

Dominika Świerczyńska-Machura

Anna Krakowiak

Marta Wiszniewska

Cezary Pałczyński

DIAGNOSTYKA ASTMY ZAWODOWEJ: MONITOROWANIE STĘŻENIA TLENKU AZOTU W POWIETRZU WYDECHOWYM

DIAGNOSTICS OF OCCUPATIONAL ASTHMA: MEASUREMENTS OF EXHALED NITRIC OXIDE

Z Ośrodka Alergii Zawodowej i Środowiskowej
i Kliniki Chorób Zawodowych
Instytutu Medycyny Pracy im. prof. dra med. J. Nofera w Łodzi

STRESZCZENIE

Tlenek azotu (NO) jest endogennym, rozpuszczalnym gazem, którego wysoce reaktywne cząsteczki biorą udział w wielu biologicznych i patofizjologicznych procesach organizmu. Jest syntetyzowany z argininy przy pomocy enzymu syntazy tlenku azotu (NOS).

Od wielu lat trwa poszukiwanie odpowiednio trafnych i nieinwazyjnych metod diagnostycznych, obrazujących alergiczny, zapalny proces w drogach oddechowych. Ostatnio duże nadzieje wiąże się z możliwością wykorzystania pomiaru stężeń tlenku azotu w powietrzu wydychanym (FENO) dla monitorowania stanu zapalnego dróg oddechowych u chorych na astmę. Metoda ta jest nieinwazyjna, i z tego względu może być wielokrotnie powtarzana.

Ponadto obserwuje się dodatnią korelację pomiędzy FENO a eozynofilią krwi obwodowej i płwociny indukowanej u atopowych dzieci i osób dorosłych, chorych na astmę oskrzelową.

Wykazano także znaczący wzrost FENO po specyficznej próbie prowokacyjnej, stąd określenie tego parametru może być dodatkowym źródłem informacji, pomocnym w interpretacji zawodowych testów prowokacyjnych u osób z granicznymi zmianami czynnościowymi. Med. Pr., 2005;56(6):485–490

Słowa kluczowe: astma zawodowa, tlenek azotu, zapalenie alergiczne, diagnostyka

ABSTRACT

Nitric oxide (NO) is an endogenous, soluble gas whose highly reactive molecules are involved in many biological and pathophysiological organic processes. It is generated from arginine through the action of the enzyme nitric oxide synthase (NOS).

Over the recent years, accurate and non-invasive diagnostic methods have been searched for illustrating the allergic airway inflammation. Lately, great hopes have been associated with the use of measurements of exhaled nitric oxide (FENO) in the estimation of bronchial inflammation in asthmatic subjects. This method is non-invasive and can be frequently repeated.

Furthermore, positive correlation between FENO and blood eosinophilia and induced sputum in atopic children and asthmatic adults has been observed. A significant increase in FENO after specific challenge test has also been shown. Therefore, determination of this parameter can be an additional source of information useful in the interpretation of occupational challenge tests in cases with borderline functional changes. Med Pr 2005;56(6):485–490

Key words: occupational asthma, nitric oxide, allergic inflammation, diagnostics

Adres autorów: św. Teresy 8, 91-348 Łódź, e-mail: mika@imp.lodz.pl

Nadesłano: 29.09.2005

Zatwierdzono: 28.10.2005

© 2005; Instytut Medycyny Pracy im. prof. dra med. J. Nofera w Łodzi

WSTĘP

Astma oskrzelowa jest przewlekłą chorobą zapalną dróg oddechowych, w której uczestniczy wiele komórek i substancji przez nie uwalnianych. Zapalenie jest przyczyną nadreaktywności oskrzeli, prowadzącej do nawracających epizodów świszczącego oddechu, duszności, ściskania w klatce piersiowej i kaszlu, występujących szczególnie w nocy lub nad ranem. Epizodom tym zwykle towarzyszy rozlana obturacja oskrzeli o zmiennym nasileniu, często ustępująca samoistnie lub pod wpływem leczenia (1).

