

Grzegorz Kaczmarczyk, Dariusz Ziara, Jerzy Kozielski

Katedra i Klinika Chorób Płuc i Gruźlicy Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrze
Kierownik: prof. dr hab. med. Jerzy Kozielski

Wpływ bronchofiberoskopii na stężenia tlenu azotu w wydychanym powietrzu

Influence of flexible bronchoscopy on the concentration of exhaled nitric oxide

Praca powstała dzięki finansom z grantu KBN nr 3905B06025

Abstract

Introduction: Exhaled nitric oxide (eNO) is noninvasive parameter useful on estimation of airways inflammation, especially useful in monitoring of asthma inflammation. The aim of the study was estimation of bronchial tree inflammation after flexible bronchoscopy (FB) using eNO concentration.

Material and methods: In 41 patients (aged 29 to 74 yrs) eNO measurements using Sievers 280 Nitric Oxide Analyzer were performed before and 24 hours after FB. In control group (12 healthy persons aged 22 to 65 yrs) eNO measurements were also performed twice at 24 hours interval.

Results: In examined patients the mean eNO concentration before FB (15.0 ± 8.0 ppb) was significantly higher ($p < 0.05$) than in controls (6.9 ± 5.6 ppb). In examined patients we did not observe the significant changes in eNO after FB (15.0 ± 8.0 vs. 17.0 ± 7.9 ppb). The procedure of bronchial washing, bronchial brush or bronchial biopsy did not influence the results in examined patients. In control group the mean eNO results before and after 24 hours were similar (6.9 ± 5.6 ppb vs. 7.1 ± 5.9). The relative eNO changes after 24 hours of observation (decreases and increases), expressed as a per cent of parts per billion (% of ppb), were similar both in examined patients and controls.

Conclusions: BF and associated procedures does not influence on eNO concentration.

Key words: airways inflammation, nitric oxide, flexible bronchoscopy

Pneumonol. Alergol. Pol. 2007; 75: 236–240

Streszczenie

Wstęp: Stężenie tlenu azotu w wydychanym powietrzu (eNO) jest nieinwazyjnym parametrem przydatnym w ocenie stanu zapalnego dróg oddechowych, w szczególności użytecznym do monitorowania astmy. Celem pracy była ocena, czy występuje stan zapalny drzewa oskrzelowego mierzony wydalaniem eNO wywołany wykonaniem bronchofiberoskopii (BF).

Materiał i metody: U 41 chorych (wiek 29–74 lat) stężenie eNO zmierzono aparatem Sievers 280 Nitric Oxide Analyzer przed BF i 24 godziny po niej. W grupie kontrolnej (12 zdrowych osób w wieku 22–65 lat) stężenie eNO również oznaczono 2-krotnie z 24-godzinną przerwą między pomiarami.

Wyniki: W grupie badanej średnie stężenie eNO przed BF ($15,0 \pm 8,0$ ppb) było znamienne większe ($p < 0,05$) niż w grupie kontrolnej ($6,9 \pm 5,6$ ppb). W grupie badanej nie zaobserwowano znamiennej statystycznie zmiany stężenia eNO po BF ($15,0 \pm 8,0$ vs. $17,0 \pm 7,9$ ppb). Procedury przeprowadzone w trakcie BF, takie jak: płukanie oskrzelowe, szczoteczowanie oskrzelowe lub biopsja oskrzela, nie wpłynęły na eNO u badanych chorych. W grupie kontrolnej średnie wartości eNO przed badaniem i po 24 godzinach od badania były podobne ($6,9 \pm 5,6$ ppb vs. $7,1 \pm 5,9$). Odpowiednio zmiany eNO po 24 godzinach obserwacji (spadki i wzrosty), wyrażone jako procent części na miliard (% ppb), także były podobne w obu pomiarach u badanych chorych i w grupie kontrolnej.

Wnioski: Bronchofiberoskopia i związane z nią procedury nie wpływają w istotny sposób na stężenia NO w wydychanym powietrzu.

Słowa kluczowe: zapalenie dróg oddechowych, tlenek azotu, bronchoskopia

Pneumonol. Alergol. Pol. 2007; 75: 236–240

Adres do korespondencji: Grzegorz Kaczmarczyk, Katedra i Klinika Chorób Płuc i Gruźlicy, Śląska Akademia Medyczna w Zabrze, ul. Koziółka 1, 41–803 Zabrze

Praca wpłynęła do Redakcji: 5.03.2007 r.

