

Ekspirasyon Havasında Nitrik Oksid Ölçümü

Measurement of Exhaled Nitric Oxide

İ. Kıvılcım Oğuzülgen

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Özet

Abstract

Nitrik oksid (NO) nitrik oksid sentaz (NOS) enzimi ile L-Arginin'in L-Citrullin'e oksidatif konversiyonu sırasında sentezlenen endojen reaktif bir moleküldür. NOS aktivasyonu proinflatuvar uyarıcı ve sitokinlerle regüle olmaktadır. Bu nedenle akciğerlerde üretilen ve ekspirasyon havası ile atılan NO miktarı astım gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda en yüksek düzeydedir. Ayrıca FE_{NO} ölçümü KOAH'lı hastalarda, kronik öksürüklü hastaların ayırıcı tanısında, sarkoidozlu, bronşektazili hastalarda kullanılmaktadır. Günümüzde NO'ın standart ölçüm teknikleri ile ilgili rehber ve öneriler yayınlanmıştır. Ekspirasyon havasındaki NO (eNO) ölçümünde kemilüminisans ve elektrokimyasal analizörler kullanılmaktadır. Bu derlemede rehberlerce standize edilmiş FE_{NO} ölçüm yöntemlerinin detayları ve nitrik oksid analizini etkileyen faktörler anlatılmaktadır.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Nitrik oksit, ekspirasyon havası, ölçüm yöntemi

Nitric oxide (NO) is an endogenous reactive molecule that is synthesised from the oxidative conversion of L-Arginine to L-Citrulline by the enzyme nitric oxide synthase (NOS). The upregulation of NOS in the airways occurs in response to proinflammatory cytokines through a variety of cellular mechanisms. Thus, exhaled NO is significantly increased in patients suffering from inflammatory airway diseases, especially in asthma. Moreover, exhaled NO measurement can also be used in COPD, differential diagnosis of chronic cough, sarcoidosis, and bronchiectasis. Currently, standardised guidelines and task forces are published for the techniques to measure exhaled NO. Chemiluminescence and electrochemical analysers are used to measure exhaled NO. In this review, the technical details of standardised NO measurements and factors affecting NO analysis, are discussed.

KEY WORDS: Nitric oxide, exhaled air, measurement techniques

Nitrik oksid (NO) nitrik oksid sentaz (NOS) enzimi ile L-Arginin'in L-Citrullin'e oksidatif konversiyonu sırasında sentezlenen endojen reaktif bir moleküldür. NOS enziminin iki yapısal, bir indüklenebilir olmak üzere üç izoformu vardır. Üçünün de [yapısal endotelial NOS (eNOS veya NOS I), indüklenebilir NOS (iNOS veya NOS II) ve yapısal nöral NOS (nNOS veya NOS III)] solunum yollarında olduğu gösterilmiştir [1,2].

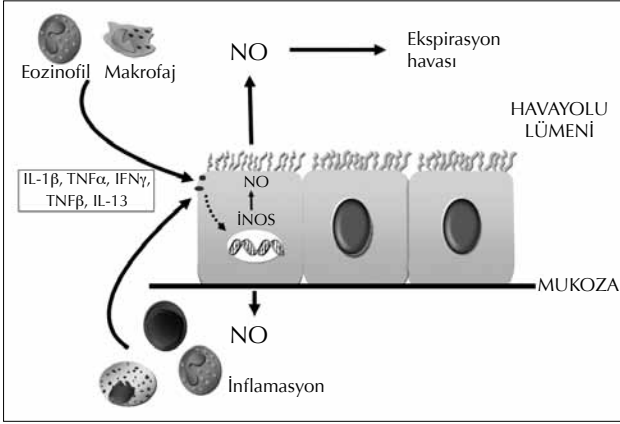
Genel olarak nNOS ve eNOS fizyolojik koşullarda ekspres olmaktadır. iNOS aktivasyonu ise proinflatuvar uyarıcı ve sitokinlerle (IL-1, TNF α , IFN γ , TNF β ve IL-13 gibi) regüle olmaktadır (Şekil 1). Yapısal formlarla karşılaştırıldığında maksimum iNOS indüksiyonu daha yavaş oluşur (saatler içinde), uzun süre ortamda kalır ve daha fazla miktarda üretilir (nanomol düzeyinde). Bu nedenle akciğerlerde üretilen ve ekspirasyon havası ile atılan NO miktarı astım gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda en yüksek düzeydedir [1,3].

