

Приложение на издишания азотен окис в педиатричната практика за диагноза и контрол на бронхиалната астма

Д-р Рада Маркова¹, доц. Пенка Переновска²

¹Детска клиника, МБАЛ "Александровска", София; ²Детска клиника, МБАЛ "Александровска", София

РЕЗЮМЕ

Азотният окис е важна регулаторна молекула в човешкото тяло, която има съществено значение за оценка на еозинофилното възпаление на дихателните пътища при деца с бронхиална астма. В настоящия обзор са представени исторически данни за азотния окис, патогенетични механизми на действие, основни норми за детска възраст, използвани методи на измерване, диагностично значение и терапевтично приложение на FeNO в пулмологичната практика.

ABSTRACT

Nitric oxide (NO) is an important regulatory molecule in human body, that plays an important role in assessment of eosinophilic inflammation of respiratory airways in children with bronchial asthma. In the current publication are presented: historical data, pathogenetic mechanisms, basic normal values for child age, main methods of measurement, the diagnostic value and therapeutic approach of the exhaled nitric oxide in pulmonary practice.

Бронхиалната астма е най-честото хронично белодробно заболяване в детската възраст. В началото на 21 век търсенето на нови методи и подходи при диагностицирането и контрола на заболяването са основен приоритет в развитието на респираторната наука и практика.

Стандартният подход на мониториране на заболяването включва: документирание на симптомите на бронхиална астма (дневни и нощни) – задух, кашлица, „свирене от гърдите“ и други; необходимостта от използване на бронходилататори; обективни методи на оценка – измерване на ВЕД (ВЕД-метрия или пикфлоуметрия) и спирометрия.

Методите, използвани за оценка на възпалението при бронхиална астма, могат да се разделят на:

- Директни, които са инвазивни и високорезолутивни. Това са бронхиалната биопсия и бронхо-алвеоларния лаваж (БАЛ)
- Относително директни – по-малко инвазивни. Към тях се числят индуцираната хращка, измерването на FeNO и изследването на издишан

въздушен конгензат (exhaled breath condensate, EBC)

- Индиректни-неинвазивни – изследване на кръв и урина (Pizzichini et al., 2005).

През последните 15 години се акцентира върху важната роля на FeNO като маркер на еозинофилното възпаление при бронхиална астма. Въпреки противоречивите данни, при част от клиничните проучвания в детска възраст, наличните изследвания красноречиво му отделят важна роля в комплексната диагноза и проследяване на ефекта от лечението на пациентите с бронхиална астма както в стационарни, така и в амбулаторни условия. Разбира се, както и останалите параклинични и инструментални методи, значението на последния се коментира след изпълняване на редица условия, наречени включващи и изключващи критерии, съобразно съвременните изисквания за работа с апаратурата за измерване на NO на Европейското респираторно гружество (ERS) и на Американската торакална асоциация (ATS).^{1,2}

NO се оказва важна регулаторна молекула, която се среща в много тъкани и органи. Той участва като посредник в редица биологични процеси – регулацията на периферния кръвен поток, тромбоцитната функция, процесите на невротрансмисия, хормоносинтеза и имунните реакции.

Важна историческа година е 1991 г., когато Gustafsson и сътрудници за първи път установяват NO в издишания въздух и скоро след това Alving доказва, че той е повишен при пациенти с астма.

Оттогава насам се правят множество проучвания за изясняване на ролята на NO при възпалението на дихателните пътища.

Стандартните методи за диагноза и мониториране на бронхиалната астма традиционно се фокусират върху симптомите на заболяването и феномена на бронхоконстрикция. Измерването на нивото на NO в издишания въздух се оказва поинформативно от голяма част от конвенционалните тестове, използвани в международните протоколи за диагноза на астмата при симптоматични пациенти. Нивото на NO е толкова информатив-

но, колкото биопсията на бронхиална лигавица или бронхо-алвеоларния лаваж (БАЛ), които са традиционният „златен стандарт“ за детерминиране на възпалението на дихателните пътища. Нивото на NO в издишвания въздух е съпоставимо и с анализа на храчка за степента на еозинофилно възпаление.

