a lo largo de toda mi carrera y ser un gran ejemplo que seguir en mi vida, haciéndole frente a las adversidades siempre con una sonrisa y nunca dándose por vencida.

Agradezco al **Dr. Guillermo Velázquez Sámano**, por todas las enseñanzas y atenciones que tuvo a lo largo de este tiempo, su dedicación a los pacientes y a la clínica es realmente admirable.

Agradezco a la **Dra. Andrea Aída Velasco Medina**, por su disposición y apoyo en la enseñanza, y ser un ejemplo de cordialidad y respeto en el trato con el paciente.

Protocolo APROBADO por el Comité de Ética en Investigación y el Comité de Investigación del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, O.D., con clave de registro Número de registro DI/19/309/03/93.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>8</b>
<b>ANTECEDENTES</b>	
• Antecedentes y Epidemiología de Asma	9
• Fenotipos de Asma	9
• Características Inmunológicas del Asma	10
• Diagnóstico de Asma	12
• Pruebas de Función Respiratoria	13
• Biomarcadores en Asma	13
• Propiedades y Función del Óxido Nítrico	15
• Utilidad de FeNO en Asma	16
• Asociación de FeNO con Deterioro de la Función Pulmonar	17
• FeNO como guía en la monitorización y tratamiento de asma alérgica	18
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>21</b>
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>21</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>22</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>22</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	
• Población y tamaño de muestra	23
• Criterios de inclusión, exclusión y eliminación	24
• Metodología del estudio	24
• Variables	27
• Análisis estadístico	28
• Cronograma de actividades	29
• Aspectos éticos y de bioseguridad	29
<b>RESULTADOS</b>	<b>30</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>37</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>39</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>40</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>42</b>

## **GLOSARIO.**

**FeNO:** Fracción Exhalada de Óxido Nítrico

**ppb:** Partículas por billón

**iNOS:** Óxido Nítrico Sintasa Inducible

**VEF<sub>1</sub>:** Volumen Espiratorio Máximo en el primer segundo

**VEF<sub>1</sub>/CVF:** Relación entre el Volumen Espiratorio Máximo en el primer segundo y la Capacidad Vital Forzada

**ACT:** Cuestionario *Asthma Control Test*

**T<sub>H</sub>2:** Linfocitos T Cooperadores CD4+ tipo 2

**IL:** Interleucina

**IFN:** Interferón

**TNF:** Factor de Necrosis Tumoral

**TSLP:** Linfopoyetina Estromal Tímica

**CEI:** Corticoesteroides inhalados

**SABA:**  $\beta$ 2 agonista de corta acción



## RESUMEN ESTRUCTURADO

### CORRELACIÓN ENTRE LA FRACCIÓN EXHALADA DE ÓXIDO NÍTRICO (FeNO) Y EL PORCENTAJE DE VEF<sub>1</sub> PARA EVALUAR DISMINUCIÓN PROGRESIVA DE LA FUNCIÓN PULMONAR EN ADULTOS CON ASMA ALÉRGICA

**INTRODUCCIÓN:** El asma es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta el tracto respiratorio en su totalidad. En México, existen alrededor de 8.5 millones de pacientes con asma. El reconocimiento de aéroalergenos por las células epiteliales produce un entorno inflamatorio y predispone una respuesta inmune regulada por linfocitos T<sub>H2</sub>. Las citosinas específicas IL-4 e IL-13 promueven la expresión de iNOS, enzima que desencadena la producción exagerada de NO en la vía aérea. La fracción exhalada de óxido nítrico (FeNO) es un biomarcador indirecto de inflamación T<sub>H2</sub> en vía aérea incluso en asma leve. Niveles persistentemente elevados de FeNO se han asociado con disminución anual acelerada de VEF<sub>1</sub> y mayor riesgo de obstrucción fija de la vía aérea. Debido a la importancia que tiene el mecanismo inflamatorio en la progresión del asma, FeNO es fundamental para confirmar el diagnóstico y fenotipo de asma, pero también en el seguimiento del paciente ya que evalúa la respuesta al tratamiento antiinflamatorio.

**HIPÓTESIS:** Si los niveles elevados de la fracción exhalada de óxido nítrico ( $\geq 25$ ppb) se asocian con mayor obstrucción al flujo aéreo determinado por el porcentaje de VEF<sub>1</sub>, entonces entre más elevado sea el valor de FeNO menor será el porcentaje de VEF<sub>1</sub>

#### OBJETIVOS:

1. Determinar si existe una relación inversa entre aumento de FeNO y disminución progresiva de la función pulmonar.
2. Determinar la correlación entre FeNO y otros Biomarcadores de inflamación T<sub>H2</sub>
3. Evaluar el control de la enfermedad mediante el cuestionario *Asthma Control Test*, y si este puntaje se asocia con los valores de FeNO.

**METODOLOGÍA:** El estudio reclutó 28 pacientes con diagnóstico de asma alérgica que acudieron a consulta al Servicio de Alergia e Inmunología Clínica de agosto 2019 a marzo 2020. En todos los pacientes se determinaron biomarcadores séricos, pruebas de función pulmonar y medición de la fracción exhalada de óxido nítrico. Los datos obtenidos se analizaron para evaluar la existencia de correlación entre variables.

**RESULTADOS:** De los 28 pacientes reclutados, 6 fueron eliminados por falta de espirometría. En el análisis de datos, no se encontró una correlación entre FeNO y el porcentaje predicho de VEF<sub>1</sub> ( $r=0.287$ ,  $p=0.195$ ) sin embargo, se encontró una tendencia de asociación inversa entre FeNO y la relación VEF<sub>1</sub>/CVF ( $r= -0.034$ ,  $p=0.879$ ). Los resultados con significancia estadística fueron la correlación positiva entre FeNO y eosinófilos periféricos ( $r=0.551$ ,  $p=0.008$ ) y entre FeNO y inmunoglobulina E total ( $r=0.434$ ,  $p=0.43$ ).

**CONCLUSIONES:** El estudio no encontró una correlación entre los valores de FeNO  $>25$ ppb y la severidad de la obstrucción al flujo aéreo (% predicho de VEF<sub>1</sub>), sin embargo, si se encontró fue una posible asociación inversa entre la presencia de obstrucción al flujo aéreo (CVF/VEF<sub>1</sub>) y valores de FeNO  $>25$ ppb. Esto sugiere que los participantes al tener diagnóstico reciente asma los cambios en vía aérea asociados a la cronicidad de la enfermedad pueden ser mínimos o aún no estar presentes.

**PALABRAS CLAVE:** Asma, Fenotipos, Linfocitos T<sub>H2</sub>, Asma Alérgica, Fracción Exhalada de Óxido Nítrico, Volumen Espiratorio Máximo en el primer segundo, Eosinofilos, Inmunoglobulina, Asthma Control Test.

## **ANTECEDENTES**

- **ANTECEDENTES Y EPIDEMIOLOGÍA DEL ASMA**

El asma es una de las enfermedades más prevalentes a nivel mundial afectando a más de 300 millones de personas, se estima que el 17% de estas tienen asma grave o de difícil control.<sup>1,2</sup> En México, la Organización Mundial de la Salud determinó aproximadamente 8.5 millones padecen asma.<sup>3</sup> El incremento de atopia en población occidental y la exposición a contaminantes, se ha asociado con mayor incidencia en casos de asma.<sup>1</sup>

En la actualidad, el asma se define como una enfermedad heterogénea inflamatoria crónica que afecta la vía aérea en toda su extensión y no solo el parénquima pulmonar. Se caracteriza por la presencia de hiperreactividad bronquial, es decir, el estrechamiento exagerado pero reversible de la vía aérea como consecuencia de la exposición a alérgenos u otros desencadenantes, y aumento en la secreción de moco; que se manifiesta con episodios recurrentes de disnea, sibilancias, opresión torácica y tos.<sup>1,4,5</sup>

La inflamación crónica propia de la enfermedad causa remodelamiento de la vía aérea que predispone a exacerbaciones frecuentes que deterioran gradualmente la función pulmonar, lo que significa obstrucción más severa en la vía aérea.<sup>4</sup> Es notorio que la inflamación en la vía aérea es variable durante la evolución de la enfermedad, aunque esta tiende a aumentar significativamente durante las exacerbaciones.<sup>3</sup>

- **FENOTIPOS DE ASMA**

Múltiples interacciones entre factores genéticos, epigenéticos y ambientales predisponen cambios en diversos mecanismos regulatorios inmunológicos, generando una respuesta inmune en contra de sustancias inocuas denominadas alérgenos.<sup>1,5</sup>

La predisposición genética al asma se ha relacionado con mutaciones en regiones cromosómicas que confieren susceptibilidad al desarrollo de la enfermedad, y que han sido asociadas con la hiperreactividad bronquial, la producción de IgE específica y la producción de mediadores proinflamatorios.<sup>4</sup>

En cuanto a la epigenética y el ambiente, los factores de riesgo que han sido identificados para el desarrollo de asma incluyen la sensibilización a alérgenos, la exposición al humo de tabaco, el uso frecuente de antibióticos en edades tempranas e infecciones recurrentes de la vía aérea.<sup>4</sup>

Estos cambios inmunológicos se han clasificado como fenotipos y son determinados según el porcentaje de células inflamatorias predominantes en el esputo, dando lugar a 4 fenotipos diferentes: eosinofílico, neutrofílico, granulocítico mixto y paucigranulocítico.<sup>6,7</sup> Clínicamente los fenotipos difieren en: características inflamatorias, edad de inicio, presentación y duración de los síntomas, y deterioro de la función pulmonar.<sup>1,3,4</sup>

El fenotipo más común de asma es el eosinofílico, se caracteriza por inicio temprano de síntomas de atopia u otras enfermedades alérgicas (rinitis alérgica, dermatitis atópica); y en cuyo patrón inflamatorio predominan los linfocitos T cooperadores tipo 2 (T<sub>H</sub>2), así como elevación de eosinófilos y mastocitos en la vía aérea, y otros biomarcadores como inmunoglobulina E (IgE) y de la fracción exhalada de óxido nítrico (FeNO).<sup>1,8</sup>

La sensibilización a aéroalergenos se considera como el fenómeno inicial en el fenotipo eosinofílico de asma, y cuando ocurren exposiciones subsecuentes a los mismos alergenos se activan los mecanismos inflamatorios que desencadena la producción de IgE específica.<sup>5</sup>

Otro fenotipo importante de asma eosinofílico se caracteriza por el inicio tardío de los síntomas, usualmente en la edad adulta, con eosinofilia significativa en ausencia de IgE específica, y sin otros antecedentes de atopia.<sup>1,5</sup>

El fenotipo neutrofílico se caracteriza por la presencia de >61% de neutrófilos en esputo con un porcentaje <2% de eosinófilos. Se conoce que en este fenotipo la hiperreactividad bronquial es mediada por IFN- $\gamma$  e IL-8, y los sujetos afectados suelen tener pobre respuesta al tratamiento con corticoesteroides inhalados (CEI).<sup>8</sup>

Un control inadecuado de la enfermedad implica mayor riesgo de mortalidad, limitación para la actividad física y deterioro en la calidad de vida, la clasificación del asma en fenotipos ha permitido un abordaje terapéutico más enfocado con mejor control de los síntomas y disminución en el riesgo de exacerbaciones.<sup>4,5</sup>

## • CARACTERÍSTICAS INMUNOLÓGICAS DEL ASMA

El asma alérgica se origina a partir de la respuesta inmunológica hacia un alérgeno, es mediada por linfocitos T<sub>H</sub>2 que por medio de citocinas específicas activan a los linfocitos B para la síntesis de IgE específica hacia el alérgeno.<sup>3,8</sup>

El mecanismo de daño inicia con el reconocimiento de los aéroalergenos por las células epiteliales que los identifican como nocivos, y producen un entorno inflamatorio mediado por citocinas, entre ellas: IL-25, IL-33 y la Linfopoyetina Tímica

Estromal (TSLP), que predisponen el desarrollo de una respuesta alérgico-específica regulada por linfocitos  $T_H2$ .<sup>5</sup>

La respuesta inflamatoria en asma tiene dos fases, la fase temprana caracterizada por la degranulación inmediata de los mastocitos tras el contacto con el alérgeno liberando mediadores preformados que actúan sobre el músculo liso e inducen obstrucción de la vía aérea; y la fase tardía en la que células inflamatorias (eosinófilos, mastocitos, linfocitos) liberan mediadores específicos como leucotrienos, prostaglandinas y citocinas proinflamatorias, perpetuando la obstrucción bronquial mediante la activación y reclutamiento de más células inflamatorias hacia la vía aérea.<sup>9</sup>

