

Akciğer Hastalıklarında Ekspire Edilen Havadaki Nitrik Oksit Ölçümü

THE MEASUREMENT OF EXHALED NO IN PULMONARY DISEASES

Ahmet Selim YURDAKUL*

* Uz.Dr., Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ANKARA

Özet

Akciğer fonksiyonların regülasyonunda önemli bir rol oynayan endojen nitrik oksit(NO)'in ekspire edilen havada ölçülebilmesi önemli bir gelişmedir. Havayolu inflamasyonunun indirekt göstergesi olarak ekspire edilen havadaki NO düzeyi ölçümünün önemli avantajları, noninvaziv, kolay ve tekrarlanabilir bir yöntem olmasıdır. Ancak ekspire edilen havadaki NO ölçümünü etkileyen birçok faktör vardır. Bu derlemede, ekspire edilen havadaki NO düzeyi ölçümünün akciğer hastalıklarındaki yeri ve bu ölçüm yöntemini etkileyen faktörlere değinilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Nitrik oksit, Solunum sistemi, Yöntem

T Klin Tıp Bilimleri 2002, 22:438-441

Summary

The measurement of exhaled NO which plays important role in the regulation of lung functions is a very important development. The measurement of exhaled NO level as an indirect marker of airway inflammation has a great advantage as it is a non-invasive, easy and repeatable method. But there are a lot of factors which effects the measurement of exhaled NO. This review deals with the place of measurement of exhaled NO level in the pulmonary diseases and the factors which effect this method.

Key Words: Nitric oxide, Respiratory system, Method

T Klin J Med Sci 2002, 22:438-441

Organizmada birçok fizyolojik ve fizyopatolojik olayların regülasyonunda önemli roller üstlenen nitrik oksit (NO)'in, 1987 yılında yapılan çalışmalarda endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) ile aynı madde olduğunun anlaşılmasından sonra, bu konu birçok bilim adamının dikkatini çekmiştir (1,2). Moleküler yapısının küçük olması, lipofilik özellikte olması ve etkisinin kısa süreli olması nedeniyle NO ideal bir intrasellüler ve transsellüler messenger moleküldür (3).

Üst hava yollarında NO'in majör üretim yerinin paranasal sinüsler olduğu (4), akciğerlerde de makrofajlar, nötrofiller, mast hücreleri, nonadrenerjik nonkolinerjik inhibitör nöronlar, fibroblastlar, düz kas hücreleri, endotel ve epitel hücreleri gibi hücreler tarafından sentezlendiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (5).

Nitrik oksit *in vivo* koşullarda nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi aracılığı ile sentez edilir. Değişik izoformları olan NOS enzimi, yarı esansiyel bir aminoasit olan L-arginin'i, L-citrullin'e katalize ederken NO sentez edilir. NOS izoenziminin iki temel izoformu vardır. Bunlardan birincisi hücrelerde yapısal olarak bulunan cNOS (constitutive/yapısal NOS)(TipI: nöronal NOS, Tip III: endotelial NOS), ikincisi bazı uyarılardan sonra yapıp aktivasyon kazanan iNOS inducible/indüklenebilir

(NOS) (Tip II NOS)'dur. Oluşan NO, stabil bir molekül olmadığı için kısa sürede daha stabil ancak inaktif yapıdaki nitrit ve nitratlara dönüşür. Nitrit ve nitratlar sıvı fazda olup bronkoalveolar lavaj ya da serumda NO yapımının göstergesi olarak kullanılabilir. Ayrıca ortamda süperoksit varlığında NO hızla peroksinitrit'e dönüşür. NO, bronş ve damar düz kas tonusunun regülasyonu, konakçı savunması, trombosit agregasyonunun inhibisyonu, silia hareketleri, doku harabiyeti, sitotoksik etki ve nörotransmisyon gibi değişik fizyolojik ve fizyopatolojik olaylarda yer almasıyla birlikte inflamasyonda da önemli rol oynar (6,7).

