

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ПЛОВДИВ**

**Катедра по Патологична физиология**

---

**Ръководител: Чл-кор. проф. д-р Стефан Костянев, дмн**

**Д-р Петър Кирилов Димов**

**МЕТОДИ ЗА НЕИНВАЗИВНА ОЦЕНКА НА  
ВЪЗПАЛЕНИЕТО В ДИХАТЕЛНАТА СИСТЕМА –  
СЪВРЕМЕННИ ТЕНДЕНЦИИ**

**АВТОРЕФЕРАТ**



**ПЛОВДИВ, 2015 г.**

**Д-р Петър Кирилов Димов**

**МЕТОДИ ЗА НЕИНВАЗИВНА ОЦЕНКА НА  
ВЪЗПАЛЕНИЕТО В ДИХАТЕЛНАТА СИСТЕМА –  
СЪВРЕМЕННИ ТЕНДЕНЦИИ**

**АВТОРЕФЕРАТ**

на дисертационен труд  
за присъждане на образователната и научна степен  
“ДОКТОР”

Научна специалност – 03.01.05

**Научен ръководител:**

**Чл-кор. проф. д-р Стефан Костянев, дмн**

**Официални рецензенти:**

**проф. д-р Тодор Попов, дм  
доц. д-р Светлан Дерменджиев, дм**

**ПЛОВДИВ, 2015 г.**

Дисертационният труд съдържа 99 страници, 25 фигури и 12 таблици. Библиографският списък включва 157 източника, от които 3 на български и 154 на латиница.

В четирите отделни описани научни проучвания са изследвани общо 88 лица (пациенти и здрави доброволци) и са извършени 123 визити, съгласно съответните протоколи.

Дисертационният труд е одобрен и насочен за защита от разширен катедрен съвет на катедрата по патологична физиология при Медицински университет – Пловдив.

## СПИСЪК С ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

- АКН** – артериално кръвно налягане
- БДТ** – бронходилататорен тест
- БПД** – бронхопулмонална дисплазия
- БХР** – бронхиална хиперреактивност
- ВЕД** – върхов експираторен дебит
- ИКС** – инхалаторни кортикостероиди
- ИТМ** – индекс на телесната маса
- МСЕД<sub>25-75</sub>** - максимален среден експираторен дебит.
- ТБК** – тотален белодробен капацитет
- ТИВ** – температура на издишан въздух
- ФВК = FVC** – форсиран витален капацитет
- ФЕО<sub>1</sub> = FEV<sub>1</sub>** – форсиран експираторен обем за една секунда
- ФИД** – функционално изследване на дишането
- ХОББ** – хронична обструктивна белодробна болест
- DL<sub>co</sub>** – дифузионен капацитет за въглероден оксид
- FeNO** – фракция на азотен оксид в издишан въздух
- HbO<sub>2</sub>** – сатурация на хемоглобина с кислород
- MMP-9** – матриксна металопроотеаза 9
- NOs** – азотноокисна синтетаза
- NSCLC** – недребноклетъчен белодробен карцином
- PC<sub>20</sub>** – пределна концентрация, при която се наблюдава 20% спад в измервания параметър
- PD<sub>20</sub>** - пределна доза, при която се наблюдава 20% спад в измервания параметър
- PET** – върхова експираторна температура
- PLET** – температурата в края на ексспириума, която се задържа платовидно
- pMDI** – дозир аерозол за инхалаторно приложение
- pO<sub>2</sub>** – парциално налягане на кислород
- ppb** – частички на милиард
- Q<sub>aw</sub>** – количество кръв, преминала през дихателните пътища

## I. ВЪВЕДЕНИЕ

Хроничните възпалителни заболявания на дихателната система са актуален проблем в медицината днес. Епидемиологичните данни сочат, че честотата им в световен мащаб е значително висока, а тенденциите са да се увеличава още повече<sup>82</sup>, отчасти заради пропуските в диагностиката, отчетността и респективно статистиката. Сред мерките, предприети за борба с неточността на наличната информация са оформяне на унифицирани дефиниции за бронхиална астма, екзацербация и други ключови понятия. Във Великобритания заболеваемостта от астма сред децата достига над 20%<sup>Kaur</sup>. Доказано е, че по-развитото в индустриален план общество е изложено на още по-висок риск от развитие на алергични заболявания, най-голям брой от които са тези на дихателната система, поради огромната ѝ контактна повърхност с външната среда и практическата невъзможност да бъде изолирана или предпазена ефективно. Друг голям фактор е настоящото ниво на медицината по отношение справяне с тези болести – в огромния процент от случаите, лечението е патогенетично. По правило, бронхиалната астма, алергичният ринит, ХОББ, подлежат на контрол, но не и на дефинитивно излекуване. Засега обаче, имаме възможност да се стремим към постигане на максимално добър контрол, профилактиране на екзацербации, а в някои случаи и на развитието на други заболявания, на фона на вече изявените. От огромно значение днес са все по-съвършените методи за диагностика, които могат бързо, безопасно, с голяма чувствителност и специфичност и разумна цена, да ни посочат патологичните отклонения още в най-ранна фаза. Неинвазивните изследвания са във фокуса на най-активните научни търсения в тази сфера, именно защото отговарят на горните условия. Вече намира приложение и електронният нос, който пренася неинвазивната белодробна диагностика на редица заболявания на ново ниво. Разбирането на патофизиологичните, патобиохимични и патоанатомични промени и тяхната връзка с клиниката; корелациите, които съществуват между различните диагностични изследвания, създаването на нови тестове, са средствата, които могат да ни помогнат да постигаме все по-добри резултати в грижата за нашите пациенти.

## **II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ**

### **Методи за неинвазивна оценка на възпалението в дихателната система – съвременни тенденции**

#### **Цел:**

Проучване на нови възможности на няколко съвременни метода за неинвазивна белодробна диагностика и клинични корелати с бронхомоторен тонус и бронхиално възпаление.

#### **Задачи**

1. Да се изследва влиянието на екзогенна нормобарна хипоксична хипоксия върху фракцията на азотен оксид и температурата на издишания въздух, измерена чрез утвърден метод (X-halo).
2. Да се валидира приложимостта на нов, предложен от нас, метод за измерване на температурата на издишан въздух.
3. Да се проучи влиянието на инхалиран, чрез небулизатор, алфа-симпатико миметик ксилометазолин върху температурата на издишания въздух.
4. Да се изследват пациенти с алергичен ринит за наличие на бронхиална хиперреактивност, чрез бронхопровокационна проба с хипертоничен разтвор (4.5%) на натриев хлорид и да се оцени способността на температурата на издишан въздух и фракцията на азотен оксид да служат като предиктори за наличие на бронхиална хиперреактивност.

### III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

1. За изпълнение на първата задача: „Да се изследва влиянието на екзогенна нормобарна хипоксична хипоксия върху фракцията на азотен оксид и температурата на издишания въздух“ подбрахме двадесет и двама здрави мъже, непушачи, на възраст между 21 и 34 год. (mean±SD 25.4±3.7). Съгласно нашите критерии за включване, лицата трябваше да нямат никакви сърдечно-съдови, респираторни или хематологични заболявания, както и каквито и да било други състояния, които биха предизвикали промяна в техния кислороден режим, биха повлияли на резултатите или компрометирали безопасността на включените доброволци. Изследвахме само мъже, тъй като жените реагират по различен начин на хипоксия и само непушачи, тъй като тютюнопушенето води до промяна в стойностите на фракцията на азотния оксид в издишания въздух (FeNO). Средният индекс на телесната маса (ИТМ) бе 24.1±3.5, като двама от изследваните бяха с наднормено тегло (25.6 и 27.8) и други двама с лекостепенно затлъстяване (30.5 и 33.1). Всички доброволци получиха детайлна информация относно естеството на проучването. Подписано информирано съгласие бе получено от всеки, преди да бъдат извършени каквито и да било други действия, касаещи протокола на изследването, който включваше една визита. Бе извършена електрокардиография (ЕКГ), която се ревизира от специалист кардиолог. Схема на протокола на проучването е представена на фиг. 8.

За измерването на FeNO бе използван апарат NIOX MINO (Aerocrine, Solna, Sweeden) с електрохимичен сензор, с който се регистрираха изходни стойности и на 7<sup>-ма</sup> и 15<sup>-та</sup> мин. по време на експозицията на хипоксия. Някои методологични фактори трябва да се имат предвид, когато изследваме FeNO:

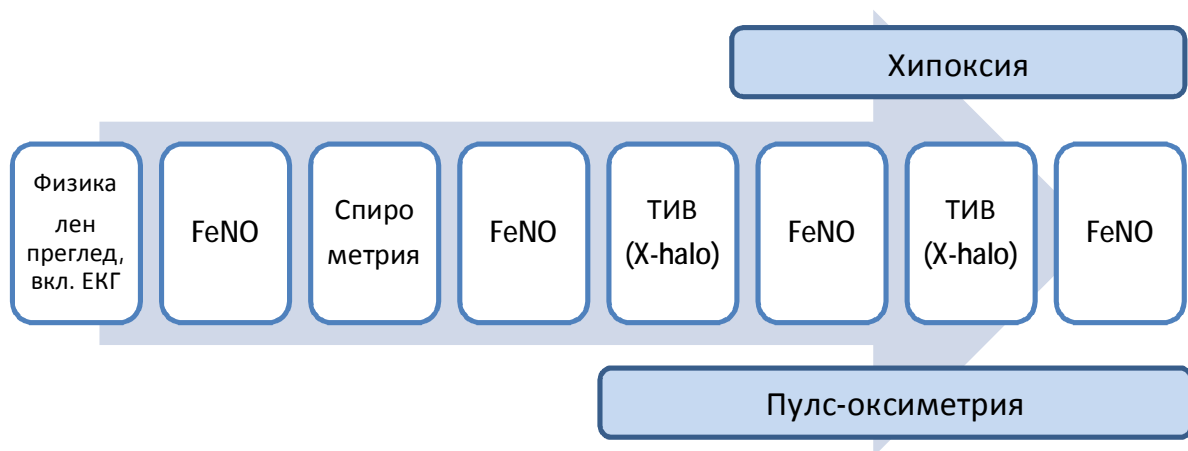
- Стандартно, при възрастни експираторният маньовър трае 10 сек., а при деца – 6 сек.;
- При лица, които пушат, обикновено имаме по-ниски стойности на FeNO (би могло да „маскира“ наличие на активно еозинофилно възпаление при получаване на фалшиво ниски стойности), като острият ефект от изпушване на една цигара е обратен – повишение. Препоръчва

се, ако пациентът е пушач, да се въздържа от пушене минимум 1 час преди изследване;

- Производителите на устройства за измерване на FeNO съветват редовно (ежедневно) да се измерва NO в околния въздух;
- Изследването е добре да се извършва в покой и преди извършване на функционално изследване на дишането. Не трябва да бъде непосредствено след като пациентът е имал физическо натоварване (изкачвал стълби, бързал до кабинета). Някои храни, особено ако са по-богати на нитрати (обикновено зеленчуци), също биха могли да повлияят на стойностите на FeNO;
- При интерпретацията приемаме стойности <25 ppb за възрастни и <20 ppb за деца за нормални. Стойности от >35 ppb са силно суспектни за наличие на еозинофилно възпаление<sup>7</sup>.

Спирометрия бе извършена на Ultima PFX (Medical Graphics, St Paul, USA). Екзогенната нормобарна хипоксия бе създадена, чрез хипоксикатор (AltiPro 8850 Summit+, Altitude Tech, Canada) в специална, за тази цел, палатка. Хипоксичната среда съдържаше въздух, който отговаря на атмосферния въздух на 3200 м над морското равнище (приблизително  $FiO_2=14\%$ ). Температурата на издишания въздух се измерваше чрез дихателен термометър X-halo (Delmedica Investments, Singapore) в началото и 10-12 мин. след влизане в хипоксичната палатка. По време на цялата визита, с помощта на пулс оксиметър (CMS50F, Contec Medical Systems, Qinhuangdao, China), бяха мониторирани сърдечната честота и кислородната сатурация. Проучването бе одобрено от Комисията по Научна Етика към Медицински Университет Пловдив.





**Фиг. 1.** Схема на протокола на проучването по първа задача. **ЕКГ** – електрокардиография; **FeNO** – фракция на азотен оксид в издишан въздух; **ТИБ** – температура на издишан въздух

2. За изпълнение на втора задача: „Да се валидира приложимостта на нов, предложен от нас, метод за измерване на температурата на издишан въздух“ бяха включени 31 лица, от които 12 жени на възраст между 21 и 43 год. ( $26.8 \pm 6.3$ ). В групата присъстват 11 пушачи с различен „стаж“ на тютюнопушене между 1.6 и 15 пакетогодини (средно  $5.8 \pm 3.9$ ) (табл. 1).

