

UTILITATEA PRACTICĂ A DOZĂRII OXIDULUI NITRIC ÎN AERUL EXPIRAT. EXPERIENȚA CLINICII DE PEDIATRIE A SPITALULUI FILANTROPIA CRAIOVA

Dr. Loredana Șelaru¹, Șef Lucr. Dr. Radu Diaconu¹, Prof. Dr. Ligia Stănescu¹,
Dr. Carmen Diaconu², Șef Lucr. Dr. Mihaela Gheonea³,
Șef Lucr. Dr. Cătălina Bică¹, Șef Lucr. Dr. Florentina Dumitrescu⁴,
Dr. Rebecca Șerban¹

¹Disciplina de Pediatrie, Universitatea de Medicină și Farmacie, Craiova, România

²Policlinica pentru sportivi, Spitalul Clinic Județean de Urgență, Craiova, România

³Disciplina de Neonatologie, Universitatea de Medicină și Farmacie, Craiova, România

⁴Disciplina de Boli Infecțioase, Universitatea de Medicină și Farmacie, Craiova, România

REZUMAT

Dozarea oxidului nitric, un biomarker relativ nou apărut, este o metodă neinvazivă, din ce în ce mai accesibilă clinicienilor utilizată mai ales în domeniul pneumologiei, unde este folosit în monitorizarea inflamației arborelui respirator. Scopul acestei lucrări este prezentarea experienței Clinicii de Pediatrie a Spitalului Filantropia Craiova legată de dozarea oxidului nitric și patologia astmatică, rezultatul a celor 10 ani de experiență cu analizorul portabil al aerului expirat. Am selectat trei dintre cele mai importante lucrări ale noastre, prezentate la Congre-sele ERS (European Respiratory Society).

Cuvinte cheie: oxid nitric, copil, astm

INTRODUCERE

Oxidul nitric este un radical liber de tip gazos cu multiple roluri în homeostazia organismului, cele mai importante fiind cele de neurotransmițător, vaso- și bronhodilatator (1,2). Producția sa endogenă este rezultatul activității enzimatică a nitric oxide synthase (NOS) (3) iar cea mai facilă modalitate de cuantificare este dozarea în aerul expirat (FeNO), o metodă neinvazivă care devine tot mai accesibilă clinicienilor.

Pneumologia, inclusiv cea pediatrică, a fost primul domeniu medical care a încercat să beneficieze de dozarea acestui biomarker relativ nou apărut. În cazul astmului bronșic, determinările realizate au părut că se corelează cu numărul de eozinofile sanguine sau din spută (4) dar rolul său în diagnosticul patologiei inflamatorii cronice este încă neclar (5).

Acumularea în ritm rapid a dovezilor științifice a explicat acest neajuns prin multitudinea de factori

care pot modifica valorile măsurate. Dozarea FeNO poate avea valori reduse la fumători, în timpul episoadelor de bronhoconstricție (6,7) sau dacă astmul are fenotip neutrofilic (5) dar poate fi crescută în cazul altor afecțiuni cu componentă atopică sau inflamatorie cronică (eczeme, rinită alergică, artrită reumatoidă, patologie cronică ORL) (8,9).

MATERIAL ȘI METODĂ

În Clinica de Pediatrie a Spitalului Filantropia Craiova a fost achiziționat în anul 2010 primul aparat portabil de dozare a oxidului nitric în aerul expirat la copil – Niox Mino (Aerocrine).

Aparatul este mic, ușor de folosit atât pentru adulți cât și pentru copii și necesită un expir de 10 secunde, ultimele 3 secunde fiind analizate de un senzor electrochimic calibrat pentru a obține un rezultat definitiv în părți per miliard (ppb). Aparatul este precalibrat, și conceput pentru a asigura utili-

Adresa de corespondență:

Șef Lucr. Dr. Radu Diaconu, Universitatea de Medicină și Farmacie Craiova, Strada Petru Rareș 2-4, Craiova, România
E-mail: raduteodiaconu@yahoo.com

zarea fără service și calibrare (10), dar are o durată de viață limitată (3 ani, sau aproximativ 3.000 de teste), după care este nevoie de o nouă investiție.

În 2015 a fost achiziționat Niox Vero – ultima generație de analizor, cu durată de viață extinsă (5 ani, sau aproximativ 5.000 de teste) iar până în prezent în clinică au fost realizate peste 800 de determinări pediatrice. Față de prima generație, Niox Vero a rezolvat o serie de deficiențe, cum ar fi folosirea fără conectarea continuă la o sursă externă de energie sau un design îmbunătățit al piesei bucale, ceea ce îl face mai ușor de folosit, mai ales de către copii. Poate că cea mai importantă modificare este vizibilitatea îmbunătățită a afișajului, cu un program grafic evoluat, astfel încât elementele vizuale și auditive să asigure complianța optimă.