Astma występuje we wszystkich krajach, niezależnie od stopnia rozwoju cywilizacyjnego, ale częstość jej występowania znacznie się różni w poszczególnych populacjach, nawet w obrębie jednego regionu. Ponadto w ciągu ostatnich 20 lat częstość jej znacząco wzrosła, zwłaszcza u dzieci (2). Aktualne doniesienia wskazują, że w Europie częstość astmy w populacji dorosłych waha się od 8–12% (3–5). Spośród tych przypadków ok. 10% stanowi astma zawodowa, w której zmienny przepływ powietrza w drogach oddechowych

i/lub ich nadreaktywność wywołane są przez czynniki specyficzne dla środowiska pracy (6).

Rozpoznanie astmy oskrzelowej opiera się głównie na danych z wywiadu, badaniu przedmiotowym oraz wynikach badań czynnościowych układu oddechowego (spirometria spoczynkowa, próba prowokacyjna wziewna z histaminą, monitorowanie szczytowego przepływu wydechowego). Od wielu lat trwa poszukiwanie obiektywnej metody diagnostycznej, polegającej na pomiarach poziomów odpowiedniego biomarkera, która to metoda charakteryzowałaby się niską inwazyjnością przy jednoczesnej wysokiej trafności.

Proces zapalny w drogach oddechowych odgrywa kluczową rolę w patogenezie astmy. Wyniki wielu badań pozwoliły na sformułowanie hipotezy, że tlenek azotu (NO) jest jednym z markerów natężenia tego procesu. Dlatego też ostatnio duże nadzieje wiąże się z możliwością wykorzystania pomiaru stężeń tlenu azotu w powietrzu wydychanym (FE_{NO}) – jako nowej nieinwazyjnej metody diagnostycznej oceniającej proces zapalny dróg oddechowych.

BIOSYNTeza TLenu AZOTU I JEGO POMIAR W POWIETRZU WYDECHOWYM

Tlenek azotu jest endogennym, rozpuszczalnym gazem, którego wysoce reaktywne cząsteczki biorą udział w wielu fizjologicznych i patologicznych procesach zachodzących w organizmie. NO uczestniczy m.in. w regulacji obwodowego przepływu krwi, czynności płytek krwi, reakcjach immunologicznych i neurotransmisji (7). Jest syntetyzowany z L-argininy (ryc. 1) z udziałem enzymu syntazy tlenu azotu (Nitric Oxide Synthase – NOS), występującej w trzech izoformach. Jedną z nich (NOS-1) związana jest z komórkami nerwowymi, gdzie NO pełni funkcję przekaźnika międzykomórkowego; ekspresja innej (NOS-3) dotyczy głównie komórek śródbłonna. Trzecia izoforma tzw. indukowalna (NOS-2 lub iNOS) wykazuje znacznie większą aktywność niż pozostałe i może być uczyniana przez cytokiny prozapalne, a także endotoksyny bakteryjne oraz wirusy. Jej synteza wzrasta w warunkach zapalenia (8–12). Obecność wszystkich trzech izoform wykazano w drogach oddechowych (13), jednakże tylko ekspresja iNOS koreluje z poziomem tlenu azotu w powietrzu wydychanym (14).

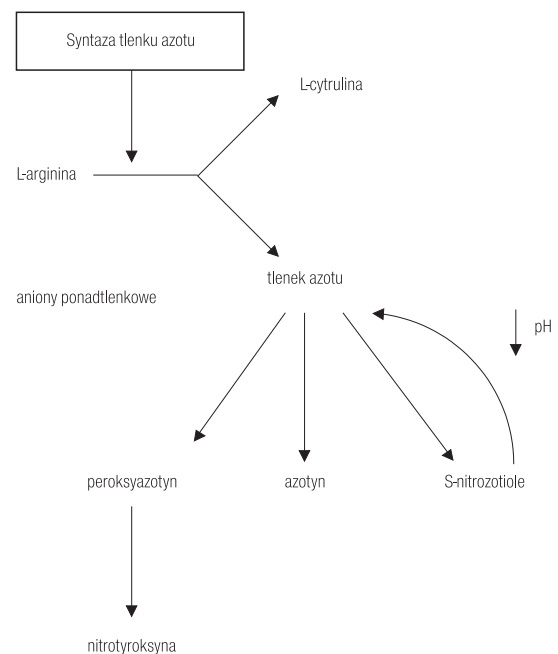
W drogach oddechowych ekspresja indukowalnej NOS występuje w komórkach typu II pęcherzyków płucnych, śródbłonna, komórkach mięśni gładkich, gruczołach podśluzówkowych, makrofagach, neutrofi-

