

NO IN EEN NOTENDOP

Auteurs M.L. Brouwer, B.L. Rottier en E.J. Duiverman

Trefwoorden astmabehandeling met inhalatiecorticosteroïden, diagnostiek astma, 'fractional exhaled nitric oxide', nasaal NO, stikstofmonoxide

Samenvatting

De aanwezigheid van stikstofmonoxide (NO) in de uitademingslucht is een verschijnsel van eosinofiele inflammatie bij astma. In de neus en sinussen zijn de NO-waarden hoog, in de lagere luchtwegen laag. 'Fractional exhaled nitric oxide' (FeNO) kan bij volwassenen en kinderen gemeten worden. De meting van NO met behulp van de online, offline en nasale methode is recent gestandaardiseerd. FeNO is verhoogd bij astma en wordt door diverse

factoren beïnvloed. Bij de diagnostiek van astma kan het meten van FeNO een toegevoegde waarde hebben, naast spirometrie. FeNO blijkt een goede maat voor astmacontrole. Wanneer astma op geleide van FeNO wordt behandeld met inhalatiecorticosteroïden, wordt een betere controle bereikt, zonder dat hogere doses medicatie nodig zijn. Het meten van nasaal NO is een goede screeningsmethode voor primaire ciliaire dyskinesie.

(Ned Tijdschr Allergie 2006;6:150-7)

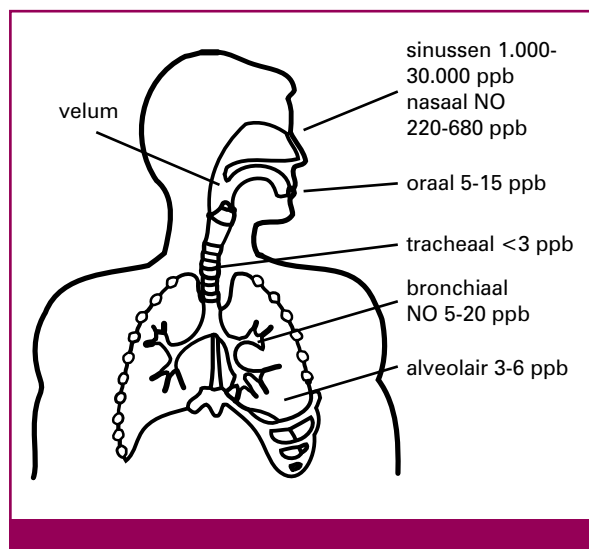
Inleiding

De fractionele concentratie van stikstofmonoxide (NO) in de uitademingslucht ('fractional exhaled nitric oxide', FeNO, het aantal moleculen NO ten opzichte van het totaal aantal moleculen in de uitademingslucht) is de laatste jaren een erkende ontstekingsparameter van astma geworden. De plaats van de FeNO-meting in de diagnostiek en behandeling van astma wordt langzamerhand duidelijk. In dit artikel worden de verschillende methoden om NO te meten, beschreven. Daarbij is aandacht voor de mogelijkheden en beperkingen van deze methoden en voor de plaats die de FeNO-meting kan hebben in de praktijk.

Astma is in de 'Global initiative for asthma' (GINA)-richtlijnen gedefinieerd als een chronische, inflammatoire aandoening van de luchtwegen.¹ Deze luchtwegontsteking is geassocieerd met bronchiale hyperreactiviteit, een beperkte doorgang van de luchtwegen en respiratoire symptomen. De inflammatie veroorzaakt acute bronchoconstrictie, zwelling van de mucosa, chronische vorming van mucuspluggen en permanente veranderingen in de luchtwegen (remodellering). Atopie en een belaste

familieanamnese zijn bij jonge kinderen de belangrijkste voorspellende factoren voor het ontwikkelen van astma.

Met flow-volumeonderzoek en provocatietests wordt gekeken naar de bronchusobstructie en prikkelbaarheid, maar niet naar de inflammatie. De methoden die voor het meten van inflammatie wel gebruikt kunnen worden zijn bronchoalveolaire lavage, bipten en sputuminductie. Deze methoden zijn (semi)invasief en kunnen niet gemakkelijk in de dagelijkse praktijk toegepast worden. Een niet-invasieve methode is het meten van stoffen in de uitademingslucht, zoals NO, koolmonoxide en 'exhaled breath condensate' (EBC). In het EBC is naast de pH-waarde een spectrum aan stoffen te bepalen: waterstofperoxide, NO-metabolieten, mediators die geassocieerd zijn met oxidatieve stress, prostaglandines, cytokines, leukotriënen, albumine en macromoleculen, zoals DNA. Veel van de metingen die gebruikt worden om inflammatie in de luchtwegen weer te geven, zijn arbeids- en tijdsintensief en worden alleen in een onderzoeksomgeving toegepast. De meting van FeNO is op dit moment voor de praktijk beschikbaar en wordt daarom in dit artikel besproken.



