

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ПЛОВДИВ

Катедра по педиатрия и медицинска генетика

Ръководител: Проф. д-р Мирослава Бошева, дм

Д-р Нели Добрева Генкова

**РОЛЯ НА НИВАТА НА АЗОТНИЯ ОКСИД
В ИЗДИШАНИЯ ВЪЗДУХ ЗА ДИАГНОЗАТА
НА НЯКОИ БЕЛОДРОБНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ
ВЪВ ВЪЗРАСТТА 5 – 18 ГОДИНИ**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд
за присъждане на образователната и научна степен

ДОКТОР

Научна специалност: „Педиатрия” шифър 03.01.50

Научни ръководители:

Проф. д-р Мирослава Бошева, дм

Доц. д-р Благой Маринов, дм

ПЛОВДИВ, 2016 г.

Д-р Нели Добрева Генкова е родена в гр. Пловдив. Средното си образование завършва през 1979 г. с пълно отличие и златна значка в Гимназия „Димитър Благоев“. Завършва медицина с отличен успех през 1985 г. От 1987 г. е член на колектива на Катедра по педиатрия и медицинска генетика към МУ – Пловдив.

Дисертационният труд е написан на 159 страници и е онагледен с 71 таблици, 33 фигури и 1 приложение.

Библиографският списък включва 252 литературни източника, от които на български 12 и на латиница – 240.

Дисертационният труд е одобрен и насочен за защита от разширен катедрен съвет на Катедрата по педиатрия и медицинска генетика при Медицински университет – Пловдив.

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

95% CI – 95% интервал на доверителност

БА – бронхиална астма

БПО – бактериална пневмония придобита в обществото

БПТ – бронхопровокационен тест

БХР – бронхиална хиперреактивност

ИКС – инхалаторни кортикостероиди

КАП – кожно алергични проби

КИВ – кондензат от издишан въздух

ЛТА – левкотриенов антагонист

МВ – муковисцидоза

ПТ – пасивно тютюнопушене

ФЕ – форсирана експирация

ФИД – функционално изследване на дишането

ATS – Американско респираторно общество

ARS – Американско респираторно дружество

ВМІ – индекс на телесната маса

BSA – телесна повърхност

CFTR – Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (Ген на трансмембрания регулатор на кистичната фиброза)

ERS – Европейско респираторно дружество

FeNO – азотен оксид в издишания въздух

FEV_{1.0} – форсиран експираторен обем за 1 сек.

FVC – форсиран витален капацитет

ppb – particles per billion

VC – витален капацитет

TLC – тотален белодробен капацитет

T_{L,CO} – дифузионен капацитет

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Редица белодробни заболявания протичат с хронично възпаление и оксидативен стрес. В последните десетилетия се наблюдава засилен интерес към анализа на летливи биомаркери в издишания въздух, като начин за мониториране на възпалението и оксидативния стрес в белите дробове. До скоро, тези процеси не се проследяваха в рутинната клинична практика с достъпните методи. Това затрудняваше справянето с болестта, тъй като се извършваха само косвени измервания на възпалението на дихателните пътища, чрез следене на симптоми им и промените в белодробната функция. За съжаление, симптомите не винаги отразяват точно степента на патоморфологичните промени, а при леки форми белодробната функция обикновено е нормална. Метод, който директно определя възпалението в дихателните пътища, би предоставил по-точна информация за патогенетичните процеси и активността на заболяването. Подобен метод е измерването на азотен оксид в издишания въздух (FeNO) като биомаркер, още повече че за него важат следните констатации:

- Инвазивните методи трудно намират приложение в педиатричната практика, затова вниманието е насочено основно към възможностите, които предоставят неинвазивните.
- Измерването на FeNO е техника, която увеличава познанията ни за патофизиологията на белодробните заболявания
- Внимателната ѝ стандартизация, улесни използването на метода в детската пулмология, дори при деца в предучилищна възраст.
- Изследването на този показател извървява дълъг път от Lars Gustafsson (1991) и предположението му, че след като NO се образува в белите дробове, то трябва да бъде възможно да се установи тази молекула газ в издишания въздух до създаването на портативни апарати за измерването на FeNO (1997).

Въпреки постигнатите резултати, все още има нерешени въпроси за показанията за изследване на азотния оксид в издишания въздух при деца с белодробни заболявания – за поставяне на диагнозата и/или проследяване ефекта от лечението. От прегледа на достъпната ни литература, се установи че са нужни допълнителни проучвания за ролята на FeNO при деца с бронхиална астма, муковисцидоза и пневмония. Тази наша констатация определи целта на настоящето проучване.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

ЦЕЛ

Да се определи значението на азотния оксид в издишания въздух при определени белодробни заболявания (бронхиална астма, муковисцидоза, бактериални ППО) във възрастта 5 – 18 год.

ЗАДАЧИ

1. Да се проучи ролята на азотния оксид в издишания въздух при деца с бронхиална астма
 - 1.A Като критерий за диагноза
 - 1.B Като маркер за терапевтично повлияване при лечение с ИКС.
2. Да се определи значението на FeNO при пациенти с муковисцидоза.
3. Да се определи значението на FeNO при деца с бактериална ППО.
4. Да се установят детерминантите на FeNO в изследвания контингент.

III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

III.1. МАТЕРИАЛ

За изпълнение на поставените задачи се проведеха изследвания на деца на възраст 5 до 18 години с диагноза бронхиална астма, муковисцидоза, бактериална ППО и контролна група. Високото качество на избраните единици на наблюдение се определя, от статистическа гледна точка, от въведените включващи и изключващи критерии.

Включващи критерии

1. Възраст на децата 5 – 18 години
2. Попълнено информирано съгласие
3. Деца определени като:
 - Здрави през последните 4 седмици
 - Болни от бронхиална астма по GINA (2012)
 - Болни от муковисцидоза според ECFS (1998)
 - Болни от остра бактериална ППО
4. Пациенти, които могат да изпълнят успешно необходимите за проучването изследвания
 - Измерване на FeNO
 - Бавна спирометрия, форсирана експирация, дифузионен капацитет

Изключващи критерии

1. Тютюнопушене
2. Остри инфекции при изследване на децата с бронхиална астма
3. Нервно-мускулни заболявания
4. Автоимунни заболявания
5. Невъзможност и/или нежелание за съдействие при изследванията
6. Активно трениращи и състезаващи се в някакъв спорт
7. Усложнена пневмония, вътреболнични пневмонии, пневмония при деца с подозиран или доказан имунен дефицит и пациенти на изкуствена белодробна вентилация

В окончателния анализ бяха включени 284 деца и направени 841 изследвания на FeNO

- 100 деца с бронхиална астма /включени 112, от които отпадат 12, поради невъзможност да покрият включващ критерий 4

- 100 деца с бактериална ППО /106 деца с неусложнена бактериална ППО, от които отпаднаха 6 /2 поради невъзможност да покрият включващ критерий 4 и 4 поради появили се усложнения/
- 27 деца с муковисцидоза
- 57 здрави контроли

Време на проучването

Проучването по своя характер е проспективно лонгитуденално изследване и обхваща периода 01.01.2012 – 31.12.2014 година.

Място на проучването

Проучването е проведено в Клиника по педиатрия към УМБАЛ „Св. Георги“ ЕАД – гр. Пловдив. Дисертационният труд отговаря на стандартите и критериите за научност и е одобрен от Комисията по научна етика към Медицински университет – Пловдив.

III.2. МЕТОДИ

Анкетен метод – за събиране на първичната информация

Документален метод – използвана е официалната документация, а именно:

- История на заболяването
- Епикриза на изписан болен
- Амбулаторни листове при диспансерно наблюдение и амбулаторни консултации
- Фиш от проведеното функционално изследване на дишането
- Протокол от проведеното изследване на FeNO
- Фиш от проведените лабораторни и микробиологични изследвания

Диагностични методи

За събиране на научната информация са използвани следните методи:

Клинични методи

- Анамнеза – при всички пациенти е събрана подробна информация за настоящето заболяване, като за децата с поставена диагноза бронхиална астма и муковисцидоза са използвани и епикризи от предишни хоспитализации.

▪ Клиничен преглед – на всички деца е извършен рутинен педиатричен преглед, оценка на жизнените и антропометрични показатели.

Стандартизирани клиничко-лабораторни методи

За целта на проучването на всички пациенти са извършени клиничко-химични изследвания в Централната клинична лаборатория (ЦИКЛ) на УМБАЛ „Свети Георги“ ЕАД, която участва в Националната система за външна оценка на качеството на резултатите, както и в международни системи за контрол: Labquality – Finland, Instand – Germany и Randox – UK.

▪ Хематологични (Hb, RBC, Hct, MCV, MCH, MCHC, WBC, PLT, PMV, ДКК, СУЕ).

▪ Биохимични (CRP)

▪ Имунологично изследване (количество на серумни IgG, IgA, IgM и IgE)

▪ Микробиологични методи

На всички пациенти са извършени следните културелни микробиологични изследвания в Микробиологична и вирусологична лаборатория и Лаборатория по клинична имунология на УМБАЛ „Свети Георги“ ЕАД:

▪ Носен секрет за еозинофили и за бактериална флора и антибиограма

▪ Храчка за бактериална флора и антибиограма

▪ Образни методи

При децата с пневмония е проведена рентгенография на бял дроб в право положение във фас и при необходимост в профил.

▪ Кожно-алергични тестове

При децата с бронхиална астма или съмнение за астма – КАП – prick test с познати алергени – инхалаторни битови и полени.

▪ Функционално-диагностични методи:

На всички пациенти е измерено FeNO чрез NO анализатор *NioxMino* (Aerocrine, Solna, Sweden), притежаващ висока чувствителност, специфичност и способност за автоматично селектиране на фракции от издишания въздух. Резултатите се отчитат в ppb (particlesperbillion). Стойностите 5 – 20 ppb са приемани за нормални. Еозинофилно възпаление се отчита, както следва:

Ниска вероятност < 20 ppb

Междиен резултат 20 – 35 ppb

Висока вероятност 35 – 50 ppb

Измерванията при деца с белодробна патология са направени по предварително избран дизайн:

- при остри бактериални пневмонии
 - ✓ в началото на заболяването
 - ✓ при оздравяване и
 - ✓ на 28 ден от началото на заболяването при деца с БОС и високи стойности на азотния оксид
- при пациенти с муковисцидоза
 - ✓ без респираторна екзацербация и
 - ✓ при респираторна екзацербация
 - ✓ след 10 дневно антибиотично лечение за тези с респираторна екзацербация
- при деца с астма ежесечно в продължение на 4 месеца

За разделяне на децата на групи според индекса на телесната маса (BMI) бяха използвани *cut off* стойности публикувани от Cole et al за педиатричен контингент (1988).

Бавна спирометрия, форсирана експирация и дифузионен капацитет. Всички маньоври са извършени в специализираната лаборатория към Катедрата по патофизиология, отговаряща на стандартите на ATS/ERS на компютърен спирометър MasterScreen Diffusion™ (Jaeger, Wuerzburg, Germany) с изчертаване на кривите в реално време и автоматична корекция (BTPS – body temperature pressure saturated) в лаборатория за функционално изследване на дишането, отговаряща на международните стандарти. Оборудването на лабораторията е подходящо за изследвания в детската възраст и е в съответствие с детските размери. След антропометричен анализ, изследването включва: бавна спирометрия, форсирана експирация, дифузионен капацитет.

Статистически методи

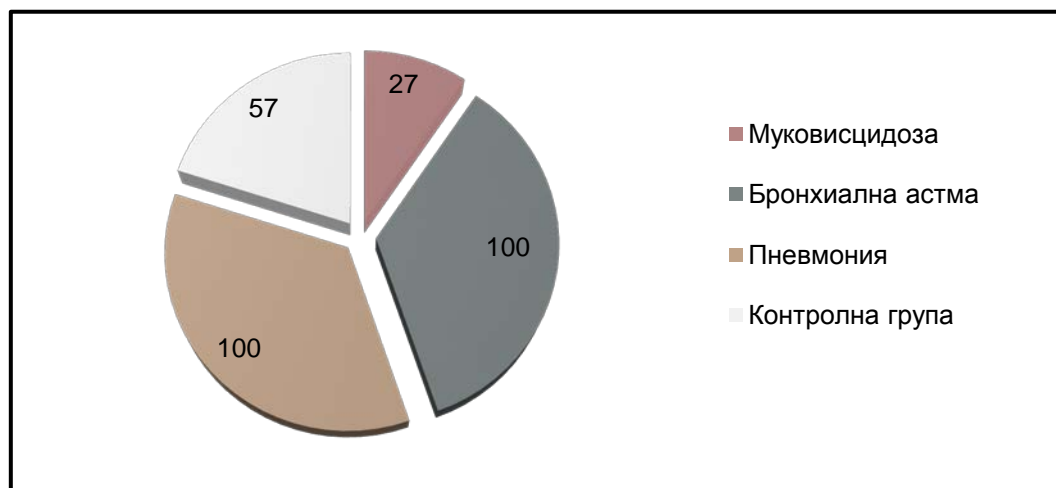
Резултатите са обработени с методите на вариационния, корелационния, непараметричния (при неравномерно разпределение на данните) и графичен анализи. За разработка на качествено измеримите признаци, бяха използвани базовите разновидности на Алтернативния анализ – класически и аркусинусова трансформация на Fisher. Резултатите са изразявани като средна аритметична \pm стандартно отклонение (mean \pm SD). Разликите са приемани за достоверни при ниво на значимост $p < 0.05$. При сравняване на две средни са използвани в зависимост от

случая independent samples T-test или paired samples T-test. В зависимост от вида на първичната информация бяха използвани следните непараметрични анализи: Критерия на съгласие на Pearson, Критерия на Колмогоров – Смирнов, коефициент Kendall's tau b, коефициент на Spearman. Използваните по изключение статистически техники са разгледани в съответните глави. При част от диаграмите стойностите са показани като 95% интервал на доверителност (95% CI = mean \pm 1.96 SEE; error bars) или 5ти – 95ти перцентил (box plot). При компютърната обработка на събраната база данни бяха използвани Статистическия пакет – версия SPSS v. 20 (SPSS, Chicago, USA) и MS Excel 2007 (Microsoft, Redmond, WA, US).

IV. РЕЗУЛТАТИ

IV.1. Характеристика на контингента

Участници в проучването са 284 деца, от които 57 съставят контролната група, а 227 са болни деца (фиг. 1).



Фигура 1. Структурно разпределение на наблюдавания контингент по заболяване и контролна група

Таблица 1. Средна възраст на участниците в проучването по заболявания и контрола

Група	Бр.	Години	Sx	Tx	Pt	u	Px
Муковисцидоза	27	14.07 ± 6,43	3.59	3.47	< 0.001	1.16	> 0.05
Бронхиална астма	100	9.68 ± 2.24	0.22	4.32	< 0.001	2.86	< 0.01
Пневмония	100	11.18 ± 3.68	0.37	3.03	< 0.01	0.29	> 0.05
Контролна група	57	11.87 ± 0.55	0.55	2.87	< 0.01	-	-

Заб. x – Съпоставка контрола/заболяване

Статистически значимо различие е констатирано само при съпоставка на средната възраст на децата с БА и контролната група (табл. 1). При другите две заболявания няма разлика във възрастовата структура.

Таблица 2. Разпределение по пол на включените в проучването деца

Група	Пол	Бр.	%	Sp	U	P
Муковисцидоза	Мъжки	16	59.25	9.49	1.38	> 0.05
	Женски	11	40.75	9.49		
	Общо	27	100.00	-		
Бронхиална астма	Момчета	63	63.00	4.83	3.81	< 0.001
	Момичета	37	37.00	4.83		
	Общо	100	100.00	-		
Пневмония	Момчета	46	46.00	4.98	1.14	> 0.05
	Момичета	54	54.00	4.98		
	Общо	100	100.00	-		
Контролна група	Момчета	28	49.12	6.62	0.18	> 0.05
	Момичета	29	50.88	6.62		
	Общо	57	100.00	-		

Заб. u – съпоставка между контролна група и болни

Различие е констатирано единствено при съпоставката на половата структура при болни с БА и контролната група и се определя от близо два пъти по-големия относителен дял на пациентите от мъжки пол. Различието е статистически значимо при уронен 99.99%.

