



REVUE GENERALE

La valeur du NO expiré dans la broncho-pneumopathie chronique obstructive: « résultats et discussion »

Value of exhaled NO in COPD: « results and discussion »

T. Vo Pham Minh¹, S. Duong-Quy², T. Ta Ba³, N. Nguyen Viet⁴

¹: Université Médico-Pharmaceutique de Can Tho ; ²: Université Paris Descartes et Hôpital Cochin, Paris
³: Institut de Médecine Militaire. Hanoi ; ⁴: Hôpital National de Pneumologie. Hanoi - Viet Nam

SUMMARY

In COPD, the role of FENO is not conclusive. Some studies have described the presence of high levels of FENO in patients with COPD compared with controls. The value of FENO in patients with stable COPD was lower or higher than low normal value compared to normal subjects.

The measurement of exhaled NO may help the differential diagnosis between asthma and COPD, with a higher concentration of FENO in asthmatic patients. Previous studies have shown that COPD patients with allergic type inflammation or positive reversibility test express a higher value of FENO. These patients may respond to treatment with inhaled corticosteroids (ICS). The level of FENO may help identify those patients who have treatment response. The FENO has been considered to be related to the stability or exacerbation of COPD. The FENO is increased during exacerbation and decreased after treatment with ICS. Other studies on FENO in COPD found no increase of FENO compared to controls. There was also a positive and negative correlation between FENO and FEV₁ in COPD, this may reflect the dual role of NO as a molecule pro-inflammatory and bronchodilator. FENO was recorded as high during exacerbation of COPD. This change is partly explained by the heterogeneity of the disease with many factors that affect FENO.

The FENO is varied with a tendency to increase in COPD and higher during exacerbations. But it is difficult to determine whether FENO predicts the efficacy of longterm treatment with inhaled corticosteroid.

KEYWORDS: COPD, FENO, exhaled NO, exacerbation, inhaled corticosteroids, FEV₁

RESUME

Dans la BPCO, le rôle de FENO n'est pas conclusif. Certaines études ont décrit la présence d'un niveau élevé de FENO chez les patients de la BPCO en comparaison aux témoins. La valeur de la FENO chez les patients de BPCO stable était dans les limites inférieures ou élevée par rapport aux sujets normaux.

La mesure du NO expiré peut aider le diagnostic différentiel entre l'asthme et BPCO, grâce à une concentration plus élevée de FENO chez les asthmatiques. Les études précédentes ont montré que les patients atteints de BPCO ayant une inflammation de type allergique ou une réversibilité positive expriment une valeur de FENO plus élevée. Ces patients peuvent répondre au traitement par corticostéroïdes inhalés (CSI). Le niveau de la FENO peut aider à identifier ces patients qui ont la réponse au traitement. **La FENO a été considérée d'être liée à la stabilité ou de décompensation de la BPCO. La FENO a été augmentée au cours des exacerbations et diminuée après le traitement par CSI. D'autres études sur la FENO dans la BPCO n'ont pas trouvé une augmentation par rapport aux témoins. On a aussi noté une corrélation positive et négative entre la FENO et VEMS dans la BPCO, cela peut-être refléter le double rôle du NO en tant qu'une molécule pro-inflammatoire et bronchodilatatrice. FENO a été enregistrée comme élevée au cours de l'exacerbation de la BPCO. Ce changement s'explique en partie par l'hétérogénéité de la maladie avec de nombreux facteurs affectant la FENO.**

La FENO se varie avec une tendance à augmenter dans la BPCO et est plus élevée pendant des exacerbations. Mais il est difficile à déterminer s'il la FENO permet de prédire l'efficacité du traitement prolongé avec le corticostéroïde inhalé.

MOTS CLES: BPCO, FENO, NO expiré, exacerbation, corticostéroïdes inhalés, VEMS

Auteur correspondant: Dr Thu VO PHAM MINH. Université Médico-Pharmaceutique de Can Tho, Viet Nam
E-mail: vphminhthu76@yahoo.com

INTRODUCTION

La bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) est un fardeau sanitaire au niveau mondial. Cette maladie est devenue l'une des quatre premières causes de mortalité et sera la troisième en 2020, juste après les maladies cardio-vasculaires [1].