İlk kez Gustafsson ve arkadaşları, insanlarda ve hayvanlarda ekspire edilen havada NO'in ölçülebileceğini göstermişlerdir (8). Yapılan çalışmalarda ekspire edilen havada NO'in astım (9-11), bronşektazi (12) ve solunum yolları enfeksiyonları (13) gibi durumlarda arttığı tesbit edilmiştir. Bunun üzerine noninvaziv bir test olarak ekspire edilen havada NO ölçümünün solunum yollarının inflamatuvar hastalıklarının teşhisinde ve tedavinin takibinde kullanılabileceği görülmüştür.

Ancak kullanılan yöntem ve teknik faktörler nedeniyle çalışmalarda NO ölçümlerini değerlendirmek gerçekten zordur. Ekspire edilen havadaki NO ölçümü, ozon ve NO arasındaki fotokimyasal reaksiyona bağlı

olarak kemoluminisans aletlerde ölçülmektedir (14). Bu cihazlar çok düşük değerlerdeki (≤ 1 ppb) NO değerlerini de ölçebilecek düzeyde güvenilir olmalı ve ölçümlerden önce mutlaka kalibrasyonları yapılmalıdır. NO, direkt olarak bir ağızlık yoluyla kemoluminisans cihaz içine veya uygun toplama kaplarında biriktirilen havadan ölçülebilmektedir. Değişik derecelerde NO kayıpları olabileceği için ikinci yöntem tercih edilmemektedir (15). Ekspire edilen havada (oral NO) NO ölçümü yapılırken, nazal NO kontaminasyonunu önlemek için, nazal kavite ile solunum sisteminin geri kalan kısmını ayırmak gerekir. Bunun için yumuşak damağın; istemli olarak, balon oklüzyon yöntemi ile veya düşük bir dirence (5-20 cmH₂O) karşı üfleme gibi yöntemlerle kapatılması önerilmiştir. Ayrıca bu ölçümlerde kişilerin yaklaşık 5-30 saniye içinde total akciğer kapasitesinden yavaş bir şekilde, 5-15 L.dk⁻¹ akış hızı ile ekspire edilmesinin sağlanmasının ideal olduğu belirtilmektedir (16).

NO ölçümü yapılırken her zaman dış ortamdaki NO düzeyi ölçülmelidir. NO ölçümlerinde en ideali, ölçümlerden önce NO içermeyen hava inhale etmektir. Ancak dış ortamdaki NO'nun, yumuşak damak kapalı olması koşulu ile, hemen hemen tamamıyla akciğerler tarafından absorbe edildiği veya ölü boşluk havası ile dışarı atılacağı için, ekspire edilen havadaki NO ölçümüne etkisi ihmal edilebilecek düzeyde olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (9,14,17). Bununla birlikte dış ortamdaki NO düzeyi 40 ppb'den yüksek ise ölçümlerden önce NO içermeyen hava inhale edilmesi önerilmektedir. Ayrıca dış ortamdaki yüksek NO'in nazal kavite tarafından absorbe edilemeyeceği için nazal NO ölçümlerini etkileyebileceği belirtilmektedir (16,17).

Ekspire edilen havanın ilk bölümündeki NO düzeyi yüksektir. Çünkü ölü boşluğu yansıtan bu ilk bölüm; dış ortam, nazal ve orofarengal bölümdeki NO ile kontamine olmuş havayı gösterir. Bu nedenle yapılan değerlendirmelerde bu ölçümler kullanılmamalıdır. Ekspire edilen havanın son bölümündeki NO düzeyi ise plato düzeyindeki NO'ı gösterir ve aşağı havayollarının NO düzeyini gösterdiğinden bu ölçümlerin kullanılması değerlendirmelerde daha doğru sonuç verecektir. Bu nedenle ekspirasyonun hangi bölümünde olduğumuzu göstermede yararlı olacağından, ekspire edilen havadaki NO ölçümlerinde CO₂'nin eş zamanlı ölçümü önerilmektedir (16).

