

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „CAROL DAVILA” BUCUREȘTI
FACULTATEA DE MEDICINĂ



REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

**VALOAREA PREDICTIVĂ A OXIDULUI NITRIC
PENTRU MONITORIZAREA INFLAMAȚIEI MUCOASEI
BRONȘICE ÎN ASTMUL BRONȘIC**

Coordonator științific:
Prof.Dr.Dumitru Orășeanu

Doctorand:
Stănciulescu Cristiana

București, 2017

INTRODUCERE

Astmul bronșic este cea mai frecventă boală respiratorie cronică, a cărei prevalență a crescut îngrijorător în ultimele decenii și constituie o problemă de sănătate publică, atât în ceea ce privește morbiditatea și mortalitatea determinate de aceasta, cât și din punct de vedere socio-economic.

În pediatrie, deși nu se remarcă o mortalitate crescută, astmul bronșic –în formele severe de boală, prin limitarea activității fizice –determină un impact major psihologic și social, mai ales la adolescenți. Îmbunătățirea calității vieții pacientului este extrem de importantă și se obține prin utilizarea metodelor acreditate de ghidurile internaționale de specialitate pentru monitorizarea bolii.

În etapa actuală această patologie este dificil de abordat, în ciuda progreselor importante făcute pentru elucidarea procesului fiziopatologic, care constituie obiectivul principal al cercetărilor.

Au fost implementate noi strategii pentru managementul bolii și se dorește efectuarea de investigații noninvazive, care să aducă informații despre inflamația bronșică, care constituie elementul cheie al procesului fiziopatologic.

Descoperirea biomarkerilor implicați în procesul patogen, a deschis noi orizonturi de cercetare atât pentru identificarea funcției acestora în inflamația bronșică, cât și pentru stabilirea utilității lor în managementul bolii.

Posibilitatea de a monitoriza inflamația bronșică și de a obține, prin determinarea biomarkerilor, controlul bolii constituie premiza pentru cercetările actuale.

În prima parte, Stadiul actual al cunoașterii, am prezentat o sinteză a datelor publicate în literatura de specialitate despre prevalența astmului bronșic în populația generală și pediatrică, noțiuni de fiziopatologie actualizate, în care este subliniată importanța oxidului nitric în procesul patogen. De asemenea, am menționat rolul biomarkerilor pentru managementul diagnostic și terapeutic al astmului bronșic.

În capitolul de cercetare personală, am realizat analiza statistică a datelor obținute în urma investigațiilor efectuate la subiecții studiați, iar rezultatele au fost prezentate în detaliu, ulterior, în capitolul discuții, am efectuat analiza comparată cu datele publicate în literatura de specialitate.

I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

I.1. Astmul bronșic - aspecte generale

Astmul bronșic (AB) este o boală heterogenă, se caracterizează clinic prin variabilitatea simptomelor: wheezing, dispnee, senzație de constricție toracică, tuse, ca rezultat al obstrucției fluxului de aer în expir.(1,2,3)

Variabilitatea mecanismelor fiziopatologice, explicată prin mulțimea de biomarkeri a căror pondere în patogenia bolii diferă de la o persoană la alta, a permis definirea AB ca sindrom.(4)

GINA (*Global Initiative for Asthma*) stabilește cinci fenotipuri pentru AB: AB alergic, AB nonalergic, AB cu debut tardiv, AB cu obstrucție fixă, AB cu obezitate.(1)

Fenotipul alergic este cel mai frecvent, debutează în copilărie, se caracterizează prin inflamația cronică eozinofilică a căilor aeriene, obiectivată prin examenul sputei, istoricul familial pozitiv pentru alergii și răspunsul favorabil la terapia inhalatorie cu corticosteroizi (CSI).(1)

Fenotipul non-alergic de AB este întâlnit mai frecvent la adulți, examenul sputei conține neutrofile, eozinofile sau celule inflamatorii în cantitate mică; răspunsul la corticoterapia inhalatorie este slab.(1)

AB cu debut tardiv este asociat vârstei adulte și în general, sexul feminin este afectat, pot fi necesare doze mari de CSI sau este rezistent la tratament.(1)

AB cu obstrucție fixă reprezintă stadiul avansat al procesului fiziopatologic, atunci când este prezentă remodelarea căilor aeriene, ca rezultat al inflamației cronice.(1)

În *AB cu obezitate* predomină simptomatologia respiratorie, iar inflamația eozinofilică este minimă.(1)

AB reprezintă o problemă de sănătate la nivel mondial prin morbiditatea și mortalitatea generate de acesta. Apariția AB poate să fie la orice vârstă ; este una dintre cele mai frecvente patologii cronice atât la adulți cât și la copii.(5,6,7) În prezent se estimează că 300 milioane de oameni suferă de această patologie.(6,7)

Prevalența astmului bronșic în populația generală este în creștere, fiind estimată la 12-15% (7); în anul 2020 cercetătorii afirmă că va depăși 400 milioane.(8) România are o prevalență a AB la copii de 5-7%.(9) Recent s-a stabilit că există o variație foarte mare a prevalenței AB, respectiv 1-18%, în funcție de zona geografică.(10) Prevalența simptomelor de astm bronșic în populația generală pediatrică poate să ajungă până la 14%.(11), poate fi influențată de factori geografici, fiind diferită de la o zonă geografică la alta(12,13).

Etiologia astmului bronșic este neclară.Se cunosc multiplii factori de risc, care au fost împărțiți în două categorii: endogeni-genetici(14), prenatali(15,16,17,18), sexul(11, 19, 20, 21, 22), terenul atopic(20, 23, 24, 25), obezitatea(1,2,7,9,16, 26, 27, 28, 29)și exogeni. Factorii de risc exogeni pentru astmul bronșic sunt : poluanții atmosferici(15, 30, 31), condiții sezoniere(31, 32, 33), infecțiile de tract respirator cu VSR (14, 34, 35), alergenii alimentari (38, 39, 40, 41, 42, 43, 44),efortul fizic (7,14), fumatul(14,15,31).

I.2. Fiziopatologia AB

Studii recente au demonstrat defecte în diferențierea secvenței de ADN, polimorfismul unei singure nucleotide (SNPs), duplicații sau deleții (45)

Obiectivul acestor studii este identificarea cât mai precoce (prenatală) a susceptibilității pentru AB și dezvoltarea unor metode de prevenire a bolii. Prima genă descoperită a avea rol în HRB este ADAM33, o metaloproteinază, situată pe cromozomul 20p13.(14) În plus, ADAM 33 pare să joace un rol important în remodelarea căilor aeriene, în evoluția procesului inflamator, fiind astfel responsabilă de severitatea formei clinice.(46) În prezent, peste 100 gene au fost identificate ca fiind implicate în patogenia AB.(47)

Relația genotip-fenotip a fost analizată în raport cu intervalul de timp stabilit între contactul factorului declanșator (de etiologie variată) cu gena cu care interacționează și expresia clinică, rezultat al acestei interacțiuni. O anumită caracteristică fiziopatologică, clinică definește fenotipul de AB (48)

Astfel, simptomele pot să apară într-un interval scurt (minute, ore sau zile) când agenții etiologici sunt: condițiile meteorologice sezoniere, alergenii respiratori, infecțiile virale acute, vaccinurile.(49) Simptomele pot fi prezente după săptămâni sau ani de la contactul cu poluanți atmosferici, animale din fermă sau pisici, câini, fumul de țigară.(49)

Cercetări recente au evidențiat 3 mecanisme patologice imune implicate în producerea astmului bronșic: nivele crescute Th2 (activate în mecanismul alergic) sau Th 17 (limfocite T CD4+) (50) sau Th2 și Th17 (un antigen nonalergic poate să activeze ambele linii celulare).(51)

Rolul celulelor Th17 în inflamația bronșică este în curs de cercetare. (51,52) Contactul inițial cu un alergen determină sinteza de imunoglobuline E(Ig E)(23), care vor avea nivele serice crescute și, a eozinofilelor, la nivelul căilor aeriene, ca urmare a activării limfocitelor T helper 2 (LTh2 CD4+).(53)

Inflamația eozinofilică este caracteristică fenotipului alergic de AB, dar ele sunt prezente și în fenotipul non-alergic împreună cu neutrofilele, definind formele medii și severe de boală. (54) Foarte important sunt mastocitele, care au rol central atât în reacția alergică imediată cât și în reacția întârziată mediată de reagine.(55)

Biomarkerii inflamației Th2 sunt: fracția de excreție a oxidului nitric în aerul expirat (FENO), IgE totale, eozinofilele serice și periostina serică.(54,56) Un rol important în reacția alergică îl dețin celulele dendritice, care sunt prezentatoare de antigen.(57) Reacția alergică este amplificată de citokinele inflamatorii.(58) Nivelele serice crescute IL8, TNF α se asociază cu formele severe de AB.(59) Un rol esențial îl dețin mastocitele, care secretă histamină. Producția de histamină, răspunsul la acest biomarker și degradarea acestuia, diferă la pacienții alergici față de cei nonalergici, iar variația aceasta este determinată de polimorfismul unei singure nucleotide din gena histamine (SNPs=single nucleotide polymorphism)(60).

Oxidul nitric (NO) este o moleculă celulară extrem de importantă pentru organism, care are rol atât în procesele fiziologice cât și în mecanismele patogenice ale unor boli.(61) Sinteza oxidului nitric are ca substrat L-arginina, sub acțiunea NO-sintetazelor și arginazelor I și II, (25) există trei tipuri cunoscute iNOS (inductibil), eNOS (derivat de la endoteliu, de tip constituțional) și nNOS (neuronal) (63). Ele îndeplinesc diferite roluri, în funcție de tipul țesutului în care își desfășoară activitatea: nNOS – tipul I localizat la nivelul nervilor centrali și periferici; tipul II-iNOS, sintetizat la nivelul multor celule, implicat în mecanismele fiziopatologice ale bolilor

inflamatorii și șocului septic și eNOS sau tipul III sintetizat la nivelul celulelor endoteliale, cu rol în vasomotricitate (63,64,65). Genele care reglează sinteza NO sunt situate la nivelul cromozomului 17q11.2-q12 și 17q12-q21. (66)

Cele două tipuri de enzime nNOS (tipul I) și eNOS (tipul III) sunt responsabile de sinteza oxidului nitric, cu rol de mediator chimic pentru procesele, care se desfășoară fiziologic și care secretă NO în cantități mici; în timp ce, tipul II (iNOS) sintetizează cantități crescute de NO, ca răspuns inflamator nespecific, la diferiți stimuli.(67,68) Sinteza NO este stimulată de citokinele proinflamatorii: TNF α , INF γ , IL1- β , IL4 și IL 13 și inhibată de glucocorticoizi.(71,72) FENO poate fi utilizat pentru definirea fenotipului alergic de astm bronșic.(73,74,75,76)

Răspunsul la tratamentul antiinflamator sau la terapia biologică cu Omalizumab, reprezintă un argument pentru definirea oxidului nitric ca biomarker inflamator.(77,78,79)

FENO poate avea valoare predictivă negativă (83%), atunci când valorile sunt în limite normale și exclud inflamația eozinofilică.(80)

În general, atunci când copiii astmatici asociază exces ponderal sau obezitate, valoarea FENO este scăzută; dacă nivelele FENO sunt ridicate la acești copii, evoluția AB este nefavorabilă, răspunsul la CSI este nesatisfăcător și, în consecință, obținerea controlului bolii este dificilă.(81,82,83,84) Indicele de masă corporală crescut >25% constituie un factor de risc pentru creșterea nivelelor FENO la pacienții cu rinita alergică(85),deci asocierea obezitate-atopie se corelează cu nivele FENO crescute.