La BPCO induit la sécrétion accrue de mucus et l'obstruction des petites voies aériennes et, en raison de l'inflammation et de la fibrose, le remodelage des tissus pulmonaires [2]. Il s'agit d'une maladie inflammatoire systémique, entraînant la dégradation de la fonction respiratoire et d'autres manifestations systémiques [3].

Bien qu'il existe de nombreux différents facteurs impliqués dans la pathogenèse de la BPCO, le diagnostic est principalement basé sur la détection de l'obstruction des voies aériennes mesurée lors de **l'évaluation des fonctions respiratoires. Les critères diagnostiques sont largement utilisés à partir des recommandations de GOLD pour identifier les troubles des voies respiratoires obstructives par le rapport de VEMS (le volume d'air expiré dans la première seconde) / CVF (capacité ventilatoire forcée) < 0,7 après un test de réversibilité bronchique.**

La gravité de la maladie est basée sur des valeurs de VEMS par rapport à valeur prédictive. Mais la mesure du VEMS seul ne reflète pas les manifestations systémiques de la BPCO, et ne renseigne donc pas complètement sur la gravité de la maladie.

Les outils d'évaluation globales, telles que l'indice BODE (associant des paramètres tels que l'indice de masse corporelle, le degré d'obstruction, l'échelle de dyspnée, et la capacité d'exercice par le test de marche de 6 minutes) peuvent être efficaces pour apprécier le pronostic de la BPCO [3].

MESURE DE LA CONCENTRATION DU MONOXIDE D'AZOTE (NO) EXPIRE DANS LA BPCO

Rationalité de l'utilisation des biomarqueurs non invasives dans la BPCO

Les biomarqueurs peuvent conforter le diagnostic, la **classification des formes cliniques, l'évaluation de la réponse au traitement et le pronostic de chaque patient.**

Un biomarqueur est également un outil de recherche qui sert à l'identification des nouvelles réactions biochimiques survenant dans la pathogenèse de BPCO. Toutefois, la mesure des biomarqueurs dans

la BPCO est difficile.

Des biomarqueurs présents dans le sérum et l'urine ne peuvent pas refléter les problèmes pulmonaires et **l'échantillonnage au niveau des poumons est difficile à obtenir.**

Les méthodes traditionnelles sont le lavage broncho-alvéolaire, la biopsie bronchique et l'analyse des expectorations. La plupart de ces tests sont coûteux et parfois invasifs pour les patients.

L'analyse des expectorations nécessite plusieurs étapes pour éliminer le mucus et autres débris, qui affectent la détection de composés intermédiaires sensibles à la décomposition. Au contraire, **l'analyse de l'air expiré semble plus fiable, non invasive, et moins coûteuse [4].**

La mise en œuvre d'études cliniques sur la BPCO se heurte à l'utilisation de résultats ayant une valeur pronostique tels que la fréquence d'exacerbations ou la chute du VEMS qui varient peu au fil du temps.

Les études cliniques doivent être effectuées sur un grand nombre de patients et demande plusieurs années pour détecter la différence entre le groupe témoin et le groupe traité. Pour ces raisons, l'identification de biomarqueurs utilisés comme résultat représentatif est considérée comme une question de recherche prioritaire [5].

Bien que le diagnostic de la BPCO soit généralement **facile à poser, la distinction entre la BPCO et d'autres maladies respiratoires obstructives, particulièrement avec l'asthme est souvent plus difficile.**

La présence d'une obstruction irréversible est importante dans la définition de la BPCO mais certaines BPCO présentent une réversibilité après inhalation de bronchodilatateur et le taux de récupération peut varier de manière considérable entre les évaluations [6].

En outre, les asthmatiques sévères peuvent également développer une limitation non réversible de **VEMS. Pour ces raisons, le test de réversibilité n'est pas systématiquement fiable pour distinguer l'asthme de la BPCO, et il n'existe aucune méthode diagnostique qui permet de distinguer l'asthme et BPCO chez tous les patients.**

Les nouvelles méthodes de diagnostic utilisant des biomarqueurs de l'inflammation permettent de distinguer ces deux maladies en détectant la différence du processus inflammatoire évoluant dans l'asthme et dans la BPCO [7].

