

Фракция на издишан азотен оксид (FeNO) при деца под 7 години

Д-р Татяна Стоева, доц. Росица Митрова, г-р Маргарита Ганева,
г-р Весела Данкова, г-р Лора Бояджиева, г-р Свилен Досев

УБ „Лозенец“, Детска клиника, София

Резюме

Цели: Понастоящем астмата се дефинира като Th2 медирано възпалително заболяване, засягащо малките и големи дихателни пътища (ДП). Директното измерване на белодробното възпаление засега е ограничено от време консумиращи скъпи техники, често неприложими при всички възрастови групи. Фракцията издишан азотен оксид (FeNO) е маркер, отчитащ еозинофилното белодробно възпаление чрез бърза и лесна техника. Цел на настоящото проучване е изследване на връзката между FeNO и някои от показателите на функционалното изследване на дишането (ФИД), основно бронходилататорния отговор (БДО) при деца под 7 г. с atopична и неатопична бронхиална астма.

Методи: Изследвани са 52 деца на средна възраст 5 г. 2 м. и новооткрито заболяване. На всички са проведени FeNO тест, ФИД и е тестван отговорът спрямо краткодействащ бронходилататор.

Резултати: Средните FeNO стойности, както и БДО, бяха по-високи при децата с atopична БА. Средните FeNO стойности и БДО бяха също по-високи при децата с остра симптоматика по време на изследването, отколкото при асимптомните деца.

Заключение: Едновременното използване на двата параметъра (FeNO и БДО) предоставя по-голяма точност при диагностика на заболяването, отколкото самостоятелното им използване. Те показват дискриминативни възможности при разграничаване на различните астма фенотипове. Използването на FeNO прави поставянето на диагнозата астма при деца много по-лесно отколкото е било възможно до сега.

Ключови думи: Астма, издишан азотен оксид, бронходилататорен отговор.

Exhaled nitric oxide measurement in children under seven years

Tatyana Stoeva, Rossitsa Mitrova, Margarita Ganeva,
Vessela Dankova, Lora Bojdjieva, Svilen Dosev

University hospital „Lozenetz“ Sofia, Department of pediatrics

Abstract

Purpose: Asthma is now defined as a TH2-mediated inflammatory disease involving both large and small airways. However, assessment of airways inflammation is limited by techniques that

are time consuming and possibly not suitable for all age groups. Exhaled nitric oxide, an easily and rapidly obtained noninvasive test, is a potential surrogate for measuring airways inflammation. The aim of this study was to investigate relations between FeNO and some of the indices of lung function in atopich and no atopich asthmatic children under 7 years of age.

Methods: The participants were 52 children on mean age 5y2mo with newly diagnosed asthma. They underwent FeNO and LFT measurement and as well the examination of bronchodilator responsiveness.

Results: Mean FeNO values were higher in atopich asthmatic children, as was BDR. Mean FeNO values and BDR were also higher in children who were symptomatic at the time of investigation compared to those who did not.

Conclusions: When used together both parameters provide better opportunity for asthma diagnosis than their single use and show discriminative capacity to distinguish different asthma phenotypes. Using FeNO diagnosis asthma can be made more easily than ever before.

Key words: Asthma, exhaled nitric oxide, bronchodilator responsiveness.

През последните години се отбелязва голям напредък при проследяването на хроничните белодробни заболявания.

Безспорен успех е откриването на техники, които отчитат белодробното възпаление неинвазивно, безопасно и достоверно. Две от тях намират най-широко приложение: анализът на индуцирана хрчка, при който по общия и диференциален клетъчен брой се определя характера и интензитета на белодробния възпалителен процес, и измерването на фракцията издишан азотен оксид (FeNO). Концентрацията на NO в издишания от пациента въздух се използва за установяване или отхвърляне на еозинофилно, кортикостероид-чувствително респираторно възпаление.

