

Nitrik oksit ve üst solunum yolları: Yeni bulgular

Nitric oxide and the upper airways: recent discoveries

Dr. Çetin VURAL,¹ Dr. Anıl GÜNGÖR²

Nitrik oksit (NO) memeli dokularında L-argininden üretilir. İnsan dokularında nitrik oksit sentetaz (NOS) bu reaksiyonu katalize eder. Kardiyovasküler sistemde önemli bir sinyal molekülü olan NO damar tonusundan sorumludur. Ekspiryum havası içindeki varlığı 1991 yılında keşfedildikten sonra, NO'nun asıl üretim yerinin burun ve sinüsler olduğu gösterildi. Nitrik oksit, üst solunum yollarında siliyer hareketleri hızlandırır, antiviral ve antimikrobiyal aktivitesi ile mikroorganizmalara karşı birincil savunmayı oluşturur. Akciğerlerde ventilasyon/perfüzyon verimliliğini düzenler. Aynı zamanda bir alerji belirteci olan NO'nun burunda üretimi alerjik nezle sırasında artar, sinüzit, burun polibi ve Kartagener sendromunda azalır. Bu çalışmada üst solunum yollarında NO'nun köken, metabolizma ve fonksiyonları gözden geçirildi ve burunda ölçüm teknikleri ve sonuçları değerlendirildi.

Anahtar Sözcükler: Hava yolu direnci/fizyoloji; solunum testleri/yöntem; silia/fizyoloji; mukosiliyer klirens/fizyoloji; nazal kavite/metabolizma; nazal mukoza/metabolizma/patoloji; nitrik oksit/fizyoloji/metabolizma/analiz; paranasal sinüsler/metabolizma; solunum mukozası/enzimoloji.

Nitric oxide (NO) is produced from L-arginine in mammalian tissues. Nitric oxide synthase (NOS) catalyzes this reaction in human tissues. It has been shown that NO serves as an important signaling molecule in the cardiovascular system and is responsible for vasoregulation. In 1991, NO was discovered in exhaled air. More recently, it has been shown that the main production site of exhaled NO is the nose and sinuses. In the upper airways NO upregulates ciliary motility and provides a first-line defense mechanism against microorganisms by antiviral and antimicrobial activity. In the lungs it is involved in ventilation/perfusion matching. Nitric oxide is also a marker for inflammation, with increased nasal output in allergic rhinitis, and a decreased output in sinusitis, nasal polyps and Kartagener's syndrome. This report reviews some aspects of the origin, metabolism, and functions of NO in the upper airways, together with the techniques for, and implications of, nasal NO measurement.

Key Words: Airway resistance/physiology; breath tests/methods; cilia/physiology; mucociliary clearance/physiology; nasal cavity/metabolism; nasal mucosa/metabolism/pathology; nitric oxide/physiology/metabolism/analysis; paranasal sinuses/metabolism; respiratory mucosa/enzymology.

Furchgott ve Zawadzki^[1] 1980 yılında yayınlanan çalışmalarında tavşan aort damarlarında vazodilatasyonun endotelden serbest bırakılan bir madde tarafından kontrol edildiğini kanıtlamışlardır. Palmer

ve ark.^[2] ile Ignarro ve ark.^[3] 1987 yılında birbirlerinden bağımsız olarak yaptıkları çalışmalarda, endotelden salınan gevşetici faktör (endothelium-derived relaxing factor=EDRF) olarak bilinen maddenin

◆ ¹Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. KBB Hastalıkları Kliniği, İstanbul; ²Pittsburgh Çocuk Hastanesi Çocuk KBB Hastalıkları Bölümü, Pittsburgh, ABD.
◆ Dergiye geliş tarihi: 20 Ağustos 2002. Yayın için kabul tarihi: 29 Ekim 2002.
◆ İletişim adresi: Dr. Çetin Vural. İ. Hilmi Alantar Sok. No: 13-15, Söğüt Apt. D: 16, 80620 4. Levent, İstanbul.
Tel: 0212 - 231 22 09 / 1130 Faks: 0212 - 266 11 27
e-posta: cetinvural@hotmail.com