Yapılan çalışmalarda (10,11,18) ekspire edilen havadaki NO düzeyleri ile insanların cinsiyet, boy ve ağırlıkları arasında bir ilişki olmadığı gösterilmiştir. Yetişkinlerde NO düzeyi ile yaş arasında bir korelasyon olmadığı görülmesine rağmen, çocuklarda bu konuda yeterli bir veri olmadığı için yaş açısından kesin bir yorum yapmak zordur. Persson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (19) egzersiz ve hiperventilasyonun NO

düzeyini arttırdığı gösterilmesine rağmen egzersizin solunum yollarında NO salınımı mekanizmasındaki rolünün daha iyi anlaşılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca ölçümler sırasında nefes tutmanın süresi ile ekspire edilen havadaki NO arasında belirgin bir korelasyon olduğu görülmüştür (19).

Ekspire edilen havada NO ölçümü yaparken dikkat edilmesi gereken bir diğer nokta ise; kişilerin sigara ve alkol alışkanlıklarıdır. Çünkü sigara içiminin NOS enzimi üzerindeki negatif yönde etkisine bağlı olarak NO düzeyini azalttığı (20,21), etanolun ise İNOS üzerindeki inhibitör etkisi nedeni ile alkol alınımının ekspire edilen havadaki NO düzeyini azalttığı gösterilmiştir (22). Ayrıca oral ya da intravenöz olarak verilen L-arginin'in ekspire edilen havadaki NO düzeyini arttırdığı, ancak normal diet içindeki L-arginin'in NO düzeyini etkilemediği düşünülmektedir (16). Bununla birlikte kadınların menstrüel dönemlerine bağlı olarak NO düzeylerinde de değişiklik olabilmektedir. Ekspire edilen havadaki NO düzeylerinin luteal fazda azaldığı, folliküler fazda ise arttığı görülmüştür (23). Bu nedenle ekspire edilen havadaki NO düzeyi ölçümleri noninvazif bir yöntem olmasına karşın bu önemli noktalar gözönünde tutularak yapılmalıdır.

Birçok önemli akciğer hastalığında ekspire edilen havadaki NO düzeyinin ölçümü hem teşhis hem de tedavinin değerlendirilmesinde katkı sağlamaktadır. NO'nun bronkodilatasyon, bronş hiperreaktivitesi ve hava yolu inflamasyonundaki rolleri nedeni ile astma patogenezinde önemli bir yer aldığı gösterilmiştir (24,25). Bronşiyal astmalı hastalarda ekspirasyon havasındaki NO'nun yüksek düzeyde bulunması ve steroid tedavisi ile normal düzeylere düşmesi; astmalı hastalarda çeşitli uyarılar sonucu solunum yollarında İNOS sentezinin olması ve steroid tedavisi ile İNOS'un inhibe edilmesi sonucu normal düzeylere düşmesi ile açıklanmaktadır (9-11). Bu durum da bize astmadaki inflamasyonun, noninvazif bir yöntem olan ekspire edilen havadaki NO düzeyini ölçerek takip edebileceğimizi göstermektedir. Kharitonov ve arkadaşları (12) yapmış oldukları çalışmada bronşektazili hastalarda ekspire edilen havadaki NO düzeyinin artmış olduğunu, hastalığın yaygınlığı ile korelasyon bulunduğunu göstermişlerdir. Ayrıca kistik fibrozisli hastalarda oral NO düzeylerinin ataklar haricinde normal düzeylerde olmasına rağmen, nazal NO düzeyinin daha düşük olduğu görülmüştür (26). Nazal NO'nun düşük olduğu diğer bir durum ise, Kartagener sendromudur (27). Yapılan çalışmalarda allerjik rinitte ise nazal NO düzeyleri yüksek bulunmuş ve nazal steroid tedavisi sonrasında normal düzeylere düştüğü görülmüştür (11,28). Ayrıca solunum yolları enfeksiyonlarında İNOS sentezinin artması sonucu ekspire edilen havadaki NO düzeyi yüksek olduğu (13,29), pulmoner hipertansiyonda ise endotelial NOS

sentezinin azalması sonucu, NO düzeyinin azaldığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (30).