Figuur 1. Stikstofmonoxide (NO)-waarden in verschillende delen van de luchtwegen. Om te voorkomen dat menging met lucht uit de neus en sinussen optreedt, moet het velum gesloten zijn bij de meting van 'fractional exhaled nitric oxide' (FeNO). ppb='parts per billion'.

Fysiologie FeNO

FeNO is zowel bij astma als bij andere inflammatoire luchtwegaandoeningen verhoogd. Er zijn enkele ziekten waarbij de FeNO niet verhoogd is, zoals cystische fibrose en primaire ciliaire dyskinesie (trilhaarfunctiestoornis).^{2,3} Naar de oorzaak van deze verschillen vindt onderzoek plaats.

Het cellulaire en fysiologische proces van de NO-productie is nog niet geheel opgehelderd. NO wordt gesynthetiseerd door een familie van NO-synthase (NOS)-enzymen in neuronen, endotheel, macrofagen en epitheelcellen.⁴ Al deze cellen produceren continu lage hoeveelheden NO. Dit NO heeft een regulerend effect op de lokale perfusie en een luchtwegverwijdende werking. NO speelt ook een rol bij de afweer tegen micro-organismen.

De verhoging van NO bij astma is een gevolg van een toename van het epitheliale, induceerbare NOS2 onder invloed van ontstekingsmediatoren.⁵ Een hoge NO-productie leidt tot directe weefsel schade, een toename van eosinofiel infiltraat en een toename van de disbalans tussen Th1- en Th2-cellen. Een positief effect van de hoge NO-productie is een vermindering van de luchtweghyperreactiviteit door het ontspannen van de gladde spiertjes in de luchtwegen.⁶ NO wordt in de gehele luchtweg geproduceerd. De waarden in de neus zijn veel hoger dan in de bronchiën, door NO-productie in de sinussen (zie *Figuur 1*).⁷

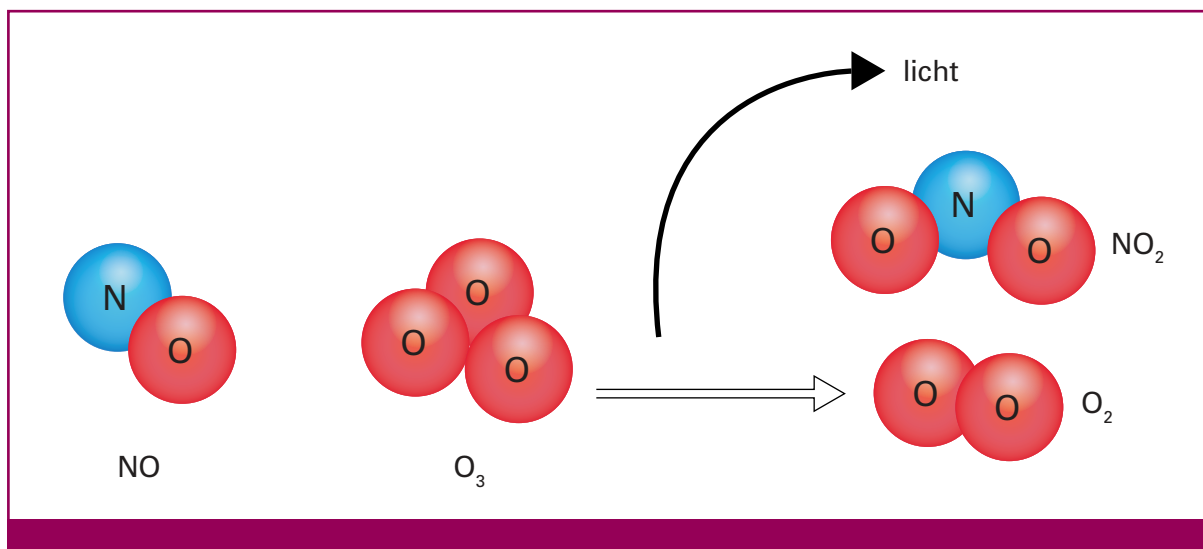
Standaard NO-meting

De 'American Thoracic Society' (ATS) en de 'European Respiratory Society' (ERS) hebben richtlijnen gepubliceerd voor gestandaardiseerde procedures voor de meting van NO.⁸ Er zijn verschillende methoden voor de NO-meting: online en offline. Online meten betekent dat NO in de uitademingslucht direct continu wordt gemeten door de 'NO-analyzer'. Bij offline metingen wordt de uitademingslucht verzameld en wordt de NO-waarde later gemeten.

