

LE MONOXYDE D'AZOTE EXHALÉ : un nouveau biomarqueur des pathologies respiratoires

V. HEINEN (1), M. CLAEYS (2), R. LOUIS (3)

RÉSUMÉ : Un intérêt croissant existe pour les biomarqueurs exhalés. Nous revoyons ici la littérature concernant la mesure du monoxyde d'azote exhalé (eNO). Les taux élevés de NO dans l'asthme et d'autres pathologies respiratoires ont mené à la réalisation d'un grand nombre d'études examinant eNO comme un marqueur de l'inflammation des voies respiratoires. Il s'agit d'une technique facile à réaliser, non invasive et reproductible. La mesure est actuellement standardisée. La valeur moyenne de eNO en région liégeoise chez le sujet sain est 21 ± 11.7 ppb. Il est modifié dans de nombreuses pathologies respiratoires. Son intérêt dans le diagnostic et le suivi de l'asthme est actuellement démontré. Le traitement par corticoïdes diminue le taux de NO exhalé dans l'asthme. Une élévation de eNO est susceptible de dépister une future exacerbation. eNO est aussi utile pour le diagnostic de la mucoviscidose et de la dyskinésie ciliaire primitive.
MOTS-CLÉS : Monoxyde d'azote exhalé - Asthme - Inflammation des voies respiratoires

INTRODUCTION

De nombreuses pathologies respiratoires comme l'asthme, la broncho-pneumopathie chronique obstructive, la mucoviscidose et les pneumopathies interstitielles ont pour physiopathologie l'inflammation et le stress oxydatif. Cependant, aucune technique ne permet actuellement de mesurer ces phénomènes en routine clinique. Dans l'asthme, la référence reste la biopsie bronchique. Cependant, cette technique est invasive, et ne peut être répétée fréquemment. D'autre part, elle n'est pas applicable en routine chez les enfants et dans les cas de pathologies sévères. L'estimation des symptômes est subjective, et est influencée par les bronchodilatateurs. Les tests de provocation bronchique ont été utilisés comme reflet de l'inflammation, mais de nouveau, ils sont modifiés par l'emploi de bronchodilatateurs et ne peuvent être réalisés chez les jeunes enfants et les patients atteints de maladie sévère. Ceci a mené au développement du sputum induit. Cette méthode permet, de façon reproductible, de mesurer les facteurs inflammatoires et de compter les cellules des sécrétions bronchiques. Cette technique peut être qualifiée de semi-invasive, puisque l'inhalation de salin hypertonique est susceptible de provoquer la bronchoconstriction et la toux. Cette méthode est moins performante en cas de maladie sévère et chez les enfants. De plus, cette technique modifie, par elle-même, les paramètres inflammatoires et ne peut être utilisée plus

EXHALED NITRIC OXYDE

SUMMARY : There has been a growing interest for exhaled biomarkers. We review studies examining NO as a potential marker of airway inflammation, enabling noninvasive repeated monitoring of airway inflammation. The measurement technique has been standardized. We have determined the local normal levels for the Liège region. The exhaled NO level is elevated in asthma, and can predict asthma exacerbation. Exhaled NO has a value for the diagnosis of cystic fibrosis and primary ciliary dyskinesia.

KEYWORDS : Exhaled nitric oxide - Asthma - Airway inflammation

d'une fois par 24 heures. Par ailleurs, l'analyse des échantillons demande une expertise de laboratoire et demande un travail de plusieurs heures.

Le développement de mesures réalisées sur les gaz exhalés et leurs condensats permet actuellement d'obtenir des mesures totalement non invasives, répétables rapidement, et possibles à effectuer chez les malades sévères et les jeunes enfants. Parmi ces techniques, la mesure du monoxyde d'azote exhalé (eNO) est actuellement la plus aboutie. En effet, de nombreuses études confirment son intérêt, notamment dans l'asthme et d'autres pathologies des voies respiratoires. Le développement d'appareils portables permet actuellement d'utiliser ces mesures en situation clinique de routine. Nous examinerons successivement les voies de formation, les techniques de mesure, l'étude des valeurs normales du monoxyde d'azote exhalé, et enfin son intérêt en pathologie.