**Таблица 1.** Характеристика на изследваната група в изпълнение на задача 2

	Жени	Мъже	Общо
Пушачи	4	7	11
Непушачи	8	12	20
Общо	12	19	31

Исключващ критерии бе наличието на тежка респираторна инфекция. На всички участници бе извършено функционално изследване на дишането, измерване на фракцията на азотен оксид в издишан въздух и на температурата на същия с 2 различни метода. При предложението от нас метод се използва полифизиограф Biopac (Biopac Systems, Inc., California, USA) и по-конкретно, бързо респондиращ термистор (1000 измервания в

секунда), инкорпориран в мундщук с клапа (Vitalograph Inc., Kansas, USA). Мундщуките са ендократни, като намиращата се вътре клапа има две основни функции. От една страна, осигурява еднопосочен въздухопоток, изследваният само издишва през устата, а вдишва през носа, където въздухът бива затоплен така, както е при физиологичното дишане. От друга страна, с помощта на клапата се образува полузатворена камера пред устата на пациента с приблизителен обем 18.5 ml, в която се задържа част от въздуха при всеки експириум. Малкият обем на мундщука позволява тази полузатворена камера да се „затопли“ доста бързо и да се достигне стабилно състояние във флуктуацията на температурата. Когато този момент настъпи, изследването се прекратява и се анализират пиковите точки на температурата от няколко последователни дихателни цикъла (минимум 5), като от тях се взема средна стойност. В началото на изследването лицата извършваха по едно максимално вдишване през носа и бавно, но максимално издишване през устата, като по този начин се регистрира температурата, при еднократен експириум. Водещ мотивационен фактор на нашите търсения бе идеята да запазим силните черти на широко прилаганите в областта начини за измерване на ТИВ, като същевременно се опитахме да елиминираме някои от недостатъците.

Другият метод, с който бе провеждано измерване на температурата на издишан въздух, използва дихателния термометър X-halo (Delmedica Investments, Singapore). Устройството се състои от термална камера, в която е разположен сензор за температура. Изследваното лице издишва през устата чрез мундщук в тази камера, като въздухът в нея постепенно се затопля до момента, когато температурата на въздуха в камерата се изравни с тази на издишваният такъв. При настъпването на това равновесие се регистрира стабилна температура и се получава звуков и светлинен сигнал.

Стайната температура, както и аурикуларната при всяко изследвано лице, бяха регистрирани с многофункционален термометър FT 4919 (AEG, Medical Technology Promedt Consulting GmbH, Ingbert, Germany).



**Фиг. 2.** Схема на протокола на проучването по втора задача. **FeNO** – фракция на азотен оксид в издишан въздух; **ТИБ** – температура на издишан въздух; **ФИД** – функционално изследване на дишането

Групата бе хетерогенна, както по отношение на пол, така и по отношение на тютюнопушене. Трима пациенти бяха с алергичен ринит, а други трима – с астма. Целта бе да се получат стойности от по-широк диапазон, с цел да се изследва сходството между резултатите от двата метода в линеен порядък.

За изследване на FeNO тук използвахме апарата NOBreath (Bedfont Scientific, Ltd; Kent, England) с електрохимичен сензор, а функционалното изследване на дишането бе извършено на Ultima PFX (Medical Graphics, St Paul, USA).

Всички изследвани лица получиха подробно разяснение за целите и характера на проучването, информирано съгласие бе подписано преди да се предприемат каквито и да било процедури, касаещи протокола. Проучването бе одобрено от Комисията по Научна Етика към Медицински Университет Пловдив.

3. За изпълнението на третата задача: „Да се проучи влиянието на инхалиран, чрез небулизатор, алфа-симпатико миметик ксилометазолин върху температурата на издишания въздух“ бяха изследвани 13 лица (6 жени) на възраст между 21 и 43 год. ( $30.4 \pm 6.3$ ). Седем от тях бяха пушачи към момента на провеждане на двете визити по проучването, като средният брой пакетогодини в субгрупата бе  $4.9 \pm 3.0$  (минимум = 1 и максимум = 10 пакетогодини) (табл. 2).

**Таблица 2.** Характеристика на изследваната група в изпълнение на задача 3

	Жени	Мъже	Общо
Пушачи	3	4	7
Непушачи	3	3	6
Общо	6	7	13

Изключващ критерий бе наличието на каквото и да било клинически значимо патологично състояние, особено такова, което би създадо повишен риск при инхалиране на симпатикомиметичен агент – пулмонална или системна хипертензия, сърдечна недостатъчност и др., както и тежка респираторна инфекция. Детайлна информация бе осигурена за всички участници и бе подписано информирано съгласие. Проучването бе одобрено от Комисията по Научна Етика към Медицински Университет Пловдив.



**Фиг. 3.** Схема на протокола на проучването по трета задача. **FeNO** – фракция на азотен оксид в издишания въздух; **ТИВ** – температура на издишан въздух; **АКН** – артериално кръвно налягане

Фракцията на азотен оксид в издишания въздух бе измервана с апарат NOBreath (Bedfont Scientific, Ltd; Kent, England); сърдечната дейност бе

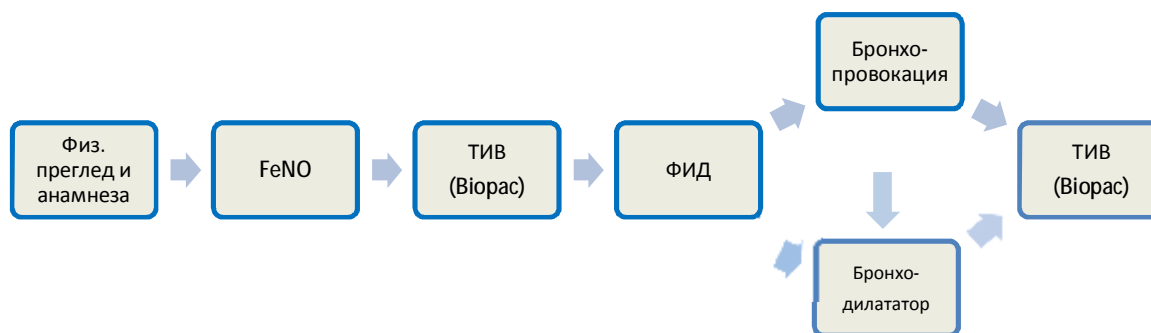
мониторирана по време на цялата визита с пулс-оксиметър Onyx II 9500 (Nonin Medical, Inc, Plymouth, Minnesota, USA), а артериалното кръвно налягане бе измервано с мануален сфигмоманометър BoSo (Bosch+Sohn GmbH u. Co KG, Jungingen, Germany) и стетоскоп, по метода, описан от Riva Rocci преди и след съответната инхалация. За оценка функционалното състояние на дишането, извършихме спирометрия посредством Ultima PFX (Medical Graphics, St Paul, USA). Протоколът на проучването включваше 2 визити – през първата изследваните лица инхалираха  $2.5 \pm 0.4$  ml смес от равни части ксилометазолин хидрохлорид (Xylometazoline WZF 0.1%; Warsaw Pharmaceutical Works Polfa S.A.; Warsaw, Poland) и физиологичен разтвор. Температурата на издишания въздух бе измервана преди инхалацията и след нея – на 5<sup>-та</sup>, 10<sup>-та</sup>, 15<sup>-та</sup> и 20<sup>-та</sup> мин. с полифизиограф Вiorас по описана вече методика. За инхалациите, които траеха по 2 мин., бе използван високодебитен ултразвуков небулизатор UltraNeb (DeVilbiss Healthcare). На втората визита, извършвана до месец след първата, лицата инхалираха  $2.5 \pm 0.4$  ml чист физиологичен разтвор, който играе ролята на „плацебо“. Останалите изследвания, без спирометрия, бяха повторени по описания вече начин.

4. За изпълнение на четвърта задача: „Да се изследват пациенти с алергичен ринит за наличие на бронхиална хиперреактивност, чрез бронхопровокационна проба с хипертоничен разтвор (4.5%) на натриев хлорид и да се оцени способността на температурата на издишан въздух и фракцията на азотен оксид да служат като предиктори за наличие на бронхиална хиперреактивност“ бе събран контингент от 12 души, страдащи от сезонен алергичен ринит и 10 здрави контроли. Групата на пациентите бе на възраст между 26 и 49 год. ( $34.8 \pm 7.0$ ) и съдържаше 3 жени. Двама от лицата, страдащи от ринит, бяха пушачи (15 и 5 пакетогодини) и един – бивш пушач (5 пакетогодини, отказал тютюнопушене преди 8 год.). Исклучващи критерии бяха наличието на тежка респираторна инфекция, както и всички контраиндикации (абсолютни и относителни) за провеждане на индиректна бронхопровокационна проба:  $FEO_1 < 60\%$  от предвидената стойност или  $< 1.5$  L; съдов инцидент в последните 3 месеца, неконтролирана артериална хипертензия (над 200 mmHg систолично и над 100 mmHg диастолично налягане); установена аортна аневризма; бременност и кърмене; неспособност да се извършат качествени

спирометрични маньоври и прием на холинестеразен инхибитор\*. Никой от изследваните лица не приемаше бронходилататорна терапия към момента на включване към проучването и всички бяха инструктирани в дните, когато идват на визита, да не приемат кафе, чай и тонизиращи напитки.

Протоколът на изследването включваше 2 визити – една извън и една по време на активния поленов сезон (съответно: март-април и май-юни), като целта бе да се търси наличието на бронхиална хиперреактивност (фиг. 11.). Контролната група се състоеше от 10 лица (4 жени) на възраст между 24 и 43 год. ( $30 \pm 5.5$ ) с трима пушачи. Всички участници получиха подробни разяснения за същността на проучването и изследванията, които то включва и подписаха информирани съгласия в началото на първата визита. Проучването бе одобрено от Комисията по Научна Етика към Медицински Университет Пловдив.

За изследване на азотния оксид в издишан въздух бе използван апарат NOBreath (Bedfont Scientific, Ltd; Kent, England), спирометриите бяха извършвани на Ultima PFX (Medical Graphics, St Paul, USA), температурата на издишания въздух бе измерена с помощта на полифизиограф Biopac по вече описана методика, а за бронхопровокационните проби с хипертоничен разтвор на натриев хлорид (4.5%) използвахме високодебитен ултразвуков небулизатор UltraNeb (DeVilbiss Healthcare). При наличие на бронхообструкция, било то като изходно състояние или като резултат от бронхопровокационната проба, бе прилаган инхалаторно кратко действащ бронходилататор (Салбутамол 400 mcg), чрез спейсър.



**Фиг. 4.** Схема на протокола на проучването по четвърта задача. **FeNO** – фракция на азотен оксид в издишания въздух; **ТИВ** – температура на издишания въздух; **ФИД** – функционално изследване на дишането

За обработката на резултатите е използван статистически пакет SPSS v. 17.0 за Windows (SPSS, Chicago, USA). Резултатите са изобразявани като средна аритметична стойност  $\pm$  стандартно отклонение (mean  $\pm$  SD), освен ако не е упоменато друго. На някои места са докладвани и максимална и минимална стойност, с цел да се добие представа за дисперсията на данните. Проверката на нормалното разпределение е извършена с непараметричен тест на Колмогоров–Смирнов. При сравняване на две средни е използван тест на Student (T-test), съответно на независими променливи или на двойки променливи (independent samples T-test или paired samples T-test). За откриване на корелации е използван анализ на Pearson, както и графичен анализ. Разликите са приемани за статистически значими при уровень на значимост  $p < 0.05$ .

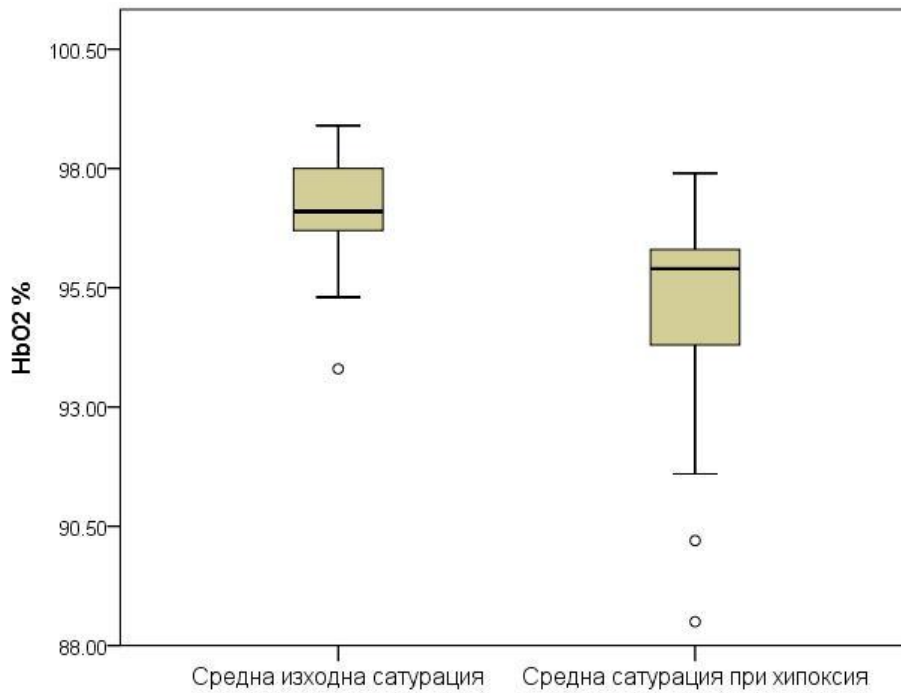
При част от графиките, стойностите са показани като 95% интервал на доверителност (95% CI = mean  $\pm$  1.96 x SD, errorbars) или 5<sup>-ти</sup>-95<sup>-ти</sup> перцентил (boxplot). За проверка на съответствието между два метода е използван и тест на Bland-Altman. Не са прилагани операции за допълнително преобразуване на данните (логаритмуване, повдигане на квадрат и др.).