Copyright © 2007 Via Medica

ISSN 0867–7077

Wstęp

Tlenek azotu jest bezbarwnym, bezwonny gazem pełniącym ważne funkcje biologiczne w ludzkim organizmie. Kontroluje napięcie mięśni gładkich w układzie krążenia, pokarmowym, oddechowym oraz jest neuroprzekaznikiem [1]. Uwalniany przez makrofagi wykazuje właściwości cytotoksyczne lub cytotatyczne na mikroorganizmy i komórki nowotworowe [2]. Hamując aktywność reduktazy rybonukleinowej, zmniejsza replikację wirusów. Tlenek azotu powstaje przy udziale syntazy tlenu azotu z L-argininy. Odkryto 3 izoforny tego enzymu. Dwie z nich, NOS I [neuralna NOS (nNOS, *neuronal nitric oxide synthase*)] i NOS III [endotelialna NOS (eNOS, *endothelial nitric oxide synthase*)] są określane jako izoforny konstytutywne i ich działanie zależy od kalmoduliny i zjonizowanego wapnia. Natomiast enzym NOS II jest izoforną indukowalną (iNOS, *inducible nitric oxide synthetase*) i jego aktywność nie zależy od stężenia wapnia wewnątrzkomórkowego [1, 3–5].

Stężenie tlenu azotu w wydychanym powietrzu (eNO, *exhaled nitric oxide*) zwiększa się pod wpływem cytokin prozapalnych, takich jak czynnik martwicy nowotworów α (TNF α , *tumor necrosis factor α*), interleukina 1β (IL- 1β , *interleukin 1 β*), interferon γ (IFN γ , *interferon γ*) oraz po kontakcie z endotoksynami [6–8]. Zwiększona aktywność NOS II powoduje wzrost eNO. Oznaczanie eNO jest czułym wskaźnikiem stanu zapalnego toczącego się w drzewie oskrzelowym. Oznaczenia eNO wykorzystuje się do oceny aktywności procesu zapalnego w astmie oskrzelowej, alergicznym nieżycie nosa [6, 9, 10]. Próbuje się również zastosować oznaczenia eNO w ocenie aktywności innych chorób układu oddechowego [np. przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POChP), sarkoidozy, rozstrzeni oskrzeli] [11, 12].

Jedną z przyczyn powstawania stanu zapalnego w drzewie oskrzelowym może być zabieg bronchofiberoskopii (BF, *bronchofiberoscopy*). W trakcie tej procedury wykonuje się między innymi płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe (BAL, *bronchoalveolar lavage*), szczoteczkiwanie oskrzeli, biopsję ściany drzewa oskrzelowego lub przezoskrzelową biopsję płuca. Cradle i wsp. [13] do głównych powikłań po BF, niezwiązanych ze znieczuleniem czy premedykacją, zaliczyli uszkodzenie błony śluzowej dróg oddechowych spowodowane pobieraniem materiału bioptycznego. U 1,2% chorych poddanych zabiegowi BF i u 10–30% pacjentów, u których wykonywano BAL, oraz u 15% osób po przezoskrzelowej biopsji może wystąpić gorączka, najprawdopodobniej spowodowana uwalnianiem

prozapalnych cytokin przez makrofagi pęcherzykowe [2, 14, 15]. Zatem prawdopodobieństwo powstania stanu zapalnego jest większe w tych procedurach, w których ingerencja w nabłonek drzewa oskrzelowego jest większa.

Zasadne wydaje się przypuszczenie, że stan zapalny drzewa oskrzelowego wywołany przez BF mógłby wpłynąć na zwiększenie stężenia eNO w wydychanym powietrzu.

Dotychczas, poza jednym własnym doniesieniem wygłoszonym na zjeździe [16] i dwiema oryginalnymi publikacjami [7, 17], autorzy nie znaleźli innych opracowań dotyczących oceny stężenia eNO po BF, co uzasadnia przedstawienie własnych wyników badań i obserwacji przeprowadzonych w większej grupie chorych.

Celem pracy była ocena stężeń NO w powietrzu wydychanym przed badaniem BF i 24 godziny po nim, z uwzględnieniem wpływu wykonywanych podczas tego zabiegu procedur diagnostycznych, takich jak BAL, biopsja szczypczykowa, biopsja igłowa lub wymaz szczoteczkowy.