И при трите нозологични единици с най-голяма честота са представени българите (табл. 3). Изчисленият критерий на съгласия позволява да се направи извода, че честотното разпределение на пациентите по етнически групи при трите заболявания не се различава статистически – $p > 0.05$ / $\chi^2 = 5.29$ /, както и с контролната група – $p > 0.05$ / $\lambda = 0.69$ /.

Таблица 3. Етническа структура на наблюдавания контингент по нозологични единици и контролна група

Група		Муковисцидоза	Бронхиална астма	Пневмония	Контролна група	
Етнос	Българи	Бр.	18	63	62	42
		%	66.67%	64.95%	62.00%	73.68%
		Sp	4.7	4.83	4.85	5.81
	Роми	Бр.	3	20	27	10
		%	11.11%	20.62%	27.00%	17.54%
		Sp	-	4	4.44	4.77
	Турци	Бр.	6	14	11	5
		%	22.22%	14.43%	11.00%	8.78%
		Sp	4.14	3.47	3.13	3.79
	Общо	Бр.	27	97	100	57
		%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%

Заб. $\chi^2 = 5.29$ $p > 0.05$, $\lambda = 0.69$ $p > 0.05$

IV.1.1. Обсъждане на резултатите от характеристика на контингента

При МВ и БА преобладават пациентите от мъжки пол. По-голяма честота на мъжки пол сред хоспитализираните деца с БА намира и Карчева М. и кол. (2014 г.) – преобладават деца от мъжки пол – 82.85%, съответно от женски пол са 17.15%. Ж. Милева (2001) също отбелязва, че в детска възраст по-често боледуват момчета за разлика от възрастните, където съотношението е в полза на жените. Отношението момчета към момичета във възрастта до 10 години при деца с астма варира от 1.5:1 до 3.3:1.

При разглеждане на етноса на включените пациенти се установи, че близо две трети от проучваните болни деца са от български произход, всеки пети е ром, а 13.84 ± 2.32 е от турски произход. В общи линии етническите групи отговарят на демографската структура на населението в Р България при последните две преброявания според доброволното самоопределяне на лицата:

Приблизително същите данни, както при нашето проучване, съобщават Галева (2007) и Кременски (2006) за етническата принадлежност на популацията на пациенти с МВ. При БА трите етноса са представени равностойно, като относителните дялове варират около 40%. Най-голям процент от ромите, участващи в проучването са при пневмонията – $54.0 \pm 7.05\%$. Причината за това вероятно се крие в условията на отглеждане на децата – голям брой хора, живеещи на малка квадратура, начин на хранене, отопление, тютюнопушене по време на бременност и при отглеждане на децата, нежелание за амбулаторно лечение на децата.

IV.2. Контролна група

Таблица 4. Основните антропометрични и функционални показатели на дишането на контролната група

Показатели	Контролна група		
	Брой	Стойност	Диапазон
Възраст години	57	11.87 ± 0.55	6 – 18
Ръст см	57	149.56 ± 17.80	118.0 – 182.0
Тегло кг	57	44.08 ± 15.93	19.0 – 83.0
BMI kg. m ⁻²	57	19.11 ± 3.98	13.13 – 33.67
FeNO ppb	57	13.05 ± 3.49	6.01 – 22.26
FVC % от предвиденото	57	95.38 ± 10.56	84.20 – 117.50
FEV ₁ % от предвиденото	57	99.41 ± 10.57	64.10 – 124.10
FEV ₁ /FVC %	57	87.30 ± 5.60	71.49 – 94.40
T _{L,CO}	57	91.35 ± 11.25	75.90 – 116.70

Средна стойност на азотен оксид в контролната група

Брой	Стойност на FeNO	Std. Error	t	P
57	13.05 ± 3.49	0.36	3.73	< 0.001

Нашите стойности съвпадат с намерените нива на FeNO от Yao (2012), Kovesi (2008), Jouaville (2003) при здрави деца и свидетелстват, че показателите на контролната група са в референтни граници и това ни дава основание да сравняваме с нея.

IV.3. Роля на измерения азотен оксид при деца с бронхиална астма

От изследваните 100 деца с бронхиална астма при 50 от тях се касае за новодиагностицирана БА и не е провеждано лечение, а при останалите 50 деца астмата е с давност повече от 6 месеца. 21 (21%) деца са с неалергична астма, а при 79 (79%) се касае за алергична форма.

1.А. Ролята на азотния оксид в издишания въздух за диагнозата при деца с бронхиална астма

Установени средните стойности на FeNO при деца с бронхиална астма и контроли са представени на **табл. 5**. Проведената съпоставка констатира силно изразено различие. Нивото на азотен оксид при деца с БА е приблизително три пъти по-високо от това при здрави деца – при $p < 0.001$.

Таблица 5. Стойности на FeNO при бронхиална астма и контролна група

Група	Бр.	Стойност на FeNO ppb	Std. Error	t	Pt	u	P
Бронхиална астма	100	32.84 ± 10.45	2.12	3.05	< 0.001	9.16	< 0.001
Контролна група	57	13.05 ± 3.49	0.46	3.73	< 0.001		

Средна стойност на азотния оксид в зависимост от фенотипа на бронхиалната астма

Астмата се счита за хетерогенна болест, изискваща множество биомаркери за диагнозата и лечението и, като най-общо се класифицира като алергична (атопична) и неалергична (неатопична) форма. Повишени нива на FeNO се отчитат като биомаркер за алергичния фенотип астма.

В проведеното от нас проучване сме проследили 79 (79%) деца с алергична бронхиална астма и 21 (21%) деца с неалергична астма, като определянето на формата на болестта е направено според критериите на GINA (2012).

Таблица 6. Средна стойност на FeNO, в зависимост от формата на бронхиалната астма

Форма на БА	Бр.	Стойност на FeNO ppb	Std. Error	t	Pt	U	P
Алергична	79	37.80 ± 21.21	2.39	1.78	> 0.05	9.26	< 0.001
Неалергична	21	14.19 ± 4.01	0.88	3.54	< 0.001		
Общо	100	32.84 ± 10.45	2.12	1.55	> 0.05	-	-

От таблицата е видно, че средната стойност на FeNO се намира в изразена зависимост от вида на БА, $p < 0.001$ – почти трикратно по-високи стойности на изследвания показател при алергична форма на заболяването. Вътрегруповата съпоставка между алергичната (FeNO 37.80 ± 21.21 ppb) и общата стойност (FeNO 32.84 ± 10.45) на азотния оксид потвърждава отсъствието на статистическо различие $p > 0.05$ ($u = 1.56$), докато между неалергичната форма (FeNO 14.19 ± 4.01) и общата стойност на азотния оксид е много голямо и статистически значимо.

Промените в другите проследени показатели, свързани с атопия показват положителна корелация с нивото на азотния оксид, отразено в **таблица 7.**

Таблица 7. Стойности на някои маркери на алергично възпаление при децата с бронхиална астма (n 100)

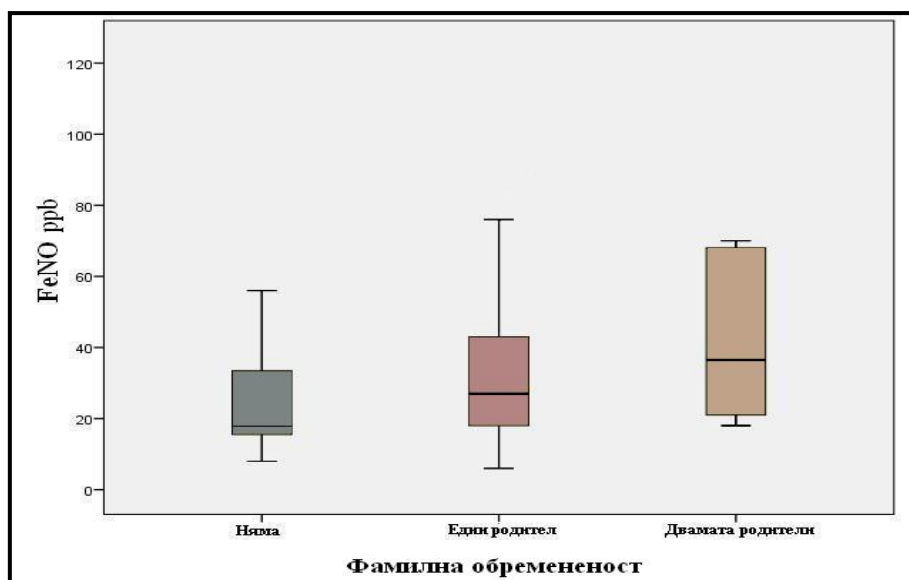
Показател	Диагноза	Бр.	Стойност	Std. Error	Диапазон	P
IgE (kU/l)	КАП +	79	343.06 ± 200.86	22.53	102.00 – 933.01	< 0.001
	КАП -	21	29.86 ± 2.03	0.29	5.86 – 65.00	
Еозинофили абсолютен брой (/ul)	КАП +	79	812.80 ± 261.73	29.44	428.61 – 1280.30	< 0.001
	КАП -	21	134.60 ± 5.32	0.61	32.40 – 281.20	
FeNO ppb	КАП +	79	37.80 ± 21.21	2.38	25.81 – 121.03	< 0.001
	КАП -	21	14.19 ± 4.01	1.87	6.32 – 21.34	

Степен на корелация на нивото на кръвните еозинофили с FeNO е изразена, Spearman's rho = 0.49, $p < 0.001$. Корелацията на IgE с FeNO е висока Spearman's rho = 0.65, $p < 0.001$.

Това е още едно потвърждение на факта, че FeNO е маркер за алергично възпаление и неговото движение показва развитието на алергичния процес.

Зависимост на FeNO от фамилната обремененост при пациенти с бронхиална астма

Потърсихме корелация между фамилната обремененост с атопия и нивото на FeNO, като биомаркер на алергично възпаление при децата с бронхиална астма.



Фигура 2. Box-plot на FeNO в зависимост от фамилната обремененост при деца с бронхиална астма

Най-ниска стойност на FeNO (24.37 ± 9.24 ppb) е регистрирана при семейства без данни за фамилна обремененост с атопия и значително по-високи стойности на FeNO при наличието на фамилна обремененост – $p < 0.001$. Вътрегруповата съпоставка на средните аритметични показва, че стойността на FeNO е най-висока при двама родители с анамнеза за алергично заболяване при уровень на значимост 95.0% (при един родител FeNO – 33.57 ± 9.85 ppb, при двама родители – 40.86 ± 11.28 ppb).

Доказва се умерена корелация между фамилната обремененост и нивото на FeNO, Spearman's rho = 0.39.

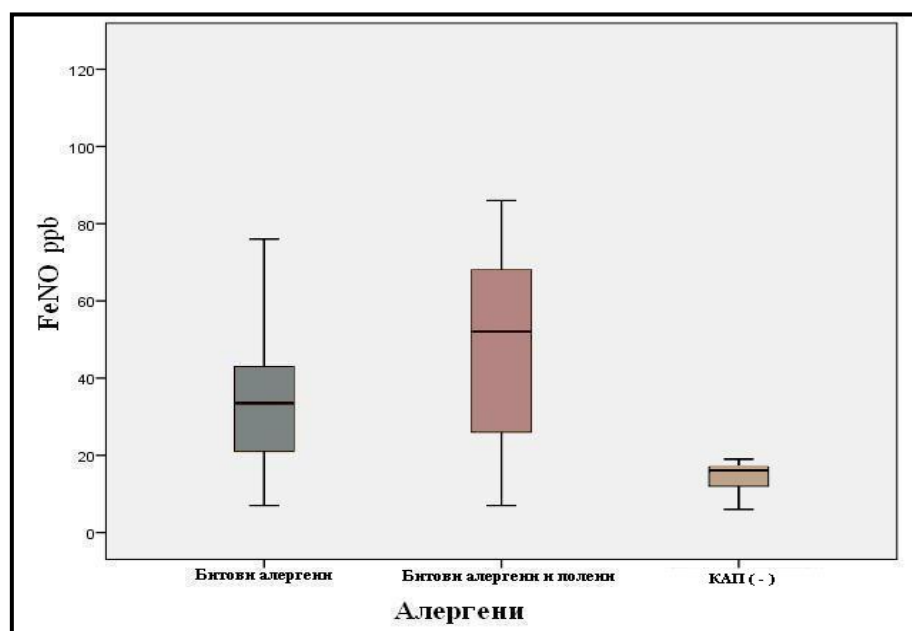
Зависимост на нивото на FeNO от влиянието на различните алергени при бронхиална астма

Децата бяха разделени в три групи, според техните профили на чувствителност – положителни за битови алергени, реагиращи на битови алергени и полени, отрицателни КАП за използвания набор от алергени.

Таблица 8. Стойности на FeNO при различните алергени

Алергени	Бр.	Стойност на FeNO ppb	Std. Error	U	P
Битови алергени	58	34.72 ± 19.87	2.64	2.05	< 0.05
Битови алергени и полени	21	46.29 ± 22.95	5.02		
Отрицателни КАП	21	14.19 ± 0.88	4.01	-	-

Статистически по-високо е нивото на азотен оксид при комбинирана алергия към битови алергени и полени $p < 0.05$. Всички деца с алергия имат значително по-високи стойности на FeNO от тези без, като разликите са статистически значими.



Фигура 3. Вох-plot на FeNO при различните алергени при деца с бронхиална астма

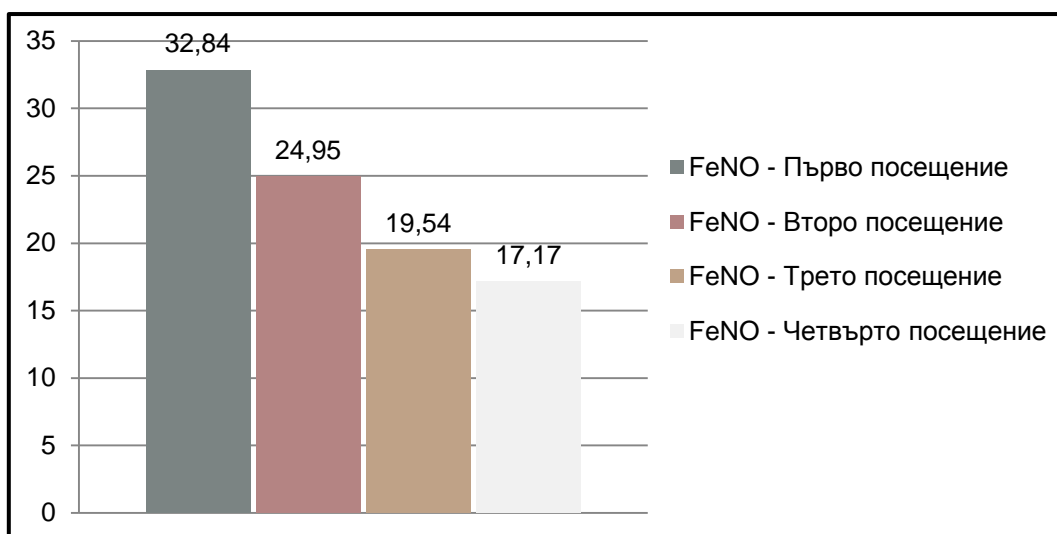
Нивата на FeNO корелират значително с серумните нива на общия IgE и кръвни еозинофили. Общият серумен IgE се различават значително между трите групи: 377.2 IU/ml (128.8 – 933.0 IU/ml) при алергия към битови алергени и полени, 330.0 IU/ml (107.2 – 851.1 IU/ml) алергия към битови алергени и 29.86 IU/ml (5.4 – 65.21 IU/ml) в неалергичните пациенти ($p = 0.019$). В кръвна картина еозинофилите също са различни между трите групи, с незначително значимост ($p = 0.011$ и $p = 0.093$, съответно).