lach oraz eozynofilach, a jej stymulacja odbywa się poprzez liczne cytokiny, m.in. TNF- α , IL-1, INF-gamma. Indukcja NOS odbywa się w tkance płucnej pacjentów z ARDS (zespół ostrej niewydolności oddechowej dorosłych), bakteryjnym zapaleniem płuc, rakiem płuca, zmianami płucnymi w przebiegu sarkoidozy, idiopatycznym włóknieniem płuc oraz astmą oskrzelową. Produkowany przez iNOS tlenek azotu rozszerza naczynia i oskrzela, odgrywa ważną rolę w reakcjach immunologicznych, w tym cytotoksyczności, oraz wydzieleniu śluzu.

U chorych na astmę inhalacja zarówno L-argininy jak i D-argininy wiąże się ze znaczącym wzrostem stężenia tlenu azotu w powietrzu wydychanym. D-arginina nie jest substratem dla NOS, dlatego też jego podwyższony poziom w wielu chorobach układu oddechowego sugeruje, przynajmniej częściowe, powstawanie tego mediatora na drodze nieenzymatycznej (15).

NO jest, bez udziału enzymów, w dużej ilości uwalniany z S-nitrozotiole (ryc. 1). Powstaje także poprzez przyłączanie protonów do azotynów i tworzenie jonów azotawych, które z kolei uwalniają NO w kwaśnym środowisku. Wykazano, że w czasie ostrych epizodów astmy, podczas których następuje spadek pH powietrza w drogach oddechowych, tlenek azotu powstaje w sposób opisany powyżej (16).

Pomiar stężenia tlenu azotu w powietrzu wydychanym dokonuje się za pomocą analizatora chemilu-



Ryc. 1. Synteza tlenu azotu w drogach oddechowych.
Fig. 1. Nitric oxide synthesis in the airways.

Tabela 1. Czynniki modyfikujące stężenie tlenu azotu w powietrzu wydychanym u osób zdrowych**Table 2.** Factors that modify the exhaled nitric oxide concentrations in healthy subjects

Wzrost FENO	Spadek FENO
L-arginina	ćwiczenia fizyczne
Infekcje dróg oddechowych	spadek temperatury
Formaldehyd	palenie tytoniu
Dieta bogata w azotany	biernie palenie
Tlenek azotu zawarty w powietrzu	spożywanie alkoholu

FE_{NO} – stężenie tlenu azotu w powietrzu wydychanym.

minescencyjnego, w którym wykorzystywana jest fotochemiczna reakcja między NO a ozonem wytwarzanym przez analizator. Pozwala to na dokonywanie pomiarów z dokładnością do 1 cząstki na bilion (ppb) (17).

Wartości stężeń NO są różne w poszczególnych odcinkach dróg oddechowych. U ludzi zdrowych w zatokach obocznych nosa stężenie NO wynosi 1000–3000 ppb, w przewodach nosowych – 15–40 ppb, w tchawicy poniżej 3 ppb (18,19). Z tego też względu celem wyeliminowania NO pochodzącego z jamy nosowo-gardłowej przy analizie tlenu azotu z dolnych dróg oddechowych wydech musi odbywać się w warunkach stałego oporu wydechowego. W większości z opublikowanych prac wartości FE_{NO} u zdrowych dzieci i zdrowych niepalących osób dorosłych określane są na 5–20 ppb (20,21), podczas pomiaru przy przepływie 50 ml/s, zgodnie z wytycznymi ATS (American Thoracic Society) (22).

Na pomiar FE_{NO} ma wpływ wiele czynników (tabela 1), m.in. palenie tytoniu, spożywanie alkoholu i posiłków bogatych w azotany, ćwiczenia fizyczne, a także wielkość przekroju oskrzeli, stąd różnice pomiędzy mężczyznami a kobietami oraz dziećmi i dorosłymi (23–27).