ORIGINE DU NO EXHALÉ

Il existe trois isoenzymes responsables de la formation de NO dans le tractus respiratoire (1). Deux sont dites constitutives : la NO synthase neuronale ou NOS1, essentiellement exprimée dans les terminaisons nerveuses et la NO synthase endothéliale, ou NOS3. La NO synthase inductible (iNOS), ou NOS2, est également exprimée constitutivement dans les cellules épithéliales des voies aériennes. Son expression est largement augmentée par les cytokines proinflammatoires notamment dans les maladies inflammatoires des voies aériennes (Fig. 1) (2). Elle est aussi majorée dans les cultures de cellules épithéliales des voies aériennes exposées à des cytokines proinflammatoires. Enfin, les corticoïdes diminuent son expression, notamment dans l'asthme (3). Cette augmentation de trans-

(1) Assistant, (2) Kinésithérapeute, (3) Professeur, Service de Pneumologie, CHU Sart Tilman, Liège

cription est médiée par STAT-1 et NFκ-B. iNOS est également exprimée sur d'autres types cellulaires tels que les macrophages, les éosinophiles, et d'autres cellules inflammatoires (Fig. 1).

Anatomiquement, la production de NO est présente dans tout le tractus respiratoire, mais de façon très inégale. La production alvéolaire, bien que présente, ne compte que pour une petite partie du NO exhalé. En effet, les mesures de NO exhalé couplées à celles de CO₂ montrent que le pic de NO précède celui de CO₂, traduisant le fait que sa production maximale est plus proximale. Des mesures de NO en bronchoscopie dans la trachée et les grosses bronches montrent que les taux de NO sont comparables à ceux réalisés dans la bouche. La majeure partie de la production de NO des voies respiratoires inférieures se situe donc au niveau des petites voies aériennes, par ailleurs essentiellement impliquées dans l'asthme (4).

Les voies respiratoires supérieures présentent des taux de NO cent fois (cavités nasales) à mille fois plus élevées (sinus) que dans les voies respiratoires inférieures (4).

Le rôle physiologique du NO dans le système respiratoire a été assez peu étudié. Il joue un rôle bactéricide, fongicide et intervient dans la défense contre les virus. Il joue un rôle important dans la mobilité ciliaire (5). Le NO joue un rôle vasodilatateur bien connu au niveau de la petite circulation, mais sa production à ce niveau est essentiellement endothéliale. Enfin, il jouerait un rôle bronchodilatateur dans l'asthme. En effet, l'inhalation de hautes concentrations de NO a un effet bronchodilatateur.

MESURE DE NO EXHALÉ : PRINCIPES GÉNÉRAUX

Les mesures de NO exhalé sont généralement faites avec des analyseurs à chémoluminescence, basés sur le produit photochimique de la réaction entre le NO et l'ozone. Il existe deux méthodes

TABLEAU I : FACTEURS MODIFIANT LA MESURE DU TAUX DE NO EXHALÉ (HORS PATHOLOGIES DES VOIES AÉRIENNES INFÉRIEURES)

Mesure de NO augmentée	Mesure de NO diminuée
Nourriture riche en nitrates (laitue...) Ingestion d'arginine	Tabagisme Inhibiteurs de NOS : L-NAME, L-NMMA
Exercice physique Sexe masculin Pathologies : cirrhose, PCE, infection des voies respiratoires supérieures	Alcool Manœuvres spirométriques
Médicaments : dérivés nitrés Sujets atopiques	Médicaments : corticoïdes

principales de mesure. La mesure différée, basée sur une récolte des gaz exhalés dans des sacs dont le contenu est analysé ultérieurement. La méthode en ligne permet l'analyse directe d'une expiration continue à débit contrôlé (50ml/sec) contre une résistance. Cette résistance permet, par la fermeture du palais mou, d'exclure de la mesure les gaz des cavités sinusales, ce qui est nécessaire puisque ceux-ci contiennent des concentrations beaucoup plus élevées de NO. L'obtention d'un débit constant est importante en raison de la relation non proportionnelle reliant le débit expiratoire et le taux de NO exhalé.