Les biomarqueurs de l'inflammation respiratoire dans l'air expiré peuvent permettre de porter un diagnostic précoce de BPCO, avant même l'apparition des symptômes ou des changements en spirométrie. **Ils permettent aussi d'identifier les fumeurs à risque de développer cette maladie.** Ce sera un progrès significatif car la plupart des patients atteints de BPCO sont diagnostiqués aux stades tardifs de la maladie, et que les traitements disponibles et les méthodes de prévention sont encore limités.

Les biomarqueurs permettent également d'identifier les différents types de BPCO, en particulier chez les patients qui répondent à des traitements tels que les corticostéroïdes inhalés et l'oxygénothérapie de longue durée [8].

L'identification de nouveaux biomarqueurs dans l'air expiré permet de comprendre les réponses inflammatoires dans la pathogenèse de la BPCO et de reconnaître des cibles potentielles pour les nouveaux traitements [9]. La détermination de biomarqueurs dans l'air expiré dans les maladies respiratoires est liée à deux approches : la mesure de la concentration du NO dans l'air expiré (FENO) et la détection des biomarqueurs solubles dans le condensat d'air expiré (EBC). L'analyse de FENO a été mieux étudiée, mieux standardisée et est actuellement utilisée en clinique pour diagnostiquer et gérer la BPCO.

Valeur de la FENO en phase stable de BPCO

Dans la BPCO, le rôle de la FENO n'est pas conclusif. Certaines études ont décrit la présence d'un niveau élevé de FENO chez les patients atteints de BPCO. La valeur de la FENO chez les patients atteints de BPCO stable était dans les limites inférieures [10] ou élevées [11-14] par rapport aux sujets normaux. **Certaines études n'ont montré aucune différence** entre ces deux groupes [15,16]. Ces résultats contradictoires peuvent être dus à plusieurs facteurs [4]:

- L'augmentation de la FENO dans la BPCO est modérée.
- Les études de la FENO dans la BPCO incluent souvent sur un nombre limité de patients, en utilisant différentes méthodes de mesure.
- Certaines études ont inclus les fumeurs qui ont un niveau de la FENO plus bas que les non-fumeurs, peut-être à cause de réactions entre le NO bronchique et les molécules contenues dans la fumée de cigarette ou par effet inhibiteur de la biosynthèse du NO [17].

Cependant, il s'agit encore d'utilisation potentielle

de mesure du NO dans la gestion de BPCO. La mesure du NO expiré peut aider au diagnostic différentiel entre l'asthme et BPCO, grâce à une concentration plus élevée de FENO chez les asthmatiques. Les études ont montré que les patients de BPCO souffrant d'une inflammation de type allergique ou avec une bonne réversibilité expriment une valeur de FENO plus élevée [18, 19]. Ces patients peuvent répondre au traitement par CSI. Le niveau de la FENO peut aider à identifier ces patients répondeurs au traitement.

Les patients BPCO atteints d'hypertension artérielle pulmonaire et d'une pneumo-cardiopathie chronique peuvent avoir une valeur faible de la FENO, probablement par réduction de la biosynthèse du NO des cellules endothéliales [20]. La FENO peut aider à identifier les patients qui pourraient bénéficier d'une oxygénothérapie prolongée [8]. Pour répondre à ces questions, il faut des études avec un nombre plus important de non-fumeurs BPCO.

La FENO est corrélée à la stabilité ou la décompensation dans la BPCO. La FENO augmente au cours des exacerbations et diminue après le traitement avec CSI [21]. D'autres études sur la FENO dans la BPCO **n'ont pas trouvé une augmentation par rapport aux témoins [10].** On a aussi noté une corrélation positive **[22] et négative [10] entre la FENO et le VEMS** dans la BPCO. Cela peut refléter le double rôle du NO qui agit comme molécule pro-inflammatoire et broncho-dilatatrice.

De même, des études précédentes ont essayé de trouver une corrélation entre la FENO et la gravité des BPCO, mais elles apportent des résultats contradictoires [10], [11], [23]. **La méthode d'analyse et du débit expiré dans la mesure de la FENO a été récemment standardisée [37].** Les techniques de mesure interventionnelles montrent que le NO expiré a pour origine principale les grandes voies aériennes. La mesure de la FENO à différents débits peut aider à distinguer le NO provenant des voies de conductance et le NO provenant des alvéoles et des petites voies aériennes [24, 25].