1.Б. Ролята на азотния оксид в издишания въздух като маркер за терапевтично повлияване при деца с бронхиална астма

Динамични промени в нивото на азотния оксид при пациентите в хода на лечението

Проучихме ролята на FeNO като маркер за оценката на ефекта от провежданата терапия и корелацията и с другите показатели на алергия.

Данните от нашето наблюдение показват изразени динамични промени в изчислените средни стойности на FeNO, регистрирани при поредните посещения. Промените се характеризират с намаляване стойностите на FeNO като това е отразено на **фигура 4**.



Фигура 4. Динамика на стойностите на FeNO в четири ежемесечни проследявания при деца с бронхиална астма

Проведената вътрегрупова съпоставка с критерия z за нормално разпределение показва:

- съпоставката на първото посещение с последващите три категорично подчертава намаляването на стойността на FeNO, което е значимо изразено – $p < 0.001$
- при съпоставка на 1-вото с 2-рото $u = 5.76$, с третото $u = 10.15$ и с третото $u = 10.65$.
- съпоставката на второто посещение с последващите отново потвърждава алтернативната хипотеза като при 2-рото с третото $u = 4.32$, а на 2-рото с 4-тото $u = 6.17$ – уровень на значимост 99.99%.
- при съпоставка на 3-тото с 4-тото посещение не се констатира различие – $p > 0.05$ ($u = 1.90$), т.е. стойностите са приблизително равностойни.

При новодиагностицираната алергична БА, динамиката на FeNO под действието на провежданото лечение с ИКС е най-силно изразено.

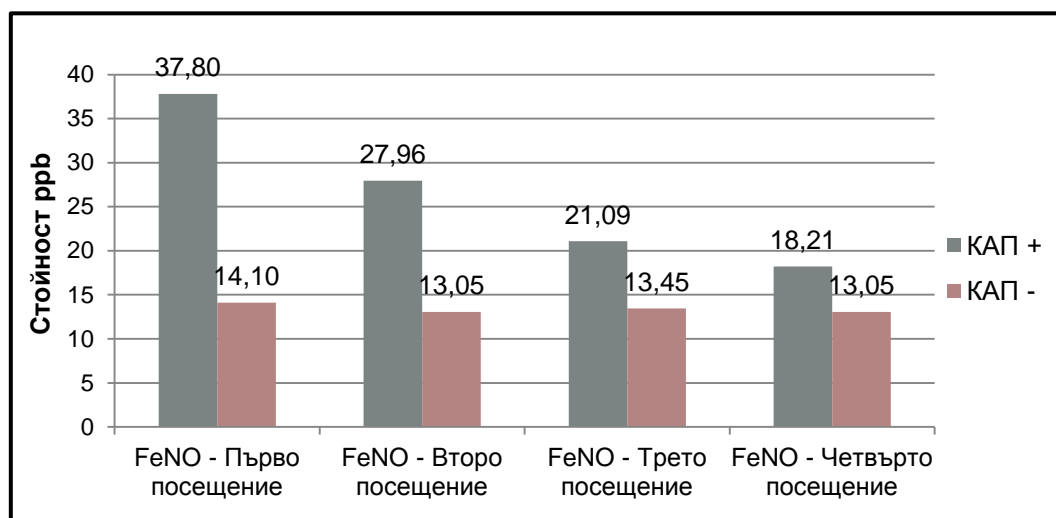
Проследените вентилаторни показатели също показват тенденция към подобряване под влияние на проведеното лечение без това да е статистически значимо. Нивата на IgE и еозинофили в кръвта се понижават статистически значимо след проведеното четири месечно лечение с ИКС – $p < 0.001$.

Таблица 9. Основни спирометрични показатели и маркери на алергично възпаление проследени при четирите посещения при деца с бронхиална астма

Показатели	I посещение	II посещение	III посещение	IV посещение
FVC % от предвиденото	92.22	92.22	95.65	96.09
FEV₁ % от предвиденото	88.23	91.6	90.13	90.99
FEV₁ / FVC %	78.02	79.45	79.25	82.05
FeNO ppb	47.16	33.64	23.78	20.4
Ео абсолютен бр.	696	601	510	422
IgE (kU/l)	404.84	342.6	220.5	191.08

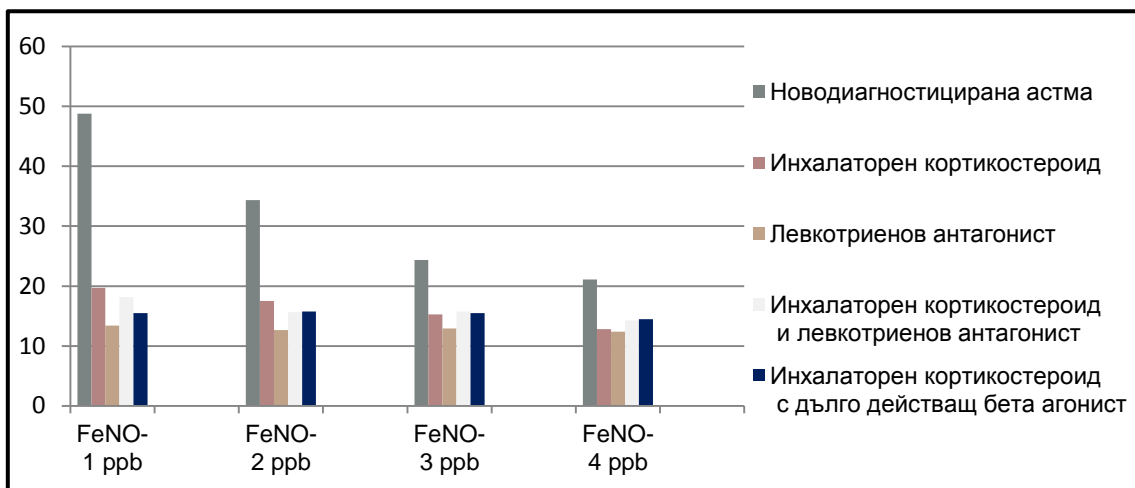
Динамични промени в нивото на FeNO при пациенти с алергична и неалергична астма в хода на лечението

И при четирите ежемесечни посещения средните стойности на FeNO са по-високи при пациенти с алергична астма. Това е логично, защото той е показател за алергично възпаление на дихателните пътища.



Фигура 5. Динамични промени в нивото на FeNO при пациенти с алергична (KAП +) и неалергична (KAП -) астма

Следва да се отбележи, че и при двете групи пациенти стойностите на FeNO са с трайна тенденция на понижаване при всяко следващо посещение, потвърдено при уровень на значимост 99.99%. Стойностите на FeNO за КАП(+) при първото посещение са два пъти по-големи отколкото на четвъртото. Изчисленият критерий на съгласието категорично подчертава алтернативната хипотеза – $p < 0.001$ ($u = 7.53$). Не така стои проблема при КАП(-). Разликите между първото и четвъртото посещение са само 1.14 ppb и сравнението определя наличието на – $p > 0.05$ ($u = 1.10$).



Фигура 6. Промени в нивото на FeNO при ежемесечно проследяване в зависимост от проведеното лечение при децата болни от астма

При първото посещение на пациентите с бронхиална астма, най-висока стойност на FeNO е констатирана при тези, които са били без лечение $p < 0.001$. При следващите посещения се задържа тенденцията стойностите на FeNO да са най-високи при нелекуваните деца, въпреки че се регистрира намаляване на нивото под влияние на проведеното лечение.

В най-голямата група пациенти с новооткрита бронхиална астма, стойността на FeNO, регистрирана при четвъртото посещение е намаляла с 27.66 (56.80%) ppb, в сравнение с първия период, различие, което е статистически значимо и според критериите на ATS/ARS се отчита добър ефект от лечението (спад повече от 20%)

При тези пациенти, при които е запазена започнатата вече терапия с ИКС нивото на изследвания показател намалява с 6.89 (34.93%) ppb, като и тук е потвърдена алтернативната хипотеза – $p < 0.001$ ($u = 4.88$). При комбинацията ИКС с ЛТА нивото на FeNO е намаляло с 3.91 (29.15%) ppb, а при лечение само с ЛТА с 1.03 (5.66%) ppb като различията са несъществени.

IV.3.1. Обсъждане на резултатите от изследването на FeNO при деца с бронхиална астма

Изследването на FeNO играе важна роля в изграждането на *диагнозата* БА. Високо ниво на този показател при алергична бронхиална астма се съобщава последователно от всички автори работили в тази насока от първите съобщения обобщени от Kharitonov SA et al (1997) до настоящия момент.

И в проведеното от нас проучване установяваме, че средното ниво на FeNO при болните с бронхиална астма е над два пъти и половина по-високо от това на контролната група.

FeNO се увеличава при деца с алергична астма, но получените нива не са приложими за пациенти с неалергична астма, или тези с алергия без астма, т.е. нормалната му стойност не изключва диагнозата астма, по-специално на нееозинофилен фенотип. FeNO е повишен при алергичната астма и корелира с общия серумен IgE, кръвната еозинофилия, някои спирометричните параметри с различна сила.

При намерените от нас резултати средната стойност на FeNO е значимо по-голяма при алергична форма на бронхиална астма – близо два пъти и половина по-високата от тези с неалергична форма на заболяването. Корелация между формата на бронхиалната астма и нивото на FeNO е значителна, Spearman's $\rho = 0.59$. Промените в другите проследени показатели, свързани с алергия показват положителна корелация с нивото на FeNO – кол IgE са по-високи статистически значимо, такива са и резултатите от изследване на кръвна еозинофилия.

Подобни данни съобщава и Vanocin et al (2009) като прави изследване на 222 деца с бронхиална астма и 27 здрави контроли, както и Hervás D et al (1973) при разглеждане на 90 деца – 31 с бронхиална астма, 35 с астма и алергичен ринит и контроли.

Ние установихме по-високо нивото на FeNO при комбинирана алергия към битови алергени и полени $p < 0.05$ – статистически значимо. Нивата на FeNO корелират значително със серумните нива на общия IgE и кръвни (изразяващо се в по-високи стойности при комбинирана алергия) и показва обратна връзка с FVC, FEV1, FEV1/FVC.

Won-Nyung Janget al (2006) изследва 119 деца с бронхиална астма (неалергична астма, с моноалергична сенсibiliзация и такива с полиалергия) като проследява FeNO, спирометрични показатели, броя на кръвни еозинофили, общ серумен IgE. Установява значително различие

между трите групи – почти трикратно по-високи стойности на FeNO при болни с полиалергия. J Warke et al (2002) и Strunk RC et al (2003) докладват за положителни корелации на FeNO с общия серумен IgE с периферната кръвна еозинофилна и броя на положителни КАП.

Стойности на FeNO е в зависимост от фамилната обремененост с алергични заболявания. В проведеното от нас проучване най-ниска стойност на FeNO е регистрирана при семейства без данни за фамилна обремененост с атопия, а значително по-високи стойности на FeNO при наличието на фамилна обремененост – $p < 0.001$. Следва да се отбележи, че стойността на FeNO е най-висока при двама родители с анамнеза за алергично заболяване. Доказва се умерена корелация между фамилната обремененост, особено при алергични прояви от страна на двамата родители, и нивото на FeNO Spearman's rho = 0.39.

Най-важният фактор, който предразполага едно дете да заболее от БА е наличието на тази болест в семейството му. Фамилността на алергичната бронхиална астма е отдавна доказано в литературата. По-високи нива на FeNO при фамилна обремененост с атопия намират редица автори Hervás et al (1973) Vanocin et al (2009).

Изследване нивото на FeNO освен в поставяне на диагнозата има своето приложение и при проследяване на *ефекта от лечението*. Нивата на FeNO бързо намаляват в отговор на ИКС и поради това този показател може да бъде полезен да се установи дали ИКС е подходящ, дали дозата е достатъчна, да се определи комплайнса на медикамента. Тук, мненията в литературните източници са противоречиви. Smith AD et al (2006) показва, че при сравняване на стандартни методи за контрол на астмата и случаи с добавянето на FeNO, последната група показва значително намаляване на поддържаща терапия и едновременно постигане тенденция към намаляване на екзацербациите. Резултатите от тяхното изследване подкрепят хипотезата, че чрез наблюдение възпалението на дихателните пътища може да се подобри контрола на астмата. За разлика от тях, Szefler et al (2008), съобщават, че добавянето на измерване FeNO като индикатор за контрол на астмата довежда до по-високи дози ИКС и дългодействащи β_2 агонисти, отколкото стандартната насока на базово лечение, и не определят подобрения в астматични симптоми или белодробната функция.

Всички автори се обединяват около тезата, че комбинацията от измерване на FeNO, ФИД и отчитане броя екзацербации дават най-добра оценка за контрола на бронхиална астма при деца. Това бе и основата за

избор на дизайн на проучването ни – отчитане ефекта от лечението чрез стойностите на FeNO, ФИД, IgE и еозинофили в кръвта.

IV.4. Роля на измерения азотен оксид при деца с муковисцидоза

Задача № 2 – Да се определи значението на изследвания азотен оксид в издишания въздух при болни с муковисцидоза.

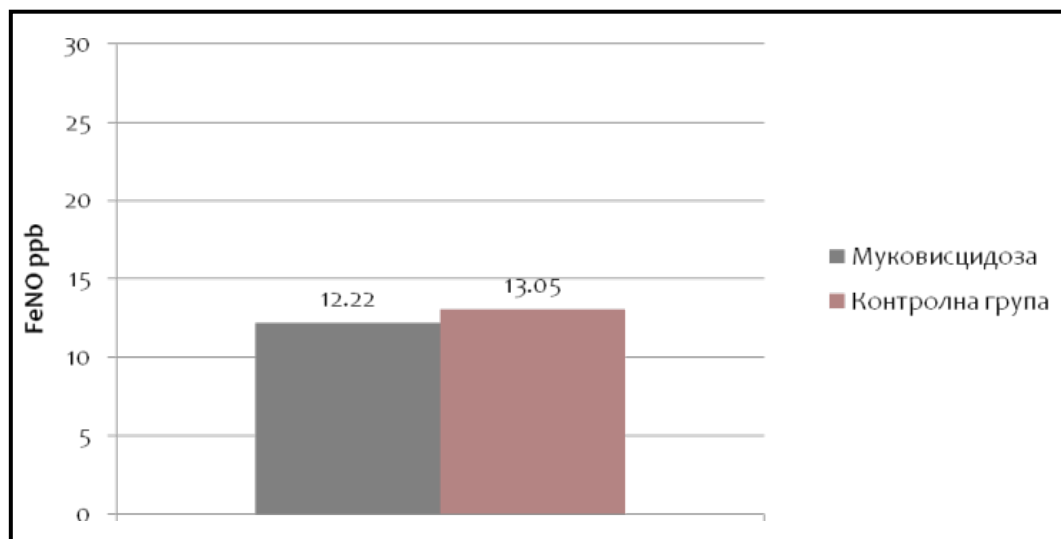
В проучването си потърсихме зависимости между стойностите на FeNO и показатели, които са свързани с диагнозата, оценка на ефекта от лечение и по този начин косвената прогноза при това заболяване.

Ролята на азотния оксид в издишания въздух за диагностично уточняване при деца с муковисцидоза

Азотният оксид в издишания въздух, регистриран при болните с МВ е със средна стойност:

Брой	Стойност на FeNO ppb	Std. Error	t	p
27	12.22 ± 4.73	0.91	2.58	< 0.01

Съпоставката на стойностите на FeNO при болни с МВ и контролната група показва, че не съществува значимо различие в двете средни стойности – 12.22 ± 4.73 срещу 13.05 ± 3.49 (ppb) – $p > 0.05$ / $u = 0.81$ /.