Le taux de NO est exprimé en concentration fractionnaire, sous forme de parts pour milliard (ppb), équivalente à des nanolitres par litre (nl/l).

Il existe des facteurs autres que les pathologies respiratoires étudiées susceptibles de modifier les mesures de NO exhalé (Tableau I). Les mesures doivent être faites à jeun et après abstention de tabac depuis 4h. Elles doivent être effectuées avant les mesures spirométriques, car celles-ci diminuent l'eNO.

Des recommandations internationales pour la mesure du NO ont été publiées en 1997 par l'ERS (7) et, en 1999, par l'ATS (6). Ces dernières, plus actuelles, sont généralement suivies dans la littérature internationale.

MESURE ET TAUX DE NO CHEZ LE SUJET SAIN

Kharitonov et al. ont démontré (8) que la mesure du NO exhalé est une méthode sûre, acceptable et reproductible. Il existe très peu de variation diurne, de jour en jour, ou d'effet d'apprentissage.

Il est important lors de l'interprétation des valeurs de eNO de tenir compte de la méthodologie utilisée, du type d'analyseur et de son fabricant. Ceci explique les variations de valeurs

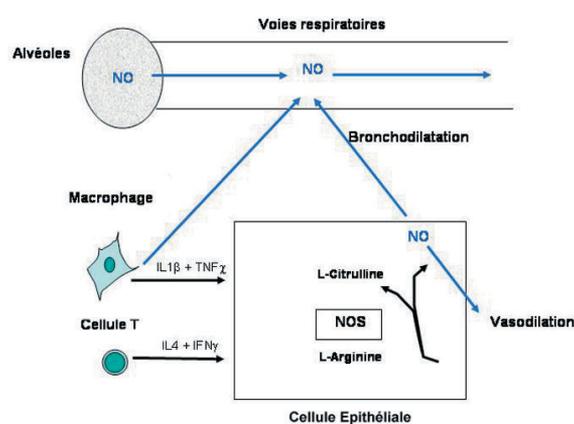


Figure 1 : Formation du NO dans le système respiratoire

absolues de eNO chez les sujets sains dans la littérature. Aucune étude comparant diverses populations d'origine géographique différente n'a encore été réalisée. Il convient donc de se rapporter aux références de la population locale.

En région liégeoise, nous avons testé 100 individus sains avec l'analyseur NIOXX (Aerocrine), selon les recommandations de l'American Thoracic Society. Les caractéristiques de ces sujets se trouvent dans le tableau II. La valeur moyenne de eNO est de 21 ± 11.7 ppb. Le calcul de l'intervalle de confiance à 95% permet d'estimer comme anormales des valeurs supérieures à 44.8ppb (Fig. 2).

NO EXHALÉ ET ASTHME

1. DIAGNOSTIC

La mesure du taux de NO exhalé représente une méthode additionnelle utile pour le diagnostic de l'asthme. Une étude récente de Dupont et al. a démontré l'utilité de cette technique pour différencier les asthmatiques dans une population de 240 patients présentant des symptômes évoquant une pathologie obstructive (9). En utilisant une valeur seuil de 16ppb (débit 200ml/sec), ils ont déterminé pour ce test une spécificité de 90% et une valeur prédictive positive supérieure à 90%. La sensibilité était par contre moins satisfaisante (50%). Chatkin et al. ont étudié le taux de eNO dans une population de 38 patients atteints de toux chronique. Ils ont déterminé que pour une valeur seuil de 30 ppb, la sensibilité et la spécificité du test pour le diagnostic de l'asthme étaient respectivement de 75 et 87%. Ils concluent que la mesure de eNO est un outil utile pour diagnostiquer l'asthme chez les tousseurs chroniques (10). Une comparaison a été réalisée entre la mesure du taux de eNO, du taux d'éosinophiles dans le sputum induit et les techniques conventionnelles (débitmétrie de pointe, spirométrie et changement de ces valeurs après corticoïdes). Elle a démontré que les sensibilités et spécificités étaient largement inférieures pour les techniques conventionnelles (0-47%) que pour le sputum induit (86%) et la mesure de eNO (88%) (11).