Bij de FeNO-meting is het doel NO in de lagere luchtweg te meten. In de bovenste luchtweg vindt contaminatie van de uitademingslucht plaats, omdat hier grote hoeveelheden NO geproduceerd worden. Bovendien kan de NO in de buitenlucht de gemeten waarde ook beïnvloeden. Daarnaast blijkt de gemeten NO-waarde sterk afhankelijk van de uitademingssnelheid.⁹

Volgens de standaardprocedure vindt een test in 1 uitademing plaats.⁸ Na een maximale uitademing volgt een maximale inspiratie van NO-vrije lucht. Vervolgens wordt opnieuw uitgeademd, waarbij een weerstand de uitademingssnelheid fixeert op 50 ml/s, via de zogenoemde dynamische 'flow restrictor'. Om nasale contaminatie te voorkomen moet de expiratie plaats vinden tegen een weerstand van minimaal 5 cm H₂O, zodat het velum (het zachte weefsel achter het palatum) gesloten blijft. De expiratie duurt 10 seconden. Tijdens de expiratie ontstaat een uitwasfase, waarna een plateaufase van NO bereikt wordt. De plateaufase dient minimaal 6, maar bij voorkeur 10 seconden te duren. De gemiddelde waarde van NO in deze plateaufase wordt gemeten, waarbij de afwijking binnen de plateaufase maximaal 10% of 1 'part per billion' (ppb) mag zijn. De meting moet 2 keer (volgens eerdere richtlijnen 3 keer) reproduceerbaar uitgevoerd worden. Het gemiddelde van deze 2 metingen is de FeNO-waarde. De FeNO-waarde wordt weergegeven in ppb.

Voor gebruik in een longfunctielaboratorium zijn verschillende 'NO-analyzers' commercieel verkrijgbaar. De meeste maken gebruik van het principe van de op ozon/NO₂-gebaseerde chemieluminescentie (zie *Figuur 2*). Enkele andere apparaten maken gebruik van alternatieve technologieën. Aanbevelingen voor de apparatuur zijn te vinden in de richtlijn van de ATS/ERS.⁸ Op dit gebied vinden nog veel ontwikkelingen plaats. Sinds kort is een kleine 'handheld NO-analyzer' verkrijgbaar die in de spreekkamer of op locatie gebruikt kan worden. In een onderzoekssetting wordt NO met verschil-



Figuur 2. Schematische weergave van chemieluminescentie. Fotonen komen vrij door de reactie tussen stikstofmonoxide (NO) en ozon (O_3). Deze fotonen worden gemeten door een lichtgevoelige cel. Deze figuur is gepubliceerd met toestemming van Aerocrine AB, Zweden.

lende flows gemeten. Het doel hiervan is informatie te verkrijgen over meerdere compartimenten in de luchtwegen.

Offline metingen hebben als voordeel dat het verzamelen van de uitademingslucht niet gebonden is aan de plaats van de 'analyzer'. Hiervoor zijn eveneens richtlijnen.⁸ Er dient voorkomen te worden dat een hoog niveau van NO in de buitenlucht leidt tot contaminatie. Dit kan door het inademen van NO-vrije lucht of door het gebruik van een 'NO-scrubber', die de NO uit de buitenlucht filtert bij inspiratie. De uitademingslucht wordt verzameld met behulp van een kleppensysteem, bij voorkeur met een controle van de flow. Inerte ballonnen (Mylar® of Tedlar®) worden gebruikt. Hierin blijft de NO gedurende 9 uur stabiel en kan het bewaard worden voor de meting op de 'analyzer'.¹⁰ De resultaten van offline metingen zijn door meerdere onderzoekers gereproduceerd. Een aantal auteurs heeft met offline metingen vergelijkbare resultaten gevonden als met online metingen.¹¹ Anderen lukte dit niet.^{12,13} Voorlopig zijn de waarden dus niet uitwisselbaar.