FE_{NO} A INNE MARKERY ZAPALENIA W DROGACH ODDECHOWYCH W ASTMIE OSKRZELOWEJ

Obecność tlenu azotu w powietrzu wydychanym zaobserwował po raz pierwszy Gustaffson i wsp. w badaniach doświadczalnych (28), natomiast w 1993 r. Alving i wsp. wykazali obecność wyższych stężeń FE_{NO} w grupie 8 dorosłych chorych na astmę oskrzelową w porównaniu z osobami zdrowymi (29). Obserwacje te zostały potwierdzone kolejnymi doniesieniami (30–34).

Podwyższone stężenia tlenu azotu, obserwowane u pacjentów z astmą, są wynikiem indukcji syntezy

przez mediatory zapalenia w drogach oddechowych (35). Sugeruje się związek pomiędzy poziomem FE_{NO} a zawartością eozynofiliów w płwocinie indukowanej. W grupie chorych na astmę stabilną znaleziono silnie dodatnią korelację pomiędzy wyżej wymienionymi parametrami (36). Obserwuje się także statystycznie znaczący związek pomiędzy FE_{NO} a eozynofilią krwi obwodowej u dzieci z atopią i osób dorosłych, chorych na astmę oskrzelową (37).

Przytoczone powyżej wyniki badań znalazły potwierdzenie przez innych autorów (38). Lanz i wsp. wykazali, że FE_{NO} jest bardziej czułym markerem aktywności choroby niż eozynofilowe białko kationowe (ECP) oraz rozpuszczalny receptor dla interleukiny 2 (sIL2R), a jego stężenie specyficznie odzwierciedla nasilenie zapalenia eozynofilowego w drogach oddechowych (39). Ponadto FE_{NO} był lepszym wskaźnikiem odpowiedzi na terapię glikokortykosteroidami niż powyższe parametry. Wykazano również zależność pomiędzy rozległością nacieku eozynofilowego w nabłonku oskrzelowym (uzyskanym biopsyjnie) a poziomem NO w powietrzu wydychanym (40). Obserwowano wyraźną dodatnią korelację pomiędzy FE_{NO} i odsetkiem eozynofiliów w popłuczynach oskrzeliko-pęcherzykowych (BALF) (41). Zauważono także dodatnią korelację pomiędzy poziomem FE_{NO} w powietrzu wydychanym a stężeniem TGF-β (transformujący czynnik wzrostu β) w popłuczynach oskrzeliko-pęcherzykowych. TGF-β jest ważnym parametrem odzwierciedlającym stopień remodelingu dróg oddechowych u chorych na astmę (42).

FE_{NO} A OBJAWY KLINICZNE ASTMY OSKRZELOWEJ I WYNIKI BADAŃ CZYNNOSCIOWYCH UKŁADU ODDECHOWEGO

Niektórzy autorzy wskazują na związek między stężeniem NO a przebiegiem klinicznymi astmy. Artlich i wsp. (43), prowadząc badania w grupie 25 dzieci z astmą, stwierdzili istotnie wyższe poziomy FE_{NO} u tych, u których występowało zaostrzenie choroby w porównaniu ze stężeniami NO u dzieci w okresie remisji. Podobne wyniki uzyskał Stirling i wsp. u dorosłych (44). A zatem pomiary FE_{NO} mogą być cennym źródłem informacji o skuteczności leczenia (45,46). Zaobserwowano również, iż zwiększone stężenie tlenu azotu może wyprzedzać wystąpienie klinicznych objawów zaostrzenia astmy oskrzelowej (47,48).

Poddano także analizie związek pomiędzy FE_{NO} a wynikami badań czynnościowych układu oddecho-

wego u chorych na astmę. Wykazano słabą korelację pomiędzy poziomem FE_{NO} a natężoną pierwszosekundową objętością wydechową (FEV_1) (49). Wydaje się, że zmiany stężenia NO są wyraźniejsze niż nasilenie zaburzeń spirometrycznych po ekspozycji na alergen. Wskazuje to, że tlenek azotu jest bardziej czułym markerem stanu klinicznego chorych na astmę (50,51).