През 1987 г. група изследователи от Калифорнийския университет установяват, че ендотел-свързаният релаксиращ фактор в артериите

и вените притежава свойства, идентични до тези на азотния оксиг (NO).¹³ Пет години по-късно, в „Science“ NO е обявен за „молекула на годината“,¹⁸ а през 1998 г. Furchgott, Ignarro and Murad са номинирани с Нобелова награда за медицина заради работата им, посветена на NO.²⁶

Молекулата на NO има проста химична структура, кратък полуживот и функционира като сигнална за различни процеси: регулация на периферната циркулация, имунен отговор, тромبوцитна агрегация и невротрансмисия.

През 90-те години редица публикации съобщават, че в сравнение със здрави контроли концентрацията на FeNO е повишена при болни с астма.^{5, 17} Нивата на газа намаляват при астматици, лекувани с орални или инхалаторни кортикостероиди (КС),¹⁶ и този параметър е пряко отражение на еозинофилното белодробно възпаление при астма.³²

Синтез на NO

NO е ендегенен, свободно дифундиращ радикал. Синтезът му се осъществява посредством ензима азотен оксиг-синтетаза (NOS). От трите познати изоформи на ензима две са структурни, а третата – индуцируема. Структурните изоформи – невронна (nNOS или NOS₁) и ендотелна (eNOS или NOS₃) са калциево-зависими. nNOS се намира в нервните клетки и скелетната мускулатура, а eNOS – в кръвоносните съдове и тромبوцитите. В малки количества двете структурни форми се откриват в респираторния епител, където произвеждат пикомоларни концентрации на NO.

Индуцируемата изоформа (iNOS или NOS₂) е калциево-независима. Ин vivo се експресира върху бронхиалните епителни клетки, като активността ѝ се повишава по време на възпалителни процеси, след стимулация с цитокини, липополизахариди, ендотоксини. iNOS води до

производство на наномоларни концентрации на NO и се потиска от лечение с КС.

Основен източник на NO в организма са горните дихателни пътища (ГДП). Най-високи концентрации се установяват в лигавицата на параназалните синуси – 3000 части на милиард (parts per billion, ppb), докато определянето му по време на бронхоскопия отчита нива от порядъка на 5 ppb. Тъй като NOS₂ се експресира по повърхността на бронхиалните епителни клетки, тя е отговорна за цялата продукция на NO от долните ДП.

При здрави деца основният фактор, влияещ върху стойностите на FeNO, е възрастта. Стойностите зависят от обема на анатомичното мъртво пространство, а той се увеличава с израстването на индивида.⁹

Функции на ендегенния NO

Следните функции на NO имат отношение към дихателната система:

- a) слаб бронходилататорен ефект; b) силен вазодилататорен ефект; c) нехолинергична, неадренергична невротрансмитерна активност; d) антимикробна активност; e) роля в модулирането на клетъчната диференциация; f) регулация на възпалението в ДП.

Референтни стойности

При измерване с анализатор за NO и дебит на издишване 45–55 mL/s, нормалните FeNO стойности за възрастни са между 5–15 ppb.¹ Същите се приемат за деца над 5 години и са потвърдени от следните проучвания: Jöbsis и сътр.¹⁴ при 73 деца, FeNO 10.5 (1.1) ppb; Kharitonov и сътр.¹⁵ при 20 деца, FeNO 15.6 (9.2) ppb; Malmberg и сътр.¹⁹ при 62 деца, FeNO 5.3 (0.4) ppb.