#### IV. РЕЗУЛТАТИ

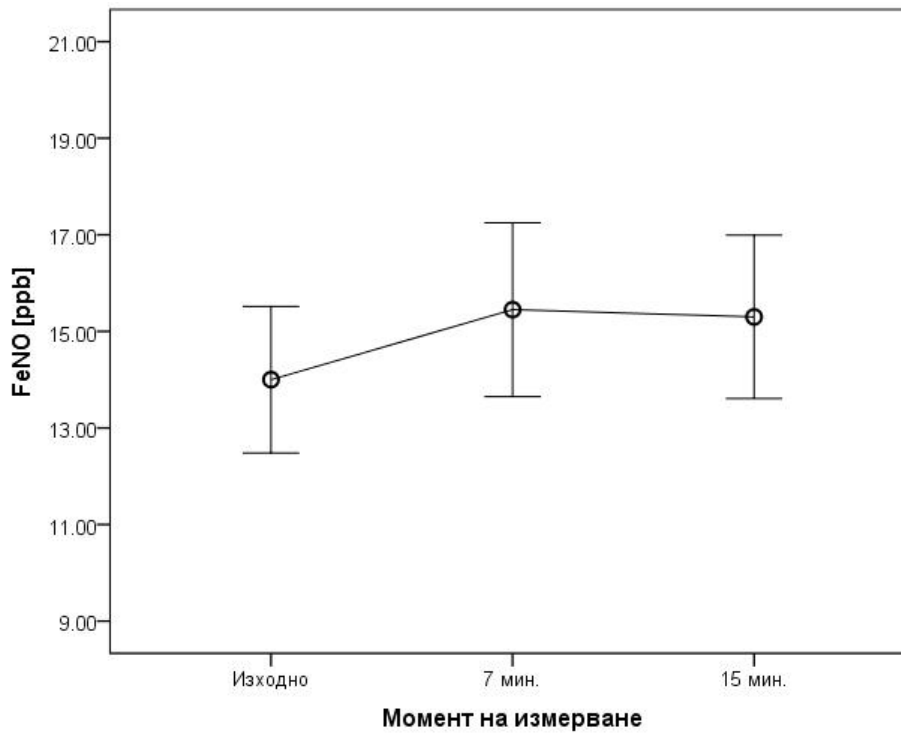
**Задача 1.** “Да се изследва влиянието на екзогенна нормобарна хипоксична хипоксия върху фракцията на азотен оксид и температурата на издишания въздух, измерена чрез утвърден метод (X-halo).”

От изследваните 22 души двама бяха с патологично високи стойности на FeNO (138 и 73 ppb, съответно), но само при първия от тях бе налице обструктивно белодробно нарушение. С оглед на казаното, той отпадна от проучването и не бе подложен на екзогенна хипоксия, от съображения за безопасност. Нормалните данни от ФИД при другия такъв доброволец ни дадоха основание да продължим по протокол, в хода на който не настъпиха никакви нежелани реакции. Показателите от функционалното изследване на дишането на всички, подложени на хипоксия, бяха в нормалните граници със средни ФВК =  $97.1 \pm 7.9\%$  (минимум и максимум, съответно 83 и 109%) и  $FE_{O_1} = 98.7 \pm 10.9\%$  (минимум и максимум, съответно 78 и 115%) от предвидените стойности. Средната изходна сърдечна честота бе  $71.3 \pm 11.1$  уд/мин. и на кардиограмите не се установиха никакви патологични особености. Изходната кислородна сатурация при всички изследвани лица бе по-висока от тази, по време на хипоксия ( $97.14 \pm 1.19\%$  vs.  $94.89 \pm 2.40\%$ ;  $p < 0.001$ ) – Фиг. 5. Най-малкият регистриран спад бе 0.2%, но имаше двама доброволци със спад, съответно 4% и 8.4%. Двадесет лица имаха FeNO стойности в референтни граници и в трите момента на изследване се наблюдава нормално разпределение (проверено с непараметричен тест на Колмогоров-Смирнов). При сравнение с изходните ( $14.0 \pm 3.2$  ppb), стойностите на FeNO по време на хипоксия бяха сигнификантно по-високи -  $15.5 \pm 3.8$  ppb на 7 мин. и  $15.3 \pm 3.6$  ppb на 15 мин., съответно ( $p = 0.011$  and  $p = 0.008$ ) – Фиг.13. На седмата минута 14 души имаха увеличение, двама – спад и петима нямаха промяна в стойностите на FeNO. Интересно е да се отбележи, че трите най-големи спада в сатурацията (8.4%, 4.5% и 4.3% при средна десатурация за цялата група = 2.3%) принадлежат на лица без увеличение на FeNO.



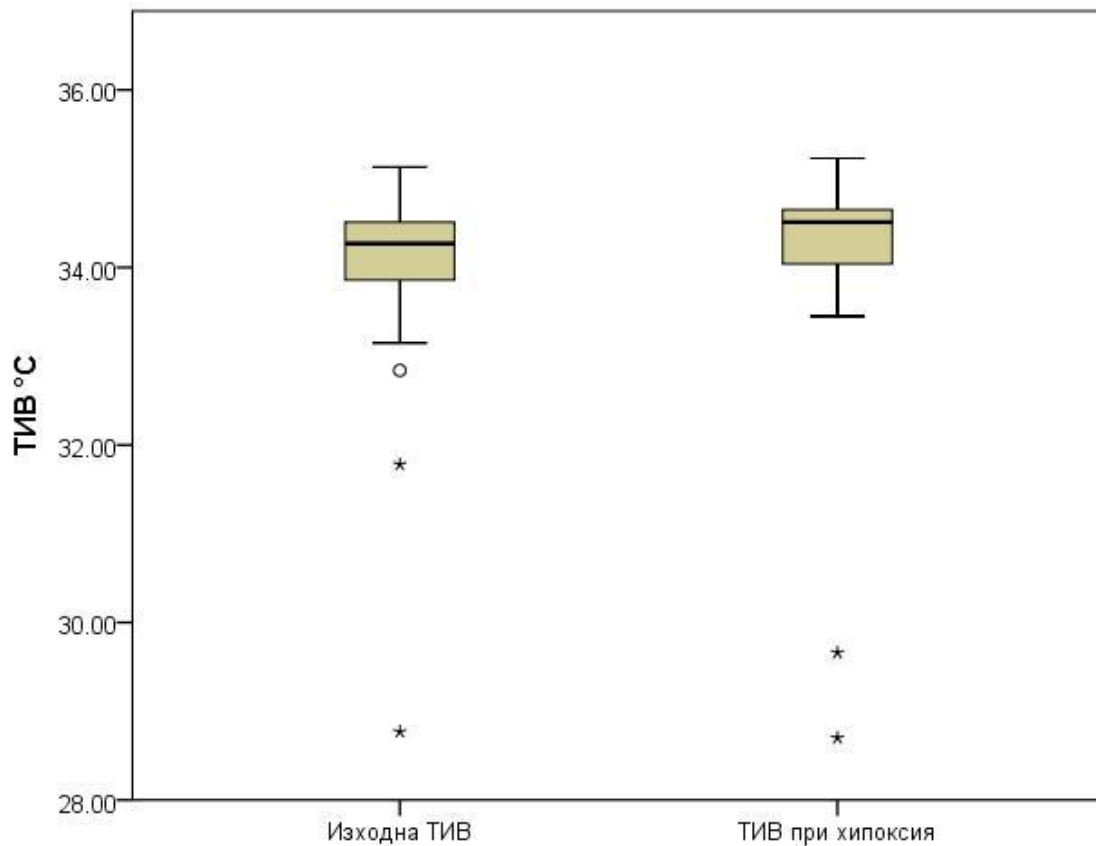


**Фиг. 5.** Спад в сатурацията ( $\text{HbO}_2$ ) под действието на екзогенната хипоксия



**Фиг. 6.** Покачване на фракцията на азотен оксид в издишан въздух ( $\text{FeNO}$ ) по време на хипоксия

В субгрупата от 14 души, при които се регистрират по-високи стойности на FeNO на 7<sup>-ма</sup> мин. от хипоксията се наблюдава липса на последващо покачване, като разликата между средните стойности на 7<sup>-ма</sup> и 15<sup>-та</sup> мин. е 0.77 ppb и само един доброволец има по-висока стойност на края на изследването. В другата субгрупа от 7 лица обаче, тенденцията за аналогичния период е обратна с разлика между средните стойности 1.29 ppb в полза на FeNO на 15<sup>-та</sup> мин и само при един човек е регистрирана по-ниска стойност. Накратко можем да кажем, че при почти всички изследвани хипоксията води до нарастване на FeNO, като при някои този отговор е отложен във времето. Резултатите от ТИВ бяха съответно  $33.87 \pm 1.41$  °C и  $33.97 \pm 1.66$  °C ( $p=0.57$ ) в началото и по време на хипоксична експозиция, следователно не се наблюдаваше статистически значима разлика – Фиг. 7



**Фиг. 7.** Изходната температура на издишания въздух (ТИВ) не се различава от измерената след 10 минути хипоксична експозиция

**Задача 2.** „Да се валидира приложимостта на нов, предложен от нас, метод за измерване на температурата на издишан въздух.“

От общо изследваните 31 души 25 бяха клинично здрави, трима с алергичен ринит и трима с бронхиална астма, от които двама без терапия в момента.

Изходните стойности на FeNO бяха извън норма при двама от изследваните лица (34 и 63 ppb) – пациенти с алергичен ринит. Само при един от тях обаче, се наблюдаваше обструктивен тип вентилаторно нарушение. Средната стойност на FeNO за останалите 29 лица бе  $5.5 \pm 3.1$  ppb с минимум и максимум, съответно 1 и 13 ppb. Обструкция на дихателните пътища се установи при общо двама от изследваните лица, като и в двата случая се оказа обратима. Всички останали доброволци имаха стойности от функционалното изследване на дишането в рамките на нормата (табл. 3)

В сравнението, де факто, участваха не два, а три метода за отчитане на ТИВ, тъй като в началото на всяко измерване по предложения от нас метод, лицата бяха инструктирани еднократно да поемат дълбоко въздух през носа и да издишат през устата бавно, подобно на издишването при маньовъра за бавна спирометрия. Регистрираният пик също бе отбелязван като допълнителна стойност на ТИВ, измерена по метод, аналогичен на тези, предложени от колективите на Paredi и Piacentini\*\*, които използват ендократно издишване. Стойностите на ТИВ, измерена по трите начина, имаха нормално разпределение, проверено с непараметричен тест на Колмогоров-Смирнов и са представени на табл. 4

**Таблица 3.** Данни от функционалното изследване на дишането

Показател	Mean $\pm$ SD	Минимум	Максимум
ФВК (% от предвидената стойност)	$98.9 \pm 10.8$	78	118
ФЕО <sub>1</sub> (% от предвидената стойност)	$99.3 \pm 13.3$	71*	126
ФЕО <sub>1</sub> /ФВК (абсолютна стойност)	$83.5 \pm 8.6$	54	94
ВЕД (% от предвидената стойност)	$97.9 \pm 14.8$	73	126

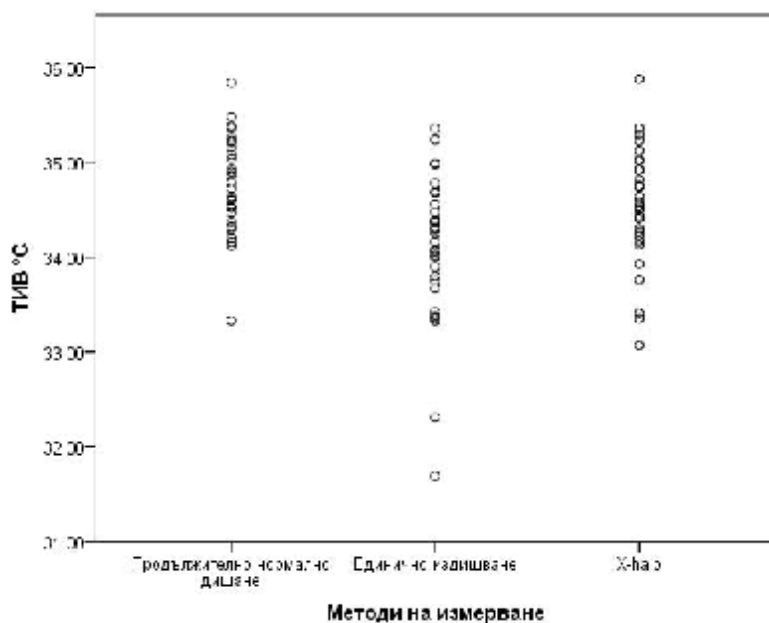
\* След приложение на бързодействащ бронходилататор + 19% (670 ml)

