

# Выдыхаемый оксид азота как дополнительный диагностический инструмент в амбулаторной практике

А.И. Рогачиков, А.В. Шаханов, О.М. Урясьев

ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»

Представлены характеристика оксида азота, его метаболизм, методы измерения, диагностическая ценность. Опыт применения в условиях амбулаторной практики показал ценность определения выдыхаемого оксида азота при респираторных заболеваниях.

**Ключевые слова:** пульмонология, выдыхаемый оксид азота, оксид азота.

Измерения оксида азота в выдыхаемом воздухе – современный клиничко-диагностический метод, который встает на одну ступень с основными методами оценки функционального состояния дыхательных путей – спирометрией и пикфлоуметрией [8]. Фракция выдыхаемого оксида азота (FeNO) дает современную оценку патофизиологических процессов, происходящих в дыхательных путях при различных заболеваниях. Особую ценность данный метод имеет в диагностике и лечении бронхиальной астмы – одного из самых распространенных заболеваний среди детей и взрослых [5].

Оксид азота (NO) – бесцветный мономерный парамагнитный газ с низкими температурами плавления и кипения. Молекула NO по своей структуре является простым радикалом, легко образует ковалентные связи, поэтому среднее время жизни этой молекулы в организме человека – около 5 секунд [2, 6]. К сожалению, долгое время NO воспринимался только как вредный газ, который входит в состав табачного дыма и выхлопа автомобилей. Полезные свойства оксида азота начали бурно изучать в конце 1980-х гг. NO получил звание «молекула года» в журнале Science в 1992 г., а в 1998 г. работы по изучению синтеза оксида азота в клетках млекопитающих и его роли в расширении кровеносных сосудов были отмечены Нобелевской премией [6, 11].

NO в организме образуется в результате окисления аминокислоты L-аргинина с образованием другой аминокислоты L-цитруллина под влиянием фермента NO-синтазы (NOS) [19]. Фермент назван синтазой, а не синтетазой, так как для его работы не требуется энергия АТФ [26]. NO-синтаза делится на конститутивную (сNOS) и индуцибельную (iNOS или NOS-2). Конститутивная NOS включает следующие изоформы: нейрональную (nNOS, или NOS-1) и эндотелиальную

(eNOS, или NOS-3). Конститутивные NOS являются кальций- и кальмодулин-зависимыми, срок активации ферментов – несколько секунд. Индуцибельная NOS регулируется на уровне претрансляции и вырабатывает NO через несколько часов после индукции в течение долгого количества времени (до нескольких дней) и в больших количествах, чем конститутивные синтазы.

Выработанный эндотелиальной NOS оксид азота проникает в клетки гладкой мускулатуры сосудов, где активирует растворимую гуанилатциклазу. В свою очередь, выработанный после индукции гуанилатциклазы цГМФ вызывает релаксацию сосудов. Синтезированный в клетках эндотелия оксид азота участвует в регуляции сосудистого тонуса. Путем образования эндогенного оксида азота действуют широко применяемые лекарства – нитроглицерин, нитропруссид, нитросорбид и др. Нейрональная NOS локализуется в нервных клетках. В легких эти нервные волокна присутствуют в гладкой мускулатуре дыхательных путей, где NO является основным посредником для нейронного расслабления мышц. Плотность этих волокон уменьшается от трахеи к дистальным бронхам, поэтому нейронная бронходилатация при посредничестве ингибирующей системы нехолинергической неадренергической иннервации (iNANC-системы) слабеет с уменьшением калибра дыхательных путей. В легких iNOS преимущественно экспрессируется в макрофагах, в эпителиальных клетках дыхательных путей и в Т-лимфоцитах. Активация фермента происходит множеством факторов, которые делятся на эндогенные, например цитокины, хемокины, и экзогенные, такие как бактериальные токсины, аллергены, вирусные инфекции, загрязнители окружающей среды, гипоксия, опухоли и др. [3, 15, 20, 26].



В легких имеются различные типы клеток (клетки гладкой мускулатуры сосудов и дыхательных путей, эндотелиальные клетки сосудов, эпителиальные клетки дыхательных путей, нейроны, пневмоциты, макрофаги и др.), способных производить оксид азота через одну или несколько NO-синтаз. В норме NO участвует в регуляции дыхания, поддержании иммунного статуса, сердечно-сосудистом гомеостазе, мерцании ресничек эпителия бронхов, клеточном апоптозе. То есть при помощи оксида азота координируется и контролируется бронхиальный поток воздуха, а также общий и чаще — локальный кровоток в легких; оксид азота принимает участие в ответной реакции организма на действия чужеродных агентов [1, 4].