◆ ¹1st Department of Otolaryngology, Şişli Etfal Training Hospital, İstanbul, Turkey; ²Department of Otolaryngology, Children's Hospital of Pittsburgh, Pittsburgh, USA.
◆ Received: August 20, 2002. Accepted for publication: October 29, 2002.
◆ Correspondence: Dr. Çetin Vural. İ. Hilmi Alantar Sok. No: 13-15, Söğüt Apt. D: 16, 80620 4. Levent, İstanbul, Turkey.
Tel: +90 212 - 231 22 09 / 1130 Fax: +90 212 - 266 11 27
e-mail: cetinvural@hotmail.com

nitrik oksit (NO) olduğunu göstermişlerdir. Bu konudaki çalışmalara 1998 yılında Nobel ödülünün verilmesi, bu keşfin dünya bilim çevrelerinde en üst düzeyde kabul edilmesi anlamına gelmektedir.

NİTRİK OKSİTİN İŞLEVLERİ

Nitrik oksit, damarlarda dinlenme halindeki vazodilatör tonusun kontrolüyle arteriyel kan akımını düzenlenmesini sağlar. Penil ereksiyonda kilit molekül rolü oynar. Koagülasyon, lökosit adezyon ve aktivasyonu gibi mekanizmalarda yer alarak hemostazı kontrol eder. Sinir sisteminde çeşitli aşamalarda nörotransmitter olarak görev yapar. Solunum sisteminde bronkodilatasyon ve akciğerlerde ventilasyon/perfüzyon verimliliğini düzenler.^[4-7] Bu molekülün ayrıca, immün sistemin tümörisidal aktivitesinde ve tümör biyolojisinin anjiogenez ve metastaz oluşumu gibi diğer mekanizmalarında da rolü olduğu belirtilmiştir.^[4]

Nitrik oksitin üst solunum yollarında antiviral ve bakteriyostatik aktivitesi nedeniyle, mikroorganizmalara karşı birincil savunmayı oluşturduğu vurgulanmıştır.^[8-10] Ayrıca, bu molekül üst solunum yolları mukozasında silya aktivitesini hızlandırır.^[11,12]

ÜST SOLUNUM YOLLARI VE NİTRİK OKSİT

Gustafsson ve ark.^[13] 1991 yılında, bazı memeliler ve insanın ekspiriyum havasının içinde, önceleri atmosferi kirleten bir gaz olarak bilinen NO'nun ortam havasına kıyasla daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunu keşfetmişler ve bu konudaki çalışmalara farklı bir boyut kazandırmışlardır. Daha sonraları, burun ve sinüs içindeki NO konsantrasyonlarının ekspiriyum havasından çok daha yüksek olduğunun anlaşılması ile, NO'nun asıl üreticisi olarak üst solunum yolları mukozası öne çıkmıştır.^[5,14] Kimi araştırmacılar üst solunum yollarındaki NO'nun asıl üretim yerinin paranasal sinüsler olduğunu savunmaktadır.^[5,14,15] Buna karşın Haight ve ark.^[16] kendilerini denek olarak kullandıkları çalışmada, bütün sinüs ostiumları tıkanığında burun NO üretiminin (V_{NO}) %12 oranında düştüğünü gözlemişler ve burundaki yüksek NO konsantrasyonunun %88 oranında burun mukozasındaki üretimden kaynaklandığını öne sürmüşlerdir. Sinüs ostiumlarının burun içinde derin yerleşimli ve oldukça dar açıklıklar olduğu göz önünde bulundurulduğunda, sinüs içinde üretilen NO'nun burun içine yüksek bir debiyle ulaşamayacağı öngörülebilir. Paranasal sinüslerin gelişmeye başlamadığı yenidoğan döneminde burundan yapılan ölçümlerde NO konsantrasyonunun yüksek bulunması, nazal NO'nun büyük kısmının burunda üretildiği görüşünü desteklemektedir.^[17]

