

Doktorský studijní program

Chirurgie

**Vyšetření vydechovaného oxidu dusnatého jako
bioindikátoru zánětu u dětí s adenoidními vegetacemi
ve vztahu k atopii a alergickým onemocněním**

Examination of Exhaled Nitrous Oxide as an Inflammatory
Bioindicator of Atopy and Allergy in Children with Adenoid
Hypertrophy

MUDr. Tomáš Rybníkář

Školitel: prof. MUDr. Ivan Hybášek, DrSc.

Školitel konzultant: doc. MUDr. Jiřina Chládková, Ph.D.

Hradec Králové, 2018

Obhajoba dne:

Prohlášení autora

Prohlášení:

Prohlašuji tímto, že jsem doktorskou disertační práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k tomu, aby tato práce byla uložena v Lékařské knihovně Lékařské fakulty v Hradci Králové a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v informačním systému Univerzity Karlovy.

Hradec Králové, 2018

podpis autora

Poděkování

Moje poděkování patří všem, kteří mě po celé postgraduální studium jakkoli podpořili morálně, intelektuálně, pracovně či jinak a umožnili mi tak zdárně dokončit disertační práci.

Zejména pak děkuji

- prof. MUDr. Viktoru Chrobokovi, CSc., Ph.D., přednostovi Kliniky otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, Fakultní nemocnice Hradec Králové, Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy, za umožnění absolvování doktorského studia
- doc. MUDr. Janu Vokurkovi, CSc. za umožnění absolvování doktorského studia
- prof. MUDr. Ivanu Hybáškoví, DrSc. - mému školiteli - za vedení a podporu v průběhu studia
- doc. MUDr. Jiřině Chládkové, Ph.D. - mému školiteli konzultantovi - za výběr tématu, podporu a neocenitelnou pomoc v průběhu studia
- doc. Ing. Jaroslavu Chládkovi, Ph.D. za pomoc se zpracováním výsledků

Obsah

1	Seznam použitých zkratk	6
2	Úvod	8
2.1	Současný stav problematiky	9
2.1.1	Základní informace o fyziologii a biochemii oxidu dusnatého	9
2.1.2	Oxid dusnatý v dýchacích cestách	12
2.1.3	Uvolňování NO v různých etážích dýchacích cest	14
2.1.4	Oxid dusnatý jako bioindikátor onemocnění dýchacích cest	15
2.1.5	Metody detekce NO	16
2.1.6	Doporučený postup vyšetření FE _{NO} technikou jednoho výdechu konstantní výdechovou rychlostí	18
2.1.7	Doporučený postup pro vyšetření nNO	19
2.1.8	Variabilita koncentrací FE _{NO} u zdravých osob	22
2.1.8.1	Referenční rozmezí hodnot FE _{NO}	22
2.1.8.2	Vnější faktory způsobující biologickou variabilitu FE _{NO}	24
2.1.9	Variabilita koncentrací nNO u zdravých osob	26
2.1.9.1	Srovnání technik vyšetření nNO	27
2.1.9.2	Faktory způsobující variabilitu nNO	27
2.1.9.3	Vliv dusičnanů v potravě na nNO	29
2.1.9.4	Vliv kouření na hodnoty nNO	29
2.1.10	FE _{NO} u onemocnění dýchacích cest	30
2.1.10.1	FE _{NO} u nemocných s atopií a alergií	30
2.1.10.2	Vztah mezi FE _{NO} a infekcemi dýchacích cest	30
2.1.10.3	Hodnoty FE _{NO} u dalších onemocnění	31
2.1.11	Hodnoty nNO u onemocnění v otorinolaryngologii	33
3	Cíle disertační práce	39
4	Metodika a soubor	40

4.1	Studovaný soubor.....	40
4.2	Epifaryngoskopie a určení velikosti AV.....	40
4.3	Rinomanometrie.....	40
4.4	Adenoidektomie	44
4.5	Vyšetření koncentrace nNO a FE _{NO}	46
4.6	Alergologické vyšetření	47
4.7	Statistické metody	47
5	Výsledky	48
5.1	Charakteristiky souboru	48
5.2	Výsledky vyšetření nNO a FENO u nemocných v závislosti na stupni AV a v kontrolní skupině	49
5.3	Vliv dalších faktorů na výsledky vyšetření nNO a FE _{NO}	53
5.4	Hodnoty toku nosního NO (FnNO) před adenoidektomií a jejich porovnání s prahovou hodnotou testu na primární ciliární dyskinezi.....	55
5.5	Změny hodnot nNO a FnNO po adenoidektomii.....	56
5.6	Výsledky rinomanometrického vyšetření.....	58
6	Diskuze	66
7	Závěry	70
7.1	Dosažení cílů práce. Potvrzení (ověření) předpokladů / hypotéz. Možný přínos pro praxi. .	70
8	Literatura.....	73