Nitrik oksid ekspirasyon havasında en çok çalışılan ekshale gazdır. 1987'de endotel kaynaklı gevşetici faktör ile (EDRF) NO'ın aynı madde olduğundan bahsedilmiş, 1991'de de insan ve hayvan ekspirasyon havasında NO'ın varlığının tariflenmiştir [4,5]. 1993'te astımlı hastalarda ekspirasyon havasında kısmi (fraksiyonel) NO konsantrasyonunun (FE_{NO}) artmış bulunduğunun yayınlanması ile bu basit ve noninvaziv yöntemin astım değerlendirilmesinde kullanılabileceği görüşü gündeme gelmiştir [6]. Ekspirasyon havasının değerlendirilmesinin artık deneysel çalışmaların ötesinde kliniklerde rutin kullanıma girmesi önerilmektedir [7].

Klinik Pratikte Ekshale NO Ölçümünün Yeri

Günümüzde ekshale nitrik oksidin astım tanısı ve takibindeki rolü tartışılmazdır. Steroid tedavisi almamış astımlı hastalarda sağlıklı kişilere göre FE_{NO} değerlerinin yüksek olduğu pek çok çalışma ile gösterilmiştir [6,8-12]. Astım ataklarında, kontrol altında olmayan astımda, steroide dirençli astım olgularında ve antiinflamatuvar ilaç dozunun azaltıldığı olgularda FE_{NO} düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir [13-17]. FE_{NO}'ün astım aktivitesini göstermede ECP veya soluble interlökinler gibi diğer serum belirteçlerinden daha duyarlı bir yöntem olduğu, inflamatuvar hücre yoğunluğunu yansıttığı gösterilmiştir [16,18]. Astımlı hastalarda antiinflamatuvar tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde ve mesleksi astımın erken tanısında da FE_{NO} ölçümü kullanılmaktadır [19-21].





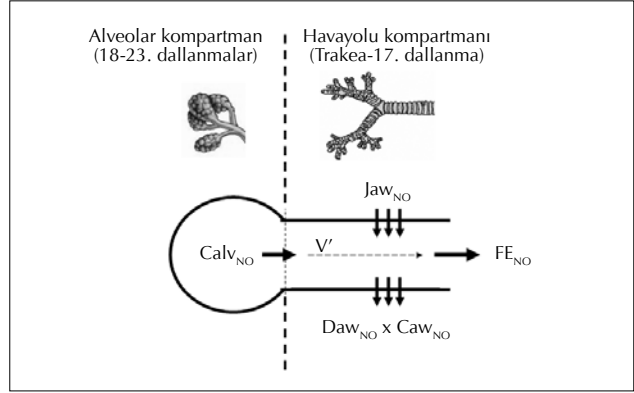
Şekil 1. Havayollarında NO oluşum mekanizması

FE_{NO} KOAH'lı hastaların çoğunda astımlı hastalara göre düşük bulunmuştur. Ancak KOAH'lı hastalarda atak döneminde stabil döneme göre FE_{NO} değerlerinin arttığı gösterilmiştir [22]. FE_{NO} ölçümü kronik öksürüklü hastaların ayırıcı tanısında da kullanılabilir [23]. Yapılan çalışmalarda sarkoidozlu hastalarda normal kontrol grubuna göre FE_{NO} düzeyleri yüksek bulunmuştur [24,25]. Ayrıca, bronşektazili hastalarda, viral alt solunum yolu infeksiyonlarında ve aktif pulmoner tüberkülozda FE_{NO} 'in yükseldiği gösterilmiştir. Akciğer transplantasyonlu hastalarda FE_{NO} takibinin rejeksiyonun erken habercisi olarak kullanılabileceğini belirten araştırmalar mevcuttur [16]. İnflamatuvar barsak hastalığının akciğer tutulumunda da FE_{NO} düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir [26].

Ekshale NO Ölçüm Yöntemleri

Günümüzde NO'in standart ölçüm teknikleri ile ilgili rehber ve öneriler yayınlanmıştır [27]. Ekspirasyon havasındaki NO (eNO) ölçümünde en sık kullanılan analiz yöntemi "kemilüminisans" dır. Bu yöntemle ölçülen NO düzeyi ppb (parts per billion) ile ifade edilir. Elektrokimyasal ölçüm ise NO ölçümünde kullanılan diğer bir yöntemdir [1]. NO ölçüm cihazları ile ekshale edilen NO'in fraksiyonel konsantrasyonu (FE_{NO}) saptanmaktadır. 2005 yılında Amerikan Toraks Derneği ve Avrupa Solunum Derneği uzlaşısı raporu ile ekshale NO ve nazal NO ölçüm yöntemleri standartize edilmiştir [27].