L'augmentation du NO périphérique est liée à la sévérité de la BPCO et il n'est pas sensible au tabagisme: il peut donc être un biomarqueur non invasif pour mesurer le degré du processus inflammatoire dans la BPCO [25]. Toutefois, le NO périphérique n'est pas sensible à la corticothérapie. Il n'est donc pas utile pour prédire une réponse aux traitements par les CSI [24, 26].

Lorsqu'on évalue la réponse au traitement corticostéroïde chez les patients BPCO par le taux d'éosinophiles présents dans les expectorations, certaines études

ont rapporté des résultats similaires à ceux des **marqueurs inflammatoires tels que la FENO**. L'étude de Ferreira et col. [27] était la première à rapporter une diminution significative de la FENO chez les patients BPCO tabagiques après 2 semaines de **traitement par CSI**. **Aucune corrélation n'a été trouvée** entre les variations de la FENO et du VEMS.

Zietkowski et col. [12] ont trouvé une diminution significative de la FENO après 2 mois de traitement par CSI par rapport aux valeurs de la FeNO avant **traitement**. **La diminution de la FENO et l'augmentation du VEMS étaient significatives**.

Kunisaki et col. [28] ont trouvé une augmentation significative de la FENO en phase aiguë chez les fumeurs atteints de BPCO sévère avec une **amélioration du VEMS \geq 200 ml pendant 4 semaines de traitement** par les CSI.

Une étude sur le NO bronchique et alvéolaire chez les 40 patients BPCO a montré une valeur élevée de base du NO bronchique liée à l'amélioration de l'obstruction des voies aériennes et des symptômes, montrant une réponse au traitement par CSI pendant **4 semaines**. **Ce traitement réduit la concentration du NO bronchique, mais n'induit aucune réduction de la concentration de NO alvéolaire (CANO)** [26]. En **raison de la complexité de la BPCO, l'état clinique des patients ne peut pas être complètement reflété par le VEMS, c'est important que les études cliniques prennent en compte l'effet du traitement corticoïde sur les symptômes cliniques et la capacité d'effort**.

La valeur de la FENO dans l'exacerbation de la BPCO

La FENO a été enregistrée comme élevée au cours de **l'exacerbation de BPCO** [29]. **Ce changement s'explique** en partie par l'hétérogénéité de la maladie avec de nombreux facteurs affectant la FENO. Dans les alvéoles, le NO diffuse rapidement à travers la membrane alvéolo-capillaire pour passer dans la circulation en se liant à l'hémoglobine (100 fois plus rapide que le monoxyde de carbone: CO).

Chez les patients BPCO, en raison du phénomène d'altération dans le rapport ventilation / perfusion, la diffusion du NO devient moins efficace. En outre, la destruction des cellules épithéliales alvéolaires chez les patients BPCO sévères peut affecter la production du NO dans les voies respiratoires, et le développement de pneumo-cardiopathie chronique peut provoquer une réduction du NO, supposée être due à un dysfonctionnement endothélial. Par ailleurs, le tabac affecte également les différents éléments du processus de l'inflammation des voies respiratoires et de formation du NO.

Alors que la FENO est connue pour augmenter dans **l'exacerbation de la BPCO** [23], **il n'y a aucune application clinique déterminée de cette observation**. **Dans l'étude d'Antus, l'auteur a découvert le rôle potentiel de la FENO pour prédire la réponse au traitement pendant l'exacerbation nécessitant une hospitalisation** [30]. L'auteur a mesuré la FENO et la spirométrie au moment de l'admission et de la sortie de l'hôpital.

Les résultats étaient impressionnants: la FENO à l'admission est un facteur prédictif pour l'augmentation significative du VEMS moyen après le traitement clinique (aire sous la courbe ROC = 0,82). Une valeur du NO qui étaient inférieure au seuil optimal **de 27 ppb peut prédire l'absence d'amélioration significative de la fonction pulmonaire**, avec une valeur prédictive négative de 85%.