Фигура 7. FeNO при деца болни от муковисцидоза и контролна група

Зависимост между FeNO и възрастта на поставяне на диагнозата муковисцидоза

При проведеното от нас проучване диагнозата при 16 деца е поставена до 1-годишна възраст, а при останалите 11 – в по-късна възраст.

Съпоставката на средните стойности на азотен оксид, измерен в двете групи показва липсата на статистически значима разлика – $p > 0.05$ (табл. 10) т.е. времето за поставяне на диагнозата не е фактор, оказващ влияние върху стойностите на FeNO.

Таблица 10. Средни стойности на азотен оксид в зависимост от възрастта на поставяне на диагнозата

Възраст на поставяне на диагнозата	Брой пациенти	Стойност ppb	Std. Error	t	Pt	u	P
До 1-годишна възраст	16	11.81 ± 4.39	1.10	2.69	< 0.01	0.52	> 0.05
След 1-годишна възраст	11	12.82 ± 5.34	1.60	2.40	< 0.05		

Зависимост между FeNO и CFTR генотипа при болни от муковисцидоза

Според критерия CFTR генотип пациентите са четири групи (табл. 11). Група 1 включва пациенти хомозиготи за dF508 (n = 13), в група 2 (n = 7) са пациенти хетерозиготите за dF508, трета група (n = 2) са други мутации, докато в четвърта група (n = 5) са редки мутации.

Стойностите на азотния оксид в издишания въздух в различните генетични варианти, бе със следните стойности:

Таблица 11. Средни стойности на FeNO при различните генетични дефекти

Генетичен дефект	Бр.	Стойност на FeNO ppb	Std. Error	t	Pt	u	P
Хомозиготи dF508	13	11.31 ± 5.20	1.14	2.18	< 0.05	3.07*	< 0.001
Хетерозиготи dF508	7	16.50 ± 3.30	1.25	5	< 0.001	0.28**	> 0.05
Друг генетичен дефект	2 [^]						
Рядък генетичен дефект	5	10.20 ± 4.50	2.00	2.27	< 0.05	2.74***	< 0.01

Заб. [^] малък брой единици

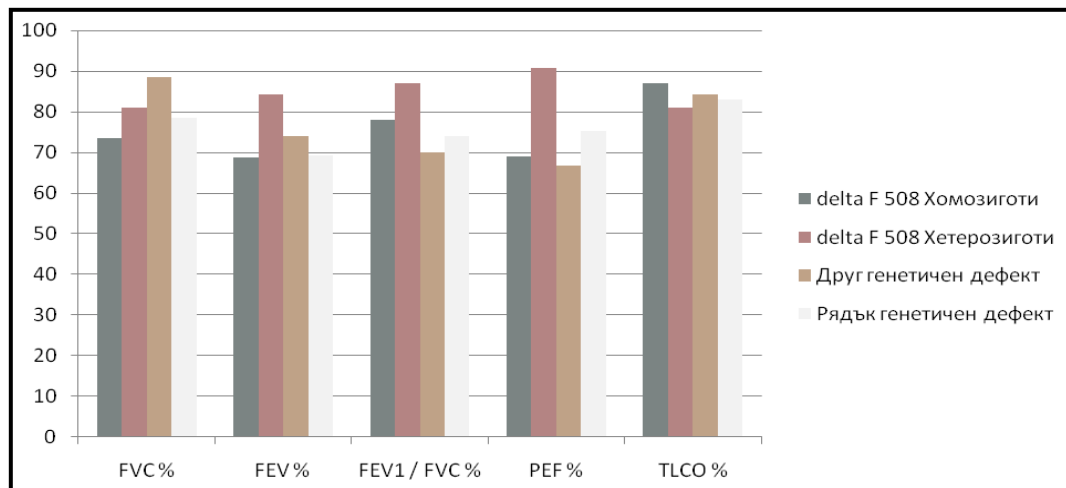
* Съпоставка на хомозиготи с хетерозиготи dF508

** Съпоставка на хомозиготи/рядък генетичен дефект

*** Съпоставка на хетерозиготи с рядък генетичен дефект

От резултатите ни личи, че гетичния дефект оказва определено влияние върху нивото на FeNO при при болните от МВ.

Проведената вътрегрупова съпоставка с u-критерия за нормално разпределение показва, че най-висока стойност на FeNO е регистрирана при болните с мутация delta F 508 хетерозиготи. Съпоставката между болни с генетичен дефект хомозиготи и хетерозиготи delta F 508 показва статистически значимо по-висока стойност на азотен оксид при втората група – $p < 0.001$ / $u = 3.07$ /. Пациентите delta F 508 хетерозиготи имат по-висока стойност на FeNO от носителите на рядък дефект – $p < 0.01$ / $u = 2.74$ /. Съпоставката на средните стойности на азотен оксид при първата и четвъртата група не показва съществуването на статистически значими различия – $p > 0.05$ / $u = 0.28$ /.



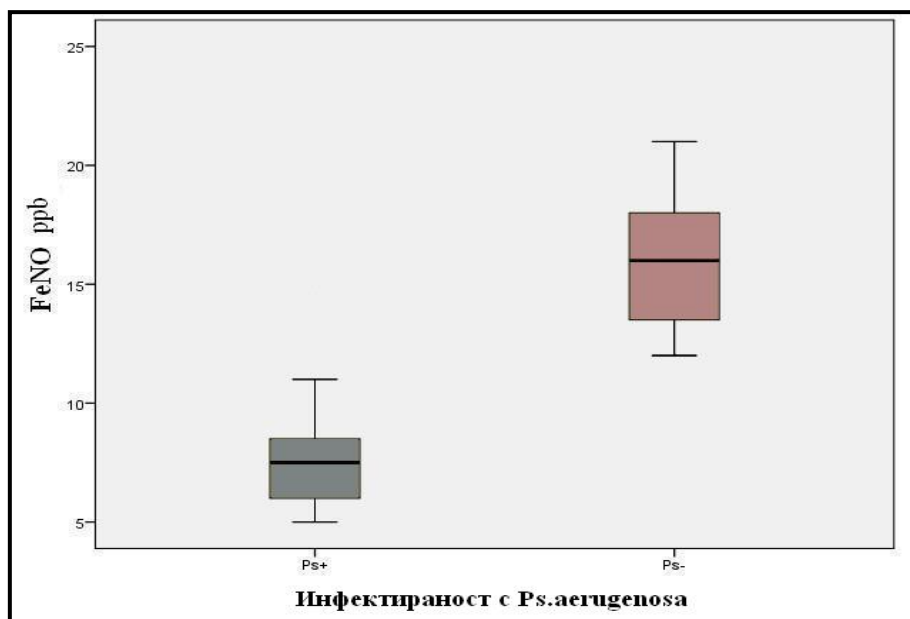
Фигура 8. Основни показатели на външното дишане и дифузионен капацитет при различните CFTR генотипове муковисцидоза

Вентилаторните показатели са най-ниски при хомозиготните delta F 508 форми на МВ, при $p > 0.05$ и това е тенденция при всички показатели – статични и динамични.

Зависимост между FeNO и хроничната инфекция с Ps. Aeruginosa при пациенти с муковисцидоза

Проведеното наблюдение имаше за задача да оцени дали измерените стойности на FeNO корелират с инфектираността с Ps.Aeruginosa.

По този показател пациентите са две групи – псевдомонас положителни (Ps+, $n = 12$) и псевдомонас – отрицателни (Ps-, $n = 15$). Приблизително равностойни са представените болни в двете групи – $p > 0.05$ ($t = 0.82$).



Фигура 9. Box-plot на FeNO при пациенти с МВ хронично инфектирани и неинфектирани с Ps. Aeruginosa

Стойностите на FeNO при болни с псевдомонасна инфекция е 5.23 до 11.45 ppb, докато при тези, без такава инфекция стойностите са 12.3 до 18.5 ppb.

Средната аритметична стойност на FeNO при Ps(-) пациенти е приблизително два пъти по-ниска от средната на Ps(+). Корелацията между псевдомонасната инфекция и нивото на азотния оксид е висока Spearman's rho = 0.8.

Псевдомонас положителните пациенти имат по-лоши спирометрични показатели в сравнение с тези без инфекция с псевдомонас – VC = 68.5 ± 20.8% срещу 86.8 ± 13.4%; FVC = 68.3 ± 22.4% срещу 84.7 ± 12.5%; FEV1 = 56.9 ± 20.2% срещу 84.7 ± 12.5%; PEF = 65.4 ± 25.2% срещу 83.6 ± 14.8%; MEF50% = 33.4 ± 21.4% срещу 81.2 ± 12.2%; MEF25% = 20.1 ± 12.2% срещу 71.7 ± 17.4%, $p < 0.05$ за всички. При дифузионния капацитет отново се открива разлика Ps(+) = 71.7 ± 17.4% срещу 89.9 ± 15.2%. Установява се корелация в зависимост от инфектираността с Ps. aeruginosa при FVC%, FEV1%, FEV₁/FVC% – Spearman's rho = 0.6, нивата на тези показатели са статистически значимо по-ниски.

Направихме извода, че високо FeNO ниво е свързано с липсата на хронична псевдомонасна инфекция, докато ниско ниво е свързана с хронична такава.

Ролята на азотния оксид в издишания въздух за оценка ефекта от лечението при деца с муковисцидоза

Зависимост между FeNO и провежданото лечение с инхалаторен антибиотик при болни с муковисцидоза

При пациенти (n = 3) лечението е проведено с Tobramycin Soltion for inhalation, инхалаторен амикацин (n = 5) или без провеждано лечение (n = 4), поради нежелание на пациента да започне такава.

Изследването е направено, след провеждане на поне 2-годишен курс.

Таблица 12. Средни стойности на FeNO, регистрирани при лечение с инхалаторни антибиотици при болни от МВ

Инхалаторен антибиотик	Бр.	Стойност на FeNO ppb	Std. Error
Амикацин	3	7.40 ± 4.70	2.17
Тобрамицин	5	9.60 ± 2.50	1.11
Без лечение	4	7.20 ± 0.96	0.48

Малкият брой на единици на наблюдение не позволява изграждането на научно обосновани изводи. Макар и ориентировъчно може да се отбележи, че най-висока е стойността на FeNO при пациенти, лекувани с инхалаторен тобрамицин. Съпоставката на неговата стойност със стойността, регистрирана при деца без лечение потвърждава наличието на статистически значимо различие – $p < 0.01$, $u = 2.00$ и при уровень на значимост 99.00%.

Спирометричните показатели са най-добри при лечение с инхалаторен амикацин, сравнени с тези с лечение с тобрамицин и без лечение (**Табл. 13**). Т.е. няма съответствие между нивото на FeNO и данните от спирометрията – ниски стойности на FeNO при лечение с инхалаторен амикацин, но показателите на външно дишане са по-добри. Като цяло всички показатели са по-добри при пациентите с провеждано лечение с инхалаторен антибиотик и псевдомонас положителни, от тези при които не е провеждано такава лечение. Отново групите са малки и е трудно статистическото тълкуване.

Таблица 13. Основни показатели, характеризиращи външното дишане и дифузионния капацитет при лечение с инхалаторен антибиотик при болни от МВ

Показатели	Лечение с		
	Тобрамицин	Амикацин	Без лечение
	n = 3	n = 5	n = 4
FVC % от предвиденото	64.4 ± 28.10	78.23 ± 19.82	58.42 ± 22.19
FEV ₁ % от предвиденото	53.82 ± 27.31	67.21 ± 12.72	46.42 ± 21.50
FEV ₁ / FVC %	72.78 ± 13.32	74.20 ± 12.63	46.40 ± 7.81
T _{L,CO} % от предвиденото	75.50 ± 24.49	70.96 ± 24.49	70.40 ± 0.4

Зависимост между FeNO и инфекциозно обостряне на муковисцидозата

FeNO е изследвано по време на обостряне на заболяването и в стабилно състояние на пациентите, без данни за остра инфекция.

Съпоставката на изчислените средни стойности (табл. 14) при двете състояние не се различават т.е. обострянето на заболяването не оказва статистически значимо въздействие върху стойностите на FeNO – $p > 0.05$.

Таблица 14. Стойности на FeNO при инфекциозно обостряне и стабилно състояние при болни от МВ

Състояние на болните	Бр.	Стойност на FeNO ppb	Std. Error	t	Pt	u	P
С инфекциозно обостряне	27	12.00 ± 4.45	0.86	2.70	< 0.01	0.18	> 0.05
Без инфекциозно обостряне	27	12.22 ± 4.73	0.91	2.58	< 0.01		

Основните спирометрични показатели по време на обостряне и стабилно състояние следват хода на заболяването. Логично по време на обостряне на заболяването с остра инфекция показателите са влошени: VC = 79.1 ± 19.0% срещу 85.7 ± 19.8%; FVC = 77.4 ± 19.1 срещу 86.3 ± 21.3%; FEV₁ = 73.2 ± 22.0% срещу 79.4 ± 20.3%; PEF = 75.9 ± 21.5% срещу 84.7 ± 18.9%; MEF50% = 61.0 ± 34.5% срещу 69.8 ± 28.21%; MEF25% = 43.0 ± 29.6% срещу 46.7 ± 31.7 % и след овладяването и се стабилизират $p < 0.01$.

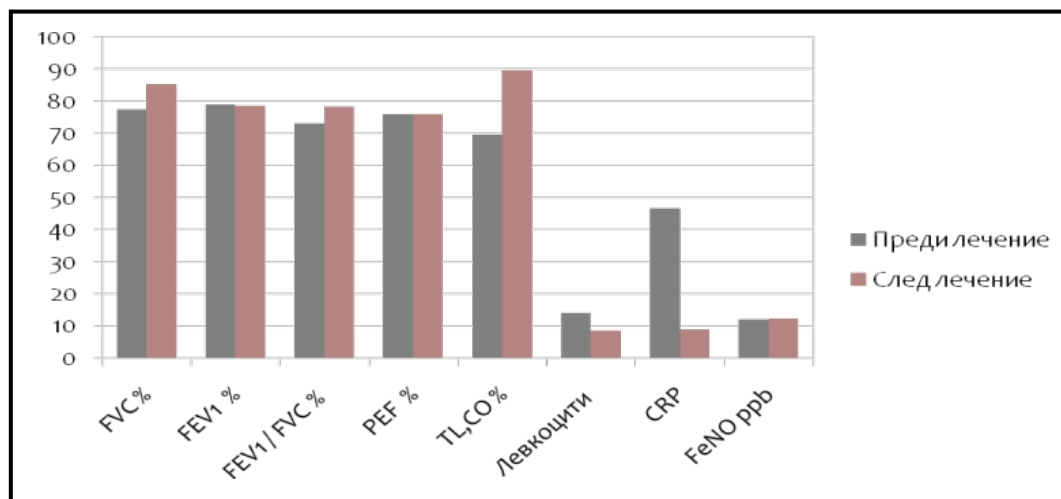
В допълнение, издишания NO се измери при всичките 27 пациенти в началото на остра белодробна инфекция и след 10 дневно антибиотично лечение.

Таблица 15. Средните стойности на FeNO преди антибиотично лечението и след лечението

Група	Брой	Стойност на FeNO ppb	Std. Error	t	u	P
В началото на инфекцията	27	12.00 ± 4,45	0.86	2.70	0.19	> 0.05
След 10 дневно лечение	27	11.51 ± 9.76	3.60	2.56		

Съпоставката на изчислените средни стойности преди и след проведеното лечение не установи разлика т.е. проведеното АБ лечение на белодробната екзацербация не оказва статистически значимо въздействие върху стойностите на FeNO – $p > 0.05$.

От **фиг. 10** се вижда подобряване на функцията на белия дроб в резултат на проведеното АБ лечение. Тези промени следват и движението на маркерите на инфекциозно-възпалителен процес. Промените в тях и в кръвните показатели не корелират с FeNO, което остава непроменено.