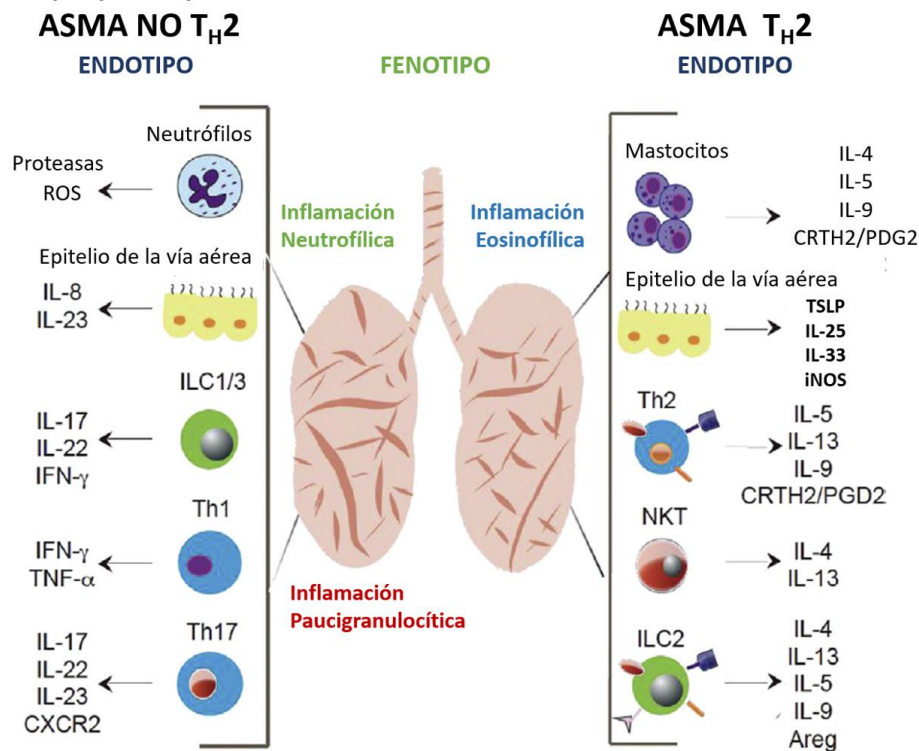
El predominio de linfocitos  $T_H2$  en la vía aérea de sujetos con asma, induce la liberación de citocinas proinflamatorias específicas como las interleucinas IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13, promoviendo la inflamación eosinofílica y la producción de IgE específica por linfocitos B. La IgE al unirse a sus receptores de alta afinidad ( $Fc\epsilon R1$ ) en eosinófilos y mastocitos, produce la liberación de mediadores inflamatorios como histamina y leucotrienos, que son la causa del broncoespasmo, edema de la vía aérea y aumento en secreción de moco.<sup>4</sup>

Como se ha mencionado las citocinas juegan un papel fundamental en la inflamación tipo 2. La IL-4 regula la diferenciación de linfocitos Th inmaduros hacia  $T_H2$ , el reclutamiento de eosinófilos hacia la vía aérea y la señalización a los linfocitos B para síntesis de IgE específica; la IL-5 regula la diferenciación de los eosinófilos en la médula ósea y su supervivencia en el epitelio bronquial; e IL-13 participa en el reclutamiento de eosinófilos a la vía aérea, en la producción de moco por células caliciales, y promueve la expresión de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) por las células epiteliales.<sup>1,3,10</sup>

La supervivencia y reclutamiento de los eosinófilos por IL-5 e IL-13 en la vía aérea, perpetúa la inflamación crónica del asma pues los eosinófilos liberan múltiples proteínas tóxicas como la proteína catiónica eosinofílica y la neurotoxina derivada de eosinófilos, además de secretar múltiples citocinas que estimulan la vía  $T_H2$  y causan daño al epitelio bronquial.<sup>1,10</sup>

Sin embargo, los linfocitos  $T_H2$  no son las únicas células que mantienen un entorno inflamatorio, se sabe que los eosinófilos, basófilos, mastocitos y las células linfoides innatas tipo 2 (ILC2) también son capaces de producir las citocinas asociadas a la respuesta  $T_H2$  (IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13).<sup>5</sup> Este hecho explica la existencia de un ambiente inflamatorio  $T_H2$  aún en ausencia de exposición antigénica o la presencia mínima de linfocitos  $T_H2$ .<sup>5</sup>

## Fenotipos y Endotipos de Asma



Adaptado de: Tabatabaian F, Immunol Allergy Clin N Am 2017, 37:329-343

### • DIAGNÓSTICO DE ASMA

El diagnóstico de asma es complejo por la heterogeneidad de los síntomas y la variabilidad de su presentación, la sospecha clínica y la demostración de obstrucción reversible al flujo aéreo son necesarios para poder establecer el diagnóstico.<sup>3</sup> En el caso específico del asma alérgica, la realización de pruebas cutáneas tiene gran utilidad si los síntomas respiratorios son desencadenados por la exposición a alérgenos.<sup>3</sup>

La sospecha clínica de asma requiere de la presencia de 2 o más síntomas recurrentes como: tos, sibilancias, disnea y opresión torácica; que estos ocurran en presencia de factores desencadenantes (alérgenos, irritantes), y con variabilidad en tiempo e intensidad.<sup>3,11</sup> La probabilidad diagnóstica aumenta si dichos síntomas empeoran durante la noche y mejoran con el tratamiento farmacológico de asma.<sup>3,4</sup>

Los síntomas de asma y su severidad no necesariamente reflejan el proceso inflamatorio subyacente, pues aun cuando los síntomas sean leves o se encuentren en remisión existe inflamación subyacente de la vía aérea.<sup>8</sup> Por tanto, se necesitan de métodos objetivos para demostrar la limitación al flujo aéreo y el diagnóstico de asma.<sup>11,12</sup>

- **PRUEBAS DE FUNCIÓN RESPIRATORIA**

Las pruebas respiratorias son el estudio indicado para evaluar la función pulmonar.<sup>3,4</sup> La espirometría es la prueba de primera elección en adultos para demostrar obstrucción al flujo aéreo y su reversibilidad; los valores de Capacidad Vital Forzada (CVF) y Volumen Espiratorio Forzado (VEF<sub>1</sub>) son los parámetros necesarios para confirmar el diagnóstico de asma.<sup>3,4</sup>

Un patrón obstructivo se confirma cuando la relación VEF<sub>1</sub>/CVF tiene un valor <0.75-0.80 en adultos (GINA 2019); sin embargo, si la relación VEF<sub>1</sub>/CVF es ajustada por edad, un valor ≤70% en adultos menores a 50 años, ≤68% de los 50-59 años, ≤66% de 60-69 años y ≤64% en mayores de 70 años se considera como obstrucción (GUIMA 2017).<sup>3,11,12</sup> La gravedad de la obstrucción se determina con el porcentaje de VEF<sub>1</sub> en relación al predicho por edad: >70% sugiere obstrucción leve; 60-69% moderada, 50-59% moderadamente severa, 35-49% severa y <35% muy severa.<sup>3,13</sup>

La reversibilidad de la obstrucción se demuestra con la administración de broncodilatador (400µg de salbutamol), tras la cual se espera un incremento en VEF<sub>1</sub> >12% y/o 200ml después de 10 a 15 minutos, en comparación con los valores basales.<sup>3,10,11</sup>

Aún en sujetos con sospecha de asma es posible obtener un resultado normal en la espirometría debido a la variabilidad de la obstrucción, sin embargo, este hallazgo no descarta el diagnóstico y se recomienda repetir el estudio o realizar una prueba de reto, pues aún en asma leve existe inflamación subyacente de la vía aérea.<sup>3,11,14</sup>

- **BIOMARCADORES EN ASMA**

Un biomarcador se define como la característica medible que permite identificar objetivamente un proceso patológico o enfermedad.<sup>15</sup> Idealmente un biomarcador debe ser capaz de identificar una vía fisiopatológica específica, guiar la selección del tratamiento apropiado, y correlacionarse con la severidad y/o control de la enfermedad. En términos prácticos, debe ser seguro, fiable, reproducible y accesible.<sup>15</sup>

En asma alérgica existen biomarcadores específicos para identificar la inflamación tipo 2, mediada por linfocitos T<sub>H</sub>2 y otras células capaces de producir las citocinas responsables de los cambios en la vía aérea.<sup>3,7</sup> Los biomarcadores disponibles para asma alérgica incluyen: marcadores sistémicos (cuenta total de eosinófilos), citometría cuantitativa del esputo, análisis del aliento exhalado (FeNO), mediciones de la función pulmonar, entre otros.<sup>15</sup>

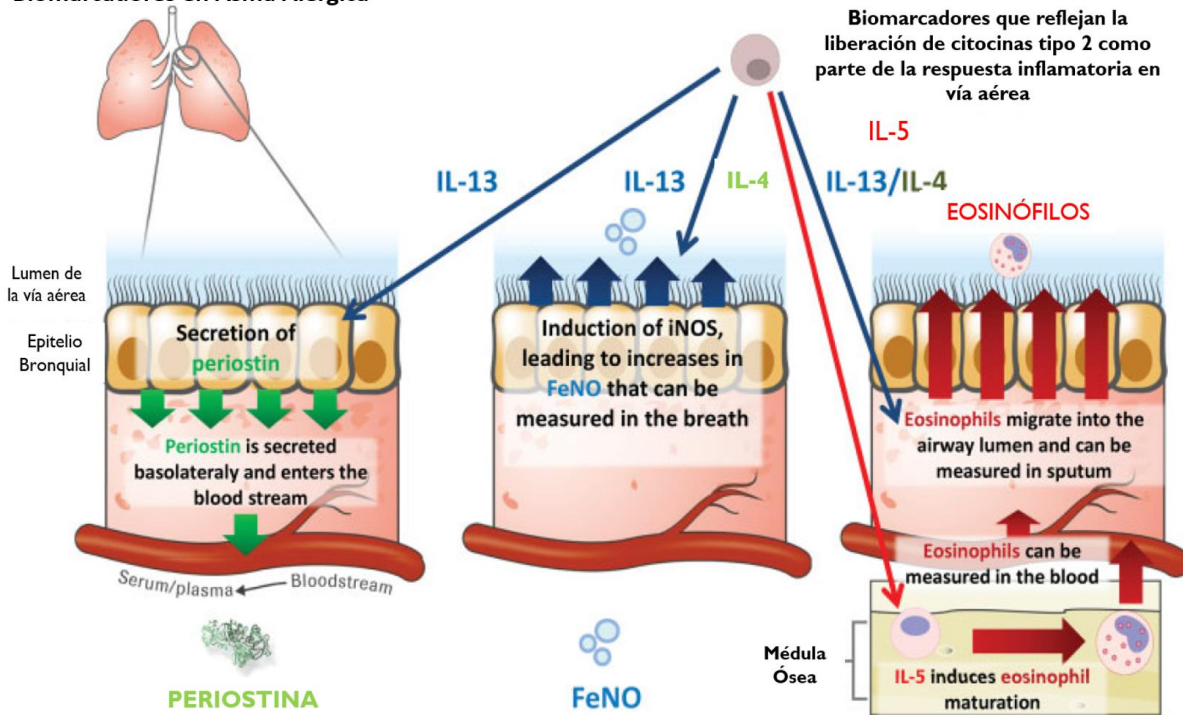
Los eosinófilos son granulocitos originados en la médula ósea cuya diferenciación celular y maduración es regulada por IL-3 e IL-5.<sup>15</sup> Cuando la cuenta total de eosinófilos en sangre periférica es  $\geq 0.4 \times 10^9/L$  o  $\geq 3\%$ , se considera un marcador local y sistémico de inflamación eosinofílica. Este biomarcador correlaciona directamente con la severidad del asma, el riesgo de exacerbaciones y el riesgo de desarrollar limitación fija del flujo aéreo.<sup>3,7</sup>

La migración de los eosinófilos al lumen de la vía aérea es mediada por IL-13 en estados inflamatorios, la citometría del esputo permite evaluar celularidad total y el porcentaje diferencial de eosinófilos presentes.<sup>15</sup> El hallazgo de  $\geq 2\%$  de eosinófilos en esputo sugiere inflamación eosinofílica local de la vía aérea.<sup>7,9</sup> La eosinofilia en esputo se considera un predictor de la respuesta al tratamiento con corticoesteroides, y su ausencia es predictor de la falta de respuesta.<sup>15</sup>

La fracción exhalada de óxido nítrico (FeNO) es un biomarcador indirecto de inflamación tipo 2 en la vía aérea, refleja el aumento en la síntesis de óxido nítrico como resultado de la activación de células epiteliales por IL-5 e IL-13.<sup>6,15</sup> La concentración alveolar de NO es constante, sin embargo, durante la exhalación el NO de la vía aérea conductiva es transferido por difusión desde las paredes proximales y puede ser medido en el aliento exhalado de forma no invasiva.<sup>15,16</sup> FeNO es capaz de predecir la probabilidad de respuesta a corticoesteroides inhalados en pacientes con asma alérgica y también es útil la monitorización de apego al tratamiento.<sup>3,14,15</sup> Se ha sugerido cierta correlación de FeNO con inflamación eosinofílica, sin embargo, se ha demostrado que la producción de NO es independiente de la eosinofilia periférica o en esputo.<sup>15</sup>

Los biomarcadores aportan información sumamente valiosa, ya que aún en los pacientes con asma leve o asintomáticos existe inflamación eosinofílica residual de la vía aérea que los predispone a tener exacerbaciones. La eosinofilia persistente en sujetos con asma alérgica se ha relacionado con la remodelación progresiva y cambios crónicos en el funcionamiento de la vía aérea.<sup>17</sup>

## Biomarcadores en Asma Alérgica



Adaptado de: Lim H, Semin Respir Crit Care Med. 2018;39:56-63

## • PROPIEDADES Y FUNCIÓN DEL ÓXIDO NÍTRICO

El óxido nítrico (NO) es un producto gaseoso endógeno del epitelio respiratorio. En concentraciones bajas actúa como regulador de múltiples procesos biológicos (regula el tono vascular, el tono del músculo liso en la vía aérea, la producción de moco), pero en concentraciones elevadas es citotóxico y se comporta como mediador proinflamatorio.<sup>6,16</sup> La función del óxido nítrico depende de diversos factores como: la actividad de NOS (principal enzima productora de NO), la cantidad de sustrato para formación de NO (L-arginina) y la presencia de enzimas competitivas (arginasa).<sup>16,18</sup>