**Таблица 4.** Температура на издишания въздух, измерена по различни методи

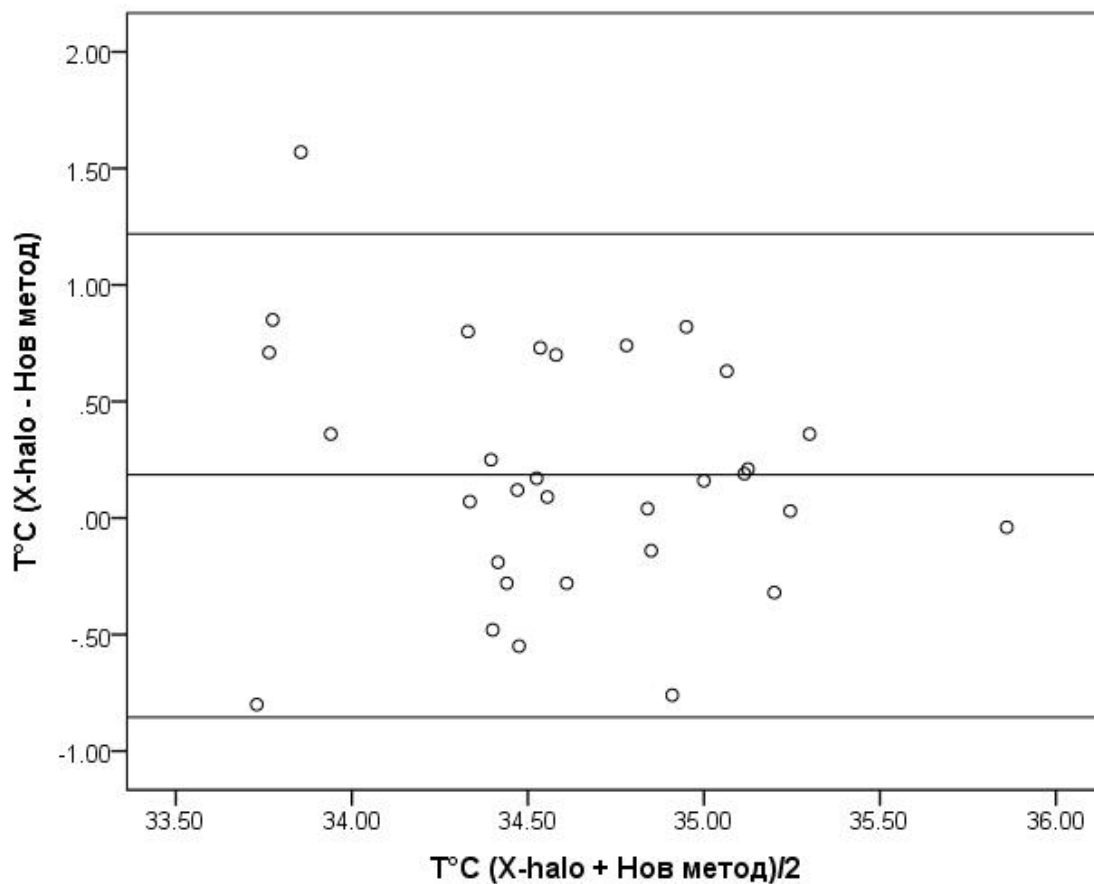
Метод	mean $\pm$ SD °C	Минимум °C	Максимум °C	Амплитуда
X-halo	34.53 $\pm$ 0.61	33.07	35.88	2.81
Еднократно издишване	34.10 $\pm$ 0.77	31.69	35.36	3.67
Продължително нормално дишане	34.72 $\pm$ 0.52	33.33	35.84	2.51

Прави впечатление, че при еднократното издишване, резултатите са най-силно вариабилни, докато при предложението от нас метод имаме стойности с най-малка дисперсия и стандартно отклонение. Получените данни от X-halo заемат междинно положение, по отношение на диапазон и разпръснатост (фиг. 8).

Истински коректно би било сравнението само между два метода – предложението от нас и X-halo, тъй като те измерват едно и също нещо – температурата по време на няколко минути нормално дишане. Разликите са в по-високата чувствителност на термичния сензор от апарата Вiorас и в термоизолираната камера, каквато има само X-halo. Измерената по новия метод температура е средно с  $0.19 \pm 0.53^\circ\text{C}$  по-висока ( $p = 0.61$ ). Двата комплекта стойности показват умерена корелация (Pearson;  $r = 0.571$ ;  $p = 0.001$ ), но много добро съответствие при тест на Bland-Altman (фиг. 9).



**Фиг. 8.** Разпределение на стойностите за температурата на издишан въздух, измерена чрез различни методи



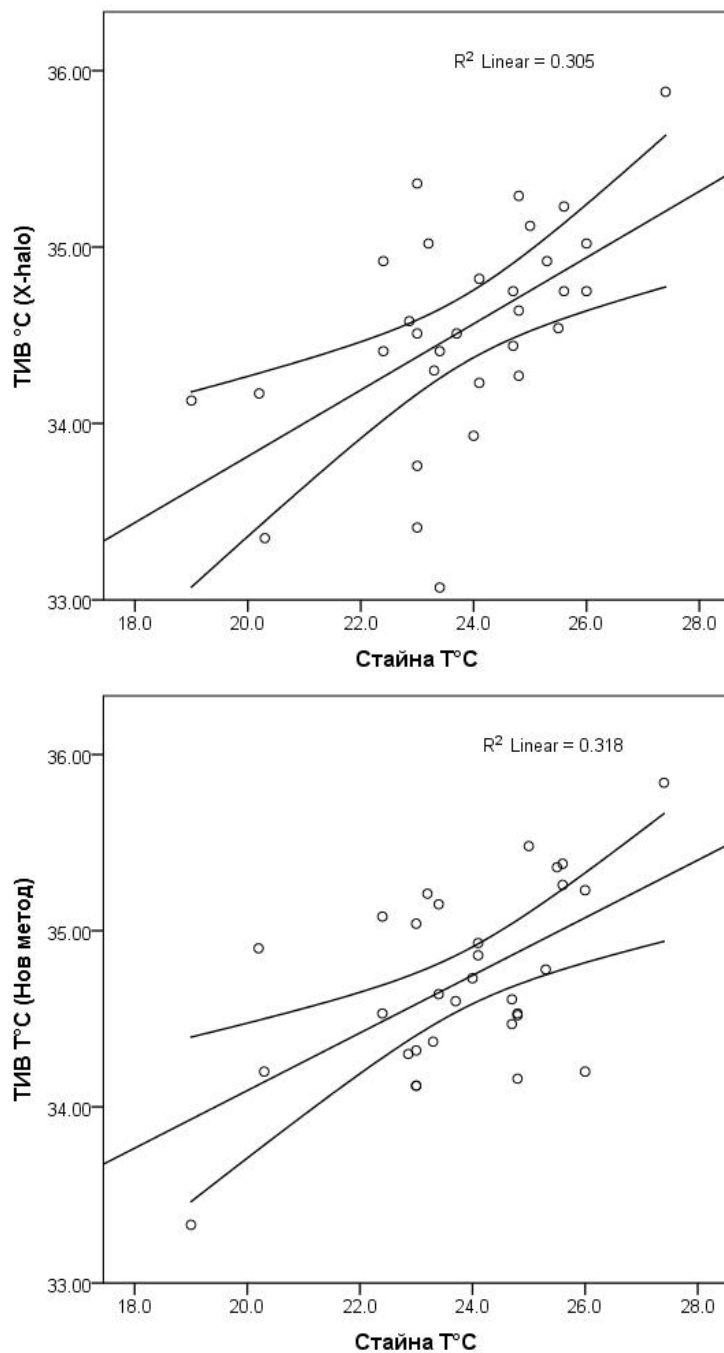
**Фиг. 9.** Bland-Altman анализ на стойностите за температурата на издишания въздух, получени чрез предложения от нас метод и X-halo показва много добро съответствие.

Силно предимство на предложения от нас метод за измерване на ТИВ е много по-малкото време ( $p < 0.001$ ), необходимо за извършване на изследването – табл. 5.

**Таблица 5.** Съпоставка между времето за измерване при двата метода

Метод	Mean $\pm$ SD sec	Минимум сек.	Максимум сек.
X-halo	298.6 $\pm$ 72.0	174	510
Продължително нормално дишане	124.2 $\pm$ 40.1	63	222

Друго достойнство на новия метод, е че независимо от липсата на термоизолираща камера, каквато има при X-halo, повлияването от стайната температура е твърде сходно и в двата случая (фиг. 10).



**Фиг. 10.** Резултатите от двата метода за измерване на температурата на издишан въздух корелират по един и същ начин и в еднаква степен със стайната температура

Интерес представлява съпоставката между пушачи и непушачи – при всички методи тютюнопушенето води до по-висока температура на издишания въздух, спрямо лицата, които не пушат (табл. 6), но само при продължителното нормално дишане и използване на бързо респондиращ термистор, виждаме статистически значима разлика в стойностите между тези две групи.

**Таблица 6.** Разлики между пушачи и непушачи в температурата на издишания въздух, измерена по различни начини

Метод	Пушачи mean $\pm$ SD °C	Непушачи mean $\pm$ SD °C	Средна разлика	SE на разликата	Уровен на значимост (p)
X-halo	34.70 $\pm$ 0.56	34.44 $\pm$ 0.63	0.27	0.23	0.253
Еднократно издишване	34.40 $\pm$ 0.55	33.93 $\pm$ 0.84	0.47	0.28	0.107
Продължително нормално дишане	34.98 $\pm$ 0.48	34.57 $\pm$ 0.49	0.41	0.18	0.033

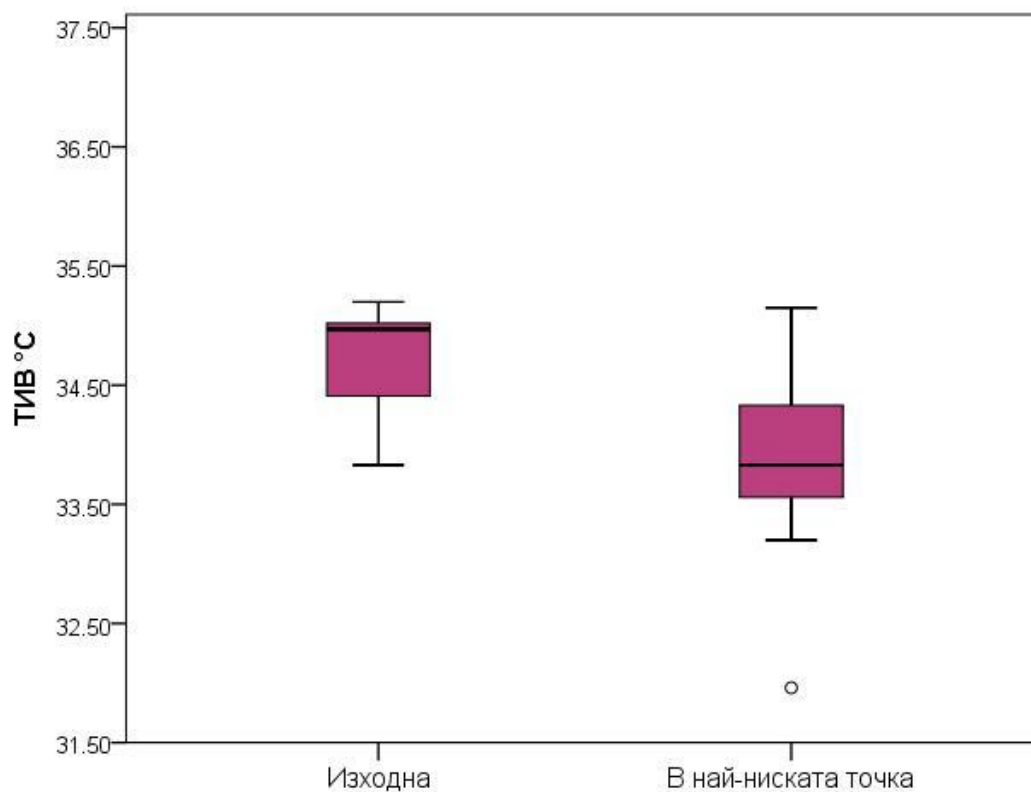
Когато се вземат предвид условията, по време на извършване на визитите, се вижда, че стойностите на ТИВ, измерени с X-halo и по предложения от нас метод корелират умерено със стайната температура (Pearson;  $r = 0.552$ ;  $p = 0.001$  и  $r = 0.564$ ,  $p = 0.001$ , съответно), но не и с аурикуларната (Pearson;  $r = 0.238$ ;  $p = 0.198$  и  $r = 0.103$ ;  $p = 0.583$ , съответно). Тези данни са в унисон с литературата по въпроса\*, като потвърждават тезата, че процесите на топлообмен в белите дробове са специфични и не са пряко зависими от телесната температура.

**Задача 3.** „Да се проучи влиянието на инхалиран, чрез небулизатор, алфа-симпатикомиметик ксилометазолин върху температурата на издишания въздух.“

Всички изследвани лица имаха нормални показатели от функционалното изследване на дишането (табл. 7). По време на първата визита всички изследвани инхалираха ксилометазолин, а при втората – физиологичен разтвор.