Ендогенният NO се получава от L-аргинин чрез ензима NO-синтаза (NOS). Ензимът съществува в т. нар. конститутивна и индуцивна изоформи (cNOS, iNOS).³ Конститутивната форма се открива в ендотелните клетки (eNOS) – ендотелна, и в нервната тъкан (nNOS) – невронална. Тези две изоформи се освобождават при увеличаване на интрацелуларните нива на калциеви йони. И трите форми на NOS (eNOS, nNOS, iNOS) се откриват в дихателните пътища. Само експресията на iNOS корелира с нивото на издишания NO. Тази изоформа е независима от калциевите йони, а се индуцира от възпалителни цитокини (медиатори). В частност iNOS се експресира от епителните клетки на дихателните пътища. Същата изоформа може да се открие и в алвеоларни макрофаги, еозинофили и други клетки на възпалението. NO, образуван от cNOS, може да доведе до cGMP-зависима релаксация на дихателната гладка мускулатура, докато NO, освободен чрез iNOS, може да има проинфламаторен ефект.

Експресията на iNOS може да се предизвика чрез разнообразни стимули: напр. възпалителни цитокини по не съвсем изяснен механизъм, с предпологаемо участие на транскрипционен фактор STAT-1. Друг транскрипционен фактор – нуклеарен фактор капа Б (NF-капа B), се увеличава при алергично възпаление и се намалява от кортикостероидите. Той е необходим за експресията на еотаксин и GM-CSF. Изглежда, че двата транскрипционни фактора симултанно се увеличават в дихателния епител на астматици.

Има проучвания, които показват че iNOS има важна роля в белодробното възпаление. Пероралното лечение със селективен iNOS-инхибитор показва намаление на издишания NO с 80-90% както при пациентите с астма, така и при здравите контроли.

Възпалените дихателни пътища при астматици се характеризират с повишен брой на активирани еозинофили, мастоцити и Т-лимфоцити в бронхиалната мукоза и лумен. Действията на тези клетки резултат в епителна увреда, оток, мукулна секреция и спазъм на гладката мускулатура. Следователно възпалителните клетки и медиатори са причината за симптомите при бронхиална астма. При пациентите с бронхиална астма се наблюдава ранен и късен възпалителен отговор, предизвикан от алергени. Ранният отговор е транзиторен и се доминира от увеличаване на броя на неутрофилите. Късният отговор е продължителен и асоцииран с повишение на еозинофилите и Т-лимфоцитите. Смята се, че точно този късен отговор се асоциира с повишените нива на NO. Има проучвания, които показват, че и

ранната фаза на алергично възпаление също повишава нивата на NO.

Нивата на NO деривати в индуцирана храчка на пациенти с астма показват корелация със степента на задебеляване на бронхиалната стена спрямо луменния гуаметър, което предполага роля на NO в процесите на ремоделиране на дихателните пътища.

Има доказателства и за ролята на NO в патогенезата на астмата при физическо усилие.

Следователно, симптомите на бронхиална астма са резултат на действието на еозинофилите и другите възпалителни клетки. Повишените нива на NO са свързани с еозинофилната активност, но точната роля на NO при развитието на симптомите на астма остава неясна.

Нивата на NO в носа и назофаринкса са много по-високи, отколкото тези в издишания въздух през устата (синуси – 1000-30 000 ppb, носно дишане 15-40 ppb, дишане през устата 5-15 ppb), което предполага основна роля на горните дихателни пътища в образуването на NO при здравите хора.⁴

Активацията на NOS резултира не само в производството на NO, но и на редица други азотни окиси и пероксинитрити.

Вече е установено, че при хората генът за NOS е локализиран върху дългото рамо на хромозома 12 в региона 12q13-q24.2.5 Тези последни данни предполагат обяснение за вариациите в стойностите на NO, свързани с генетичната вариабилност на NOS гена.

Измерване на издишания NO

Най-широко използваният метод за измерване на издишания NO е хемилуминесценцията след взаимодействие с озон, което позволява измерване до приблизително 1 частица на милион (1 part per billion – ppb). Тъй като NO се образува постоянно в дихателните пътища, концентрацията му варира в зависимост от потока на издишания въздух. Следователно, когато се измерва концентрацията на NO, трябва да се отбележи величината на въздушния поток. През 1997 г. ERS препоръчва въздушен поток от 10-15 l/min или 167-250 ml/s. След публикуване на ръководството на ATS през 1999 г. повечето автори използват препоръчания 50 ml/s поток. Могат да се използват по-високи или по-ниски нива на въздушния поток, но винаги трябва да се съпоставят при тълкуване на резултатите.