Solunum havasına karışan burun-sinüs kaynaklı NO'nun ventilasyon/perfüzyon verimliliğini artırarak pulmoner fonksiyonları düzenlediğini belirttik. Bu mekanizmanın etkisiyle, astımlı hastalarda polipektomi ve sinüs cerrahisi gibi tedavilerin akciğer fonksiyonlarında düzelmeye yol açtığı; bunun da cerrahi girişimler sonrası artan nazal NO üretiminin olası bir sonucu olduğu belirtilmiştir.^[??] Öte yandan, aynı mekanizmayla, ventilatöre bağlı hastalarda oksijen satürasyonunu artırmak için burun havasının trakeal tüp içine verilmesinin olumlu sonuçları bildirilmiştir.^[4]

Burun döngüsünde (nazal siklus) açık olan tarafta solunum işlemiyle birlikte mukus tabakaya mikroorganizmalar ve partiküller yapışır. Burun döngüsü nedeniyle veya yutma, konuşma ve ağız solunumu gibi nedenlerle burun solunumunun durduğu dönemlerde, burun boşluğu içindeki NO konsantrasyonu yükselir. Bu durumda mukus tabakaya yapışan bakteri ve virüslerin üremesi yavaşlarken, mikroorganizmaları ve partikülleri mukozadan uzaklaştıracak silya aktivitesi hızlanır.^[4]

Sinüs içinde çok yüksek konsantrasyonlarda bulunan NO'nun, steril bir sinüs ortamının oluşmasına katkıda bulunması olasıdır. Sinüslerin buruna geniş açıklıklarla ağzılaştırılması sinüs içinde NO konsantrasyonunu düşürecek ve enfeksiyonlara karşı koruyuculuğunu azaltabilecektir. Bu, sinüs cerrahisindeki bazı başarısız sonuçları açıklayıcı bir faktör olabilir.^[4]

Nitrik oksit, memelilerin hücrelerinde yarı-esansiyel bir amino asit olan L-argininin terminal guanidin azotundan üretilir.^[18] Bu işlem için moleküler oksijen, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat ve tetrahidrobiopterin gibi bazı ko-faktörlerin varlığı gerekir. L-arginin, nitrik oksit sentaz (NOS) adı verilen bir grup enzim tarafından L-sitruiline çevrilirken NO açığa çıkar (Şekil 1). Bu işlemi gerçekleştiren enzim

NİTRİK OKSİTİN BİYOKİMYASI

L-arjinin $\xrightarrow[\text{O}_2+\text{Kofaktörler}]{\text{NOS}}$ L-sitruilin+H₂O+NO

Şekil 1 - Nitrik oksit sentezi.

min esas, yapısal NOS (constitutive NOS, cNOS) ve uyarılabilir NOS (inducible NOS, iNOS) olmak üzere başlıca iki formu vardır. Yapısal NOS bulunduğu yere göre nöronal NOS (nNOS) ve endotelial NOS (eNOS) olarak iki farklı biçimde adlandırılabilir. Göreli olarak az miktarda NO üreten cNOS aktivasyonu için kalsiyum ve kalmoduline gerek varken, iNOS kalsiyum ve kalmodulinden bağımsız olarak sitokinler ve bakteriyel endotoksinler tarafından aktive olur ve cNOS'a kıyasla 1000 kat daha fazla NO üretir. Uyarılabilir NOS bir kez uyarıldı-ğında NO üretimi saatlerce sürer. Kalmodulin, silya hareketleriyle ilişkili olduğu düşünülen ve üst solunum yolları mukozasında silya etrafında saptanan bir kimyasal maddedir. NG-nitro-L-arginin metil ester ve N-monometil-L-arginin adlı arginin türevleri NOS'un iki türünün de kompetitif inhibitörüdür.^[4,19]