Астма – диагноза

Високи нива на FeNO са установяват при деца с астма и други състояния (табл.1). Стойнос-

Заболявания и групи фактори, модифициращи концентрацията на FeNO		
↑FeNO	↓FeNO	↑FeNO
Астма	Муковисцидоза	ХОББ
Алергенна експозиция	Първична цилиарна дискинезия	Бронхиектазии
Апнея	Белодробна хипертония	Саркоидоза
ОРВИ	Пневмония	Фиброзиращ алвеолит
Бронходилататори (транзиторно)	Гастроезофагеален рефлукс	Системна склероза
Белодробна туберкулоза	Ларинго/трахеомалакия	
Алергичен ринит/назални полипи	Бронхоконстрикция	
Хепатопулмонален синдром	Спирометрия (транзиторно)	
Чернодробна цироза	Пушене	
	Алкохол	
	Кофеин	
	Менструация	
	Небулизация с дистицирана вода	

Табл. 1. Клинично приложение на FeNO при детските респираторни заболявания

тите му се приемат за възпроизводим неинвазивен маркер при мониториране на белодробно възпаление и като параметър с висок дискриминационен капацитет при диагностициране на бронхиална астма. FeNO корелира с всички останали маркери на еозинофилно белодробно възпаление (ЕБВ), характерни за астма, като: % еозинофилни клетки (Ео) в бронхоалвеоларен лаваж (БАЛ), еозинофилен катионен протеин (ЕКП) в БАЛ, % Ео в спутум, кожно-алергични проби (КАП), клинични симптоми за астма, бронхиална хиперреактивност (БХР). При деца стойности на FeNO над 17 ppb имат чувствителност и специфичност за астма съответно 81% и 80%.³¹ Тъй като е налице значителна зависимост между високата концентрация на газа с броя на еозинофилни клетки в спутум и с клинични симптоми на астма,²⁰ FeNO се приема за маркер на еозинофилно белодробно възпаление и показател, спомагащ в разграничаването на атопична от неатопична бронхиална астма.³¹

FeNO и белодробна функция

Сравняването на диагностичната точност на показателите на белодробната функция (спирометрия) при деца със суспектна астма и FeNO за същата популация показва значително по-добра диагностичната чувствителност за FeNO (88%), отколкото за спирометричните данни (47%). Комбинирането на стойности на FeNO от поне 33 ppb с абнормни спирометрични показатели (FEV1 <80%) увеличава диагностичната чувствителност и специфичност за астма респективно до 94% и 93%.^{19, 25}

Разграничаване на неоеозинофилно от ЕБВ

Тъй като детската астма не е единно заболяване, а хетерогенен синдром с наличие на различни фенотипове и различно по клетъчен и цитокинов профил белодробно възпаление, нормалните FeNO показатели не изключват категорично диагнозата астма. Това се отнася особено за случаите на неоеозинофилна астма. Счита се, че и в ранна възраст водещият патофизиологичен механизъм е еозинофилно медиран. Но съществуват деца с неатопична астма, при които стойностите на FeNO са близки до тези на здрави и много по-ниски отколкото при деца с атопична.³⁰ Следователно FeNO показва дискриминативни възможности за разграничаване на различните астма фенотипове в детството.

Мониториране на лечението

Поради високата чувствителност на iNOS спрямо действието на КС при деца с астма, FeNO се използва за мониториране антиинфла-

маторното лечение с ИКС. Използването му позволява дозата на последните да се титрира спрямо стойностите на газа до най-ниска допустима, без опасност от поява на екзацербация.²⁴ В сравнение с конвенционалните тестове, като например спирометрия, FeNO показва предимства както при избора, така и при мониторирането на противовъзпалителното астма лечение.²³