TABLEAU II : CARACTÉRISTIQUES DES SUJETS SAINS ÉTUDIÉS POUR L'ÉLABORATION DES VALEURS DE RÉFÉRENCE DANS LA POPULATION LIÉGEOISE

Nombre total de sujets testés	100
Âge moyen (ans)	33.2
Femmes / Hommes	53 / 47
Fumeurs / non fumeurs	23 / 77
Atopiques/non atopiques	38 / 62
Taille moyenne (cm)	170.5 ± 9.7
Poids moyen (kg)	68.5 ± 16.4

La mesure du taux de NO exhalé représente donc un outil additionnel utile dans le diagnostic de l'asthme. L'obtention d'une spécificité élevée se fait en utilisant de valeurs seuils élevées, qui diminuent la sensibilité. Il paraît acceptable de statuer qu'une valeur de eNO élevée chez un patient symptomatique permet de poser le diagnostic d'asthme. Pour des valeurs plus proches de la limite de la norme, le recours à des techniques conventionnelles telles que le test de provocation bronchique reste de rigueur. L'efficacité de la mesure de eNO est comparable à la mesure des éosinophiles dans le sputum induit, à la différence que cette mesure de eNO est plus facile à réaliser, mieux acceptée et plus sûre pour le patient.

2. EVALUATION DU CONTRÔLE DE L'ASTHME

Il a été démontré par plusieurs études que le taux de NO exhalé reflète le contrôle de la maladie asthmatique (12). Une étude longitudinale prospective récente confirme cette notion. Jones et ses collaborateurs ont étudié les variations de différents marqueurs de l'asthme (spirométrie, hyperréactivité bronchique provoquée par du salin hypertonique, sputum induit, eNO) après arrêt d'un traitement par corticoïdes qui était poursuivi depuis un mois chez 78 asthmatiques connus (13). La valeur prédictive positive de eNO était supérieure à 80% pour la prédiction d'une exacerbation (78% des patients). La sensibilité était moyenne (50%), mais comparable au test d'hyperréactivité provoquée et supérieure au dosage des éosinophiles dans le sputum. L'énorme avantage de la mesure de eNO par rapport à ces techniques est qu'elle est facile et rapide à réaliser, et bien acceptée par le patient. La commercialisation d'appareils portables permet actuellement d'accroître encore cette facilité de mesure.

C'est en exprimant les variations de eNo en pourcentage de la valeur de base, plutôt qu'en valeur absolue, qu'on obtient la meilleure valeur

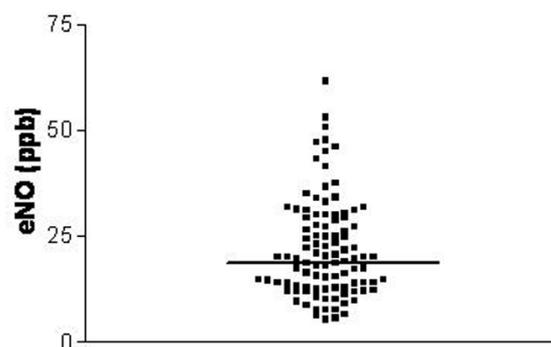


Figure 2 : Répartition des valeurs de eNO pour 100 sujets sains dans la population liégeoise avec représentation de la moyenne