Lundberg ve ark.^[20] sinüs içinde baskın olan NOS aktivitesinin iNOS (tip 2 NOS) şeklinde olduğunu, buna karşın burun içerisinde baskın olan aktivitenin sinüslere kıyasla oldukça zayıf ve cNOS (tip 3 NOS) olduğunu öne sürmüşlerdir. Yazarlar ayrıca, sinüs mukozasındaki iNOS aktivitesinin kortikosteroidlerle baskılanmamasının onu diğer dokulardaki iNOS aktivitesinden ayırt eden önemli bir özellik olduğunu vurgulamışlardır. Ancak, daha sonra yapılan başka araştırmalarda alerjik rinit, viral rinit ve kronik sinüzitli hastaların burun biyopsi ve mukozal sürüntülerinde iNOS aktivitesi saptanmıştır.^[21,22] Sanders ve ark.^[10] normal kişilerin burun sürüntülerindeki epitelyal hücrelerde iNOS bulunduğunu göstermişlerdir. Bu durum iNOS'un burunda uyarılmaksızın sürekli etkin olduğunu düşündürmektedir.

ALERJİ VE YANGI BELİRTECİ OLARAK NİTRİK OKSİT

Üst solunum yollarında bir yangı (enflamasyon) belirteci (marker) olarak öne çıkan NO, alerjik nezle ve astım gibi atopik zeminde gelişen hastalıklarda ekspiriyum havasında normal kişilere göre yüksek düzeyde bulunmaktadır.^[23-27] Alerjik kişilerin ekspiriyum havasındaki yüksek NO konsantrasyonlarının ağızdan ve inhalasyon yoluyla alınan kortikosteroidlerle düştüğü de bilinmektedir.^[25,27] Ekspiriyum havasındaki NO'nun kronik öksürük, sinüzit, Kartagener sendromu, insan bağışıklık yetmezlik virüsü enfeksiyonu gibidurumlarda düşük bulunduğu kaydedilmiştir.^[4,28]

Astmatik ve alerjik nezleli kişilerde burun içinden yapılan ölçümlerinde, alerjisi olmayan kişilere oranla yüksek NO değerleri saptanmaktadır.^[8,9,24,29,30] İlk çalışmaların birinde, sistemik steroid kullanan hastaların burun NO ölçüm sonuçlarının kontrol grubundaki deneklerden farklı olmadığı belirtilmiştir.^[20] Daha sonra yapılan çalışmalar ise alerjik kişilerdeki yüksek nazal NO değerlerinin steroid tedavisiyle düştüğünü göstermiştir.^[29-32] Bu çalışmaların sonuçları, ekspiriyum havasında ve burunda NO ölçümünün alerjik hastalıkların tanısı ve tedaviye yanıtın izlenmesi açısından yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

BURUN NİTRİK OKSİT ÖLÇÜMÜNÜ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Burun nitrik oksit ölçüm sonuçlarının ortam havasındaki NO, vücut pozisyonu, yaş, cinsiyet, vücut yüzey alanı, egzersiz ve burun hacminden etkilenebileceği belirtilmiştir.^[33] Topikal dekonjestanların burun NO üretimini %15 azalttığı, antibiyotiklerin ise sinüzitli hastalarda üretimi artırdığı bildirilmiştir.^[34,35] Nitrik oksit sentetaz inhibitörü olan NG-nitro-L-arginin metil esterinin ve NO'nun hammaddesi olan L-argininin etkileri üzerine çalışmalarda çelişik sonuçlar elde edilmiştir.^[33]