NO довольно быстро реагирует с кислородом, образуя нитриты и нитраты. Результатом его взаимодействия с супероксид анионом ( $O_2^-$ ) является высокореактивный пероксинитрит анион ( $ONOO^-$ ). Он используется в процессе фагоцитоза активированными интерфероном-гамма макрофагами.  $ONOO^-$  быстро окисляет и нитрозилирует ароматические аминокислоты, липиды и ДНК.

Также оксид азота реагирует с оксигемоглобином, образуя метгемоглобин; с аминокислотами образует конечные продукты, включая S-нитрозоцистеин и 3-нитротирозин; с тиолами (активными составляющими антиоксидантов) образует S-нитрозотиолы и S-нитрозоглутатион. Последний увеличивает биение ресничек эпителия бронхов и обладает бронходилатирующим цГМФ-независимым эффектом [1].

## Измерение оксида азота

Выдыхаемый оксид азота определяется при помощи аппаратов — газоанализаторов. Наиболее распространенной технологией определения является хемилюминесцентный анализ, основанный на обнаружении света, когда NO вступает в реакцию с озоном с образованием неустойчивого радикала  $NO_2^-$  и кислорода. Затем  $NO_2^-$  быстро преобразуется в  $NO_2$  с испусканием фотона. Количество фотонов регистрирует специальным датчиком. Электрохимический метод основан на электрохимическом окислении NO на твердых электродах. Другие технологии определения оксида азота включают в себя абсорбирующую спектроскопию (Tunable diode laser absorption spectroscopy — TDLAS) и лазерную магнитно-резонансную спектроскопию. Также оксид азота и его метаболиты исследуют в конденсате выдыхаемого воздуха. Методы исследования NO делятся на онлайн (в режиме реального времени) и офлайн (автономные). При онлайн-исследовании оксид азота измеряется непосредственно при выдохе пациента и прохождении воздуха через газоанализатор. При офлайн исследовании выдыхаемый воздух сначала помещается в резервуар, после чего оценивается количество газа. В физиологических условиях оксид азота образуется

больше в верхних дыхательных путях, чем в нижних. Роль «носового» NO заключается в сохранении стерильности синусов, а также в модуляции цилиарной подвижности. Для предотвращения неверных диагностических результатов при исследованиях создают специальные условия, препятствующие смешению носового и легочного оксида азота [9, 21]. Скорость потока выдыхаемого воздуха рекомендована 50 мл/с при онлайн-измерении, так как высокая скорость потока уменьшает время прохождения альвеолярного воздуха по дыхательным путям, тем самым снижая FeNO, и наоборот, низкая скорость приводит к увеличению FeNO [13]. Также существует метод отдельного подсчета NO в бронхиальном и альвеолярном воздухе [12]. Рекомендации для стандартизации измерения оксида азота в выдыхаемом воздухе были опубликованы и обновлены целевой группой из Американского торакального общества и Европейского респираторного общества (ATS/ERS) [9].

На уровень FeNO влияет ряд неспецифических факторов, которые стоит принимать во внимание при обработке результатов. Самыми значимыми факторами являются: пол, возраст, наличие атопии, табакокурение. Уровень FeNO выше у мужчин, растет с возрастом (особенно у детей), повышен у лиц с атопией (выявлена сильная корреляция FeNO с атопией, подтвержденной методом кожных проб). Пассивное и активное табакокурение снижает уровень оксида азота в выдыхаемом воздухе, это может быть связано с наличием в дыме высоких концентраций активных форм кислорода, которые, взаимодействуя с NO, образуют  $NO_3^-$ , а также может играть роль непосредственное токсическое поражение NO-продуцируемых клеток у курильщиков и снижение активности NO-синтаз из-за большого содержания оксида азота в сигаретном дыме [23, 24].

## Диагностическая ценность

Главная диагностическая ценность оксида азота в выдыхаемом воздухе заключается в том, что он способен показать наличие и степень воспаления в дыхательных путях. При астме различают ранний и поздний воспалительные ответы, хотя выраженность каждого из них у разных пациентов варьируется. Ранний ответ характеризуется дегрануляцией тучных клеток в дыхательных путях. Медиаторы тучных клеток действуют непосредственно на гиперреактивные мышечные волокна бронхов, вызывая обструкцию дыхательных путей. Длительность раннего ответа — несколько часов с пиком на 15–30 минут после начала. Поздний ответ бывает у 30–70 % пациентов, характеризуется вторым периодом бронхоспазма начиная с 3–4 часа после вдоха аллергена и длится около суток. Возникает вследствие увеличения в дыхательных путях клеточных элементов, преимущественно эозинофилов, тучных клеток и лимфоцитов. В результате выпуска специфических медиаторов этими клетками возникают локальные и системные эффекты.