Нашият опит

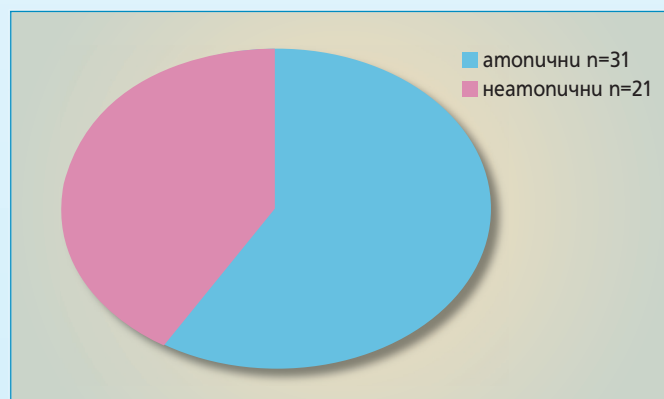
Цел

Цел на настоящото проучване е: 1) да се определят стойностите на FeNO при деца под 7-годишна възраст с атопична и неатопична БА; 2) да се установи или отхвърли наличието на зависимост между FeNO и параметрите на белодробна функция – в частност бронходилататорния отговор (БДО); 3) да се определят промените в стойностите на двата параметъра при наличие на остри астма симптоми при деца под 7-годишна възраст.

Материали и методи

Изследвани са 52 деца на възраст от 4 до 7 години (средна възраст 5 години и 2 месеца). Доминира мъжкият пол – 32 момчета спрямо 20 момичетата. 32 деца бяха с остра симптоматика по време на изследването, а при останалите то е проведено въз основа на суспектни за астма симптоми (рецидивиращи прояви на бронхиална обструкция, повлияване от лечение с краткочействащ бронходилататор), при липса на остра респираторна симптоматика, след получено от родителите попълнено информирано съгласие. От изследваните деца 31 са с атопия на базата на положителни КАП или специфични (с) IgE, а 21 – неатопични според същите параметри (фиг. 1).

Изследването на FeNO е извършено с портативен анализатор за издишан NO – NIOX MINO AEROCRINE, Швеция, съгласно изискванията на



Фиг. 1. Деца с астма

производителя. Измерването на белодробна функция – чрез спирометър Microlab, Vyasis Healthcare, Rochester, UK, с анимирана програма за деца и метода на форсирана експирация, а при невъзможност за сътрудничество от страна на детето чрез определяне на белодробната резистентност по метода на „прекъсването“ посредством Micro Rint Vyasis Healthcare, Rochester, UK, при спокойно дишане. На всички деца е направен бронходилататорен тест (БДТ) преди и 15 минути след инхалиране на 400 µg КДБД – вентолин чрез обемна камера с мундшук или с маска в зависимост от възрастта. Отговорът е приет за положителен, ако форсираният експираторен обем за първата секунда (ФЕО₁) се увеличава с 9% или повече спрямо изходната стойност или наг 9% спадане на изходните Rint стойности, според стандартите ATS /ERS.³

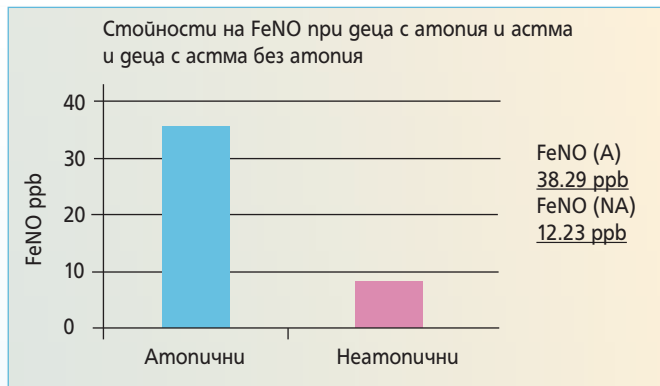
Резултати и обсъждане

При изследваната група деца са отчетени стойностите на FeNO в зависимост от атопичния статус, зависимостта му с параметрите на белодробна функция (БДО) при атопични и неатопични деца с БА както в пристъпен, така и в извън пристъпен период. Анализирани са БДО в зависимост от атопичния статус и наличието на екзацербация, както и показателите на FeNO при същите условия. Сравнени са диагностичните и мониториращи преимуществата на двата показателя.