La Óxido Nítrico Sintasa (NOS) tiene tres isoformas: la neuronal (nNos), la endotelial (eNOS) y la inducible (iNOS). Las formas constitutivas de la enzima son nNOS y eNOS, y se expresan de manera regular en los nervios inhibitorios no adrenérgicos no colinérgicos (iNANAC) y en el epitelio respiratorio, respectivamente. En condiciones basales, el NO es producido en pocas cantidades por las formas constitutivas y actúa como una molécula difusible de señalización que regula la relajación del músculo liso bronquial, entre otros procesos biológicos.<sup>18</sup>

Como su nombre lo indica, iNOS es la forma inducible de la enzima y su expresión depende de la activación de las células epiteliales, macrófagos y eosinófilos en la vía aérea por citocinas proinflamatorias como IL-4, IL-13, IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ . En



estados inflamatorios, como el asma alérgica, la expresión de iNOS se encuentra aumentada produciendo altas concentraciones de NO con actividad citotóxica que contribuyen al daño en la vía aérea a través del aumento en la permeabilidad vascular, hipersecreción de moco, infiltración eosinofílica, daño a las células epiteliales y perpetuación de la respuesta inflamatoria mediada por linfocitos T<sub>H</sub>2.<sup>18</sup>

La L-arginina también puede ser metabolizada por la arginasa, cuya actividad es aumentada por citocinas de tipo 2. El aumento en la actividad de la arginasa reduce la disponibilidad de sustrato para eNOS e iNOS, que a su vez reduce la producción de NO y en su lugar se producen aniones superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). La unión de NO con O<sub>2</sub><sup>-</sup> sintetiza perioxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), molécula que aumenta la contractilidad de la vía aérea, predispone a hiperreactividad bronquial y daño tisular.<sup>16, 18</sup>

Además de las citocinas de tipo 2 (IL-4, IL-13), el gen STAT-6 también se ha relacionado con aumento en la expresión de iNOS en el epitelio respiratorio y el incremento en las concentraciones de NO en el aire exhalado.<sup>19</sup>

- **FACTORES QUE ALTERAN FeNO**

Se han identificado múltiples factores que pueden modificar los valores de FeNO, los factores intrínsecos que se han asociado con incremento del FeNO son: la edad por aumento de la superficie mucosa de la vía aérea (principalmente en edad pediátrica), el antecedente de atopia (especialmente la coexistencia de rinitis alérgica y asma) y el género masculino.<sup>9,19</sup>

Los factores extrínsecos también pueden alterar los valores de FeNO, el tabaquismo reduce FeNO en un 30-60% (aunque la reducción es dependiente del consumo diario); una dieta rica en nitratos eleva FeNO hasta en un 40-60%; las infecciones de vías aéreas por Rinovirus pueden incrementar el FeNO hasta en un 50-150% por aumento en la expresión de NOS en el epitelio respiratorio.<sup>19,20</sup>

Los fármacos que se han asociado con reducción significativa de FeNO son los esteroides inhalados y sistémicos, los antagonistas del receptor de leucotrienos y el omalizumab, este efecto se debe a la disminución de la inflamación en la vía aérea.<sup>9</sup> La etnicidad no se considera un factor que interfiera con los valores de FeNO en la población hispana según los resultados publicados por Blake et al.<sup>21</sup>

- **UTILIDAD DE FeNO EN ASMA**

La medición del FeNO es un método cuantitativo, no invasivo y repetible que determina el grado de inflamación tipo 2, mediada por linfocitos T<sub>H</sub>2 y otras células como ICL2, específicamente en el epitelio bronquial desde estadios leves de asma, y evalúa la respuesta al tratamiento antiinflamatorio con corticoesteroides inhalados (CEI).<sup>6,14,22</sup>

En 2011, la *American Thoracic Society* (ATS) propuso los valores de FeNO para el diagnóstico y monitorización del paciente con asma alérgica, y los dividió en tres apartados según el grado de inflamación tipo 2. En adultos los valores son: FeNO <25ppb (bajo) indica que la inflamación T<sub>H</sub>2 es poco probable y que la respuesta a CEI podría ser escasa; FeNO 25-50ppb (intermedio) inflamación probable y una mayor probabilidad de respuesta a CEI; y FeNO >50ppb (alto) sugiere inflamación T<sub>H</sub>2 significativa y una elevada probabilidad de respuesta CEI.<sup>6,23</sup>

En niños <12 años, se ajustaron los valores para interpretación de FeNO, aunque se mantienen los apartados según el grado de inflamación tipo 2. Los valores pediátricos son: FeNO <20ppb (bajo), FeNO 25-35ppb (intermedio) y FeNO >35ppb (alto). Las implicaciones diagnósticas y para monitorización son las mismas que en pacientes adultos.<sup>6,23</sup>

Los valores de FeNO propuestos por la ATS fueron validados mediante un estudio prospectivo en 2018, por lo que mantienen como el parámetro para la interpretación de dicho biomarcador. Sin embargo, un hallazgo del estudio fue que los cambios  $\geq 20\%$  en FeNO pueden considerarse como significativos, aunque no se encuentren en el rango establecido del grado de inflamación tipo 2.<sup>23</sup> Se ha sugerido que encontrar valores de FeNO entre 9-16ppb podría excluir el diagnóstico de asma, sin embargo, aún hace falta evidencia que apoye este hallazgo.<sup>14</sup>

Las guías británicas del *National Institute for Health and Care Excellence* (NICE) clasifican al FeNO como un método diagnóstico objetivo en asma alérgica. A partir de los 17 años se considera FeNO >40ppb como positivo para asma siempre que haya síntomas característicos y demostración de obstrucción al flujo aéreo con reversibilidad. En niños de 5-16 años se considera FeNO >35ppb positivo, sólo cuando el diagnóstico de asma sea dudoso (espirometría normal o con obstrucción sin reversibilidad).<sup>12</sup>

En México, la Guía Mexicana de Asma del 2017, considera al FeNO como un marcador de inflamación eosinofílica, en cuanto a la interpretación señala que un rango normal de FeNO en adultos es <25ppb y en niños <6 años FeNO debe ser <30ppb.<sup>3</sup>

Por último, las guías de la *Global Initiative for Asthma* (GINA), indican que FeNO tiene utilidad como método diagnóstico para determinar inflamación tipo 2 en pacientes asmáticos, y por su asociación modesta con la eosinofilia periférica y en secreciones bronquiales. Sin embargo, no considera a FeNO como un método para establecer o descartar asma en la población general, lo anterior justificado en la falta de evidencia robusta para considerarlo como un estudio de rutina.<sup>2</sup>

Un metaanálisis reciente, determinó la validez de FeNO como prueba diagnóstica en asma. Se incluyó un total de 29 estudios realizados de 2003 hasta 2015, y se encontró que los niveles de FeNO tienen mayor utilidad para confirmar el diagnóstico de asma alérgica que para descartarlo, con una sensibilidad estimada de 0.68 (0.53-0.79) y especificidad 0.83 (0.74-0.89).<sup>14</sup> Sin embargo, la medición de FeNO en conjunto con espirometría con broncodilatador y una prueba de reto bronquial, eleva la certeza del diagnóstico de asma significativamente, con una sensibilidad de 94% y especificidad del 93%.<sup>9</sup>

Los valores de corte de FeNO >20ppb en niños y >25ppb en adultos son suficientes para demostrar la presencia de inflamación tipo 2 de la vía aérea. El uso de puntos de corte de FeNO más elevados (35ppb en niños, 50ppb en adultos) no incrementa la probabilidad diagnóstica de la prueba.<sup>10</sup>

- **ASOCIACIÓN DE FeNO CON DETERIORO DE LA FUNCION PULMONAR.**

Estudios longitudinales en pacientes con asma alérgica han encontrado que la presencia de valores basales altos de FeNO se asocia con aumento en la frecuencia de exacerbaciones, disminución progresiva de los volúmenes pulmonares (VEF<sub>1</sub>) y mayor hiperreactividad de la vía aérea.<sup>8,22,25</sup>

Un estudio realizado en pacientes con asma alérgica investigó si la exposición a alérgenos produce cambios en los valores de FeNO en comparación con sujetos sanos. Todos los participantes fueron sometidos a una prueba de reto con polen de abedul, al cual los pacientes alérgicos estaban sensibilizados, y se midió FeNO antes y 24 horas después de la prueba de reto. Los resultados mostraron que en los sujetos con asma alérgica hubo incremento en la expresión de iNOS, así como elevación significativa de los valores de FeNO tras la exposición a alérgenos.<sup>26</sup>

Matstunaga et al. evaluaron en una cohorte de 128 pacientes con asma, la disminución anual de VEF<sub>1</sub> y su asociación con los niveles de FeNO; los resultados a 3 años mostraron que un valor de FeNO >40ppb se asocia con disminución anual acelerada de VEF<sub>1</sub> ≥40 ml/año (S:43%, E:86%), mayor riesgo de obstrucción fija de la vía aérea (FEV<sub>1</sub>/FVC <70%), y reducción gradual en la respuesta del paciente a broncodilatadores.<sup>22</sup>

La persistencia de niveles elevados de FeNO (>50ppb) a pesar de la terapia con CEI a dosis óptimas sugiere: mal apego al tratamiento, técnica inadecuada en el uso del inhalador, incremento en la exposición a alérgenos; y puede tener como consecuencias un mayor riesgo de exacerbaciones y necesidad de aumentar la dosis de CEI para lograr control de los síntomas.<sup>9,10</sup> Sin embargo, dosis elevadas de CEI por tiempo prolongado tienen riesgo de eventos adversos como candidiasis oral, disfonía, cataratas y retraso del crecimiento en niños.<sup>19</sup>

Estudios en población pediátrica menor a 5 años señalan que valores de FeNO >35ppb se asocian con mayor disminución de VEF<sub>1</sub> y de CVF, sugiriendo que niveles elevados de FeNO afectan el desarrollo y función pulmonar.<sup>27</sup>

Cabe mencionar que la obesidad es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de asma, y tiene un impacto significativo en la función ventilatoria. La obesidad reduce el volumen espiratorio de reserva y la capacidad residual funcional, y en asociación con niveles elevados de FeNO ( $\geq 25$  ppb) se ha observado una disminución de FEV<sub>1</sub> y FEV<sub>1</sub>/FVC, en comparación con pacientes obesos y FeNO normal.<sup>28</sup> En el asma asociado con obesidad encontrar valores bajos de FeNO puede representar un fenotipo en el que los síntomas son causados por la misma obesidad, y no por la inflamación y obstrucción de la vía aérea.<sup>28</sup>

- **FeNO COMO GUÍA EN LA MONITORIZACIÓN Y TRATAMIENTO DE ASMA ALÉRGICA**

El objetivo del tratamiento en asma se enfoca en el adecuado control de la enfermedad mediante la supresión de los síntomas respiratorios. Las prácticas recomendadas para lograr las metas de tratamiento requieren de una evaluación periódica del paciente mediante interrogatorio y exploración física, función pulmonar y determinación de biomarcadores.<sup>11,29</sup>

El uso de FeNO como parámetro para ajuste de tratamiento antiinflamatorio fue evaluado por Syk et al. en 187 pacientes con asma alérgica. Los participantes recibieron terapia con CEI y se les dio seguimiento a lo largo de 1 año. Se observó en los resultados que en el grupo de pacientes que fueron monitorizados periódicamente con FeNO, hubo mejoría en el control de los síntomas y una reducción significativa en la frecuencia de exacerbaciones moderadas.<sup>22</sup>

Las exacerbaciones moderadas de asma alérgica tienen una mayor asociación con incremento en la exposición a alérgenos, por tanto, la respuesta a los CEI también es mayor.<sup>22</sup> Se estima que encontrar niveles elevados de FeNO o un aumento  $\geq 50\%$  del valor basal en los 3 meses previos a la última visita médica, pueden predecir el riesgo de una exacerbación con un valor predictivo positivo del 80-90%.<sup>25,29</sup>

El Asthma Control Test (ACT) es un cuestionario validado para determinar el control de la enfermedad por medio de cinco preguntas sobre la presentación y la frecuencia de aparición de los síntomas; lo que se evalúa es: la frecuencia de uso de terapia de rescate, percepción del paciente sobre control de los síntomas, disnea, despertares nocturnos e interferencia de síntomas con actividades diarias.<sup>30</sup> Un puntaje  $\leq 19$  puntos señala un control inadecuado (S:71%, E:71%); mientras que un puntaje  $\leq 15$  puntos predicen asma descontrolado.<sup>31</sup>

Diferentes factores pueden aumentar considerablemente el riesgo de exacerbaciones en asma, uno de los más importantes es el asma descontrolado, aunque existen otros como: la falta de tratamiento antiinflamatorio, uso frecuente de SABA,  $VEF_1 < 60\%$  del predicho y valores elevados de FeNO.<sup>11</sup> Cruvinel et al. evaluaron en un estudio retrospectivo la capacidad de FeNO para discriminar entre pacientes con asma descontrolado, parcialmente controlado y controlado; sus hallazgos demostraron que los pacientes con asma descontrolado tienen niveles de FeNO significativamente mayores que los pacientes controlados y parcialmente controlados. Los resultados sugieren que el nivel de FeNO tiene correlación con el control de síntomas, y que si este es inadecuado aumenta el riesgo de exacerbaciones.<sup>32</sup>

Shiota *et al.* encontraron una asociación entre algunos de los parámetros evaluados en el cuestionario ACT y el tipo de inflamación predominante en pacientes adultos con asma. Aquellos pacientes con más síntomas nocturnos tuvieron una mayor concentración de eosinófilos en el esputo, mientras que los pacientes en los que predominó el uso de SABA de rescate tuvieron mayor concentración de neutrófilos en esputo.<sup>33</sup> Lo anterior apoya el hecho de que existe inflamación eosinofílica subyacente a pesar del tratamiento antiinflamatorio con CEI, misma que correlaciona con la permanencia de síntomas nocturnos.<sup>33</sup>

Debido a la importancia que tiene el mecanismo inflamatorio en la progresión del asma, principalmente por su cronicidad y los cambios irreversibles que genera en la vía aérea; el uso de FeNO es fundamental como herramienta para confirmar el diagnóstico y fenotipo de asma, pero también para modificar el pronóstico del paciente al iniciar de forma temprana la terapia antiinflamatoria, reducir el riesgo de exacerbaciones con detrimento del funcionamiento pulmonar y mejorar su calidad de vida.<sup>8,15,34</sup>

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El asma es una enfermedad crónica cuya historia natural se caracteriza por remisiones y exacerbaciones de síntomas respiratorios, y dada la heterogeneidad del cuadro clínico es fundamental que se identifique de manera temprana el mecanismo fisiopatológico que condiciona el proceso inflamatorio, para así intervenir oportunamente con tratamiento específico y prevenir la remodelación de la vía aérea, así como el riesgo de exacerbaciones. Actualmente el diagnóstico de asma requiere pruebas de función pulmonar como parámetro objetivo para demostrar la obstrucción reversible al flujo aéreo, sin embargo, en gran número de pacientes se puede obtener una espirometría normal o con obstrucción sin reversibilidad, situación que no descarta el diagnóstico de asma y retrasa el inicio del tratamiento.