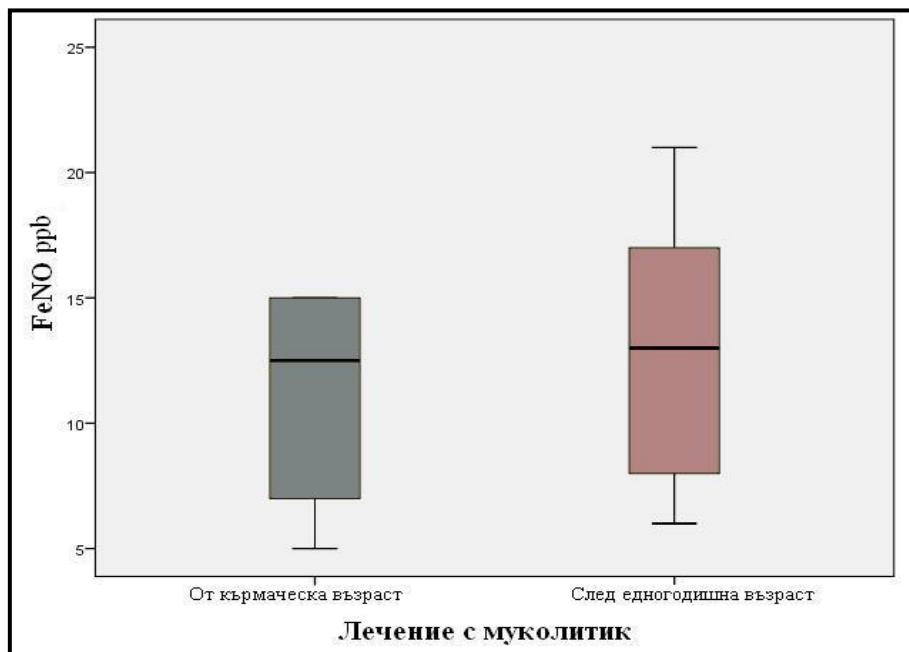
Фигура 10. Основни параметри на външното дишане, лабораторни показатели и FeNO преди и след лечение на инфекциозна екзацербация при деца с муковисцидоза

В резултат на получените резултати стигнахме до заключението, че FeNO не може да бъде подходящ маркер за наблюдение на бактериалното възпаление на дихателните пътища и за оценка на противовъзпалително лечение при пациенти с МВ и инфекциозно белодробно обостряне.

Зависимост между FeNO и провежданата инхалаторна терапия с муколитици при муковисцидоза

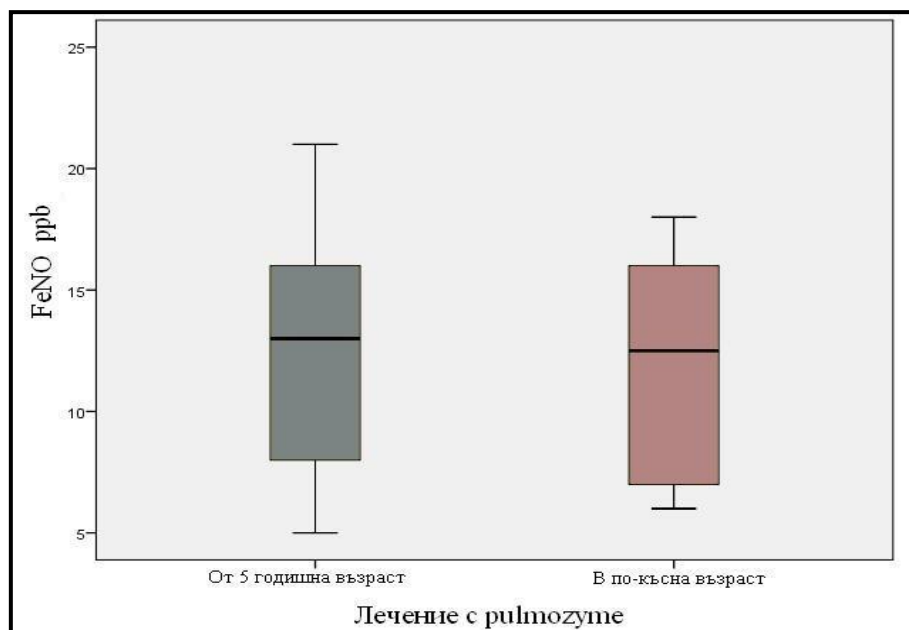
По критерия начало на започване на инхалаторната терапия с муколитици пациентите са следните групи – започнали лечението до 1-годишна възраст ($n = 8$) и втора група – след навършване на една година ($n = 19$).

Средните стойности на FeNO в двете групи не се различават статистически – $p > 0.05$, т.е. възрастта за започване на инхалаторно лечение с муколитик не оказва влияние върху нивото на азотния оксид в издишания въздух (**Фиг. 11**). От кърмаческа възраст ($n = 8$) FeNO – 11.13 ± 4.19 ppb срещу 12.22 ± 4.97 ppb ($n = 19$), след едногодишна възраст.



Фигура 11. Box-plot на FeNO и провежданата инхалаторна терапия с муколитици при муковисцидоза

Към терапията на всички пациенти с МВ след навършване на 5-годишна възраст с ФВК $> 40\%$ към лечението се включва и dornase – α -ензим. Въз основа на наличието на лечение с пулмозим, децата са: $n = 17$ (FeNO – 12.41 ± 5.05 ppb) започват веднага лечение след навършване на 5 години, но при $n = 10$ (FeNO – 11.90 ± 4.35) лечението е от по-късно, по тяхно желание.



Фигура 12. Box-plot на FeNO при лечение с pulmozyme при МВ

Прилагането на инхалаторно лечение с pulmozyme при болни с МВ не се намира в статистически изразена зависимост от възрастта на започване на терапията (**табл. 12**). По-ниските стойности при започнато по-късно лечение е статистически незначимо – $p > 0.05$ / $u = 0.28$ /.

Зависимост между FeNO и панкреатичната функция при пациенти с муковисцидоза

Панкреатична недостатъчност е регистрирана при $92.59 \pm 5.07\%$ пациенти с МВ, преминали в клиниката през наблюдавания период. Средната стойност на FeNO, регистрирана при болни с панкреатична недостатъчност е 12.16 ± 0.96 срещу 13.00 ± 0.01 /ppb/ за контролите.

IV.4.1.Обсъждане на резултатите от изследването на FeNO при деца с муковисцидоза

В направеното от нас проучване установихме, че FeNO регистриран при болни с МВ е в границите на нормата и съпоставен с контролната група показва, липса на значимо различие в двете средни стойности – 12.22 ± 4.73 срещу 13.05 ± 3.49 (ppb).

След въвеждане на стандарта от ATS/ERS, публикувани през 2005, за измерване на азотния оксид и определяне на норми за деца и възрастни, повечето изследователи съобщават, че измереното ниво на FeNO при болни с МВ, е в границите на нормата, но в по-ниски стойности от

здравите контроли – (4.0 – 5.5) при Ho LP (1998) до (2.0 – 14.3) при Adam Jaffé et al. (2003).

Има няколко възможни обяснения за това наблюдение гъстият секрет в дихателните пътища може да доведе до влошаване на разпространението на NO в газообразна фаза и/или липсата на субстрат (L-аргинин) за производството му с/без намалена активност на iNOS в дихателните пътища на пациенти със муковисцидоза. Потенциална причина за ниското ниво на FeNO е доказване *in vivo* и *in vitro*, че *Ps. Aeruginosa* консумира NO, което вероятно се дължи на присъствие на NO редуктаза в структурата му. И накрая повишено потребление на NO – усилен метаболизъм при възпалителни окислителни процеси (супероксид и/или миелопероксидаза (MPO) реакция) допринасят за намаляне на издишания NO при пациенти с муковисцидоза.

В проучването установяваме, че средните стойности на FeNO не се влияят от състоянието на пациента по време на изследването (в период на „обостряне“ и период на „ремисия“ на белодробната инфекция), както и от ефектите на антибиотичното лечение. Не установяваме и положителна връзка между изследваните маркери на възпаление (CRP, брой на левкоците и абсолютен брой на сегментоядрените клетки) и FeNO. Подобна резултати споделят и други автори – Karin M. de Winter-de Groot (2005), Christina Keen (2007), Balfour – Lynn (1996).

В същото време, спирометричните показатели показват подобряване на функцията на белия дроб след антибиотично лечение, както и корелацията с маркерите на възпаление.

За разлика от нашите резултати, Adam Jaff et al (2007) установяват, че след интравенозно антибиотично лечение е налице значително увеличение на FeNO от средната стойност – 5.8 ppv (граница 2.0 – 14.3) до 9.2 ppv (0.8 – 25.1) ($p < 0.05$).

След анализ на получените от нас резултата, направихме извода, че FeNO не може да бъде подходящ маркер за установяване на инфекциозно обостряне и за оценка на противовъзпалително лечение при пациенти с МВ.

При изследването на пациенти с псевдомонасна инфекция установихме, че средната стойност на FeNO е статистически значимо пониска, при инфектираните с *Ps. Aeruginosa*. Ниски нива на FeNO при хронична инфекция с *Ps. Aeruginosa* демонстрират в своите проучвания Keen C et al (2007) и Grasmann et al (2001) Christina Keen, (2007),

провеждат изследване на 59 пациенти с муковисцидоза на възраст от 7 до 55 години, от които половината са хронично инфектирани с *Ps. Aeruginosa* и установява също по-ниски нива на FeNO, за разлика от резултатите на Balfour-Lynn et al (1996), които не намират връзка между ниските стойности на FeNO и инфекцията с *P. Aeruginosa*.

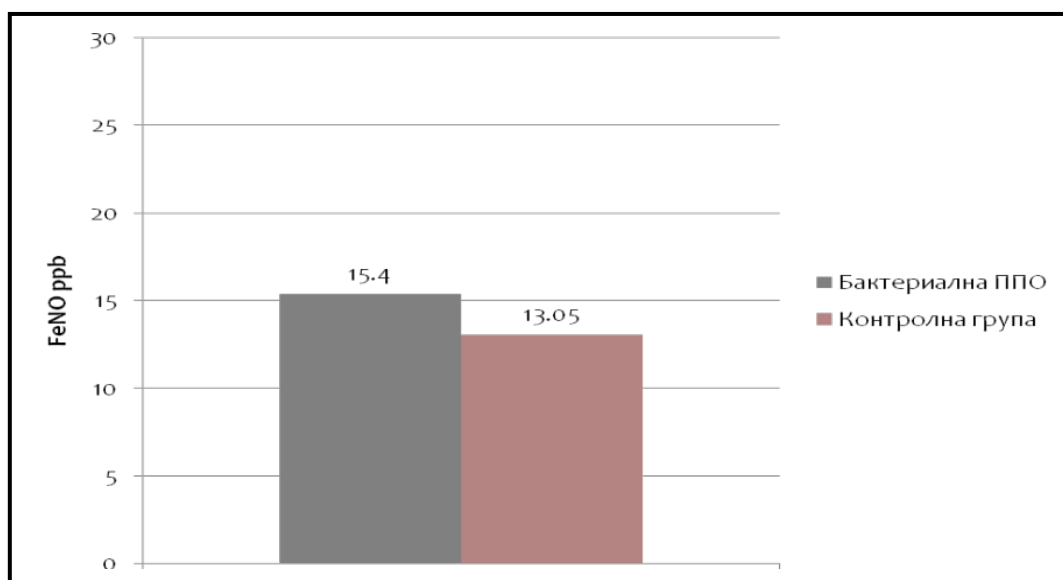
Наличният генетичен дефект оказва съществено значение върху нивото на азотния оксид в издишания въздух, като стойностите са най-ниски при болни с при болни хомозиготи delta F 508, резултат потвърден и от Christina Keen et al (2007) и Grasemann H et (2001).

Ние установихме, че средните стойности на FeNO не зависят от времето на започване на инхалаторно лечение с муколитик, пулмозим и инхалаторен антибиотик, за разлика от резултатите на Grasemann H et al (2004), които считат, че FeNO може да служи като показател за оценка на ефективността на инхалаторната терапия при пациенти с МВ.

IV.5. Изследване на азотен оксид при деца с бактериална пневмония придобита в обществото

Задача № 3. Да се определи значението на азотния оксид в издишания въздух при деца с бактериална ППО

Пациентите с бактериална пневмония имат статистически значимо по-високи нива на FeNO в сравнение със здравите контроли – **Фиг. 13.**



Фигура 13. Стойности на FeNO при деца с бактериална ППО и контролна група

Доказани вентилаторни нарушения от ФИД бяха основа за разделяне на пациентите в 3 групи

1. Деца с *ОТВН* ($n = 39$) представляващи 39% от децата с пневмония. При спирометрия $FEV1/FVC = 66.28 \pm 8.04\%$ (диапазон 53.08 – 79.5).

Средно стойност на измерения $FeNO$ при тези болни е по-висока 22.72 ± 14.80 ppb (в диапазон 8 – 52 ppb). Сравнението на тези нива на азотния оксид с нивата на общата група пневмония ($FeNO 15.40 \pm 10.86$ ppb), показва статистически значима разлика – $p < 0.001$.

2. *Рестриктивен тип вентилаторно нарушение* (РТВН) се намира при 25% от децата ($n = 25$). Това се определя от $FVC = 69.40 \pm 7.95\%$ (диапазон 59.60 – 77.0).

Измереният $FeNO$ при тези пациенти е 10.67 ± 2.1 ppb, (диапазон 9.1 – 16.2 ppb), срещу 15.40 ± 10.86 ppb средна стойност при пневмония. Установеното по-ниско ниво на азотния оксид при болните с РТВН, е статистически значимо $p < 0.05$.

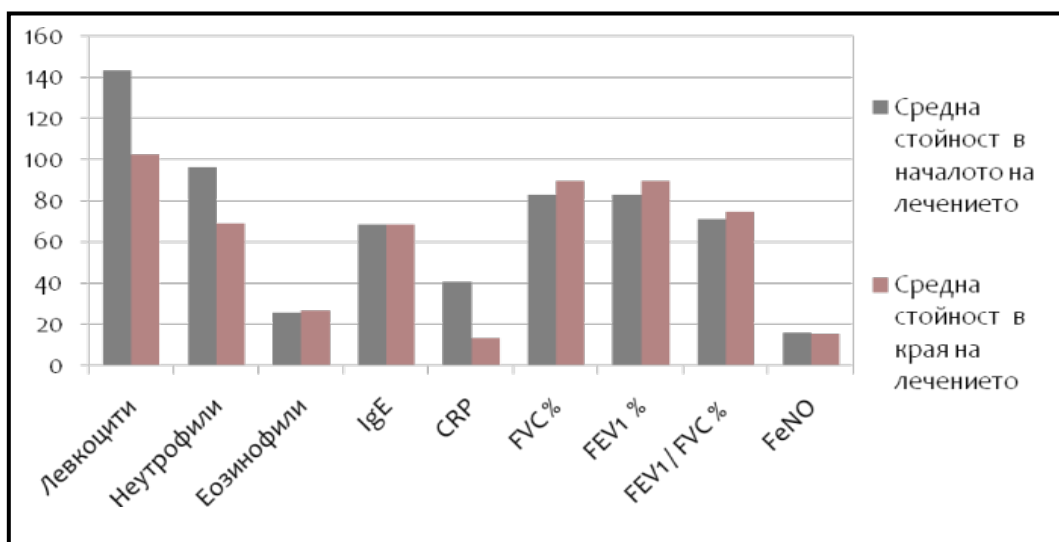
3. *Смесен тип вентилаторно нарушение* (СТВН) се установи при 25 (25%) болни от пневмония с основни спирометрични данни, характеризиращи нарушението – $FVC = 75.9 \pm 11.95\%$, $FEV1/FVC\% = 67.06$.