Yaptığımız bir çalışmada, alerjik bir bireyde 5.5 ay sürdürülen günlük burun NO ölçümleri sonucunda NO değerleriyle atmosferik nem, basınç, polen konsantrasyonu arasında bir ilişki bulunmadı.^[29] Nitrik oksit üretimi hastanın alerjik semptom skorlarından da bağımsız idi. Çalışma süresi içinde denegün geçirdiği viral nezlenin prodromunda NO üretimi çok arttı (çalışma boyunca ölçülen en yüksek değer= 1537.5 nanolitre/dk). Üst solunum yolu enfeksiyonu semptomlarının belirgin olduğu dönemde, NO üretimi en düşük değerlere (408 nanolitre/dk) indi. Üç hafta kadar sonra geçirilen pürülan rinit sırasında, aynı şiddette olmasa da burun NO üretiminde düşme görüldü. Enfeksiyon dönemleri dışında yaklaşık 1000 nanolitre/dk düzeyinde seyreden üretim, ilkbaharda polen mevsiminde hastanın alerjik semptom skorlarının artmasından etkilenmedi. Ancak, daha sonra steroidli burun spreyleri kullanmaya başlayan denekte, burun NO üretimi %20.4 oranında azalarak 800 nanolitre/dk düzeyine düştü.

BURUNDA NİTRİK OKSİT ÖLÇÜMÜ

Nitrik oksitin gaz ortamdaki konsantrasyonu, "kemoluminesans" adı verilen bir yöntem kullanan "analizör"lerle ölçülmektedir. Bu yöntemde gaz ör-

nek sabit bir akımda (0.2-0.7 lt/dk) cihaz içindeki reaksiyon odasına alınarak ozon gazı ile reaksiyona sokulur. Oluşan ışık ışımının şiddeti ölçülerek gaz örneğin içindeki NO oranı saptanır. Bu oran genellikle, milyarda bir (part per billion= ppb) olarak ifade edilir.

Burundan NO ölçümü yapılırken kullanılan standart yöntemde, ölçüm yapılacak kişi derin bir nefes alıp tutmakta ve kapanan yumuşak damak burun-nazofarenks ile alt solunum yollarını birbirinden ayırmaktadır.^[4] Sistemin burna uygulanmak için tasarlanmış ucu, sağ veya sol burun deliğine, çevresinden hava geçirmeyecek şekilde hafifçe bastırarak uygulanır. Sistemin vakum pompası sabit akımda (çalışmalarımızda 5 lt/dk) kullanıldı.^[29,36] Hava diğer burun deliğinden girerek nazofarenksten döner ve sistemin ucunun uygulandığı burnu arkadan öne doğru kat ederek sistemin borularının içine girer. Böylece, burun boşlukları birbirine seri olarak bağlanmakta ve iki burun boşluğunu dolaşan transnazal akım, her iki burun boşluğundan NO moleküllerini toplayabilmektedir. Burun boşluklarında ileri derecede septum deviasyonu, tıkaçıcı adenoid veya koanal atrezi gibi nedenlerle tıkanıklık olması durumunda bu yöntemle ölçüm olanaksızlaşacaktır. Ölçüm cihazının kendi vakum pompası, sistemin borularına dik bir şekilde bağlanan bir boru ile, sistemin akımından çok daha düşük bir akımda (çalışmalarımızda kullanılan cihazın akım hızı 0.2 lt/dk idi)^[29,36] hava örneğini sistemden çekerek, cihazın reaksiyon odasına alır (Şekil 2). Özel bir yazılım ile elektronik veriler zamana karşı NO konsantrasyon grafiğine dönüştürülür ve ölçüm sonucu bir bilgisayar ekranından izlenir.