Wyniki większości badań wskazują na związek między FE_{NO} a stopniem nadreaktywności oskrzeli stwierdzonej za pomocą próby prowokacyjnej z histaminą (PC_{20H}). Zależność taką stwierdzono, m.in., u niepalących atopowych chorych na astmę oraz u młodych dorosłych cierpiących na tę chorobę (52,53).

FE_{NO} A DIAGNOSTYKA ASTMY ZAWODOWEJ

Pomiary tlenu azotu mogą być wykorzystywane do wykrywania reakcji zapalnej w drogach oddechowych po specyficznym teście prowokacyjnym (54). Znaczący wzrost FE_{NO} po próbie prowokacyjnej wskazuje na reakcję zapalną indukowaną przez alergen. Później odpowiedzi astmatycznej towarzyszy napływ komórek zapalnych i uwolnienie cytokin prozapalnych w drogach oddechowych. Migracja swoistych typów leukocytów do miejsca zapalenia regulowana jest za pośrednictwem różnych chemokin (MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β) (55,56).

Opisano wzrost stężenia NO u pacjentów po swojej próbie prowokacyjnej z diizocyjanianami oraz lateksem gumy naturalnej (57). Wzrost ten nastąpił 22 godziny po prowokacji u pracowników z podwyższonymi poziomami specyficznego IgE w surowicy krwi i kliniczną odpowiedzią na stymulację. Olin i wsp. zaobserwowali wyższy poziom tlenu azotu u pracowników ścieralni, którzy byli narażeni na kontakt z wysokim stężeniem ozonu w porównaniu z pracownikami nienarażonymi na ten gaz (58). Trzy lata później stężenia FE_{NO} u pacjentów z większą ekspozycją na ozon były znacząco wyższe niż w grupie kontrolnej, a także wzrosła u nich częstość zachorowań na astmę atopową. Wyraźny wzrost NO (do 40%) wykazano również u pracowników przemysłu obuwniczego i skórzanego w trakcie godzin pracy, co prawdopodobnie związane było z narażeniem na rozpuszczalniki organiczne (59). A zatem, przypuszczalnie, pomiary tego parametru mogą znaleźć zastosowanie także w ocenie efektów zdrowotnych, będących wynikiem działania czynników toksycznych w środowisku pracy.

Określanie stężeń FE_{NO} może być dodatkowym, użytecznym źródłem informacji przydatnym w inter-

pretacji zawodowych testów prowokacyjnych układu oddechowego, zwłaszcza u osób z granicznymi zmianami czynnościowymi w spirometrii, co w istotny sposób może przyczynić się do właściwego zdiagnozowania zawodowej astmy oskrzelowej.

Precyzyjne określenie stopnia zapalenia w drogach oddechowych, za pośrednictwem pomiaru FE_{NO} , może przyczynić się do lepszego poznania patomechanizmu astmy oskrzelowej, stworzyć nowe perspektywy monitorowania skuteczności terapii tej choroby i przebiegu jej historii naturalnej, z uwzględnieniem oceny nasilenia zmian organicznych oskrzeli. Ponadto pomiary FE_{NO} mogą być użyteczną metodą diagnostyki różnicowej astmy z innymi schorzeniami układu oddechowego, które mogą towarzyszyć astmie, jak np., alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych (60).