**Таблица 7.** Данни от функционалното изследване на дишането, проведено при всички участници на първа визита

Показател	Mean $\pm$ SD	Минимум	Максимум
ФВК (% от предвидената стойност)	99.7 $\pm$ 9.2	86	114
ФЕО <sub>1</sub> (% от предвидената стойност)	98.5 $\pm$ 7.3	89	109
ФЕО <sub>1</sub> /ФВК (абсолютна стойност)	81.9 $\pm$ 5.5	70	92
ВЕД (% от предвидената стойност)	101.2 $\pm$ 13.1	80	126



**Фиг. 11.** Спад в температурата на издишания въздух под въздействието на инхалиран ксилометазолин

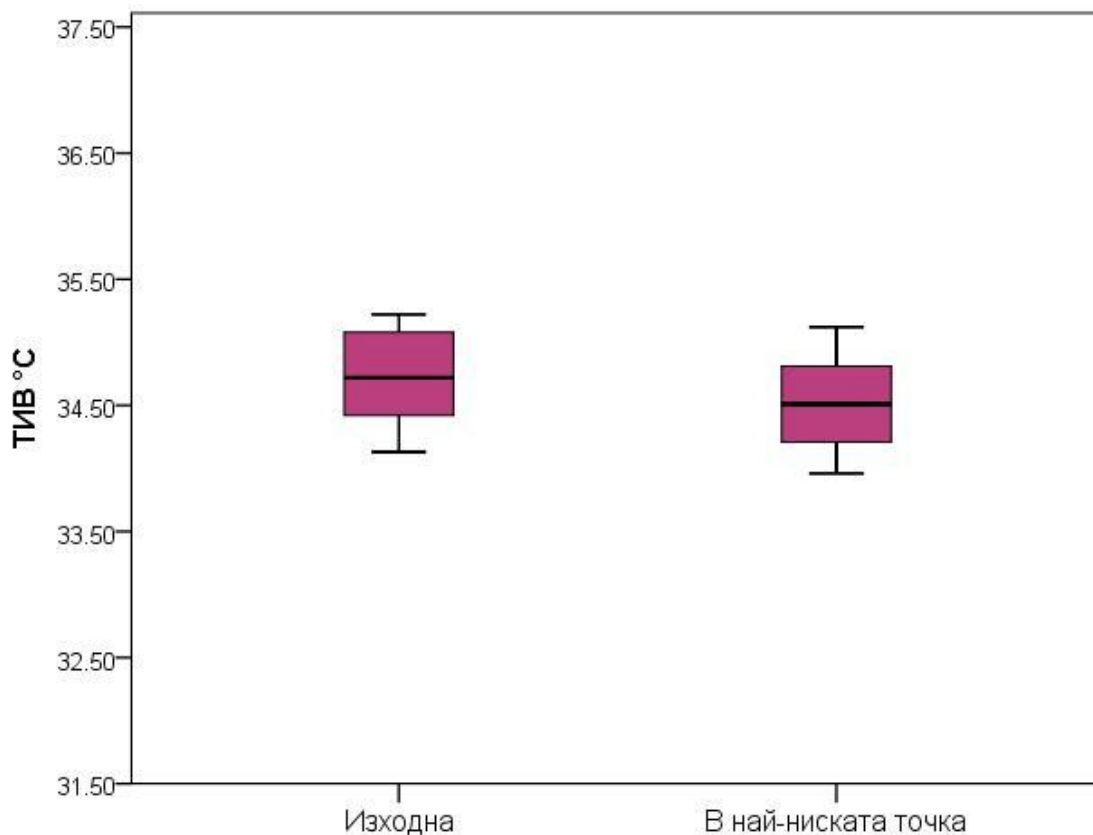


Заслепяване не бе възможно да се направи, тъй като лесно може да се направи разлика между двата разтвора по вкуса, който изследваните усещат, докато инхалират. Изходната ТИВ беше  $34.70 \pm 0.46$  °C, като се намали при 12 от 13-те изследвани. Спадът в ТИВ варираше от 0.25 °C до 1.97°C (средно 0.82° C), като разликата е сигнификантна ( $p = 0.002$ ) (фиг. 11). Най-ниската точка на температурата след инхалацията с ксилометазолин бе в различен момент при различните хора, като прави впечатление разликата между пушачи и непушачи. В първата група (7 души) при 4 от тях най-ниската точка на температурата се наблюдава на 20<sup>-та</sup> минута, а при един – на 15<sup>-та</sup>. При непушачите трима отбелязват най-голям спад на 15<sup>-та</sup> минута, а останалите – по-рано, на десета или на пета минута. Оформя се тенденция спадането на температурата при тютюнопушещи да става по-бавно. При артериалното кръвно налягане и сърдечната честота не се установиха значителни разлики, в следствие инхалацията на ксилометазолин (табл. 8)

**Таблица 8.** Динамика в стойностите на сърдечната честота и артериалното кръвно налягане по време на първа визита

Показател	Изходно ниво (mean $\pm$ SD)	След инхалация на ксилометазолин (mean $\pm$ SD)	Уровен на значимост (p)
Сърдечна честота	72.3 $\pm$ 8.9	71.0 $\pm$ 6.3	0.173
Систолно налягане	119.6 $\pm$ 5.6	119.6 $\pm$ 4.8	1.000
Диастолно налягане	76.2 $\pm$ 4.6	76.5 $\pm$ 4.3	0.673

По време на втората визита, измерването на ТИВ бе извършено по аналогичен начин. Изходната стойност бе  $34.73 \pm 0.41$  °C, като отново се намали при повечето изследвани (11 души), но в по-малка степен, сравнено с първа визита, а при двама се увеличи. Спадът в температурата варираше от 0.03 до 0.87 °C, средно 0.28 °C (фиг. 12).



**Фиг. 12.** Температурата на издишания въздух не се променя статистически значимо при инхалиране на физиологичен разтвор.

**Задача 4.** „Да се изследват пациенти с алергичен ринит за наличие на бронхиална хиперреактивност, чрез бронхопровокационна проба с хипертоничен разтвор (4.5%) на натриев хлорид и да се оцени способността на температурата на издишания въздух и фракцията на азотен оксид да служат като предиктори за наличие на бронхиална хиперреактивност“

На табл. 9. са представени някои основни характеристики на двете групи. Вижда се, че контролите са подбрани без статистически значими разлики във възраст и ИТМ, сравнени с пациентите. Половото разпределение, както и присъствието на пушачи също са сходни. Докладвани са изходните данни от функционалното изследване на дишането от първа визита и при тях също няма статистически значими разлики, макар двама от пациентите да демонстрираха

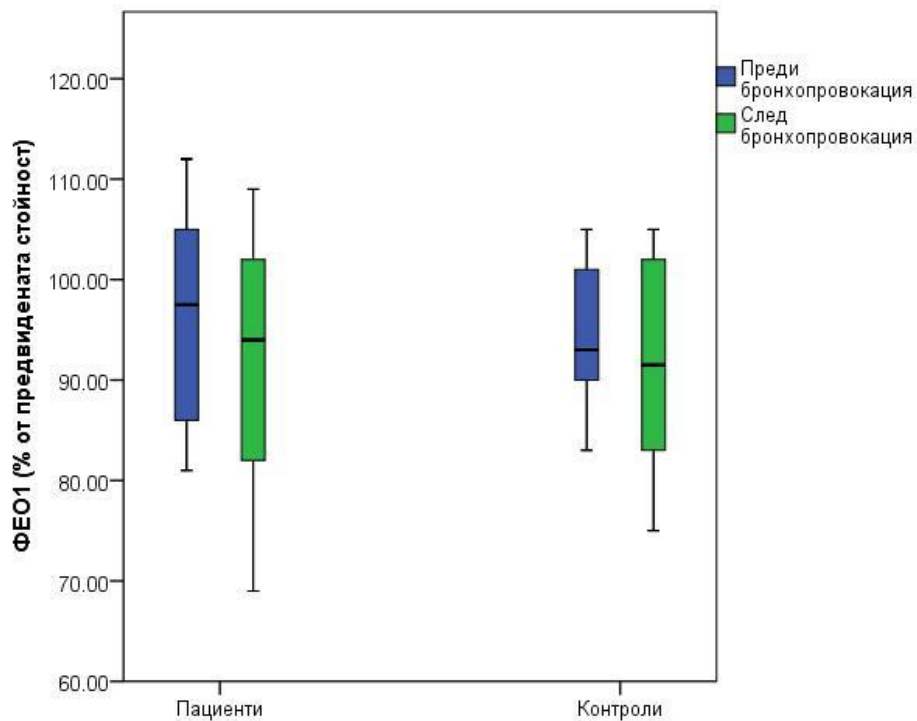
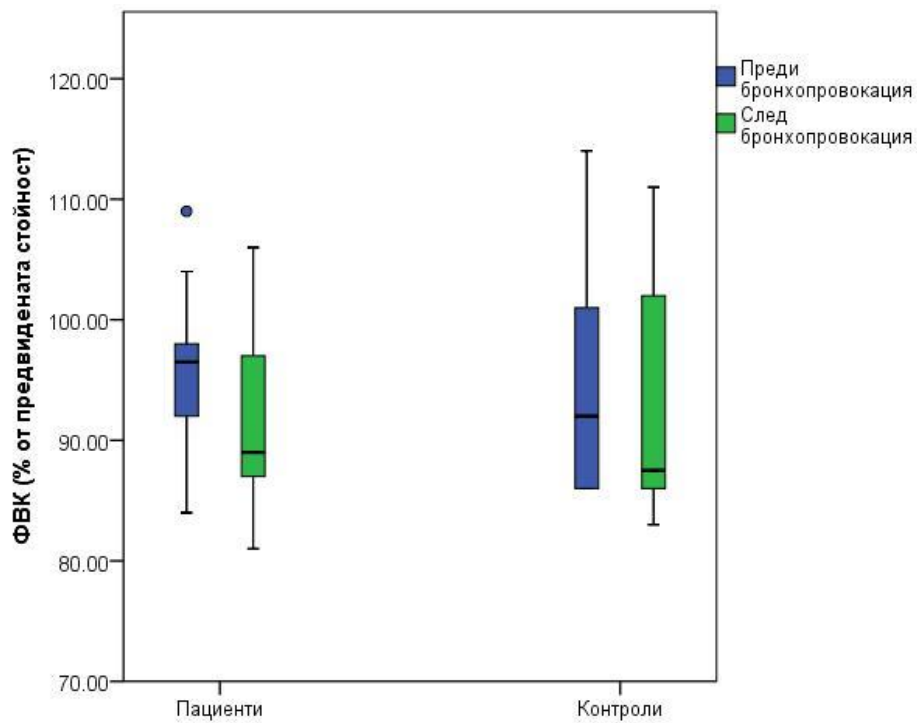
обструкция (дватама настоящи пушачи). Последната се оказа обратима и в двата случая, ФЕО<sub>1</sub> се увеличи съответно с 19% (670 ml) и 21% (690 ml).

**Таблица 9.** Антропометрични показатели и данни от функционалното изследване на дишането при двете групи изследвани лица

Показател	Mean ± SD		Уровен на значимост (p)
	Пациенти	Контроли	
Общ брой	12	10	-
От мъжки пол	9	6	-
Настоящи пушачи	2	3	-
Възраст (год.)	34.8 ± 7.0	30.0 ± 5.5	0.092
Пакетогодини сред пушачите	8.3 ± 5.8	2.0 ± 0.8	0.075
ИТМ	25.15 ± 5.2	23.82 ± 2.5	0.469
FeNO (ppb)	18.25 ± 25.05	5.9 ± 4.2	0.140
ТИВ (°C)	34.07 ± 1.29	34.41 ± 0.59	0.452
ФВК (% от предв.)	96.0 ± 8.1	94.7 ± 9.3	0.746
ФЕО <sub>1</sub> (% от предв.)	92.3 ± 13.3	94.5 ± 7.2	0.638
ФЕО <sub>1</sub> /ФВК	78.3 ± 10.3	82.5 ± 5.1	0.258
ВЕД (% от предв.)	86.4 ± 7.3	95.6 ± 16.7	0.101
МСЕД 25-75 (% от предв.)	87.3 ± 33.3	94.2 ± 14.9	0.549

Характеристика на пациентите и някои по-важни данни от историята на заболяването им са представени на табл. 10.