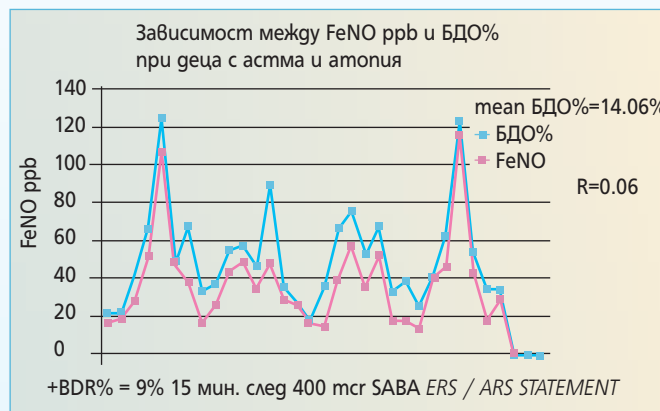
При изследваната група стойностите на FeNO бяха значително по-високи при децата с астма и атопия (38.29ppb), отколкото при тези с неатопична астма (12.23 ppb) (фиг. 2). Това съвпада с данните от други проучвания, при които е установена зависимост между атопичния статус и стойностите на FeNO.^{22, 8, 7} Тъй като при болшинството от децата – 59%, бяха установени високи FeNO показатели, то с основание може да се приеме, че още в тази ранна възраст наличието на астма симптоми е свързано с Th2 медицирано белодробно възпаление и това е водещият патофизиологичен механизъм.⁷

Повечето проучвания не установяват зависимост между показателите на ФИД и стойностите на FeNO.^{25, 19} Измерването на белодробната функция чрез спирометрия и едновременно отчитане на отговора спрямо КДБД са част от препоръките на международните консесуси за диагноза на БА^{6, 11} Въпреки наличието на известни недостатъци: На първо място, малката диагностична точност в случаи на средно тежка астма.^{3, 5}

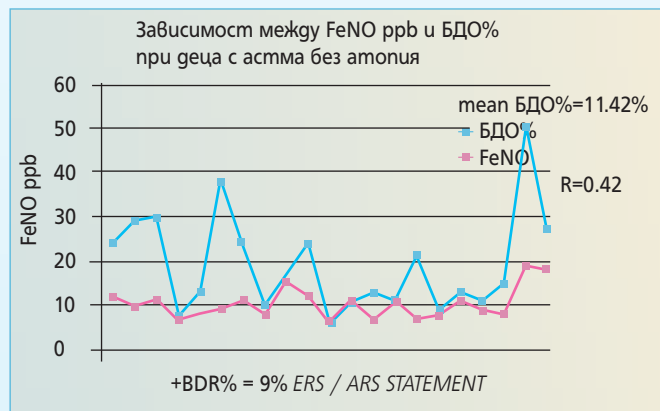
Независимо от водещия патофизиологичен



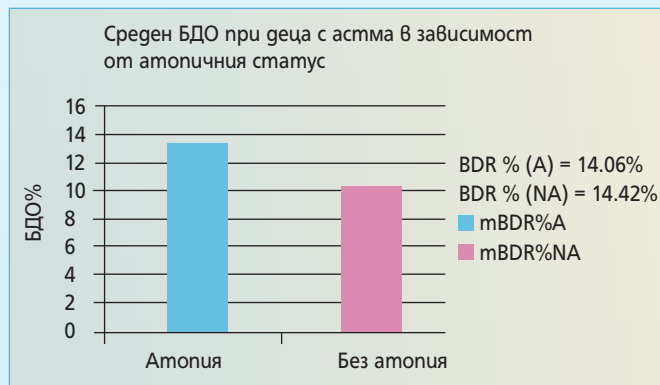
Фиг. 2. Стойности на FeNO при деца с атопия и астма и деца с астма без атопия