1 Seznam použitých zkratek

- **AT** adenoidektomie
- **AV, AH** adenoidní vegetace
- **cAMP** cyklický adenosinmonofosfát
- **CAR** celoroční alergická rýma
- **CF** cystická fibróza
- **CHR** chronická rýma
- **CO** oxid uhelnatý
- **CO₂** oxid uhličitý
- **C₂H₄** etylen
- **Dg** diagnóza
- **eNOS, NOS-III** endoteliální syntáza oxidu dusnatého
- **EPO** eozinofilní peroxidáza
- **EXP** eozinofilní protein X
- **FE_{NO}** koncentrace NO vyjádřená jako objemová frakce NO
- **HCD** horní cesty dýchací
- **H₂O** voda
- **HOBr** kyselina bromná
- **HOCl** kyselina chlorná
- **CHOPN** chronická obstrukční plicní nemoc
- **IFN- γ** interferon γ
- **IL-1 β** interleukin 1 β
- **IL-4** interleukin 4
- **IKS** inhalační kortikosteroidy
- **iNOS, NOS-II** indukovatelná forma syntázy oxidu dusnatého
- **KS** kortikosteroidy
- **MPO** myeloperoxidáza
- **Na⁺** iont sodíku
- **NADPH** nikotinadenin dinukleotidfosfát
- **NF κ B** jaderný faktor κ B
- **NH₃** amoniak
- **NO** oxid dusnatý
- **nNO** nazální oxid dusnatý

- **NO₂** oxid dusičitý
- **NOS** syntáza oxidu dusnatého
- **nNOS, NOS-I** neuronální syntáza oxidu dusnatého
- **ppb** parts per billion, tj. jeden nanolitr NO v jednom litru vzduchu
- **PCD** primární ciliární dyskineze
- **RMM** rinomanometrie
- **R_{Na}** celková rezistence při průtoku
- **RNS** reaktivní dusíkaté látky
- **ROS** reaktivní látky obsahující kyslík
- **RSD** relativní odchylka
- **RV16** rinovirus 16
- **SAR** sezónní alergická rýma
- **SD** směrodatná odchylka
- **STAT** transkripční faktor
- **TNF- α** tumor nekrotizující faktor α
- **V_E** výdechová rychlost
- **V_{Na}** transnazální inspirační průtok
- **V_{NO}** množství oxidu dusnatého vydechnuté za jednotku času
- **VND** vedlejší nosní dutiny

2 Úvod

V posledních dvaceti letech bylo věnováno značné výzkumné úsilí vývoji neinvazivních vyšetřovacích metod, které by umožnily posoudit přítomnost a tíži zánětu dýchacích cest u osob s onemocněními horních a dolních dýchacích cest. Výzkumné týmy hodnotily velký počet biochemických látek přítomných ve vydechovaném vzduchu (nebo zachycených po jeho ochlazení v tekutině označované jako kondenzát vydechovaného vzduchu) jako možné bioindikátory zánětu. Paralelně probíhal vývoj vyšetřovacích metod a přístrojů na odběr vzorků a jejich biochemickou analýzu. Jako zatím nejprínosnější se ukázalo vyšetření koncentrace oxidu dusnatého (NO) ve vydechovaném vzduchu. Při vyšetření subjekt vydechuje ústy do náustku analyzátoru nízkou rychlostí proti nastavenému mírnému odporu. Převažujícím zdrojem NO je průduškový epitel, protože dojde k uzavěru měkkého patra a příspěvek horních dýchacích cest (HDC) jako dalšího možného zdroje NO je velmi omezen až zcela eliminován. Koncentrace se udává jako molární zlomek a označuje se FE_{NO} (z angl. „*fraction of exhaled nitric oxide*“). Eozinofilní zánět, který je charakteristickým rysem atopického průduškového astmatu, vede ke zvýšené syntéze a uvolňování NO průduškovým epitelem. Vyšetření FE_{NO} je využíváno pro stanovení diagnózy průduškového astmatu, sledování účinku preventivní protizánětlivé farmakoterapie a jako nástroj umožňující odhadnout riziko akutní exacerbace. Vhodně doplňuje ostatní běžně dostupné metody, jako je vyšetření plicní funkce a bronchodilatační test (1). Rychlému zařazení metody do praxe v alergologii a pneumologii významně napomohla její pečlivá standardizace pod záštitou Evropské respirační společnosti a Americké hrudní společnosti a dostupnost spolehlivých, na obsluhu relativně jednoduchých a cenově dostupných analyzátorů NO. Pacienti všech věkových skupin včetně dětí od 4 let věku jsou schopni techniku vyšetření úspěšně zvládnout a výsledek vyšetření je v ordinaci okamžitě k dispozici. Vedlejší nosní dutiny a v menší míře i nosní sliznice jsou nejbohatší zdroje NO v dýchacích cestách. Podle současného stavu poznání je NO plynný mediátor, jehož inhalace při dýchání nosem má mnoho prospěšných funkcí v dýchacích cestách a plicním krevním řečišti. Patří k nim bronchodilatace, vazodilatace v plicním řečišti, distribuce průtoku krve do ventilovaných oblastí plic, bronchoprotekce (snižování hyperreaktivity průdušky necholinergní neadrenergní inhibiční neurotransmisí) a ochrana dýchacích cest před infekcí přímým toxickým účinkem NO a nepřímo stimulací funkce řasinek. NO pomáhá regulovat arteriální oxygenaci. Koncentrace NO ve vzduchu v průduškách při inhalaci nosem je 50–200 ppb (*parts per billion*) oproti < 10 ppb při inhalaci ústy. Inhalované množství NO uvolněné z HDC se zvyšuje při nárůstu