Нивото на $FeNO$ като средна стойност се измери 15.20 ± 6.9 ppb, (диапазон 10.1 – 26.2 ppb), срещу 15.40 ± 10.86 ppb средна стойност при пневмония. Не се установява статистически значима разлика между двете групи.

При 11 пациента функционалното изследване на дишането не показва отклонения, това са деца с предимно паренхимно засягане от инфекциозно – възпалителния процес, което не засягат проходимостта на дихателните пътища, но и паренхимните огнища не конфлуират и не дават рестриктивен тип нарушение. Установеното ниво на $FeNO$ е 15.35 ± 4.9 ppb. Не се установи статистически значимо различие с общото ниво на показателя при БППО.

Зависимост между FeNO, маркерите на възпаление и провежданото лечение при болни с БППО

Тази част от проучването бе насочена към изучаването на потенциала на FeNO да идентифицира наличието на бактериална инфекция и може ли да се използва като неинвазивен маркер на инфекциозно-възпалителен процес и ефекта от проведеното лечение.



Фигура 14. Средни стойности на някои лабораторни показатели, функционални показатели на дишането и FeNO в началото и края на лечението на децата с ППО

От фигурата се вижда повлияването на показателите на инфекциозно възпаление – левкоцити, неутрофили и CRP ($p < 0.01$), както и подобряване на параметрите на външно дишане – FVC%, FEV₁ ($p < 0.05$), след проведеното лечение.

Нивото на FeNO остава непроменено в началото на лечението (ppb) 15.40 ± 10.86 срещу 15.10 ± 9.59 в края на лечението.

Не се установи зависимост между стойностите на FeNO, от една страна и маркери за бактериална инфекция – левкоцити, сегментоядрени клетки, CRP и промените във вентилаторната функция на белия дроб, от друга.

FeNO не се влияе от проведеното антибактериално лечение и не колерира с промените в основните вентилационни параметри на външно дишане, както и с маркерите на инфекциозно – възпалителния процес. В резултат на тези данни направихме извода, че азотния оксид в издишания въздух не може да се използва като неинвазивен маркер за наличието на бактериален възпалителен процес в белия дроб и неговото повлияване.

Зависимост между нивото на FeNO и наличието на бронхообструктивен синдром при бактериална пневмония придобита в обществото

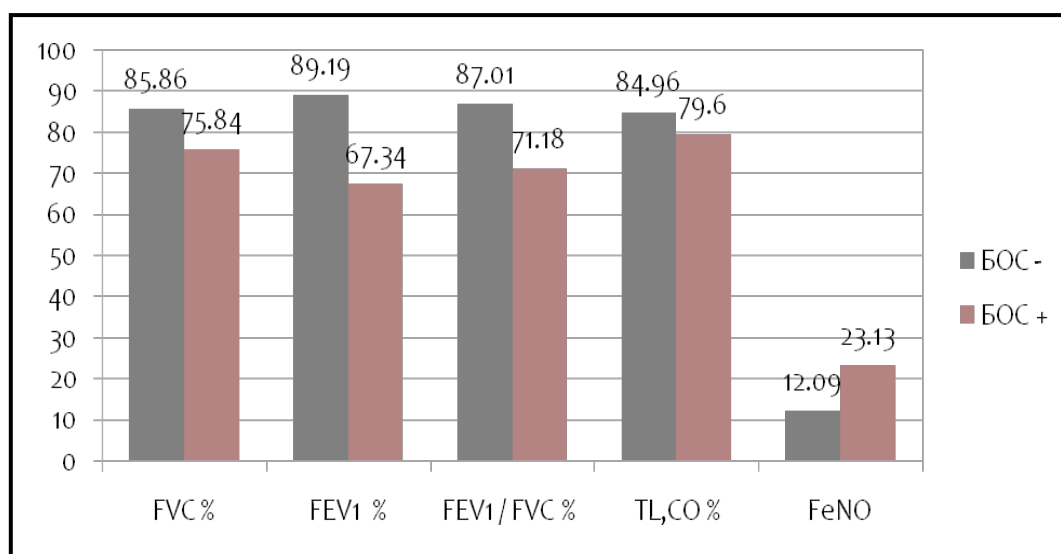
По този показател пациентите бяха разделени на две групи с бронхообструктивен синдром (БОС+, n = 30) и без бронхообструктивен синдром (БОС-, n = 70).

Средните стойности на FeNO, които установихме при двете групи са: при деца БОС(-) n = 70 FeNO 12.09 ± 6.73 ppb срещу БОС(+) n = 30 FeNO 23.13 ± 14.38 ppb, $p < 0.001$.

Средната аритметична стойност на FeNO при БОС (+) пациенти е приблизително два пъти по-висока от средната на БОС (-) пациенти. Съществува статистически значимо различие между двете групи $p < 0.001$ – уровень на значимост 99.99%. Корелацията между наличието на БОС и нивото на FeNO е висока в положителна посока, т.е. високото му ниво е свързано с наличието на БОС, Spearman's rho = 0.8.

Проследени са и основните вентилаторни показател и дифузионния капацитет.

БОС(+) пациенти имат очаквано по-лоши спирометрични показатели в сравнение с БОС(-). Това е много добре демонстрирано при показателите показващи ОТВН FVC $75.84 \pm 18.23\%$ срещу $85.86 \pm 18.23\%$, $p = 0.006$, FEV1 $67.34 \pm 14.56\%$ срещу $89.19 \pm 14.51\%$, $p < 0.001$, FEV1/FVC 71.18 ± 9.21 срещу $87.01 \pm 6.5\%$, $p < 0.001$. При дифузионния капацитет не се установиха различия.



Графика 15. Основни вентилаторни показатели на дишането и FeNO при БОС (-) и БОС (+) пациенти с БППО

Таблица 16. Лабораторни показатели при БОС (-) и БОС (+) пациенти с БППО

Показатели	БОС -	БОС +	P
	n = 70	n = 30	
IgE (kU/l)	51.34 ± 63.86	116.60 ± 30.61	< 0.001
IgA (g/l)	1.83 ± 0.62	1.66 ± 0.65	0.2
IgG (g/l)	12.40 ± 2.20	10.76 ± 3.58	0.1
IgM (g/l)	1.62 ± 0.43	2.17 ± 2.97	0.1
Левкоцити (x10 ⁹ /l)	10490.00 ± 328.00	9610.28 ± 302.12	0.2
Неутрофили (/μl)	6591.00 ± 1020.00	7013.33 ± 1374.23	0.09
Еозинофили абсолютен брой	164.00 ± 16.30	689.81 ± 100.93	< 0.001
CRP (mg/l)	45.32 ± 17.19	47.93 ± 30.65	0.1

Направените лабораторни изследвания, показаха следните зависимости:

При болните с БОС, средните стойности на тотални IgE са значително по-високи: IgE (kU/l) 116.6 ± 30.60 срещу 51.34 ± 63.86, разликата е статистически значима – $p < 0.05$. Това се отнася и за промените в ДКК – еозинофилите са по-високи при децата БОС(+), $p < 0.001$. Останалите лабораторни показатели съответстват на диагнозата – бактериална пневмония.

Статистически значимата разлика между тях, БОС(-) и БОС(+), се запази $p < 0.001$, Spearman's rho = 0.8.

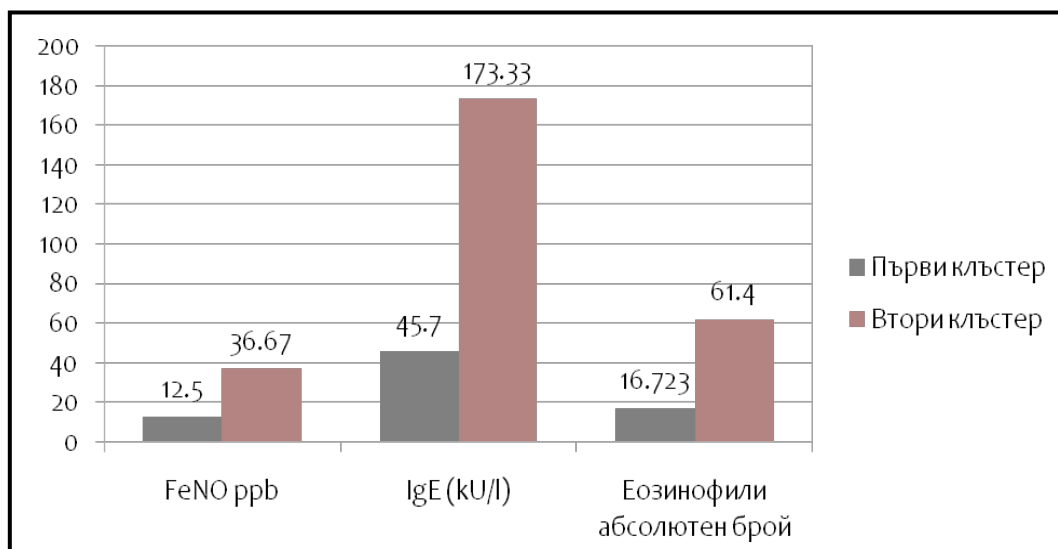
Но при вътрегруповото разглеждане нивата на FeNO не се променят в началото и края на лечението – 12.09 ± 6.73 срещу 12.10 ± 6 = 22 ppb БОС-, 23.13 ± 14.38 срещу 22.10 ± 12.23 ppb.

При пациентите БОС(+) се оформиха два клъстера (**фиг. 16**).

Първи клъстер (n = 17, момичета/момчета 5/8, средна възраст 11.50 ± 3.88 години) – без фамилна обремененост, без пристъпи на кашлица и задух, маркери на алергично възпаление в норма, се измери FeNO в границите на нормата (12.5 ppb), съизмеримо с това на контролите (**фиг. 16**).

Втори клъстер (n = 13, момичета/момчета 8/5, средна възраст 12.01 ± 5.23 години) – с фамилна обремененост за алергични заболявания, повтарящи се пристъпи на кашлица, чести пневмонии и бронхите без температура, повишени стойности на маркери на алергично възпаление, с високо FeNO, в стойности, характерни за алергична астма.

Установените стойности на FeNO във втория клъстер са 36.67 ± 8.021 ppb, което е статистически значимо по-високо от контролната група и другите болни с пневмония – $p < 0.001$. Стойностите са в графата висока вероятност за алергично възпаление според препоръките на ATS за тълкуване. Те колерират много добре с стандартните маркерите на алергично възпаление (фиг. 16).



Фигура 16. Средни стойности на изследваните показатели за алергично възпаление /еозинофили и IgE/ при двата клъстера на БОС +/- деца с БППО

При проследяването на 28 ден след началото на заболяването високите нива на FeNO при болните от втори клъстер се задържат (табл. 17).

Таблица 17. Нива на FeNO в началото на заболяването и на 28-я ден на деца с БОС в хода на БППО от втори клъстер

Показатели	Бр.	Средна стойност на FeNO ppb	95% CI		t	Pt
			Долна граница	Горна граница		
FeNO ppb в началото на лечението	13	36.67 ± 8.02	16.74	59.59	7.9	0.01
FeNO ppb на 28-я ден от началото на заболяването	13	35.33 ± 6.50	19.17	51.49	9.4	0.01

Тези 13 деца бяха проследени амбулаторно и направени допълнителни изследвания като се оформи диагноза алергична бронхиална астма.

Определянето на FeNO при пациенти с пневмония може да помогне при разграничаването на децата с повишена бронхиална хиперреактивност и потенциал за развиване на бронхиална астма.

IV.5.1. Обсъждане на резултатите от изследване на FeNO при деца с БППО

В научната литература съобщенията за проучване на нивото на азотен оксид в издишания въздух при остри бактериални пневмонии, придобити в обществото при деца са, оскъдни. Тъй като FeNO е част от възпалителния отговор, неговите нива се очаква да нараснат при остра белодробна инфекция и от там и извода, че може да се използва като маркер за бактериална възпаление и неговото повлияване. За разлика от вирусните инфекции, бактериалните инфекции на дихателните пътища, не предизвикват повишаване на нивото на FeNO.

Нито една от изказаните до момента хипотези не обяснява този парадокс, което подчертава необходимостта от по-нататъшни проучвания за ролята на FeNO при деца с остри бактериални пневмонии.

При проведеното от нас изследване установяваме, че средна стойност на FeNO е в рамките на нормата, но в по-високи нива в сравнение със здравите контроли. Този факт ние не свързваме с наличната бактериална инфекция, а с алергична предиспозиция при част от децата. Повечето изследователи също съобщават за нормални нива на FeNO при деца с пневмония – Saudi et al (2001), Carraro Set al (2008), Angelo Manna et al (2012).

От проведеното функционално изследване на дишането се установиха три вида вентилаторни нарушения – ОТВН, РТВН, СТВН и със запазена вентилаторна функция на бял дроб. За разлика от нас, Kelekci Set al (2013) намира предимно РТВН и липса на различия в стойностите на нивата на азотния оксид в издишания въздух при деца с пневмония и здрави контроли. Идентични са и резултатите на S. Kelekci (2013), които установяват липса на разлика в стойностите на нивото на FeNO при деца остра бактериална пневмония (10.22 ± 3.7 ppv), и контролната група (7.74 ± 3.3 ppv) ($p > 0.05$). Средните аритметични стойности на FeNO не се влияят от наличието на инфекция и от проведеното лечение за острата бактериална пневмония. Тази констатация се потвърждава от S Carraro (2008) и Al-AliMK et al (2000), които доказват и липсата на разлика в нивата FeNO между болните деца от ППО и здрави контроли преди и след проведено антибиотичното лечение.

В проучването ни, се установява статистически значимо различие в стойностите на FeNO между БОС(+), и БОС(-). Децата с БППО, съчетан с БОС показват стойности на FeNO над нормата и по-високи от тези при

другите деца с БППО. Високите стойности на FeNO колерират добре с други показатели на алергичното възпаление – тотални IgE, еозинофили в кръвта.

Изводът, който правим от нашите констатации е, че определянето на FeNO при пациенти с пневмония може да помогне при разграничаването на децата с повишена бронхиална хиперреактивност и потенциал за развиване на бронхиална астма.

В заключение – препоръката ни е при деца с пневмония и изразен БОС да се изследва FeNO, както и да се търсят маркери за алергично възпаление. Това би помогнало за разграничаването на повтарящи се „бронхити и пневмонии“ при тези деца от бронхиална астма.

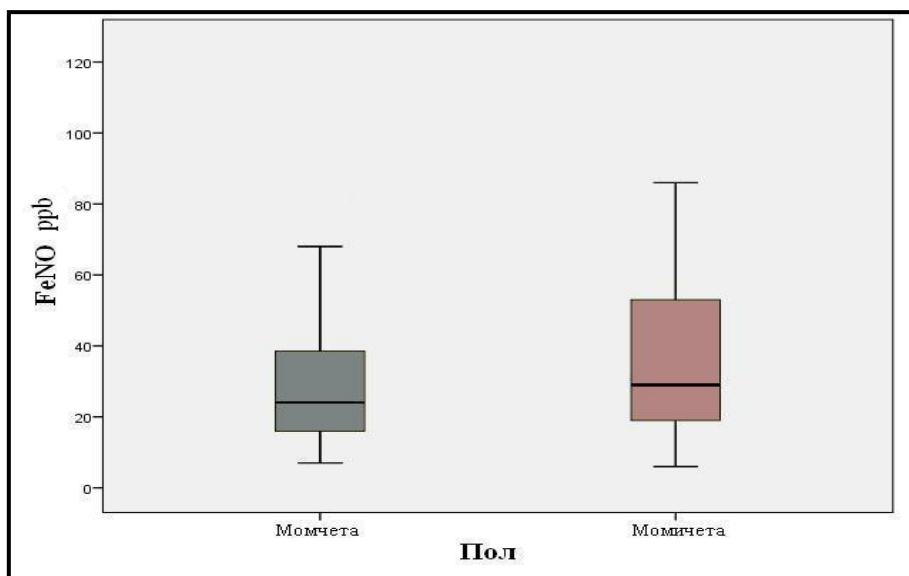
IV.6. Задача номер 4 – Да се установят детерминантите на FeNO в изследвания контингент.