- Online-измерване

Нивото на издишания NO обикновено се определя при едноетапно издишване. Препоръчаната техника включва вдишване на NO – свободен въздух чрез приставка (филтър) за устата до тоталния белодробен капацитет (TLC), последвано от пълно издишване на поетия въздух в апарата при постоянен въздушен поток. По време на издишването се генерира високо налягане в устната кухина (между 5-20 cm H₂O), което предполага затваряне на небцето и ограничаване на въздушния

поток от носа, който е с високи концентрации на NO. Това е т. нар. еднотапен метод на измерване (single-breath on-line measurement – SBOL).¹ Изисква постигане на постоянен поток на издишване от 50 ml/s за 6-10 секунди и издишване от почти тотален белодробен капацитет. Изключването на носния поток става чрез постигане на високо налягане в устната кухина, чрез което се затваря небцето. Има безспорните предимства за on-line регистрацията на NO. Проблем на методиката е трудността при техническо изпълнение: Baraldi и сътр. установяват, че 50% от децата на възраст 4-8 години не изпълняват правилно метода,⁶ Jobsis и сътр. докладват 30% неуспех.⁷ Основният проблем е подгържането на постоянен поток на издишвания въздух. Това е обаче методът на избор за децата, които кооперират на изследването.

Друг начин за on-line измерване е по време на спонтанно дишане - особено предизвикателство за възрастовата група 2-5 години. Посредством

непрекъснато контролиране на резистентността на издишване се постига поток от 50 ml/s. Методът все пак изисква пасивно взаимодействие, тъй като детето трябва да диша бавно и регулярно през устен накрайник.

• Off- line методи с вариабилен или константен поток

Детето издишва чрез устен накрайник в NO-инертен балон срещу налягане от 5 см H₂O стълб, което пренява назалната контаминация. Размерът на балона трябва да е точен или да надвишава предполагаемия витален капацитет. Резултатите корелират, но не са идентични с on-line измерването. Концентрацията на NO е стабилна за няколко часа. Предимства на метода са, че е прост и подходящ и за деца на възраст 2-3 години, не изисква активно регулиране на въздушния поток, измерванията могат да се правят дистанционно (в училище, вкъщи и т.н.).⁷

Нормалните стойности на NO в издишания

ДИАГНОЗА				
Упътване за интерпретация на стойностите на FeNO при пациенти със симптоматика и без предходна стероидна терапия				
<i>При оценката и диагнозата на заболяванията на дихателния път FeNO-стойностите са съответни на стойностите, получени при спирометрия.</i>				
<i>Това упътване да не се използва при пушачи, данните не са окончателно потвърдени при пушачи.</i>				
	НИСКА	НОРМАЛНА	МЕЖДИННА	ВИСОКА
Еозинофилна възпалителна реакция	Малко вероятна	Малко вероятна	Налична в умерена степен	Значителна
ВЪЗРАСТНИ				
FeNO (ppb)*	<5	5–25	25–50	>50
	Да се има предвид: Пушач (в допълнение към съобщенията при деца)	Да се има предвид: Неутрофилна астма Безпокойство/хипервентиляция Дисфункция на гласните връзки Рино-синусит Гастро-езофагеален рефлукс Сърдечно заболяване	Интерпретацията се базира на клиничните данни	Да се има предвид: Атопична астма при съответни анамнестични данни (при FEV1 <80% диагнозата астма е твърде вероятна) Еозинофилен бронхит Синдром на Churg-Strauss Възможен позитивен отговор към инхалиран или перорален стероид; Възможно при бивши пушачи с COPD
ДЕЦА (<12 ГОДИНИ)				
FeNO (ppb)*	<5	5–20	20–35	>35
За информация относно издишания NO при астма Вж. Scientific Background – Exhaled Nitric Oxide, A Noninvasive Marker for Inflammation; Aerocrine. *При ниво на въздушния поток 50 mL/s. Адаптирана по Taylor DR, Pijnenburg MW, Smith AD, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation. Thorax 2006; 61:817-27.	Да се има предвид: Първична цилиарна дискинезия (да се направи оценка на назалния NO) Кистична фиброза Хронична белодробна болест	Да се има предвид: Бронхит с хрипове Гастро-езофагеален рефлукс Заболявания на уши, нос, гърло Неутрофилна астма Дисфункция на гласните връзки Безпокойство/хипервентиляция Имунодефицитни състояния	Интерпретацията се базира на клиничните данни	В комбинация с обективни симптоми на обратима обструкция на дихателния път, много вероятна диагноза е астма, а така също много вероятен е позитивният отговор към инхалация или перорално приложение на стероиди