FeNO-meting bij kinderen

Vanaf de leeftijd van 5-6 jaar is het mogelijk om een 'single breath' online meting te doen.¹⁴ Bij kinderen jonger dan 12 jaar hoeft de expiratoire plateau fase slechts 4 seconden te duren om een reproduceerbare waarde te krijgen.

Voor kinderen vanaf 4 jaar is een 'single breath' offline methode met een dynamische 'flow restrictor'

beschikbaar, waarmee reproduceerbare metingen verricht kunnen worden.^{11,15} Bij kinderen jonger dan 4 jaar zijn methoden nodig waarbij alleen passieve medewerking vereist is. Er wordt gebruik gemaakt van tidal-breathingmethoden, online en offline, al dan niet met gebruik van een gezichtsmasker. Dit zijn aantrekkelijke onderzoeksmethoden, omdat ze niet invasief zijn en zonder sedatie toegepast kunnen worden. In 1999 beschreef Baraldi voor het eerst verschillende FeNO-waarden bij gezonde en piepende peuters.¹⁶ Het probleem bij deze methoden is dat er geen flowcontrole is en dat de meting van FeNO sterk flowafhankelijk is. Het is nog onduidelijk of bij jonge kinderen contaminatie uit de bovenste luchtweg plaatsvindt, doordat de sinussen bij hen voor een groot deel nog niet aangelegd zijn. Verschillende methoden zijn beschreven, maar de uitkomsten zijn niet altijd reproduceerbaar.^{17,18} Voordat bij jonge kinderen FeNO-bepalingen in een klinische opzet kunnen worden uitgevoerd, is meer onderzoek nodig.

Factoren die de FeNO-waarde beïnvloeden

Veel factoren kunnen van invloed zijn op de FeNO-waarde. Dit zijn niet alleen de al genoemde flowafhankelijkheid, de aanwezigheid van NO in de buitenlucht en contaminatie uit de bovenste luchtweg. In *Tabel 1* op pagina 153 wordt een aantal factoren genoemd die de FeNO-waarde kunnen verhogen of verlagen. Deze lijst is niet compleet, maar is bedoeld om een indruk te geven van de veelheid aan factoren, waarmee rekening gehouden dient te worden.

Tabel 1. Belangrijke factoren die de waarde van FeNO beïnvloeden.

Factoren	Waarde FeNO
atopie	↑ ¹⁹
roken	↓ ²⁰
blootstelling aan rook (kinderen)	geen effect ²¹
eten of drinken	↑ ↓ ²²
inspanningstest	↓ ²³
spirometrie	↓ ²³
bovensteluchtweginfectie	↑ ²⁴
geslacht	wisselende bevindingen ^{19,25,26}
leeftijd bij kinderen	↑ met leeftijd ²⁷
β2-sympaticomimetica	↑ ^{28,29}
inhalatiecorticosteroïden	↓ ^{30,31}
leukotrienreceptorantagonisten	↓ ³²

Nasaal NO

Eerder is al genoemd dat de NO-waarde in de neus veel hoger is dan in de bronchiën. Er vindt nog veel onderzoek plaats naar de beste bepalingsmethode van nasaal NO. Hierover is veel minder eenduidigheid dan over de bronchiale meting. De hier beschreven methode wordt geadviseerd door de recent opgerichte ERS/ATS-werkgroep.⁸

Nasaal NO kan gemeten worden als het velum gesloten is en er een constante transnasale flow is tussen 0,25 en 3 l/min. Het velum wordt gesloten door via de mond tegen een weerstand van 10 cm H₂O uit te ademen. De flow die via het neusgat ingeblazen wordt, is van belang, omdat ook nasaal NO flowafhankelijk is.³³ Door een olijf in 1 neusgat te plaatsen, wordt online tijdens de expiratie de NO-waarde gemeten door de 'analyzer'.

De plaats van de nasale NO-meting is nog onduidelijk, op 1 uitzondering na: nasaal NO blijkt een goede screeningsmethode bij primaire ciliaire dyskinesie, omdat het nasaal NO bij deze aandoening sterk verlaagd is.³ Fout-lage uitslagen komen voor bij bovensteluchtweginfecties met sinusitis.