inspiračního průtoku a inhalace NO zlepšuje arteriální oxygenaci. Rozdíl v saturaci hemoglobinu při inhalaci nosem a ústy byl pozorován u nemocných i zdravých osob (2).

Produkcí NO v HDC je možné změřit vyšetřením nazálního NO (nNO). Nejčastěji se provádí aspirace vzduchu analyzátozem NO z kanyly v zátce umístěné v jednom nosním průduchu při současném uzavěru měkkého patra během výdechu ústy proti odporu (2). Ve srovnání s FE_{NO} je vyšetření nNO méně standardizované a o biologických a technických faktorech způsobujících variabilitu výsledku bylo publikováno méně studií. Dostupné informace ukazují, že na rozdíl od FE_{NO} je nNO velmi málo ovlivněn atopií a alergickými onemocněními dýchacích cest (3-5). U nemocných s primární ciliární dyskinezi (PCD) je koncentrace nNO velmi nízká a využívá se jako skriningový diagnostický test (6). Snížená je spolu s FE_{NO} také u nemocných s cystickou fibrózou (5).

Adenoidní vegetace (AV) jsou častou zdravotní komplikací dětí zejména v předškolním věku. Kromě známých škodlivých zdravotních dopadů AV, jako jsou chronická rýma, kašel, recidivující záněty středního ucha a sinusitidy, porucha spánku, syndrom spánkové apnoe, nechutenství, nedoslýchavost na podkladě sekretní otitidy aj., je nutné také vzít v úvahu, že dýchání ústy z důvodu nosní obstrukce u AV zásadně snižuje koncentrace NO v dýchacích cestách. Souběh alergických onemocnění dýchacích cest a adenoidních vegetací je velmi častý. Z tohoto důvodu je závažné, že v odborném tisku je minimum informací o možném vlivu adenoidních vegetací na výsledek vyšetření nNO a FE_{NO}.

Disertační práce si klade za cíl posoudit vliv adenoidních vegetací na nNO a FE_{NO} u dětí a to za podmínek působení dalších faktorů, jako jsou věk, atopie a přítomnost alergické rýmy a průduškového astmatu. Změny nNO a FE_{NO} jsou vyhodnoceny ve vztahu k nálezům epifaryngoskopického vyšetření a rinomanometrie. Poprvé byl sledován vliv adenoidektomie na výsledek vyšetření nNO.

2.1 Současný stav poznání

2.1.1 Základní informace o fyziologii a biochemii oxidu dusnatého

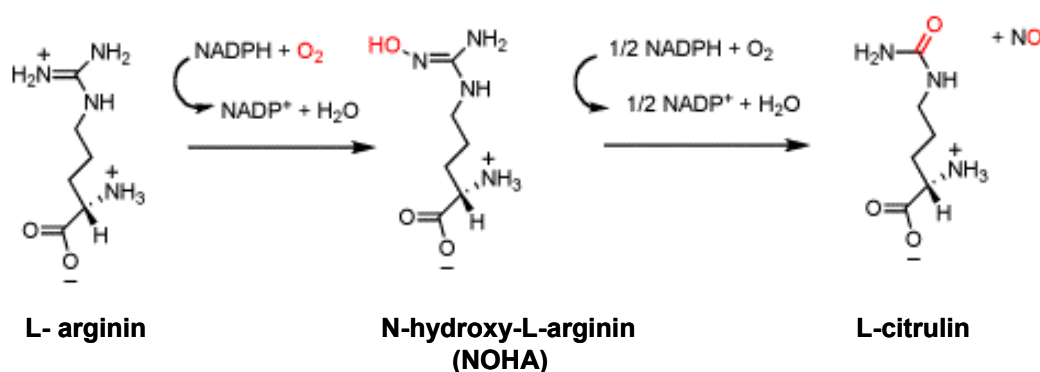
Oxid dusnatý (NO) je důležitý biologický mediátor, který je známý více než dvacet let. V roce 1987 byl identifikován NO jako molekula produkovaná endotelem cév. Původně byl považován za složku znečištěného ovzduší. Na NO se pohlíželo jako na jedovatou látku, která je součástí cigaretového kouře, výfukových plynů, smogu a kyselých dešťů. V r. 1998 byli R. Furchott, F. Murad a L. Ignarro oceněni Nobelovou cenou za fyziologii a medicínu za klíčový objev týkající se NO jako signální molekuly – mediátoru v kardiovaskulárním