La utilización de la fracción exhalada de óxido nítrico (FeNO) como biomarcador indirecto de inflamación tipo 2 permite identificar a los pacientes con asma alérgica cuyo fenotipo de la enfermedad esta mediado principalmente por linfocitos T<sub>H</sub>2, pues aún en estados de inflamación leve o ausencia de síntomas, se puede obtener un valor numérico que oriente la decisión de iniciar o ajustar la terapia con CEI, y adicionalmente permite descartar a los pacientes cuyo fenotipo inflamatorio es distinto.

## **JUSTIFICACIÓN**

FeNO es un marcador indirecto de inflamación tipo 2 en la vía aérea, en el que se encuentran involucrados los linfocitos T<sub>H</sub>2, células linfoides innatas tipo 2 (ICL2), eosinófilos, y macrófagos, entre otros, los cuales producen citocinas inflamatorias predominantemente IL-4, IL-5 e IL-13, y que son las responsables de los cambios en la vía aérea en asma alérgica al mantener un ambiente proinflamatorio.

El contacto e identificación de aeroalergenos por las células epiteliales de la vía aérea, desencadena el mecanismo inflamatorio orientando la respuesta inmune hacia el tipo T<sub>H</sub>2. IL-13 e IL-4 son las principales citosinas involucradas en el aumento de la producción de NO al incrementar la expresión de la enzima iNOS en el epitelio respiratorio. El aumento en las concentraciones de NO tiene actividad citotóxica que contribuyen al daño tisular en la vía aérea y perpetúan la respuesta inflamatoria mediada por linfocitos T<sub>H</sub>2; clínicamente estos cambios se traducen en mayor hiperreactividad bronquial y aumento en la contractilidad.

Los valores para la interpretación de FeNO propuestos por la ATS han sido validados para determinar el grado de inflamación tipo 2. Estos valores aportan evidencia objetiva para el diagnóstico de asma alérgica y en la monitorización del paciente para evaluar apego y ajustar el tratamiento antiinflamatorio con corticoesteroides inhalados.

En múltiples estudios experimentales, se ha observado que niveles persistentemente elevados de FeNO tienen relación con el deterioro progresivo de la función pulmonar, debido al microambiente inflamatorio crónico T<sub>H</sub>2 que paulatinamente produce cambios irreversibles (remodelamiento) en la vía aérea, menor respuesta al tratamiento antiinflamatorio y mayor riesgo de exacerbaciones de asma.

Mediante la determinación de FeNO desde la primera visita de los pacientes, en conjunto con la medición de valores espirométricos (VEF<sub>1</sub> y CVF/VEF<sub>1</sub>), se podrá identificar el grado de inflamación tipo 2 presente en los pacientes y determinar si existe un mayor riesgo de deterioro temprano de la función pulmonar, que tendría impacto significativo en la funcionalidad del paciente y en su calidad de vida.

## **HIPOTESIS**

En pacientes adultos con diagnóstico de asma alérgica, si los niveles elevados de la fracción exhalada de óxido nítrico ( $\geq 25$ ppb) se asocian con mayor obstrucción al flujo aéreo determinado por el porcentaje de VEF<sub>1</sub>, entonces entre más elevado sea el valor de FeNO menor será el porcentaje de VEF<sub>1</sub>; lo que supone una relación inversa entre aumento en la inflamación T<sub>H</sub>2 de la vía aérea y disminución progresiva de la función pulmonar.

## **OBJETIVOS**

### **5.1.1 OBJETIVO PRIMARIO**

- Determinar en pacientes con asma alérgica, si los niveles elevados de FeNO tienen relación con mayor obstrucción al flujo aéreo (VEF<sub>1</sub>), y si la persistencia de FeNO elevado se traduce en disminución progresiva de la función pulmonar.

### **5.1.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- Evaluar el control de la enfermedad de los pacientes mediante el cuestionario *Asthma Control Test* en donde un puntaje menor a 15 puntos significa síntomas descontrolados, y si este puntaje se modifica con la reducción de los valores de FeNO.
- Conocer la respuesta al tratamiento antiinflamatorio establecido por las guías GINA con esteroide inhalado, y si este produce cambios en los valores de FeNO, en el riesgo de exacerbaciones y reducción en el uso de tratamiento de rescate (SABA)

## MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1.0 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la asociación que existe entre la fracción exhalada de óxido nítrico, biomarcador de inflamación tipo 2 en la vía aérea, y la disminución progresiva de la capacidad pulmonar en pacientes con asma alérgica?

### 6.1.1 TIPO y DISEÑO DEL ESTUDIO

- Estudio prospectivo, transversal, **de asociación**, no aleatorizado

### 6.1.2 POBLACIÓN Y TAMAÑO DE LA MUESTRA.

La población requerida para la realización del estudio será seleccionada a partir del número de pacientes adultos, que acudieron a consulta de primera vez al servicio de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital General de México. Su inclusión al estudio dependerá de que cumplan con los criterios establecidos por guías las GINA para el diagnóstico de asma alérgica: presencia de síntomas respiratorios, biomarcadores específicos de inflamación T<sub>H</sub>2 y espirometría con broncodilatador.

Se considera que el universo de pacientes de donde se tomará la muestra necesaria para realizar el estudio proviene de la población que acude por primera vez a la consulta por síntomas de asma. Se estima que este número es de 600 pacientes en el transcurso de 1 año. Al aplicar un error de muestra del 5% y un intervalo de confianza del 95%, se utilizó el coeficiente de Pearson para calcular el tamaño de la muestra que permita hacer la asociación entre dos variables cuantitativas.

Se consideró que una población de 32 pacientes es necesaria para el estudio, sin embargo, se agregará un 20% adicional (6 pacientes) para solventar pérdidas, dando un total de 38 pacientes.

Fórmula:

$$N = \left[ \frac{(Z\alpha + Z\beta)}{0.5 \ln \left[ \frac{(1+r)}{(1-r)} \right]} \right]^2 + 3$$

<p><math>r</math> = Valor del coeficiente de correlación que se supone existe en la población <math>\alpha</math> = Nivel de significancia <math>\beta</math> = Potencia de la prueba <math>\ln</math> = logaritmo natural o neperiano</p>
--

$$N = \left[ \frac{(1.96+0.84)}{0.5 \ln \left[ \frac{(1+0.48)}{(1-0.48)} \right]} \right]^2 + 3 = 32$$



### **6.1.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN**

- **CRITERIOS DE INCLUSION**

- Adultos mayores de 18 años
- Diagnóstico clínico reciente de asma alérgico
- Contar con los siguientes estudios: espirometría con broncodilatador, cuenta total de eosinófilos periféricos, niveles séricos de inmunoglobulina E (IgE) total y pruebas epicutáneas positivas.

- **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Haber recibido tratamiento con corticoesteroides inhalados en los últimos 3 meses
- Diagnóstico de asma no alérgico (asociado a obesidad, asociado a tabaquismo)
- Resultado de espirometría con patrón restrictivo
- Tabaquismo actual

- **CRITERIOS DE ELIMINACIÓN**

- No acudir a realización de estudios
- No autorización de procedimientos
- No seguimiento del tratamiento antiinflamatorio indicado

### **6.1.4 METODOLOGÍA DEL ESTUDIO.**

El reclutamiento y selección de pacientes se realizó en el periodo de octubre 2019 a marzo 2020. Los participantes acudieron a consulta de primera vez por síntomas de asma y fueron considerados para el estudio si cumplían con criterios de inclusión (mayores de 18 años, diagnóstico reciente de asma alérgica, contar con estudios paraclínicos completos, haberse realizado pruebas cutáneas con positividad para al menos un aéroalergen, sin tratamiento farmacológico con corticoesteroides inhalados en los últimos 3 meses), y posteriormente se midió de la fracción exhalada de óxido nítrico (FeNO). Previo al inicio del estudio, todos los pacientes firmaron el consentimiento informado para su participación.

Inicialmente se consideró hacer dos mediciones subsecuentes de FeNO con dos espirometrías correspondientes, sin embargo, el 11 de marzo 2020 la Organización Mundial de la Salud declaró el brote de SARS-CoV-2 como pandemia. Por el riesgo de contagio de COVID-19 que implicaba mantener la consulta sin las medidas de protección para asegurar el bienestar del personal de salud y pacientes, el Hospital General de México tomó la decisión de suspender la consulta externa hasta que lograr minimizar el riesgo. Esta situación impidió continuar el estudio como se tenía planeado, de tal manera que los datos que fueron presentados y analizados son los correspondientes a la visita inicial de cada uno de los pacientes incluidos.

- **Biomarcadores**

Los biomarcadores utilizados para definir el fenotipo T<sub>H</sub>2 de asma alérgica en los pacientes fueron la cuantificación de eosinófilos periféricos y la inmunoglobulina E sérica total. Las muestras de sangre para la medición de estos biomarcadores fueron tomadas y procesadas en el Laboratorio Central del Hospital General de México.

El número total de eosinófilos se obtiene mediante la tinción de sangre en una laminilla, en la que los eosinófilos muestran gránulos rojos-naranjas, y se cuenta el número de eosinófilos presentes en un área por cada 100 células. El porcentaje de eosinófilos se multiplica por el número total de leucocitos para determinar la cuenta total de eosinófilos. Para fines del estudio se consideró eosinofilia periférica tener una cuenta total mayor a 300 células/  $\mu$ l.

La inmunoglobulina E total se obtuvo a través de una técnica de inmunoensayo ligado a enzimas para identificación semicuantitativa. Se consideró que valores mayores a 165 UI/ml en adultos son compatibles con el fenotipo de asma alérgica.

- **Pruebas de Función Pulmonar**

Las pruebas de función pulmonar en asma son un método objetivo para demostrar la obstrucción al flujo aéreo durante la espiración y su fluctuación en el tiempo. La relación FEV<sub>1</sub>/CVF por debajo del 70% es diagnóstica de obstrucción al flujo aéreo y la gravedad de la obstrucción la indica el valor de VEF<sub>1</sub> en relación con un valor predicho.

Las espirometrías simples y con broncodilatador se realizaron en el Laboratorio de Fisiología Pulmonar del Hospital General de México. Todos los pacientes fueron capacitados previo a la realización de la prueba, y posteriormente se les dio un máximo de 8 intentos para obtener una espirometría que cumpliera con los parámetros de calidad. Los 3 mejores intentos de cada paciente fueron analizados automáticamente por el espirómetro y se obtuvo un reporte impreso con los volúmenes pulmonares y curvas de volumen-tiempo.

En el presente estudio se consideró como obstrucción al flujo aéreo una VEF<sub>1</sub>/CVF <70%; la gravedad de la obstrucción se determinó con el valor de VEF<sub>1</sub> % del predicho como: normal >80%, obstrucción leve >70%, obstrucción moderada 60-69%, y obstrucción moderadamente grave y grave <60%. Este porcentaje es reportado automáticamente en el resultado de la espirometría.

- **Pruebas Cutáneas**

Las pruebas cutáneas por punción epicutáneas son un método mínimamente invasivo con resultados de rápida disponibilidad y alta reproducibilidad. Tienen aproximadamente un 90% de sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de

rinoconjuntivitis, asma, dermatitis atópica y alergia alimentaria. Consisten en la aplicación de una pequeña cantidad del extracto alergénico sobre la piel de la espalda del paciente, y mediante una punción se logra la penetración de pequeñas cantidades del alérgeno por debajo de la epidermis.

Las pruebas cutáneas demuestran clínicamente la existencia de IgE específica en la superficie de los mastocitos dérmicos, que en pacientes sensibilizados provoca liberación de histamina y una respuesta cutánea caracterizada por la formación de una pápula rodeada de eritema que produce prurito de intensidad variable.

Después de aplicar sobre la piel los extractos alergénicos se realiza la lectura al haber transcurrido 15 a 20 minutos. Se considera una prueba positivo cuando la pápula resultante del extracto alergénico es  $\geq 3$ mm de diámetro en comparación con el control negativo. En todos los pacientes incluidos en el estudio se realizaron pruebas cutáneas para los aéroalergenos más frecuentes.

- **Fracción Exhalada de Óxido Nítrico (FeNO)**

Una vez corroborado el diagnóstico de asma alérgica con biomarcadores de inflamación  $T_H2$ , espirometría y pruebas cutáneas, se realizó la medición de la fracción exhalada de óxido nítrico en los consultorios del servicio de Alergia e Inmunología del Hospital General.