FeNO voor diagnostiek van astma

De normaalwaarden voor FeNO zijn inmiddels zowel voor volwassenen als voor kinderen vastgesteld (zie Tabel 2).³⁴⁻³⁶ De vraag is of het meten van de FeNO een goede methode is om astma te diagnosticeren. De meningen hierover zijn verdeeld.^{40,41} De

meeste onderzoekers vinden hogere FeNO-waarden bij astmatici. Tussen astmatici en gezonde personen is echter overlap gevonden in de FeNO-waarde, dus de waarden discrimineren niet voor de individuele patiënt.⁴² De waarde van FeNO correleert in hoge mate met de hoeveelheid sputumeosinofielen ($r=0,67$; $p<0,001$).⁴³ Er is slechts 1 studie gedaan waarin bipten werden genomen bij kinderen. Daarin correleerde de FeNO-waarde bij kinderen met ernstig astma met het aantal eosinofielen in de luchtwegmucosa ($r=0,67$; $p<0,001$).⁴⁴ Op grond van deze gegevens kan gesteld worden dat het meten van de FeNO een niet-invasieve methode is, die geassocieerd is met eosinofiele inflammatie in de luchtweg. De correlatie met bronchiale hyperreactiviteit ($r=0,14$; $p=0,16$) is echter veel kleiner.⁴⁵

FeNO is een maat voor astmacontrole

Uit de eerste onderzoeken naar FeNO bleek al snel dat het niveau hiervan verhoogd is bij patiënten met astma en atopie, maar ook dat dit effect verdwijnt als de patiënten steroïden gebruiken.⁴⁶ In een studie bij 78 patiënten met mild en matig ernstig astma werd de toediening van inhalatiecorticosteroïden (ICS) gestaakt. Vervolgens werd wekelijks en bij klachten de FeNO gemeten. Aan het begin en einde (na 6 weken of bij een exacerbatie) van de studie werd de bronchiale hyperreactiviteit gemeten. Jones et al. lieten zien dat een eenmalige NO-meting weinig zeggingskracht heeft, maar dat met seriële bepalingen

Tabel 2. Normaalwaarden van FeNO en nasaal NO.

	Volwassenen	Kinderen	Interpretatie bij de symptomatische astmapatiënt
FeNO laag	<5 ppb	<5 ppb	cave PCD of CF
FeNO normaal	5-20 ppb	5-15 ppb	eosinofiele inflammatie onwaarschijnlijk, overweeg andere diagnose
FeNO verhoogd	20-35 ppb	15-25 ppb	eosinofiele inflammatie en reactie op steroiden mogelijk
FeNO hoog	>35 ppb ^{34,35}	>25 ppb ³⁶	eosinofiele inflammatie en reactie op steroiden zeer waarschijnlijk
Nasaal NO laag	<200 ppb ³	<200 ppb ³⁷	PCD waarschijnlijk, indicatie voor trilhaaronderzoek
Nasaal NO normaal	gemiddeld 455 ppb, sd 147 ³⁸	gemiddeld 449 ppb, sd 115 ³⁹	
FeNO='fractional exhaled nitric oxide', NO=stikstofmonoxide, ppb='parts per billion', PCD=primaire ciliaire dyskinesie, CF=cystische fibrose, sd=standaarddeviatie			

juist het verlies van astmacontrole vastgesteld kan worden. Een verhoging van de FeNO-waarde ten opzichte van eerdere metingen bleek een voorbode van een exacerbatie te zijn.⁴⁷ Bij kinderen werd eveneens vastgesteld dat de FeNO-waarde daalt bij steroidgebruik en dat de FeNO-meting gebruikt kan worden om de therapietrouw bij het gebruik van ICS te volgen.⁴⁸ Bovendien blijkt dat ook bij kinderen die klinisch langdurig in remissie zijn en waarvan de steroiden worden gestaakt, een exacerbatie voorspeld kan worden door het meten van FeNO.⁴⁹

FeNO voor therapie op maat?

Nadat duidelijk werd dat de FeNO-waarde het verlies van controle voorspelt, lag het voor de hand om te bekijken of deze meetmethode gebruikt kan worden om de therapie met ICS te doseren. Kort na elkaar verschenen een studie bij volwassenen en een studie bij kinderen, waarin deze strategie gevolgd wordt. Smith et al. voerden een enkelblinde, placebogecontroleerde studie uit bij 94 patiënten (12-75 jaar) met chronisch astma (mild en matig ernstig), gecontroleerd in de eerste lijn.⁵⁰ De patiënten werden gerandomiseerd naar een conventionele behandeling of een FeNO-geleide behandeling. Wanneer FeNO, gemeten met een flow van 250 ml/s, <15 ppb was (corresponderend met 35 ppb bij een flow van 50 ml/s), werd de dosering van de ICS verlaagd.