systému (7). Dnes je NO jednou z nejvíce studovaných molekul. V organismu tvořený NO se podílí na širokém spektru biologických funkcí, je důležitým regulátorem fyziologických procesů včetně průtoku krve, funkce krevních destiček, neurotransmise, imunity a zánětu (8). Zkoumán je význam NO v onkologii, kdy spolupůsobí v závislosti na podmínkách podporu či naopak inhibici nádorového růstu (9). Experimentálně byl prokázán antimikrobiální efekt proti některým patogenům (10). Vysoké koncentrace NO jsou důležitou součástí nespecifické imunitní reakce jako součást obrany proti bakteriím (11). Významná je regulační funkce NO v dýchacích cestách. Nejznámější je bronchodilatační a vazodilatační účinek a přenos nervových vzruchů (neadrenergní necholinergní inhibiční neurotransmise v dýchacích cestách) (12). Na druhé straně se NO uplatňuje i v patologických stavech, jako jsou: septický šok, ateroskleróza, hypertenze, poškození z ischemie, karcinogeneze (13, 14).

Pro tyto heterogenní funkce má NO ideální vlastnosti. Jako látka s malou nenabitou molekulou snadno difunduje z místa vzniku ve tkáních a v buňkách. Vzhledem ke své radikálové povaze je zároveň reaktivní. Váže se rychle na různá cílová místa, především kovy v molekulách enzymů. V tělních tekutinách NO rychle reaguje s kyslíkem, superoxidem a jinými radikály nebo se váže na nízkomolekulární (glutathion) a vysokomolekulární (albumin) látky obsahující tiolové skupiny. Stanovení NO ve vydechovaném vzduchu umožňuje relativně větší stabilita v plynné fázi při velmi nízkých koncentracích a „on-line“ technika detekce (15).

NO je tvořen syntázami NO (NOS) z aminokyseliny argininu za spotřeby kyslíku a NADPH (Obr. 1). V literatuře byly popsány čtyři různé formy NOS (16, 17). Mezi konstitutivní formy patří NOS1 (neurogení), NOS3 (endoteliální), a nedávno objevená NOS4, které se přičítá význam v terminálním stádiu ledvinových onemocnění a u diabetické nefropatie (16, 18).

Obr. 1: Reakční mechanismus tvorby NO z L-argininu katalyzované syntázami NO.



Konstitutivní formy NOS s receptorově řízenou aktivitou tvoří krátkodobé pulzy nízkých koncentrací NO (femtomolární až pikomolární koncentrace), které působí lokálně. Mají bronchodilatační a bronchoprotektivní účinek a podílejí se na přenosu nervových vzruchů, vazodilataci v cévním řečišti, kontraktilitě myokardu a agregaci destiček (19). Indukovatelná forma iNOS (NOS2) tvoří vysoké koncentrace NO (nanomolární koncentrace), které mohou působit až po dobu několika dnů a které se uplatňují při imunitní a zánětové odpovědi organismu. Prozáněťové cytokiny TNF- α , interleukin-1 β , interferon- γ a bakteriální lipopolysacharid zvyšují aktivitu iNOS (Obr. 2) (20). V průduškovém epitelu (NOS2), cévním endotelu (NOS3), hladkých svalech (NOS3), neadrenergických a necholinergických neuronech (NOS1), T-lymfocytech, makrofázích, a žírných buňkách (NOS2) byla prokázána v dýchacích cestách přítomnost a aktivita syntáz NO (12).