FENO poate fi crescut și în alte patologii respiratorii, cum sunt bronșiolita obliterantă, tuberculoza.(86)

Valoarea oxidului nitric este utilizată și pentru monitorizarea terapiei antiinflamatoare în AB și, de asemenea pentru controlul bolii, fiind relatate nivele crescute ale FENO la pacienții cu forme severe de AB, la care nu s-a obținut controlul bolii.(87,88,89)

Nivelele crescute de FENO indică necesitatea utilizării CSI (87), FENO fiind predictiv pentru răspunsul la tratament. (76,91,92,93)

FENO poate fi influențat de fumul de țigară, acesta scăzând valoarea oxidului nitric. (94)

Menținerea crescută a nivelelor FENO după inițierea tratamentului antiinflamator indică o formă severă de AB, fiind necesară creșterea dozei de CSI.(95)

S-a remarcat creșterea sezonieră a FENO la pacienții alergici la polen, și normalizarea valorii acesteia după încheierea sezonului(96)

Studiile efectuate până în prezent atestă rolul oxidului nitric în legătură cu inflamația eozinofilică, care apare la fenotipul alergic de AB .(97) Studiile au dovedit că FENO poate fi util în managementul inflamației bronșice atât în etapa diagnostică, cât și în monitorizarea răspunsului la tratamentul antiinflamator inhalator, însă aceste studii sunt insuficiente în prezent pentru a include FENO în protocolul de diagnostic și tratament al AB.(98,99)

Oxidul nitric are și implicații în disfuncțiile neurologice din astmul bronșic. Limfocitele T CD4, în cursul procesului inflamator alergic, își sporesc numărul de receptori muscarinici de suprafață.(100) NO acționează ca un neurotransmițător nonadrenergic, noncolinergic.(25)

HRB este caracteristică patologică a fenotipului de AB indus de efort. Dar, HRB poate fi prezentă și la sportivii de performanță, la care apare ca răspuns la hiperventilația indusă de creșterea necesarului de oxigen în timpul efortului fizic, prin care pierderea de apă și aerul rece

la nivelul căilor aeriene stimulează sistemul nervos parasimpatic, care determină bronhoconstricție.(101)

În procesul fiziopatologic al AB biomerkerii care modulează bronhomotricitatea sunt histamina, broadikinina, cu rol bronhoconstrictor, leukotrienele LTC₄, LTD₄, LTE₄ și NO.(102) FENO crescut la pacienții cu rinită alergică poate fi utilizat ca marker predictiv pentru HRB.(25) Nu există o relație de proporționalitate între HRB și inflamația de la nivelul căilor aeriene.(103)

De menționat că inflamația bronșică poate să existe chiar dacă funcția pulmonară este normală și simptomatologia clinică minimă sau absentă. Acest aspect este extrem de important pentru formele intermitente de AB, care necesită monitorizarea atentă a inflamației bronșice prin evaluarea markerilor deja cunoscuți, FENO, eozinofilele serice și IgE totale.(104)

I.3. Diagnosticul AB

Fenomenul de suprapunere (*overlapping*) între AB și alte patologii cu simptome asemănătoare face dificilă stabilirea diagnosticului de astm, mai ales la grupa mică de vârstă (sub 5 ani).(105)

Etapele de diagnostic, în general, pentru orice patologie, care trebuie parcurse, sunt: anamneza, examenul clinic și investigațiile paraclinice.(106)Din anamneză reținem antecedentele alergice heredocolaterale și personale, infecțiile de tract respirator.

Testele care confirmă diagnosticul de AB sunt: răspunsul la bronhodilatatoare prin creșterea FEV₁ >12%; obținerea HRB după stimulare cu substanțe chimice (metacolină, manitol, histamină), efort fizic, hiperventilație, aer rece; variația diurnă cu >20% a PEF, FEV₁.(94,107)

Pletismografia evaluează obstrucția pulmonară prin măsurarea volumului pulmonar aduce informații prețioase despre gradul blocajului fluxului de aer în căile aeriene și despre hiperinflația caracteristică AB, importante în aprecierea funcției pulmonare.(108) Se poate folosi și la vârsta de sugar pletismografia cu inductanță magnetică pentru măsurarea respirației tidal.(109)

FENO se măsoară prin metoda chemiluminescenței, care constă în măsurarea luminescenței generată de reacția chimică dintre oxidul nitric și ozon (110); cele mai utilizate fiind: NIOX MINO, NIOX VERO (Aerocrine, Stockholm, Sweden) și NObreath (Bedfont Scientific Ltd, Kent, UK)(111)

Unii autori recomandă măsurarea FENO în relație cu spirometria, valoarea FENO variind cu FEV₁ în raport cu utilizarea medicației bronhodilatatoare.(112) Deși unii autori recomandă determinarea FENO înainte de efectuarea spirometriei (113), s-a constatat că valoarea FENO este neinfluențată de spirometrie, dacă este măsurată la 10 minute după aceasta.(114)

American Thoracic Society (ATS) și *European Respiratory Society (ERS)* recomandă două măsurări ale FENO și dacă diferența între cele două valori este mai mare de 10%, atunci este necesară a treia determinare.(115) Interpretarea FENO trebuie să ia în calcul condițiile care ar putea influența valoarea acestuia. S-a constatat că anumite medicamente (ex.

oximetazolina), efortul, hipotermia, fumatul, cofeina, alcoolul scad FENO, în timp ce L- arginina, enalaprilul, poluanții atmosferici, IACRS cresc valoarea FENO.(72,116,117)

Principalii factori, care influențează valoarea FENO sunt: vârsta, sexul, rasa, atopia.(118) Rinita alergică crește valoarea FENO (119,120) examenul ORL se impune când se obțin nivele ridicate ale FENO.

Trebuie menționat faptul că la peste 80% dintre pacienții astmatici, debutul a fost în primii 5 ani de viață.(121)

Diagnosticul de astm bronșic este dificil de stabilit înaintea de vârsta de 5 ani. Este cunoscut faptul că acești copii suferă 6-8 episoade pe an de infecții de căi respiratorii superioare (10,122), virusul sincițial respirator fiind agentul cauzal principal. Debutul simptomelor de AB este mai devreme la băieți decât la fete.(10)

Wheezing-ul este semnul clinic cel mai frecvent întâlnit și care relevă limitarea fluxului de aer în arborele bronșic, dar trebuie semnalat de medic, deseori relatarea părinților nefiind foarte clară deoarece aceștia îl pot confunda cu sforăitul care apare în obstrucția de căi respiratorii superioare din timpul intercurrentelor respiratorii(123) În funcție de momentul debutului și evoluție, wheezing- ul a fost clasificat în trei categorii: cu debut înaintea vârstei de 3 ani, care nu persistă după această vârstă (wheezing tranzitoriu), cu debut după vârsta de 3 ani, care poate fi întâlnit și după vârsta de 6 ani (wheezing persistent) și cel care debutează după vârsta de 6 ani (wheezing cu debut tardiv).(124) Alți cercetători afirmă că este destul de dificil de prezis cine va dezvolta sau nu AB la vârsta școlară, dintre cei simptomatici în perioada preșcolară.(125)

Analizând modul de manifestare clinică și evoluția pe parcursul unui an, precum și factori anamnestici importanți ca prezența atopiei sau istoricul familial de AB, cercetătorii au descris trei situații:

- 1) prezența simptomelor doar în timpul intercurrentei respiratorii, care durează <10 zile, 2-3 episoade pe an, copilul fiind asimptomatic între aceste episoade;
- 2) persistența simptomelor între infecțiile respiratorii (cu durata>10 zile), mai mult de 3 episoade pe an, ocazional simptomatic între episoade;
- 3) simptome prezente >10 zile în IACRS, persistente după aceste episoade (>3/an), care apar și în cursul nopții, limitează activitatea fizică (accentuate de efort, râs) - în această situație fiind pozitive anamneza pt atopia, antecedente heredocolaterale de AB.(126,127)

Un alt simptom frecvent relatat de părinți este tusea cronică, prezentă în afara episoadelor de infecții respiratorii sau declanșată de infecții, efort fizic sau factori emoționali , contact cu diverși alergeni. Prezența tusei în timpul somnului reprezintă un argument pentru diagnosticul de AB .(128)

Unii cercetători susțin că diagnosticul de AB poate fi stabilit după vârsta de un an, dar este important istoricul de episoade recurente de wheezing sau bronșiolită, dermatită atopică, rinita alergică prezente la vârsta de sugar.(129)

Pentru mulți pacienți (30%) școlari sau adolescenți, simptomele de AB au fost prezente înainte de vârsta de 5 ani. (130)

Diagnosticul de AB la această grupă de vârstă este relativ ușor de stabilit, pe de o parte relatarea simptomatologiei de către copil, adolescent este mai clară, iar pe de altă parte obiectivarea obstrucției prin investigații, care necesită o bună colaborare din partea pacienților este posibilă.

Istoricul personal sau familial de manifestări atopice (eczema, rinita alergică), simptome respiratorii în copilărie, AB la ruda de gradul I sunt și la această vârstă elemente prețioase de diagnostic.

Tabloul clinic este asemănător cu cel de la vârsta adultă. Simptomele descrise de pacienți sunt accesese de tuse seacă, care apar în special noaptea sau dimineața devreme, senzația de constricție toracică, scurtarea respirației, wheezing. Variabilitatea simptomelor, recurența lor, remiterea spontană sau ca răspuns la medicația de urgență (reliever) constituie trăsăturile principale ale AB. (tabel 2)

Examenul clinic poate fi normal sau poate identifica semne de gravitate –torace hipersonor, fixat în inspir, absența murmurului vezicular, cianoză.

Testele funcționale respiratorii între exacerbări pot să fie normale sau atunci când pacienții primesc tratament antiinflamator (CSI). Spirometria inițială normală nu exclude diagnosticul. Dacă există suspiciunea de AB sunt necesare teste de provocare a HRB cu metacolină, manitol, hiperventilație. Testele de provocare pozitive pot fi prezente și în alte patologii respiratorii cronice ca fibroza chistică(131), rinita alergică(132)

Stabilirea formei de severitate este esențială pentru alegerea treptei terapeutice adecvate.(133) Încadrarea fenotipică a AB are o importanță deosebită în abordarea terapeutică adecvată și evoluția clinică și prognosticul bolii.(134)

Tucson Children's Respiratory Study identifică 3 fenotipuri, în funcție de vârsta la care a fost debutul și evoluția wheezingului: debut înainte de 3 ani cu evoluție tranzitorie sau persistentă și debut după 3 ani, cu persistența wheezingului.(120,135) Forma persistentă asociază manifestări atopice: eczema, rinita alergică.(136)

Toate aceste observații au contribuit la alcătuirea unui scor, care să estimeze riscul dezvoltării formei persistente la vârsta de școlar. Indicele de predicție pentru astm(API-Asthma Predictive Index) utilizează parametrii clinici și de laborator pentru aprecierea riscului.(121) Indicele este considerat pozitiv atunci când există asocierea: episoade recurente de wheezing în primii 3 ani de viață și unul din cele două criterii majore(părinți cu diagnosticul de AB și eczemă diagnosticată de medic) sau două din cele trei criterii minore(rinita alergică diagnosticată de medic, wheezing în afara intercurrentelor respiratorii și eozinofilele periferice >4%).(121) Un index slab este atunci când există mai puțin de trei episoade pe an de wheezing și un criteriu major sau două minore.(121) Un indice puternic pozitiv a fost definit de asocierea wheezingului relatat de părinți și, de asemenea un criteriu major sau două minore, cu un risc de 7 ori mai mare pentru AB.(137,138,139) Totuși, API are valoare predictivă scăzută, cu o sensibilitate de 15-57%.(125,140) *Persistent Asthma Predictive Score* (PAPS) a fost estimat în funcție de trei parametri (antecedentele parentale de AB, istoricul personal de dermatită atopică, alergii multiple) folosind chestionarul ISAAC (*International Study of Asthma and Allergies in Childhood*); s-a obținut o valoare predictivă negativă de 76% și pozitivă 67%.(141) Alți autori au folosit alte criterii pentru estimarea riscului de astm: istoric pozitiv de AB, teste alergice cutanate pozitive(skin-prick test) la vârsta de 4 ani și episoade repetate de infecții respiratorii de căi inferioare. Prezența acestor criterii a fost asociată cu risc crescut la vârsta de 10 ani.(142)

În 2009, PIAMA (*Prevention and Incidence of Asthma and Mite Allergy*) estimează riscul de AB prin evaluarea simptomatologiei până la vârsta de 4 ani (wheezing unul sau mai multe episoade, tuse nocturnă) și a 8 factori de risc: sexul masculin, postmaturitatea, educația

părinților, medicația inhalatorie folosită de părinți, frecvența wheezingului, wheezing/dispnee în afara infecțiilor respiratorii, frecvența intercurrentelor, diagnosticul de eczemă.(121,143)

Alte studii – *Clinical Asthma Prediction Score* (CAPS)-au folosit doar criteriile clinice predictive pentru AB la vârsta de 6 ani.(144)

Totuși, GINA (*Global Initiative for Asthma*) și NIH (*National Institutes of Health*) au asimilat scorul API și-l semnalează ca fiind foarte util pentru estimarea probabilității de dezvoltare a AB la vârsta de școlar pentru un copil care prezintă în perioada de preșcolar episoade recurente de wheezing.(121, 145)

Patognomonic pentru *fenotipul alergic* al AB este apariția HRB declanșată de aerolergeni. Dar, rebuie semnalat faptul că, odată produsă inflamația la nivelul căilor aeriene, triggerul declanșator poate să fie non alergic, astfel infecțiile, efortul fizic, expunerea la fumul de țigară, pot reproduce HRB.(40) - cunoașterea și evitarea triggerilor constituie o strategie terapeutică importantă(146)

Fenotipul alergic sau extrinsec predomină la populația pediatrică, dar și la adulți este întâlnit în proporție de 50% (4), posibilitatea de a obiectiva biomarkerii inflamatori facilitează diagnosticul.(147) Simptomatologia acestui fenotip apare odată cu expunerea la alergeni.(148)

Fenotipul nonalergic sau intrinsec se asociază cu obezitatea, efortul fizic, factorii emoționali, sezonul rece; se caracterizează prin răspuns slab la tratamentul antiinflamator și se încadrează în formele severe de boală.(149)

Prezența comorbidităților influențează evoluția AB și răspunsul la tratament și este considerată factor de risc pentru severitatea bolii.

Destul de frecvent este întâlnită asocierea AB cu obezitatea. Indicele de masă corporală (BMI) crescut, conform studiilor se corelează cu scăderea raportului FEV1/FVC.(81, 150) Formele severe de AB care asociază obezitate se corelează cu valori crescute ale FENO.(81) Obezitatea influențează atât funcția pulmonară la copiii cu AB cât și răspunsul la tratament, au fost observate valori scăzute ale FEV1 la copiii cu exces ponderal și un răspuns mai slab la ICS. (151)

Rinosinuzita cronică este frecvent asociată cu AB atât la copil cât și la adult, acutizarea inflamației de căi respiratorii superioare poate să declanșeze criza de AB(152) .

