

Азотният окис като неинвазивен маркер за възпалението на дихателните пътища при бронхиална астма

Доц. д-р В. Юрукова

СБАЛББ „Св. София“ ЕАД – гр. София

Астмата е хронично възпалително заболяване с епизодични атаки, които са проява на остро възпаление на фона на персистиращо възпаление. Възпалението може да бъде определено чрез различни методи, включително бронхоалвеоларен лаваж, бронхиални биопсии и индуцирана експекторация, но тези техники са агресивни. Измерването на азотен окис в издишания въздух се препоръчва като неинвазивен, лесен и добре торелиран тест, точно съответстващ на локалното възпаление при астмата. Азотният окис може да служи като неинвазивен маркер на възпалението на дихателните пътища при бронхиална астма и може да бъде полезен за ефикасността на терапията и уточняване на терапевтичните режими с инхалаторните кортикостероиди.

В последното десетилетие концепцията за патогенезата, диагнозата и терапията на бронхиалната астма се промениха драматично. Първичното нарушение е възпалението на дихателните пътища и като резултат двете физиологични характеристики на заболяването - реверзибилна лимитация на въздушния дебит и бронхиална хиперреактивност (Фиг. 1). Въвеждането на противовъзпалителното лечение с инхалаторни кортикостероиди доведе до подобряване на контрола и качеството на живот на тези пациенти.

Възпалението може да бъде определено чрез различни методи, включително бронхоалвеоларен лаваж, бронхиални биопсии и индуцирана експекторация. Тези техники обаче са агресивни и изискват време, също така не са лесно осъществими като рутинна база, дори и при възрастни пациенти.

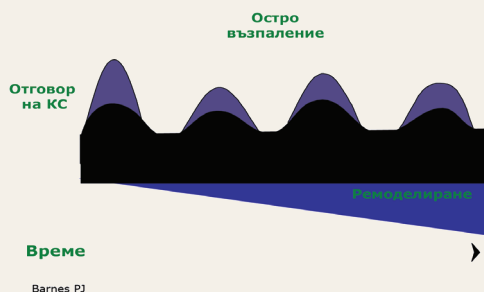
Има много епидемиологични доказателства, които доказват връзката на алергичното възпаление на дихателните пътища и повишаването нивата на азотния окис в издиша-

ния въздух (eNO) при пациенти с астма^[3,9,10,22]. Измерването на азотен окис в издишания въздух се препоръчва като неинвазивен, лесен и добре торелиран тест, точно съответстващ на локалното възпаление при астмата^[9,22,38]. NO присъства в ниски концентрации в атмосферния въздух (по-малко от 1 ppm) и в издишания въздух на нормални субекти, където може да бъде измерен чрез различни методи - спектроскопски или електрохимично^[3,11,23].

NO се образува от терминалния гуанидинен азот на полунезаменимата аминокиселина L-аргинин чрез действието на азотноокисна синтаза (NOS)^[9]. Реакцията, медирана от NOS се характеризира с оксидация на молекулата на L-аргинин и образуване на L-цитролин и NO^[18], (Фиг. 2). От функционална гледна точка NOS съществува като конститутивна (cNOS) и индуцибилна (iNOS). Индуцибилната изоформа предизвиква отделяне на NO от активирани макрофаги, неутрофили и от васкуларния ендотел. Регулацията на ензима е на ниво транскрипция и се индуцира от някои цитокини, като интерферон

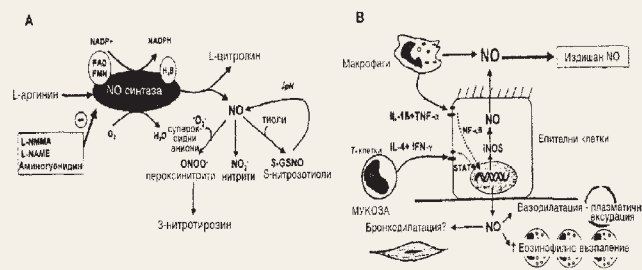
ФИГУРА 1

Възпалението при бронхиална астма^[11]



ФИГУРА 2

Синтез на азотен окис (А) и източници на азотен окис (В)^[23]





гама (IFN- γ), интерлевкин 1b (IL-1 β) и тумор некротичен фактор алфа (TNF- α), липополизахариди и ендотоксини, които вероятно въздействат чрез освобождаване на цитокини^[9]. Тази изоформа е под регулацията на кортикостероиди, на интерлевкин-4 (IL-4) и интерлевкин-13 (IL-13)^[42].