Cihaz, ölçülen örnekteki NO konsantrasyonunu ppb cinsinden vermektedir. Burun NO ölçümünün hemen öncesinde veya sonrasında, ortam havasındaki NO konsantrasyonu da kaydedilir. Burnun net NO üretimini hesaplamak için, burundan ölçülen değerden bu değer çıkartılır. Bulunan değer, burna uygulanan vakumun akım hızı ile çarpılır ve nanolitre cinsinden dakikadaki net NO üretimi elde edilir.^[33]

$$\begin{array}{l} \text{Burun NO} \\ \text{üretimi (V}_{\text{NO}}) \\ \text{(nanolitre/dakika)} \end{array} = \begin{array}{l} \text{NO konsantrasyonu} \\ \text{([NO])} \\ \text{(nanolitre/litre)} \end{array} \times \begin{array}{l} \text{akım hızı} \\ \text{(litre/dakika)} \end{array}$$

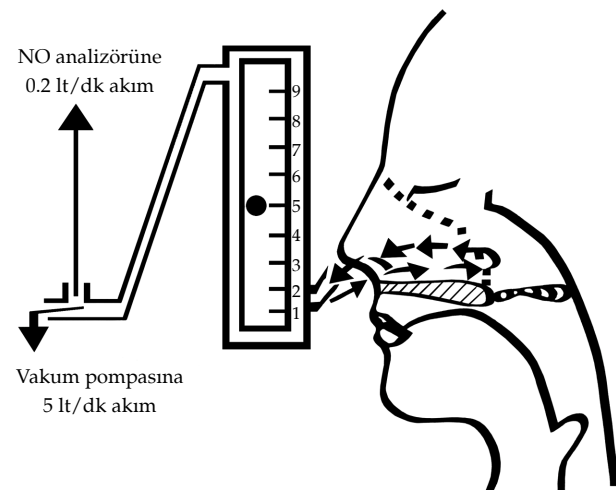
Amerika Birleşik Devletleri'nin Pittsburgh şehrinde, Pittsburgh Çocuk Hastanesi'nde NO ölçüm cihazının bulunduğu laboratuvarında altı ay boyunca yaptığımız ölçümlerde, ortam havasında NO konsantrasyo-

nunu 1.5-210.8 ppb arasında bulduk.^[29] Bu, "Allegheny İlçesi Sağlık Dairesi Temiz Hava Programı" tarafından Pittsburgh şehir merkezinde yapılan atmosferik NO ölçüm sonuçlarıyla büyük ölçüde uyumlu idi.

Burun mukozasında üretilen tüm NO'nun sistem içine alınabilmesi için burundan geçen akımın "laminar" olmaması gerekmektedir. Burnun girintili kısımlarında üretilen NO moleküllerinin ölçüme katılabilmesi, ancak böyle olanaklı olabilmektedir.^[8] Bunu başarmak için burun ucuna uygulanan vakumun erişkinlerde 3.2-5.2 lt/dk, çocuklarda 2.2-3.3 lt/dk'lik bir "transnazal" akımı gerektirdiği belirtilmiştir.^[37] Bu da yaklaşık olarak, burun solunumu sırasındaki fizyolojik akıma karşılık gelmektedir.^[4]

Yukarıda tanımlanan, burun boşluklarının seri halde ölçüldüğü yöntem dışında, paralel bir düzencek ile de NO üretimi ölçülebilir. Bu yöntemde, damak açıkken glottis kapatılır ve düzeneğin ucu ağza alınır veya ağız ve damak açık, glottis kapalıyken sistemin çatal şeklindeki iki ucu her iki burun deliğine uygulanır. Ayrıca, her iki burun boşluğundan birbirinden bağımsız olarak NO üretimini ölçmek için bir yöntem de tanımlanmıştır.^[38]

Ölçüm yapılacak olan ortamdaki gaz örneğinin vakumla çekilerek reaksiyon odasına alınmasına doğrudan (on-line); örneğin bir 'rezervuar' içine alınarak, hemen veya bir süre geçtikten sonra cihaza bağlanarak ölçülmesine dolaylı (off-line) yöntem denmektedir. Nazal NO ölçümünde doğrudan ve dolaylı ölçüm sonuçlarını kıyaslayan çalışmamızda, özel enjektöre alınarak hemen, bir, iki ve dört saat



Şekil 2 - Burundan doğrudan NO ölçümü yapmak için kullanılan sistemin şematik gösterimi.

sonra yapılan dolaylı ölçüm sonuçları, ölçüm için kurulan sistemi burna uygulayarak yapılan doğrudan ölçüm sonuçlarıyla uyumlu bulundu.^[36] Bu çalışma ile, dolaylı NO ölçüm yönteminin klinik ve deneysel amaçla doğrudan tekniğin yerine kullanılabilirliği gösterildi. Böylece, burundan NO ölçümü yapılacak olan hastanın mutlaka ölçüm cihazının yanında bulunması zorunluluğu ortadan kalktı.