Установи се умерена отрицателна корелация между изходната ТИВ и отношението ФЕО<sub>1</sub>/ФВК след бронхопровокация (Pearson,  $r = -0.444$ ;  $p = 0.038$ ) (фиг. 14). Бронхопровокациите бяха отрицателни за всички участници 10 пациенти и 10 контроли (т.е. липсва спад на ФЕО<sub>1</sub> > 15% от изходната стойност). Промените във ФВК и ФЕО<sub>1</sub> са представени на фиг. 13



**Фиг. 13.** Промени в някои основни спирометрични показатели в следствие извършване на индиректната бронхопровокация на първа визита

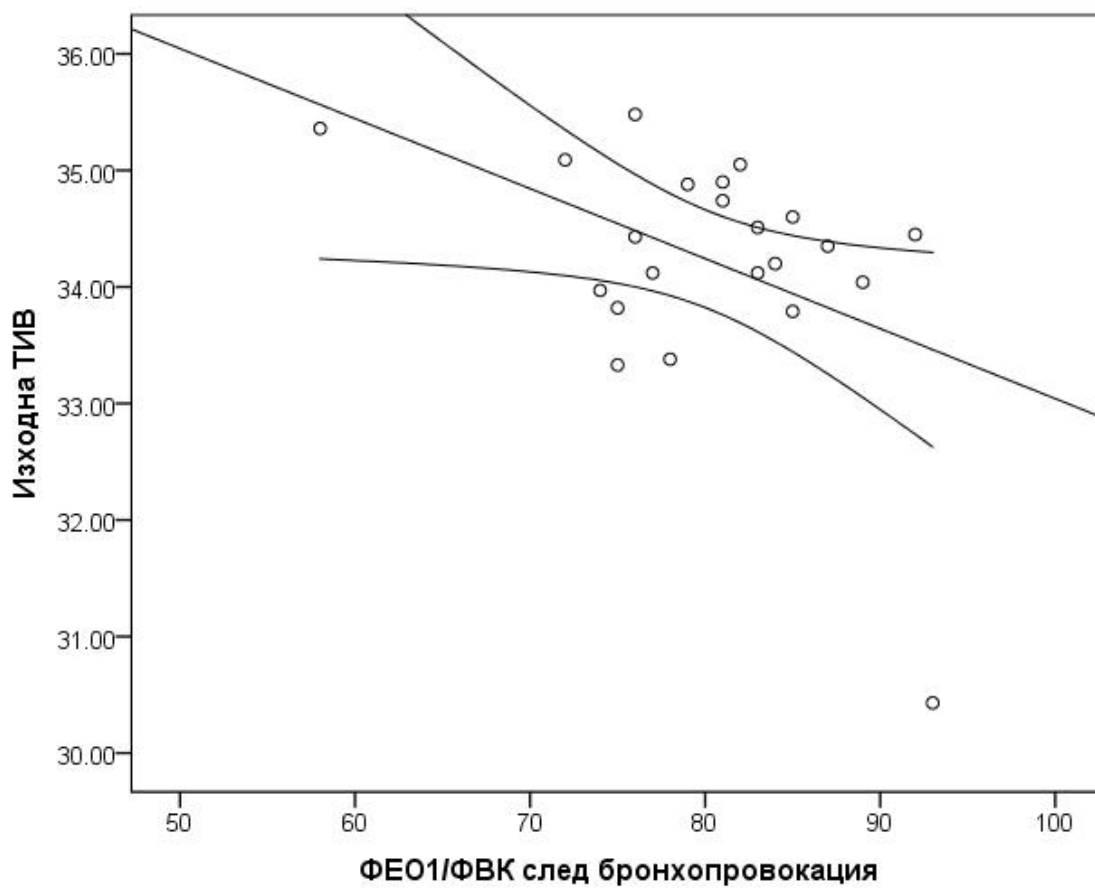
**Таблица 10.** Ключови клинични данни за групата пациенти с алергичен ринит

№	Давност на алергичните оплаквания (години)	Доказани алергени	АСИТ - продължителност
01	23	Тревен полен, домашен прах	Да – втора година
02	7	Тревни и житни полени	Да – втора година
03	6	Широколистни дървесни полени	Да – 4 години (приключил)
04	8	Тревни и житни полени	Да – 5 години (приключва сега)
05	3	Тревен полен	Не
06	9	Тревен и дървесен полен, домашен прах	Да: 3 години с домашен прах (приключил) и четвърта година – тревен микс
07	9	Тревен полен	Да – 5 години (приключва сега)
08	5	Тревни и житни полени, заек, домашен прах	Да – втора година
09	10	Тревен полен	Не
10	12	Тревен полен	Не
11	5	Тревен полен + битови алергени	Не
12	15	Тревен полен	Не

На втора визита при пациентите, които вече бяха демонстрирали бронхиална хиперреактивност, чрез положителен БДТ, се извършиха само стандартните изследвания (без бронхопровокация или повторен БДТ). При единият от тях имаше леко подобрене, а при другият – никакво. По-подробната анамнеза разкри, че първият е потърсил специализирана лекарска помощ, препоръчан му е терапевтичен режим, но той не го спазва напълно, а вторият не е потърсил помощ.

Прави впечатление, че общо за двете групи, единственият показател, който показва статистически значима разлика между двете визити е ТИВ, като това не се обяснява с промяна в околната температура. При FeNO също имаме тенденция за покачване по време на активния поленов сезон (табл.11)

Ако анализираме поотделно групите на пациенти и контроли, промяната в ТИВ при първите е още по-ясно изразена – от  $34.07 \pm 1.29$  °C на първа визита до  $34.93 \pm 0.64$  °C на втората ( $p = 0.004$ ), като тук се отбелязва силна корелация ( $r = 0.853$ ;  $p < 0.001$ ). В групата от 10 контроли, от друга страна, изходните показатели от ФИД, както и неинвазивните маркери на бронхиално възпаление (ТИВ и FeNO) не показват статистически значими разлики между двете визити. Температурата на издишания въздух при здравите доброволци е съответно  $34.42 \pm 0.59$ °C при първа визита и  $34.49 \pm 0.65$ °C при втора.

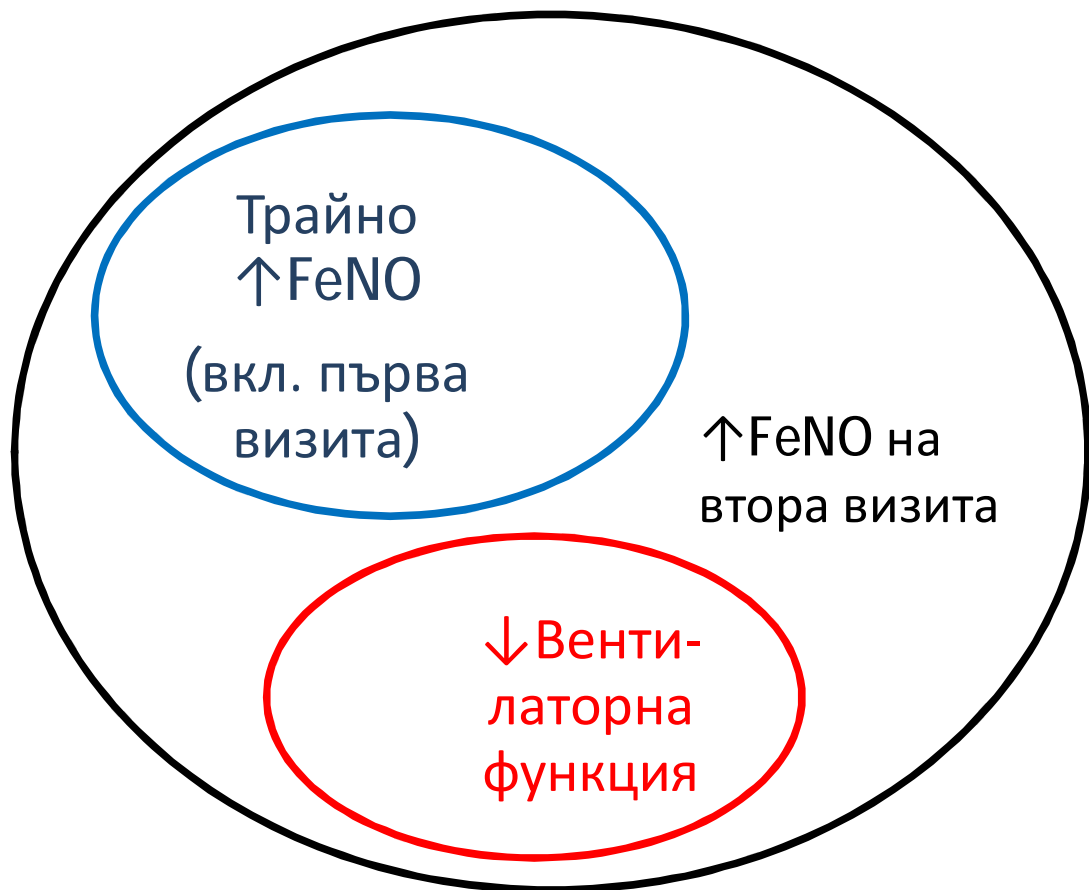


**Фиг. 14.** По-високата изходна температура на издишан въздух обуславя по-ниско отношение  $FEV_1/FVC$  след бронхопровокация при първа визита (извън поленовия сезон)

**Таблица 11.** Разлики в стойностите на температурата на издишания въздух, стайната температура и фракцията на азотен оксид в издишан въздух между двете визити – извън и по време на поленовия сезон

Показател	Mean $\pm$ SD		Уровен на значимост (p)	Корелация (Pearson)
	Първа визита	Втора визита		
ТИВ (°C)	34.23 $\pm$ 1.03	34.73 $\pm$ 0.67	0.017	r = 0.492; p = 0.020
Стайна Т (°C)	23.40 $\pm$ 2.08	24.25 $\pm$ 0.90	0.117	r = - 0.242; p = 0.277
FeNO (ppb)	12.6 $\pm$ 19.4	20.1 $\pm$ 23.3	0.053	r = 0.698; p < 0.001

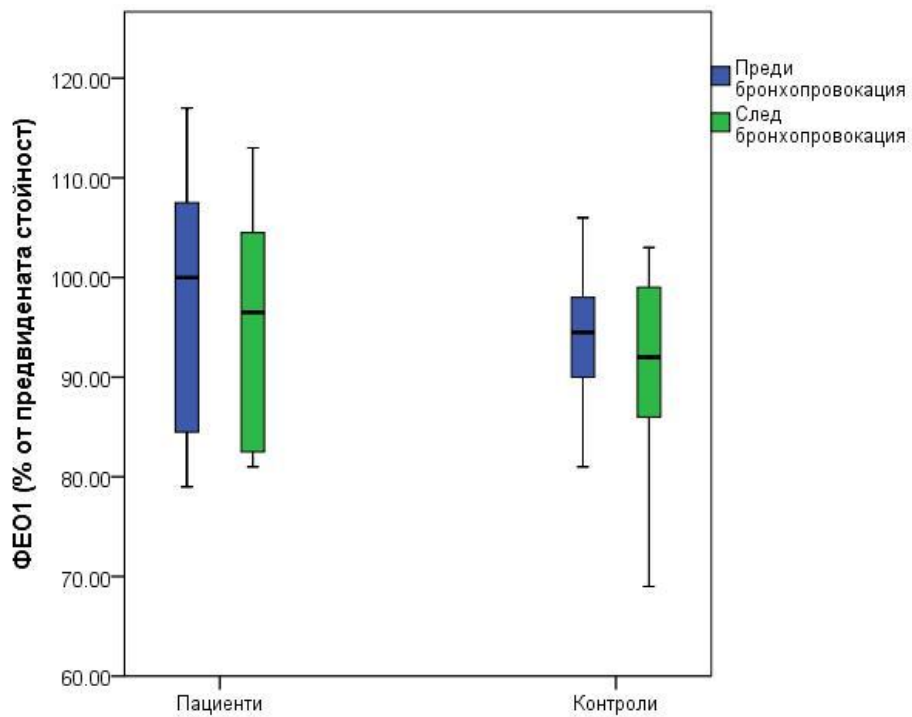
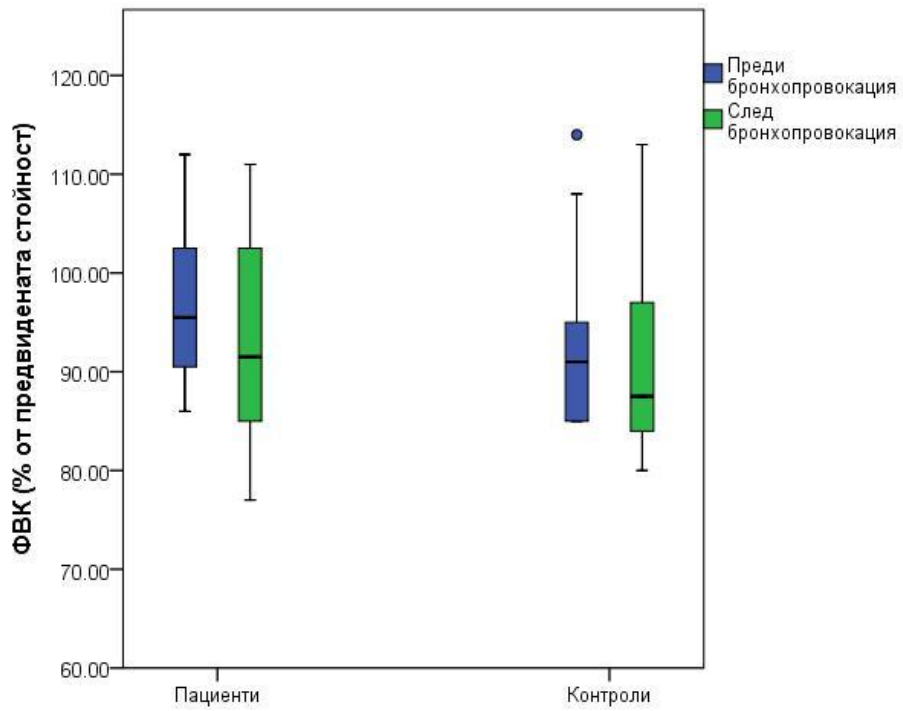
Двама от групата на пациентите презентираха на втора визита обструктивно вентилаторно нарушение, каквото не бе налице по време на първата визита. Вместо бронхопровокация бе извършен БДТ, като и в двата случая бе положителен: +22% (790 ml) и +15% (560 ml), съответно. При същите двама пациенти имаше и подчертана динамика във FeNO спрямо първата визита (от 7 на 34 ppb и от 8 на 79 ppb, съответно), както и в ТИВ (от 33.97 °C на 34.29 °C и от 33.38 °C на 34.72 °C, съответно). При други трима пациенти FeNO бе висока и на двете визити, но това не бе свързано с вентилаторно нарушение в нито един от случаите и бронхопровокациите бяха винаги с отрицателен резултат. (фиг. 15)



**Фиг. 15.** Лицата с високи стойности на FeNO на втора визита могат да бъдат разделени на две групи: такива, които са били с високи стойности и на първа визита и такива, при които такива стойности се установяват за първи път сега. Между двете групи няма припокриване и всички, при които са установени влошени показатели от функционалното изследване на дишането са с повишен FeNO.