La medición de FeNO se realizó con el dispositivo portátil NIOX VERO®, mide la concentración del óxido nítrico en el aliento exhalado utilizando un sensor electroquímico y filtros desechables, con gran precisión y reproducibilidad. La prueba comienza con una inhalación profunda a través del filtro hasta la llegar a la capacidad total pulmonar y posteriormente debe exhalar lentamente por 10 segundos con un flujo de 50ml/s. El resultado se obtiene en un minuto, y señala la concentración de NO en partes por billón (ppb).

La interpretación de los valores de FeNO para este estudio sigue las recomendaciones del 2011 de la ATS, que señalan el grado de inflamación tipo  $T_H2$  presente en la vía aérea. Los valores son: inflamación baja  $<25$ ppb, inflamación moderada 25-50ppb, e inflamación alta  $>50$ ppb.

- **Cuestionario *Asthma Control Test***

El cuestionario ACT es una herramienta para evaluar el grado de control de asma y el impacto que tienen los síntomas en la calidad de vida del paciente durante las últimas 4 semanas. Se utilizan 5 preguntas que evalúan en una escala del 1 al 5 (siempre, casi siempre, algunas veces, pocas veces, nunca): la frecuencia de uso de terapia de rescate, percepción del paciente sobre control de los síntomas, disnea, despertares nocturnos e interferencia de síntomas con actividades diarias. Se obtiene un total de 25 puntos; y entre menor sea el puntaje obtenido, será mayor el descontrol de los síntomas.

Aunque el ACT esta validado para determinar el control del asma por el tratamiento farmacológico, se aplicó el cuestionario a todos los pacientes durante su primera visita para conocer el impacto que tenían los síntomas de asma en su vida diaria, y aunque no lo tenían indicado, la frecuencia con la consideraron necesitar tratamiento para resolución de los síntomas.

#### 6.1.4 DEFINICIÓN OPERACIONAL DE LAS VARIABLES

Variables	Definición	Dimensión	Indicador	Escala	Tipo Variable
<b>Edad</b>	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la fecha de último seguimiento	Tiempo transcurrido	Años cumplidos desde la fecha de su nacimiento	Numérica	Cuantitativa Discreta
<b>Género</b>	Son las características fenotípicas que diferencian al hombre de la mujer	Características fenotípicas	Fenotipo	1.- Hombre 2.-Mujer	Cualitativa Nominal
<b>Índice de Masa Corporal</b>	Asociación de la masa y talla de un individuo	Normal: 18.5 a 24.9 kg/m <sup>2</sup>	Bajo Peso: <18.5 kg/m <sup>2</sup> Normal: 18.5 a 24.9 kg/m <sup>2</sup> , Sobrepeso: 25-29.9 kg/m <sup>2</sup> , Obesidad GI: 30-34.9 kg/m <sup>2</sup> , Obesidad GII: 35-39.9 kg/m <sup>2</sup> , Obesidad GIII: ≥40 kg/m <sup>2</sup>	Numérica en kg/m <sup>2</sup>	Cuantitativa Continua
<b>IgE sérica total</b>	Recuento en sangre periférica de Inmunoglobulina E total	Normal (menos de 165UI/ml) y patológica (mayor de 165UI/ml)	Normal (menos de 165UI/ml) y patológica (mayor de 165UI/ml)	1.- Normal 2.- Elevada	Cuantitativa Dicotómica
<b>Eosinófilos totales</b>	Recuento en sangre periférica de eosinófilos totales	Normal: 100-300 células/ μl	Normal: 100-300 células/ μl y patológico >300 células/ μl	1.- Normal 2.- Elevada	Cuantitativa Dicotómica
<b>Pruebas cutáneas</b>	Las pruebas cutáneas consisten en reproducir una reacción alérgica en la piel.	Se realizará pruebas cutáneas a todos los pacientes con los aéroalergenos más frecuentes en nuestra población (pólenes, ácaros, mohos y epitelios).	Se considera positiva cuando se produce una pápula de 3 mm de diámetro o una diferencia de 3 mm con respecto al control negativo	1.-Positivas 2.- Negativas	Cualitativa Dicotómica

<b>Porcentaje de la relación entre Capacidad Vital Forzada (CVF) y Volumen Espiratorio Forzado en el primer segundo (VEF<sub>1</sub>)</b>	Porcentaje del máximo volumen total que puede ser espirado en el primer segundo	Normal: >75%	<75% Obstrucción	Numérica en % de VEF <sub>1</sub> /CVF	Cuantitativa Continua
<b>Porcentaje del Volumen espiratorio forzado en el primer segundo (VEF<sub>1</sub>)</b>	Porcentaje predicho de acuerdo con la edad de cada paciente del volumen que puede ser exhalado durante una espiración forzada en el primer segundo	> 80% Normal	>70% obstrucción leve; 60-69% obstrucción moderada, <60% obstrucción moderadamente grave y grave	Numérica en % de VEF <sub>1</sub>	Cuantitativa Continua
<b>Valor de la fracción exhalada de óxido nítrico (FeNO)</b>	Valor numérico asociado a inflamación tipo TH <sub>2</sub> en la vía aérea	<20 ppb Normal	leve: 21-25ppb Intermedio: 25-50 ppb Alto >50ppb	Numérica en ppb	Cuantitativa Continua
<b>Puntaje de cuestionario Asthma Control Test (ACT)</b>	Valor numérico asociado al control de síntomas de asma en las últimas 4 semanas	Normal:>20 puntos (asma controlado)	Parcialmente controlado (16-19 puntos) Descontrolado (<15 puntos)	1. Controlado 2. Parcialmente controlado 3. Descontrolado	Cualitativa Discontinua

### 6.1.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La recolección de datos se llevó a cabo al término de la primera visita de cada paciente, se registraron la información correspondientes a peso, talla, biomarcadores séricos, espirometría, FeNO y puntaje del cuestionario ACT.

El análisis y procesamiento de los datos se realizó con el programa IBM SPSS Statistics 23 para determinar si existe una asociación entre las variables que corresponden a biomarcadores de inflamación tipo TH<sub>2</sub> y la obstrucción al flujo aéreo por los volúmenes pulmonares medidos. Para variables cuantitativas se empleará media, mediana, desviación estándar, y mínimos y máximos.

Para determinar la asociación entre variables (FeNO, eosinófilos totales, inmunoglobulina E total, porcentaje de VEF<sub>1</sub>, porcentaje de VEF<sub>1</sub>/CVF, puntaje ACT) se realizará el coeficiente de correlación de Pearson para correlaciones

bivariadas. Se considerará significancia estadística un valor de  $p < 0.05$ . Los datos obtenidos serán presentados con tablas y figuras.

## CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

	Presentación del proyecto	Diseño del Protocolo	Aprobación y Reclutamiento de pacientes	Recolección de datos y análisis de datos	Análisis de resultados y entrega del proyecto
AGOSTO					
SEPTIEMBRE					
OCTUBRE					
NOVIEMBRE					
DICIEMBRE					
ENERO					
FEBRERO					
MARZO					
ABRIL					
MAYO					
JUNIO					
JULIO					

## ASPECTOS ÉTICOS Y DE BIOSEGURIDAD

La participación de los pacientes con asma en este protocolo permitirá ampliar el conocimiento sobre el FeNO, uno de los biomarcadores que ya son utilizados en esta enfermedad. La mayoría de las pruebas a las que serán sometidos los participantes son de tipo no invasivo (espirometría, medición de FeNO), el resto de las pruebas (biometría hemática, pruebas epicutáneas) son procedimientos de rutina para lo que ya hay planes de acción establecidos para reducir el riesgo de eventos adversos asociados a estos, especialmente la pruebas epicutáneas. El beneficio que potencialmente obtendrán los pacientes es un control más temprano de los síntomas de asma, por medio de la monitorización constante del FeNO que se traduce en inflamación de la vía aérea, y el ajuste oportuno del tratamiento antiinflamatorio, ya sea con reducción o escalamiento de la dosis para mantener a la enfermedad controlada.

## RESULTADOS

En total, se reclutaron 28 pacientes con diagnóstico de asma alérgica, sin embargo, 6 pacientes no contaban con espirometría al momento de la evaluación, motivo por el cual se excluyeron del análisis de datos. La población que se incluyó en el análisis estadístico fue de 22 pacientes adultos entre 19 y 63 años, la media de edad fue de 38 años. En la población de estudio, hubo predominio del género femenino (16 mujeres [72.7%]) en comparación con los participantes del género masculino (6 hombres [27.3%]). Al ser clasificados por el índice de masa corporal se encontró que un 36.3% de pacientes se encontraban dentro del rango normal, 31.9% con sobrepeso, y 27.1% con obesidad en distintos grados, solo un participante fue clasificado con peso bajo. Las características demográficas de los pacientes se describen en la TABLA 1.

**TABLA 1.  
CARACTERÍSTICAS DE PACIENTES CON ASMA  
ALÉRGICA**

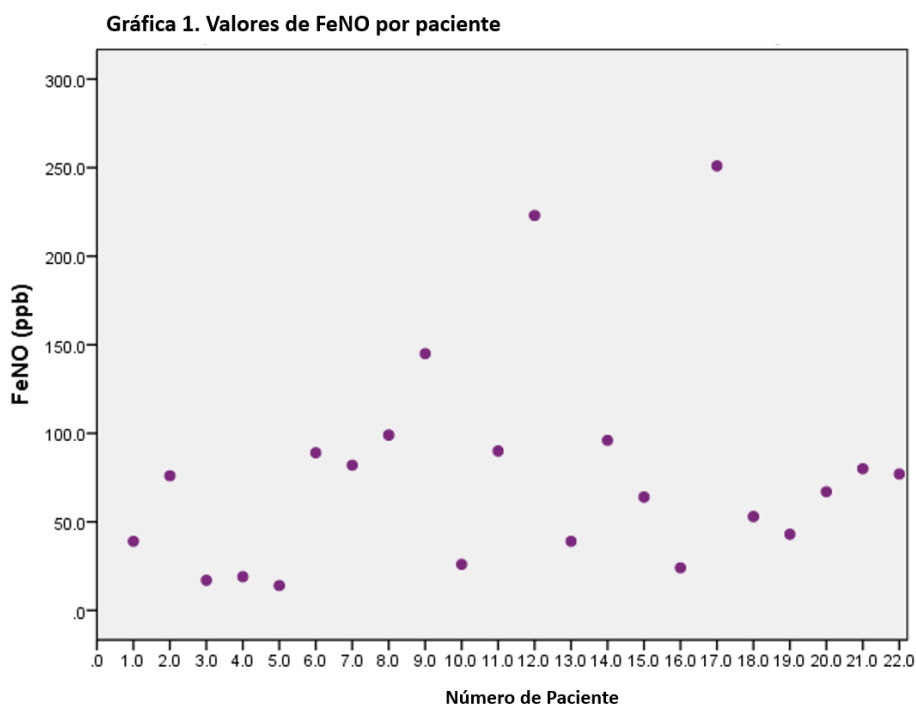
<b>Número de pacientes</b>	22 (100%)
<b>Género</b>	
- Masculino	6 (27.3%)
- femenino	16 (72.7%)
<b>Índice de Masa Corporal</b>	
- Bajo peso	1 (4.5%)
- Normal	8 (36.3%)
- Sobrepeso	7 (31.8%)
- Obesidad grado I	4 (18.2%)
- Obesidad grado II	1 (4.5%)
- Obesidad grado III	1 (4.5%)
<b>Pruebas Cutáneas</b>	
- Positivas	22 (100%)
- Negativas	0
<b>Cuenta total de eosinófilos periféricos</b>	
- <300 células/ $\mu$ l	9 (41%)
- >300 Células/ $\mu$ l	13(59%)
<b>Inmunoglobulina E total</b>	
- <165 UI/ml	7 (31.8%)
- >165 UI/ml	16 (68.2%)
<b>FeNO</b>	
- Bajo (<25ppb)	4 (18.2%)
- Intermedio (25-30 ppb)	4 (18.2%)
- Alto (>50ppb)	14 (63.6%)
<b>VEF<sub>1</sub>/CVF (obstrucción al flujo aéreo)</b>	
- Normal	13(59%)
- Obstrucción	9 (41%)
<b>Porcentaje de VEF<sub>1</sub> (severidad de la obstrucción)</b>	
- NORMAL (>80%)	13 (59%)
- LEVE ( $\geq$ 70%)	7 (31.8%)
- MODERADA (60-69%)	1 (4.5%)
- MODERADA GRAVE Y GRAVE (<60%)	1 (4.5%)
<b>Puntaje de ACT</b>	
- Asma controlado	3 (13.6%)
- Asma parcialmente controlado	6 (27.3%)
- Asma descontrolado	13 (59%)

- **Biomarcadores.**

**Eosinófilos periféricos.** El 59% (n=13) de los pacientes presentaron eosinofilia periférica en la biometría hemática, hecho que es compatible con el fenotipo de asma alérgica por ser un marcador sistémico de inflamación mediada por citocinas tipo 2, principalmente IL-5. El 41% (n=9) restante de pacientes se encontraron con la cuenta total de eosinófilos periféricos dentro del rango normal.

**Inmunoglobulina E.** Se observó que un 68.2% (n=15) de los pacientes tenían IgE total elevada, mientras que el 31.8% (n=7) se encontraron dentro del rango normal.