Burun, sinüslerle birlikte solunum havasını nemlendirmek; vücut için uygun sıcaklığa getirmek; toz ve partiküllerden arındırmak ve koku almak gibi bilinen görevlerinin yanında olasıdır ki, akciğerlerde alveol içindeki fizyolojik olayları düzenlemekle görevli bir molekül olan NO'nun da asıl üretildiği yerdir. Burun ve sinüslerdeki steril ortamın devamı, silya hareketlerinin düzenlenmesi ve alveolde oksijen emiliminin artırılması işlevlerini üstlenen bu gaz, aynı zamanda bir yangı belirteci olarak öne çıkmıştır. Gelecekte küçülen, ucuzlayan ve yaygınlaşan ölçüm cihazları ile laboratuvarlar dışında, klinik ortamda da yapılacak NO ölçümlerinin alerji ve yangısal hastalıkların tanısında ve tedaviye yanıtın izleminde kullanılabilirliğini düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

- Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-6.
- Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-6.
- Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:9265-9.
- Djupesland PG, Chatkin JM, Qian W, Haight JS. Nitric oxide in the nasal airway: a new dimension in otorhinolaryngology. *Am J Otolaryngol* 2001;22:19-32.
- Lundberg JO. Airborne nitric oxide: inflammatory marker and aerocrine messenger in man. *Acta Physiol Scand Suppl* 1996;633:1-27.
- Barnes PJ, Belvisi MG. Nitric oxide and lung disease. *Thorax* 1993;48:1034-43.
- Lundberg JO, Settergren G, Gelinder S, Lundberg JM, Alving K, Weitzberg E. Inhalation of nasally derived nitric oxide modulates pulmonary function in humans. *Acta Physiol Scand* 1996;158:343-7.
- Djupesland PG, Chatkin JM, Qian W, Cole P, Zamel N, McClean P, et al. Aerodynamic influences on nasal nitric oxide output measurements. *Acta Otolaryngol* 1999;119:479-85.
- Arnal JF, Flores P, Rami J, Murriss-Espin M, Bremont F, Pasto I, et al. Nasal nitric oxide concentration in paranasal sinus inflammatory diseases. *Eur Respir J* 1999;13:307-12.
- Sanders SP, Siekierski ES, Richards SM, Porter JD, Imani F, Proud D. Rhinovirus infection induces expression of type 2 nitric oxide synthase in human respiratory epithelial cells in vitro and in vivo. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:235-43.
- Jain B, Rubinstein I, Robbins RA, Leise KL, Sisson JH. Modulation of airway epithelial cell ciliary beat frequency by nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;191:83-8.
- Kim JW, Min YG, Rhee CS, Lee CH, Koh YY, Rhyoo C, et al. Regulation of mucociliary motility by nitric oxide and expression of nitric oxide synthase in the human sinus epithelial cells. *Laryngoscope* 2001;111:246-50.
- Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;181:852-7.
- Lundberg JO, Farkas-Szallasi T, Weitzberg E, Rinder J, Lidholm J, Anggaard A, et al. High nitric oxide production in human paranasal sinuses. *Nat Med* 1995;1:370-3.
- Lundberg JO, Rinder J, Weitzberg E, Lundberg JM, Alving K. Nasally exhaled nitric oxide in humans originates mainly in the paranasal sinuses. *Acta Physiol Scand* 1994;152:431-2.
- Haight JS, Djupesland PG, Qian W, Chatkin JM, Furlott H, Irish J, et al. Does nasal nitric oxide come from the sinuses? *J Otolaryngol* 1999;28:197-204.
- Schedin U, Norman M, Gustafsson LE, Herin P, Frostell C. Endogenous nitric oxide in the upper airways of healthy newborn infants. *Pediatr Res* 1996;40:148-51.
- Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329:2002-12.
- Singh S, Evans TW. Nitric oxide, the biological mediator of the decade: fact or fiction? *Eur Respir J* 1997;10:699-707.
- Lundberg JO, Weitzberg E, Rinder J, Rudehill A, Jansson O, Wiklund NP, et al. Calcium-independent and steroid-resistant nitric oxide synthase activity in human paranasal sinus mucosa. *Eur Respir J* 1996;9:1344-7.
- Furukawa K, Harrison DG, Saleh D, Shennib H, Chagnon FP, Giaid A. Expression of nitric oxide synthase in the human nasal mucosa. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:847-50.
- Kang BH, Chen SS, Jou LS, Weng PK, Wang HW. Immunolocalization of inducible nitric oxide synthase and 3-nitrotyrosine in the nasal mucosa of patients with rhinitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2000;257:242-6.
- Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J* 1993;6:1368-70.
- Martin U, Bryden K, Devoy M, Howarth P. Increased levels of exhaled nitric oxide during nasal and oral breathing in subjects with seasonal rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:768-72.
- Baraldi E, Azzolin NM, Zanconato S, Dario C, Zacchello F. Corticosteroids decrease exhaled nitric oxide in children with acute asthma. *J Pediatr* 1997;131:381-5.
- Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan-Sinclair R,