Materiał i metody

Grupę badaną stanowiło 41 osób (5 kobiet i 36 mężczyzn) w wieku 29–74 lat (śr. wiek 54 ± 11 lat), u których stężenie eNO zmierzono pierwszego dnia w godzinach między 8. a 11. rano przed BF oraz około 24 godziny po BF następnego dnia. Wskazaniem do BF było podejrzenie zmian nowotworowych lub zmian śródmiąższowych. U 20 osób z grupy badanej oprócz radiologicznych lub klinicznych cech sugerujących proces nowotworowy współistniała POChP. W trakcie bronchofiberoskopii wykonano biopsję szczypczykową zmian wewnątrzoskrzelowych u 16 osób, biopsję igłową oskrzeli u 3 badanych, BAL u 2, popłuczyny oskrzelowe u 13, a wymazy szczoteczkowe ściany oskrzeli u 7 osób.

Grupę kontrolną stanowiło 12 zdrowych osób (śr. wiek 44 ± 15 lat), u których nie wykonywano BF, natomiast pomiar eNO odbywał się między 8. a 11. godziną rano pierwszego dnia i 24 godziny później.

Żadna z osób biorących udział w badaniu nie chorowała na astmę oraz nie była leczona glikokortykosteroidami, lekami antyleukotrienowymi, lekami będącymi donorami NO czy L-argininy. W grupie badanej było 13 palaczy tytoniu (31%), a w grupie kontrolnej — 5 (42%).

Pomiary eNO dokonywano aparatem Sievers 280 Nitric Oxide Analyzer (Boulder, Colorado, USA) według metodyki *on-line*, zgodnie z wytycznymi *American Thoracic Society* (ATS) [5]. Do kalibra-

cji aparatu używano Zero Air Filter (Siever, CACT 01400-01) oraz NO Calibration Gas (Siever, CNDK 01400) o stężeniu 45 ppm tlenu azotu. Badani byli proszeni o maksymalne nabranie powietrza, a następnie wykonywali stały wydech przez ustnik stawiający opór (osiągane ciśnienie w jamie ustnej wynosiło 5–20 cm H₂O), utrzymując przepływ wydechowy w zakresie 0,045–0,055 l/s. Wydech trwał do momentu uzyskania ponad 6 s *plateau* stężenia eNO. Za wynik końcowy przyjmowano średnią z 3 poprawnie wykonanych pomiarów, nieróżniących się między sobą o więcej niż 10% i wyrażano go w części na miliard (ppb, *parts per billion*).

Uzyskane dane poddano analizie statystycznej za pomocą programu Statistica. Porównano wartość stężenia eNO między grupą kontrolną a badaną, przed BF i po procedurze. Obliczono także zmiany względne eNO wyrażone w procentach, stosując wzór:

$$\left[\frac{\text{wartość eNO po BF} - \text{wartość eNO przed BF}}{\text{wartość eNO przed BF}} \right] \times 100\%$$

Do porównania zmian eNO wykorzystano testy dla zmiennych powiązanych i niepowiązanych *t*-Studenta. Za znamienne przyjęto wartość $p < 0,05$.

Bronchofiberoskopię wykonywano ze wskazań klinicznych. Każdy chory przed badaniem wyrażał pisemnie świadomą zgodę na badanie oraz na pomiar eNO. Uzyskano zgodę lokalnej Komisji Bioetycznej na udział pacjentów w tym badaniu.

Wyniki

W tabeli 1 podano średnie stężenia eNO przed BF i po badaniu w całej grupie badanej, w poszczególnych podgrupach oraz w grupie kontrolnej.

Średnie stężenie eNO przed BF w grupie badanej ($15,0 \pm 8,0$ ppb) było znamienne wyższe ($p < 0,05$) niż w grupie kontrolnej ($6,9 \pm 5,6$ ppb), ale nie uległo istotnej zmianie po 24 godzinach od zabiegu BF ($17,0 \pm 7,9$ ppb) (ryc. 1).