prédictive positive. Une élévation de 60% donne les meilleurs résultats de sensibilité et spécificité. Il est donc plus intéressant de réaliser des mesures sériées de eNO chez les patients, dans le cadre d'une «clinique de l'asthme» par exemple, pour détecter une exacerbation. Une étude belge récente (14) a confirmé l'intérêt de eNO dans la prédiction de la perte de contrôle de l'asthme. 40 enfants ont été enrôlés dans cette étude. Le traitement par stéroïdes inhalés a été stoppé en raison de la stabilité de la maladie. On observe alors une élévation de eNO. Il a été démontré que, pour une valeur seuil de 49ppb quatre semaines après arrêt du traitement, il existe une sensibilité de 71% et une spécificité de 93% pour prédire une déstabilisation de l'asthme.

Il a été également démontré que les modifications de eNO précèdent les variations d'éosinophiles dans le sputum et de réactivité bronchique, rendant ce test plus précoce et laissant donc plus de latitude au clinicien pour une modification thérapeutique (15).

Un article de Leuppi et coll. (16) étudie les facteurs susceptibles de prédire une exacerbation après réduction progressive de corticoïdes jusqu'à l'arrêt chez 50 asthmatiques. Il démontre que l'hyperréactivité bronchique et le taux d'éosinophiles prédisent la déstabilisation contrairement au VEMS ou à l'eNO. Il est à noter cependant qu'il s'agit de mesures différées, qui sont réalisées à des débits expiratoires trois fois supérieurs à ceux recommandés, induisant peut-être par là un biais de mesure.

Aucune étude n'a actuellement été publiée à propos de la valeur de eNO pour la prédiction de la perte de contrôle chez des patients qui continuent à être traités par la même dose de corticoïdes. Des études prouvant l'intérêt d'une adaptation thérapeutique basée sur les variations de eNO dans le contrôle de la maladie asthmatique et son évolution sont aussi nécessaires.

L'asthme étant une maladie inflammatoire, il existe un intérêt majeur de baser les traitements de l'asthme sur le contrôle de l'inflammation bronchique en plus des symptômes ou de la fonction respiratoire. En effet, les traitements broncho-dilatateurs peuvent masquer la symptomatologie et améliorer les valeurs fonctionnelles en camouflant l'inflammation bronchique résiduelle. Celle-ci est en partie responsable des processus de remodelage bronchique, qui provoque l'apparition de modifications fixes de la paroi bronchique, et donc une évolution vers une pathologie obstructive établie. Ici aussi, nous manquons actuellement d'études confirmant l'intérêt de baser le traitement de l'asthme sur le contrôle

de l'inflammation. Ces études devront établir les valeurs seuil de eNO à atteindre par le traitement.

3. EFFETS DES TRAITEMENTS DE L'ASTHME SUR eNO

3.1. Corticoïdes

De nombreux auteurs ont montré que les corticoïdes, systémiques ou inhalés, provoquent une diminution du taux eNO. Ceci est concordant avec son rôle de marqueur de l'inflammation bronchique. Kharitonov et al. ont montré que eNO diminue rapidement en quelques heures pour se stabiliser lentement jusqu'à trois semaines après le début du traitement (17). Le taux de eNO retrouve sa valeur de base une semaine après l'arrêt du traitement.

Silkoff et coll. ont démontré dans une population d'asthmatiques, que les valeurs de eNO étaient significativement différentes pour des patients traités par 100 ou 800 µg de bécloéthasone (18). Un intérêt potentiel de eNO serait de discriminer les différentes doses de corticoïdes inhalés, pour permettre de déterminer la plus petite dose suffisante pour inhiber les processus d'inflammation bronchique. L'amplitude de la réduction de eNO nécessaire à refléter un contrôle adéquat de l'inflammation bronchique n'est pas encore connue.