FE_{NO} ölçümü genellikle vital kapasite manevrası ile ekspirasyon akımı ve basıncı sabitlenerek yapılır. Önerilen teknikle, ölçüm yapılacak olguya öncelikle bir ağızlık yoluyla total akciğer kapasitesine kadar "NO-içermeyen hava" inhalasyonu yaptırılmalı, arkasından nefes tutulmadan hemen sabit akım hızında (50 mL/sn) ve basınca karşı (>5 cmH₂O) ölçüm cihazının içine tam ekshalasyonu yaptırılmalıdır [27]. Ortam havasındaki NO, ekshale NO değerlerini etkilediği gösterildiği için manevranın başlangıcında özel hazırlanan "NO-içermeyen hava" içeren tüplerden veya NO'yu absorbe eden özel filtrelerden inspirasyon yapılarak "NO-içermeyen hava" inhalasyonu çok önemlidir [1,28]. Rezistansa karşı (>5 cmH₂O) yapılan ekspirasyonla yumuşak damak kapanarak burun ve sinüslerden gelen yüksek konsantrasyonda NO içeren havanın alt solunum yollarından gelen soluk havası ile karışması önlenmiş olur [28].



Şekil 2. Nitrik oksid oluşumunda "iki kompartman modeli" [1,33,34]

lizörle uluslararası rehberlerce standize edilmiş yöntemlere uygun şekilde FE_{NO} ölçümü yapılabilir [29-31]. Elektrokimyasal yöntemle çalışan taşınabilir FE_{NO} ölçer, kemilüminisans analizörlerle karşılaştırıldığında sonuçların birbiri ile uyumlu olduğu, ölçümlerin tekrar edilebilir olduğu gösterilmiştir [29,32].

NO Oluşumunda "İki-Kompartman Modeli"

Ekspirasyon havasında ölçülen NO sadece hava yollarından değil, daha az miktarda olmakla birlikte alveolar seviyede de üretilmektedir. Ancak akciğerlerde NO'in difüzyon kapasitesi çok yüksektir. Bu nedenle ekshale edilen NO'in en büyük kaynağı hava yollarıdır [33]. Buradan yola çıkarak akciğerlerde birbiri ile ilişkili "iki-kompartman modeli" yaratılmıştır: İlk kompartmanı respiratuar bronşiyoller ve alveoller, ikincisini ise iletili hava yollarından itibaren tek bir tüp gibi değerlendirilen bronşlar oluşturmaktadır [34]. Alveollerdeki hava ekspirasyon sırasında havayollarından geçerken, buradan kaynaklanan NO ile zenginleşmektedir. Pek çok gazın difüzyonunda olduğu gibi, bölgesel NO salınımı da, havayolu duvarı ve lümeni arasındaki NO konsantrasyon farkına bağlıdır (Fick's kuralı). İkinci kompartmanın herhangi bir yerindeki NO konsantrasyonunu belirleyen iki faktör vardır: 1) NO içeren havayı taşıyan akım, 2) havayolu duvarından lümene olan bölgesel NO difüzyonu. Sonuçta ekshale edilen NO seviyesi, tüp uzunluğunca NO'nun longitudinal transferi ve lateral difüzyonunun kümülatif sonucudur. Bu prosesin başlangıç değeri ise alveolar seviyedeki NO konsantrasyonudur [33]. Kompartman modelinin, alveolar inflamasyonla, havayolu inflamasyonunu birbirinden ayırt edebileceği düşünülmektedir [1]. Bu modelde NO değişim dinamikleri akımdan bağımsız 3 değişkenle tanımlanmaktadır: ortalama sabit durum alveolar konsantrasyonu ($Calv_{NO}$), ortalama havayolu difüzyon kapasitesi (Daw_{NO}) ve ortalama maksimum havayolu akışı (Jaw_{NO}) yada ortalama havayolu doku konsantrasyonu (Caw_{NO}) (Şekil 2).

Farklı ekshalasyon akım hızlarında ekshale NO konsantrasyonu (MEF_{NO}) ölçülmesi gibi tekniklerle bu kompartman modeli matematiksel formüllere oturtulmaya çalışılmıştır [34,35]. Kompartman modelinin kullanıldığı ilk araştırmaların sonuçlarında steroid almayan astımlılarda havayolu NO akışı artmış, alveolar NO'in normal olduğu gözlenmiştir [36,37]. Daha sonra yapılan çalışmalarda havayolu NO akışındaki artışa ek olarak noktural semptomu olan astımlılarda alveolar NO konsantrasyonu da yüksek bulunmuş ve bu durum daha perifer inflamasyon ve nötrofilik aktivasyonla ilişkilendirilmiştir [38]. Benzer

araştırmalar sonucunda alveolar NO konsantrasyonu artışı küçük hava yolu inflamasyonunu yansıtan bir parametre olarak yorumlanmıştır [39].