Alte comorbidități identificate sunt: malformații congenitale ale arborelui bronșic (ex. traheobronhomalacia,inel vascular,etc), patologii psihiatrice (tulburare depresivă/anxioasă-atacul de panică), disfuncții imune și de cinetică ciliară, bronșiectazii (153), apneea obstructivă de somn.(10)

Altă problemă întâlnită în diagnosticarea AB este absența datelor clinice și paraclinice pentru alergie, care poate temporiza stabilirea diagnosticului, atunci când triggerul este nonalergic.(154)

Descoperirea FENO și demonstrarea rolului acestuia în estimarea infamației bronșice (62) reprezintă un pas important în managementul clinic și terapeutic al bolii. În prezent, utilizarea FENO este din ce în ce mai extinsă (155), studiile multicentrice dovedind acest fapt.

Deși ghidurile actuale nu au inclus determinarea FENO pentru diagnosticul și monitorizarea AB (10), nivelul FENO poate fi utilizat pentru evaluarea inflamației eozinofilice și a HRB, având o valoare remarcabilă în stabilirea diagnosticului și definirea fenotipul alergic.(156,157)

FENO crescut la vârsta preșcolară la copiii diagnosticați cu AB poate fi predictor pentru persistența bolii la vârsta școlară.(158) Valoarea FENO > 20 ppb este considerată predictivă

pentru diagnosticul AB(159) Unii autori consideră benefică măsurarea FENO pentru stabilirea precoce a diagnosticului de AB sau pentru confirmarea acestuia atunci când este incert.(160) Determinarea FENO nu este suficientă pentru stabilirea diagnosticului de AB, tabloul clinic al bolii este important(161)

De asemenea FENO nu și-a dovedit valoarea pentru controlul bolii (162), FENO în relație cu AB rămâne un subiect de cercetare, care necesită studii suplimentare.

I.4. Managementul terapeutic al AB

Subevaluarea diagnosticului de AB expune pacientul la dezvoltarea inflamației cronice cu remodelarea căilor aeriene(164) Supraestimarea diagnosticului are drept consecință reacțiile adverse nefaste ale corticoterapiei.

Prima măsură terapeutică este eliminarea /evitarea alergenilor. Scoaterea din mediu a avut ca rezultat modificarea markerilor inflamatori (scăderea FENO) (165).

Medicația de urgență, care se aplică tuturor formelor de AB, în timpul exacerbărilor este reprezentată de beta agonistii de scurtă durată (ex. salbutamol).(107) Creșterea necesității de administrare a medicației de urgență (*reliever*) este elocventă pentru evoluție nefavorabilă și indică reevaluare terapeutică (145)

Trebuie apreciat gradul de severitate al exacerbărilor pentru administrarea adecvată a medicației(166)

Terapia de fond este necesară pentru formele persistente de boală.

Deși administrarea CSI (corticosteroizi inhalatori) este controversată, este preferată pentru efectul de reducere a inflamației și, deci, de creștere a calibrului căilor aeriene de mici dimensiuni.(167) Preparatele cortizonice au eficiență similară, 100 mg fluticasone sunt echivalente cu 200 mg Budesonide(168)

Dozele mici sau medii de CSI nu reduc frecvența și severitatea wheezing-ului indus viral.(121) La polul opus, copiii cu wheezing cu triggeri multipli, administrarea CSI are efect benefic semnificativ prin ameliorarea simptomelor, reducerea exacerbărilor - scad necesitatea administrării bronhodilatatoarelor și a CSO(corticosteroizi administrați per os).(169)

Totuși, unii autori consideră utilă administrarea CSI pentru reducerea simptomelor și în wheezingul indus viral.(170) Utilizarea CSI încetinește creșterea la copiii mici, poate afecta maturarea osoasă și de asemenea, poate întârzia instalarea pubertății.(171)

CSI au efect inhibitor pentru sinteza oxidului nitric prin scăderea expresiei oxid-nitric sintetazei.(172) Nivelele crescute ale FENO au fost asociate cu controlul slab al bolii la pacienții care nu au primit CSI(88); sunt necesare mai multe studii care să analizeze relația FENO cu dozele și tipul de CSI recomandate.(173)

Corticoterapia per os se administrează pe o durată scurtă și se stabilește doza minimă care să reducă exacerbarea.(174) Unii autori consideră benefică asocierea la tratamentul cu CSI a inhibitorilor receptorilor de leukotriene pentru obținerea controlului bolii.(175)

Subiectul FENO și relația sa cu AB a fost intens dezbătut de cercetători. Unii autori afirmă că FENO poate fi scăzut de CSI mai mult decât de inhibitorii de leukotriene (176). CSI inhibă sinteza oxidului nitric, prin acțiune directă la nivelul căilor aeriene .(177)

FENO a fost definit ca parametru predictiv pentru răspunsul la tratamentul cu CSI, valoarea FENO poate fi utilizată pentru monitorizarea inflamației bronșice Th2; scăderea dozelor de CSI sau întreruperea medicației având drept consecință creșterea nivelelor FENO. Din acest motiv FENO este considerat un mijloc important pentru investigarea și monitorizarea inflamației la pacienții astmatici.(178)

Scăderea valorilor FENO sub 22 ppb permite scăderea dozei de CSI.(179) Deci, FENO poate avea valoare predictivă pozitivă sau negativă în raport cu răspunsul la tratamentul cu CSI. (180,181) Valoarea crescută a oxidului nitric în aerul expirat se corelează cu formele severe de boală și poate indica creșterea utilizării CSI, deși nu s-a remarcat a avea rol cert în evaluarea controlului AB.(182) Unii cercetători consideră că valoarea FENO poate ghida terapia antiinflamatoare pentru reducerea exacerbărilor și controlul simptomelor.(183)

Pentru formele severe de AB se recomandă CSI în combinație cu LABA deoarece s-a constatat reducerea exacerbărilor la această categorie de pacienți comparativ cu cei care folosesc doar CSI.(184)

Anticorpii monoclonali leagă IgE serice libere și astfel acestea nu se mai pot lega de receptorii aflați la suprafața celulelor prezentatoare de antigen, blochează în acest fel procesul inflamator.(185) Omalizumabul este recomandat copiilor cu forme medii și severe de boală, la care nu s-a obținut controlul bolii.(186)

Imunoterapia sublinguală (SLI) necesită studii suplimentare la copil, s-a demonstrat că prezintă aceleași reacții adverse sistemice.(187)

Monitorizarea AB presupune evaluarea periodică a procesului fiziopatologic.(188)

Spirometria este metoda cea mai folosită atât pentru diagnosticarea cât și pentru monitorizarea controlului AB.(189)

FENO s-a dovedit a fi un marker important pentru monitorizarea inflamației la nivelul căilor aeriene, care prezice evoluția formelor severe spre remodelare bronșică și care sunt refractare la tratamentul antiinflamator.(190)

Unii copii cu AB răspund favorabil la administrarea LABA, atunci când este necesară terapia step-up de obținere a controlului bolii, iar alții dobândesc controlul bolii fie prin creșterea dozelor de CSI sau cu inhibitori de receptori pentru leukotriene, dar s-a constatat că administrarea LABA are un efect mai bun pentru controlul AB, comparativ cu CSI sau LTRA (191)

Un index important pentru formele severe de boală este menținerea FENO la valori crescute în ciuda tratamentului antiinflamator administrat (192) Fumatul pasiv poate influența răspunsul la corticosteroizi, crescând rezistența.(193)

Formele severe de boală se caracterizează clinic prin frecvența crescută a exacerbărilor, persistența obstrucției obiectivată prin spirometrie (scăderea FEV1), nivele crescute de IgE și eozinofile serice, valori crescute ale FENO.(194)

O valoare crescută a FENO se corelează cu controlul slab al bolii (195).

Pentru evoluția bolii un important rol îl au factorii socio-economici și culturali, formele severe de AB fiind mai frecvent întâlnite la copiii care provin din familii dezorganizate, condiții precare de viață, complianța la tratament obținându-se greu la acești pacienți.(196)

Deficitul progresiv al funcției pulmonare a fost observat la copiii cu debut precoce a HRB.(197) În formele persistente de boală s-a observat deteriorarea funcției pulmonare, care este mai accelerată la formele severe de boală.(198) Recent s-a constatat că AB în copilărie

constituie un factor de risc major pentru dezvoltarea BPOC la vârsta de adult.(13) Nu s-a obținut o corelație între prezența simptomelor precoce de AB și evoluția ulterioară a bolii(13) Între exacerbări funcția pulmonară poate să fie normală. (199)

Pentru formele intermitente de AB, monitorizarea markerilor inflamației eozinofilice (eozinofilele din spută și FENO) are rolul de a identifica statusul inflamator al căilor aeriene la pacienții cu funcție pulmonară normală, nivelele crescute fiind compatibile cu persistența inflamației bronșice, în ciuda faptului că HRB și expresia clinică pot fi absente.(200)

Determinarea FENO reprezintă o alternativă preferată versus bronhoscopia cu biopsie de mucoasă bronșică, de mare utilitate la copii, fiind ușor repetabilă și oferind informații prețioase despre statusul inflamator la copiii astmatici.(201)

Inflamația de la nivelul căilor aeriene superioare, care se produce în rinita alergică se poate extinde și la nivelul căilor respiratorii inferioare, inflamația minimă de la acest nivel poate să nu asocieze manifestări clinice (202) dar , în evoluție, să apară simptomele caracteristice AB. Din acest motiv, rinita alergică este considerată factor de risc pentru AB.

Controlul și evoluția bolii sunt influențate de complianța la tratament. Există foarte mulți factori care influențează aderența la tratament.(203) Mediul ambiant familial este foarte important, specialiștii au demonstrat că inclusiv dezechilibrul psihic al mamei în perioada sarcinii poate constitui un factor de risc pentru dezvoltarea AB în copilărie(204,205)

În perspectivă, va fi folosită pentru cercetare valoarea predictivă a biomarkerilor (206), imagistica pulmonară (207), genetica (208), tehnicile statistice (209) pentru elucidarea etiologiei AB și a posibilității prevenirii acestei boli cronice. LTB4 este un alt biomarker detectat în aerul expirat, al cărui rol pare să fie în evaluarea inflamației de la nivelul căilor respiratorii de calibru mic; necesită studii suplimentare.(210) Studiile efectuate până în prezent indică necesitatea stabilirii valorilor de referință pentru acuratețea evaluării inflamației bronșice la copii; FENO actual nu poate fi folosit ca singurul mijloc de diagnosticare și monitorizare a AB, măsurarea lui este o metodă complementară.(211) Testarea biomarkerilor în diferite patologii are ca obiectiv alegerea terapiei țintite pentru fiecare pacient și rămâne un subiect de interes pentru cercetători.(212) Terapia individuală este obiectivul actual al multiplelor studii. A fost demonstrată eficiența tratamentului biologic cu anticorpi monoclonali anti-IL13 la pacienții cu AB, fenotipul Th2, definit de următorii biomarkeri: FENO (212), periostina (213), dipeptidilpeptidaza 4 - DPP4.(214)

II. CERCETARE PERSONALĂ

II.1. Motivație. Obiective.

Astmul este o problemă de sănătate mondială, care variază de la o persoană la alta, atât în ceea ce privește durata și intensitatea simptomelor, cât și recurența acestora.(215) Prevalența în creștere a bolii este un alt motiv care m-a determinat să aleg acest subiect de studiu; în Anglia, conform datelor publicate, unul din unsprezece copii suferă de AB, este a treia țară din lume cu prevalență mare a AB.(216)

De menționat că un sfert din copiii cu simptome asthma-like au AB, dar două treimi din copiii care prezintă simptome și semne combinate (tuse, wheezing, constricție toracică și tuse declanșată de efort) au AB.(217)

Controlul inflamației bronșice, care implică stabilirea treptei terapeutice, are un impact economic deosebit prin scăderea costurilor pentru pacienții cu AB. Terapia biologică vizează anihilarea mecanismului fiziopatologic prin acțiune țintită asupra unor citokine cu rol cheie în întreținerea inflamației. Astfel, răspunsul terapeutic este corelat cu biomarkeri specifici ai inflamației: anti-IL5 cu eozinofilele serice și din sputa, anti-IL13 cu periostina serică, dar utilizarea medicatiei biologice este limitată din cauza costurilor ridicate.(218)

Obiective

Mi-am propus prin studiul realizat să evidențiez rolul FENO pentru monitorizarea inflamației bronșice a copiilor cu AB.

1. FENO împreună cu alți parametrii poate constitui un mijloc de diagnostic pentru astmul bronșic.

2. FENO poate contribui la monitorizarea pacienților cu AB, determinarea FENO reprezintă un instrument util pentru evaluarea controlului bolii.

3. Contribuția FENO la ajustarea terapiei antiinflamatoare, stabilirea unei scheme terapeutice individuale în funcție de valoarea FENO.

4. Valoarea FENO estimează inflamația bronșică atât în perioadele intercritice cât și în exacerbări.

II.2. Material și metodă

Am realizat un studiu longitudinal prospectiv, observațional care s-a desfășurat pe o perioadă de 2 ani -ianuarie 2013-decembrie 2015. Au fost incluși în studiu 147 de copii cu AB, internați în Departamentul de Pneumologie a Spitalului Clinic de Urgență pentru Copii "Grigore Alexandrescu" și o parte prezentați în Departamentul de Urgență (UPU) .