Помимо того что данные медиаторы сами вызывают воспаление, они активируют специфические ферменты в клетках. Одним из таких ферментов и является NO-синтаза [16]. Основное клиническое применение FeNO связано со следующими ключевыми моментами: уровень выдыхаемого NO взаимосвязан с эозинофильным воспалением дыхательных путей, а эозинофильное воспаление связано с положительным ответом на терапию глюкокортикостероидами. Ряд исследований выявил, что FeNO коррелирует с количеством эозинофилов в индуцированной мокроте, в бронхоальвеолярном лаваже и в биопсийном материале. Также установлена корреляция между изменениями уровней выдыхаемого оксида азота и количеством эозинофилов в индуцированной мокроте при лечении ингаляционными кортикостероидами (ИГКС). В клинической практике измерение FeNO можно проводить для достижения следующих целей:

- а) для оценки эозинофильного воспаления дыхательных путей;
- б) прогнозирования и мониторинга ответа организма на терапию ингаляционными глюкокортикостероидами;
- в) прогнозирования обострений и поддержания контроля бронхиальной астмы.

Оценка эозинофильного воспаления дыхательных путей важна при диагностике легочных заболеваний, характеризующихся эозинофилией, таких как атопическая астма, кашлевой вариант астмы, эозинофильный бронхит. Полезным FeNO может быть при обследовании пациентов с легкой степенью тяжести респираторного заболевания и с нормальными показателями функции внешнего дыхания, например исследования выявили повышенный уровень выдыхаемого NO у пациентов с легкой атопической астмой, у которых не выявлено отклонений в традиционных тестах функции легких. Однако стоит отметить, что нормальный FeNO не исключает астму, особенно если не выражен атопический компонент заболевания, поэтому измерение выдыхаемого оксида азота нужно рассматривать как дополнительный к уже существующим метод обследования. Уровень выдыхаемого оксида азота не показывает тяжесть бронхиальной астмы, не коррелирует с показателем ОФВ<sub>1</sub>, что может помочь для проведения дифференциального диагноза, например, между астмой и ХОБЛ. Адекватность противовоспалительной терапии и контроль астмы оцениваются главным образом на основе клинических симптомов и показателей функций внешнего дыхания. Критерии контроля можно дополнить измерением NO в выдыхаемом воздухе для оценки воспаления дыхательных путей. FeNO быстро снижается после начала противовоспалительной терапии и увеличивается с нарастанием воспаления в дыхательных путях. Больные БА с высоким уровнем FeNO лучше отвечают на терапию ингаляционными кортикостероидами, причем показатели снижения выдыхаемого оксида азота после начала стероидной терапии – дозозависимые, что мо-

жет быть полезным для уточнения дозировки ИГКС и сокращения контроля над бронхиальной астмой. Также в оценке контроля астмы можно учитывать данные о повышении уровня выдыхаемого оксида азота перед периодом обострения [14, 15].

Данные о результатах измерений FeNO у больных с ХОБЛ разнятся, однако удалось выявить повышение уровней FeNO у неатопических некурящих пациентов со стабильным течением, а также у пациентов в фазе обострения ХОБЛ. Также выявлено, что у курильщиков и пациентов с тяжелой степенью ХОБЛ (особенно в сочетании с легочным сердцем) более низкие уровни FeNO, чем у бывших курильщиков и пациентов с нетяжелой степенью заболевания. Возможно, более информативной может быть оценка уровней выдыхаемого оксида азота в динамике при обострении и стабильном течении ХОБЛ, а также оценка альвеолярной фракции, получаемой при измерении NO при множественных экспираторных потоках, как потенциальный маркер воспаления в дистальных отделах легких [15, 17].