Nitrik Oksid Analizini Etkileyen Faktörler

Hastaya ait faktörler: FE_{NO} düzeyleri yaş ve cinsten bağımsızdır. Ancak bayan astımlılarda menstruel siklusda etkilenebileceği gösterilmiştir [17,27,40]. Ölçümden hemen önce yeşil salata gibi nitrat içeren yiyeceklerin tüketilmesi, kafeinli, alkollü içeceklerin tüketilmesi ve su içilmesi geçici olarak NO ölçümünü etkileyebileceği gösterilmiştir. Bu nedenle ölçümden en az 1 saat önce hastanın herhangi bir şey yememiş ve içmemiş olması ve ölçüm öncesi ağzını çalkalanması önerilmektedir [27]. Sigara içilmesi ve dumanına maruz kalınması FE_{NO} düzeylerini düşürdüğü unutulmamalı, sigara içen olguda FE_{NO} ölçümü yapılacaksa akut etkileri engellemek için ölçümden 1 saat önce sigara içmemiş olmasına dikkat edilmelidir [27]. Üst ve alt solunum yolu infeksiyonlarının FENO düzeyini arttırdığı unutulmalıdır [27].

Ortama ait faktörler: Kemilüminisans analizörler ortam şartlarına oldukça duyarlıdırlar. Isı, nem oranı ve güneş ışığına maruz kalmaları onları etkileyebilir. Ayrıca ortamda bulunan volatil anestetik gazlar, kimyasal reaksiyona girerek ölçümü olumsuz etkileyebilirler. Alkol içeren dezenfektanların kullanımını da NO analizini olumsuz etkileyebileceği belirtilmektedir [27].