Zmiany wartości średnich stężeń eNO po BF w podgrupach chorych, u których wykonywano biopsję szczypczykową, biopsję igłową, wymaz szczoteczkowy, BAL lub pobrano tylko popłuczyny oskrzelowe były zbliżone i nie różniły się istotnie statystycznie. W grupie kontrolnej średnia wartość eNO po 24 godzinach od pierwszego pomiaru wzrosła nieznacznie i nie zanotowano zmiany istotnej statystycznie ($6,9 \pm 5,6$ ppb vs. $7,1 \pm 5,9$ ppb).

Średni względny wzrost stężeń eNO w grupie kontrolnej wynosił $9,1 \pm 32,4\%$ i nie różnił się

Tabela 1. Średnie stężenia eNO przed BF i po niej w całej badanej grupie

Table 1. Mean concentration of eNO before and after BF in all examined group

Procedura [ppb] Procedure [ppb]	eNO przed BF [ppb] eNO before BF [ppb]	eNO po BF [ppb] eNO after BF [ppb]
Biopsja szczypczykowa Forceps biopsy	$13,1 \pm 6,8$	$16,4 \pm 7,1$
Biopsja igłowa Needle biopsy	$9,4 \pm 1,7$	$12,6 \pm 9,1$
Wymaz szczoteczkowy Brushing	$16,1 \pm 9,9$	$15,7 \pm 5,2$
BAL	$10,6 \pm 3,8$	$12,8 \pm 0,7$
Popłuczyny oskrzelowe Bronchial lavage	$18,9 \pm 9,9$	$20,1 \pm 9,8$
Grupa kontrolna Control group	$6,9 \pm 5,6$	$7,1 \pm 5,9$

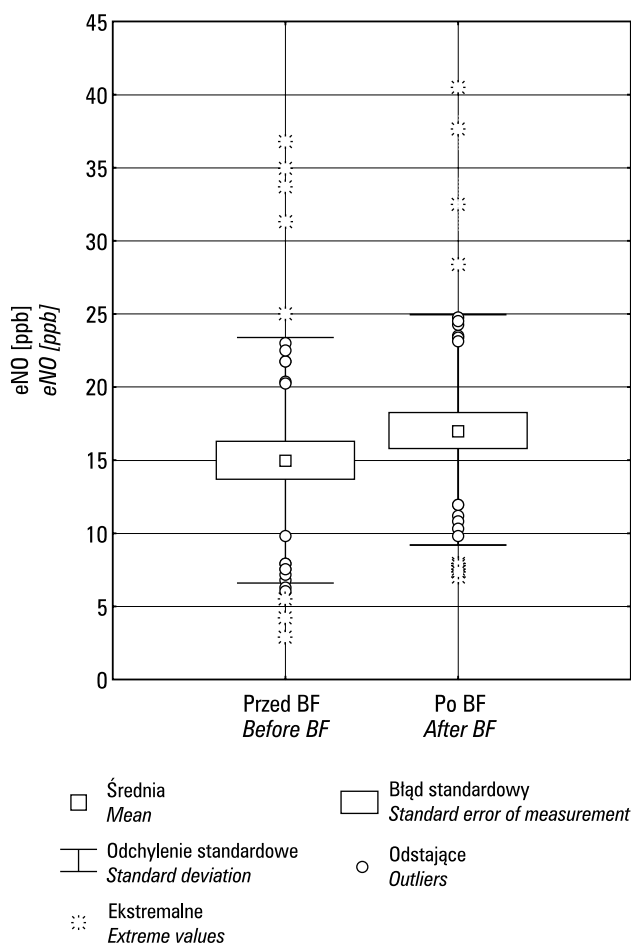
eNO (*exhaled nitric oxide*) — tlenek azotu w wydychanym powietrzu; BF (*bronchofiberoscopy*) — bronchofiberoskopia; ppb (*parts per billion*) — część na miliard; BAL (*bronchoalveolar lavage*) — popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe

istotnie statystycznie od względnego wzrostu eNO obserwowanego w całej grupie badanej ($34,2 \pm 65,6\%$). Względne wzrosty stężeń eNO były zbliżone w podgrupach chorych poddanych w czasie BF biopsji szczypczykowej ($53,5 \pm 75,4\%$), biopsji igłowej ($31,6 \pm 82,3\%$), wymazom szczoteczkowym ($26,5 \pm 88,1\%$), procedurze BAL ($27,8 \pm 27,8\%$) czy pobraniu popłuczyn oskrzelowych ($16,3 \pm 34,7\%$) i nie zaobserwowano istotnych różnic statystycznych (ryc. 2).