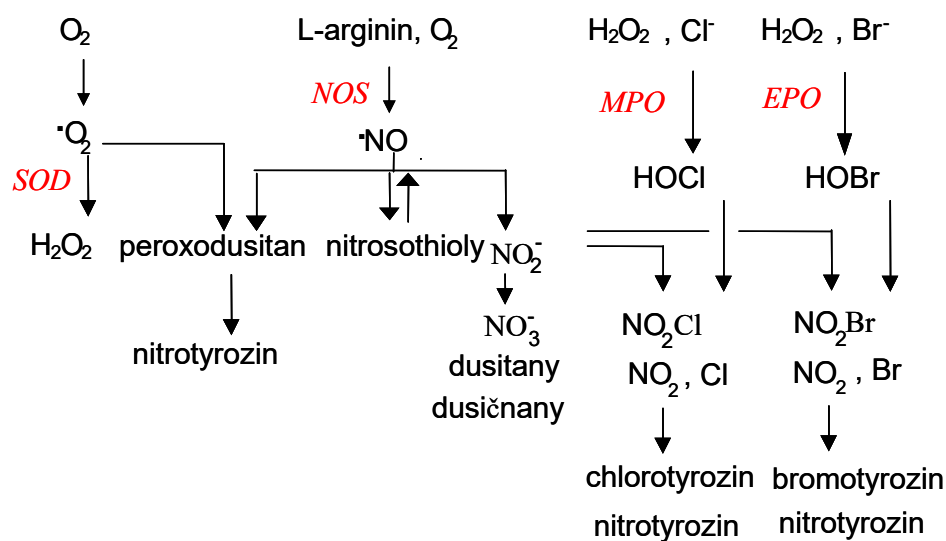
V posledních letech se pozornost zaměřuje také na paralelní metabolickou dráhu, ve které je arginin metabolizován za katalýzy arginázami. Změna aktivity argináz za patologických i fyziologických stavů tak může být mechanismem ovlivňujícím koncentrace NO. V této souvislosti se hovoří o metabolomu arginin-NO (21). Argináza I (cytozolický enzym) a argináza II (mitochondriální forma) jsou v dýchacích cestách exprimovány v buňkách epitelu a endotelu, myofibroblastech a alveolárních makrofázích. Metabolická dráha arginin-NO je v současnosti v popředí zájmu, protože její změny vlivem zánětu a v podmínkách zánětu dýchacích cest se dávají do souvislosti s patofyziologickými projevy onemocnění, jako bronchiální hyperreaktivita spojená s poklesem plicní funkce. Expres arginázy I a v menší míře i arginázy II se mění v reakci na různé stimuly, např. látky zvyšující koncentraci c-AMP, parciální tlak kyslíku a cigaretový kouř (22).

NO podléhá v přítomnosti molekulárního kyslíku oxidaci na vyšší oxidy dusíku. Při reakci se superoxidovým radikálem vzniká peroxodusitan, který může nitrovat aminokyseliny - např. cystein, tyrozin, metionin, tryptofan. Produktem nitrace tyrozinu je stabilní 3-nitrotyrozin (dále nitrotyrozin), který je považován za vhodný indikátor tvorby RNS *in vivo* a *in vitro*. Důležitou reakcí NO, peroxodusitanu a jiných RNS je reakce s thioley za vzniku S-nitrosoproteinů a nízkomolekulárních S-nitrosotiolů (S-nitrosoglutation, S-nitrosocystein). Nitrosotioly jsou transportní formou NO a modifikace tiolových skupin reakcí s NO je považována za jeden z mechanismů regulace aktivity enzymů (23). Byla vyslovena hypotéza, že nitrace a nitrosylace biomolekul není pouhým indikátorem přítomnosti RNS v organismu, ale také biochemickým mechanismem regulace zánětu (24). Významným zdrojem nitrotyrozinu jsou kromě peroxodusitanu také biochemické reakce v aktivovaných neutrofilech a eozinofilech. Myeloperoxidáza (MPO) a eozinofilní peroxidáza (EPO) tvoří

kyseliny chlornou (HOCl) a bromnou (HOBr), které oxidují dusitany na RNS. Bílkoviny a volný tyrozin v dýchacích cestách jsou jejich účinkem nitrovány. Kromě nitrotyrozinu vznikají další deriváty tyrozinu, například chlorotyrozin jako produkt MPO a bromotyrozin jako produkt EPO (Obr. 3). I když je exprese iNOS v monocytech a neutrofilech nízká, přesto mohou tyto buňky uvolňovat velké množství RNS a využívat k tomu jako prekurzor nikoliv NO, ale dusitany (23, 25, 26).

Zvýšenou tvorbou kyslíkových radikálů a NO v rámci zánětu se tvoří cytotoxické látky, které poškozují dýchací cesty. Dochází tak k navození převahy Th₂ buněčné odpovědi, oxidaci glutationu, poškození epitelu a funkce řasinek, zvýšené tvorbě hlenu a bronchiální hyperreaktivitě. Zvýšenou přítomností mediátorů zánětu a látek souvisejících s oxidačním a nitračním stresem lze také využít při diagnostice onemocnění dýchacích cest (například stanovení peroxidu vodíku v kondenzátu vydechaného vzduchu).