Ces résultats suggèrent la possibilité du rôle de la FENO dans la prédiction de la réponse au traitement **dans l'exacerbation de la BPCO**. **L'auteur a également soulevé les questions** telles que: Quelle est la physiopathologie de l'augmentation de la FENO **pendant l'exacerbation**? Est-ce que le NO fonctionne comme un marqueur représentatif de l'inflammation éosinophilique ou comme un autre facteur de la pathogenèse des voies respiratoires? Est-ce que la FENO peut prédire la réponse au traitement par des corticostéroïdes dans ce cas?

En général, l'exacerbation de la BPCO est causée par des infections virales [31] et il y a aussi une relation avec une inflammation accrue dans les voies respiratoires par les éosinophiles. Ce phénomène peut être déclenché par une infection virale [32]. Un même mécanisme peut se produire chez les patients atteints de BPCO stabilisée ayant une infection persistante [33].

Les données expérimentales ont montré que l'infection par des virus tels que rhinovirus, virus respiratoire syncytial (VRS: virus syncytial respiratoire), grippe A (virus grippal), peut stimuler l'inflammation par les éosinophiles en libérant des molécules chimiques qui entraînent l'attraction et l'activation des éosinophiles [34]. Dans le cas de l'infection à **VRS, l'augmentation de l'activité des NOSi (NO synthase inducible) et l'augmentation la production du NO** sont également décrits [35].

Par conséquent, l'augmentation de la FENO dans les exacerbations peut être une conséquence directe des infections virales, en tant que marqueurs indirects de l'inflammation causée par les éosinophiles activés, ou dans la période stabilisée de BPCO, en tant que marqueurs indépendants de la réponse thérapeutique primaires aux corticostéroïdes.

CONCLUSION

La concentration du NO a tendance à augmenter chez les patients BPCO et est encore plus élevée pendant une décompensation respiratoire aiguë. **Mais il est difficile de déterminer s'il y a une augmentation de la FENO pendant une exacerbation, qui permet de prédire l'efficacité du traitement prolongé avec un corticostéroïde inhalé.** Cette observation a une signification clinique importante parce qu'elle permet de revoir la nécessité d'un traitement prolongé lorsque les patients ont récupéré de la phase de décompensation respiratoire aiguë.

Remerciement

Le Docteur Nhat-Nam Le-Dong pour la traduction de la version originale en française.

CONFLIT D'INTERETS

Aucun.

REFERENCES

- Murray CJL, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997; 349: 1498-1504.
- Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, Barnes PJ, Buist SA, Calverley P, Fukuchi Y, Jenkins C, Rodriguez-Roisin R, van Weel C, Zielinski J. Global strategy for diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. GOLD Executive Summary. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 532-555.
- Barnes PJ, Celli BR. Systemic manifestations and comorbidities of COPD. *Eur Respir J* 2009; 33: 1165-1185.
- Philip O'Reilly, William Bailey. Clinical use of exhaled biomarkers in COPD. *International Journal of COPD* 2007; 2(4): 403-408.
- Croxton TL et al. Future research directions in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:838-44.
- Calverley PM et al. Bronchodilator reversibility testing in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2003; 58: 659-64.
- Fabbri LM, Romagnoli M, Corbetta L, Casoni G, Busljetic K, Turato G, Ligabue G, Ciaccia A, Saetta M, Papi A. Differences in airway inflammation in patients with fixed airflow obstruction due to asthma or chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 418-424.
- Croxton TL, Bailey WC. Long-term oxygen treatment in chronic obstructive pulmonary disease: recommendations for future research: an NHLBI workshop report. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174: 373-8.
- Annamari Rouhos. Clinical aspects of exhaled nitric oxide in adults: Associations with atopy, bronchial hyperresponsiveness, smoking and chronic obstruction. Academic dissertation p32-36.
- Clini E, Bianchi L, Paganini M, Ambrosino N. Endogenous nitric oxide in patients with stable COPD: correlates with severity of disease. *Thorax* 1998; 53:881-883.
- Ansarin K, Chatkin JM, Ferreira IM, Gutierrez CA, Zamel N, Chapman FR. Exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease: relationship to pulmonary function. *Eur Respir J* 2001; 17:934-938.
- Zietkowski Z, Kucharewicz I, Bodzenta-Lukaszyk A. The influence of inhaled corticosteroids on exhaled nitric oxide in stable chronic obstructive disease. *Resp Med* 2005; 99:816-824.
- Liu J et al. Nitric oxide and exhaled breath nitrite/nitrate in chronic obstructive pulmonary disease patients. *Respiration* 2007; 74:617-623.
- Beg MFS, Alzoughaibi MA, Abba AA, Habib SS. Exhaled nitric oxide in stable chronic obstructive pulmonary disease. *Ann Thorac Med* 2009; 4:65-70.
- Delen FM, Sippel JM, Osborne ML, Law S, Thukkani N, Holden WE. Increased exhaled nitric oxide in chronic bronchitis. Comparison with asthma and COPD. *Chest* 2000; 117: 695-701.
- Ziora D et al. Correlation of exhaled nitric oxide with nitrogen oxides and selected cytokines in induced sputum of chronic obstructive pulmonary disease patients. *J Physiol Pharmacol* 2007; 58(Suppl 5): 791-799.
- Kharitonov SA, Robbins RA, Yates D, et al. Acute and chronic effects of cigarette smoking on exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:609-612.