Omówienie

Przedstawione wyniki potwierdzają wcześniejsze pilotowe doniesienia autorów niniejszej pracy [16] i wykazują mały wpływ BF i różnych procedur związanych z BF na stężenia eNO w powietrzu wydychanym. Uzyskane wyniki sugerują zatem, że BF i związane z tym badaniem procedury biopsji szczypczykowej, igłowej, wymazów szczoteczkowych są bezpieczne i nie wywołują istotnych zmian zapalnych drzewa oskrzelowego ocenianego nieinwazyjnie po 24 godzinach od zakończenia badania.

W dotychczas opublikowanych pracach także nie potwierdzono istotnego wpływu BF na stężenie NO w powietrzu wydychanym. Hildebrand i wsp. [17] w grupie 17 chorych stwierdziła nawet niższe wartości eNO w 2. godzinie po BF, natomiast w 1. i 3. godzinie po zabiegu wartości eNO były zbliżone do notowanych przed procedurą. Nie zaobserwowano również zmian w stężeniach eNO



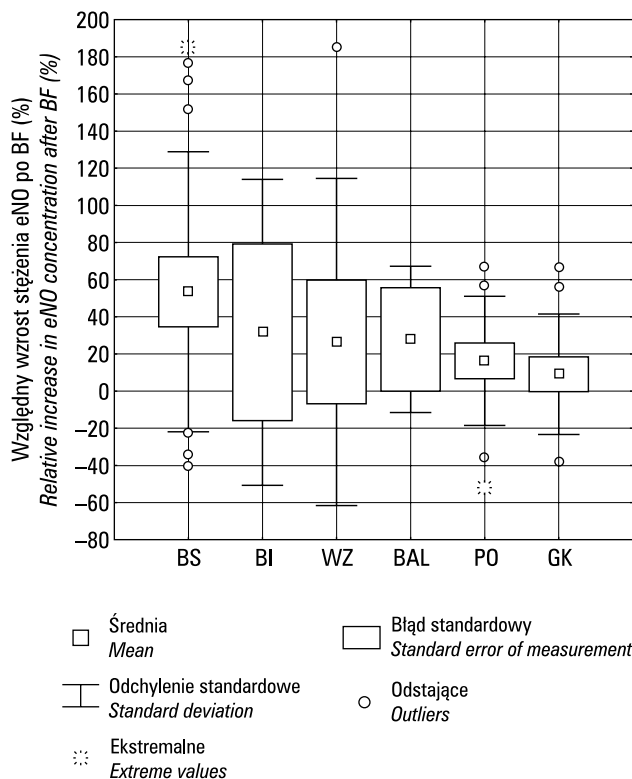
Rycina 1. Stężenie tlenu azotu w wydychanym powietrzu (eNO) w badanej grupie; ppb — część na miliard; BF — bronchofiberoskopia

Figure 1. Concentration of exhaled nitric oxide (eNO) in studied group; ppb — parts per billion; BF — bronchofiberoskopia

w zależności od czynności wykonanych w trakcie BF, takich jak: pobieranie popłuczyn oskrzelowych i BAL [17]. W badaniach przeprowadzonych przez Krenkego i wsp. [7] w grupie 55 osób stwierdzono istotny spadek stężenia eNO po 1., 2. i 3. godzinie po BF. Wyjściowe wartości eNO przed BF różniły się między grupą chorych, u których pobrano popłuczyny oskrzelowe, a grupą, u której wykonano BAL ($16,5 \pm 2,5$ ppb vs. $26,4 \pm 6,4$ ppb). W pierwszych godzinach obserwowano znamienne spadki stężenia eNO w obu tych grupach, natomiast po 24 godzinach notowano powrót do wartości wyjściowych [7].

Nie ustalono, na ile leki stosowane w premedykacji i znieczuleniu mogły wpływać na obniżenie stężenia eNO oznaczanych w 2. godzinie od BF.

