

УДК: 612.017.3:616-056-036.22

АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ГАЗОАНАЛИЗАТОРОВ NO ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА В СОВРЕМЕННОЙ ПРАКТИКЕ ВРАЧА АЛЛЕРГОЛОГА-ИММУНОЛОГА

© 2014 И.Ю. Меркулова¹, А.В. Жестков¹, Р.С. Рольдин²¹ Самарский государственный медицинский университет² Самарский государственный аэрокосмический университет

Поступила в редакцию 08.12.2014

Доказано, что уровень оксида азота в выдыхаемом воздухе у пациентов с бронхиальной астмой значительно превышает таковой у здоровых людей, а также у пациентов с другими заболеваниями респираторного тракта. Повышенная концентрация оксида азота в выдыхаемом воздухе может быть следствием эозинофильной активации нижних дыхательных путей на фоне хронического воспаления. Определение содержания оксида азота в выдыхаемом воздухе считают наиболее ранним и достоверным маркером воспаления дыхательных путей, что открывает возможность использования его для подбора и мониторинга базисной терапии, а также оценки комплаенса, особенно в педиатрической практике. В большинстве случаев выдыхаемый оксид азота измеряется газоанализаторами на основе метода хемилюминесценции.

Ключевые слова: *газоанализатор, оксид азота, бронхиальная астма*

Оксид азота – летучий газ, соединение азота с кислородом, обнаруживаемое в воздухе в концентрации от 1×10^{-9} . История окиси азота NO начинается с открытия данной молекулы в 1987 г., являющейся важным медиатором в биологических системах многих видов, включая человека. В 1991 г. оксид азота был обнаружен в выдыхаемом воздухе у животных и здоровых людей. В 1993 г. журнал «Science» назвал NO «молекулой года». В 1996 г. впервые были опубликованы Рекомендации по измерению уровня оксида азота выдыхаемого (NO_{exh}) и назального (NO_{nas}) у взрослых и детей, которые впоследствии неоднократно переиздавались. NO выполняет определенную функцию в физиологических и патофизиологических реакциях, имеет протективное значение для слизистых оболочек верхних дыхательных путей, а в нижних отделах респираторного тракта может обеспечивать ответный механизм неспецифической защиты респираторного тракта. Повышенная концентрация NO в выдыхаемом воздухе является следствием активации эозинофилов в слизистой оболочке нижних дыхательных путей на фоне хронического аллергического воспаления, обуславливающего развитие бронхоспазма вследствие

повышения чувствительности эпителия бронхов к аллергенам и неспецифическим раздражителям [2]. При воспалении дыхательных путей увеличивается количество активированных эозинофилов, тучных клеток и Т-лимфоцитов в тканях дыхательных путей, в результате чего развиваются повреждение эпителия, его отек, повышенная секреция слизи и спазм гладкой мускулатуры, ремоделирование слизистой оболочки бронхов, что ведет к клиническим проявлениям бронхиальной астмы (БА). Известно, что в формировании различных фаз иммунного ответа участвуют разные типы клеток. Так, в раннюю фазу воспаления увеличивается количество нейтрофилов в дыхательных путях, в позднюю – Т-лимфоцитов и эозинофилов, что сопровождается увеличением уровня NO в выдыхаемом воздухе. Доказано, что качество жизни пациентов с БА значительно снижается по мере увеличения уровня NO в выдыхаемом воздухе [1].

Считают, что NO также поддерживает бронхоконстрикцию при бронхоспазме, провоцируемом физической нагрузкой. Физическая нагрузка влияет на уровень NO комплексно: с увеличением нагрузки прогрессирующе снижается уровень NO, однако с учетом поправки на гипервентиляцию наоборот происходит рост синтеза NO [6]. В легких NO образуется в клетках эндотелия артерий и вен, нейронах неадренергической, нехолинергической ингибирующей нервной системы, эпителиоцитах, макрофагах, нейтрофилах. Эндогенный NO образуется из

Меркулова Ирина Юрьевна, аспирантка. E-mail: irina2276@yandex.ru

Жестков Александр Викторович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии. E-mail: zhestkovav@yandex.ru