За решаването на тази задача разгледахме пациент-свързаните факторите определени от ARS/ERS, които влияят върху нивото на измерения азотен оксид в издишания въздух и ги сравнихме с нашите резултати.

1. Пол – Според критериите на ARS/ERS при децата няма колерация на нивото на FeNO и пола.

Зависимост между нивата на FeNO и пола при болни от бронхиална астма

Ние установяваме влияние на пола върху нивото на NO при деца с БА т.е. по-високи средни стойности на FeNO при момичета 37.62 ± 11.09 ppb срещу момчета 30.10 ± 9.05 ppb, като разликата е статистически значима – $p < 0.001$. Полът оказва влияние върху стойностите на FeNO с добра колерация Spearman's rho = 0.3.

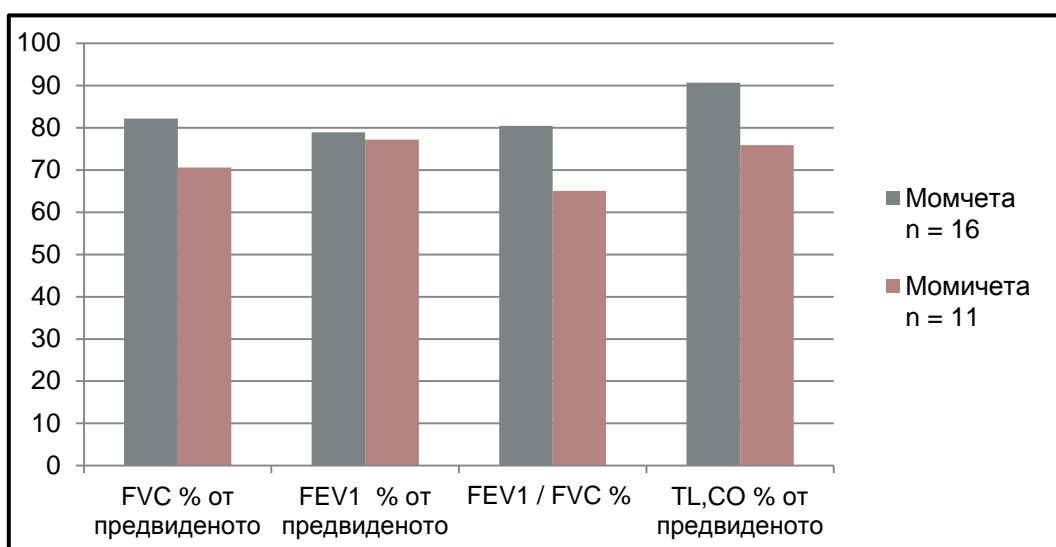


Фигура 17. Вох-plot на FeNO при двата пола при деца с бронхиална астма

*Зависимост между нивата на FeNO и пола
при болни от муковисцидоза*

При направените изследвания се установява статистически значима разлика в нивата на FeNO при момчета 13.56 ± 4.93 срещу момичета 10.27 ± 3.79 (ppb) $p < 0.05$.

Нивото на FeNO е по-високо при мъжкия пол. Получените стойности на NO корелират с данните от спирометрията – вентилаторните показатели са по-добри при момчета, включително и дифузионния капацитет (Фиг. 18).



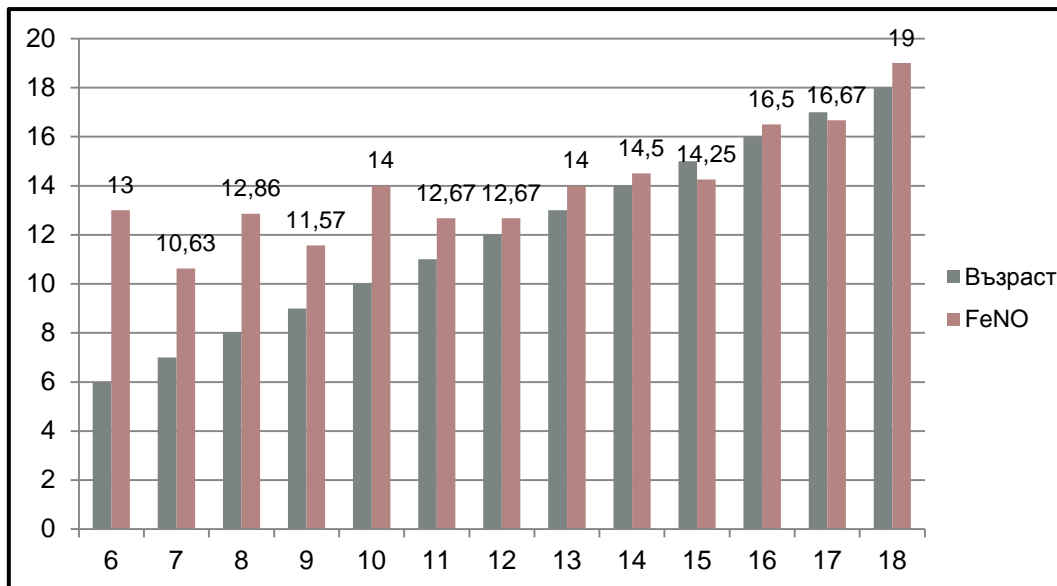
Фигура 18. Основни спирометрични показатели при двата пола при болни с МВ

Не установихме корелация между стойностите на FeNO и пола при деца с БППО и при група контролната.

2. Възраст – При деца се отчита увеличение на издишания NO с нарастване на възрастта, според критериите на ARS/ERS

Зависимост между нивата на FeNO и възрастта при контролната група

При наблюденията ни върху изследвания контингент в контролната група има нарастване на стойностите на FeNO с възрастта – 6 – 12 години е изчислена средна стойност 12.48 ± 1.24 срещу 15.82 ± 1.97 ppb във възрастта 13 – 18 годишни. Установената разлика е значима $p < 0.01$



Фигура 19. Средни стойности на азотния оксид в издишания въздух в зависимост от възрастта при контролната група

При групите болни деца с БА, бактериална ППО и МВ, такава зависимост не се установи.

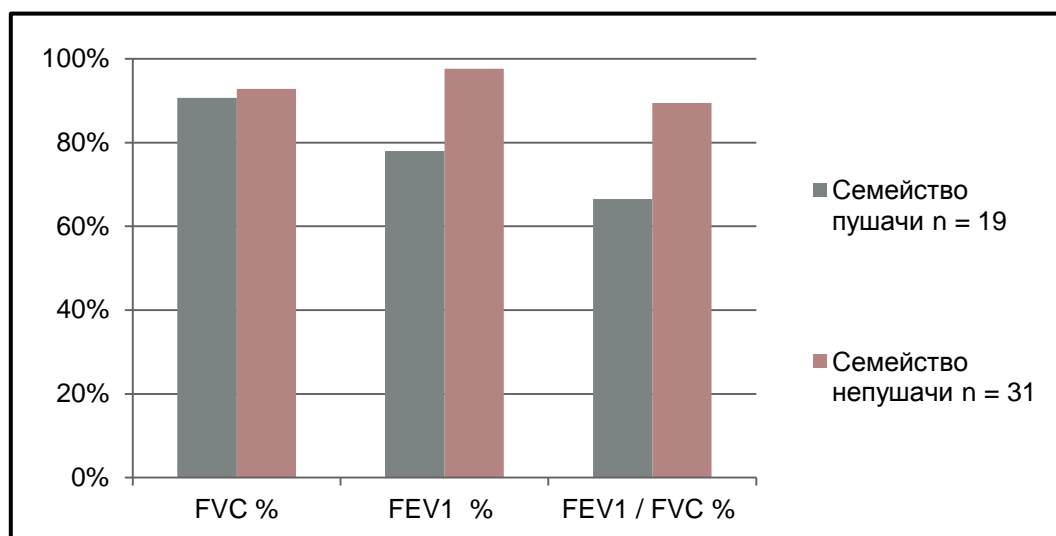
3. Роля на пасивното тютюнопушене

Целта на тази част от научно ни търсене е да се оцени въздействието на хроничното пасивното тютюнопушене (ПТ) върху FeNO при изследваните групи деца.

Зависимост между нивата на FeNO и пасивното тютюнопушене при деца с БА

Изследвани са болни от алергична бронхиална астма – 50 деца (момчета 31 и момичета 19) Те се считат за изложени на ПТ, когато са изпушени в присъствието им най-малко пет цигари дневно. Не сме включили неалергичните деца и тези, получаващи противоалергично лечение. Деца с астматичен пристъп през последните 2 седмици, симптоми на алергичен ринит през последните 2 седмици, или остра инфекция на дихателните пътища през последните 4 седмици, също не са включени. От тези 50 деца – 19 (38%) деца са изложени на пасивно тютюнопушене, а останалите 31 (62%) не са.

Стойностите на FeNO намерени при пасивните пушачи са 48.42 ± 6.21 ppb срещу 54.96 ± 4.92 ppb, за деца неизложени на цигарен дим. ПТ намалява нивото на FeNO статистически значимо $p < 0.001$.



Фигура 20. Белодробни функционални показатели и при децата с алергична бронхиална астма в семейства на пушачи и непушачи

От графиката се вижда снижаване на вентилаторните показатели FEV1 и FEV1/FVC при пасивните пушачи $p < 0.05$. Такава зависимост намира и Мандаджиева Ст. – стойности на FVC, FEV1, FEF50, FEF25 и TLCO винаги са по-ниски в групата на изложени на пасивно тютюнопушене в семейството.

Зависимост между нивото на FeNO и ПТ не бе установена при децата с неалергична астма МВ, БППО и децата от контролната.

*Влияние на тютюнопушенето на майката по време на бременността
върху нивото на азотния оксид при БА*

Таблица 18. FeNO и тютюнопушене на майката по време на бременността на деца болни от БА

Тютюнопушене на майката	Бр.	Стойност на FeNO.	Std Error	t	Pt	u	P
Да	8	32.20 ± 12.99	1.36	2.48	< 0.05	2.83	< 0.01
Не	42	40.25 ± 7.25	2.56	5.56	< 0.001		

Пушенето на майката намалява нивото на FeNO – $p < 0.01$. То е статистически значимо при болни с БА.

При другите две заболявания, МВ и БППО, както и в контролната група, тютюнопушенето на майката по време на бременността не повлиява нивото на FeNO.

4. Значение на типа отопление върху нивото на азотен оксид в издишания въздух

Това е един от факториалните признаци, които предпологахме, че влияят върху стойностите на FeNO.

Зависимост на нивото на FeNO от вида на домашното отопление при деца с БА

Таблица 19. Ниво на FeNO в зависимост от типа на отопление в дома на деца, страдащи от БА

Вид отопление	Брой	Стойности на FeNO	Std. Error	t	P
Твърдо гориво	30	37.87 ± 11.15	2.03	3.40	< 0.001
Централно парно	6*	49.83 ± 19.56	8.01	2.55	< 0.01
Климатик	34	30.24 ± 8.75	1.50	3.46	< 0.001
Електричество	30	27.37 ± 7.61	1.39	3.50	< 0.001
Общо	100	32.84 ± 10.45	2.12	3.05	< 0.001

Заб. * – Малък брой

Вижда се, че най-висока стойност на FeNO е регистрирана при болни с централно отопление, но малкият брой единици не гарантира достоверност на информацията ($n = 4$). Пациентите с алергична бронхиална астма са разпределени почти по равно в останалите 3 групи по отопление – с твърдо гориво $n = 30$ (30%), с климатик $n = 34$ (34%), с електричество $n = 30$ (30%), централно отопление – 6 (6%). Не може да се

спекулира за стойностите на FeNO, че в някоя група има струпване на болни с алергична астма, което да определя по-високи нива. Проведеният статистически анализ потвърждава влиянието на отоплението с твърдо гориво върху нивото на FeNO, което в тази група е най-високо.

При останалите две групи – MB и БППО, както и в контролната група, не се установи зависимост на стойностите на FeNO от вида на отопление в дома.

5. В препоръките на ARS/ERS за интерпретиране на резултатите от измерването на NO се отчита влиянието на расата. При нашите наблюдения разгледахме повлияване стойността на FeNO от етноса.

Зависимост на нивото на FeNO от етноса при контролната група

Данните от проучване ни показва, че FeNO е в определена зависимост от етническия произход на децата. Пациентите са 3 групи в зависимост от принадлежността към, която те са самоопределили – българи, роми, турци .

Таблица 20. Средни стойности на издишания азотен оксид в зависимост от етническия произход при контролната група

Етнос	Брой	Стойност на FeNO	Std. Error	t	Pt	U	P
Българи	42	12.76 ± 3.74	0.58	3.41	< 0.001	0.39 ¹	> 0.05
Роми	10	14.60 ± 2.01	0.64	7.21	< 0.001	2.31 ²	< 0.05
Турци	5	12.40 ± 3.36	1.50	3.54	< 0.001	0.41 ³	> 0.05
Общо	57	13.05 ± 3.49	0.46	3.73	< 0.001	-	-

Заб. 1 – българи/общо
2 – роми/общо
3 – турци/общо

Проведената вътрегрупова съпоставка при отделните етнически групи с общата стойност показва единствено различие с ромите $p < 0.05$ (табл. 20). FeNO е най-висок при роми и то статистически значимо, при уровень на значимост – 95% ($u = 2.13$ – българи/роми и 2.8 турци/роми).

Резултатите са ни уникални и заслужават внимание.

Зависимост на средните стойности на FeNO от етноса на пациентите с бронхиална астма

Проведената вътрегрупова съпоставка с u -критерия, показва съществено различие, което се определя от по-високата стойност на показателя при ромските деца, сравнен с другите два етноса.

Таблица 22. Стойности на азотен оксид в издишания въздух за деца, страдащи от БА при различните етноси

Етнос	Бр.	Стойност на FeNO ppb	Std. Error	t	Pt	U	P
Българи	66	33.21 ± 9.85	1.21	3.35	< 0.001	0.87	> 0.05 ¹
Роми	20	35.32 ± 12.07	1.94	2.90	< 0.01	1.72	> 0.05 ²
Турци	14	20.50 ± 8.69	2.32	3.28	< 0.001	2.15	< 0.05 ³
Общо	100	32.84 ± 10.45	1.08	3.05	< 0.001	-	-

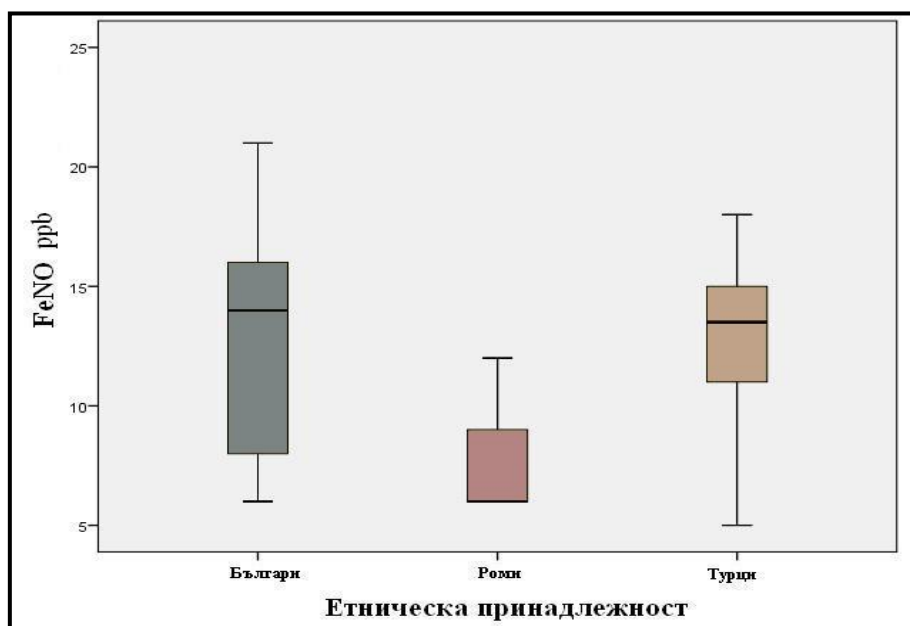
Заб. 1 – Съпоставка българи/роми

2 – Съпоставка на българи/турци

3 – Съпоставка роми/турци

Корелацията на FeNO с етноса е значителна, при липса на разлика в другите показатели – антропометрични, алергични прояви.