На Табл. 1 са представени клетките, които продуцират NO в белите дробове.

Концентрацията на NO в издишания въздух (FeNO) при астматични пациенти в стабилна форма е повишена в сравнение с нормални субекти и пациенти с ХОББ^[22,23] (Фиг. 3). Повишението се дължи на повишената експресия на индуцибилната iNOS^[19,33] във връзка с активация на мастоцитите, еозинофилите и Th2 лимфоцитите.

Повишени са нивата на NO при остра екзацербация на астма и при трудна за лечение астма, като корелират с честотата на симптомите, но не корелират с функционалните параметри (ФЕО1, ВЕД) или обратимостта на обструкцията, т.е. промените в белодробната функция имат ограничена чувствителност^[37].

При астматични пациенти концентрацията на NO в издишания въздух се увеличава по време на забавената реакция при бронхопровокация с алергени^[14,23], с добра корелация между стойността на отговора и увеличението на NO^[21,23], след експериментална инфекция с вируси^[13], по време на късната фаза на алергенната провокационна проба^[11,22].

Установена е положителна корелация между FeNO и броя на позитивните кожно-алергични проби или тоталните IgE, но не е намерена корелация между FeNO и бронхиалната хиперреактивност или ФЕО1^[26] при неатопичните астматици^[28].

Намерена е асоциация на атопията към домашен прах с повишените нива на FeNO при асимптомни пациенти, предполагайки, че е възможно наличието на субклинично възпаление при тези субекти^[31].

Доказана е корелацията между FeNO и бронхиалната хиперреактивност и FeNO е възможен предиктор за бронхиална хиперреактивност при пациенти с алергичен ринит,

ФИГУРА 3

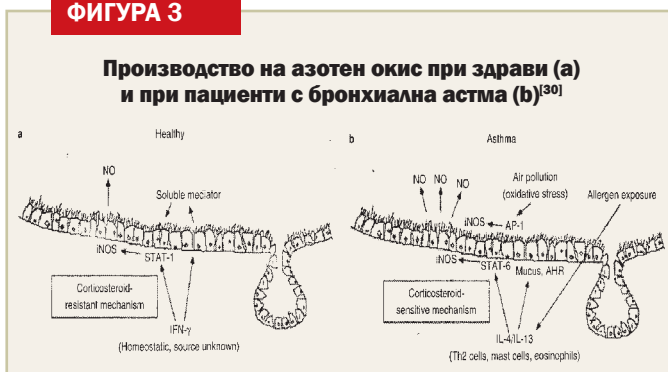


ТАБЛИЦА 1

Клетките, които продуцират NO в белите дробове

Трахеалните, бронхиалните и алвеоларни епителни клетки
Клетките на Клара
Нитринергичните нервни влакна
Ендотелните клетки на а.пулмоналис
Алвеоларните макрофаги
Неутрофилите
Тромбоцитите
Фибробластите
Еозинофилните гранулоцити и NK-клетките

което показва връзката между горните и долните дихателни пътища^[12]. Така FeNO представлява полезен скрининг за определяне на индивидите с алергичен ринит и повишен риск за развитие на астма^[12].

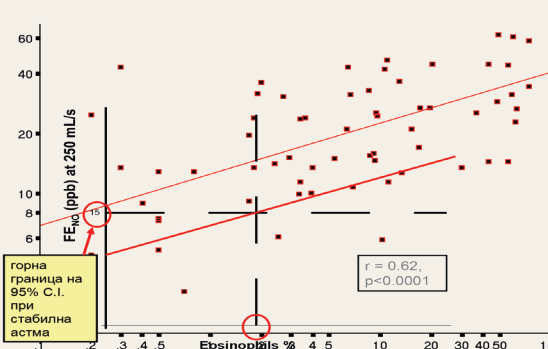
При лека астма са установени повишени нива, които корелират с PC20 и броя на еозинофилите в серума^[2], еозинофилите^[21,18] и с ECP в експекторацията^[41] (Фиг. 4). Така корелацията между eNO и еозинофилния брой в индуцираната хрчка съответства на възпалението на дихателните пътища, а също на параметрите на белодробната функция и метахолиновата хиперреактивност^[21].