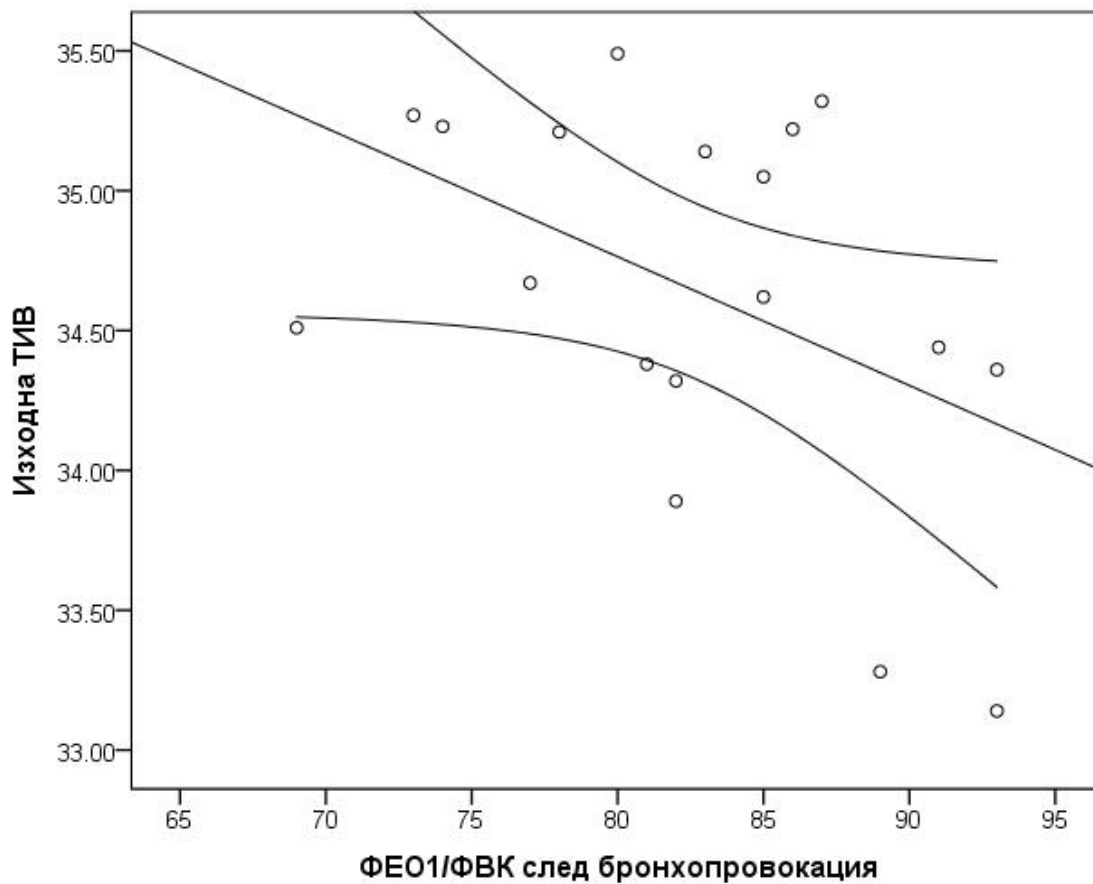
При бронхопровокациите на останалите 8 пациента и 10 контроли отново не се наблюдават положителни резултати, т.е. в хода на конкретното изследване не се открива допълнителна бронхиална хиперреактивност. (фиг. 16)





**Фиг. 16.** Промени в някои основни спирометрични показатели в следствие извършване на индиректната бронхопровокация на втора визита

Подобно на първа визита и тук се установи корелация между изходната ТИВ и отношението на  $\text{ФЕО}_1/\text{ФВК}$  след бронхопровокацията ( $r = -0.458$ ;  $p = 0.042$ ) (фиг. 17)



**Фиг. 17.** По-високата изходна температура на издишан въздух обуславя по-ниско отношение  $\text{ФЕО}_1/\text{ФВК}$  след бронхопровокация при втора визита (по време на поленовия сезон).

Равносметката след края на проучването сочи, че нито една бронхопровокационна проба не бе положителна, но бронхиална хиперреактивност се установи при общо 4 от 12 пациента с алергичен ринит и при всички тях обструкцията бе обратима.

## V. Дискусия

### Задача 1.

В това проучване установихме леко увеличаване на FeNO в хипоксични условия, което корелира отрицателно с нивото на кислородна сатурация и не бе съпроводено от промяна в ТИВ.

Конкретният времеви интервал на 7-ма мин. бе избран, защото наш предишен опит сочи, че първите промени във FeNO се регистрират именно тогава. Резултатите на 7-ма и 15-та мин. не се различават сигнификантно, но има тенденция към намаляване. Това ни доведе до заключението, че след 15 мин. се достига своеобразно стабилно състояние по отношение на синтеза на NO, като отговор към екзогенната хипоксия, ето защо решихме това да е финалната ни точка. Допускаме, че наблюдаваното увеличение на FeNO при хипоксична експозиция вероятно се дължи на стимулация на eNOs. Съществуват редица публикации, посветени на ролята на NO в адаптациите към хипоксия, като в експериментите се използват разнообразни опитни животни. Макар данните да не са единодушни, оформя се тенденция за потвърждаване участието на NO. Няколко епидемиологични проучвания изследват разликите във FeNO при високопланинско население и жители от низините и резултатите са противоречиви. Деца от областта Аймара (Южна Америка, Анди) се оказват протектирани от високопланинска белодробна хипертензия, но няма данни NO да е свързан с този факт, докато възрастни от Тибет, всъщност имат сигнификантно по-високи стойности на FeNO спрямо лица, живеещи на ниска надморска височина и по-високата FeNO е свързана с увеличен пулмонален кръвоток, но без повишено налягане в пулмоналната артерия. Няколко проучвания в последното десетилетие посочват ниските нива на NO като потенциален маркер за пулмонална ендотелна дисфункция, включително при хронично-обструктивна белодробна болест (ХОББ). Редица изследвания съпоставят ролята на азотния оксид при нормобарна и при хипобарна хипоксия и потенциалът му като предиктор за развитие на високопланинска болест. Участието на азотния оксид в патогенезата на нарушенията на дишането по време на сън също е обект на научен интерес, както и връзката със затлъстяването – известен проинфламаторен конституционален фактор. Няколко изследователски екипа обръщат внимание

и на обратната зависимост – промените в синтеза на NO при вдишване на хипероксична смес, като резултатите отново са противоречиви. Подобни на условията в нашия протокол са описани в експеримент, проведен от Seys, в който астматично болни преминават през едночасова експозиция на нормобарна хипоксия, което води до леко снижение в стойностите на FeNO спрямо изходните. Този резултат, противен на нашите, е още едно доказателство за наличието на съществени разлики в механизмите на NO синтеза между здрави и пациенти и необходимостта от допълнително изучаване ролята на NO в респираторната реакция към хипоксия в различните ѝ форми – остра, хронична, нормобарна, хипобарна, патологична, експериментална.

Както е видно от нашите резултати, съществуват тенденции за намаляване на сатурацията и увеличаване на FeNO в условията на хипоксия, но въпреки това, групата е хетерогенна. Интересно е да се отбележи, че при тримата доброволци с най-голяма десатурация (8.4%; 4.5% и 4.3% докато средната бе 2.7% за цялата група), всъщност не се регистрира увеличение на FeNO. Тези резултати, въпреки малкия брой изследвани лица, подкрепят тезата, че NO играе роля в адаптациите към хипоксия. Друг интригуващ резултат, е че почти при всички доброволци регистрирахме покачване във FeNO, предизвикано от хипоксията, като при някои този отговор бе отложен във времето. Причината да нямаме по-голяма десатурация при всички, които имат „забавено“ увеличение на FeNO, вероятно се крие във факта, че SpO<sub>2</sub> зависи от много други фактори. Не успяхме да изградим статистически значима негативна корелация между промените в сатурацията и FeNO, поради малкия размер на групата и хетерогенните отговори, но се оформя ясна тенденция.

Температурата на издишания въздух се очаква да бъде снижена в хипоксична среда, което не бе наблюдавано в нашето изследване. Бихме могли да обясним това с техническите характеристики на апарата X-halo, който изисква определено време, за да се достигне до температурно равновесие, т.е. за да даде резултат. В хипоксичната палатка, измерването на ТИВ започваше след регистриране на FeNO на 7-ма мин., следователно, резултатите, които получавахме отговаряха на 10-12 мин. от хипоксичната експозиция. Това отразява относително късен момент, ако се имат предвид физиологичните промени, за които става дума тук, настъпващи при директно навлизане в

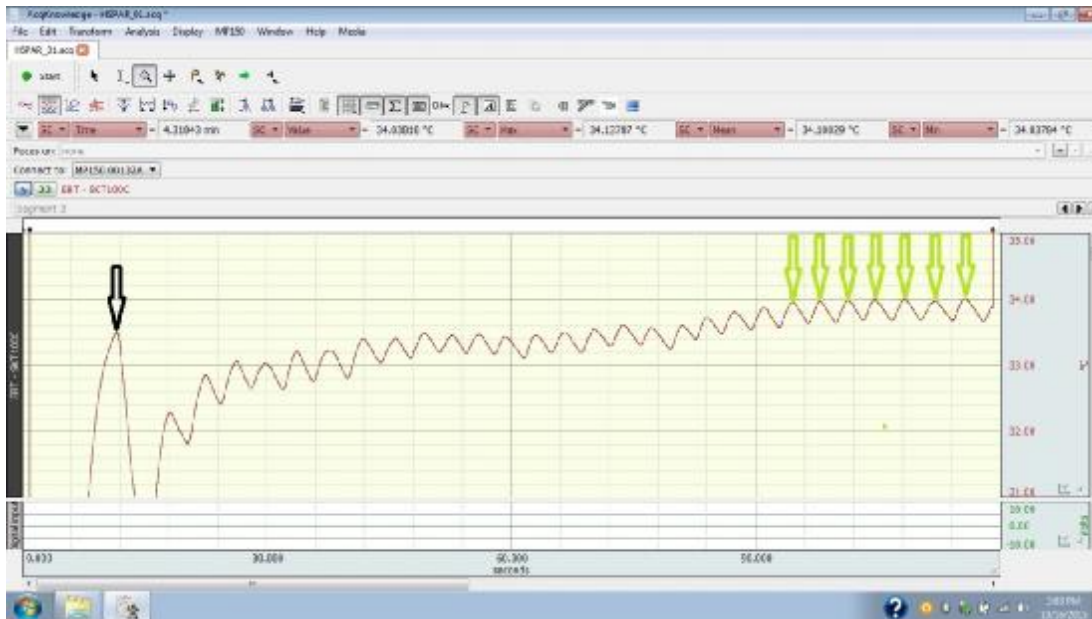
предварително подготвена хипоксична среда. Нашата хипотеза е, че по време на тези първи 10 мин. кривата на ТИВ е бифазна и че всъщност, в началото има преходна пулмонална вазоконстрикция, която, все пак, е достатъчно силна, за да провокира увеличение в синтеза на NO.

Сред недостатъците на проучването, бихме могли да посочим малкия брой изследвани лица. Наличието на относително хетерогенни отговори (поне 2 различни типа) не дава възможност да се установят категорични зависимости. Техническата характеристика на дихателния термометър X-halo не позволява да мониторираме ТИВ динамично след навлизане в хипоксичната среда и не сме способни да оценим бързо случващите се промени. План за бъдеща научна разработка включва обогатяването на този протокол с изследване на нови лица и използване на по-фин метод за измерване на ТИВ, който ще ни даде допълнителна информация за динамиката на този показател и регулацията на белодробния съдов тонус.

## **Задача 2.**

В това проучване установихме, че предложеният от нас метод за измерване температурата на издишания въздух е бърз, надежден и точен, а също така корелира добре с наложен в практиката метод.

Стойностите, получени при еднократно издишване, логично показаха най-голяма вариабилност, ето защо смятаме за по-важно и коректно сравняването между методите, които използват спокойно дишане – X-halo и предложеният от нас, които корелират умерено. От статистическа гледна точка обаче, в такива случаи се препоръчва да се направи тест на Bland-Altman, който, в нашия случай, показва много добро съответствие между двата апарата и се смята за по-добър показател от корелационния анализ. Измерената ТИВ чрез предложеният от нас метод е средно с  $0.19^{\circ}\text{C}$  по-висока от тази, измерена чрез X-halo, но умерената корелация ( $r = 0.571$ ) показва, че далеч не всички хора са имали по-ниски стойности с първия и по-високи с втория метод. Все пак, възможно обяснение на този феномен е самият начин на анализ на достигнатото температурно плато – с анализиране на пиковите стойности (Фиг. 18).



**Фиг. 18.** Запис от измерване на ТИВ – черната стрелка показва пика на единичното издишване, а зелените стрелки сочат пиковите стойности, от чиято средна е изчислена стабилната ТИВ

Интересен за отбелязване е фактът, че влиянието на околната температура върху двата различни метода е практически еднакво. Въпреки, че не използваме термоизолирани мундщуци, изглежда, че наличието на клапа и малкият размер на образуващата се полузатворена камера пред устата на пациента са достатъчни, за да изолират, до задоволителна степен, влиянието на околната температура. Именно тази малкообемна камера, в която въздухът се затопля лесно и бързо, е причината и за най-голямото предимство на предложението от нас метод, спрямо X-halo – съкращаване на времето за измерване повече от два пъти. В натоварена клинична обстановка, или ако прилагаме този метод на широка популация от хора като скрининг, това може да се окаже от решаващо значение. Предложеният нов метод за измерване на ТИВ изгражда статистически значима разлика между стойностите на непушачи и пушачи. Последните имат средно с около половин градус по-висока ТИВ, което може да се обясни с хроничното тлеещо възпаление в дихателните им пътища, което се поддържа от редовната инхалация на цигарения дим. За съжаление, както се посочва и в литературата, припокриването на резултатите

между отделните групи е твърде голямо, за да можем да предложим гранична стойност, която със задоволителна чувствителност и специфичност да може да бъде използвана като ориентир.