FIGURA 1. Analizoare portabile: NIOX Mino (stânga) și NIOX Vero (dreapta)

În studiile noastre au fost incluși copii diagnosticați cu astm bronșic în vârstă de peste 7 ani, care au putut efectua probele funcționale ventilatorii (spirometrie și dozare de oxid nitric în aerul expirat). În situații particulare loturile control au fost formate din copii de vârste apropiate celor astmatici, dar fără istoric cunoscut de patologie de tip atopic.

Criteriile de excludere din studii au fost:

- Activitatea fizică intensă cu o oră înaintea începerii probei
- Consumul de alimente (mai ales cele bogate în nitriți) în ora premergătoare probei
- Copii extrem de anxioși la momentul determinărilor
- Adolescenții care au recunoscut sau la care exista o suspiciune întemeiată legată de fumat.

Analiza statistică s-a efectuat folosind testele chi pătrat și t, cu valori semnificativ statistice începând de la $p = 0,05$, așa cum este uzitat în literatura

medicală. Au fost folosite Microsoft Excell și Epi-Info (program freeware distribuit de CDC – Center for Disease Control).

REZULTATE

În anul 2012 am realizat un studiu publicat la Congresul Societății Respiratorii Europene (11) care urmărea corelația între FeNO și alte instrumente diagnostice în astmul bronșic pediatric.

În lot au fost incluse 149 de cazuri de astm (89 băieți) care au fost comparate cu lotul de control non-atopic (100 de cazuri – 55 băieți). Valorile medii ale FeNO pe loturi nu au arătat diferențe notabile $p = 0,19$, $RR = 0,91$ (0,74-1,11). Al doilea instrument folosit pentru evaluarea diagnostică a astmului a fost determinarea IgE serice specifice (cu un panel mixt – alimentar și respirator – recoltat în ambulator la aceeași unitate medicală). În acest caz valorile au avut semnificație statistică, IgE specifice fiind pozitive mai ales în lotul diagnosticat cu astm: $p = 0,01$; $RR = 3,76$ (0,99-14,25). Nu a existat o corelație evidentă între nivelurile oxidului nitric cu valorile IgE serice specifice.

Cu toate acestea, valorile crescute ale oxidului nitric în aerul expirat au fost corelate cu nivelurile mari (peste 300 UI/l) ale IgE serice totale: $p = 0,008$, $RR = 2,34$ (1,15-4,72). Dozarea totală a IgE este însă un marker nespecific și utilitatea ei în diagnosticul patologiei atopice este limitată – investigația este însă foarte accesibilă tehnic și financiar, de aceea ea încă se poate folosi cu rol orientativ.

La aceste prime loturi de pacienți nu am putut identifica o corelație între dozarea FeNO și gradul de control al astmului (evaluat conform criteriilor Global Initiative for Asthma – GINA): $p = 0,45$.

Lotul de studiu a fost apoi împărțit în două subloturi în funcție de tipul de terapie controller (montelukast sodic sau propionat de fluticazonă) pe care o primeau copiii cu astm. Valorile obținute la dozarea oxidului nitric în acel moment nu au fost semnificative statistic: $p = 0,27$.

În al doilea studiu (12), cercetările efectuate în clinică au avut ca principal obiectiv corelarea valorilor oxidului nitric cu regimurile terapeutice în astmul bronșic pediatric. Terapia folosită la pacienții noștri ne-a permis să evaluăm copii ce primeau corticoterapie inhalatorie (propionat de fluticazonă) și/sau inhibitori de leucotriene oral (montelukast sodic). Nu am inclus beta-agoniștii cu durată lungă de acțiune pentru că numărul de astfel de cazuri urmărit de noi este destul de redus.