Рольдин Роман Сергеевич, ассистент. E-mail: greencity63@yandex.ru

аминокислоты аргинина при помощи NO-синтетазы, которая существует в трех изоформах. Две конститутивные изоформы синтетазы находятся в эндотелиальных клетках и в нейронах, они активируются при увеличении концентрации внутриклеточного кальция (обычно в ответ на физиологические стимулы). Третья изоформа является индуцибельной, она начинает синтезироваться в некоторых типах клеток в ответ на присутствие провоспалительных цитокинов и эндотоксина, причем эта индукция блокируется кортикостероидами. Все три изоформы были обнаружены в респираторном тракте человека [3].

В организме продуцируемый NO претерпевает целый каскад превращений, приводящий к образованию стабильных соединений, таких как нитраты, нитриты, S-нитрозотиолы, нитротирозины. Наибольшим процентом выхода из указанных продуктов обладают нитрат- и нитрит-анионы. Изменение концентрации этих стабильных метаболитов NO в респираторном тракте может быть оценено в конденсате выдыхаемого воздуха. Наиболее информативным для оценки воспалительных изменений в респираторном тракте признано определение маркеров оксидативного стресса [4]. Авторы указывают, что уровень выдыхаемого NO оксида азота может повышаться задолго до появления симптомов БА, свидетельствуя о субклиническом течении аллергического воспаления дыхательных путей. Кроме того, у той части взрослых, которые в детстве имели симптомы БА, повышенный уровень NO в выдыхаемом воздухе в период клинической ремиссии является фактором риска возобновления этого заболевания в другие периоды жизни [5].

Согласно приказу Минздрава РФ от 15 ноября 2012 г. N 916н «Порядок оказания медицинской помощи населению по профилю «пульмонология» в стандартном оснащении пульмонологического отделения (Приложение 9) предусмотрено наличие прибора для определения выдыхаемого NO. Среди диагностических тестов в настоящее время большое внимание уделяется необременительным для пациентов, неинвазивным методикам. Классическим «золотым» стандартом измерения NO в выдыхаемом воздухе является так называемый хемилюминесцентный метод в режиме «online», но такие анализаторы очень сложны, громоздки и дороги, что делает их доступным только в крупных научно-исследовательских центрах. Другие известные способы являются длительными по времени выполнения, трудоемкими и требуют использования дорогих расходных материалов, сложного и дорогостоящего лабораторного оборудования,

что затруднительно для выполнения ряда последовательных исследований.

Задачей разработки полезной модели является создание нового способа, позволяющего с высокой точностью и быстро определить содержание NO в выдыхаемом воздухе, ускорить процесс постановки диагноза, при этом позволить производить отсроченные измерения. Разработка прибора производится с применением отечественной элементной базы и оборудования.

Методика исследования, прогнозируемые результаты. Современные газовые анализаторы способны определять концентрацию NO менее 1 ppb, что достаточно для исследований выдыхаемого воздуха. В норме самая высокая концентрация NO обнаруживается в верхних отделах респираторного тракта (до 1000 ppb в носоглотке и околоносовых пазухах), наименьшая (около 7 ppb) - в нижних отделах дыхательных путей. В среднем уровень NO в выдыхаемом воздухе у здоровых лиц колеблется от 10 до 20 ppb при соблюдении стандартов измерений, рекомендованных американским торакальным обществом (ATS) [2].

Ближайшим аналогом NO-sense является способ определения состояния дыхательных путей, заключающийся в том, что обследуемый выдыхает воздух в специальное устройство, а затем определенную его порцию анализируют с помощью хемилюминесценции и по завышенному количественному содержанию NO в анализируемой пробе по сравнению с контролем устанавливают наличие воспалительных заболеваний или риск их возникновения (РСТ 95/02181, 19.01.95, G 01 N 33/00). Способ является информативным, точным, но сложным и связан с использованием дорогостоящего оборудования, не обеспечивает возможность отсроченного анализа и проведение исследований в малых клиниках скорой помощи и в полевых условиях.