Недостатък на проучването е липсата на достатъчно разнообразие в получените резултати, което би дало възможност да се оцени по-добре връзката между различните методи за измерване на ТИВ в линеен порядък. При набирание на по-голям брой пушачи и непушачи, вероятно статистическата достоверност на данните ще се повиши и бихме могли да предложим адекватен метод за оценка на белодробното възпаление, в следствие тютюнопушене, както и да се изгради зависимост между брой пакетогодини и промяна в ТИВ. При по-възрастни пациенти, особено пушачи, където вече са налице осезаеми процеси на ремоделиране, бихме могли да очакваме и понижени стойности, съпътстващи тъканна деструкция и загуба на белодробен паренхим, в частност, съдове, които са приносители на топлинната енергия. При сравнение на пациентите с добре подбрана група здрави контроли, кореспондиращи по възраст и други антропометрични показатели, бихме могли да проследим кога е по-силно изразен ефектът на хроничното възпаление и кога – на структурните промени.

### **Задача 3.**

В това интервенционално проучване поставихме за цел да изследваме взаимовръзката между ТИВ и бронхиалния съдов тонус в посока под нормата и установихме пряка връзка – вазоконстрикцията бе съпроводена от понижение в ТИВ.

Има много данни, че повишената васкуларизация и вазодилатацията водят до по-голямо топлоотдаване, за да се разбере обаче напълно връзката между двете явления, е уместно те да се изследват при динамика в различни посоки. Дозата инхалиран ксилометазолин (0.1% ксилометазолинов хидрохлорид), която подбрахме бе 1.25 ml смесени с 1.25 ml физиологичен разтвор, а продължителността на инхалацията бе 2 min. Тъй като досега в литературата не се среща подобен експеримент, дозата бе подбрана от нас емпирично, в хода на неколккратно изследване на няколко доброволци, като целта ни бе да изберем най-малката доза, която все пак води до осезаем ефект, т.е. да бъдат предизвикани промени в бронхиалния съдов тонус, а същевременно да

липсват системни ефекти върху циркулацията. ТИВ спадна при всички лица с едно изключение, като средната разлика бе малко над 0.8°C. Фактът, че при пушачи, спадът в ТИВ се извява на по-късен етап, сравнено с непушачи предполага по-забавена реактивност на вазоконстрикторния отговор. Възможна причина за това е, че в следствие на тлеещото възпаление, бронхиалната мукоза при пушачи е по-богато васкуларизирана и е необходимо по-дълго време за отчитане на ефекта от алфа-адренергичния вазоспазм. Това забавяне би могло да бъде и свързано с обяснението на липсата на температурен спад при едно от изследваните лица, което е пушач. Вероятно е при по-продължително проследяване, да се регистрира типичната за останалите реакция. Разбира се, при приложение на по-голяма доза, отговорът би бил по-категоричен, но при все, че проучването е пилотно, сме поставили безопасността на първо място. Трябва да се отбележи, че при никой от изследваните лица не се установи ангажиране на системната циркулация в отговора към вазоконстрикторния агент. Изучаването на съдовите промени при пушачи е интересно за клиниката и медицинската наука, поради няколко причини. На първо място, хроничното инхалиране на множеството токсини, съдържащи се в цигарения дим, поддържа постоянно възпаление в лигавицата на дихателните пътища, което неминуемо води и до съдови промени. По-прецизното изследване на тези промени, дава възможност за проследяване на патофизиологичните процеси, причинени от тютюнопушенето много преди да са се появили каквито и да било субективни симптоми. На второ място, съдовото русло в лигавицата на дихателните пътища търпи разнообразни промени, в зависимост от броя пакетогодини и интензивността на пушене. Съществуват редица морфологични проучвания, които търсят връзка между състоянието на бронхиалните съдове и други признаци на хронична увреда – функционално състояние на белия дроб, хемоптизис и др. В общия случай обаче, се изследват пушачи с дългогодишен „стаж“ и бронхоскопията не се съчетава с измерване на ТИВ. На трето, но не на последно, място бихме посочили факта, че съдовите промени в лигавицата на дихателните пътища са тясно свързани и с развитието на злокачествени заболявания. Колективите на Keith et al. и Shibuya et al. се фокусират върху този проблем при дългогодишни тежки пушачи, изложени на по-висок риск от развитието на белодробен карцином. Те описват т. нар. ангиогенна сквамозна дисплазия – гъста мрежа от



новообразувани капилярни бримки в субмукозата. Keith et al. включват и проследяване с повторна бронхоскопия и биопсия след период от 1 година, като в половината от случаите, описаната лезия персистира. Подобна структура не се наблюдава в биопсиите от здрави непущачи и авторите допускат, че аберантни модели в микроциркулацията се наблюдават в много ранни стадии от карциногенезата. На втора визита, която играеше роля на контрола, изследваните лица инхалираха физиологичен разтвор. Резултатите след инхалация бяха много сходни с изходните, с лека тенденция към спад. Това би могло да се обясни с вдишването на течен разтвор *per se*, тъй като допълнително овлажнената лигавица на дихателните пътища губи повече топлина, поради засилен процес на изпарение. При възможност да се изгради надеждна връзка между състоянието на съдовете и ТИВ, последната би могла да служи като маркер за индивидуално проследяване състоянието на даден пациент и ранно откриване на възможни патологични изменения.

Недостатък на проучването е малкият брой изследвани лица, макар те да са много равномерно подбрани по отношение на пол и тютюнопушене. При наличие на по-голяма група би станало ясно дали наистина подбраната доза е подходяща за масова употреба, може ли да се постигне измерим ефект с по-малка доза, има ли особености в отговора към вазоконстрикторния агент, свързани с пол, възраст, брой пакетогодини и др. Интересно би било включването и на пушачи с по-голям брой пакетогодини, за да може да се проследи ефектът на цигарения дим в дългосрочен план. Най-добри резултати биха се получили, ако изследването на ТИВ се комбинира със структурно изследване, за което е нужен полидисциплинарен екип, който да включва пулмолог, специалист по функционално изследване на дишането и патоанатом. По този начин, ще могат да се получат най-точни данни за връзката между ТИВ и състоянието на кръвоносните съдове в дихателните пътища. Проучването, при всички положения, поставя интересни въпроси и би могло да се продължи и разшири в бъдеще.

#### **Задача 4.**

Четвъртото проучване включва група от пациенти с клинично поставена диагноза, както и контролна група, то най-много се доближава до дефиницията за научно клинично проучване. Установихме наличие на бронхиална

хиперреактивност при част от пациентите, както и връзка между ТИВ и реакцията към бронхоконстрикторен стимул.

Двете групи са съпоставими по възраст и пол. Като недостатък на подбора би могло да се изтъкне относителната хетерогенност на пациентите с алергичен ринит – почти всички включени имат доказана алергия към тревен полен, но сред тях има и полисенсibiliзирани. Малко повече от половината (7 лица) получават антиген-специфична десенсибилизираща имунотерапия, като сред тях има пациенти в различна фаза на това лечение. Все пак, дизайнът е актуален и предполага разширяване и продължаване в бъдеще с оформяне на няколко обособени групи от пациенти с алергичен ринит, а би могло и да се включи група с бронхиална астма. По-високата температура, в умерена степен, индикира по-ниско съотношение ФЕО1/ФВК след провокацията – находка, запазила се и при втора визита. Въпреки отрицателния краен резултат от всички проби, при построяване на графика, наклонът на кривата доза/отговор сочи, че голяма част от изследваните лица са реагирани на приложения стимул и то дозозависимо. Между първа и втора визита има значително покачване на ТИВ за контингента на проучването, като това не е свързано с промяна в стайната температура. Тази разлика е по-силно изразена при пациентите – увеличение от почти 1 градус (0.86°C) – значителна разлика, особено при сравнение с промяната за същия период при здравите лица средно с – 0.07°C. Последната цифра сочи, че въведеният от нас метод за измерване на ТИВ е много надежден и демонстрира отлична възпроизводимост между различни визити. Към момента не сме способни да намерим задоволително обяснение на трайно патологично високите стойности на FeNO при някои лица.

Установяването на бронхиална хиперреактивност при 1/3 от пациентите с алергичен ринит корелира напълно с досега известните в литературата данни за честотата на подобно съчетание. Липсата на адекватна програма за проследяване на тези пациенти обаче, е проблем, чиито последствия утежняват поддържането на добър контрол у тези лица и генерират материални и нематериални загуби. Измерването на ТИВ е много бързо, надежден и удобен метод, с който, надяваме се, в бъдеще бихме могли, макар и по-грубо, да отсяваме пациентите изложени на по-висок риск.

## V. ИЗВОДИ

1. Екзогенната хипоксия води до увеличаване на стойностите на FeNO, като този ефект неутрализира вазоконстрикцията, предизвикана от намаленото алвеоларно парциално налягане на кислорода
2. Азотният оксид участва в адаптациите към екзогенна хипоксия и в случаите, когато покачването му е забавено или по-слабо изразено, се наблюдава по-ясно изразена десатурация
3. Предложеният от нас метод за измерване на ТИВ е надежден, точен и бърз, дава стойности, които са съпоставими с тези от апарата X-halo и не се влияе значително от околната температура.
4. Стойността на ТИВ е статистически значимо различна при пушачи и непушачи и би могла да се използва за оценка на тлеещото хронично възпаление.
5. Инхалирането на вазоконстрикторен агент води до статистически значим спад в ТИВ.
6. Лекостепенният спазъм на кръвоносните съдове в дихателните пътища няма системен ефект – артериалното кръвно налягане и сърдечната честота остават непроменени.
7. При част от пациентите с алергичен ринит се установява бронхиална хиперреактивност, по-силно изразена при наличие на алергенна експозиция.
8. По-високите стойности на изходна ТИВ, корелират с по-голям спад в отношението  $FE_{O_1}/FVK$ , т.е. с по-изразен отговор към бронхоконстрикторен стимул.

## VII. СПРАВКА ЗА НАУЧНИТЕ ПРИНОСИ

### **С оригинален характер**

1. Въведен бе нов метод за измерване температурата на издишания въздух. Бяха тествани неговата точност, надеждност и възпроизводимост на данните, в сравнение с вече познат и широко използван в практиката метод.
2. За първи път бе разработен модел, който включва инхалация на вазоконстрикторен агент чрез небулизация и проследяване на промените в температурата на издишания въздух.
3. За първи път у нас бе изследван ефектът на екзогенната хипоксична хипоксия върху фракцията на азотен оксид и температурата на издишан въздух при здрави доброволци.
4. Установи се умерена корелация на температурата на издишания въздух с конкретни спирометрични показатели

### **С потвърдителен характер**

1. Потвърди се, че екзогенната хипоксия предизвиква комплексни промени в дихателните пътища, в които участва и азотният оксид.
2. Потвърди се, че температурата на издишания въздух се повлиява от бронхиалния съдов тонус, като е по-висока при млади пушачи, както и при пациенти, страдащи от алергични възпалителни заболявания на дихателните пътища.
3. Потвърди се, че при част от пациентите с алергичен ринит е налице и бронхиална хиперреактивност, която се благоприятства от тютюнопушене и сезонни алергени и се съпътства от промени в температурата на издишан въздух.

## IX. НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ И СЪОБЩЕНИЯ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

### Научни публикации

1. Димов П., Диагностичен и терапевтичен подход към най-често срещаните причини за кашлица, МедикАрт – Педиатрия и Пулмология 2014; 5:13-4
2. Dimov P, Marinov B, Kostianev S Measurement of exhaled breath temperature – an easy solution to a difficult question? Thoracic Medicine, 2015, 5(1):16-23
3. Dimov P, Marinov B, Ilchev I, Taralov Z, Kostianev S Evaluation of acute exogenous hypoxia impact on the fraction of exhaled nitric oxide in healthy males. Folia Medica 2015 57(2) [in press]

### Научни участия

1. Димов П, Костянев С, Маринов Б, Терзийски К, Тарълов З Оценка на ефекта от острата хипоксия върху фракцията на азотен оксид в издишан въздух, Дни на медицинската наука в Медицински Университет – Пловдив, октомври 2013
2. Dimov P, Taralov Z, Terziyski K, Marinov B, Kostianev S Impact of xylomethazoline-mediated airway vasoconstriction on exhaled breath temperature measured by a novel method: A pilot study ERS Annual Congress Amsterdam 2015, Eur Respir J 2015 Supplement [in press] IF = 7.636
3. Dimov P, Taralov Z, Marinov B, Kostianev S Exhaled breath temperature as a predictor for bronchial hyperreactivity in patients with allergic rhinitis without currently diagnosed asthma XI<sup>th</sup> Congress of Bulgarian Society of Physiological Sciences with international participation, october 2015; Folia Medica Suppl. 57(3) 20-1