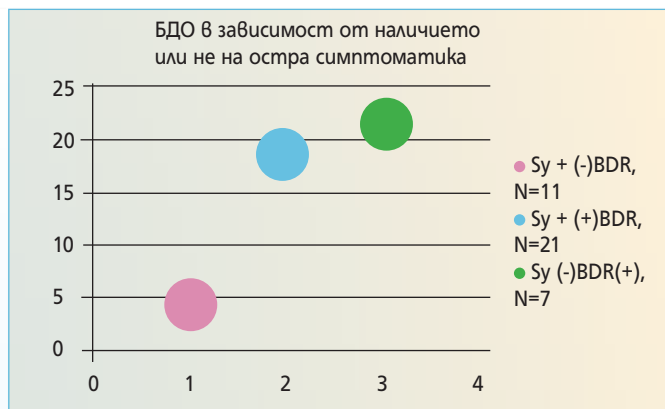
Фиг. 3. Зависимост между FeNO ppb и БДО% при деца с астма и атопия



Фиг. 4. Зависимост между FeNO ppb и БДО% при деца с астма и без атопия



Фиг. 5. Среден БДО при деца с астма в зависимост от атопичния статус



Фиг. 6. БДО в зависимост от наличието или не на остра симптоматика

механизъм (атопичен или не) за децата с астма е характерно значителна подобрение на изходната белогробна функция след бета₂-стимулация, за разлика от здрави, които са нечувствителни към бета-агонисти. При астма БДО отразява бронхиалната лабилност²⁷ и, подобно на FeNO, може да се приеме за маркер на подлежащо белогробно възпаление,^{4, 28} ремоделиране¹² и кортикостероидна чувствителност.^{21, 29}

За да се изследва връзката между двата параметъра в настоящото проучване, е отчетена корелацията между тях.

Корелационният анализ между FeNO и БДО показва зависимост, по-значителна за неатопичната група деца с астма ($R=0.42$), отколкото за атопичната ($R=0.06$) (фиг. 3 и 4), независимо от наличието или не на остри симптоми.

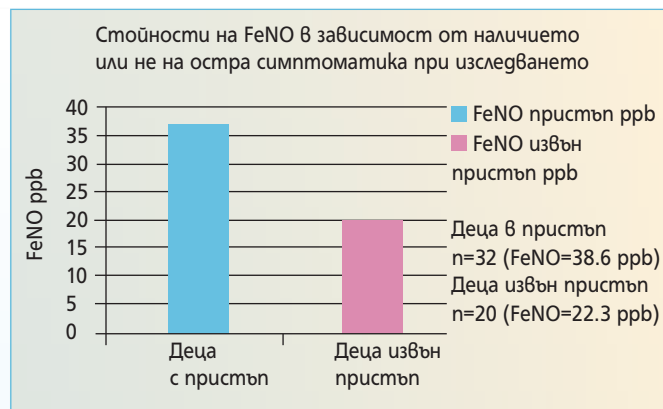
При самостоятелния им анализ бяха установени следните данни:

Подобно на FeNO средният процент на бронходилатация беше по-висок за атопичната група – 14.6%, отколкото за неатопичната – 11.4%, независимо от наличието или не на остри респираторни симптоми (фиг. 5).

В случаите на екзацербация, независимо от атопичния статус, положителен отговор към КДБД бе наблюдаван при 21 от децата, като бяха отчетени някои изключения:

При единадесет деца с остри симптоми БДО не бе установен (фиг. 6). Отрицателният бронходилататорен тест в този случай не отхвърля диагнозата астма и не означава липса на обратимост на обструкцията. Често пъти БДО се проявява едва след потискане на подлежащото белогробно възпаление. В този смисъл отрицателният резултат показва нужда от повече, а не по-малко противовъзпалително лечение, ако има започнато такова.

В обратния случай, 7 деца с астма показаха (+)БДО в извънпристъпен период, при нормани



Фиг. 7. Стойности на FeNO в зависимост от наличието или не на остра симптоматика при изследването

изходни спирометрични показатели (фиг. 6). В тази ситуация най-вероятно се касае за демонстрация на вече споменатата лабилност на дихателната мускулатура, нарушения в разпределението на бета₂ рецепторите в резултат на хроничния възпалителен процес, нарушена регулация в мускулния тонус или на други все още неизвестни причини.