3.2. β_2 mimétiques et traitements combinés

Les β_2 mimétiques, à courte ou longue durée d'action, ne provoquent pas de modification du taux de eNO. En effet, celui-ci est un marqueur de l'inflammation bronchique et non du calibre ou du tonus des muscles lisses (19).

Les traitements associant des β_2 mimétiques à longue durée d'action et des corticoïdes inhalés sont actuellement indiqués dans le traitement de l'asthme modéré à sévère. Ces traitements, par une amélioration des symptômes et de la fonction respiratoire, peuvent masquer l'inflammation résiduelle. Nous suggérons que la dose de corticoïde choisie pour ces traitements pourrait être établie en fonction du taux de eNO, ce qui permettrait de contrôler l'inflammation en plus des symptômes et de la diminution fonctionnelle respiratoire de la maladie asthmatique.

3.3. Anti-leucotriènes

Sandrini et coll. (20) ont montré que le traitement par montelukast seul provoque une diminution de 33% de eNO. Ce degré d'inhibition est inférieur à ce que l'on observe avec des doses de corticoïdes inhalés.

4. eNO ET BPCO

Le taux de eNO chez le patient présentant une BPCO est la résultante de deux tendances qui s'opposent. D'une part, on observe une diminution de la production de eNO provoquée par la réduction de surface alvéolaire secondaire à l'emphysème, et par le tabagisme en raison de la diminution du taux d'arginine endothéliale. D'autre part, le stress oxydatif, l'inflammation neutrophilique et l'élévation du taux de iNOS dans les macrophages et les cellules épithéliales sont responsables d'une production accrue de eNOS. Les modifications de rapport ventilation/perfusion pourraient également intervenir. Ansarin et al. (21) ont montré que le taux de eNO est significativement plus élevé chez les patients atteints de BPCO que chez les sujets sains, bien que dans une moindre proportion que chez les patients asthmatiques. Cette augmentation est inversement proportionnelle au VEMS, à la diffusion du CO et à la saturation artérielle en oxygène. L'utilisation de stéroïdes inhalés ne modifie pas la mesure de eNO dans la BPCO. Maziak et coll. ont montré en 1998 que eNO est plus élevé chez le BPCO en exacerbation qu'en période stable (22). Il a également été démontré (23) qu'une réversibilité partielle aux β_2 mimétiques dans la BPCO s'accompagne d'un taux de eNO plus élevé.

L'utilité clinique dans la BPCO est moins bien documentée que dans l'asthme.

5. NO ET AUTRES PATHOLOGIES RESPIRATOIRES

5.1. Mucoviscidose

L'eNO est significativement diminué chez les patients atteints de mucoviscidose (24). Ceci est expliqué par une diminution de l'expression de NOS2 chez ces patients. De plus, une production augmentée d'anions super oxydes, hautement réactifs avec le NO pour former des nitrates, interviendrait aussi. La diminution du taux de NO, en raison de son pouvoir bactéricide, favoriserait d'autant plus les infections bactériennes (23).

5.2. Bronchectasies

Le taux de eNO chez les patients atteints de bronchectasies est comparable à celui des sujets sains en période de stabilité, ou lorsque les patients sont traités par corticoïdes. Par contre, en phase d'exacerbation infectieuse, le taux de eNO est plus élevé que chez le sujet sain. Ceci est intéressant car un taux de eNO non diminué en période stable rend improbable la mucoviscidose et les dykinésies ciliaires primitives comme cause des bronchectasies.

5.3. Dyskinésie ciliaire primitive

La dyskinésie ciliaire primitive, incluant la maladie de Kartagener, est une maladie consistant en un déficit de motilité ciliaire, responsable d'infections respiratoires à répétition et de stérilité masculine. Cette condition est caractérisée par un taux très bas de eNO, qui n'est observé dans aucune autre pathologie (25). La mesure de eNO est donc utile pour le dépistage, et une confirmation peut alors être réalisée par la mesure de NO nasal, un test à la saccharine et une étude en microscopie électronique d'une biopsie bronchique. Le déficit de NO interviendrait en diminuant la bactéricidie, la fonction des canaux sodiques et perturberait dans la motilité ciliaire. L'amélioration de la motilité ciliaire par l'administration de L-arginine, substrat de la NOS, confirme le rôle majeur de la déficience en NO dans cette pathologie (26).