PIŚMIENNICTWO

1. National Heart, Lung and Blood Institute: Guidelines for the diagnosis and management of asthma. National Institute of Health Publication, 1997;97:40–51
2. ISAAC Steering Committee. Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Eur. Respir. J.*, 1998;12:315–335
3. Von Hertzen L., Haahtela T.: Signs of reversing trends in prevalence of asthma. *Allergy*, 2005;60:283–292
4. Haahtela T., Lindholm H., Bjorksten F., Koskenvuo K., Laitinen L.A.: Prevalence of asthma in Finnish young men. *BMJ*, 1990;301:266–268
5. Yunginger J.W., Reed C.E., O'Connell E.J., Melton L.J., O'Fallon W.M., Silverstein M.D.: A community-based study of the epidemiology of asthma. Incidence rates, 1964–1983. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1992;146:888–894
6. Gautrin D., Newman-Taylor A.J., Nordman H., Malo J.L.: Controversies in epidemiology of occupational asthma. *Eur. Respir. J.*, 2003;22:551–559
7. Bhagat K., Vallance P.: Nitric oxide 9 years on. *J. R. Soc. Med.*, 1996;89:667–673
8. Hamid Q., Springall D.R., Riveros-Moreno V., Chanez P., Howarth P., Redington A. i wsp.: Induction of nitric oxide synthase in asthma. *Lancet*, 1993;148:955–960
9. Marshall H.E., Stamler J.S.: NO waiting to exhale in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2000;161:685–687
10. Ten Hacken N.T.H., Postma D.S., Drak G., Smith M., Kraan J., Timens W.: Increased vascular expression of iNOS at day but not at night in asthmatic subjects with increased nocturnal airway obstruction. *Eur. Respir. J.*, 2000;16:445–451
11. Silkoff P.E., Robbina R.A., Gaston B., Landberg J.O.M., Townley R.G.: Endogenous nitric oxide in allergic airway disease. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000;105:438–448
12. Sanders P., Slekiński E.S., Richards S.M., Porter J.D., Imani F., Proud D.: Rhinovirus infection induces expression of type 2 ni-