Na een initiële fase waarin voor beide groepen de optimale dosis ICS werd vastgesteld, werden beide groepen 12 maanden gevolgd. Aan het einde bleek de dosis ICS in de FeNO-groep 40% lager te liggen ten opzichte van de groep die een conventionele behandeling ontving. Sputumeosinofielen, 'forced expiratory volume in 1 second' (FEV₁) en piekflowwaarden verschilden niet significant tussen beide groepen. Het verschil in de dosis ICS aan het einde van de studie was vooral het gevolg van het ophogen van de medicatie in de symptoomgestuurde groep. Het totale aantal exacerbaties was lager in de FeNO-groep, maar dit verschil was niet significant.

Pijnenburg et al. deden een dubbelblinde, placebogecontroleerde studie bij 85 kinderen, die gerandomiseerd waren naar een conventionele of een FeNO-strategie.⁵¹ De dosis ICS werd verlaagd bij een FeNO-waarde <30 ppb en de afwezigheid van symptomen. Na 12 maanden bleek de dosis ICS niet te verschillen tussen beide groepen. Beide groepen verschilden niet in symptoomscore (deze was in beide groepen laag) en FEV₁, maar in de FeNO-groep was na 1 jaar wel een significante verbetering van de bronchiale hyperreactiviteit opgetreden (2,5 versus 1,1 verdubbelingsdosis in de controlegroep) en was de FeNO-waarde verlaagd.

Deze studies laten zien dat het meten van FeNO een rol kan spelen in de behandeling van astma met de

Aanwijzingen voor de praktijk

1. Het vóórkomen van NO is een verschijnsel van eosinofiele inflammatie.
2. De FeNO-waarde is flowafhankelijk en bij de meting moet het velum gesloten zijn, om te voorkomen dat bijmenging van nasaal NO optreedt.
3. Een lage waarde van nasaal NO (<200 ppb) kan voorkomen bij bovensteluchtweginfecties met sinusitis (hoge incidentie) en primaire ciliaire dyskinesie (zeldzaam beeld).
4. Een FeNO-waarde van <30 ppb, gemeten met een flow van 50 ml/s, kan bij kinderen, in afwezigheid van symptomen, gebruikt worden om de dosering van de inhalatiecorticosteroïden te verminderen.

juiste dosering steroïden. In de toekomst zal ongetwijfeld meer gepubliceerd worden over dit onderwerp.

Conclusie

FeNO is geassocieerd met eosinofiele inflammatie in de luchtwegen. De rol van het meten van FeNO is additioneel aan spirometrie. De toekomst van de FeNO-meting lijkt op dit moment te liggen bij de astmacontrole en het bereiken van een optimale dosering van de steroïdtherapie. De FeNO-methode kan nu worden toegepast in grotere tweede- en derdelijnsziekenhuizen, in de nabije toekomst wellicht ook in huisartsenlaboratoria. Indien het nasaal NO verlaagd is (<200 ppb) past dat bij primaire ciliaire dyskinesie.

Referenties

1. Global Initiative for Asthma. www.ginasthma.com. 2006.
2. Lundberg JO, Nordvall SL, Weitzberg E, Kollberg H, Alving K. Exhaled nitric oxide in paediatric asthma and cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1996;75:323-6.
3. Wodehouse T, Kharitonov SA, Mackay IS, Barnes PJ, Wilson R, Cole PJ. Nasal nitric oxide measurements for the screening of primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J* 2003;21:43-7.
4. Kobzik L, Bredt DS, Lowenstein CJ, Drazen J, Gaston B, Sugarbaker D, et al. Nitric oxide synthase in human and rat lung: immunocytochemical and histochemical localization. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993;9:371-7.
5. Lane C, Knight D, Burgess S, Franklin P, Horak F, Legg J, et al. Epithelial inducible nitric oxide synthase activity is the major determinant of nitric oxide concentration in exhaled breath. *Thorax* 2004;59:757-60.
6. Ten Hacken NH, Timens W, Van der Mark TW, Nijkamp FP, Postma DS, Folkerts G. [Nitric oxide and asthma]. *Ned Tijdschr Geneesk* 1999;143:1606-11.
7. Lundberg JO, Farkas-Szallasi T, Weitzberg E, Rinder J, Lidholm J, Anggaard A, et al. High nitric oxide production in human paranasal sinuses. *Nat Med* 1995;1:370-3.
8. 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.
9. Silkoff PE, McClean PA, Slutsky AS, Furlott HG, Hoffstein E, Wakita S, et al. Marked flow-dependence of exhaled nitric oxide using a new technique to exclude nasal nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:260-7.
10. Bodini A, Pijnenburg MW, Boner AL, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide in mylar balloons: influence of storage time, humidity and temperature. *Mediators Inflamm* 2003;12:47-9.
11. Pijnenburg MW, Lissenberg ET, Hofhuis W, Ghirio L, Ho WC, Holland WP, et al. Exhaled nitric oxide measurements with dynamic flow restriction in children aged 4-8 yrs. *Eur Respir J* 2002;20:919-24.
12. Deykin A, Massaro AF, Drazen JM, Israel E. Exhaled nitric oxide as a diagnostic test for asthma: online versus offline techniques and effect of flow rate. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:1597-1601.
13. Silkoff PE, Stevens A, Pak J, Bucher-Bartelson B, Martin RJ. A method for the standardized offline collection of exhaled nitric oxide. *Chest* 1999;116:754-9.
14. Napier E, Turner SW. Methodological issues related to exhaled nitric oxide measurement in children aged four to six years. *Pediatr Pulmonol* 2005;40:97-104.
15. Jobsis 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.
16. Baraldi E, Dario C, Ongaro R, Scollo M, Azzolin NM,