5.4. Autres

Le taux de eNO est augmenté dans les maladies interstitielles fibrosantes durant les phases aiguës et subaiguës. Ceci est concordant avec le fait qu'il existe une inflammation importante et une augmentation de eNOS (synthétase endothéliale de monoxyde d'azote) dans les cellules inflammatoires et épithéliales. Seule la pneumopathie interstitielle de la sclérodémie accompagnée d'hypertension artérielle pulmonaire présente un taux de eNO diminué.

Les hypertensions artérielles pulmonaires se traduisent par un taux moindre de eNO. Y participent une expression endothéliale moindre de eNOS et une redistribution circulatoire extra alvéolaire (27).

Le taux de eNO pourrait aider au suivi post-transplantation pulmonaire. En effet, une production moindre de NO dans un greffon en souffrance pourrait favoriser des échecs post-opératoires précoces. D'autre part, la bronchiolite oblitérante fréquemment observée en cas de rejet de greffe est caractérisée par une élévation du taux de eNO. Le monitoring de eNO pourrait donc avoir sa place dans le suivi post-transplantation (28).

CONCLUSION

La mesure du taux de eNO est un reflet de l'inflammation bronchique. Cette mesure est fiable et reproductible. Elle présente un intérêt majeur dans le diagnostic et le suivi de l'asthme. En effet l'élévation de eNO prédit une exacerbation future. La mesure du taux de eNO pourrait donc être réalisée en consultation de routine du pneumologue. Il reste néanmoins à démontrer

l'intérêt d'une adaptation thérapeutique basée sur eNO.

En dehors de l'asthme, l'utilité clinique de la mesure de eNO n'est pas encore prouvée en dehors de la dyskinésie ciliaire primitive et de la mucoviscidose.

La mesure de eNO s'inscrit de façon plus large dans le développement des biomarqueurs exhalés, qu'il s'agisse de l'analyse des gaz exhalés ou de leurs condensats. Dans l'avenir, l'obtention d'une série de marqueurs différents, à l'instar de la biologie sanguine, permettra d'accroître les performances dans le diagnostic et le suivi des maladies respiratoires ou systémiques.