KAYNAKLAR

- Puckett JL, George SC. Partitioned exhaled nitric oxide ton non-invasively assess asthma. *Respir Physiol Neurobiol* 2008;163:166-77. [CrossRef]
- Suresh V, Minh JD, George SC. Measurement of IL-13-induced iNOS-derived gas phase nitric oxide in human bronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007;37:97-104. [CrossRef]
- Regington AE. Modulation of nitric oxide pathways: therapeutic potential in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Eur J Pharmacol* 2006;533:263-76. [CrossRef]
- Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-6. [CrossRef]
- Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, et al. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air rabbits, guinea pigs and human. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;181:582-7. [CrossRef]
- Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J* 1993;6:1368-70.
- Kharitonov SA. Exhaled markers of inflammatory lung diseases: ready for routine monitoring? *Swiss Med Wkly* 2004;134:175-92.
- Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, et al. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994;343:133-5. [CrossRef]
- Kharitonov SA, Yates DH, Barnes PJ. Inhaled glucocorticoids decrease nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:454-7. [CrossRef]
- Nelson BV, Sears S, Woods J, et al. Expired nitric oxide as a marker for childhood asthma. *J Pediatr* 1997;130:423-7. [CrossRef]
- Satouchi M, Maeda H, Yu Y, Yokoyama M. Clinical significance of the increased peak levels of exhaled nitric oxide in patients with bronchial asthma. *Internal Medicine* 1996;35:270-5. [CrossRef]
- Barnes PJ, Kharitonov SA. Exhaled nitric oxide: a new lung function test. *Thorax* 1996;51:233-7. [CrossRef]
- Oğuzülgen İK, Türktas H, Levent E, Erbaş D. Akut astma atağındaki hastalarda ekshale nitrik oksid ölçümü. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 1999;47:259-64.
- Massaro AF, Gaston B, Kita D, et al. Expired nitric oxide levels during treatment of acute asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:800-3. [CrossRef]
- Stirling RG, Kharitonov SA, Campbell D, et al. Exhaled NO is elevated in difficult asthma and correlates with symptoms and disease severity despite treatment with oral and inhaled corticosteroids. *Thorax* 1998;53:1030-4. [CrossRef]
- Kharitonov SA. Exhaled nitric oxide and carbon monoxide in asthma. *Eur Respir Rev* 1999;68:212-18.
- Oğuzülgen İK, Türktas H, Erbaş D. Airway Inflammation in Premenstrual Asthma. *J Asthma* 2002;39:517-22. [CrossRef]
- Türktas H, Oğuzülgen K, Kokturk N, et al. Correlation of exhaled nitric oxide levels and airway inflammation markers in stable asthmatic patients. *J Asthma* 2003;40:425-30. [CrossRef]
- Kharitonov SA, Donnelly LE, Montuschi P, et al. Dose-dependent onset and cessation of action of inhaled budesonide on exhaled nitric oxide and symptoms in mild asthma. *Thorax* 2002;57:889-96. [CrossRef]
- Türktas H, Levent E, Oğuzülgen İK, Erbaş D. Effects of inhaled budesonide and nedocromil sodium on exhaled nitric oxide levels in mild asthmatic patients. *Gazi Medical Journal* 1998;9:167-71.
- Lemiere C. Non-invasive assessment of airway inflammation in occupational lung diseases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002;2:109-14. [CrossRef]
- Maziak W, Loukides S, Culpitt S, et al. Exhaled Nitric Oxide in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:998-1002 [CrossRef]
- Chatkin JM, Ansarin K, Silkoff PE, et al. Exhaled Nitric Oxide as a Noninvasive Assessment of Chronic Cough. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:1810-3. [CrossRef]
- Ziora D, Kaluska K, Kozielski J. An increase in exhaled nitric oxide is not associated with activity in pulmonary sarcoidosis. *Eur Respir J* 2004;24:609-14. [CrossRef]
- Moodley YP, Chetty R, Lalloo UG. Nitric oxide in exhaled air and inducible nitric oxide synthase immunolocalisation in pulmonary sarcoidosis. *Eur Respir J* 1999;14:822-7. [CrossRef]
- Ozylmaz E, Yildirim B, Erbaş G, et al. Value of fractional exhaled nitric oxide (FE(NO)) for the diagnosis of pulmonary involvement due to inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009; Aug 24. [Epub ahead of print].
- ATS/ERS Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Offline Measurement of Exhaled Lower Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:912-30. [CrossRef]
- Baraldi E, Azzolin NM, Dario C, et al. Effect of atmospheric nitric oxide (NO) on measurements of exhaled NO in asthmatic children. *Pediatr Pulmonol* 1998;26:30-4. [CrossRef]
- Hemmingsson T, Linnarsson D, Gambert R. Novel hand-held device for exhaled nitric oxide-analysis in research and clinical applications. *J Clin Monit Comput* 2004;18:379-87. [CrossRef]
- Vahlkvist S, Sinding M, Skamstrup K, Bisgaard H. Daily home measurements of exhaled nitric oxide in asthmatic children during natural birch pollen exposure. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:1272-6 [CrossRef]
- Alving K, Janson C, Nordvall L. Performance of a new hand-held device for exhaled nitric oxide measurement in adults and children. *Respiratory Research* 2006;7:67-73. [CrossRef]
- Alving K, Nordvall SL, Janson C, Pedroletti C. Agreement between a stationary device (NIOX) and a new hand-held device (NIOX MINO) for fractional exhaled nitric oxide (FeNO) measurements in adults and children. *Eur Respir J* 2004;24:163.
- Jörres RA. Modelling the production of nitric oxide within the human airways. *Eur Respir J* 2000;16:555-60. [CrossRef]
- Tsoukias NM, George SC. A two-compartment model of pulmonary nitric oxide exchange dynamics. *J Appl Physiol* 1998;85:653-66.
- Silkoff PE, Sylvester JT, Zamel N, Permutt S. Airway nitric oxide diffusion in asthma. Role of pulmonary function and bronchial

- responsiveness. Am J Respir Crit Care Med 2000;161:1218-28. [\[CrossRef\]](#)
36. Lehtimäki L, Turjanmaa V, Kankaanranta H, et al. Increased bronchial nitric oxide production in patients with asthma measured with a novel method of different exhalation flow rates. Ann Med 2000;32:417-23. [\[CrossRef\]](#)
37. Lehtimäki L, Kankaanranta H, Saarelainen S, et al. Extended exhaled NO measurement differentiates between alveolar and bronchial inflammation. Am J Respir Crit Care Med 2001;163:1557-61. [\[CrossRef\]](#)
38. Lehtimäki L, Kankaanranta H, Saarelainen S, et al. Increased alveolar nitric oxide concentration in asthmatic patients with nocturnal symptoms. Eur Respir J 2002;20:841-5. [\[CrossRef\]](#)
39. Lehtimäki L, Kankaanranta H, Saarelainen S, et al. Peripheral inflammation in patients with asthmatic symptoms but normal lung function. J Asthma 2005;42:605-9. [\[CrossRef\]](#)
40. Oğuzülgen İK, Türkteş H, Erbaş D. Stabil Astımda Ekspirasyon Havasındaki Nitrik Oksit Düzeyini Etkileyen Faktörler. Toraks Dergisi 2002;3:232-5.