**FeNO.** En los resultados obtenidos de la fracción exhalada de óxido nítrico predominaron los valores elevados, sugerentes de una alta probabilidad de inflamación tipo 2 en la vía aérea de los pacientes. El 63% (n=14) de los pacientes tuvo FeNO >50ppb o rango alto, el 18.2% (n=4) tuvo FeNO entre 25-50 ppb o rango intermedio, y 18.2% (n=4) pacientes tuvieron FeNO <25 ppb o rango bajo. El valor de FeNO más elevado que obtuvimos fue de 251 ppb, mientras que el valor más bajo fue de 14 ppb. Los valores individuales de FeNO se describen en la **GRAFICA 1.**

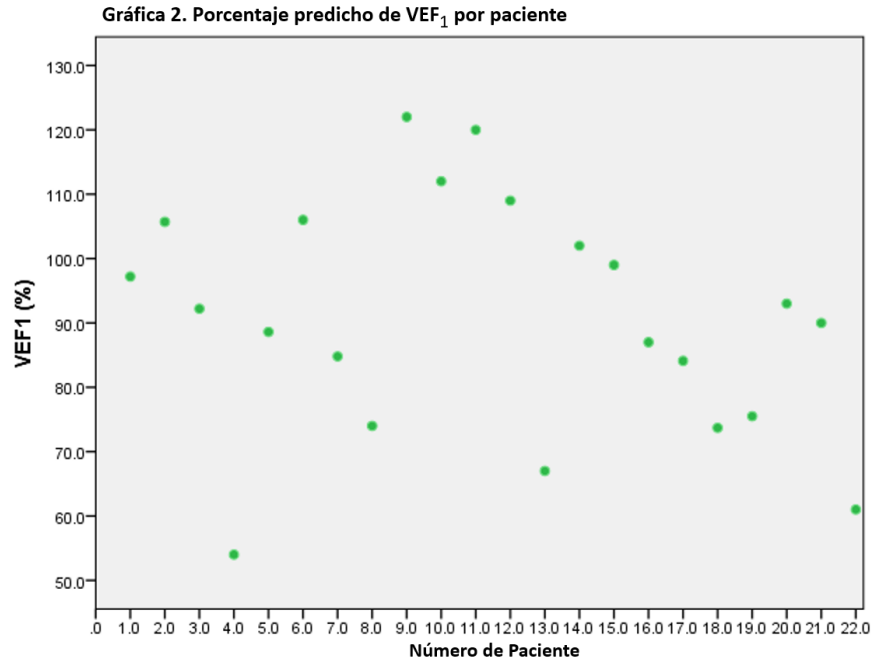




- **Volúmenes Pulmonares.**

**CVF/VEF<sub>1</sub>.** Es la medida más importante para identificar obstrucción al flujo aéreo, sin embargo, definir una relación CVF/VEF<sub>1</sub> fija no se recomienda en adultos ya que esta es dependiente de la edad y la talla. De tal manera, que se utilizó una aproximación estadística del 5% para establecer el límite inferior a la normalidad (LIN), basada en los resultados del estudio NHANES-III. De tal forma que, en el presente estudio los volúmenes pulmonares por espirometría del 59% (n=13) de los pacientes no mostraron obstrucción al flujo aéreo, no obstante, el 41% (n=9) de los pacientes si presentaron obstrucción reversible al flujo aéreo. Es importante reiterar, que una espirometría normal o sin datos de obstrucción, no descarta el diagnóstico de asma y se recomienda la realización de pruebas de función pulmonar seriadas.

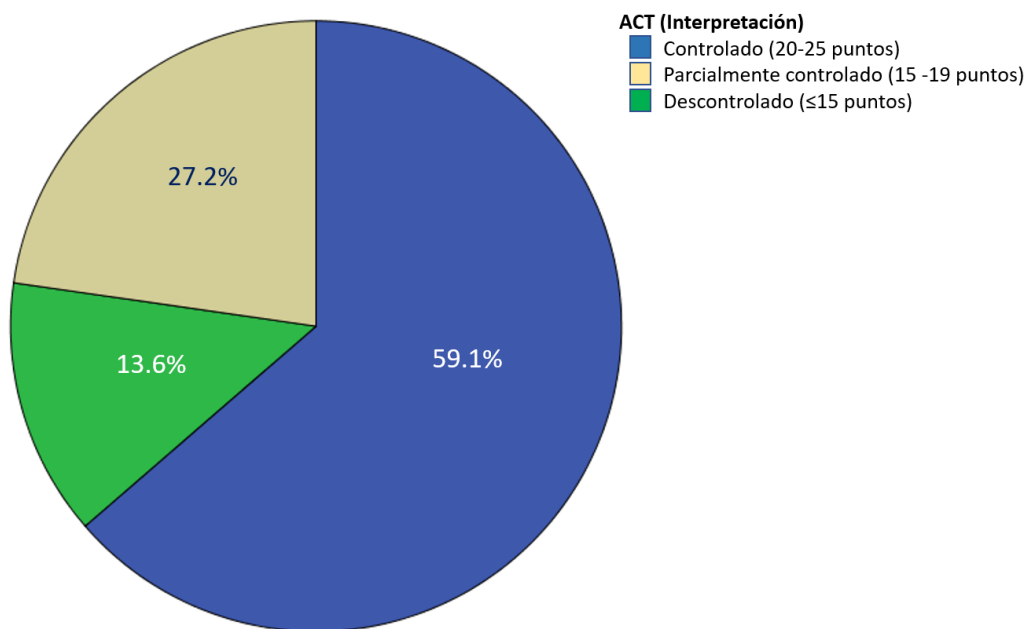
**VEF<sub>1</sub> (porcentaje).** El grado de severidad de la obstrucción al flujo aéreo se obtuvo con el porcentaje predicho de VEF<sub>1</sub> reportado en la espirometría. Los pacientes que se encontraron dentro del rango de la normalidad fueron 13 (59%), 7 (31.8%) pacientes presentaron obstrucción leve, 1 (4.5%) paciente con obstrucción moderada y 1 (4.5%) con obstrucción moderadamente severa. En la mayoría de los participantes no se observó obstrucción al flujo aéreo durante la espirometría, sin embargo, hay que considerar la variabilidad que tiene la presentación de síntomas en asma. Los porcentajes individuales de VEF<sub>1</sub> se describen en la **GRÁFICA 2**.



- **Parámetros Clínicos.**

**Asthma Control Test.** El cuestionario sobre la frecuencia e intensidad de los síntomas de asma mostró que la mayoría de los pacientes considera que sus síntomas están controlados y que no interfieren en la realización de sus actividades diarias. El 59% (n=13) calificó los síntomas como controlados, 27.2% (n=6) como parcialmente controlados, y 13.6% (n=3) como descontrolados (**GRÁFICA 3**). La media del puntaje en la población de pacientes fue de 19 puntos, es decir, control parcial de los síntomas.

Gráfica 2. Porcentaje de los puntajes obtenidos en el *Asthma Control Test*



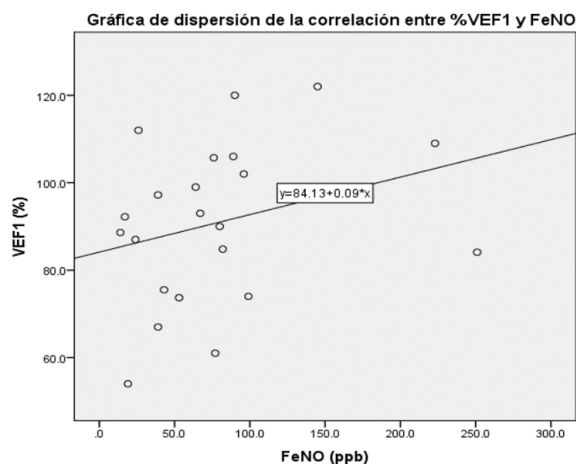
- **Asociación entre FeNO y Volúmenes Pulmonares.**

El objetivo principal del estudio fue determinar si existe una asociación entre FeNO, un marcador de inflamación local en la vía aérea, y la disminución progresiva de la función pulmonar medida por volúmenes espirométricos. El método que se utilizó para encontrar esta asociación fue el coeficiente de correlación de Pearson para análisis bivariado, se consideró a VEF<sub>1</sub> como variable dependiente y a FeNO como variable independiente.

Los resultados del análisis siguieron una tendencia en la que entre más elevado fue el valor de FeNO, mayor fue el porcentaje predicho de VEF<sub>1</sub>, es decir, que contrario a la hipótesis propuesta el FeNO no tiene correlación con la severidad de la obstrucción en pacientes con asma (p=0.195). Sin embargo, este resultado puede haber sido afectado por dos motivos: 1) el tamaño de la muestra fue menor al

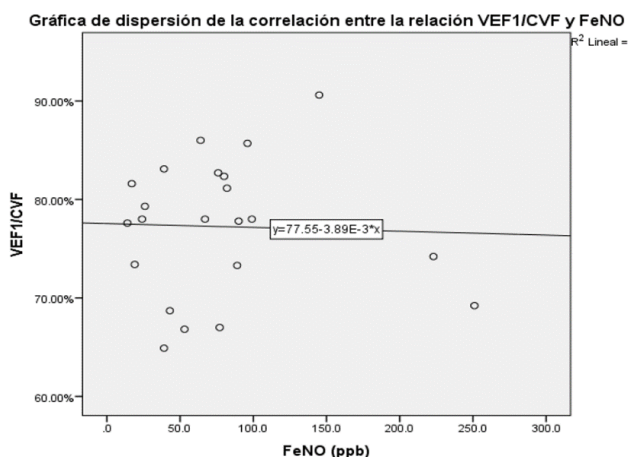
calculado por la exclusión de 6 pacientes que no contaban con espirometría, y la dificultad para reclutar el resto de la población; y 2) un requisito para la inclusión al estudio fue el diagnóstico reciente de asma alérgico, por lo que los cambios inflamatorios crónicos propios de la enfermedad aún no pueden ser evidenciados en la mayoría de los pacientes, de tal forma que en la espirometría el porcentaje predicho de VEF<sub>1</sub> se encontraba conservado (**GRAFICA 4**)

Correlaciones			
		FeNO (ppb)	VEF1 (%)
FeNO (ppb)	Correlación de Pearson	1	.287
	Sig. (bilateral)		.195
	N	22	22
VEF1 (%)	Correlación de Pearson	.287	1
	Sig. (bilateral)	.195	
	N	22	22



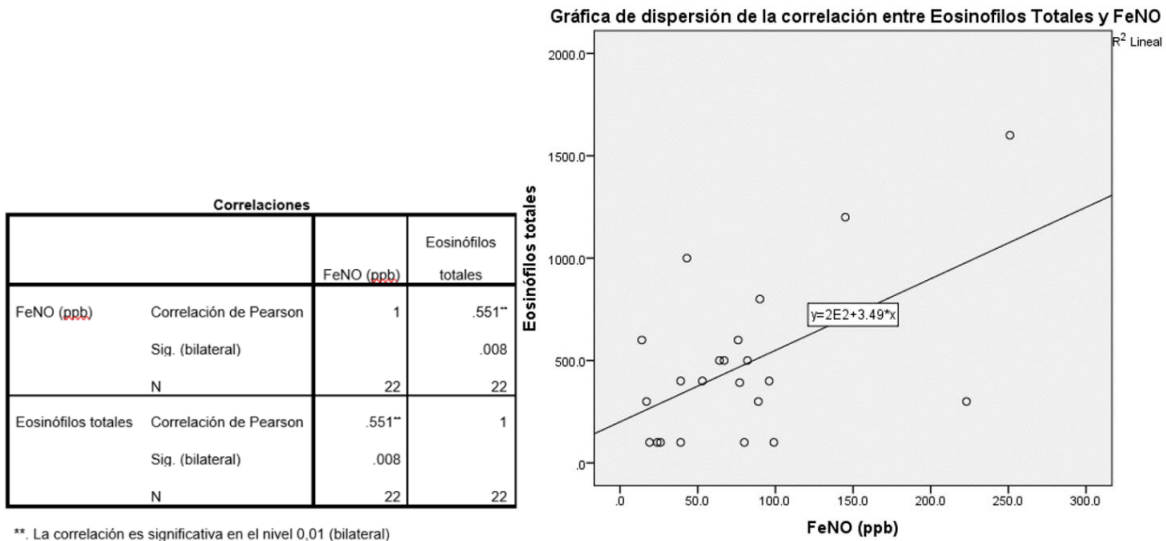
Sin embargo, al determinar la asociación entre FeNO y la relación CVF/VEF<sub>1</sub> los datos mostraron una tendencia en la que a mayores niveles de FeNO menor era la relación de CVF/VEF<sub>1</sub>, lo que orienta hacia una correlación entre el biomarcador y la presencia de obstrucción en la vía aérea (p=0.879). Aunque se considera una tendencia por falta de significancia estadística, el aumento del tamaño de la muestra podría generar resultados más concretos y confirmar esta correlación. (**GRÁFICA 5**)

Correlaciones			
		FeNO (ppb)	VEF1/CVF
FeNO (ppb)	Correlación de Pearson	1	-.034
	Sig. (bilateral)		.879
	N	22	22
VEF1/CVF	Correlación de Pearson	-.034	1
	Sig. (bilateral)	.879	
	N	22	22