Зависимост на средните стойности на FeNO от етноса на пациентите с МВ



Фигура 21. Box-plot на FeNO при трите етноса при деца с муковисцидоза

Съпоставката на средната стойност на FeNO, при деца с муковисцидоза, на отделните етноси с общия резултат за целия контингент показва наличие на съществени различия, определящо се единствено от ниската стойност на оксида при ромите – $p < 0.05$.

Проведената вътрегрупова съпоставка между етносите показва съществени различия между средните стойности при българи и турци от една страна и ромите от друга – $p < 0.05$ / $u = 2.17$ /. Вътрегруповата съпоставка по етническа принадлежност и тези от контролната група

показва, че при двата етноса – българи и турци не се констатира различие в средните стойности на FeNO с контролната група – u-критерия при българите е 0.02, а при турците 0.20. Голямото различие, констатирано при ромите следва да се приема с резерв поради малкия брой единици на наблюдение, но е редно да бъде посочена констатираната стойност – $p < 0.001 / u = 3.14/$.

6. Зависимост на нивото на FeNO от местоживеенето на децата

Зависимост на нивото на FeNO от местоживеенето на децата от контролната група

Регистрираните нива на азотен оксид при местоживеене в град или село не се различават, независимо от все пак по-ниските стойности при селските жители – u-критерия 1.67 и $p > 0.05$ (табл. 23).

Таблица 23. Средни стойности на азотния оксид в зависимост от местоживеене при децата от контролната група

Местоживеене	Брой	Стойност на FeNO ppb	Std. Error	t	Pt	U	P
Град	44	13.39 ± 3.63	0.55	3.69	< 0.001	1.6	> 0.05
Село	13	11.92 ± 2.81	0.48	4.24	< 0.001	1	
Общо	57	13.05 ± 3.49	0.46	3.73	< 0.001	-	-

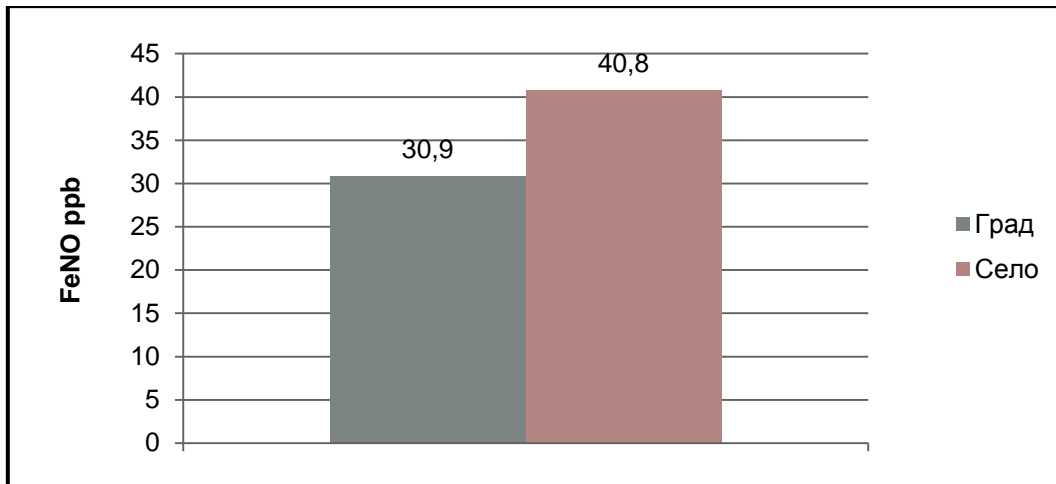
Вътрегруповата съпоставка между общото ниво и местоживеенето потвърждава горния извод – $p > 0.05$ ($u = 0.42$ – град и $u = 1.26$ село). Общо ниво 13.05 ± 3.49 ppb срещу град 13.39 ± 0.55 ppb и село 11.92 ± 0.78 ppb.

Зависимост на нивото на FeNO от местоживеенето на децата болни от БА

Предполага се, че в селата замърсяването на въздуха от различни вредни газове, включително и азотни окиси е по-малко. Но тук се намесват и други фактори – твърде много алергени от животни и тревни полени, което е предпоставка за ранна алергизация и при предразположени индивиди развитие на atopични заболявания, вкл. и БА.

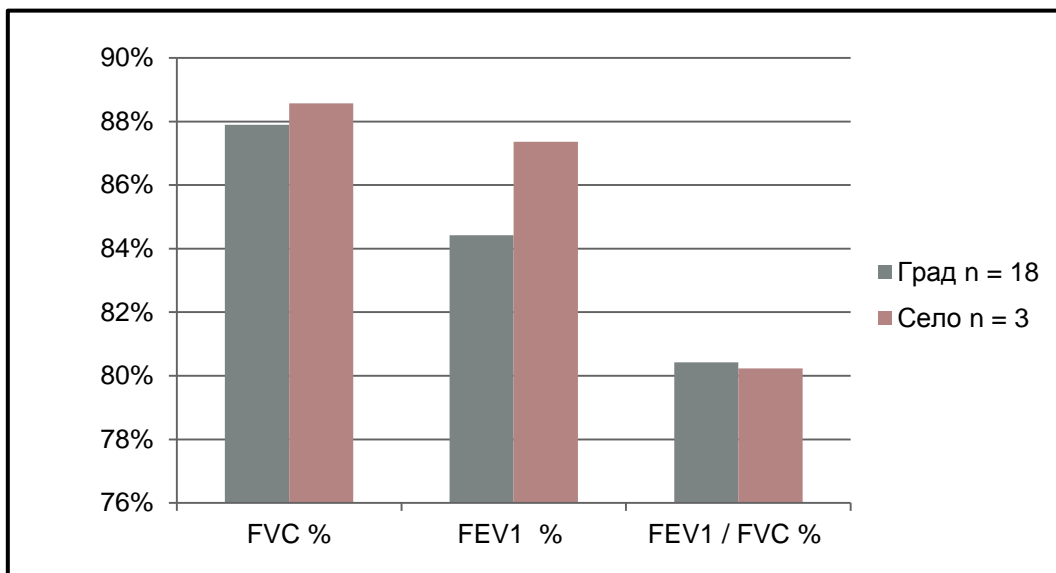
От изследваните деца 81 (81%) живеят в град и 19 (19%) в село.

При проведените изследвания се установи значимо по-висока стойност на FeNO при болните от БА деца от село – $p < 0.001$.



Фигура 22. FeNO при децата с бронхиална астма живеещи в град и село

При проследените основни спирометрични показатели не се установи разлика в двете групи.



Фигура 23. Основни спирометрични показатели и FeNO при деца с БА от град и село

Не се установиха корелации между отглеждане на село или в града при групите деца с МВ и БППО.

IV.6.1. Обсъждане на резултатите от проучването на детерминантите на FeNO в изследвания контингент

Стойностите на FeNO зависят от някои факториални признаци (ATS/ERS).

Едно от най-големите проучвания Buchvald et al (2005), разглеждащо факторите които определят нивата на издишания NO, не съобщава за разлика между двата пола. За разлика от това, Taylor et al. (2007) намират асоциация между женския пол и по-ниски нива на издишан NO като посочват 1.26 пъти по-високи стойности при мъже отколкото при жени. Разликата в пола може да бъде обяснена с ниско ендогенно производство на NO при жени, което е резултат от по-ниските нива на нитрати в плазмата или по-малката площ на дихателните пътища в съответствие на размера на тялото.

При нашето проучване установихме статистически значимо по-високи средни стойности на FeNO при момичета, болни от бронхиална астма. M.W.H.Pijnenburg (2005) също намира по-високи стойности в женския пол. При болните от МВ стойностите на азотен оксид са по-високи при пациентите от мъжки пол $p < 0.05$. Получените стойности на NO корелират с данните от спирометрията – вентилаторните показатели са по-добри при момчета, включително и дифузионния капацитет.

Изследванията, извършени при деца отчитат увеличение на издишания NO с увеличаване на възрастта. Проучването на Buchvald et al (2005) FeNO е значително и положително свързано с възрастта и при двата пола се увеличава с 5% (95% CI, 3% до 6%) годишно. Това вероятно се дължи на увеличаването на размера на дихателните пътища с израстването на детето. Увеличаване на стойностите на изследвания показател, установихме само при контролната група $p < 0.01$.

Тютюнопушенето намалява нивото на азотен оксид в издишания въздух. Предполага се, че цигареният дим съдържа високо ниво на NO, което потиска NOS активността чрез екзогенен NO и от там намалява ендогенното производства на азотен оксид.

Ние доказваме, че стойностите на FeNO статистически значимо намаляват при деца с БА, изложени на пасивно тютюнопушене ($p < 0.001$). Подобна зависимост, отчетат и Y. Laoudi et al, Warke et al (2003), за разлика от резултатите на Barreto Met al (2001) и Dinakar et al (2005). В заключение, резултатите ни показват, че ниските стойности на FeNO, при

деца изложени на ПТ, не отхвърлят наличието на алергично възпаление в белия дроб.

Единични проучвания оценяват потенциалния ефект на отоплението в дома върху FeNO. Според нашите наблюдения най-висока стойност има при отопление с твърдо гориво, а най-ниска при отопление с електричество за разлика от изводите на Kövesi et al (2008). Предполагаме, че значение има отделените вредните газове, вкл. азотни окиси, при изгаряне на въглища и дърва.

Buchvald и Wong (2005) доказват, че негри и китайци имат по-високи стойности на FeNO отколкото белите, а Kövesi et al. (2008) отбелязват, че азиатските деца имат по-високи стойности, отколкото белите и че при афроамериканци стойностите са междинни.

При проведените от нас изследвания констатирахме най-високи стойности на FeNO при ромските деца, страдащи от БА и при контролната група, което е статистически значимо. Допълнителни проучвания могат да разкрият необходимостта от етнос-конкегирано отчитане на нивото на този показател.

Друг факториален признак, който установяваме, че влияе на нивата на FeNO е местоживеенето на пациента. Резултатите ни показват, че при деца с БА, нивото на FeNO е статистически значимо ($p < 0.001$) по-високи при отглеждане на село, което свързваме с по-голямата натовареност с разнородни алергени.

В резултат на проведените наблюдения предлагаме за обсъждане към детерминантите определящи нивото на FeNO при неговото измерване, за България да се включат и роля на пасивното тютюнопушене, типа отопление, етнос, местоживеенето на децата.

V. ОБЩИ ИЗВОДИ

1. FeNO е отличен маркер за определяне на наличието на алергично възпаление в белия дроб, тъй като нивото на му е най-високо при алергична бронхиална астма, особено при пациенти с полиалергия (37.80 ± 21.21 ppb). То е над два пъти и половина по-високо от това на контролната група и корелира добре с другите маркери на алергична възпаление – тотален IgE в серума ($r = 0.65$), кръвна еозинофилия ($r = 0.49$), фамилна обремененост с атопия ($r = 0.39$).
2. Промените в стойностите на FeNO могат надеждно да се използват като по-ефективен от показателите на ФИД, маркер за диагноза и определяне ефекта от лечение с ИКС при деца с алергична бронхиална астма.
3. Понижаването на стойностите на FeNO могат да се използват като допълнителен показател за инфектиране с *Ps. aeruginosa* при деца с муковисцидоза, като FeNO не се влияе от провежданото лечение с АБ и муколитици.
4. Повишените стойности на FeNO, при деца с БППО, протичаща с БОС ясно очертава застрашените или вече болни от бронхиална астма деца.
5. Интерпретирането на стойностите на FeNO при поставяне на диагноза, трябва да се съобразява с това, че са по-ниски при деца, изложени на ПТ и по-високи при деца от ромски произход.

VI. ПРИНОСИ

С оригинален характер

1. За пръв път у нас се проучва ролята на FeNO, като показател за диагноза, установяване на усложнения и ефект от лечение при деца с бронхиална астма, муковисцидоза и БППО.
2. Обогатяват се критериите за интерпретация на резултатите на FeNO на ERS/ATS, като се добавят – излагане на ПТ и ромски произход.

С потвърдителен характер

1. Доказва се, че изследването на FeNO е по-бърз, по-евтин, подходящ за по-малки деца, по-надежден от ФИД метод за диагноза и проследяване ефекта от лечение при деца с бронхиална астма.
2. Изследването на FeNO може да се използва като допълнителен метод за доказване на хронична инфекция с *Ps. aeruginosa*, чрез спадането му при деца болни от МВ.

**Публикации и научни доклади
във връзка с дисертационния труд**

1. **Д-р Нели Генкова**, Проф. Мирослава Бошева, дм, Катедра по Педиатрия и медицинска генетика, Медицински университет – Пловдив, Измерване на азотния оксид в издишания въздух при деца – неинвазивен маркер на възпалението на дихателните пътища, 2015 г, Наука пулмология, кн. 3, стр. 25-30, ISSN 1312-8302.
2. **N. Genkova¹**, M. Todorova², B. Marinov², S. Mandadzhieva², M. Bosheva¹, S. Kostianev², ¹Department of Pediatrics and Medical Genetics, ²Department of Pathophysiology Medical University of Plovdiv, Exhaled nitric oxid is associated with pseudomonas aeruginosa infection and peripheral airway obstruction in cystic fibrosis, J of Cystic Fibrosis, 2013 (Supp.1), ISSN1569-1993, **IF- 3, 190**.
3. **Н. Генкова¹**, М. Бошева¹, М.Тодорова², Б. Маринов²,¹Катедра по педиатрия и медицинска генетика, ²Катедра по патофизиология, Медицински университет – Пловдив, Значение на азотния оксид в издишания въздух (FeNO) при деца с муковисцидоза като оценка на проведеното лечение с венозен антибиотик – под печат.
4. Ц. Люцканова, М. Бошева, **Н. Генкова**, М. Клинканова, Катедра по педиатрия, ВМИ – Пловдив, Промени в нивото на IgE у деца с бронхиална астма, Българска медицина, том III, бр. 1 – 2, стр 28 – 30.
5. **Н. Генкова¹**, С. Мандаджиева², М. Сиракова², Б. Маринов², К. Терзийски², С. Костянев², М. Бошева¹, ¹Катедра по Педиатрия и медицинска генетика, ²Катедра по Патофизиология, Медицински университет – Пловдив, Приложение на азотен оксид в издишания въздух за мониториране на лечението на деца с бронхиална астма на възраст 7 – 18 г., XII Национален педиатричен конгрес с международно участие, 31 май – 02 юни 2012 г., Сборник резюмета стр. 119.
6. С. Мандаджиева¹, **Н. Генкова²**, М. Сиракова¹, Б. Маринов¹, М. Бошева², С. Костянев¹, ¹Катедра по патофизиология, ²Катедра по Педиатрия и медицинска генетика Медицински университет – Пловдив, Клъстърен анализ при деца с бронхиална астма, изследвани за азотен оксид в издишания въздух, XII Национален педиатричен конгрес с международно участие, 31 май – 02 юни 2012 г., Сборник резюмета стр. 117.

7. **Н. Генкова**¹, М. Тодорова², В. Маринов², М. Бошева¹, С. Костянев²,
¹Катедра по педиатрия и медицинска генетика, ²Катедра по патофизиология, Медицински университет – Пловдив, Значение на азотния оксид в издишания въздух (FeNO) при деца с бактериална пневмония, XIII Национален конгрес по педиатрия 28 – 31 май 2015, Несебър, Сборник резюмета, П39.