- Shinebourne EA, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994;343:133-5.
27. Lundberg JO, Nordvall SL, Weitzberg E, Kollberg H, Alving K. Exhaled nitric oxide in paediatric asthma and cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1996;75:323-6.
28. Silkoff PE, Robbins RA, Gaston B, Lundberg JO, Townley RG. Endogenous nitric oxide in allergic airway disease. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:438-48.
29. Vural Ç, Güngör A. Variations of nasal nitric oxide in a subject with allergic rhinitis: a longitudinal study. *Am J Otolaryngol* 2002;23:191-5.
30. Baraldi E, Azzolin NM, Carra S, Dario C, Marchesini L, Zacchello F. Effect of topical steroids on nasal nitric oxide production in children with perennial allergic rhinitis: a pilot study. *Respir Med* 1998;92:558-61.
31. Dillon WC, Hampl V, Shultz PJ, Rubins JB, Archer SL. Origins of breath nitric oxide in humans. *Chest* 1996; 110:930-8.
32. Kharitonov SA, Rajakulasingam K, O'Connor B, Durham SR, Barnes PJ. Nasal nitric oxide is increased in patients with asthma and allergic rhinitis and may be modulated by nasal glucocorticoids. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:58-64.
33. Recommendations for standardized procedures for the on-line and off-line measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children-1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:2104-17.
34. Chatkin JM, Djupesland PG, Qian W, McClean P, Furlott H, Gutierrez C, et al. Nasal nitric oxide is independent of nasal cavity volume. *Am J Rhinol* 1999;13: 179-84.
35. Baraldi E, Azzolin NM, Biban P, Zacchello F. Effect of antibiotic therapy on nasal nitric oxide concentration in children with acute sinusitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1680-3.
36. Güngör A, Vural Ç. A method for off-line nasal nitric oxide measurement. *Ear Nose Throat J* 2002;81:449-53.
37. Qian W, Djupesland PG, Chatkin JM, McClean P, Furlott H, Chapnik JS, et al. Aspiration flow optimized for nasal nitric oxide measurement. *Rhinology* 1999; 37:61-5.
38. Qian W, Chatkin JM, Djupesland PG, McClean P, Zamel N, Irish JC, et al. Unilateral nasal nitric oxide measurement after nasal surgery. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2000;109(10 pt 1):952-7.