Bununla birlikte NO sentezinde rol oynayan NOS enzimleri, yapısal olarak L-arginin'e benzer yalancı substratlar (L-arginin analogları) ile kompetitif olarak inhibe olurlar. N-mono metil-L-arginin (L-NMMA), N-nitro-L-arginin metil ester (L-NAME) ve N-nitro-L-arginin (L-NOARG) üç değişik NOS inhibitörüdür. L-arginin analogları her iki tip NOS enzimini inhibe ederken, aminoguanidin'in İNOS enzimine etkisi daha selektiftir (31). Yapılan çalışmalarda (9-11) glukokortikoidlerin ekspire edilen havadaki NO düzeyini azalttığı görülmüştür. Glukokortikoidlerin bu etkilerini direkt olarak transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör kappa B (NF- κ B) blokajı yoluyla İNOS'un inhibe edilmesine ve indirekt olarak da hava yollarındaki epitelyal hücrelerde İNOS salınımına yol açan inflamatuvar sitokinlerin sentezinde azalmaya neden olarak gerçekleştirdikleri gösterilmiştir (32). Son yıllarda ekspire edilen havadaki NO düzeyi ölçümünde standardizasyonun sağlanabilmesi için hem Amerikan Toraks Derneği hem de Avrupa Solunum Derneği tarafından önerilerde bulunulmuştur (33,34).

İnflamasyonun bir göstergesi olarak ekspire edilen havadaki NO düzeyinin ölçümünün, noninvaziv, tekrarlanabilir ve kolay uygulanabilir olması bu yöntemin önemli avantajları arasında sayılabilir. Ayrıca inflamatuvar hastalıkların tedavisinde etkili olabilecek yeni anti-inflamatuvar ilaçların etkisi hakkında bizlere bilgi sağlayabilir. Ancak kullanılan bu yöntemin en önemli dezavantajı; birçok etkenin ekspire edilen havadaki NO ölçümü üzerinde etkili olmasıdır. Bu nedenle ekspire edilen havadaki NO ölçümünü etkileyen tüm faktörleri gözden geçirmek gerekir. Ayrıca kullanılan ölçüm cihazı hem pahalı hem de kolay taşınabilir değildir. Ancak bu yöntemin zamanla teknolojinin gelişmesi ile ucuz, PEFmetreler gibi küçük ve kolay taşınabilir olması, ölçüm değerlerini etkileyen faktörlerin minimale inmesinin sağlanması sonucunda, inflamatuvar hastalıkların hem teşhis hem de tedavi takibinde önemli faydalar sağlayabilir.