Studiul s-a desfășurat respectând cadrul legal de etică profesională, conform OMS (Organizației Mondiale a Sănătății) privind drepturile omului, protocolul de studiu a fost prezentat Comisiei de Etică Medicală a Spitalului Clinic de Urgență pentru Copii "Grigore Alexandrescu", care a aprobat efectuarea acestuia.

Criteriile de includere în studiu au fost: pacienți cu vârsta 5-18 ani, diagnosticul de AB(cod ICD 10 din 2014-J 45) în prealabil stabilit.

Criteriile de excludere au fost: neprezentarea la evaluările periodice, neefectuarea corectă a măsurării FENO și spirometriei, diagnostic greșit de AB - reconsiderare diagnostic.

Au fost efectuate investigații de laborator(eozinofilele serice și imunoglobulinele E totale), s-a determinat oxidul nitric în aerul expirat și s-a efectuat spirometrie tuturor pacienților incluși în studiu. Subiecții incluși în studiu au fost evaluați la interval de trei luni, total 3 evaluări. La prima vizita toți pacienții au beneficiat de consult ORL pentru diagnosticul rinitei alergice.

Datele obținute au fost analizate statistic cu programele Microsoft Excel și SPSS.

II.3. Rezultate

II.3.1.Date epidemiologice

Grupul de subiecți a fost împărțit, în funcție de vârstă în două subgrupe 5-11 ani și , respectiv, 12-18 ani. Am constatat un procent crescut al pacienților(70%) la grupa de vârstă 5-11 ani.

În studiul de față se observă că distribuția pe sexe este aproape egală cele două grupe de vârstă, din acest punct de vedere, grupul a fost definit omogen.

Distribuția în raport cu mediul de proveniență rural sau urban a fost de asemenea analizată; aproape o treime (22,6%) din pacienții cu AB studiați își au domiciliul în mediul rural, două treimi (77,4%) fiind din mediul urban.

Un alt parametru de interes pentru pacienții cu AB este BMI (body mass index), care a fost calculat cu formula recomandată pe site-ul Centers for Disease Control and Prevention, în funcție de vârstă, sex, greutate și înălțime. Starea de nutriție a pacienților a fost interpretată conform centilelor rezultate prin calculul indexului de masă corporală(IMC) astfel: <10 subponderali, 10-85 normoponderali, 85-95 – supraponderali și >95 obezi. Pacienții cu AB, incluși în studiu au prezentat status nutrițional normal 60 procente (p10-50, 50-85); 10,2% au fost subponderali (p<10); 19,7% - supraponderali(p85-95).

Clasificarea pacienților în cele 2 fenotipuri arată AB alergic (68,1%) și non-alergic (31,9%), iar după cele 2 grupe de vârstă nu arată o distribuție semnificativ diferită (p=0,857, test *Chi-square*), grupurile fiind omogene.

Formele intermitentă, ușor și mediu persistentă de AB au fost întâlnite în procente similare la ambele grupe de vârstă, dar forma severă de boală este mai frecventă la copiii cu vârsta 12-18 ani.

II.3.2.Corelația FENO cu parametrii antropologici

Valorile medii FENO sunt crescute semnificativ statistic la grupa de vârstă 12-18 ani, la acești subiecți colaborarea pentru manevra de măsurare a FENO este mai bună, de obicei nefiind necesară a doua sau a treia determinare succesiv.

Nu au fost observate valori diferite ale FENO în funcție de sexul subiecților. Băieții și fetele au obținut valori similare ale oxidului nitric în aerul expirat.

Pacienții cu fenotip alergic și cei cu forme persistente de AB, din mediu urban au avut valori mai mari ale FENO, comparativ cu cei din mediul rural, deși și la această categorie, izolat, s-au obținut nivele crescute ale FENO.

Analiza valorilor FENO la subiecții studiați arată că acesta nu se asociază cu statusul nutrițional al pacienților ($p=0.122$, test *One-way Anova*), exprimat la valorile indicelui de masă corporală (BMI) distribuit pe intervale de valori (quartile).

Analiza valorilor FENO crescute după gradele individuale de severitate a AB persistent arată o distribuție diferită la subiecții obezi: AB ușor (15.8%), mediu (43.3%) și sever persistent (0.0%), la limita semnificației statistice ($p=0.064$). La subiecții normoponderali: AB ușor (42.1%), mediu (48.4%) și sever persistent (50.0%).

Am observat că dintre parametrii antropometrici disponibili pentru caracterizarea copiilor incluși în studiu, doar înălțimea(talia) se corelează pozitiv și statistic semnificativ cu valorile FENO($r=0.210$, $p=0.012$).

II.3.2.Corelația FENO cu statusul alergic/severitatea AB

Am obținut o corelație pozitivă, statistic semnificativă a valorilor FENO cu valorile eozinofilelor măsurate ($r=0.210$, $p=0.021$) și cu imunoglobulinele E totale.

FENO are o valoare predictivă bună pentru fenotipul alergic de boală. Antecedentele heredocolaterale și personale alergice nu se asociază cu valori crescute ale FENO.

Am evidențiat că aproximativ o treime din pacienții cu forme severe de boală prezintă AHC de atopie,sau altfel spus antecedentele alergice au fost asociate cu forma persistentă de AB. APP alergice au fost întâlnite în egală măsură pentru forma intermitentă și persistentă de boală. Nivelele FENO nu sunt influențate de prezența antecedentelor heredocolaterale sau personale de alergie, de asemenea nici rinita alergică nu pare să modifice valoarea FENO.

În studiul prezentat am obținut că FENO se corelează cu majoritatea parametrilor spirometrici la subiecții cu AB alergic și cu formele persistente de boală. La pacienții cu AB nonalergic am observat că toți subiecții cu ACT necontrolat au FENO crescut. Analiza comparativă a stării de control a AB pentru forma medie persistentă de boală arată că nu există diferențe semnificative statistic ale distribuției valorilor FENO în funcție de starea de control a bolii evaluată prin ACT.

II.4. Discuții

Fenotipul alergic este cel mai frecvent la copii, > 70% din copiii cu AB având acest fenotip.(219) De altfel, este și cel mai bine studiat. În studiul prezentat, fenotipul alergic se asociază cu formele severe de boală mai frecvent decât AB nonalergic. Rezultate similare au fost publicate și de alți cercetători(219); în prezent nu se cunosc motivele care marchează această diferență.(219)

Un alt studiu a identificat valori scăzute ale FENO la pacienții cu forme severe de AB.(219)

FENO a fost studiat și în relație cu vârsta pacienților cu AB. Studiile efectuate au demonstrat că valoarea fracției de excreție a oxidului nitric este mai mare la copiii cu vârstă peste 9 ani. (220) Valoarea prag, de referință a FENO, este dificil de stabilit, așa cum rezultă din diferite studii(156), astfel FENO < 25 ppb la grupa de vârstă peste 12 ani este considerată valoare normală, iar la copiii cu vârsta între 6 și 11 ani, FENO < 20 ppb definește valoarea normală.(156) Unii autori susțin, pe baza rezultatelor unui studiu, că FENO variază dependent de vârstă, sex și talie; că valoarea prag stabilită de ATS (FENO<25ppb) ar fi prea mare pentru grupele mai mici de vârstă și pentru sexul feminin, demonstrând că FENO măsurat la subiecți sănătoși, cu vârsta între 6 și 80 ani prezintă fluctuații dependente de vârstă și sex. (221)

Și în studiul pe care l-am realizat, FENO este semnificativ statistic($p=0,028$) crescut la grupa de vârstă 12-18 ani, valoarea prag utilizată pentru FENO a fost de 20 ppb la cele două grupe de vârstă.

Un studiu realizat în 2006, pe un număr semnificativ (2200) de pacienți adulți indică faptul că nu există o asociere între FENO și sexul subiecților studiați.(222) Alți autori au concluzionat că există variații ale FENO în funcție de sex, fiind mai scăzut la femei, și ar trebui să existe valori de referință specifice pentru sex.(223) Un alt studiu realizat pe un număr de 1542 pacienți, care a inclus copii școlari cu vârsta 12-15 ani a evidențiat valori mai mari ale FENO la sexul masculin, dar în același timp autorii atrag atenția că există o variație mare pentru nivelele FENO, chiar și pentru valorile normale, astfel încât ar fi necesar să se stabilească valoarea de referință personală, pentru fiecare subiect. (224)

În studiul realizat în clinica noastră FENO nu diferă semnificativ statistic în raport cu sexul. De menționat că în grupul subiecților studiați se remarcă o discretă creștere a FENO pentru sexul masculin, de asemenea au fost obținute valori foarte mari ale FENO(>50ppb) la un număr mic de pacienți, băieți, dar fără să se atingă pragul de semnificație statistică.

De mare actualitate pentru comunitatea științifică internațională este și relația obezitate – astm bronșic. Este cunoscut faptul că obezitatea per se reprezintă o condiție patologică, care influențează cinetica respiratorie prin scăderea complianței pulmonare(28,29), acționând ca un factor mecanic limitativ al funcției pulmonare. De asemenea, s-a demonstrat rolul obezității în inflamație și din acest motiv ne-am aștepta ca valoarea FENO să fie crescută la pacienții cu AB și obezitate, din cauza statusului proinflamator(16,27) indus de aceasta. În ciuda acestor remarci, FENO la pacienții obezi cu AB are o valoare scăzută. În studiul pe care l-am realizat, deși FENO nu se asociază cu BMI($p=0,509$), subiecții obezi cu AB persistent au prezentat valori semnificativ scăzute ale FENO($p<0,003$). Alți cercetători au demonstrat că pacienții astmatici cu greutate normală au valori ale FENO mai mari decât copiii cu AB și obezitate($p=0,014$) (225) Un studiu efectuat în anul 2014(81) a evidențiat valori scăzute ale FENO la pacienții obezi. Un alt studiu a obținut același rezultat. (226) Alte studii au arătat că BMI se asociază cu obstrucția, dar nu cu FENO. (227)

FENO a fost definit drept marker al inflamației eozinofile datorită corelației cu eozinofilele serice și din spută, dovedită prin studiile care au evaluat rolul acestuia în patologia AB. Trebuie menționat că FENO nu identifică atopia în populația generală, dar are rolul de a identifica pacienții atopici diagnosticați cu AB.(74) Alte studii au dovedit că FENO se corelează pozitiv cu IgE serice(228) și este crescut la pacienții cu atopia(229); FENO este marker pentru atopia independent de manifestările atopice, iar nivelele scăzute pot să excludă AB alergic(230) Un studiu realizat pe un lot de 96 copii cu forme persistente de AB, care a investigat asocierea morbidității cu biomarkerii inflamației bronșice a concluzionat că FENO și eozinofilele serice au o valoare înalt predictivă pentru morbiditatea ridicată de astm bronșic.(56) Rezultate similare au fost obținute și de alți cercetători. (231) Rezultatele pe care le-am obținut, sunt asemănătoare celor publicate de alți cercetători, în sensul că am arătat valoarea predictivă a FENO pentru AB alergic și că predicția este crescută semnificativ de markerii imuni alergici(eozinofilele serice și Ig E totale).

Spre deosebire de datele preliminare publicate(Stănciulescu et al., 2015) creșterea numărului de subiecți incluși în studiu a dus la o analiză statistică de calitate superioară și la o concluzie diferită referitor la valoarea FENO ca biomarker independent pentru fenotipul alergic. Rezultatul negativ obținut inițial despre FENO se poate datora mai multor factori cum ar fi numărul mic de subiecți corelat cu acuratețea determinării FENO.(232)

De asemenea, FENO este util pentru evaluarea AB împreună cu parametrii spirometrici(233) Au fost constatate corelații între FENO și parametrii spirometrici FEV1, MEF 25-75 ca răspuns la acțiunea bronhodilatatoarelor(173) Studii anterioare au obținut rezultate similare(2, 159, 160) În studiul prezentat, am obținut corelație pozitivă a oxidului nitric exhalat cu toți parametrii spirometrici.

Rolul controversat al FENO în monitorizarea copiilor cu AB a fost semnalat în diferite studii. În ciuda progreselor făcute în terapia AB, obținerea controlului bolii rămâne o problemă dificilă de rezolvat la copil și adolescent.(233) Într-un studiu realizat de Arroyave et al., care a evaluat un grup de 546 adolescenți cu AB și au urmărit rolul FENO în estimarea severității și controlului bolii la acești subiecți, pentru care au utilizat CASI(Composite Asthma Severity Index), respectiv, ACT, au dovedit că valorile FENO sunt crescute și gradul de severitate mai mare la pacienții atopici, față de cei nonatopici, dar a subliniat că nu există nicio diferență în ceea ce privește controlul bolii la subiecții studiați.(233) O metaanaliza a evaluat rezultatele obținute de șapte studii, care au cercetat valoarea FENO pentru monitorizarea bolii, a concluzionat că eligibilitatea FENO pentru atingerea acestui deziderat este echivocă.(234) Deși a fost dovedit rolul FENO pentru îmbunătățirea calității vieții pentru o parte dintre pacienți cu AB, care au fost monitorizați după acest parametru, oxidul nitric exhalat nu a atins pragul de semnificație statistică.(234)

II.5. Concluzii

1. Valorile FENO sunt semnificativ crescute la fenotipul alergic
2. Nivelele crescute ale FENO se asociază cu fenotipul alergic indiferent de vârsta pacienților.
3. Talia(înălțimea) se corelează pozitiv semnificativ statistic cu FENO atât pentru fenotipul alergic, cât și pentru formele persistente de boală.
4. FENO se corelează pozitiv, semnificativ statistic cu markerii imunologici alergici(IgE totale și eozinofilele serice).