Obr. 2: Schéma vybraných biochemických drah vedoucích k oxidačnímu a nitračnímu strese při imunitní reakci



2.1.2 Oxid dusnatý v dýchacích cestách

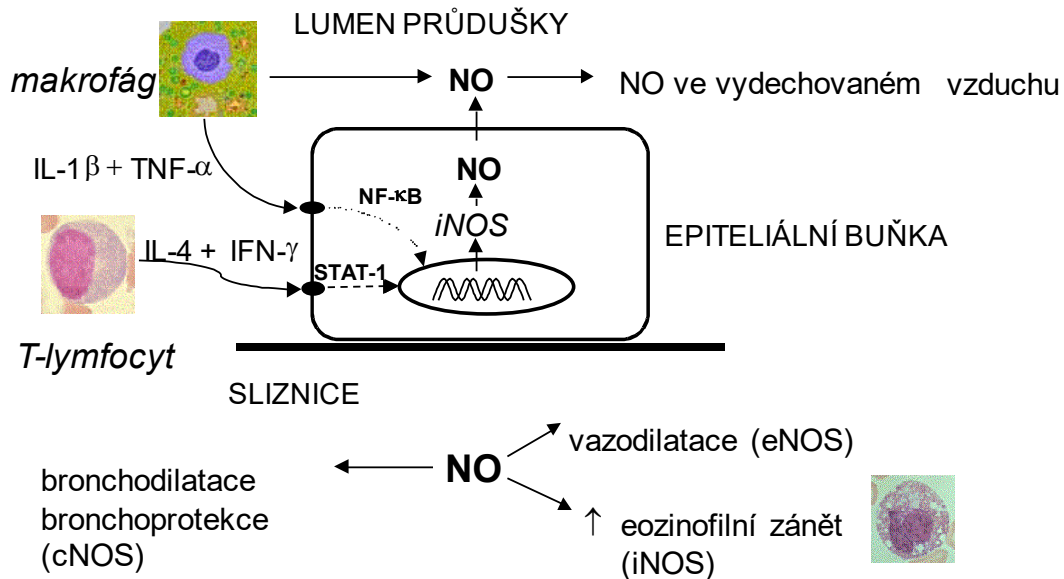
V roce 1991 Gustafsson a kolektiv zjistili přítomnost NO ve vydechaném vzduchu u lidí (27). Následně v roce 1993 Alving a kolektiv prokázali, že hodnota vydechaného NO je vyšší u pacientů s bronchiálním astmatem (28). Tento objev se stal důležitým mezníkem a vyvolal velký zájem o studium fyziologie a patofyziologie NO v dýchacích cestách včetně využití NO v diagnostice onemocnění dýchacích cest.

Za fyziologických podmínek jsou v rámci protiinfekční imunity důležitým zdrojem NO horní dýchací cesty. Indukovatelná NO syntáza (dále iNOS) se nachází v respiračním epitelu horních a dolních dýchacích cest a VND. Při nádechu nosem tak dochází k inhalaci vysoké koncentrace NO, který přechází přes buněčné membrány a je následně rychle spotřebován v reakci s endogenními tioly a hemoglobinem. NO má důležité funkce v průduškách a plicním řečišti, je odpovědný za bronchodilataci a vazodilaci. Některé teorie soudí, že aktivita iNOS v horních dýchacích cestách a zvýšená inhalace NO je autokrinním mechanismem, reagujícím na saturaci krve kyslíkem. Indukovatelná syntáza NO byla u zdravých osob prokázána i v epiteliálních buňkách dolních dýchacích cest. Určitý malý podíl NO s lokálními účinky tvoří také neuronální (NOS1) a endoteliální NO syntázy (NOS3), které jsou exprimovány v epiteliálních buňkách plicních sklípků. Příspěvek NOS3 z plicního řečiště k NO v dýchacích cestách je pravděpodobně minimální, protože systémová aplikace nesespecifických inhibitorů NO syntáz na rozdíl od jejich inhalačního podání nesnižuje množství vydechovaného NO (2, 29).

Expres proteinů a aktivita izoform NOS byla prokázána v průduškovém epitelu, makrofázích, T-lymfocytech a žírných buňkách (NOS II), hladkých svalech, cévním endotelu (NOS III) a neadrenergických a necholinergických neuronech (NOS I). Produkce se děje jednak z respiračního epitelu do vydechovaného vzduchu a dále z hlubších tkání (hladké svaloviny) do krve, nebo přes epitel do vzduchu.

Převládá názor, že za fyziologických okolností k vydechovanému NO přispívají nejvíce epiteliální buňky, ve kterých je iNOS (NOSIII) exprimována především na apikální (luminální straně). Enzym NOS III se nachází v respiračním epitelu nosní dutiny, vedlejších nosních dutin, průdušnice a průdušek. V menší míře se uplatňuje NOS III v dlaždicovém epitelu ústní dutiny, hltanu, hrtanu a v respiračním epitelu plicních sklípků. Rozdíl v koncentracích NO v horních a dolních dýchacích cestách je dán rozdílnou úrovní této bazální exprese, kterou neovlivňují kortikosteroidy (15). Malá část z vydechovaného množství NO vzniká v ústní dutině redukcí dusitanů obsažených ve slinách bakteriemi. Výplach ústní dutiny chlorhexidinem snižuje u zdravých osob hodnotu FE_{NO} o 10 až 30 % (30).