KAYNAKLAR

- Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327:524-6.
- Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:92669.
- Zapol WM, Rimar S, Gillis N, Marletta M, Basken CH. Nitric oxide and the lung. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:1375-80.
- Lundberg JON, Rinder J, Weitzberg E, Lundberg JM, Alving K. Nasally exhaled nitric oxide in humans originates mainly in the paranasal sinuses. *Acta Physiol Scand* 1994;152:431-32.
- Barnes PJ: Nitric oxide and airways. *Eur Respir J* 1993;6:163-5.
- Gaston B, Drazen JM, Loscalzo J, Stamler JS. The biology of nitrogen oxides in the airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:538-51.
- Kob H, Kalb-Bachofen V. Nitric oxide: a pathogenetic factor in autoimmunity. *Immunology Today* 1992;13:157-60.
- Gustafsson LE, Leone AM, Persson M, Wiklund NP, Moncada S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea-pigs and humans. *Biophys Res Commun* 1991;181:852-7.
- Kharitonov SA, Yates D, Rubbins RA et al. Increased nitric oxide in the exhaled air of asthmatic patient. *Lancet* 1994;343:133-5.
- Oğuzülgen İK, Türkteş H, Levent E, Erbaş D. Akut astma atağındaki hastalarda ekshale nitrik oksid ölçümü. *Tüberküloz ve Toraks* 1999;47:259-64.
- Yurdakul AS. Bronşiyal astma ve allerjik rinitte ekspire edilen havadaki nitrik oksid düzeyi. *Tez. Ankara: Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 1999.*
- Kharitonov SA, Wells AU, O'Connor BJ, Hansell Dm, Cole PJ, Barnes PJ. Elevated levels of exhaled nitric oxide in bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:1889-93.
- Kharitonov SA, Yates D, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of normal human subjects with upper respiratory tract infections. *Eur Respir J* 1995;8:295-7.
- Robbins RA, Floreani AA, Von Essen SG et al. Measurement of exhaled nitric oxide by three different techniques. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1631-5.
- Barnes PJ, Kharitonov SA. Exhaled nitric oxide: a new lung function test. *Thorax* 1996;51:233-7.
- Kharitonov SA, Alving K, Barnes PJ. Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. *Eur Respir J* 1997;10:1683-93.
- Kimberly B, Nejadnik B, Giraud GD, Holden WE. Nasal contribution to exhaled nitric oxide at rest and during breathholding in humans. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:829-36.
- Jilma B, Kastner J, Mensik C et al. Sex differences in concentrations of exhaled nitric oxide and plasma nitrate. *Lfi Sci* 1996;6:469-76.
- Persson MG, Wiklund NP, Gustafsson LE. Endogenous nitric oxide in single exhalations and the change during exercise. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:1210-4.
- Kharitonov SA, Robbins RA, Yates D, Keatings V, Barnes BJ. Acute and chronic effects of cigarette smoking exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:609-12.
- Yurdakul AS, Canbakan S, Nadirler F, Başer Y. Ekspire edilen havadaki nitrik oksid düzeyinin sigara içimi ile ilişkisi. *Solunum Hastalıkları* 2000;11:154-9.
- Yates DH, Kharitonov SA, Robbins RA, Thomas PS, Barnes PJ. The effect of alcohol ingestion on exhaled nitric oxide. *Eur Respir J* 1996;9:1130-3.
- Rosselli M, Imthurn B, Macas E, Keller PJ, Dubey RK. Circulating nitrite/nitrate levels increase with follicular development: indirect evidence for estradiol-mediated NO release. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;202:1643-52.
- Barnes PJ, Liew FY. Nitric oxide and asthmatic inflammation. *Immunology Today* 1995;16:128-30.
- Türkteş H, Türkteş İ. Allerjik rinit ve astma. 1. Baskı, Bozkır matbaacılık: Ankara; 1998.
- Lundberg JON, Nordvall SL, Weitzberg E, Kollberg H, Alving K. Exhaled nitric oxide in paediatric asthma and cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1996;75:323-6.
- Lundberg JON, Weitzberg E, Nordvall SL, Kuylentierna R, Lundberg JM, Alving K. Primarily nasal origin of exhaled nitric

- oxide and absence in Kartagener's syndrome. *Eur Respir J* 1994;8:1501-4.
28. Kharitonov SA, Rajakulasingam K, O'Connor B et al. Nasal nitric oxide is increased in patients with asthma and allergic rhinitis and may be modulated by nasal glucocorticoids. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:58-64.
29. Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J* 1993;6:1368-70.
30. Giad A, Saleh D. Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1995;333:214-21.
31. Rees DD, Polmer RMJ, Schulz R, Hodson MF, Moncada S. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol* 1990;101:746-52.
32. Adcock IM, Brown CR, Kwon OJ, Barnes PJ. Oxidative stress induces NF- κ B DNA binding and inducible NOS mRNA in human epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;199:1518-24.
33. Silkoff PE. 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. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:2104-7.
34. Alving K. Methodological aspects of exhaled nitric oxide measurements. *Eur Respir Rev* 1999;9:208-11.

Geliş Tarihi: 14.11.2001

Yazışma Adresi: Dr. Ahmet Selim YURDAKUL
Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi
Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Keçiören, ANKARA
ahmetselimyurdakul@hotmail.com