În studiu au fost incluși 87 copii astmatici: 25 primeau corticosteroizi inhalatori (ICS), 54 Monte-

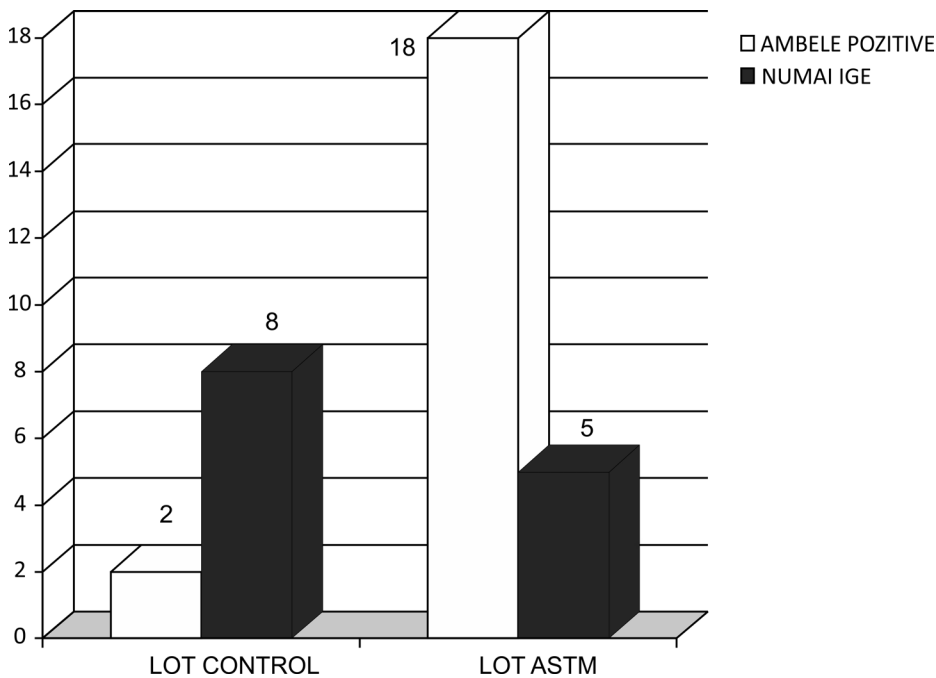


FIGURA 2. Corelația între IgE totale și dozarea FeNO

lukast, 8 biterapie. FeNO a fost măsurat inițial și după 3 luni de tratament. În același timp copiii și aparținătorii au fost rugați să completeze una din variantele pediatrice standardizate de chestionar de control al astmului (c-ACT).

După 3 luni, 52 de cazuri au avut valori mai bune ale oxidului nitric în aerul expirat, iar 71 de copii au raportat valori mai bune la evaluarea de control a astmului. Nivelul FeNO s-a îmbunătățit semnificativ în grupul cu biterapie față de pacienții cu un singur tip de tratament controller: $p=0,04$, $OR=0,18$ (0,007-1,29) versus grupul Montelukast și $p=0,09$ $OR=0,22$ (0,008-1,76) versus grupul ICS. Criteriile folosite pentru confirmarea evoluției pozitive au fost:

- Reducerea cu minim 20% la valorile inițiale de peste 50 ppB (parts per billion)
- Reducerea cu peste 10 ppB în valoare absolută la determinările inițiale sub 50 ppB.

TABEL 1. Corelația între regimurile terapeutice, nivelul oxidului nitric și ACT

		Ameliorare FeNO	Ameliorare ACT	TOTAL
Lot cortico	Băieți	9	12	21
	Fete	6	7	13
Lot montelukast	Băieți	19	29	48
	Fete	11	20	31
Biterapie	Băieți	4	2	6
	Fete	3	1	4
TOTAL		52	71	

Obiectivul secundar al studiului a fost corelarea FeNO cu gradul de control al astmului cuantificat prin c-ACT (Asthma Control TEST). În acest caz rezultatele nu au arătat o corelație evidentă, 53% din copiii cuprinși în studiu având o evoluție discordantă a celor doi indicatori urmăriți.

Un al treilea studiu (13) efectuat în clinica noastră a urmărit o categorie specială de pacienți pediatrice (copiii practicanți de sport de performanță) și s-a bazat pe colaborarea cu Policlinica pentru Sportivi din Craiova. Au fost incluși 87 copii (49 băieți) practicanți de sport de performanță cu vârsta între 12 și 17 ani, versus 75 de copii (39 băieți) din lotul control.

TABELUL 2. Copii practicanți de sport de performanță

		ATLETISM	FOTBAL	SCRIMĂ	JUDO
GRUP DE STUDIU	băieți	13	19	10	7
	fete	14	7	12	5
GRUP CONTROL	băieți	39			
	fete	36			

Prevalența astmului a fost similară între cele două loturi: 13 sportivi și 11 în lotul de control, $p = 0,96$, $RR = 1,01$ (0,48-2,13) și în cadrul lotului de sportivi – între sporturile de exterior și cele de sală.