Често при деца в извънпристъпния период белогробната функция е нормална. Липсата на промени в белогробната функция е основната причина за хиподиагностика на заболяването в детската възраст. В свое проучване Gallant и сътр.¹⁰ предлагат модел за повишаване на дискриминативния потенциал на БДО за разграничаване на астма от не-астма, като използват не самостоятелно отчитане на БДО, а комбинирането му с ниски ФЕО1 стойности.

Тъй като и положителният, и отрицателният БДО при деца със суспектна астма могат да бъдат проява на различно изразен по степен белогробен възпалителен процес, то в такава ситуация FeNO е много по-достоверен, бърз и демостративен показател за доказване на такъв, отколкото самостоятелното определяне на БДО.

В нашия случай при определяне на фракцията на издишания азотен оксиг, независимо от атопичния статус и БДО, средните FeNO стойности бяха значително по-високи при децата с остра симптоматика (38.6 ppb), отколкото при децата в извънпристъпен период (22.3 ppb) (фиг. 7).

FeNO и БДО отчитат различни аспекти в патогенезата на астмата и не са взаимно заменяеми, а взаимно допълващи се.³⁰ Налице е значителна корелация между двата параметъра: подобно на FeNO, БДО е по-изразен при децата с атопична бронхиална астма, отколкото при тези с неатопична. И двата показателя са в по-високи стойности при наличие на остри респираторни симптоми, независимо от атопичния статус.

По тази причина считаме, че комбинираното им приложение би повишило диагностичната точност за астма както в пристъпния, така и в извънпристъпния период на заболяването. Подобно на изследването на Gallant и сътр,¹⁰ тази комбинация представлява нова атрактивна диагностична възможност и спомага за мониториране контрола за заболяването и антиинфламаторното му лечение.

Заклучение

Определянето на FeNO е бързо и лесно, дори при малки деца. Това му дава шанс умело да се интегрира в рутинната клинична практика наред с останалите белодробни функционални тестове.

Едновременното използване на двата параметъра (FeNO и БДО) предоставя по-голяма точност при диагностициране на бронхиалната астма в ранна детска възраст, отколкото самостоятелното им използване. Те показват дискриминативни възможности при разграничаване на различните астма фенотипове в детството, спомагат при контрола на детската астма и мониториране на лечението ѝ.