При первичной легочной гипертензии обнаружено понижение уровня выдыхаемого оксида азота. Развитие первичной легочной гипертензии связывают с пониженной экспрессией эндотелиальной NOS. NO регулирует пролиферацию эндотелиальных клеток и ангиогенез в легких. Недостаток оксида азота при данном заболевании подтверждается эффектами при ингаляции NO: снижением систолического и среднего давления в легочной артерии, легочного сосудистого сопротивления и повышением сердечного выброса. Интересно, что экспрессия eNOS снижается при курении. В исследовании, где сигаретным дымом воздействовали на эндотелиальные клетки легочной артерии в пробирке, выявили дозозависимое снижение активности фермента. Поэтому можно считать, что хроническое воздействие сигаретного дыма может вносить вклад в развитие легочной гипертензии [10, 15].

В данное время на базе кафедры факультетской терапии с курсами эндокринологии, клинической фармакологии, профессиональных болезней и фармакотерапии ФДПО Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова проходит практическое применение аппарата QuarkNObreath. Данный аппарат относится к портативным с газоанализатором электрохимического типа с чувствительностью датчика в 5 ppb. Преимуществом данных аппаратов является портативность (габариты 152 × 87 × 47 мм, вес 400 г), доступное и легкое управление, возможность проведения исследования как у взрослых, так и у детей. Данный газоанализатор по качеству исследований не уступает стационарным газоанализаторам и соответствует всем рекомендациям ATS/ERS [18, 22].

В амбулаторных условиях подтвердились преимущества портативного образца газоанализатора: для него не требуется много места, исследование может выполняться непосредственно лечащим врачом после



недлительного изучения руководства по эксплуатации. Дыхательный маневр прост и понятен большинству пациентов, однако некоторые из них не в состоянии его выполнить вследствие выраженной дыхательной недостаточности. Как правило, такие пациенты пожилого возраста с тяжелой неконтролируемой бронхиальной астмой и рядом сопутствующих заболеваний.

Исследование ведется, опираясь на ключевые понятия: уровень FeNO повышен у лиц с бронхиальной астмой и атопией; повышенный уровень FeNO указывает на чувствительность больного к терапии ингаляционными кортикостероидами [16, 25]. Основываясь на данные понятия, исследование выдыхаемого оксида азота нашло свою нишу в практическом применении. При первичном приеме у пульмонолога пациентов с хроническими респираторными симптомами на результаты FeNO можно опираться при дифференциальной диагностике, снижая вероятность наличия БА при нормальных значениях оксида азота, и, наоборот, предполагать наличие эозинофильного бронхита или различных вариантов бронхиальной астмы при средних и высоких уровнях оксида азота. У лиц с первичными высокими цифрами FeNO назначение ингаляционных глюкокортикостероидов давало значительно более выраженный эффект, чем у лиц с первично низким и средним уровнем FeNO.

Отдельно стоит отметить ценность измерения оксида азота у обратившихся больных с БА в сочетании с коморбидной патологией. У данных пациентов респираторные симптомы могут обостряться вследствие потери контроля над астмой либо из-за гипертонической болезни, ишемической болезни сердца, гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, ринита, ожирения и других патологий. На основании низких показателей FeNO и высоких цифр артериального давления некоторым пациентам, страдающим БА и гипертонической болезнью, которые обратились с усилением одышки, рекомендовано увеличение дозировок или смена антигипертензивных препаратов. Впоследствии с нормализацией цифр артериального давления состояние пациентов улучшалось. Обследовано несколько пациентов с неврологическими расстройствами с респираторным синдромом. На основании высоких значений FeNO и доказанной в последующем обратимой бронхообструкции на спирографии у одной из пациенток заподозрили БА. Впоследствии после курса ингаляционных кортикостероидов у пациентки нормализовались значения NO в выдыхаемом воздухе и отсутствовали ночные респираторные симптомы (затруднения в дыхании, одышка, тяжесть в груди).

При условии внедрения газоанализаторов, измеряющих оксид азота в выдыхаемом воздухе, в повседневную амбулаторную практику врачи-пульмонологи могут измерять и вносить результаты исследований в амбулаторную карту. Такие долгосрочные динамические показатели FeNO могут дать дополнительную информацию о состоянии пациента, о степени выраженности

эозинофильного воспаления в дыхательных путях. На основе таких данных можно корректировать терапию бронхиальной астмы.

Таким образом, определение фракции оксида азота в выдыхаемом воздухе является современным методом, который в комплексе с другими диагностическими исследованиями может расширить информацию о состоянии пациента, уточнить его ведение и дальнейшее лечение.