5. FENO este un biomarker inflamator cu valoare predictivă bună pentru diagnosticul de AB alergic AHC și APP nu influențează predicția pentru AB atopic. Atopia se asociază cu formele severe de boală.
6. Nivelul FENO este semnificativ crescut la pacienții cu fenotip alergic de AB. Formele severe de AB se asociază cu nivele scăzute ale FENO comparativ cu forma intermitentă.
7. Valoarea FENO, în relație cu controlul bolii, diferă în funcție de fenotipul de AB, astfel la copiii cu formă alergică de boală, FENO nu este influențat de nivelul de control al bolii, dar la subiecții cu fenotip nonalergic îmbunătățirea controlului bolii se asociază cu scăderea concentrației FENO.
8. FENO se corelează pozitiv cu parametrii spirometrici FEV1 și FVC, dar și cu FEF 75-25 și PEF.
9. Valoarea FENO nu este influențată de prezența rinitei alergice la subiecții cu fenotip alergic de AB, deși la acești pacienți au fost semnalate nivele crescute ale FENO.
10. Statusul nutrițional nu influențează valoarea FENO, formele persistente de boală indiferent de BMI prezintă nivele crescute ale FENO, dar nesemnificativ statistic
11. Valoarea oxidului nitric este crescută la copiii de vârstă mare, 12-18 ani, posibil datorită executării corecte a expirului constant, controlat, necesar determinării FENO.
12. Nivelele FENO nu sunt influențate semnificativ statistic de sex, deși izolat s-au obținut valori mai mari la băieți în grupul studiat.

III. Bibliografie

1. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma, 2014
2. Gurjit K. Khurana Hershey. Asthma, Disorders of Respiratory System, Rudolph's Pediatrics, 22nd Edition, 2011
3. Reddel HK, Levy ML. Global Initiative for Asthma Scientific Committee and Dissemination and Implementation Committee. The GINA asthma strategy report: what's new for primary care? NPJ Prim Care Respir Med. 2015 Jul 30;25:15050.
4. Kuang Z, Wilson JJ, Luo S, Zhu SW, Huang RP. Deciphering Asthma Biomarkers with Protein Profiling Technology. Int J Inflam. 2015; 2015:630637.
5. <http://www.eaaci.org/attachments/Global Atlas of Asthma.pdf> accesat la 29 aprilie 2015 PRACTALL
6. <http://www.fraserhealth.ca/health-info/health-topics/school-health/medical-conditions/asthma/> - accesat 21/07/2016
7. Morris MJ, Pearson DJ, Monesifar Z, Bessman E, Blackburn P, Brenner BE et al. Asthma. Updated Jun 16, 2016, <http://emedicine.medscape.com/article/296301-overview#a0156>- accesat 11 iulie 2016
8. Anandan C., Nurmatov U., Van Schayck O. C. P., Sheikh A. Is the prevalence of asthma declining? Systematic review of epidemiological studies. Allergy. 2010;65(2):152-167.
9. Nicolaescu Olimpia. Astmul bronșic. Cursul I. <https://www.emcb.ro/pdf/10/01-astm-1.pdf>
10. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma, 2016

11. Sharma GD, Gupta P, Scanlin T, Windle ML, Callahan C, Bye MR. Pediatric Asthma. Updated Sep 02, 2015 <http://emedicine.medscape.com/article/1000997-overview>
12. http://www.globalasthma-report.org/resources/Global_Asthma_Report_2014.pdf
13. Lodrup Carlsen KC, Carlsen KH. Asthma in children: road to individual asthma phenotypes. *Pediatric Asthma. ESR. European Respiratory monograph* 56/june 2012,1-9
14. Cantani A. *Pediatric Allergy, Asthma and Immunology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2008
15. Sly PD, Holt PG, Stein R and Martinez FD. Disease Mechanisms and Cell Biology. In Taussig L, Landau L. *Pediatric Respiratory Medicine*. Second Edition. Philadelphia: Mosby Elsevier, April 2008
16. Harpsoe MC, Basit S, Bager P, Wohlfahrt J, Benn CS, Nohr EA, Linneberg A, Jess T, Maternal obesity, gestational weight gain, and risk of asthma and atopic disease in offspring: a study within the Danish National Birth Cohort. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Apr;131(4):1033-40. Epub 2012 Nov 2.
17. Carlsen KH, Gertsen J. *Paediatric Asthma. ESR. European Respiratory Monograph* 56, June 2012
18. van Berkel AC, den Dekker HT, Jaddoe VW, Reiss IK, Gaillard R, Hofman A, de Jongste JC, Duijts L. Mode of delivery and childhood fractional exhaled nitric oxide, interrupter resistance and asthma: the Generation R study. *Pediatr Allergy Immunol*. 2015 Jun;26(4):330-6.
19. Almqvist C, Worm M, Leynaert B. Impact of gender on asthma in childhood and adolescence: a GA2LEN review. *Allergy*. 2008;63(1):47-57
20. Sze Man Tse, Brent A. Coull, Joanne E. Sordillo, Soma Datta and Diane R. Gold. Gender- and age-specific risk factors for wheeze from birth through adolescence. *Pediatric Pulmonology*, Volume 50. Issue 10, pages 955-962, October 2015
21. Skobeloff EM, Spivey WH, St Clair SS, Schoffstall JM. The influence of age and sex on asthma admissions. *JAMA*. 1992;268:3437-40
22. Stanley J. Szeffler, James F. Chmiel, Anne M. Fitzpatrick, et al. Asthma Across the Ages: Knowledge Gaps in Childhood Asthma Prepared for the 2014 theme issue in the *Journal of Allergy and Clinical Immunology* *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Jan; 133(1): 3-14.
23. Popescu LM, Ursaciuc C, Radu DL, Simionescu O, Radu E, Bancu AC, Andronescu D. *Dicționar de Imunologie Medicală*. Editura Universitară "Carol Davila", Bucuresti 2002
24. Pyrhönen K, Hiltunen L, Kaila M, Näyhä S, Läärä E. Heredity of food allergies in an unselected child population: an epidemiological survey from Finland. *Pediatr Allergy Immunol*. 2011;39:124-132
25. Ricciardolo FL, Sorbello V, Ciprandi G. A pathophysiological approach for FeNO: A biomarker for asthma, *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2015;Nov-Dec 43(6):609-16
26. Sutherland ER, Goleva E, Strand M et al. Boddy mass and glucocorticoid response in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178:682-687
27. Abd El-Kader MS, Al-Jiffri O, Ashmawy EM. Impact of weight loss on markers of systemic inflammation in obese Saudi children with asthma. *Afr Health Sci*. 2013 Sep;13(3):682-8.
28. Dixon AE, Holguin F, Sood A, Salome CM, Pratley RE, Beuther DA, Celedón JC and Shore SA, on behalf of the American Thoracic Society Ad Hoc Subcommittee on Obesity and Lung Disease. An Official American Thoracic Society Workshop Report: Obesity and Asthma, American Thoracic Society Documents <https://www.thoracic.org/statements/resources/allergy-asthma/an-official-american-thoracic-workshop-report-obesity-and-asthma.pdf>
29. Egan KB, Ettinger AS and Bracken MB. Childhood body mass index and subsequent physician-diagnosed asthma: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies, *BMC Pediatr*. 2013; 13: 121
30. Liu AH, Covar RA, Spahn JD, Leung DYM. Childhood Asthma. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 18th Edition, 953-970
31. Laumbach RJ, Kippen HM. Respiratory health effects of air pollution: Update on biomass smoke and traffic pollution. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(1):3-11

- 32.** Kim J, Chang E, Han Y, Ahn K, Lee SI. The incidence and risk factors of immediate type food allergy during the first year of life in Korean infants: a birth cohort study. *Pediatr Allergy Immunol.* 2011;39:715–719
- 33.** Mullins RJ, Clark S, Katelaris C, Smith V, Solley G, Camargo CA Jr. Season of birth and childhood food allergy in Australia. *Pediatr Allergy Immunol.* 2011;39:583–589
- 34.** Caliskan M, Bochkov YA, Kreiner-Moller E, et al. Rhinovirus wheezing illness and genetic risk of childhood-onset asthma. *N Engl J Med.* 2013;368:1398–1407.
- 35.** Lu S, Hartert TV, Everard ML, Giezek H, Nelsen L, Mehta A, Patel H, Knorr B, Reiss TF. Predictors of asthma following severe respiratory syncytial virus (RSV) bronchiolitis in early childhood. *Pediatr Pulmonol.* 2016 May 6.
- 36.** Devulapalli CS, Carlsen KC, Haland G, et al. Severity of obstructive airways disease by age 2 years predicts asthma at 10 years of age. *Thorax* 2008;63:8-13
- 37.** Loughlin CE. Pulmonology. *The Harriet Lane Handbook. A Manual for Pediatric House Officers*, 17 th Edition, 619-630
- 38.** Gaffin JM, Sheehan WJ, Morrill J, et al. Tree nut allergy, egg allergy, and asthma in children, *Clin Pediatr (Phila)* 2011;50:133-913
- 39.** Malmberg LP, Saarinen KM, Pelkonen AS, et al. Cow's milk allergy as a predictor of bronchial hyperresponsiveness and airway inflammation at school age. *Clin Exp Allergy* 2010; 40:1491-1497
- 40.** Sears MR. Predicting asthma outcomes. *J Allergy Clin Immunol.* 2015 Oct;136(4):829-36 ;
- 41.** Jartti T, Kunsipalo H, Vuorinen T, et al. Allergic sensitization is associated with rhinovirus-but not other virus- induced wheezing in children. *Pediatr Allergy Immunol* 2010; 21: 1008-1014
- 42.** Platts-Mills TA. The allergy epidemics: 1870-2010. *J Allergy Clin Immunol.* 2015 Jul;136(1):3-13.
- 43.** Hamzaoui A, Berraïes A, Hamdi B, Kaabachi W, Ammar J, Hamzaoui K. Vitamin D reduces the differentiation and expansion of Th17 cells in young asthmatic children. *Immunobiology.* 2014 Nov;219(11):873-9.
- 44.** Arshi S, Fallahpour M, Nabavi M, Bemanian MH, Javad-Mousavi SA, Nojomi M. et al. The effects of vitamin D supplementation on airway functions in mild to moderate persistent asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2014 Oct;113(4):404-9.
- 45.** Munthe-Kaas MC, Willemse and BWM, Koppelman GK. Genetics and epigenetics of childhood asthma. In *Pediatric Asthma, European Respiratory monograph, Number 56/June 2012*, p 97-114
- 46.** Puxeddu I, Pang YY, Harvey A. et al. The soluble form of a disintegrin and metalloprotease 33 promotes angiogenesis: implications for airway remodeling in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1400–1406
- 47.** Lang JE and Blake KV. Role of biomarkers in understanding and treating children with asthma: towards personalized care. *Pharmgenomics Pers Med.* 2013; 6: 73–84.
- 48.** Moore WC, Meyers DA, Wenzel SE et al. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181:315-23
- 49.** Le Souef PN. Genes, Environment, and Their Interactions. In *Taussig L, Landau L. Pediatric Respiratory Medicine, Second Edition, Philadelphia: Mosby Elsevier, April 2008*
- 50.** Wang YH, Voo KS, Liu B, Chen C-Y, Uygungil B, Spoede W, Bernstein JA, Huston DP and Liu Y-J. A novel subset of CD4⁺ T_H2 memory/effector cells that produce inflammatory IL-17 cytokine and promote the exacerbation of chronic allergic asthma. *J Exp Med.* 2010 Oct 25;207(11): 2479–2491.
- 51.** Matthews NC, Pfeffer PE, Mann EH, Kelly FJ, Corrigan CJ, Hawrylowicz CM, Lee TH. Urban Particulate Matter-activated Human Dendritic Cells Induce the Expansion of Potent Inflammatory Th1, Th2 and Th17 Effector Cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2016 Feb; 54(2) :250 -62.
- 52.** Peters M, Köhler-Bachmann S, Lenz-Habijan T, Bufe A. Influence of an Allergen-specific Th17 Response on Remodeling of the Airways. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2016 Mar; 54(3): 350-8.