W odróżnieniu od badań Hildebrand i wsp. oraz Krenkego i wsp. w niniejszych badaniach uwzględniono także grupę kontrolną. Niższe stężenia eNO



Rycina 2. Względny wzrost stężenia tlenu azotu w wydychanym powietrzu (eNO) w podgrupach; BF — bronchofiberoskopia; BS — biopsja szczypkowa; BI — biopsja igłowa; WZ — wymaz szczoteczkowy; BAL — popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe; PO — popłuczyny oskrzelowe; GK — grupa kontrolna

Figure 2. The relative increase of exhaled nitric oxide (eNO) concentration in subgroups; BF — bronchofiberoskopia; BS — forceps biopsy; BI — needle biopsy; WZ — brushing; BAL — bronchoalveolar lavage; PO — bronchial lavage; GK — control group

w grupie kontrolnej przed BF w porównaniu z grupą badaną można tłumaczyć występowaniem stanu zapalnego drzewa oskrzelowego u chorych kwalifikowanych do BF. Sądzymy, że warto byłoby ocenić zmienność dobową stężeń eNO w grupie osób zakwalifikowanych do BF (kontrola własna), czego jednak nie uczyniono, podobnie jak w pracy Krenke i wsp. oraz Hildebrand i wsp. [7, 17].

Wnioski

Bronchofiberoskopia i związane z nią procedury nie wpływają w istotny sposób na stężenia NO w powietrzu wydychanym, co sugeruje, że nie wywołują istotnego stanu zapalnego drzewa oskrzelowego.

Piśmiennictwo

1. Beckman J.S., Koppenol W.H. Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite: the good, the bad and the ugly. *Am. J. Physiol.* 1996; 271: C1434–C1437.

2. Moncada S., Palmer R., Higgs E. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 1991; 43: 143–201.
3. Gaston B., Drazen J.M., Loscalzo J., Stamler J.S. The biology of nitrogen oxides in the airways. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994; 149: 538–551.
4. Gillissen A., Loseke S., Hippeli S., Jewase M. Inducible nitric oxide synthase and its producy in human lung. *Curr. Pneumonol.* 1997; 1: 7–20.
5. Recommendation for standarized procedures for the online and offline measurement of exhaled nitric oxide in adults and children — 1999. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999; 160: 2104–2117.
6. Bates C.A., Silkoff P.E. Exhaled nitric oxide in asthma: from bench to bedside. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003; 111: 256–262.
7. Krenke R., Przybyłowski T., Hildebrand K. i wsp. The effect of fibroptic bronchoscopy on exhaled nitric oxide. *J. Physiol. Pharmacol.* 2006; 57 (supl. 4): 183–190.
8. Ricciardolo F.L.M. Multiple roles of nitric oxide airways. *Thorax* 2003; 58: 175–182.
9. Barnes P.J., Liew F.Y. Nitric oxide and asthma inflammation. *Immunol. Today* 1995; 16 (3): 128–130.
10. Henriksen A.H., Sue-Chu M., Lingaas Holmen T., Langhammer A., Bjermer L. Exhaled and nasal NO levels in allergic rhinitis: relation to sensitization, pollen season and bronchial hyperresponsiveness. *Eur. Respir. J.* 1999; 13: 301–306.
11. Kałuska K., Ziora D. Tlenek azotu w powietrzu wydechowym (eNO) w różnych chorobach układu oddechowego. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2002; 70: 9–10, 509–517.
12. Kharitonov S.A., Barnes P.J. Exhaled markers of pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 163: 1693–1722.
13. Cradle W.F.J., Smiddy J.F., Elliott R.C. Complication of fiberoptic bronchoscopy. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1974; 109: 67–72.
14. De Fijter J., van der Hoeven J.G., Eggelmeijer F., Meindersi A.E. Sepsis syndrome and death after bronchoalveolar lavage. *Chest* 1993; 104: 1296–1297.
15. Krause A., Hohberg B., Heine F., John M., Burmester G.R., Witt C. Cytokines derived from alveolar macrophages induce fever after bronchoscopy and bronchoalveolar lavage. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 155: 1793–1797.
16. Kaczmarczyk G., Kozielski J., Ziora D. Influence of bronchofiberoscopy on inflammation in bronchi determined by the concentration of exhaled nitric oxide. *Respirace* 2005; R. 11 (supl. 2): 14th Moravskoslezske Dny Pneumologie, Olomouc [Czech Republic] 14–15.10.2005, abstr. p. 26–27 [A5/1].
17. Hildebrand K., Krenke R., Przybyłowski T., Fangrat A., Górska K., Chazan R. Wpływ bronchoskopii na stężenie tlenu azotu w powietrzu wydechowym (FENO). *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2006; 74: 21–25.