Отечественной промышленностью производятся электрохимические газовые датчики, предназначенные для работы в составе портативных газоанализаторов NO, в том числе и биологического применения. Электрохимическая ячейка представляет собой трехэлектродную систему, помещенную в камеру с электролитом ЭК (рис. 1). Для обеспечения считывания показаний датчика к его электродам подключается электронное устройство – потенциостат П (рис 2). Со стороны анализируемой среды перед полупроницаемой мембраной М измерительного электрода И находится диафрагма Д, ограничивающая поток анализируемого газа к И. Диафрагма Д и полупроницаемая мембрана М конструктивно оформляют газовую камеру ГК. В некоторых типах электрохимических ячеек ГК

заполнена фильтрующим веществом, удаляющим из анализируемого газа компоненты, искажающие измеренный результат.

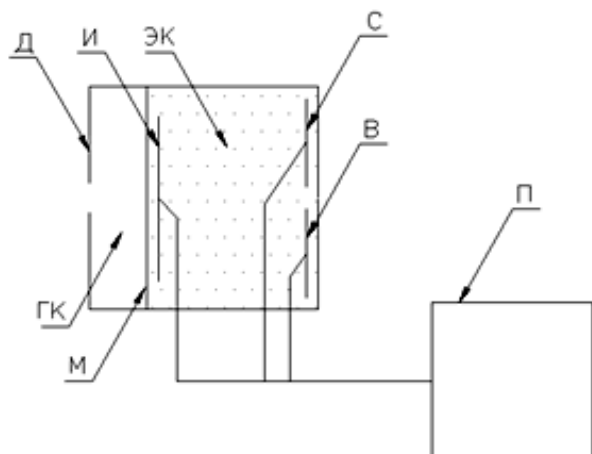


Рис. 1. Структурная схема электрохимического датчика

Анализируемый газ диффундирует через Д к катализатору измерительного электрода И, на котором претерпевает электрохимические

превращения. Генерируемый ток при этом пропорционален концентрации анализируемого газа. Электролит, потенциал измерительного электрода, катализатор измерительного электрода и материал фильтрующего вещества выбираются исходя из условий оптимального анализа.

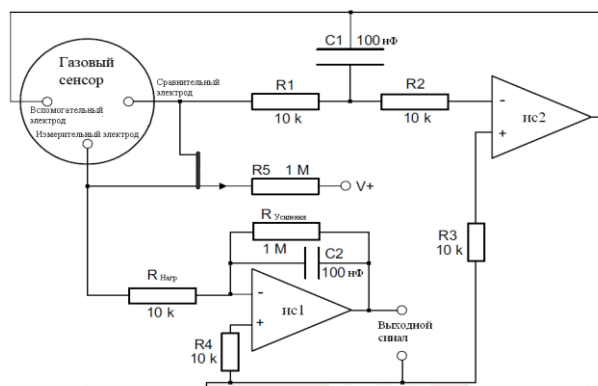


Рис. 2. Упрощенная принципиальная электрическая схема потенциостата

Таблица 1. Основные технические характеристики электрохимического датчика

Параметр	Значение
чувствительность	70 нА/ppb
диапазон измеряемых концентраций	0 – 1500 ppb
нелинейность выходного сигнала	<15%
время выхода на показания (t ₀₉)	<40 с
величина фонового сигнала	0 – 5 ppb
рабочий диапазон температур	+10 – +50 ⁰ С
изменение фонового сигнала(+20 – +40 ⁰ С)	<15 ppb
диапазон рабочих давлений от норм.	±10%
изменение выходного сигнала за 1 мес.	<2%
гарантийный срок службы	1 год
срок службы	не менее 3 лет

Таблица перекрестной чувствительности						
газ, 100 ppm	CO	SO ₂	NO	NO ₂	H ₂ S	H ₂
сигнал, ppm	0	<5	100	от -1 до +1	<10	0

Проектируемый портативный анализатор NO в выдыхаемом воздухе No-sense предназначен для высоко специфичных и воспроизводимых измерений эндогенного монооксида азота в выдыхаемом воздухе (FeNO), проведения скрининговых исследований по раннему выявлению больных БА и мониторинга эффективности применяемых схем лечения (регулирование назначаемых доз лекарственных препаратов и длительности проведения терапии, как амбулаторных, так и госпитализированных больных БА). Основываясь на природной способности железа