- 53.** Spergel JM., Paller AS. Atopic dermatitis and the atopic march. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2003;112(6):S118–S127
- 54.** Pelaia G, Vatrella A, Busceti MT, Gallelli L, Calabrese C, Terracciano R, Maselli R. Cellular Mechanisms Underlying Eosinophilic and Neutrophilic Airway Inflammation in Asthma. *Mediators Inflamm*. 2015; 2015: 879783.
- 55.** Leung DYM. Allergy and the Immunologic Basis of Atopic Disease, Allergic Disorders. In Nelson Textbook of Pediatrics. 18 th Edition 2007, cap 139/935-942
- 56.** Konradsen JR, Skantz E, Nordlund B et al. Predicting asthma morbidity in children using proposed markers of Th2-type inflammation. *Pediatric Allergy and Immunology*. Volume:26 Issue: 8 Pages:772-779
- 57.** Lin YL, Chen SH, Wang JY. Critical role of IL-6 in dendritic cell-induced allergic inflammation of asthma. *J Mol Med (Berl)*. 2015 Aug 2.
- 58.** Liu M, Yokomizo T. The role of leukotrienes in allergic diseases. *Allergol Int*. 2015 Jan; 64(1): 17-26.
- 59.** Silvestri M, Bontempelli M, Giacomelli M, Malerba M, Rossi GA, Di Stefano A, Rossi A, Ricciardolo FL. High serum levels of tumour necrosis factor-alpha and interleukin-8 in severe asthma: markers of systemic inflammation? *Clin Exp Allergy*. 2006 Nov;36(11):1373-81
- 60.** Anvari S, Vyhlidal CA, Dai H, and Jones BL "Genetic Variation along the Histamine Pathway in Children with Allergic versus Nonallergic Asthma", *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, Vol. 53, No. 6 (2015), pp. 802-809
- 61.** https://en.wikipedia.org/wiki/Nitric_oxide
- 62.** Dodig S, Richter D, Zrinski-Topić R. Inflammatory markers in childhood asthma (Review) ; *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*; Volume 49, Issue 4, 1 April 2011, Pages 587-599
- 63.** Brunel A, Lang J, Couture M, Boucher JL, Dorlet P and Santolini J. Oxygen activation in NO synthases: evidence for a direct role of the substrate. *FEBS Open Bio*. 2016 May; 6(5): 386–397
- 64.** Förstermann U and Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function *Eur Heart J*. 2012 Apr;33(7):829–837
- 65.** Ricciardolo FL. Multiple roles of nitric oxide in the airways. *Thorax*. 2003;58:175–82.
- 66.** van der Valk RJF, Duijts L, Timpson NJ et al. and the EARly Genetics & Lifecourse Epidemiology (EAGLE) Consortium. Fractional exhaled nitric oxide in childhood is associated with 17q11.2-q12 and 17q12-q21 variants, *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Jul; 134(1): 46–55.
- 67.** Ricciardolo FL. Revisiting the role of exhaled nitric oxide in asthma. *Curr Opin Pulm Med*. 2014;20:53–59.
- 68.** Pijnenburg MW, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide in childhood asthma: a review. *Clin Exp Allergy*. 2008;38:246–259.
- 69.** Ishizuka T, Hisada T, Kamide Y et al. The effects of concomitant GERD, dyspepsia, and rhinosinusitis on asthma symptoms and FeNO in asthmatic patients taking controller medications. *J Asthma Allergy*. 2014; 7: 131–139.
- 70.** Chibana K, Trudeau JB, Mustovich AT et al. IL-13 induced increases in nitrite levels are primarily driven by increases in inducible nitric oxide synthase as compared with effects on arginases in human primary bronchial epithelial cells. *Clin Exp Allergy*. 2008;38(6):936–946.
- 71.** Gauthier M, Ray A, and Wenzel SE. Evolving Concepts of Asthma. *Am J Resp Crit Care Med* Vol.192 Number 6 Sept 15(2015)p 660-668
- 72.** https://www.uptodate.com/contents/exhaled-nitric-oxide-analysis-and-applications?source=search_result&search=feno+syntesys&selectedTitle=1~33-accesat 20/02/2016
- 73.** Gupta N, Goel N and Kumar R. Correlation of exhaled nitric oxide, nasal nitric oxide and atopic status: A cross-sectional study in bronchial asthma and allergic rhinitis *Lung India*. 2014 Oct-Dec; 31(4): 342–347.
- 74.** Romero KM, Robinson CL, Baumann LM, Gilman RH, Hamilton RG, Hansel NN, Checkley W; PURA Study Investigators. Role of exhaled nitric oxide as a predictor of atopy. *Respir Res*. 2013 May 2;14:48.

- 75.** Mahut B, Peyrard S, Delclaux C. Exhaled nitric oxide and clinical phenotypes of childhood asthma. *Respir Res.* 2011;12:65.
- 76.** van der Valk RJ, Caudri D, Savenije O et al. Childhood wheezing phenotypes and FeNO in atopic children at age 8. *Clin Exp Allergy.* 2012;42:1329–1336.
- 77.** Szeftler SJ, Phillips BR, Martinez FD, Chinchilli VM, Lemanske RF, Strunk RC, Zeiger RS, Larsen G, Spahn JD, Bacharier LB et al. Characterization of within-subject responses to fluticasone and montelukast in childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:233-242
- 78.** Wenzel SE. Phenotypes in asthma: useful guides for therapy, distinct biological processes, or both. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170:579-80.
- 79.** Hanania NA, Wenzel S, Rosén K, Hsieh HJ, Mosesova S, Choy DF, Lal P, Arron JR, Harris JM, Busse W. Exploring the effects of omalizumab in allergic asthma: an analysis of biomarkers in the EXTRA study. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;187:804-811
- 80.** Lex C, Ferreira F, Zacharasiewicz A, Nicholson AG, Haslam PL, Wilson NM et al. Airway eosinophilia in children with severe asthma: predictive values of noninvasive tests. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174:1286-91
- 81.** Han YY, Forno E, and Celedón JC. Adiposity, Fractional Exhaled Nitric Oxide, and Asthma in U.S. Children *Am J Respir Crit Care Med.* 2014 Jul 1; 190(1): 32–39.
- 82.** Forno E, Acosta-Perez E, Brehm J, Han YY, Alvarez M, Colon-Semidey A, Canino G, Celedon JC. Obesity and adiposity indicators, asthma, and atopy in Puerto Rican children. *J Allergy Clin Immunol* 2014 133:1308–1314
- 83.** Forno E, Lescher R, Strunk R, Weiss S, Fuhlbrigge A, Celedón JC. Childhood Asthma Management Program Research Group. Decreased response to inhaled steroids in overweight and obese asthmatic children. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127:741–749.
- 84.** Borrell LN, Nguyen EA, Roth LA, Oh SS, Tcheurekdjian H, Sen S, Davis A, Farber HJ, Avila PC, Brigino-Buenaventura E et al. Childhood obesity and asthma control in the GALA II and SAGE II studies. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187:697–702.
- 85.** Ciprandi G, Ricciardolo FLM, Signori A, Schiavetti I, Monardo M, Ferraro MR et al. Increased body mass index and bronchial impairment in allergic rhinitis. *Am J Rhinol Allergy.* 2013;27:195-201.
- 86.** Haccuria A, Michils A, Michiels S, Van Muylem A. Exhaled nitric oxide: a biomarker integrating both lung function and airway inflammation changes. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;134:554-9.
- 87.** Kelekçi S, Sen V, Yolbas I, Uluca Ü, Tan I, Gürkan MF. FeNO levels in children with asthma and other diseases of the lung. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013 Nov;17(22):3078-82
- 88.** Visitsunthorn N, Prottasan P, Jirapongsananuruk O, Maneechotesuwan K. Is fractional exhaled nitric oxide (FeNO) associated with asthma control in children? *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2014 Sep;32(3):218-25
- 89.** Malinovschi A, Fonseca JA, Jacinto T, Alving K, Janson C. Exhaled nitric oxide levels and blood eosinophil counts independently associate with wheeze and asthma events. In National Health and Nutrition Examination Survey subjects. *J Allergy Clinical Immunol* 2013;132:821-827.e5
- 90.** Dweik RA, Soorkness RL, Wenzel S, Hammel J, Curran-Everett D, Comhair SA, Bleeker E, Busse W, Calhoun WJ, Castro M et al. National Heart, Lung, and Blood Institute Severe Asthma Research Program. Use of exhaled nitric oxide measurement to identify a reactive, at-risk phenotype among patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181:1033-1041
- 91.** Wysocki K, Park SY, Bleeker E, Busse W, Castro M, Chung KF, Gaston B, Erzurum S, Israel E, Teague WG et al. Characterization of factors associated with systemic corticosteroid use in severe asthma: data from the Severe Asthma Research Program. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133:915-918.
- 92.** Bayes HK, Cowan DC. Biomarkers and asthma management: an update. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2016 Jun;16(3):210-7

- 93.**Kupzyk M, Haque S, Middelveld RJ, Dahlén B, Dahlén SE;BIOAIR Investigators. Phenotypic predictors of response to oral glucocorticosteroids in severe asthma. *Respir Med* 2013;107:1521-1530
- 94.**Liu AH and Covar RA, Clinical Features, Outcomes and Prognosis, in Taussig L, Landau L, *Pediatric Respiratory Medicine*, Second Edition, Philadelphia: Mosby Elsevier, April 2008
- 95.**Manna A, Caffarelli C, Varini M, Dascola CP, et al. Clinical application of exhaled nitric oxide measurement in pediatric lung diseases *Ital J Pediatr*. 2012; 38: 74
- 96.**Baraldi E, Carrá S, Dario C, Azzolin N, Ongaro R, Marcer G et al. Effect of natural grass pollen exposure on exhaled nitric oxide in asthmatic children. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;159:262-6.
- 97.**Riccioni G, Bucciarelli V, Verini M, et al. ADMA, SDMA, L-Arginine and nitric oxide in allergic pediatric bronchial asthma. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2012;26:561–566.
- 98.**Bjermer L, Alving K, Diamant Z, Magnussen H, Pavord I, Piacentini G, Price D, Roche N, Sastre J, Thomas M, Usmani O. Current evidence and future research needs for FeNO measurement in respiratory diseases. *Respir Med*. 2014 Jun;108(6):830-41
- 99.**Crane J, Lampshire P, Wickens K, Epton M, Siebers R, Ingham T. et al. Asthma, atopy and exhaled nitric oxide in a cohort of 6-yr-old New Zealand children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2012;39:59–64.
- 100.**Cherubini E, Tabbi L, Scozzi D, Mariotta S, Galli E et al. Modified expression of peripheral blood lymphocyte muscarinic cholinergic receptors in asthmatic children. *J Neuroimmunol*. 2015 Jul 15;284:37-43
- 101.**Carlsen KH, Anderson SD, Bjermer L, et al. Exercise-induced asthma, respiratory and allergic disorders in elite athletes: epidemiology, mechanisms and diagnosis: part I of the report from the Joint Task Force of the European Respiratory Society (ERS) and the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) in cooperation with GA2LEN. *Allergy* 2008;63:387-403
- 102.**Fitzpatrick AM. Biomarkers of Asthma and Allergic Airway Disease. *Ann Allergy Asthma Immunol* 115 (2015) 335-340
- 103.**Ward C, Pais M, Bish R, Reid D, Feltis B, Johns D, Walters EH. Airway inflammation, basement membrane thickening and bronchial hyperresponsiveness in asthma. *Thorax* 2002; 57:309–316.
- 104.**Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma, 2010
- 105.**Ducharme FM, Dell SD, Radhakrishnan D, Grad RM, Watson WTA, Yang CL and Zelman M. Diagnosis and management of asthma in preschoolers: A Canadian Thoracic Society and Canadian Paediatric Society position paper. *Can Respir J*. 2015 May-Jun; 22(3): 135–143.
- 106.**National Asthma Prevention . 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
- 107.**Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma, 2011
- 108.**Naji N, Keung E, Kane J, Watson RM, Killian KJ, Gauvreau GM. Comparison of changes in lung function measured by plethymography and IOS after bronchoprovocation. *Respiratory medicine*. 2013;107(4):503–10
- 109.**Pickerd N, Williams EM, Kotecha S. Electromagnetic inductance plethysmography to measure tidal breathing in preterm and term infants. *Pediatric pulmonology*. 2013;48(2):160–7
- 110.**Cristescu SM, Mandon J, Harren FJ, Meriläinen P, Högman M, Methods of NO detection in exhaled breath., *J Breath Res*. 2013 Mar; 7(1):017104.
- 111.**Silkoff PE, Carlson M, Bourke T, Katial R, Ogren E, Szeffler SJ, Aerocrine exhaled nitric oxide monitoring system NIOX is cleared by the US Food and Drug Administration for monitoring therapy in asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2004 Nov; 114(5):1241-56.)
- 112.**Grzelewski T, Majak P, Jerzyńska J, Stelmach W, Stelmach R, Janas A, Grzelewska A, Witkowski K, Makandjou-Ola E, Stelmach I. The interpretation of exhaled nitric oxide values in children with asthma depends on the degree of bronchoconstriction and the levels of asthma severity. (*Respir Care*. 2014 Sep;59(9):1404-11