- **Asociación entre FeNO y otros biomarcadores.**

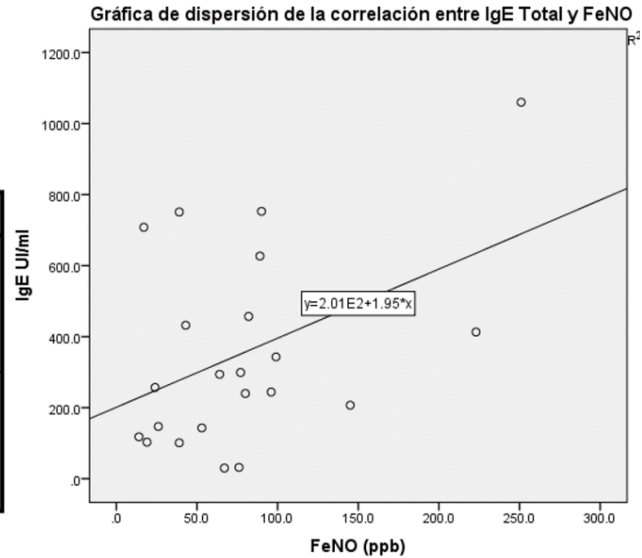
Se observó una correlación entre FeNO y los biomarcadores séricos (cuenta total de eosinófilos periféricos e inmunoglobulina E total) con significancia estadística en ambos casos. La asociación entre eosinofilia periférica y elevación del FeNO ha sido comentada en múltiples publicaciones, y puede ser explicada por la presencia de citocinas inflamatorias de tipo 2, IL-5 e IL-13, que regulan el la diferenciación y reclutamiento de eosinófilos, pero también el aumento en la producción de óxido nítrico. La correlación entre FeNO y eosinofilia periférica se comprobó con un valor de  $p=0.0008$ . (**GRÁFICA 6**)



También se encontró una correlación significativa entre el valor de FeNO y la inmunoglobulina E total ( $p=0.43$ ). Aunque la IgE total se considera un biomarcador para asma alérgica, no se ha descrito que tenga una asociación con la inflamación en la vía aérea o la producción de óxido nítrico. Este hallazgo deberá de estudiarse con mayor profundidad, ya que el FeNO es un biomarcador dinámico que permite la monitorización y ajuste de la terapia antiinflamatoria, a diferencia de la IgE total que no es útil para el seguimiento del paciente y sólo se considera como criterio terapéutico en asma alérgica cuando existe indicación para iniciar omalizumab. (**GRÁFICA 7**)

Correlaciones			
		FeNO (ppb)	IgE UI/ml
FeNO (ppb)	Correlación de Pearson	1	.434*
	Sig. (bilateral)		.043
	N	22	22
IgE UI/ml	Correlación de Pearson	.434*	1
	Sig. (bilateral)	.043	
	N	22	22

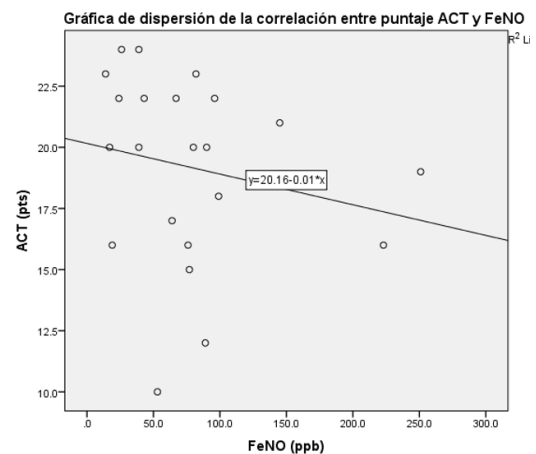
\*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).



- **Asociación entre FeNO y el cuestionario ACT.**

Se encontró una tendencia de correlación inversa entre los valores de FeNO y el puntaje de ACT, es decir, que a mayor FeNO menor será el puntaje de ACT y habrá peor control de los síntomas. El resultado no mostró significancia estadística, pero es una observación interesante que deberá estudiarse más a fondo, pues la eosinofilia se ha asociado con la presencia de síntomas nocturnos, que es uno de los parámetros evaluados por el ACT. (**GRÁFICA 8**)

Correlaciones			
		FeNO (ppb)	ACT (pts)
FeNO (ppb)	Correlación de Pearson	1	-.202
	Sig. (bilateral)		.368
	N	22	22
ACT (pts)	Correlación de Pearson	-.202	1
	Sig. (bilateral)	.368	
	N	22	22



## DISCUSIÓN

El asma es una enfermedad crónica inflamatoria cuyos síntomas tienen un impacto significativo en la calidad de vida de los pacientes, ocasionando limitación física importante y aumento en el riesgo de exacerbaciones por contacto con factores precipitantes, principalmente los aéroalergenos.

Aunque el asma tiene síntomas característicos: tos, disnea, sibilancias y opresión torácica; ninguno de ellos es patognomónico de la enfermedad, por lo que es necesario apoyarse de métodos objetivos como la espirometría y los biomarcadores para establecer el diagnóstico de asma y un plan de tratamiento que se ajuste a las necesidades de cada paciente.

La clasificación del asma en fenotipos también ha facilitado el correcto diagnóstico e individualización del tratamiento. El fenotipo de asma alérgica es predominantemente eosinofílico, mediado por linfocitos T<sub>H</sub>2, pero con participación agregada de las células linfoides innatas (ICL2) y células epiteliales de la vía aérea, que desencadenan una cascada inflamatoria por citocinas de tipo 2 como IL-4, IL-5, e IL-13, responsables de los cambios inflamatorios en la vía aérea, hiperreactividad bronquial y obstrucción al flujo aéreo.

La fracción exhalada de óxido nítrico o FeNO es un biomarcador indirecto de inflamación T<sub>H</sub>2 en la vía aérea, su utilidad en pacientes con asma alérgica ha incrementado exponencialmente en los últimos años, pues no solo es diagnóstico, sino que también permite evaluar la respuesta y apego del paciente al tratamiento antiinflamatorio con corticoesteroides inhalados. También se ha demostrado que FeNO tiene correlación con la eosinofilia periférica y en esputo inducido, así como con el deterioro progresivo de la función pulmonar.<sup>7,10,22,24</sup>

El presente estudio tuvo como objetivo determinar si el aumento en la fracción exhalada de óxido nítrico podría tener una correlación con la disminución de los volúmenes pulmonares y la severidad de la obstrucción medida por el porcentaje predicho de VEF<sub>1</sub>, y si esta correlación está presente desde el diagnóstico inicial de asma, permitiendo identificar a los pacientes con mayor riesgo de presentar enfermedad severa y complicaciones. Adicionalmente, se estudió la correlación entre FeNO y otros biomarcadores (cuenta total de eosinófilos, inmunoglobulina E total); y con el cuestionario ACT para evaluar frecuencia e intensidad de los síntomas.

Los resultados del nuestro estudio fallaron en encontrar una correlación entre valores de FeNO >25ppb y una disminución en el porcentaje predicho de VEF<sub>1</sub>, es decir, la asociación entre FeNO y la severidad de la obstrucción. Sin embargo, se encontró una tendencia de asociación entre los valores elevados de FeNO y la relación CVF/VEF<sub>1</sub>, lo que sugiere que entre más elevados sean los valores de

FeNO, es más probable encontrar obstrucción al flujo aéreo, aunque no sea posible determinar su severidad.

Mastunaga K *et al.* hicieron un estudio prospectivo a 3 años con una cohorte de 250 pacientes adultos con asma controlado, cuyo objetivo fue evaluar la tasa anual de modificación en VEF<sub>1</sub> y su relación con los valores de FeNO. El seguimiento fue trimestral con espirometría y medición de FeNO. Sus resultados mostraron que un valor persistente de FeNO >40.3 ppb tiene asociación con rápida disminución anual de VEF<sub>1</sub> (42.7±37.5 ml/año) en comparación con pacientes que tenían FeNO normal (16.7±31.5 ml/año) (p=0.0005). El estudio demostró que FeNO es un biomarcador útil para identificar la pérdida progresiva de la función pulmonar en pacientes con asma.<sup>24</sup>

Sin embargo, si encontramos una correlación significativa entre biomarcadores, tanto de FeNO con la cuenta total de eosinófilos, como de FeNO con la inmunoglobulina E total. Estos datos sugieren que FeNO y los eosinófilos periféricos pueden predecir acertadamente la presencia de inflamación T<sub>H</sub>2 en pacientes con el fenotipo eosinofílico de asma.

Resultados similares a los nuestros fueron publicados por Gao J *et al.* quienes encontraron una relación positiva significativa entre los valores de FeNO y el porcentaje de eosinófilos periféricos (r=0.3647; p=0.0013), y una correlación negativa significativa entre FeNO y el porcentaje de neutrófilos en esputo (r= -0.3653, p=0.0013). Los autores consideraron que ambos biomarcadores son excelentes predictores de eosinofilia en esputo.<sup>7</sup>

En cuanto a la relación entre FeNO y el cuestionario ACT, encontramos entre mayores son los valores de FeNO es menor el puntaje del ACT, que se traduce en mayor frecuencia y descontrol de los síntomas de asma, no obstante, estos resultados solo pueden considerarse una tendencia ya que la muestra fue insuficiente para tener significancia estadística. La media del puntaje ACT en nuestro estudio fue de 19 puntos.

Un estudio que evaluó la relación de FeNO con el control de los síntomas de asma, fue realizado por Malivoschi A, *et al.* en este estudio se incluyeron 406 pacientes de 10 a 35 años. El control de la enfermedad se evaluó con el ACT, y se encontró que los sujetos que tenían FeNO ≥20-25 ppb tuvieron una mayor prevalencia de asma parcialmente controlado, es decir, un puntaje <20 puntos.<sup>10</sup>

Por la característica transversal de nuestro estudio, no se evaluó la utilidad de FeNO para evaluar la respuesta al tratamiento antiinflamatorio y la adherencia al tratamiento. FeNO es un biomarcador altamente dinámico, pues responde rápidamente y de forma dosis dependiente a los corticosteroides inhalados.<sup>19</sup>

Las limitaciones de nuestro estudio fueron varias, la situación desencadenada por la pandemia de COVID-19 implicó un gran número de cambios en la interacción

médico-paciente pues fue necesario implementar nuevas estrategias como el uso de equipo de protección personal, y tamizaje estricto de casos sospechosos. Los síntomas de asma y otras enfermedades alérgicas son similares a los causados por SARS-CoV-2 por lo que se tuvo especial cuidado en el servicio de Alergia e Inmunología Clínica.

Derivado de lo anterior, el hecho de tener una muestra menor a la calculada, la imposibilidad para reclutar nuevos pacientes, y el impedimento para el seguimiento y valoraciones subsecuentes de los pacientes por la pandemia de COVID-19, dificultó que encontráramos los resultados esperados. Sin embargo, los datos obtenidos en este trabajo orientan hacia que, con un mayor tamaño de muestra y un tiempo de seguimiento más largo, sería factible encontrar una asociación entre ambas variables.

## **CONCLUSIONES**

La fracción exhalada de óxido nítrico es un biomarcador no invasivo y rápido de inflamación tipo  $T_H2$  en la vía aérea, que correlaciona con el fenotipo eosinofílico de asma alérgica. Es útil en el diagnóstico de asma y ayuda a determinar la posibilidad de respuesta a los esteroides inhalados, facilitando la monitorización del paciente para un mejor control de los síntomas.

Nuestro estudio no encontró una correlación entre la severidad de la obstrucción al flujo aéreo (% predicho de  $VEF_1$ ) y los valores de FeNO  $>25$ ppb, sin embargo, lo que si se evidenció fue una posible asociación entre la presencia de obstrucción al flujo aéreo ( $CVF/VEF_1$ ) y valores de FeNO  $>25$ ppb. Esto puede explicarse por dos motivos, el primero es que los participantes del estudio tenían inicio reciente de los síntomas de asma por lo que los cambios en la vía aérea asociados a la cronicidad de la enfermedad pueden ser mínimos o aún no estar presentes, y por tanto no ser detectados en las pruebas de función pulmonar; y segundo el tamaño de la muestra que al ser menor al calculado dificultó que se obtuvieran los datos esperados.

No obstante, se encontraron resultados favorables en términos de la correlación de FeNO con otros biomarcadores. La correlación con los eosinófilos periféricos se ha reconocido en diversos estudios tanto el reclutamiento de eosinófilos a la vía aérea como la producción de óxido nítrico son regulados por IL-5 e IL-13, citocinas inflamatorias fundamentales en el fenotipo eosinofílico de asma.

Las observaciones y datos obtenidos de este estudio muestran la importancia de tener una medida objetiva para evaluar a los pacientes con asma alérgica, pues aún en pacientes con síntomas controlados existe inflamación subyacente que los predispone a tener exacerbaciones de la enfermedad. Evitar el remodelamiento de la vía aérea sigue siendo la meta del tratamiento en asma, por lo que dar continuidad a estudios como este permitirá identificar el riesgo de cada paciente e individualizar las estrategias de tratamiento.