- tric oxide synthase in human respiratory epithelial cells in vitro and in vivo. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001;107:235–243
13. Ricciardolo F.L., Sterk P.J., Gaston B., Folkerts G.: Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiol. Rev.*, 2004;84:731–765
 14. Lane C., Knight D., Burgess S., Franklin P., Horak F., Legg J. i wsp.: Epithelial inducible nitric oxide synthase activity is the major determinant of nitric oxide concentration in exhaled breath. *Thorax*, 2004;59:757–760
 15. Chambers D.C., Ayers J.G.: Effect of nebulised L-arginine on exhaled nitric oxide in steroid naive asthma. *Thorax*, 2001;56:602–606
 16. Hunt J.F., Fang K., Malik R., Snyder A., Malhotra N., Platts-Mills T.A.E., i wsp.: Endogenous airway acidification: implications for asthma pathophysiology. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2000;161:694–699
 17. Lundberg J.O., Weitzberg E., Lundberg J.M., Alving K.: Nitric oxide in exhaled air. *Eur. Respir. J.*, 1996;9:2671–2680
 18. Lundberg J.O., Farkas-Szallasi T., Weitzberg E., Rinder J., Lidholm J., Anggard A. i wsp.: High nitric oxide production in human paranasal sinuses. *Nat. Med.*, 1995;1:370–373
 19. Lundberg J.O., Rinder J., Weitzberg E., Lundberg J.M., Alving K.: Nasally exhaled nitric oxide in humans originates mainly in the paranasal sinuses. *Acta Physiol. Scand.*, 1994;152:431–432
 20. Kharitonov S.A., Gonio F., Kelly C., Meah S., Barnes P.J.: Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *Eur. Respir. J.*, 2003;21:433–438
 21. Scollo M., Zaramella C., Zanconato S., Baraldi E.: Exhaled carbon monoxide (ECO) and exhaled nitric oxide (ENO) in children with acute asthma. *Eur. Respir. J.*, 2000;16 (Suppl 31):23S
 22. Society A.T.: Recommendations for standardized procedures for the on-line and off-line measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children – 1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1999;160:2104–2117
 23. Baraldi E., Azzolin N.M., Cracco A., Zacchello F.: Reference values of exhaled nitric oxide for healthy children 6–15 years old. *Pediatr. Pulmonol.*, 1999;27:54–58
 24. Ho L.P., Wood F.T., Robson A., Innes J.A., Greening A.P.: The current single exhalation method of measuring exhaled nitric oxide is affected by airway caliber. *Eur. Respir. J.*, 2000;15:1009–1013
 25. Palm J.P., Graf P., Lundberg J.O., Alving K.: Characterization of exhaled nitric oxide: introducing a new reproducible method for nasal nitric oxide measurements. *Eur. Respir. J.*, 2000;16:236–241
 26. Kisson N., Duckworth L.J., Blake K.V., Murphy S.P., Taylor C.L., DeNicola L.R. i wsp.: Exhaled nitric oxide concentrations: online versus offline values in healthy children. *Pediatr. Pulmonol.*, 2002;33:283–292
 27. Gabriele C., Pijnenburg M.W.H., Monti F., Hop W., Bakker M.E., Jongste J.C.: The effect of spirometry and exercise on exhaled nitric oxide in asthmatic children. *Pediatr. Allergy Immunol.*, 2005;16:243–247
 28. Gustafsson L.E., Leone A.M., Persson M.G., Wiklund N.P., Moncada S.: Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbit, guinea-pigs and humans. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1991;181:852–857
 29. Alving K., Weitzberg E., Lundberg J.M.: Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatic. *Eur. Respir. J.*, 1993;6:1368–1370
 30. Kharitonov S.A., Yates D., Robbins R.A., Logan-Sinclair R., Shinebourne E.A., Barnes P.J.: Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet*, 1994;343:133–135
 31. Ho L.P., Wood F.T., Robson A., Innes J.A., Greening A.P.: Atopy influences exhaled nitric oxide levels in adults asthmatics. *Chest*, 2000;118:1327–1331
 32. Smith A.D., Cowan J.O., Filsell S., McLachlan C.: Diagnosis asthma: comparison between exhaled nitric oxide measurements and conventional tests. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2004;169:473–479
 33. Nordvall S.L., Janson C., Kalm-Stephens P., Foucard T., Torén K., Alving K.: Exhaled nitric oxide in a population-based study of asthma and allergy in schoolchildren. *Allergy*, 2005;60:469–475
 34. Malmberg L.P., Turpeinen H., Rytälä P., Sarna S., Haahtela T.: Determinants of increased exhaled nitric oxide in patients with suspected asthma. *Allergy*, 2005;60:464–468
 35. Prieto L.: Measurement of exhaled nitric oxide concentrations in asthma. Technical aspects and clinical usefulness. *Allergol. Immunol. Clin.*, 2002;17:72–87
 36. Jatakanon A., Lim S., Kharitonov S.A., Chung K.F., Barnes P.J.: Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax*, 1998;53:91–95
 37. Silvestri M., Spallarossa D., Frangova Yourukova V., Battistini E., Fregonese B., Rossi G.A.: Orally exhaled nitric oxide levels are related to the degree of blood eosinophilia in atopic children with mild-intermittent asthma. *Eur. Respir. J.*, 1999;13:321–326
 38. Payne D.N.P., Adcock M.I., Wilson N.M., Oates T., Scallan M., Busch A.: Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in children with difficult asthma, after treatment with oral prednisolone. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2001;164:1376–1381
 39. Lanz M.J., Leung D.Y., McCormick D.R., Harbeck R., Szefer S.J., White C.W.: Comparison of exhaled nitric oxide, serum eosinophilic cationic protein, and soluble interleukin-2 receptor in exacerbations of pediatric asthma. *Pediatr. Pulmonol.*, 1997;24:305–311
 40. Lim S., Jatakanon A., John M., Gilbey T., O'Connor B.J., Chung K.F., i wsp.: Effect of inhaled budesonide on lung function and airway inflammation. Assessment by various inflammatory markers in mild asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1999;159:22–30
 41. Lim S., Jatakanon A., Meah S., Oates T., Chung K.F., Barnes P.J.: Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in mild to moderately severe asthma. *Thorax*, 2000;55:184–188
 42. Mahut B., Declaux C., Tillie-Leblond I., Gosset P., Delacourt C., Zerah-Lancner F. i wsp.: Both inflammation and remodeling