- Panza N, et al. Exhaled nitric oxide concentrations during treatment of wheezing exacerbation in infants and young children. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:1284-8.
17. Franklin PJ, Turner SW, Mutch RC, Stick SM. Comparison of single-breath and tidal breathing exhaled nitric oxide levels in infants. *Eur Respir J* 2004;23:369-72.
 18. Franklin PJ, Turner SW, Mutch RC, Stick SM. Measuring exhaled nitric oxide in infants during tidal breathing: methodological issues. *Pediatr Pulmonol* 2004;37:24-30.
 19. Franklin PJ, Stick SM, Le Souef PN, Ayres JG, Turner SW. Measuring exhaled nitric oxide levels in adults: the importance of atopy and airway responsiveness. *Chest* 2004;126:1540-5.
 20. Chambers DC, Tunnicliffe WS, Ayres JG. Acute inhalation of cigarette smoke increases lower respiratory tract nitric oxide concentrations. *Thorax* 1998;53:677-9.
 21. Dinakar C, Lapuente M, Barnes C, Garg U. Real-life environmental tobacco exposure does not affect exhaled nitric oxide levels in asthmatic children. *J Asthma* 2005;42:113-8.
 22. Zetterquist W, Pedroletti C, Lundberg JO, Alving K. Salivary contribution to exhaled nitric oxide. *Eur Respir J* 1999;13:327-33.
 23. Gabriele C, Pijnenburg MW, Monti F, Hop W, Bakker ME, De Jongste JC. The effect of spirometry and exercise on exhaled nitric oxide in asthmatic children. *Pediatr Allergy Immunol* 2005;16:243-7.
 24. Kharitonov SA, Yates D, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of normal human subjects with upper respiratory tract infections. *Eur Respir J* 1995;8:295-7.
 25. Jilma B, Kastner J, Mensik C, Vondrovec B, Hildebrandt J, Krejcy K, et al. Sex differences in concentrations of exhaled nitric oxide and plasma nitrate. *Life Sci* 1996;58:469-76.
 26. Tsang KW, Ip SK, Leung R, Tipoe GL, Chan SL, Shum IH, et al. Exhaled nitric oxide: the effects of age, gender and body size. *Lung* 2001;179:83-91.
 27. Avital A, Uwytyed K, Berkman N, Bar-Yishay E, Godfrey S, Springer C. Exhaled nitric oxide is age-dependent in asthma. *Pediatr Pulmonol* 2003;36:433-8.
 28. Silkoff PE, Wakita S, Chatkin J, Ansarin K, Gutierrez C, Caramori M, et al. Exhaled nitric oxide after beta2-agonist inhalation and spirometry in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:940-4.
 29. Kissoon N, Duckworth LJ, Blake KV, Murphy SP, Lima JJ. Effect of beta2-agonist treatment and spirometry on exhaled nitric oxide in healthy children and children with asthma. *Pediatr Pulmonol* 2002;34:203-8.
 30. Yates DH, Kharitonov SA, Robbins RA, Thomas PS, Barnes PJ. Effect of a nitric oxide synthase inhibitor and a glucocorticosteroid on exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:892-6.
 31. Baraldi E, Azzolin NM, Zancanato S, Dario C, Zacchello F. Corticosteroids decrease exhaled nitric oxide in children with acute asthma. *J Pediatr* 1997;131:381-5.
 32. Lee MY, Lai YS, Yang KD, Chen CJ, Hung CH. Effects of montelukast on symptoms and eNO in children with mild to moderate asthma. *Pediatr Int* 2005;47:622-6.
 33. Silkoff PE, Chatkin J, Qian W, Chakravorty S, Gutierrez C, Furlott H, et al. Nasal nitric oxide: a comparison of measurement techniques. *Am J Rhinol* 1999;13:169-78.
 34. Olin AC, Alving K, Toren K. Exhaled nitric oxide: relation to sensitization and respiratory symptoms. *Clin Exp Allergy* 2004;34:221-6.
 35. 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.
 36. Buchvald F, Baraldi E, Carraro S, Gaston B, De Jongste J, Pijnenburg MW, et al. Measurements of exhaled nitric oxide in healthy subjects age 4 to 17 years. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:1130-6.
 37. Corbelli R, Bringolf-Isler B, Amacher A, Sasse B, Spycher M, Hammer J. Nasal nitric oxide measurements to screen children for primary ciliary dyskinesia. *Chest* 2004;126:1054-59.
 38. Struben VM, Wieringa MH, Mantingh CJ, Bruinsma SM, De Jongste JC, Feenstra L. Silent and humming nasal NO measurements in adults aged 18-70 years. *Eur J Clin Invest* 2005;35:653-7.
 39. Struben VM, Wieringa MH, Mantingh CJ, Bommelle C, Don M, Feenstra L, et al. Nasal NO: normal values in children age 6 through to 17 years. *Eur Respir J* 2005;26:453-7.
 40. Saito J, Inoue K, Sugawara A, Yoshikawa M, Watanabe K, Ishida T, et al. Exhaled nitric oxide as a marker of airway inflammation for an epidemiologic study in schoolchildren. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114(3):512-6.
 41. 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.
 42. Prasad A, Langford B, Stradling JR, Ho LP. Exhaled nitric oxide as a screening tool for asthma in school children. *Respir Med* 2006;100:167-73.
 43. 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.
 44. Payne DN, Adcock IM, Wilson NM, Oates T, Scallan M, Bush A. Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in children with difficult asthma, after treatment with oral prednisolone. *Am J Resp Crit Care Med* 2001;164:1376-81.
 45. Thomas PS, Gibson PG, Wang H, Shah S, Henry RL. The relationship of exhaled nitric oxide to airway inflammation