ТЕРАПИЯ				
Упътване за интерпретация на стойностите на FeNO при пациенти на противовъзпалителна терапия				
При оценката и диагнозата на заболяванията на дихателния път FeNO-стойностите са съответни на стойностите, получени при спирометрия.				
Това упътване да не се използва при пушачи, данните не са окончателно потвърдени при пушачи.				
	НИСКА	НОРМАЛНА	МЕЖДИННА	ВИСОКА
Еозинофилна възпалителна реакция	Малко вероятна	Малко вероятна	Налична в умерена степен	Значителна
ВЪЗРАСТНИ				
FeNO (ppb)*	<5	5–25	25–50	>50
	<p>Да се има предвид: Пушач (В допълнение към съобщенията при деца)</p>	<p>При симптоматика да се преразгледа диагнозата: Неутрофилна астма Безпокойство/хипервентилация Дисфункция на гласните връзки Рино-синусит Гастро-езофагеален рефлукс</p> <p>При липса на симптоматика: Добър отговор към лечението. Редукция на дозата, а в случаи на ниска доза на инхалирания кортикостероид – преустановяване на терапията</p>	<p>При симптоматика да се има предвид: Инфекция като причина за влошаване на състоянието Експозиция на високо ниво на алергени Добавка на допълнителен медикамент към инхалирания стероид (напр. дългодействащ б-агонист) Повишение на дозата на инхалирания стероид</p> <p>При липса на симптоматика: Не се препоръчва промяна на дозата на инхалирания стероид, ако състоянието на пациента е стабилно</p>	<p>При симптоматика да се има предвид: Неадекватна терапия с инхалационен кортикостероид: 1) да се оцени отговорът към терапията 2) да се провери техниката на инхалиране 3) да се провери дозата на инхалирания стероид</p> <p>Непрекъснатата експозиция на алерген във висока концентрация Предстояща екзацербация или релапс в зависимост от анамнезата (по-вероятно в отсъствие на стероид) Стероидна резистентност (рядка)</p> <p>При липса на симптоматика: Не се препоръчва промяна на дозата на инхалирания стероид, ако състоянието на пациента е стабилно</p>
ДЕЦА (<12 ГОДИНИ)				
FeNO (ppb)*	<5	5–20	20–35	>35
<p>За информация относно издишания NO при астма Вж. Scientific Background – Exhaled Nitric Oxide, A Noninvasive Marker for Inflammation; Aerocrine.</p> <p>*При ниво на въздушния поток 50 mL/s.</p> <p>Адаптирана по Taylor DR, Pijnenburg MW, Smith AD, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation. Thorax 2006; 61:817-27.</p>	<p>Да се има предвид: Първична цилиарна дискинезия Кистична фиброза Хронична белодробна болест</p>	<p>При симптоматика да се преразгледа диагнозата: Бронхит с хрипове Гастро-езофагеален рефлукс Заболявания на уши, нос, гърло Неутрофилна астма Дисфункция на гласните връзки Безпокойство/хипервентилация Имунодефицитни състояния</p> <p>При липса на симптоматика: Добър отговор към лечението. Редукция на дозата, а в случаи на ниска доза на инхалирания кортикостероид – преустановяване на терапията</p>	<p>При симптоматика (освен съобщенията при възрастни) да се има предвид: Възможна неадекватна терапия с инхалационен кортикостероид: 1) да се оцени отговорът към терапията 2) да се провери техниката на инхалиране 3) да се осигури инхалатор с фиксирана доза и спейсър, ако пациентът понастоящем използва устройство със сух прах</p> <p>При липса на симптоматика: Не се препоръчва промяна на дозата на инхалирания стероид, ако състоянието на пациента е стабилно</p>	<p>При симптоматика (освен съобщенията при възрастни) да се има предвид: Да се осигури инхалатор с фиксирана доза и спейсър, ако пациентът понастоящем използва устройство със сух прах</p> <p>При липса на симптоматика: Не се препоръчва промяна на дозата на инхалирания стероид, ако състоянието на пациента е стабилно</p>

въздух, използвайки хемилуминесцентния метод при поток от 50 ml/s, са стандартизирани и за здрави възрастни са между 10 и 20 ppb, а за деца 5-15 ppb. Тъй като стойностите са зависими от възрастта, то те се увеличават с годините. За деца те са под 25 ppb.

Основни фактори, увеличаващи стойностите на FeNO, са вирусни инфекции на дихателните пътища, алергичен ринит, пневмонии, богата на нитрати храна, физическото усилие, назална полипоза и гружи. При заболявания, като муковисцидоза и цилиарна дискинезия, при тютюнопушене, при спирометрични техники, използване на кофеин и алкохол, индукция на хрчка и други, NO намалява като стойност. Денонощните колебания в нивата на NO се считат за незначителни според повечето автори.