Dozarea FeNO a fost relativ similară între loturi cu o medie de 15,66 ppB (la sportivi) versus 14,6 ppB (lot control): $p = 0,54$ (t test). Când s-au comparat însă sportivii de sală cu lotul de control rezultatele au avut o diferență semnificativă pentru că

media FeNO la acest sublot a fost 20,21 ppB: $p = 0,007$ (t test). Practic sportivii care practicau un sport de sală au avut nivele crescute ale oxidului nitric în aerul expirat.

DISCUȚII

Ca și la spirometrie, determinarea pe scară largă a FeNO este legată de complianța pacientului, iar în pediatrie – deși există date pentru vârste mai mici (14) – de obicei nu se pot obține valori de încredere sub 5-6 ani, chiar dacă noile analize folosite uzual au un design îmbunătățit (15,16,17). Cu toate acestea, există cercetări care raportează procente de succes de peste 90% la copii în jurul vârstei de 4 ani (18,19). Rolul investigatorului este însă mult mai redus decât la spirometrie pentru că aparatul este astfel calibrat încât rezultatele valide sunt afișate automat numai după ce subiectul a respectat recomandările tehnice în vigoare. (20)

Câteva cercetări din ultima decadă au încercat să stabilească o echivalență între cele mai frecvent folosite dispozitive de determinare a oxidului nitric în aerul expirat, iar rezultatele sunt încurajatoare, ceea ce a permis stabilirea unor standarde aplicabile la scară largă (21,22).

Deși există neajunsuri ale metodei, dozarea oxidului nitric în aerul expirat reprezintă încă un subiect de mare interes în managementul astmului, mai ales cel pediatric, în ultimul ghid GINA (Global Initiative for Asthma) fiindu-i recunoscut rolul predictiv pentru astm la copiii de vârstă mică (23)

dar și utilitatea în monitorizarea tratamentului la copil (24).

CONCLUZII

Dozarea oxidului nitric în aerul expirat a fost percepută inițial drept un salt imens în monitorizarea inflamației în bolile cronice respiratorii pediatrice, mai ales în astmul bronșic. De aceea, cercetările noastre au fost îndreptate de la bun început în evaluarea eficienței sale diagnosticul și managementul terapeutic al acestei patologii. Dacă ar fi să sistematizăm concluziile principalelor noastre cercetări, cele mai importante sunt:

Corelația valorilor FeNO cu alte ”unelte” de monitorizare a astmului bronșic pediatric este încă improbabilă. Legătura pe care am stabilit-o cu IgE serice totale nu este foarte folositoare, atât timp cât și acestea din urmă sunt destul de nespecifice.

Coroborarea valorilor FeNO cu regimurile terapeutice din astm este și ea destul de relativă, cazurile severe, cu terapie asociată, având înregistrate valori mai mari.

Efortul fizic susținut, propriu sportivilor de performanță, nu a influențat semnificativ datele obținute, cu excepția sporturilor de sală, unde probabil mediul în care își desfășurau activitatea sportivii a avut un rol determinant.

Ca o concluzie finală, în opinia noastră, dozarea oxidului nitric în aerul expirat este o metodă promițătoare, dar cu rol încă adjuvant în monitorizarea patologiei inflamatorii cronice de tip astmatic la copil.