Чувствителността и специфичността на FeNO за еозинофилите в спутума е добра, но не се счита за златен стандарт. Висок FeNO >45 ppb или еозинофили >2% в експекторацията (или промяна на FeNO >60%) = неконтролирано еозинофилно възпаление.

Корелацията между издишания NO и еозинофилите в спутума предполага причинна връзка. NO е възможно да произхожда от епителните клетки на дихателните пътища

ФИГУРА 4

Корелация между еозинофили % в хрчка и FeNO





и възпалителните клетки чрез индукция на NOS при експресия на провъзпалителни цитокини като TNF- α и IL-1 β , секретирани от макрофагите. По-големи количества NO са докладвани като резултат на супресия на Th1 клетки или съпътстваща редуция на INF- γ , водеща до пролиферация на Th2 клетките, които продуцират цитокини, включително IL-5, важен за завличането на еозинофилите в дихателните пътища и усилват включването на В-клетките в продукция на IgE и активация на лимфоцитите^[10].

При деца някои автори показват резултати, подобни на тези, описани при възрастни, докато други не намират сигнификантно повишение на нивото на NO в издишания въздух при астматични деца в сравнение със съответни по възраст контроли^[4,7,15].

Установено е сигнификантно повишение на NO в издишания въздух на астматични деца по време на поленовия сезон при естествено излагане на тревен полен без сигнификантни промени във ФЕО1^[7], което е в потвърждение на хипотезата, че лекото възпаление на дихателните пътища може да персистира дори при липса на симптоми. Подобни са и резултатите на други автори, които намират сигнификантно повишение на NO в издишания въздух по време на експозиция на домашен прах при астматични деца без сигнификантни промени във ФЕО1^[32]. Нивата на издишания NO при деца се повишават с тежестта на атопията, измерена с позитивен Prick тест, предполагайки субклинично възпаление при тези индивиди^[19].

Този метод е изключително полезен за диагнозата на астмата при пациенти с хронична кашлица. Нива на FeNO между 37.0-38.8 ppb потвърждават диагнозата астма при деца и възрастни, както и при продължителна кашлица при възрастни (Табл. 2). Специфичността на метода е до 91.3%, а чувствителността - 81.8%^[20].

При сравнение с конвенционалните диагностични критерии, базирани на GINA, критериите за eNO показват добра чувствителност, специфичност и процент на съгласуване^[30].

■ Прилагането на азотния окис като метод за контрол на астмата и мониториране на терапията

GINA осветлява клиничния контрол за астмата като нов таргет за превенция и лечение на заболяването. Постигане на настоящ висок контрол на заболяването е основа за предотвратяване на бъдещия риск от екзацербация. Издишаният NO е първият маркер, който се повишава по време на влошаване на астмата, предполагайки, че може да се използва като маркер на загуба на контрол на заболяването^[22,29]. Концентрацията на NO в издишания въздух на астматични пациенти намалява при лечение с инхалаторни кортикостероиди с бързо намаление по време на

ТАБЛИЦА 2

Алгоритми при мониторирането на бронхиална астма

Висок FeNO >45 ppb или еозинофили >2% в експекторацията или промяна FeNO: >60% = неконтролирано еозинофилно възпаление.

При симптомни пациенти:

- Слаб комплайънс с ICS и/или слаба инхалаторна техника, неадекватна доза на ICS, необходимост от включване на prednisone или прилагане на анти-IgE терапия – omalizumab.
- Рядко: стероидрезистентна астма.
- Рядко: Churg Strauss syndrome.

Нива на FeNO между 25 и 45 ppb.