- and responsiveness in children. *J Asthma* 2005;42:291-5.
46. Kharitonov SA, Yates DH, Chung KF, Barnes PJ. Changes in the dose of inhaled steroid affect exhaled nitric oxide levels in asthmatic patients. *Eur Respir J* 1996;9:196-201.
47. Jones SL, Kittelson J, Cowan JO, Flannery EM, Hancox RJ, McLachlan CR, et al. The predictive value of exhaled nitric oxide measurements in assessing changes in asthma control. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:738-43.
48. Beck-Ripp J, Griesse M, Arenz S, Koring C, Pasqualoni B, Bufler P. Changes of exhaled nitric oxide during steroid treatment of childhood asthma. *Eur Respir J* 2002;19:1015-9.
49. Pijnenburg MW, Hofhuis W, Hop WC, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide predicts asthma relapse in children with clinical asthma remission. *Thorax* 2005;60:215-8.
50. 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.
51. Pijnenburg MW, Bakker EM, Hop WC, De Jongste JC. Titrating steroids on exhaled nitric oxide in children with asthma: a randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:831-6.

Ontvangen 18 januari 2006, geaccepteerd 25 juli 2006.

Correspondentieadres

Mw. drs. M.L. Brouwer, kinderarts-pulmonoloog
Drs. B.L. Rottier, kinderarts-pulmonoloog
Prof. dr. E.J. Duiverman, kinderarts-pulmonoloog

Universitair Medisch Centrum Groningen
 Beatrix Kinderkliniek
 Sectie Kinderlongziekten en Kinderallergologie
 Postbus 30.001
 9700 RB Groningen
 E-mailadres: m.l.brouwer@bkk.umcg.nl

Correspondentie graag richten aan de eerste auteur.

Belangenconflict: geen gemeld.
 Financiële ondersteuning: geen gemeld.