RÉFÉRENCES

- Nathan C, Xie QW.— Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem*, 1994, **269**, 13725-13728
- Hamid Q, Springall DR, Riveros-Moreno V et al.— Induction of nitric oxide synthase in asthma. *Lancet*, 1993, **342**, 1510-1513
- Saleh D, Ernst P, Lim S et al.— Increased formation of the potent oxidant peroxynitrite in the airways of asthmatic patients is associated with induction of nitric oxide synthase: effect of inhaled glucocorticoid. *FASEB J*, 1998, **12**, 929-937
- Kharitonov SA, Chung FK, Evans DJ et al.— The elevated level of exhaled nitric oxide in asthmatic patients is mainly derived from the lower respiratory tract. *Am J Respir Crit Care Med*, 1996, **153**, 1773-1780
- Jain B, Rubinstein I, Robbins RA et al.— Modulation of airway epithelial cell ciliary beat frequency by nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, **191**, 83-88
- Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children-1999.— *Am J Respir Crit Care Med*, 1999, **160**, 2104-2117
- Kharitonov S, Alving K., Barnes PJ.— Exhaled and nasal nitric oxide measurement: recommendations *Eur Respir J*, 1997, **10**, 1683-1693
- Kharitonov SA, Gonio F, Kelly C et al.— Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *Eur Respir J*, 2003, **21**, 433-438
- Dupont LJ, Demedts MG, Verleden GM.— Prospective evaluation of the validity of exhaled nitric oxide for the diagnosis of asthma. *Chest*, 2003, **123**, 751-756
- Chatkin JM, Ansarin K, Silkoff PE.— Exhaled Nitric Oxide as a Noninvasive Assessment of Chronic Cough *Am J Respir Crit Care Med*, 1999, **159**, 1810-1813
- Smith AD, Cowan JO, Filsell S et al.— Diagnosing asthma: comparisons between exhaled nitric oxide measurements and conventional tests. *Am J Respir Crit Care*, 2004, **169**, 473-478
- Kharitonov SA, Barnes PJ.— Does exhaled nitric oxide reflect asthma control? Yes, it does! *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, **164**, 727-728
- Jones SL, Kittelson J, Cowan JO.— The predictive value of exhaled nitric oxide measurements in assessing changes in asthma control. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, **164**, 738-743
- Pijneneburg MW, Hofhuis W, Hop WC.— Exhaled nitric oxide predicts asthma relapse in children with clinical asthma remission. *Thorax*, 2005, **60**, 215-218
- Kharitonov SA, Yates DH, Chung KF.— Changes in the dose of inhaled steroids affect exhaled nitric oxide levels in asthmatic patients *Eur Respir J*, 1996, **9**, 196-201
- Leuppi JD, Cheryl MS, Jenkins CR.— Predictive markers of asthma exacerbation during stepwise dose reduction of inhaled corticosteroids *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, **163**, 406-412
- Kharitonov SA, Donnelly NE.— Dose-dependent onset and cessation of action of inhaled budesonide on exhaled nitric oxide and symptoms in mild asthma. *Thorax*, 2002, **57**, 889-896
- Silkoff PE, McClean P, Spino M.— Dose-response relationship and reproducibility of the fall in exhaled nitric oxide after inhaled beclomethasone dipropionate therapy in asthma patients. *Chest*, 2001, **119**, 1322-1328.
- Yates DH, Kharitonov SA, Barnes PJ.— Effect of short- and long-acting inhaled beta2-agonists on exhaled nitric oxide in asthmatic patients *Eur Respir J*, 1997, **10**, 1483-1488.
- Sandrini A, Ferreira IM, Gutierrez C et al.— Effect of montelukast on exhaled nitric oxide and nonvolatile markers of inflammation in mild asthma. *Chest*, 2003, **124**, 1334-1340
- Ansarin K, Chatkin JM, Ferreira IM et al.— Exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease: relationship to pulmonary function *Eur Respir J*, 2001, **17**, 934-938
- Maziak W, Loukides S, Culpitt S et al.— Exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 1998, **157**, 998-1002
- Papi A, Romagnoli M, Baraldo S et al.— Partial reversibility of airflow limitation and increased exhaled NO and sputum eosinophilia in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, **162**, 1773-1777
- Thomas SR, Kharitonov SA, et al.— Nasal and exhaled nitric oxide is reduced in adult patients with cystic fibrosis and does not correlate with cystic fibrosis genotype. *Chest*, 2000, **117**, 1085-1089
- Loukides S, Kharitonov SA, Wodehouse T et al.— Effect of L-arginine on mucociliary function in primary ciliary dyskinesia. *Lancet*, 1998, **352**, 371-372
- Grasemann H, Gartig SS, Wiesemann HG.— Effect of L-arginine infusion on airway NO in cystic fibrosis and primary ciliary dyskinesia syndrome. *Eur Respir J*, 1999, **13**, 114-118.
- Kharitonov SA, Barnes PJ.— Exhaled Markers of Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, **163**, 1693-1722
- Verleden GM, Dupont LJ.— Accuracy of exhaled nitric oxide measurements for the diagnosis of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation *Transplantation*, 2004, **78**, 730-733.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Dr V. Heinen 75 rue des Vergers 4040 Herstal, CHU salle -4AB tel : 7304
Email : heinen20100@hotmail.com