- 113.**Hahn YS. Measurements of fractional exhaled nitric oxide in pediatric asthma Korean J Pediatr. 2013 Oct;56(10):424-30
- 114.**Prieto L, Ruiz-Jimenez L, Marin J. The effect of spirometry on bronchial and alveolar nitric oxide in subjects with asthma. J Asthma. 2013;50:623-8
- 115.** American Thoracic Society; European Respiratory Society. 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;171:912–930
- 116.**Linn WS, Rappaport EB, Eckel SP, Berhane KT, Zhang Y, Salam MT, Bastain TM, Gilliland FD. Multiple-flow exhaled nitric oxide, allergy, and asthma in a population of older children. Pediatr Pulmonol. 2013 Sep; 48(9):885-96.
- 117.**Jartti T, Wendelin-Saarenhovi M, Heinonen I, Hartiala J, Vanto T, Childhood asthma management guided by repeated FeNO measurements: a meta-analysis.Paediatr Respir Rev. 2012 Sep;13(3):178-83. Epub 2011 Dec 24.
- 118.**Kim HB, Eckel SP, Kim JH, and Gilliland FD, Exhaled NO: Determinants and Clinical Application in Children With Allergic Airway Disease, Allergy Asthma Immunol Res. 2016 Jan; 8(1): 12–21.
- 119.**Kim YH, Park HB, Kim MJ, Kim HS, Lee HS, Han YK et al. Fractional exhaled nitric oxide and impulse oscillometry in children with allergic rhinitis. Allergy Asthma Immunol Res. 2014;6:27–32
- 120.**Lee KJ, Cho SH, Lee SH, Tae K, Yoon HJ, Kim SH et al. Nasal and exhaled nitric oxide in allergic rhinitis. Clin Exp Otorhinolaryngol. 2012;5:228–233
- 121.** Castro-Rodriguez JA, Rodriguez-Martinez CE and Custovic A. Infantile and preschool asthma. ESR. European Respiratory Monograph 56, June 2012,10-21
- 122.** Inoue Y, Shimojo N. Epidemiology of virus-induced wheezing/asthma in children. Front Microbiol.2013;4:391.
- 123.** Cane RS, Ranganathan SC, McKenzie SA. What do parents of wheezy children understand by “wheeze”? Arch Dis Child. 2000;82:327–32
- 124.** Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma, 2015
- 125.**Savenije OE, Kerkhof M, Koppelman GH, Postma DS. Predicting who will have asthma at school age among preschool children. J Allergy Clin Immunol 2012;130:325-31.
- 126.**Cano Garcinuno A, Mora Gandarillas I,Group SS. Early patterns of wheezing in asthmatic and nonasthmatic children. Eur Respir J 2013;42:1020-8.
- 127.**Just J,Saint-Pierre P,Gouvis-Echraghi R et al. Wheeze phenotypes in young children have different courses during the preschool period. Ann Allergy Asthma Immunol 2013;111:256-61.e1
- 128.**van Asperen PP. Cough and asthma. Paediatr Respir Rev. 2006;7:26–30
- 129.**Lougheed MD, Lemiere C, Ducharme FM et al. Canadian Thoracic Society 2012 guideline update: Diagnosis and management of asthma in preschoolers, children and adults. Can Respir J. 2012;19:127–64
- 130.**Nagel G, Weinmayr G, Kleiner A et al. Effect of diet on asthma and allergic sensitisation in the International Study on Allergies and Asthma in Childhood (ISAAC) Phase Two. Thorax. 2010;65(6):516–522.
- 131.**Van Haren EH, Lammers JW, Festen J, Heijerman HG, Groot CA, van Herwaarden CL. The effects of the inhaled corticosteroid budesonide on lung function and bronchial hyperresponsiveness in adult patients with cystic fibrosis. Respir Med 1995;89:209-14.
- 132.**Ramsdale EH, Morris MM, Roberts RS, Hargreave FE. Asymptomatic bronchial hyperresponsiveness in rhinitis. J Allergy Clin Immunol 1985;75:573-7
- 133.**Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, Bousquet J, Drazen JM, FitzGerald M, Gibson P, Ohta K, O'Byrne P, Pedersen SE, Pizzichini E, Sullivan SD, Wenzel SE, Zar HJ. GINA executive summary in European Respiratory Journal, Published 1 January 2008, <http://erj.ersjournals.com/content/31/1/143#T2>

- 134.**Schultz A, Brand PL. Episodic viral wheeze and multiple trigger wheeze in preschool children:a useful distruction for clinicians? *Pediatr Respir Rev* 2011;12:160-164
- 135.**Martinez FD,Wright AL,Taussing LM et al. Asthma and wheezing in the first six years of life.The Group Health Medical Associates.*N Engl J Med* 1995;332:133-138
- 136.**Boehmer AL. Pediatric asthma: everything that seemed to be certain no longer is.*Pediatr Respir Rev* 2010;11:185-190
- 137.**Castro-Rodriguez JA, Holberg CJ, Wright AL et al. A clinical index to definerisk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:1403-1406
- 138.**Castro-Rodriguez JA. The Asthma Predictive Index: a very useful tool for predicting asthma in young children. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(2):212.
- 139.**Castro-Rodriguez JA. The Asthma Predictive Index: early diagnosis of asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2011;11(3):157.
- 140.**Fouzas S, Brand PL. Predicting persistence of asthma in preschool wheezers: crystal balls or muddy waters? *Paediatr Respir Rev.* 2013 Mar;14(1):46-52. Epub 2012 Sep 12.
- 141.**Vial Dupuy A, Amat F, Pereira B, Labbe A, Just J. A simple tool to identify infants at high risk of mild to severe childhood asthma: the persistent asthma predictive score. *J Asthma.* 2011 Dec;48(10):1015-21
- 142.**Kurukulaaratchy RJ, Matthew S, Holgate ST et al. Predicting persistent disease among childrenwho wheeze during early life. *Eur Respir J* 2003;22:767-771
- 143.**Caudri D, Wijga A, A Schipper CM, Hoekstra M, Postma DS, Koppelman GH, Brunekreef B, Smit HA, de Jongste JC. Predicting the long-term prognosis of children with symptoms suggestive of asthma at preschool age. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124(5):903.
- 144.**van der Mark LB, van Wonderen KE, Mohrs J, van Aalderen WM, Ter Riet G, Bindels PJ Predicting asthma in preschool children at high risk presenting in primary care: development of a clinical asthma prediction score. *Prim Care Respir J.* 2014 Mar;23(1):52-9.
- 145.**Global Initiative for Asthma.Global strategy for the diagnosis and management of asthma in children 5 years and younger,2009.www.ginasthma.org
- 146.**Hollenbach JP, Cloutier MM. Childhood Asthma Management and Environmental Triggers. *Pediatr Clin North Am.* 2015 Oct;62(5):1199-214.Epub 2015 Jul 26.
- 147.**Fatemi F, Sadroddiny E, Gheibi A, Mohammadi Farsani T, Kardar GA. Biomolecular markers in assessment and treatment of asthma. *Respirology.* 2014 May;19(4):514-23. Epub 2014 Apr 3.
- 148.**Simpson A, Tan VYF, Winn J et al. Beyond atopy: multiple patterns of sensitization in relation to asthma in a birth cohort study.*The American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.*2010;181(11):1200–1206.
- 149.**Wu W, Bleecker E, Moore W et al. Unsupervised phenotyping of Severe Asthma Research Program participants using expanded lung data. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2014;133(5):1280–1288.
- 150.**Tantisira KG,Litonjua AA,Weiss ST et al. Association of body mass with pulmonary function In the Childhood Asthma Management Program(CAMP):*Thorax* 2003;58:1036-1041
- 151.**McGarry ME, Castellanos E, Thakur N, Oh SS, Eng C, BS et al. Obesity and Bronchodilator Response in Black and Hispanic Children and Adolescents With Asthma. *Chest.* 2015 Jun; 147(6): 1591–1598
- 152.** Anfuso A, Ramadan H, Terrell A, Demirdag Y, Walton C, Skoner DP, Piedimonte G. Sinus and adenoid inflammation in children with chronic rhinosinusitis and asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2015 Feb; 114(2):103-10.
- 153.**Guilbert TW, Bacharier LB, Fitzpatrick AM. Severe asthma in children. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2014 Sep-Oct;2(5):489-500

- 154.** Majak P, Bąk-Walczak E, Stelmach I, Jerzyńska J, Krakowiak J, Stelmach W. An increasing trend of the delay in asthma diagnosis after the discontinuation of a population-based intervention. *J Asthma*. 2011 May;48(4):414-8
- 155.** Wadsworth S, Sin D, Dorscheid D. Clinical update on the use of biomarkers of airway inflammation in the management of asthma. *J Asthma Allergy*. 2011; 4():77-86)
- 156.** Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, Irvin CG, Leigh MW, Lundberg JO, Olin AC, Plummer AL, Taylor DR. American Thoracic Society Committee on Interpretation of Exhaled Nitric Oxide Levels (FENO) for Clinical Applications. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 Sep 1; 184(5):602-15.
- 157.** Ferrer M, Jarque A, Tosca R, Michavila A. Is it necessary to treat all asthmatic children with raised levels of exhaled nitric oxide?: treating the patient or the data. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2011 Sep-Oct; 39(5):280-3.
- 158.** Singer F, Luchsinger I, Inci D et al. Exhaled nitric oxide in symptomatic children at preschool age predicts later asthma. *Allergy* 2013;68:531-8
- 159.** Smith AD, Cowan JO, Filsell S, McLachlan C, Monti-Sheehan G, Jackson P, Taylor DR. Diagnosing asthma: comparisons between exhaled nitric oxide measurements and conventional tests. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004 Feb 15; 169(4):473-8.
- 160.** Sivan Y, Gadish T, Fireman E, Soferman R. The use of exhaled nitric oxide in the diagnosis of asthma in school children. *J Pediatr*. 2009 Aug;155(2):211-6.
- 161.** Woo SI, Lee JH, Kim H, Kang JW, Sun YH, Hahn YS. Utility of fractional exhaled nitric oxide (FENO) measurements in diagnosing asthma. *Respir Med*. 2012 Aug; 106(8):1103-9.
- 162.** Green RJ, Klein M, Becker P, Halkas A, Lewis H, Kitchin O, Moodley T, Masekela R. Disagreement among common measures of asthma control in children. *Chest*. 2013 Jan; 143(1):117-22
- 163.** Waibel V, Ulmer H, Horak E. Assessing asthma control: symptom scores, GINA levels of asthma control, lung function, and exhaled nitric oxide. *Pediatr Pulmonol*. 2012 Feb; 47(2):113-8.
- 164.** Grainge CL, Lau CL, Ward JA, Dulay V, Lahiff G, Wilson S et al. Effect of bronchoconstriction on airway remodeling in asthma. *The New England journal of medicine*. 2011; 364(21):2006-15
- 165.** Seo SC, Park SJ, Park CW, Yoon WS, Choung JT, Yoo Y. Clinical and immunological effects of a forest trip in children with asthma and atopic dermatitis. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2015 Feb;14(1):28-36
- 166.** Stevenson MD and Ruddy RM. Asthma and Allergic Emergencies. *Textbook of Pediatric Emergency Medicine*, 6th Edition, 2010
- 167.** <http://www.uptodate.com/contents/asthma-treatment-in-children-beyond-the-basics-> accesat 16 ian 2016
- 168.** Lemansk R Jr, Manger DT, Sorkness CA et al. Childhood Asthma Research and Education Network of the National Heart, Lung and Blood Institute. Step-up therapy for children with uncontrolled asthma receiving inhaled corticosteroids. *N Engl J Med* 2010;362:975-985
- 169.** Hedlin G, de Benedictis FM, Bush A. Problematic severe asthma, *Pediatric Asthma*, ESR. *European Respiratory Monograph* 56. June 2012, 22-38
- 170.** Ducharme FM, Lemire C, Noya FJ et al. Preventive use of high-dose fluticasone for virus induced wheezing in young children. *N Engl J Med* 2009;360:339-353
- 171.** Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma, 2009
- 172.** Franklin PJ, Stick SM. The value of FeNO measurement in asthma management: the motion against FeNO to help manage childhood asthma—reality bites. *Paediatr Respir Rev* 2008; 9:122–126
- 173.** Smith RW, Downey K, Snow N, Dell S, Eng B and Smith WG. Association among fraction of exhaled nitrous oxide, bronchodilator response and inhaled corticosteroid type. *Can Respir J*. 2015 May-Jun; 22(3): 153–156