При симптомни:

- Инфекция.
- Високо ниво на алергенна експозиция.
- Добавяне на друга терапия към ICS, напр. LABA.
- При комбинирана терапия повишаване дозата на ICS.

При асимптомни:

- Без промени в дозата на ICS при стабилни пациенти.

FeNO при стероидзависима астма

Понижаваща скала на prednisone - базирайки се на 2-седмично измерване на FeNO.

- FeNO под 30 ppb – намаляване с 5 mg/дн.
- FeNO от 30 до 50 ppb – без промяна.
- FeNO над 50 ppb – повишение до 40 mg/дн.

Интерпретация на резултатите.

1. FeNO може да се използва като маркер за еозинофилното възпаление.
2. При астма високи (>45 ppb) и ниски (<25 ppb) нива са клинично значими, но трябва да се съпоставят с клиничната история.
3. Интермедийните нива са трудни за интерпретация.

Приложение.

1. Съществена роля при водене лечението при трудната астма.
2. Роля при напасването дозата на ICS.
3. Резултатите не са приложими при пушачи.

първата седмица от лечението^[8,23]. Намаляването на издишания азотен окис след терапия с инхалаторни кортикостероиди е в дозо-зависим отговор^[22,23]. Сигнификантно намаление на FeNO се наблюдава 6 часа след единична доза от 8 μ g Budesonide при тежка астма^[23,32]. Установено е, че Flunisolide 500 μ g 2 пъти дневно за 2-4 седмици сигнификантно повишават PC20, намаляват еозинофилите в спутума и намаляват FeNO при сравнение с базалните стойности, но без сигнификантна корелация помежду им^[39]. Този ефект не е наблюдаван след терапия с инхалаторни бета-агонисти с кратко или продължително действие^[2,7,42] или при нормални субекти, лекувани с 30 mg/дневно преднизолон. FeNO бързо намалява след едномесечно лечение от ICS и LABA и продължава да намалява до нормално ниво на 6 мес.^[41]

Оралният преднизолон редуцира нивата на FeNO при астматици, но няма ефект върху нивата на FeNO в нормални индивиди^[42,21]. FeNO е сигнификантно повишен в стероидно нелекувани пациенти с астма и непушачи при сравнение със стероидно лекувани непушачи или стероидно лекувани пушачи астматици^[37]. Тютюнопушенето намалява FeNO както при здрави доброволци, така и при стероидно нелекувани астматици^[22,33,40].



Инхалаторните кортикостероиди са извънредно ефикасни за контролирането на астмата и супресират възпалението, въпреки че точният механизъм на тяхното действие е неизвестен. Инхалираните стероиди са високо липофилни и вероятно те могат само да достигнат повърхностните клетки във въздушните пътища, такива като епителните клетки. Главен механизъм за действие на стероидите е супресията на iNOS директно или чрез инхибиране синтеза на цитокини в макрофагите на дихателните пътища^[33,34,42]. Редукцията на eNO става вероятно чрез директна блокада на транскрипторен фактор, нуклеарен фактор карраВ(NF)-кВ и индиректно чрез редуциране синтеза на провъзпалителни цитокини, като TNF- α или IL-1 β , които водят до повишена експресия на iNOS или чрез инхибиция завличането на възпалителните клетки като еозинофили, експресиращи iNOS.

Определяне на концентрацията на азотния окис в издишания въздух събужда голям интерес, защото представлява един прост неинвазивен метод за измерване на възпалението на долните дихателни пътища. Голямо предимство е, че измерването му е напълно неинвазивно, може да бъде повтарян и извършван при пациенти, при които другите инвазивни методи не са възможни (деца, тежка астма). Това е неочевидно, тъй като може да се изследва при остри състояния и дори при пристъп, както и да се прецени действието на различни медикаменти или влиянието върху продукцията на NO при пациенти с различна тежест на заболяването и възраст. Той представлява алтернативен метод за преценка на астмата и вероятно ще бъде неразделна част от рутинния мениджмънт на бронхиалната астма по GINA^[6,41]. Друго предимство на този метод е, че измерването на азотния окис в издишания въздух би могло да се използва за определяне на противовъзпалителното действие на терапията.