гема миоглобина и гемоглобина образовывать комплекс с молекулами NO, предложен ряд электрохимических датчиков с органическим электролитом для определения этой молекулы. Особенность таких электрохимических сенсоров – использование наноструктурированных электродов. Технический результат заключается в повышении чувствительности сенсоров и достоверности получаемых результатов. Рынок продукта – от крупных ЛПУ до индивидуального использования. Потребители – пациенты с соответствующей нозологией, профильные

специалисты, ГКБ и ЦРБ, СМП. Разница в цене – в 5 раз ниже зарубежного аналога. Отечественная производственная и элементная база. Разработка под контролем ведущих специалистов.

Выводы: в связи с ключевым значением оксидантов в патогенезе БА, исследование механизмов антиоксидантной защиты легких являются первостепенными по важности. В настоящее время измерение уровня NO в выдыхаемом воздухе считается одним из простых, надежных и неинвазивных способов контроля за течением воспаления дыхательных путей. Уровень NO в выдыхаемом воздухе позволяет не только верифицировать диагноз, но и высоко коррелирует со степенью воспалительных изменений, что дает возможность как дифференцировать характер поражений, так и контролировать эффект проводимой терапии, прогнозировать и предупреждать развитие обострений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Вознесенский, Н.А. Выдыхаемый оксид азота – биомаркер бронхиальной астмы: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2000. 24 с.
2. American Thoracic Society. Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in Adults and Children 1999 // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1999. V. 160. P. 2104-2117.
3. Leynaert, B. Association between asthma and rhinitis according to atopic sensitization in a population-based study / B. Leynaert, C. Neukirch, J. Bousquet et al. // J. Allergy Clin. Immunol. 2004. Jan. V. 113(1). P. 86-93.
4. Cardinale, F. Exhaled nitric oxide, total serum IgE and allergic sensitization in childhood asthma and allergic rhinitis / F. Cardinale, F.M. de Benedictis, V. Muggeo et al. // Pediatr Allergy Immunol. 2005. May. V. 16(3). P. 236-242.
5. Graftziou, Ch. Influence of atopy on exhaled NO in patients with stable asthma and rhinitis / Ch. Graftziou, M. Lignos, M. Dassiou et al. // Eur. Respir. J. 1999. V. 14. P. 897-901.
6. Маринич, В.В. Методы оценки и повышения работоспособности у спортсменов / В.В. Маринич, Ю.Л. Мизерницкий, В.В. Шантарович, Е.Г. Калаур // Мат-лы всеросс. науч.-практ. конф. с межд. участием. – СПб., 2005. С. 26-31.

ASPECTS OF APPLICATION THE NO EXHALED AIR GAS ANALYZERS IN MODERN PRACTICE OF ALLERGIST-IMMUNOLOGIST

© 2014 I.Yu. Merkulova¹, A.V. Zhestkov¹, R.S. Roldin²

¹ Samara State Medical University

² Samara State Aerospace University

It is proved that nitrogen oxide level in exhaled air at patients with bronchial asthma considerably exceeds that at healthy people, and also at patients with other respiratory diseases. The increased concentration of nitrogen oxide in exhaled air can be a consequence of eosinophil activation of the lower respiratory ways against a chronic inflammation. Definition of nitrogen oxide content in exhaled air consider as the earliest and reliable marker of respiratory inflammation, that opens possibility of use it for selection and monitoring of basic therapy, and also assessment of compliance, especially in pediatric practice. In most cases the exhaled nitrogen oxide is measured by gas analyzers on the basis of a chemiluminescence method.

Key words: *gas analyzer, nitrogen oxide, bronchial asthma*

Irina Merkulova, Post-graduate Student. E-mail: irina2276@yandex.ru

Alexander Zhestkov, Doctor of Medicine, Professor, Head of the Common and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology. E-mail: zhestkovav@yandex.ru

Roman Roldin, Assistant. E-mail: greencity63@yandex.ru