BIBLIOGRAFIE

1. Belvisi MG, Ward JK, Mitchell JA, Barnes PJ. Nitric oxide as a neurotransmitter in human airways. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1995; 329:97.
2. Mélot C, Vermeulen F, Maggiorini M et al. Site of pulmonary vasodilation by inhaled nitric oxide in microembolic lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:75.
3. Nathan C, Xie QW. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell* 1994; 78:915.
4. American Thoracic Society, European Respiratory Society. ATS/ERS Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Offline Measurement of Exhaled Lower Respiratory Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:912-30.
5. <https://ginasthma.org/gina-reports/> - accessed in december 2018
6. Haccuria A, Michils A, Michiels S, Van Muylem A. Exhaled nitric oxide: a biomarker integrating both lung function and airway inflammation changes. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134:554-9.
7. Xu X, Hu H, Kearney GD, Kan H, Carrillo G, Chen X. A population-based study of smoking, serum cotinine and exhaled nitric oxide among asthmatics and a healthy population in the USA. *Inhal Toxicol*. 2016 Dec; 28(14):724-730.
8. Faekah Gohar, Christoph Kessel, Miha Lavric, Dirk Holzinger, Dirk Foell. Review of biomarkers in systemic juvenile idiopathic arthritis: helpful tools or just playing tricks? *Arthritis Res Ther*. 2016; 18: 163
9. Sara Torretta, Lorenzo Drago, Paola Marchisio, Maurizio Cappadona, Vittorio Rinaldi, Erica Nazzari, Lorenzo Pignataro. Recurrences in chronic tonsillitis sustained by tonsillar biofilm-producing bacteria in children. Relationship with the grade of tonsillar hyperplasia. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2013 Feb; 77(2): 200-204
10. Harman SE, Tappenden P, Essat M et al. Measurement of exhaled nitric oxide concentration in asthma: a systematic review and economic evaluation of NIOX MINO, NIOX VERO and Nobreath, Health Technology Assessment, No. 19.82. *Southampton* (UK): NIHR Journals Library; 2015 Oct.
11. R Diaconu, C Diaconu, G Dumitra. Exhaled nitric oxide and serum IgE in children admitted to a pediatric department. *Eur Respir J* 2012; 40: Suppl. 56, 4577
12. R. Diaconu, L. Stanescu, C. Diaconu, G. Calin. Exhaled nitric oxide and the therapeutic regimens in childhood asthma. *Eur Respir J* 2013; 42: Suppl. 57, 1119
13. Radu Diaconu, Ligia Stanescu, Carmen Diaconu, Carmen Niculescu. Exhaled nitric oxide in pediatric athletes admitted to a sports medicine

- department. *Eur Respir J* 2015; 46: Suppl. 59, 3648
14. Van der Heijden HH, Brouwer ML, Hoekstra F, van der Pol P, Merkus PJ. Reference values of exhaled nitric oxide in healthy children 1-5 years using off-line tidal breathing. *Pediatr Pulmonol.* 2014 Mar;49(3):291-5
 15. Rickard Kathleen, Jain Neal, MacDonald-Berko M (2018). Measurement of FeNO with a portable, electrochemical analyzer using a 6-second exhalation time in 7-10-year-old children with asthma: Comparison to a 10-second exhalation. *The Journal of asthma: Official journal of the Association for the Care of Asthma.* 1-6. 10.1080/02770903.2018.1541350.
 16. Crater Glenn, Rickard Kathy, Jain Neal (2017). Successful Fractional Exhaled Nitric Oxide Measurements with NIOX VERO using 6- and 10-s Exhalation Modes in Children with Asthma Aged 4–10 Years: A Randomized Study. *Pulmonary Therapy.* 10.1007/s41030-017-0028-4.
 17. Prado Olaia, Pérez-Yarza Eduardo, Aldasoro Ruiz A, Murua Javier, Mintegui Aranburu J, Emparanza Jose (2008). Fracción exhalada de óxido nítrico: validación de la medida con tiempo de espiración de 6 s con dos analizadores diferentes. *Anales De Pediatría - AN PEDIATR.* 69. 221-226. 10.1157/13125815.
 18. Heijkenskjöld-Rentzhog C, Kalm-Stephens P, Nordvall L, Malinovschi A, Alving K. New method for single-breath fraction of exhaled nitric oxide measurement with improved feasibility in preschool children with asthma. *Pediatr Allergy Immunol.* 2015 Nov;26(7):662-7. doi: 10.1111/pai.12447. Epub 2015 Aug 13.
 19. Jill R. Hanson, Stephen A. De Lurgio, David D. Williams and Chitra Dinakar. Office-based exhaled nitric oxide measurement in children 4 years of age and older, *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 111, 5, (358), (2013).
 20. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, Irvin CG, Leigh MW, Lundberg JO et al. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184:602-15.
 21. National Institute for Health and Care Excellence. Measuring fractional exhaled nitric oxide concentration in asthma: NIOX MINO, NIOX VERO and NO breath. *NICE diagnostics guidance* 12. 2014.
 22. Schiller B, Hammer J, Barben J, Trachsel D. Comparability of a hand-held nitric oxide analyser with online and offline chemiluminescence-based nitric oxide measurement. *Pediatr Allergy Immunol.* 2009;20:679–85.
 23. Caudri D, Wijga AH, Hoekstra MO, Kerkhof M, Koppelman GH, Brunekreef B, Smit HA et al. Prediction of asthma in symptomatic preschool children using exhaled nitric oxide, Rint and specific IgE. *Thorax* 2010;65:801-7.
 24. Petsky HL, Kew KM, Chang AB. Exhaled nitric oxide levels to guide treatment for children with asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2016;11: Cd011439