Obr. 3: Buněčné zdroje NO ve vydechaném vzduchu
(upraveno dle Kharitonov a kol., 2001)



Zkratky: NO...oxid dusnatý, TNF- α ...tumor nekrotizující faktor α , IL-1 β ... interleukin 1 β , IL-4... interleukin 4, IFN- γ ... interferon γ , NF κ B...jaderný faktor κ B, STAT...transkripční faktor iNOS...indukovatelná forma syntázy NO.

2.1.3 Uvolňování NO v různých etážích dýchacích cest

Koncentrace NO ve vzduchu odebraném z různých úrovní dýchacích cest se značně liší. Koncentrace NO ve vzduchu aspirovaném z vedlejších nosních dutin dosahuje řádově tisíce ppb (3). Při stejné výdechové rychlosti je koncentrace NO při výdechu nosem vyšší než ústy a pohybuje se v řádu desítek ppb. Nejnižší koncentrace NO lze prokázat ve vzduchu z endotracheální kanyly (<3 ppb) (18).

Vydechaný NO (FE_{NO}) má zdroj bronchiální a alveolární. NO rychle difunduje z alveolárního prostoru přes alveolokapilární membránu do krve a je odstraňován v reakci s oxyhemoglobinem. Nízké hodnoty FE_{NO} byly popsány např. u cystické fibrózy, ciliární dyskineze a plicní hypertenze (32, 33). Zvýšené hodnoty se vyskytují u virových infekcí, systémového lupusu, jaterní cirhózy, či po transplantaci plic (34 - 36). FE_{NO} je také velmi citlivý na léčbu kortikoidy a jeho hodnoty jsou proto využívány v klinické praxi pro predikci jejich benefitu v antiastmatické terapii (37).

Nazální oxid dusnatý (nNO) pochází z nosní dutiny a vedlejších nosních dutin. Měření u pacientů s tracheostomií demonstrovalo, že více než 90 % vydechaného NO pochází právě z nosní dutiny a vedlejších nosních dutin (VND). Přesný původ NO prokázaného v nazálním vzduchu je stále diskutován. Lundberg a kol. zkoumali vztah nNO a vedlejších nosních dutin pomocí punkce čelistní dutiny s následnou kontinuální detekcí syntézy NO (3). Byla tu prokázána velmi vysoká koncentrace nNO, což ukazuje, že vedlejší nosní dutiny jsou obzvláště důležitým zdrojem NO. Vysoké koncentrace NO (250 – 1000 ppb) mají toxický účinek na bakterie a viry a pomáhají tak obraně sliznice horních dýchacích cest proti mikroorganismům.

2.1.4 Oxid dusnatý jako bioindikátor onemocnění dýchacích cest

V praxi je velmi důležité rozpoznat u nemocného s podezřením na astma či alergii eozinofilní zánět průdušek, protože v tomto případě je indikována preventivní farmakoterapie inhalačními kortikosteroidy. Na druhé straně, pokud se neprokáže eozinofilní zánět průdušek, ubírá se diagnostická rozvaha u pacienta s obstruktivními příznaky při dýchání směrem k jiným diagnózám a pacient není vystaven neúčelné farmakoterapii. Nejen při stanovení správné diagnózy, ale i při optimalizaci dlouhodobé, často i celoživotní protizánětlivé léčby inhalačními kortikosteroidy je třeba využívat monitorování aktivity eozinofilního zánětu.

Buňky v zánětu lze v dýchacích cestách prokázat vyšetřením indukovaného sputa, bronchoalveolární tekutiny či bioptických vzorků průduškové sliznice získaných při flexibilní bronchoskopii. Jedná se o náročné metody průkazu zánětu, které nejsou vhodné pro běžnou lékařskou péči (zvláště u dětí).