- 174.** Parikh K, Hall M, Mittal V et al. Comparative Effectiveness of Dexamethasone Versus Prednisone and Children Hospitalized With Asthma. *J Pediatr*. 2015;167:639-644
- 175.** Stelmach I, Ożarek-Hanc A, Zaczeniuk M, Stelmach W, Smejda K, Majak P, Jerzynska J, Anna J. Do children with stable asthma benefit from addition of montelukast to inhaled corticosteroids: randomized, placebo controlled trial. *Pulm Pharmacol Ther*. 2015 Apr;31:42-8.
- 176.** Bisgaard H, Loland L, Oj JA. NO in exhaled air of asthmatic children is reduced by the leukotriene receptor antagonist montelukast. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999 Oct; 160(4):1227-31.
- 177.** Rabinovitch N, Mauger DT, Reisdorph N, Covar R, Malka J, Lemanske RF Jr, Morgan WJ, Guilbert TW, Zeiger RS, Bacharier LB, Szeffler SJ. Predictors of asthma control and lung function responsiveness to step 3 therapy in children with uncontrolled asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Feb;133(2):350-6.
- 178.** Mahr TA, Malka J, Spahn JD. Inflammometry in pediatric asthma: a review of fractional exhaled nitric oxide in clinical practice. *Allergy Asthma Proc*. 2013 May-Jun;34(3):210-9.
- 179.** Pijnenburg MW, Hofhuis W, Hop WC, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide predicts asthma relapse in children with clinical asthma remission. *Thorax*. 2005;60:215–218.
- 180.** Donohue JF, Jain N. Exhaled nitric oxide to predict corticosteroid responsiveness and reduce asthma exacerbation rates. *Respir Med*. 2013 Jul;107(7):943-52.
- 181.** Cowan DC, Cowan JO, Palmay R, Williamson A, Taylor DR. Effects of steroid therapy on inflammatory cell subtypes in asthma. *Thorax*. 2010;65:384–390
- 182.** Petsky HL, Li AM, Au CT, Kynaston JA, Turner C, Chang AB. Management based on exhaled nitric oxide levels adjusted for atopy reduces asthma exacerbations in children: A dual centre randomized controlled trial. *Pediatr Pulmonol*. 2015 Jun;50(6):535-43. Epub 2014 Jun 2.
- 183.** Syk J, Malinowski A, Johansson G, Undén AL, Andreasson A, Lekander M, Alving K. Anti-inflammatory treatment of atopic asthma guided by exhaled nitric oxide: a randomized, controlled trial. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2013 Nov-Dec;1(6):639-48.e1-8.
- 184.** Stempel DA, Raphiou IH, Kral KM, Yeakey AM, Emmett AH, Prazma CM, Buaron KS, Pascoe SJ; AUSTRI Investigators. Serious Asthma Events with Fluticasone plus Salmeterol versus Fluticasone Alone. *N Engl J Med*. 2016 May 12;374(19):1822-30
- 185.** Humbert M, Busse W, Hanania NA, Lowe PJ, Canvin J, Erpenbeck VJ, Holgate S. Omalizumab in asthma: an update on recent developments. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2014 Sep-Oct;2(5):525-36.e1
- 186.** Busse WW, Morgan WJ, Gergen PJ, Mitchell HE, Gern JE, Liu AH et al. Randomized trial of omalizumab (anti-IgE) for asthma in inner-city children. *N Engl J Med*. 2011;364(11):1005–15.
- 187.** Normansell R, Kew KM, Bridgman AL. Sublingual immunotherapy for asthma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Aug 28;8:CD011293.
- 188.** Szeffler SJ, Mitchell H, Sorkness CA, Gergen PJ, O'Connor GT et al. Management of asthma based on exhaled nitric oxide in addition to guideline-based treatment for inner-city adolescents and young adults: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2008 Sep 20; 372(9643): 1065-72.
- 189.** Coates AL, Graham BL, Mcfadden RG et al. Spirometry in primary care. *Can Respir J*. 2013;20:13–22.
- 190.** Agnieszka Brzozowska, Paweł Majak, Joanna Jerzyńska, Katarzyna Smejda et al. Exhaled nitric oxide correlates with IL-2, MCP-1, PDGF-BB and TIMP-2 in exhaled breath condensate of children with refractory asthma. *Postepy Dermatol Alergol*. 2015 Apr; 32(2): 107–113
- 191.** Lemanske RF, Jr., Mauger DT, Sorkness CA et al., for the Childhood Asthma Research and Education (CARE) Network of the National Heart, Lung, and Blood Institute. Step-up Therapy for Children with Uncontrolled Asthma Receiving Inhaled Corticosteroids. *N Engl J Med* 2010; 362:975-985
- 192.** Agache I, Ciobanu C. Predictive value of lung function trend and FeNO for difficult asthma in children. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22(6):419-26.

- 193.** Tomlinson JE, Mc Mahon AD, Chaudhuri R et al. Efficacy of low and high dose inhaled corticosteroid in smokers versus non-smokers with mild asthma. *Thorax* 2005;60:282-287
- 194.** Fitzpatrick AM, Gaston BM, Erzurum SC, Teague WG. Features of severe asthma in school-age children: Atopy and increased exhaled nitric oxide. *J Allergy Clin Immunol.* 2006 Dec;118(6):1218–25.
- 195.** 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
- 196.** Kaugars AS, Klinnert MD, Bender BG. Family Influences on Pediatric Asthma *Journal of Pediatric Psychology.* vol. 29, Issue 7, p 475-491;2003
- 197.** Bisgaard H, Jensen SM, Bonnelykke K. Interaction between asthma and lung function growth in early life. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012 Jun 1;185(11):1183-9
- 198.** Strunk RC, Weiss ST, Yates KP, Tonascia J, Zeiger RS, Szeffler SJ. Mild to moderate asthma affects lung growth in children and adolescents. *J Allergy Clin Immunol.* 2006; 118(5): 1040–7
- 199.** Rao DR, Gaffin JM, Baxi SN, Sheehan WJ, Hoffman EB, Phipatanakul W. The utility of forced expiratory flow between 25% and 75% of vital capacity in predicting childhood asthma morbidity and severity. *J Asthma.* 2012;49(6):586–92
- 200.** Pedersen F, Holz O, Kanniss F, Zielen S et al. Longitudinal measurement of airway inflammation over one year in children and adults with intermittent asthma. *BMC Res Notes.* 2014 Dec 17;7:925.
- 201.** Verini M, Consilvio NP, Di Pillo S, Cingolani A, Spagnuolo C, Rapino D, Scaparrotta A, Chiarelli F. FeNO as a Marker of Airways Inflammation: The Possible Implications in Childhood Asthma Management. *J Allergy (Cairo).* 2010;2010. pii: 691425
- 202.** Makinen T, Lehtimäki L, Kinnunen H, Nieminen R, Kankaanranta H, Moilanen E. Bronchial diffusing capacity of nitric oxide is increased in patients with allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol.* 2009; 148(2):154-60.
- 203.** Barbara P. Yawn. The Role of the Primary Care Physician in Helping Adolescent and Adult Patients Improve Asthma Control. *Mayo Clin Proc.* 2011 Sep; 86(9): 894–902
- 204.** Lim J, Wood BL, Miller BD, Simmens SJ. Effects of paternal and maternal depressive symptoms on child internalizing symptoms and asthma disease activity: mediation by interparental negativity and parenting. *J Fam Psychol.* 2011;25(1):137–46
- 205.** Guxens M, Sonnenschein-van der Voort AM, Tiemeier H, Hofman A, Sunyer J, de Jongste JC et al. Parental psychological distress during pregnancy and wheezing in preschool children: The Generation R Study. *J Allergy Clin Immunol.* 2013
- 206.** Rothers J, Halonen M, Stern DA, Lohman IC, Mobley S, Spangenberg A, Anderson D, Wright AL. Adaptive cytokine production in early life differentially predicts total IgE levels and asthma through age 5 years. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128(2):397
- 207.** Hoshino M, Matsuoka S, Handa H, Miyazawa T, Yagihashi K. Correlation between airflow limitation and airway dimensions assessed by multidetector CT in asthma. *Respir Med.* 2010;104(6):794.
- 208.** Basu K, Palmer CN, Lipworth BJ, Irwin McLean WH, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Smith FJ, Mitra A. Filaggrin null mutations are associated with increased asthma exacerbations in children and young adults. *Mukhopadhyay S Allergy.* 2008;63(9):1211.
- 209.** Fitzpatrick AM, Teague WG, Meyers DA et al. Heterogeneity of severe asthma in childhood: confirmation by cluster analysis of children in the National Institutes of Health/National Heart, Lung, and Blood Institute Severe Asthma Research Program. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(2):382.
- 210.** Trischler J, Müller CM, Könitzer S, Prell E, Korten I, Unverzagt S, Lex C. Elevated exhaled leukotriene B₄ in the small airway compartment in children with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2015 Feb;114(2):111-6.

- 211.**Ferrante G, Malizia V, Antona R, Corsello G and Grutta SL. The value of FeNO measurement in childhood asthma:uncertainties and perspectives. *Multidiscip Respir Med.* 2013; 8(1): 50
- 212.**Lyman GH, Harold L.and Moses HL. Biomarker Tests for Molecularly Targeted Therapies — The Key to Unlocking Precision Medicine*The New England Journal of Medicine*, June 1, 2016
- 213.**Corren J, Lemanske RF, Hanania NA, Korenblat PE, Parsey MV, Arron JR, Harris JM, Scheerens H, Wu LC, Su Z et al. Lebrikizumab treatment in adults with asthma. *N Engl J Med.* 2011;365:1088–98
- 214.**Brightling CE, Chanez P, Leigh R, O'Byrne PM, Korn S, She D, May RD, Streicher K, Ranade K, Piper E. Efficacy and safety of tralokinumab in patients with severe uncontrolled asthma: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial. *Lancet Respir Med.* 2015;3:692–701.
- 215.**WHO.Asthma 2016. World Health Organization.Asthma 2016
- 216.**<https://www.nice.org.uk/guidance/GID-CGWAVE0640/documents/asthma-diagnosis-and-monitoring-draft-scope2>) accesat dec /10/2016
- 217.**British Thoracic Society Scottish Intercollegiate Guidelines Network. British guideline on the management of asthma A national clinical guideline. First published 2003. Revised edition published 2016.
- 218.**Dunn R.,Szeflrer SJ. Severe Asthma in Pediatric Patients. Pathophysiology and Unmet Needs. *Annals of the American Society.vol 13 Issue Supplement 1/Martie 2016.* **219.**Silkoff PE, Strambu I, Laviolette M, Singh D, FitzGerald JM et al. Asthma characteristics and biomarkers from the Airways Disease Endotyping for Personalized Therapeutics (ADEPT) longitudinal profiling study.*Respir Res.* 2015 Nov 17;16:142.
- 220.**Linn WS, Rappaport EB, Berhane KT, Bastain TM, Avol EL, Gilliland FD. Exhaled nitric oxide in a population-based study of southern California schoolchildren.*Respir Res.* 2009 Apr 21;10:28.
- 221.**Jacinto T, Malinovschi A, Janson C, Fonseca J, Alving K. Evolution of exhaled nitric oxide levels throughout development and aging of healthy humans. *J Breath Res.* 2015 May 20;9(3):036005.
- 222.**Olin AC, Rosengren A, Thelle DS, Lissner L, Bake B, Toren K. Height, age, and atopy are associated with fraction of exhaled nitric oxide in a large adult general population sample. *Chest.* 2006;130:1319–25.
- 223.**Taylor DR, Mandhane P, Greene JM, Hancox RJ, Filsell S, McLachlan CR, Williamson AJ, Cowan JO, Smith AD, Sears MR. Factors affecting exhaled nitric oxide measurements: the effect of sex. *Respir Res.* 2007 Nov 15;8:82.
- 224.**Zhang Y, Berhane K, Eckel SP, Salam MT, Linn WS, Rappaport EB, Bastain TM, Gilliland FD. Determinants of Children's Exhaled Nitric Oxide: New Insights from Quantile Regression. *PLoS One.* 2015 Jul 27;10(7). eCollection 2015.
- 225.**Schmauck-Gómez JS, Menrath I, Kaiser MM, Herz A, Kopp MV. [Children and Adolescents with Asthma Differ in Lung Function Parameters and Exhaled NO from Children and Adolescents with Obesity]. [Article in German]*Klin Padiatr.* 2016 Jul;228(4):189-94.
- 226.**den Dekker HT, Ros KP, de Jongste JC, Reiss IK, Jaddoe VW, Duijts L, Body fat mass distribution and interrupter resistance, fractional exhaled nitric oxide and asthma at school-age, *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2016 Jul 16. pii: S0091-6749(16)30625-X.
- 227.**Pisi R, Aiello M, Tzani P, Marangio E, Olivieri D, Pisi G, Chetta A. Overweight is associated with airflow obstruction and poor disease control but not with exhaled nitric oxide change in an asthmatic population.*Respiration.* 2012;84(5):416-22.
- 228.**Moore WC, Bleecker ER, Curran-Everett D, Erzurum SC, Ameredes BT, Bacharier L, Calhoun WJ, Castro M, Chung KF, Clark MP, Dweik RA et al National Heart, Lung, Blood Institute's Severe Asthma Research Program. Characterization of the severe asthma phenotype by the National Heart, Lung, and Blood Institute's Severe Asthma Research Program.*J Allergy Clin Immunol.* 2007 Feb;119(2):405-13.
- 229.**Elmasri M, Romero KM, Gilman RH et al. Longitudinal assessment of high versus low levels of fractional exhaled nitric oxide among children with asthma and atopy. *Lung.* 2014 Apr;192(2):305-12

- 230.** Yao TC, Ou LS, Lee WI, Yeh KW, Chen LC, Huang JL. Exhaled nitric oxide discriminates children with and without allergic sensitization in a population-based study. *Clin Exp Allergy*. 2011;41:556-564
- 231.** Liu XY, Wang J, Wang Q, Ren YX, Liu YG, Miao Q, Li Z, Xiang L. [Related factors for asthmatic children's responses to long-term treatment]. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2015 Jul;17(7):692-7
- 232.** Stănciulescu C., Chiru M., Oprea A., Păcurar D., Zăpucioiu C, Petrișor E., Orășeanu D. FENO și atopia în stmul bronșic la copii, *Revista Română de Pediatrie*, vol. LXIV, Nr.2, 2015
- 233.** Arroyave WD, Rabito FA, Carlson JC, Sever ML, Lefante J. Asthma severity, not asthma control, is worse in atopic compared with nonatopic adolescents with asthma *Ann Allergy Asthma Immunol* 116 (2016) 18-25
- 234.** Gomersal T, Harnan S, Essat M, Tappenden P, Wong R, Lawson R, Pavord I, Everard ML. A systematic review of fractional exhaled nitric oxide in the routine management of childhood asthma. *Pediatr Pulmonol*. 2016 Mar;51(3):316-28.