- influence nitric oxide output in children with refractory asthma. *J. Allergy Clin Immunol.*, 2004;113:252–256
43. Artlich A., Busch T., Lewandowski K., Jones S., Gartner L., Fulke K.J.: Childhood asthma: exhaled nitric oxide in relation to clinical symptoms. *Eur Respir. J.*, 1999;13:1396–1401
44. Stirling R.G., Kharitonov S.A., Campbell D., Robbinson D.S., Durham S.R., Chung K.F. i wsp.: Increase in exhaled nitric oxide levels in patients with difficult asthma and correlation with symptoms and disease severity despite treatment with oral and inhaled corticosteroids. *Thorax*, 1998;53:1030–1034
45. Prieto L., Gutiérrez V., Torres V., Uixera S., Marin J.: Effect of salmeterol on seasonal changes in airways responsiveness and exhaled nitric oxide in pollen-sensitive asthmatic subjects. *Chest*, 2002;122:798–805
46. Franklin P.J., Turner S.W., Le Souef P.N., Stick S.M.: Exhaled nitric oxide and asthma: complex interactions between atopy, airway responsiveness, and symptoms in a community population of children. *Thorax*, 2003;58:1048–1055
47. Moody A., Fergusson W., Wells A., Bartley J., Kolbe J.: Increased nitric oxide production in the respiratory tract in asymptomatic pacific islanders: an association with skin prick reactivity to house dust mite. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000;105:895–899
48. de Kluijver J., Evertse C.E., Schrupf J.A., vander Veen H., Zwinderman A.H., Hiemstra P.S. i wsp.: Asymptomatic worsening of airway inflammation during low-dose allergen exposure in asthma: protection by inhaled steroids. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2002;166: 94–300
49. Sippel J.M., Holden W.E., Tilles S.A., O'Hollaren M., Cook J., Thukkani N. i wsp.: Exhaled nitric oxide levels correlate with measures of disease control in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000;106:645–650
50. Piacentini G.L., Bodini A., Costella S., Vicentini L., Peroni D., Zanolla L. i wsp.: Allergen avoidance is associated with a fall in exhaled nitric oxide in asthmatic children. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1999;104:1323–1324
51. Baraldi E., Carrà S., Dario C., Azzolin N., Ongaro R., Marcer G. i wsp.: Effect of natural grass pollen exposure on exhaled nitric oxide in asthmatic children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1999;159:262–266
52. Al-Ali M.K., Howarth P.H.: Exhaled nitric oxide levels in exacerbations of asthma, chronic obstructive pulmonary disease and pneumonia. *Saudi Med. J.*, 2001;22:249–253
53. Salome C.M., Robetrs A.M., Brown N.J., Dermand J., Marks G.B., Woolcock A.J.: Exhaled nitric oxide measurements in a populations sample of young adults. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1999;159:911–916
54. Piipari R., Piirilä P., Keskinen H., Tuppurainen M., Sovijärvi A., Nordman H.: Exhaled nitric oxide in specific challenge tests to assess occupational asthma. *Eur. Respir. J.*, 2002;20:1532–1537
55. Grob M., Schmid-Grendelmeier P, Joller-Jemelka H.I., Ludwig E., Dubs R.W., Grob P.J. i wsp.: Altered intracellular expression of the chemokines MIP-1 α , MIP-1 β and IL-8 by peripheral blood CD4+ and CD8+ T cells in mild allergic asthma. *Allergy*, 2003;58:239–245
56. Yao T.C., Wu K.C., Chung H.T., Shaw C.K., Kuo M.L., Wu C.J. i wsp.: MCP-1 gene regulatory region polymorphism in Chinese children with mild, moderate and near-fatal asthma. *Allergy*, 2004;59:436–441
57. Allmers H., Chen Z., Barbinova L., Marczynski B., Kirschmann V., Baur X.: Challenge from methacholine, natural rubber latex, or 4,4-diphenylmethane diisocyanate in workers with suspected sensitization affects exhaled nitric oxide [change in exhaled NO levels after allergen challenges]. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 2000;73:181–186
58. Olin A.C., Andersson E., Andersson M., Granung G., Hagberg S., Torén K.: Prevalence of asthma and exhaled nitric oxide are increased in bleachery workers exposed to ozone. *Eur. Respir. J.*, 2004;23:87–92
59. Maniscalco M., Grieco L., Galdi A., Lundberg J.O., Sofia M.: Increase in exhaled nitric oxide in shoe and leather workers at the end of the work-shift. *Occup. Med. (Lond)*, 2004;54:404–407
60. Letimaki L., Kankaanranta H., Saarelainen S., Hahtola P., Järvenpää R., Koivula T. i wsp.: Extended exhaled NO measurement differentiates between alveolar and bronchial inflammation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2001;163:1557–1561