Литература

- Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J* 1993; 6:1368–70.
- ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:912–30.
- An Official American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement: Pulmonary Function Testing in Preschool Children. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175:1304–1345.
- Covar RA, Szeffler SJ, Martin RJ, Sundstrom DA, Silkoff PE, Murphy J, Young DA, Spahn JD. Relations between exhaled nitric oxide and measures of disease activity among children with mild-to-moderate asthma. *J Pediatr* 2003; 142(5):469–475.
- Enright PL, Lebowitz MD, Cockcroft DW. Physiologic measures: pulmonary function tests. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: S9–S20.
- Expert Panel Report 3 (EPR-3): Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma-Summary Report 2007. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120(5 Suppl):S94–138.
- Frank TL, Adisesh A, Pickering AC, et al. Relationship between exhaled nitric oxide and childhood asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1032–1036.
- Franklin PJ, Turner SW, Le Souef PN, Stick SM. Exhaled nitric oxide and asthma: complex interactions between atopy, airway responsiveness, and symptoms in a community population of children. *Thorax* 2003; 58:1048–1052.
- Franklin PJ, Taplin R, Stick SM. A community study of exhaled nitric oxide in healthy children. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159:69–73.
- Galant SP, Morphew T, Amaro S, Liao O. The value of the bronchodilator response in assessing controller-naïve asthmatic children. *J Pediatr* 2007; 151:457–62.
- Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention: NHLBI/WHO Workshop Report. Washington, DC: U.S. Government Printing Office; 1995.
- Goleva E, Hauk PJ, Boguniewicz J, Martin RJ, Leung DY. Airway remodeling and lack of bronchodilator response in steroid-resistant asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120(5):1065–1072.
- Ignarro LJ, Buga GM, Word KS, Byrns RE, Chaudhuri G. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987; 84:9265–9.
- Jöbsis Q, Raatgeep HC, Hop WC, de Jongste JC. Controlled low flow off line sampling of exhaled nitric oxide in children. *Thorax* 2001; 56:285–9.
- Kharitonov SA, Gonio F, Kelly C, Meah S, Barnes PJ. Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *Eur Respir J* 2003; 21:433–8.
- Kharitonov SA, Yates D, Barnes PJ. Inhaled glucocorticoids decrease nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:454–7.
- Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Longar-Sinclair R, Shinebourne EA, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994; 343:133–5.
- Koshland DE Jr. The molecule of the year. *Science* 1992; 258:1861.
- Malmberg LP, Pelkonen AS, Haahtela T, Turpeinen M. Exhaled nitric oxide rather than lung function distinguishes preschool children with probable asthma. *Thorax* 2003; 58:494–9.
- Malmberg LP, Turpeinen H, Ryttilä P, Sarna S, Haahtela T. Determinants of increased exhaled nitric oxide in patients with suspected asthma. *Allergy* 2005; 60:464–8.
- Martin RJ, Szeffler SJ, King TS, Kraft M, Boushey HA, Chinchilli VM, Craig TJ, Dimango EA, Deykin A, Fahy JV, Israel E, Lazarus SC, Lemanske RF, Jr., Leone FT, Pesola GR, Peters SP, Sorkness CA, Swzejbka LA, Wechsler ME. The Predicting Response to Inhaled Corticosteroid Efficacy (PRICE) trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119(1):73–80.
- Silvestri M, Sabatini F, Spallarossa D, et al. Exhaled nitric oxide levels in non-allergic and allergic mono- or polysensitized children with asthma. *Thorax* 2001; 56:857–862.
- Smith AD, Cowan JO, Brassett JP, Filsell S, McLachlan C, Monti-Sheehan G, et al. Exhaled nitric oxide: a predictor of steroid response. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:453–9.
- Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, Herbison GP, Taylor DR. Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N Engl J Med* 2005; 352:2163–73.
- Smith AD, Cowan JO, Filsell S, McLachlan C, Monti-Sheehan G, Jackson P, et al. Diagnosing asthma: comparisons between exhaled nitric oxide measurements and conventional tests. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169:473–8.
- Smith O. Nobel Prize for NO research. *Nat Med* 1998; 4:1215.
- Spahn JD, Cherniack R, Paull K, Gelfand EW. Is forced expiratory volume in one second the best measure of severity in childhood asthma? *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169(7):784–786.
- Strunk RC, Szeffler SJ, Phillips BR, Zeiger RS, Chinchilli VM, Larsen G, Hodgdon K, Morgan W, Sorkness CA, Lemanske RF, Jr. Relationship of exhaled nitric oxide to clinical and inflammatory markers of persistent asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112(5):883–892.
- Tantisira KG, Fuhlbrigge AL, Tonascia J, Van Natta M, Zeiger RS, Strunk RC, Szeffler SJ, Weiss ST. Bronchodilation and bronchoconstriction: predictors of future lung function in childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117(6):1264–1271.
- Taylor DR, Pijnenburg MW, Smith AD, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation. *Thorax* 2006; 61:817–27.
- Warke TJ, Fitch PS, Brown V, Taylor R, Lyons JD, Ennis M, et al. Exhaled nitric oxide correlates with airway eosinophils in childhood asthma. *Thorax* 2002; 57:383–7.
- van Rensen EL, Straathof KC, Veselic-Charvat MA, Zwinderman AH, Bel EH, Sterk PJ. Effect of inhaled steroids on airway hyperresponsiveness, sputum eosinophils, and exhaled nitric oxide levels in patients with asthma. *Thorax* 1999; 54:403–8.