## REFERENCIAS

1. Olin J, Wechsler M, Asthma: pathogenesis and novel drugs for treatment, *BMJ* 2014; 349:g5517
2. Pocket Guidebook GINA Severe Asthma, 2019
3. Guía Mexicana del Asma, *Rev Alerg Mex.* 2017;64 Supl 1:s1-s128
4. Quirt J, Hildebrand K, et al. Asthma, *Allergy Asthma Clin Immunol* 2018;14(Suppl 2):50
5. Borish L, The immunology of asthma: Asthma phenotypes and their implications for personalized treatment, *Ann Allergy Asthma Immunol* 2016;117:108-114
6. Dweik RA, Boggs PB, Eruzum SC, et al. ATS Clinical Practice guidelines: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FeNO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184(5):602-615.
7. Gao J, Wu F. Association between fractional exhaled nitric oxide, sputum induction and peripheral blood eosinophil in uncontrolled asthma. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2018; 14:21
8. Pembrey L, Barreto M, Douwes J, et al. Understanding asthma phenotypes: the World Asthma Phenotypes (WASP) international collaboration. *ERJ Open Res* 2018;4:00013-18
9. Sandrini A, Taylor R, Thomas P, Yates D. Fractional exhaled nitric oxide in asthma: an update *Respirology* 2010(15):57-70
10. Malinowski A, Janson Ch, Borres M, Alving K. Simultaneously increased fraction of exhaled nitric oxide levels and blood eosinophil counts relate to increased asthma morbidity. *J Allergy Clin Immunol*, 2016;138(5): 1301-1308
11. Global Initiative for Asthma Pocket Guide for Asthma Management and Prevention for Adults and Children older than 5 years, 2019, GINA guideline.
12. National Institute for Health and Care Excellence, Asthma: diagnosis, monitoring and chronic asthma management, 2017, NICE guideline 80:1-39.
13. Johnson J, Theurer W, A Stepwise approach to the interpretation of pulmonary function tests, *Am Fam Physician.* 2014;89(5):359-366
14. Karrasch S, et al. *Thorax* 2017;72:109–116. doi:10.1136/thoraxjnl-2016-20870
15. Lim H, Nair P, Airway Inflammation and Inflammatory Biomarkers. *Semin Respir Crit Care Med.* 2018;39:56-63
16. Antosova M, Mokra D, Pepucha L, et al. Physiology of Nitric Oxide in the Respiratory System. *Physiol Res*, 2017;66(Suppl 2):S159-S172
17. Boulay M, Boulet L, Discordance between asthma control clinical, physiological and inflammatory parameters in mild asthma. *Respiratory Medicine*, 2013;107:511-518.
18. Meurs H, Maarsingh H, Zaagsma J, Arginase and asthma: novel insights into nitric oxide homeostasis and airway hyperresponsiveness. *TRENDS in Pharmacological Sciences.* 2003;24(9):450-455.
19. Bjermer Leif, Alving K, Diamant Z, et al. Current evidence and future research needs for FeNO measurement in respiratory diseases, *Respiratory Medicine*, 2014 DOI: 10.1016/j.rmed.2014.02.005
20. Kerley C, Killbride E, Grealley P, Eliazir B. Dietary nitrate acutely and markedly increased exhaled nitric oxide in a cystic fibrosis case. *Clin Med & Res*, 2016;14(3):151-155
21. Blake T, Chang A, Chatfield M, et al. Does ethnicity influence fractional exhaled nitric oxide in healthy individuals? A systematic review. *Chest* 2017;152(1):40-50
22. Syk J, Malinowski A, Johansson G, et al. Anti-inflammatory treatment of atopic asthma guided by exhaled nitric oxide: a randomized, controlled trial. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2013;1(6):639-648
23. Jørgensen M, Veidal S, Sverrild A, et al. Validation of ATS clinical practice guidelines cut-points for FeNO in asthma *Respir Med.* 2018 Nov;144:22-29. doi: 10.1016/j.rmed.2018.09.014.

24. Matsunaga K, Hirano T, Oka A, et al. Persistently high exhaled nitric oxide and loss of lung function in controlled asthma. *Allergology International*, 2016;1-6
25. Álvarez-Gutiérrez A, Medina-Gallardo J, Pérez-Navarro P, et al. Relationship of the Asthma Control Test (ACT) with lung function, levels of exhaled nitric oxide and control according to the Global Initiative for Asthma (GINA) *Arch Bronconeumol*, 2010;46(7):370-377
26. Roos A, Mori M, Gronneberg R, et al. Elevated Nitric Oxide in Allergen-Provoked Asthma is Associated with Airway Epithelial iNOS. *PLoS ONE*, 2014;9(2):e90018
27. Pijnenburg M, The Role of FeNO in Predicting Asthma. *Front Pediatr* 2019; 7:41.
28. Kasteleyn M, Bonten T, Mutsert R, et al. Pulmonary function, exhaled nitric oxide and symptoms in asthma patients with obesity: a cross-sectional study. *Respiratory Research*, 2017,18:205
29. Fielding Sh, Pijnenburg M, Jongste J, et al. Change in FEV<sub>1</sub> and FeNO measurements as predictors of future asthma outcomes in children. *CHEST*, 2018
30. Saito J, Sato S, Fukuhara A, et al. Association of asthma education with asthma control evaluated by asthma control test, FEV<sub>1</sub>, and Fractional Exhaled Nitric Oxide. *Journal of Asthma*. 2013;50(1):97-102
31. Schatz M, Sorkness Ch, Li J, et al. Asthma Control Test: Reliability, validity, and responsiveness in patients not previously followed by asthma specialists. *J Allergy Clin Immunol*, 2006;117:549-556.
32. Cruvinel F, Larte J, Fouad M, The fraction exhaled nitric oxide as a biomarker of asthma control; *Biomarker Insights*, 2019;14:1-6.
33. Shiota N, Yokohama A, Haruta Y, et al. Association of Airway inflammation with Asthma control level evaluated by the Asthma Control Test. *Journal of Asthma*. 2011;48:907-913.
34. Dinh-Xuan A, Bruselle G, FeNO as a biomarker guide for inhaled corticosteroid step down in patients with mild-to-moderate well controlled asthma. *Eur Respir J*, 2020; 55:2001319

### **13.1 ANEXOS**

- **HOJA DE RECOLECCION DE DATOS**
- **CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACION EN EL PROTOCOLO**

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

CORRELACIÓN ENTRE LA FRACCIÓN EXHALADA DE ÓXIDO NÍTRICO (FeNO) Y EL PORCENTAJE DE VEF<sub>1</sub> PARA EVALUAR DISMINUCIÓN PROGRESIVA DE LA FUNCIÓN PULMONAR EN ADULTOS CON ASMA ALÉRGICA

NOMBRE: \_\_\_\_\_

EDAD: \_\_\_\_\_ ECU: \_\_\_\_\_ FECHA: \_\_\_\_\_

No. TELEFONO: \_\_\_\_\_ CORREO: \_\_\_\_\_

DIAGNÓSTICO: \_\_\_\_\_

ESPIROMETRÍA

PATRÓN: \_\_\_\_\_

VEF<sub>1</sub>/CVF: \_\_\_\_\_ VEF<sub>1</sub>: \_\_\_\_\_

REVERSIBILIDAD CON BROCODILATADOR: \_\_\_\_\_

BIOMARCADORES

FRACCION EXHALADA DE ÓXIDO NÍTRICO (FeNO): \_\_\_\_\_

CUENTA TOTAL EOSINOFILOS PERIFÉRICOS / (%): \_\_\_\_\_

IgE TOTAL: \_\_\_\_\_

PRUEBAS CUTANEAS: \_\_\_\_\_

TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

CORTICOESTEROIDE INHALADO / DOSIS: \_\_\_\_\_

BRONCODILATADOR / DOSIS: \_\_\_\_\_

OTROS: \_\_\_\_\_

PUNTAJE ACT \_\_\_\_\_

SEGUNDA MEDICIÓN

VEF<sub>1</sub>: \_\_\_\_\_ FeNO: \_\_\_\_\_

TRATAMIENTO \_\_\_\_\_

TERCERA MEDICIÓN

VEF<sub>1</sub>: \_\_\_\_\_ FeNO: \_\_\_\_\_

TRATAMIENTO \_\_\_\_\_



## HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

### Título del protocolo: "CORRELACION ENTRE LA FRACCIÓN EXHALADA DE ÓXIDO NÍTRICO (FeNO) Y EL PORCENTAJE DE VEF<sub>1</sub> PARA EVALUAR DISMINUCIÓN DE LA FUNCIÓN PULMONAR EN ADULTOS CON ASMA ALÉRGICA"

#### Investigador Principal:

**Sede donde se realizará el estudio:** Servicio de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital General De México

- El proyecto de investigación corresponde a: Investigación de riesgo mínimo

Iniciales del Paciente: \_\_\_\_\_

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier duda que tenga al respecto. Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entrega una copia firmada y fechada.

#### I. Justificación y objetivos del estudio

En este estudio se tiene como objetivo estudiar el mecanismo inflamatorio en los pacientes que tienen diagnóstico de asma de acuerdo con los criterios de guías internacionales. Para esto se recolectarán los resultados de análisis clínicos y se realizarán pruebas de funcionamiento pulmonar ya que esto permite determinar si el tipo de asma que usted presenta es de tipo alérgico; lo cual permitirá dar un tratamiento farmacológico y terapias complementarias más efectivas.

#### II. Procedimiento

En caso de que acepte participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre sus antecedentes médicos, se realizará exploración física. En una ficha de recolección de datos se escribirá información sobre su historia clínica y los resultados de laboratorio que se le han practicado, así como otros datos que están en su expediente clínico. Se registrará su información en una base de datos y posteriormente será analizada e interpretada. Se realizarán estudios que consisten en inhalar y exhalar por la boca (espirometría con broncodilatador y medición de la fracción exhalada de óxido nítrico), los estudios se realizarán en cuatro ocasiones; la primera en cita inicial y tres citas subsecuentes con 4 semanas de diferencia cada una.

#### III. Molestias y riesgos esperados

Se pedirá que sople a través de una boquilla para medir la capacidad y velocidad con que sus pulmones sacan el aire, y si existe alguna dificultad para ello. En la espirometría se le administrará una dosis de broncodilatador (salbutamol) para evaluar si existe diferencia en su capacidad pulmonar. En algunos casos, el uso de salbutamol se relaciona con efectos adversos como: cefalea, taquicardia, sensación de ansiedad y sequedad de boca, sin embargo, estos síntomas suelen estar asociados al uso repetido y/o dosis altas del medicamento; los síntomas son transitorios y remiten por sí solos después de unos minutos. En caso de presentar alguno de ellos usted se mantendrá en vigilancia estrecha por los médicos del servicio de Alergia e Inmunología hasta su mejoría. Finalmente, se le pedirá que sople a través de una boquilla para medir el grado de inflamación que existe en los pulmones. La necesidad de repetir las pruebas varias veces puede causar fatiga, falta de aire, palpitaciones.

## HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

### **Título del protocolo: “CORRELACION ENTRE LA FRACCIÓN EXHALADA DE ÓXIDO NÍTRICO (FeNO) Y EL PORCENTAJE DE VEF<sub>1</sub> PARA EVALUAR DISMINUCIÓN DE LA FUNCIÓN PULMONAR EN ADULTOS CON ASMA ALÉRGICA”**

#### IV. Beneficios que puedan obtenerse

Los resultados del estudio permitirán orientar hacia un mejor tratamiento de la enfermedad con mejoría más rápida de los síntomas, y también serán de utilidad en el futuro para otros pacientes con asma ya que se les podrán ofrecer alternativas de tratamiento diseñadas para este tipo de asma. Para fines del estudio se realizará seguimiento de su enfermedad durante un periodo de 6 meses (una visita inicial y tres visitas subsecuentes) por medio de la exploración física, medición de FeNO, pruebas de función pulmonar y Scores Clínicos de Actividad para la enfermedad.

#### V. Procedimientos asociados alternativos.

Es tratamiento será el propuesto por las diferentes guías y recomendaciones internacionales (Guías GINA, guías NICE, Guía GUIMA)

#### VI. Garantía de recibir respuestas y aclaraciones

En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo al investigador responsable. Todas sus preguntas e inquietudes serán contestadas en el momento en que usted las solicite.

#### VII. Libertad de retirar su consentimiento.

Su decisión de participar es completamente voluntaria y usted puede retirarse del mismo en el momento en que lo desee, respetando su decisión y sin que esto afecte su atención subsecuente en este servicio.

#### VIII. Confidencialidad

La información de cada paciente se mantendrá con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores. Se utilizará un código alfanumérico para identificar a cada paciente, esta información será accesible únicamente por el equipo de investigación

#### IX. Información actualizada

El equipo de investigadores se compromete a que, en caso de obtener información actualizada con respecto al estudio, esta se le proporcionará, aunque esta pudiera afectar su voluntad para continuar participando en el mismo.

#### X. Gastos adicionales.

Los estudios que se realizarán no tienen ningún costo para usted ya que el equipo y material que se utilizarán para el estudio se encuentran disponibles en los consultorios del servicio de Alergia e Inmunología Clínica. En caso de existir gastos adicionales, estos serán cubiertos por el presupuesto de la investigación.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación se le solicita firmar la carta de consentimiento informado anexa a este documento.

**HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

**Título del protocolo: "CORRELACION ENTRE LA FRACCIÓN EXHALADA DE ÓXIDO NÍTRICO (FeNO) Y EL PORCENTAJE DE VEF<sub>1</sub> PARA EVALUAR DISMINUCIÓN DE LA FUNCIÓN PULMONAR EN ADULTOS CON ASMA ALÉRGICA"**

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

YO: \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

\_\_\_\_\_  
Firma o huellas digitales del paciente

\_\_\_\_\_  
Teléfono del paciente

\_\_\_\_\_  
Dirección de participante

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Nombre y Firma del testigo

\_\_\_\_\_  
Relación con el paciente

\_\_\_\_\_  
Dirección del testigo

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Nombre y Firma del testigo

\_\_\_\_\_  
Relación con el paciente

\_\_\_\_\_  
Dirección del testigo

\_\_\_\_\_  
Fecha



## HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

**Título del protocolo: "CORRELACION ENTRE LA FRACCIÓN EXHALADA DE ÓXIDO NÍTRICO (FeNO) Y EL PORCENTAJE DE VEF<sub>1</sub> PARA EVALUAR DISMINUCIÓN DE LA FUNCIÓN PULMONAR EN ADULTOS CON ASMA ALÉRGICA"**

**Investigador:** Esta parte debe ser completada por el investigador (o representante)

He explicado al paciente: \_\_\_\_\_

La naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar estudios con seres humanos y me apegó a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento,

\_\_\_\_\_  
Firma del Investigador

\_\_\_\_\_  
Fecha

En caso de dudas o de requerir información adicional en relación con el proyecto de investigación, usted puede contactar al Dr. Guillermo Velázquez Sámano del servicio de Alergia e Inmunología Clínica en el número de teléfono ..., o bien a la Dra. Antonia Cervantes Barrios, Presidenta del Comité de Ética en Investigación en el Hospital General de México al teléfono 2789-2000 extensión 1164.