Клинично приложение на FeNO при бронхо-белогробни заболявания в детска възраст:

1. Диагностично значение. Издишаният въздух при здрави хора съдържа между 5-25 ppb NO (5-20 ppb при деца), а при астматици – два до четири пъти по-високи нива.⁸ Има голямо диагностично значение при цилиарната дискинезия и е с относителна стойност при муковисцидозата и бронхоектазиите. Диагностично значение има при алергичния ринит и добре корелира с намаляването на възпалението при използване на топикални ГКС.

2. Терапевтичен мониторинг. NO може да бъде използван като неспецифичен инфламометър при астма, с високи стойности при нетретирана астма, които се повлияват от противовъзпалителното лечение. Документирано е завишаване на стойностите на NO при астма още преди изявата на клинични симптоми, както и благоприятното понижаване на нивата на същия при прилагане на орални кортикостероиди (КС), инхалаторни КС и левкотриенови антагонисти и без динамика от приложението на кратко- и дългодействащи бронходилататори.⁸ Този показател дава индиректна информация за стероидната ефективност и за възпалението на дихателните пътища. При задържане на високи нива на NO на фона на КС лечение могат да се отдиференцират т. нар. нон-респондери. Има ясна дозова зависимост между инхалаторното КС лечение и понижението на FeNO ниво. Високите изходни нива на NO предполагат КС-чувствителност. Чрез мониториране на динамиката на стойностите на NO може да се титрира най-ниската ефективна КС доза, както и да се предвиди загубата на контрол.

3. Корелация на FeNO и атопията. Известно е, че атопията е генетично детерминирано състояние и е честа особеност при астмата. Но атопиците, разбира се, не е задължително да развият астма, а също така астматици без атопия не са рядкост. Няколко проучвания показват, че пациенти с атопична астма имат по-високи нива на издишан NO, отколкото други пациенти с астма.⁹ Дори има изводи, че няма разлика в нивата на издишания NO при пациенти с неатопична астма и здрави контроли. При други проучвания се установява корелация между нива-

та на издишан NO и кожната чувствителност при skin-prick тестовете към домашен прах. Проучване при 450 деца показва, че чувствителността към домашни алергени се асоциира с по-високи нива на издишан NO, съпоставени с несенсибилизирани деца. Нивата на NO корелират сигнификантно с бронхиалната чувствителност към хистамин, независимо от това дали децата имат симптоми или не. Така някои автори считат, че повишените нива на NO са белег по-скоро на атопия, отколкото на астма. Повишението на издишания NO се асоциира с подлежащи механизми на атопия и бронхиална хиперреактивност и не задължително с респираторни симптоми. В крайна сметка се налага изводът, че само атопиците, изложени на съответни алергени, имат повишени нива на NO в издишания въздух. Атопици, които не са подложени на действието на съответни алергени и които нямат симптоми на астма или алергичен ринит, имат нормални нива на издишания NO. Децата с атопия и бронхиална астма имат по-високи нива на NO.

4. Зависимост на NO с кръвната еозинофилия и еозинофилията в хрчка. Има зависимост между еозинофилията в хрчка при астматици без КС терапия и нивата на NO.¹⁰ Тази зависимост се нарушава при пациентите на инхалаторно КС лечение. При група пациенти на инхалаторни КС се установява корелация на NO с нивата на еозинофилен катионен протеин (ECP). Отдава се значение и на ролята на повишените нива на NO при процесите на ремоделиране на бронхиалната стена.

5. FeNO и клиничните симптоми. FeNO се счита маркер за добър контрол на симптомите при децата с бронхиална астма. Нивата му корелират с клиничната симптоматика, макар че NO се повишава още преди изявата на симптомите. Има проучвания, които доказват, че базовото ниво на NO предсказва тежестта на астмата при физическо усилие.¹¹

Налице е голям интерес за използването на FeNO за диференциране на различните фенотипове бронхиална астма. Също така се отдава значение на NO за изследване на онази група деца в прегучилищна възраст с хронична кашлица, част от които страдат от еозинофилно възпаление на дихателните пътища („кашличен“ вариант на астма) и могат да се повлияят добре от инхалаторна КС терапия.

Измерването на нивото на NO в издишания въздух е лесен, бърз, неинвазивен и високоинформативен метод, който има голямо значение в комплексния подход за диагнозата и мониторирането на бронхиалната астма в детска възраст.

Литература

1. American Thoracic Society. Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurements of exhaled lower respiratory nitric oxid and nasal nitric oxid in Adults and Children 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:2104-2117

Пълната библиографска справка е на разположение в издателството и може да бъде представена при поискване.