В заключение, азотният окис може да служи като неинвазивен маркер на възпалението на дихателните пътища и може да бъде полезен за ефикасността на терапията и уточняване на терапевтичните режими с инхалаторните кортикостероиди при пациенти с бронхиална астма. ■

КНИГОПИС:

1. В. Юркуова, Ролята на азотния окис в респираторната патофизиология, Пневмология и физиатрия, 35, 2000, №1, 42-46.
2. В. Юркуова, Дж. А. Росси, Измерване на азотен окис при atopични деца с лека астма, Пневмология и физиатрия, 36, 2001, 14-17.
3. 3. Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthma. *Eur Respir J*, 1993, 1368-1370.
4. Artlich A, Hagenah JU, Jonas S, Ahren P, Gortner L. Exhaled nitric oxide in childhood asthma. *Eur J Pediatr* 155, 1996, 689-701.
5. ATS, ERS recommendations for standardized procedures for online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 171, 2005:912-30.
6. Bahna SL. Should exhaled nitric oxide measurement be part of routine asthma management? *Ann Allergy Asthma Immunol* 109(5), 2012, 289-91.
7. Baraldi E, Azzolin NM, Zanconato, Dario C, Zacchello F. Corticosteroids decrease exhaled nitric oxide in children with acute asthma. *J Pediatr* 131, 1997, 381-385.
8. Baraldi E, Carra S, Dario C, et al. Effect of natural grass pollen exposure on exhaled NO in asthmatic children. *Am J Respir Crit Care Med* 159, 1999, 262-266.
9. Barnes PJ, Belvisi MG. Nitric oxide and lung diseases. *Thorax*. 48, 1993, 1034-1043.
10. Barnes PJ. Nitric oxide and airway disease. *Ann Med*. 27(3), 1995 Jun:389-93.
11. Barnes PJ, Liew FY. Nitric oxide and asthmatic inflammation. *Immunol Tod*. 16(3), 1995 Mar:128-130.
12. Cirillo I, Riccardolo FI, Medusei G, et al. Exhaled Nitric Oxide may predict bronchial hyperreactivity in patients with allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 160(3), 2012, 322-328.
13. De Grouw H, Grunberg K, Schot R, et al. Relationship between exhaled nitric oxide and airway hyperresponsiveness following experimental rhinovirus infection in asthmatic subjects. *Eur Respir J* 11, 1998, 126-132.
14. Deykin A, Halpeern O, Massaro AF, et al. Exhaled nitric oxide after bronchoprovocation and repeated spirometry in patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 157, 1998, 769-775.
15. Dinarevic S, Byrnes CA, Bush A, shinebourne EA. Measurement of exhaled nitric oxide in children. *Pediatr Pulmonol*, 22, 1996, 391-401.
16. Dolovich J, Hargreave FE. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med* 154, 1996, 308-317.
17. Dupont L, Rochette F, Demedts M, et al. Exhaled nitric oxide correlates with airway hyperresponsiveness in steroid-naïve patients with mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 157, 1998, 894-8.
18. Fabbri L, Cremona G, Caramoni G, Piattella M, Romagnoli M. La scoperta dell'ossido nitrico endogeno ha aperto nuove prospettive terapeutiche nella patologia polmonare dell'adulto. *Rassegna di Patologia dell'Apparato Respiratorio* 11, 1996:554-576.
19. Frank T, Adishes A, Pickering A, et al. Relationship between exhaled nitric oxide and childhood asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 158, 1998, 1032-36.
20. Fukuhara A, Saito J, Sato S et al. Validation study of asthma screening criteria based on subjective symptoms and fractional exhaled nitric oxide. *Ann Allergy Asthma Immunol* 107, 2011, 480-6.
21. Jatakanon A, Lim S, Karitovov SA, Chung KF, Barnes PJ. Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax*. 53(22), 1998 Feb:91-5.
22. Karitovov SA, Yates DH, Barnes PJ. Inhaled glucocorticoids decrease nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Am J Res Crit Care Med*, 153(1), 1996, 454-7.
23. Karitovov SA, Alving K, Barnes PJ. Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. The ERS Task Force. *Eur Respir J* 10, 1997: 1683-93.