18. Channez P et al. Corticosteroid reversibility in COPD is related to features of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1529-34.
19. Papi A et al. Partial reversibility of airflow limitation and increased exhaled NO and sputum eosinophils in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1773-7.
20. Clini et al. Production of endogenous nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease and patients with cor pulmonale. Correlates with echo-Doppler assessment. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 446-50.
21. Montuschi P. Exhaled breath condensate analysis in patient with COPD. *Clin Chim Acta* 2005; 356: 22-44.
22. Corradi M et al. Increased exhaled nitric oxide in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999; 54:572-4.
23. Bhowmik A, Seemungal TAR, Donaldson GC, Wedzicha JA. Effects of exacerbations and seasonality on exhaled nitric oxide in COPD. *Eur Respir J* 2005; 26: 1009-1015.
24. Brindicci C, Ito K, Resta O, Pride N, Barnes PJ, Kharitonov SA. Exhaled nitric oxide from lung periphery is increased in COPD. *Eur Respir J* 2005; 26: 52-59.
25. Barnes P, Chowdhury B, Kharitonov SA, Magnussen H, Page CP, Postma D, Saetta M. Pulmonary biomarkers in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174: 6-14.
26. Lehtimäki L, Kankaanranta H, Saarelainen S, Mnnila I, Nieminen R, Moilanen E. Bronchial nitric oxide is related to symptom relief during fluticasone treatment in COPD. *Eur Respir J* 2010; 35: 72-78.
27. Ferreira IM et al. Exhaled nitric oxide and hydrogen peroxide in patient with chronic obstructive pulmonary disease: effects of inhaled beclomethasone. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1012-15.
28. Kunisaki KM et al. Exhaled nitric oxide, systemic inflammation, and spirometric response to inhaled fluticasone propionate in severe chronic obstructive pulmonary disease: a prospective study. *Thorax* 2008; 2: 55-64.
29. Agustí AGN, Villaverde JM, Togores B. Serial measurements of exhaled nitric oxide during exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1999; 14: 523-528.
30. Antus B, Barta I, Horvath I et al. Relationship between exhaled nitric oxide and treatment response in COPD patients with exacerbation. *Respirology* 2010; 15:472-7.
31. Mohan A, Chandra S, Agarwal et al. Prevalence of viral infection detected by PCR and RT-PCT in acute exacerbation of COPD: a systematic review. *Respirology* 2010; 15: 536-42.
32. Papi A, Belletatto CM, Braccioni F et al. Infections and airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease severe exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 1114-21.
33. Sikkink MB, Quint JK, Mallia P et al. Respiratory syncytial virus persistence in chronic obstructive pulmonary disease. *Pediatr Infect Dis J* 2008; 27: S63-70.
34. Becker S et al. RSV infection of human airway epithelial cells causes production of the beta-chemokine RANTES. *Am J Physiol* 1997; 272: L512-20.
35. Kao YJ, Piedra PA, Larsen GL et al. Induction and regulation of nitric oxide synthase in airway epithelial cells by RSV. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 532-9.
36. Bathoorn E, Liesker JJ, Postma DS et al. Anti-inflammatory effects of combined budesonide/formoterol in COPD exacerbations. *COPD* 2008; 5: 282-90
37. Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of COPD, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2011. <http://www.goldcopd.org/>.