### Литература

1. Абатуров А.Е. Роль монооксида азота в системе неспецифической защиты организма // Здоровье ребенка. — 2009. — № 1 (16).
2. Гринвуд Н.Н., Эрншо А. Химия элементов. — М.: ИД «Бином», 2008.
3. Зеленкин К.Н. Оксид азота (II): новые возможности давно известной молекулы // Соросовский образовательный журнал. — 1997. [Электрон. ресурс]. — Режим доступа: <http://www.pereplet.ru/obrazovanie/stsoros/419.html> (дата обращения: 20.02.2014).
4. Малахов В.А., Монастырский В.О., Джанелидзе Т.Т. Оксид азота и иммунонейроэндокринная система // Международный неврологический журнал. — 2008. — № 3 (19).
5. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». — 3-е изд., испр. и доп. — М.: «Атмосфера», 2008.
6. Недоспасов А.А., Беда Н.В. Биогенные оксиды азота // Природа. — 2005. — № 7.
7. Сосунов А.А. Оксид азота как межклеточный посредник // Соросовский образовательный журнал. — 2000. — Т. 6, № 12.
8. Ходош Э.М. Очерк по эволюции спирометрии // Новости медицины и фармации. — 2012. — № 6 (404).
9. American Thoracic 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: 912–930.
10. Baysal Ayse, Nitric Oxide II: Therapeutic Uses and Clinical Application / Ayse Baysal // Turk. J. Med. Sci. 2002; 32: 1–6.
11. Culotta E. NO news is good news // Jr. Science. 1992; 258: 1862–1865.
12. Sandrah P. Eckel et al. Estimation of Parameters in the Two-Compartment Model for Exhaled Nitric Oxide // PLoS One. 2014; 17: 9 (1).
13. Deykin A. et al. Exhaled nitric oxide as a diagnostic test for asthma: online versus offline techniques and effect of flow rate // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2002; 165 (12): 1597–601.
14. Peter J. Barnes et al. Exhaled Nitric Oxide in Pulmonary Diseases A Comprehensive Review // Chest. 2010; 138: 682–692.



15. Taylor D.R. et al. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation // *Thorax* 2006; 61: 817–827.
16. Sandrini A. et al. Fractional exhaled nitric oxide in asthma: an update // *Respirology Volume* 2010; 15 (1): 57–70.
17. Mohammed F.S. Beg et al. Exhaled nitric oxide in stable chronic obstructive pulmonary disease // *Ann. Thorac. Med.* 2009; 4 (2): 65–70.
18. Pisi R. et al. Measurement of fractional exhaled nitric oxide by a new portable device: comparison with the standard technique // *J Asthma* 2010; 47 (7): 805–9.
19. Nathan C., Xie Q.W. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls // *Cell* 1994; 78: 915–8.
20. Fabio L. M. Ricciardolo et al. Nitric Oxide in Health and Disease of the Respiratory System // *Physiol Rev.* 2004; 84.
21. Pijnenburg Mariëlle W.H. Towards Better Treatment of Childhood Asthma: Inflammometry with Exhaled Nitric Oxide: dissertation, Erasmus MC: University Medical Center Rotterdam [Электрон. ресурс]. – Режим доступа: <http://repub.eur.nl/pub/7835> (дата обращения: 18.09.2013).
22. Quark NO breath [Электрон. ресурс]. – Режим доступа: <http://www.cosmed.com/en/products/pulmonary-function/quark-nobreath-nitric-oxide-monitor> (дата обращения: 20.10.2014).
23. Travers J. et al. Reference ranges for exhaled nitric oxide derived from a random community survey of adults // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007; 176: 238–42.
24. Debra J. Brody et al. Reference values and factors associated with exhaled nitric oxide: U.S. youth and adults // *Respiratory Medicine* 2013; 107: 1682–1691.
25. Price D. et al. Using fractional exhaled nitric oxide (FeNO) to diagnose steroid-responsive disease and guide asthma management in routine care // *Clinical and Translational Allergy* 2013; 3 (1): 37.
26. Cleva V., Giulivi C. Subcellular and cellular locations of nitric-oxide synthase isoforms as determinants of health and disease // *Free Radic. Biol. Med.* 2010 August, 1; 46 (3): 307–316.

---

**Exhaled nitric oxide as an additional diagnostic tool in ambulatory practice**

*A. I. Rogachikov, A. V. Shakhanov, O. M. Uryasev  
Ryazan State Medical University*

The article presents the characteristics of nitric oxide and its metabolism, methods of measurement, and diagnostic value. Application experience in terms of ambulatory practice showed the value of determination of exhaled nitric oxide in respiratory diseases.

**Keywords:** pulmonology, exhaled nitric oxide, nitric oxide.