24. Kips JV, Hargreave FE, et al. Methods for sputum induction and analysis of induced sputum: a method for assessing airway inflammation. *Eur Respir J* 26S, 1998, 95-125.
25. Lanz MJ, Leung DY, McCormick Dr, et al. Comparison of exhaled nitric oxide, serum cationic protein and soluble IL-2 receptor in exacerbations of pediatric asthma. *Pediatr Pulmonol* 24, 1997, 305-311.
26. Ling Pei, Wood F, Robson A, et al. Atopy influences exhaled nitric oxide levels in adult asthmatics. *Chest* 118, 2000, 1327-1331.
27. Little S, Chalmers G, MacLeod K, et al. Non-invasive markers of airway inflammation as predictors of oral steroid responsiveness in asthma. *Thorax* 55, 2000, 232-234.
28. Luvgiddottir D, Janson C, Hogman M, et al. Exhaled nitric oxide and its relationship to airway responsiveness and atopy in asthma. *Respir Med* 93, 1999, 552-6.
29. Majid H, Kao C. Utility of exhaled nitric oxide in the diagnosis and management of asthma *Curr Opin Pulm Med* 16(1), 2010: 42-47.
30. Mitsura Munakata. Exhaled nitric oxide as a non-invasive marker of airway inflammation. *Allergology International*. 61, 2012, 365-372.
31. Moody A, Fergusson W, Wells A, et al. Increased nitric oxide production in the respiratory tract in asymptomatic Pacific Islanders: An association with skin prick reactivity to house dust mite. *J Allergy Clin Immunol* 105, 2000, 895-9.
32. Piacentini G, Bodini A, Costella S, et al. *Eur Respir J* 15, 2000, 730-734.
33. Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A, Evans S, Morris MM, Squillace D, Gleich GJ, Dolovich J, Hargreave FE. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med* 154, 1996, 308-317.
34. Robbins RA, Millatmal T, Lassi K, et al. Smoking cessation is associated with increase in exhaled nitric oxide. *Chest* 112, 1997, 313-318.
35. Redington A, Meng Q, Springall D, et al. Increased expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in the airway epithelium of asthmatic subjects and regulation by corticosteroid treatment. *Thorax* 56, 2000, 351-357.
36. Silvestri M., D. Spallarossa, V. Frangova Yourukova, E. Battistini, B. Fregonese, G. A. Rossi. Orally exhaled nitric oxide levels are related to the degree of blood eosinophilia in atopical children with mild-intermittent asthma. *Eur Respir J*; 1999; 13:321-326.
37. Salome C, Roberts A, Brown N, et al. Exhaled nitric oxide measurements in a population sample of young adults. *Am J Respir Crit Care Med* 159, 1999, 911-6.
38. Stirling R, Karitovov SA, Campbell D, et al. Increase in exhaled nitric oxide levels in patients with difficult asthma and correlation with symptoms and disease severity despite treatment with oral and inhaled corticosteroids. *Thorax* 53, 1998, 1030-34.
39. Turner S. Exhaled nitric oxide in the diagnosis and management of asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 8(1), 2008: 70-6.
40. Van Rensen E, Straathof C, Veselic-Charvat, et al. Effect of inhaled steroids on airway hyperresponsiveness, sputum eosinophils, and exhaled nitric oxide levels in patients with asthma. *Thorax* 54, 1999, 403-408.
41. Verleden G, Dupont L, Verpeut A, Demedts M. The effect of cigarette smoking on exhaled nitric oxide in mild steroid-naïve asthmatics. *Chest* 116, 1999, 59-64.
42. Wang Wen, Huang Ke-wu, Wu, et al. Correlation of eosinophil counts in induced sputum and fractional concentration of exhaled nitric oxide and lung functional in patients with mild to moderate asthma. *Chinese Medical Journal* 125(17), 2012:3157-3160.
43. Yates DH, Karitovov SA, Barnes PJ. Effect of nitric oxide synthase inhibitor and a glucocorticosteroid on exhaled nitric oxide. *Am J Res Crit Care Med*. 152(3), 1995, 892-6.