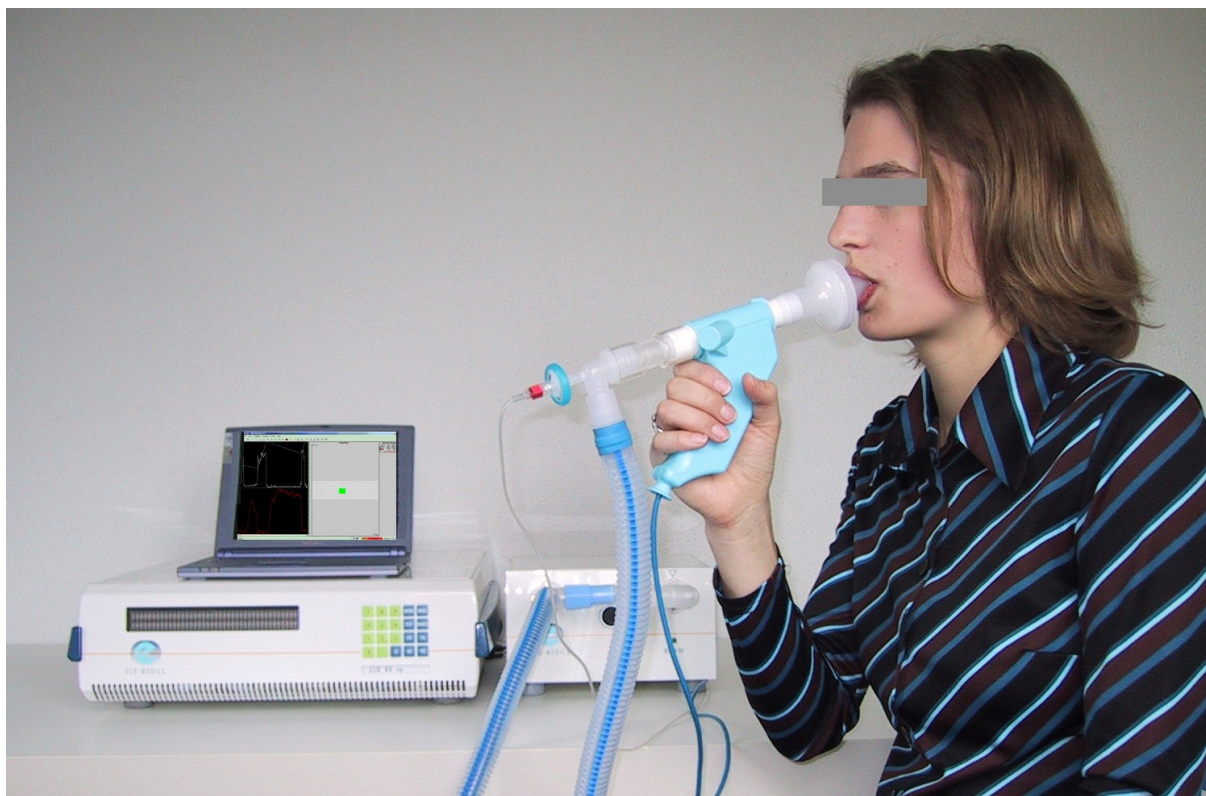
Z tohoto důvodu se výzkum v posledních 20 letech soustředil na vývoj a standardizaci neinvazivních metod přímého průkazu zánětu v dýchacích cestách a vyšetření jeho intenzity pomocí vyšetření koncentrací biochemických mediátorů a indikátorů zánětu ve vydechaném vzduchu. Ve vydechaném vzduchu jsou obsaženy plyny a těkavé a netěkavé látky, které strhává proud vydechaného vzduchu v kapičkách aerosolu. Biochemickou analýzou tohoto biologického materiálu je možné získat důležité informace o patologických procesech v dýchacích cestách. Největší přínos má měření koncentrace NO ve vydechaném vzduchu (38). Při zánětu průdušek k vydechanému množství FE_{NO} přispívají nejvíce buňky epitelu průdušek, ve kterých je zvýšeně tvořena iNOS. Významný je pravděpodobně i podíl aktivovaných buněk zánětu v průduškové sliznici. Nejvyšší hodnoty FE_{NO} jsou nalézány u nemocných s eozinofilním zánětem průdušek, který je charakteristický pro neléčené atopické průduškové astma.

Koncentrace nazálního NO je přímo ovlivňována probíhajícím zánětem dýchacích cest. Hodnoty nNO bývají zvýšené u pacientů s alergickou rýmou jen mírně (39). Nižší hodnoty se vyskytují u pacientů s cystickou fibrózou, ciliární dyskinezi a rinosinuitidou (5, 6, 40, 41). Jelikož zvýšená koncentrace metabolitů NO byla nalezena ve středoušním výpotku, poukazují někteří autoři na možnost úlohy NO v etiopatogenezi chronické sekretorické otitidy (42, 43). Je pravděpodobné, že nadměrné množství NO působí obdobně jako NO za fyziologických podmínek, včetně uvolnění buněk hladkého svalstva a vazodilatace (44). Tak se mohou zvýšené hladiny NO podílet na hyperemii a otoku sliznic (45). Kromě toho může NO redukovat apoptózu v zánětlivých buňkách jako jsou eozinofily. Na druhé straně vysoké koncentrace NO snižují adhezi molekul, potlačují aktivaci zánětlivých buněk a indukují jejich apoptózu.

2.1.5 Metody detekce NO

Komerčně dostupné analyzátory NO ve vydechovaném vzduchu pracují na principu chemiluminiscence nebo elektrochemické detekce. Chemiluminiscenční analyzátor využívá reakci NO s ozonem, při které vznikají vyšší oxidy dusíku (např. oxid dusičitý - NO₂). Část molekul NO₂ je v excitovaném energeticky vyšším stavu a při přechodu do základního stavu emituje foton s energií v oblasti červeného a infračerveného světla (oblast vlnových délek 600-3000 nm). Přístroj změří pouze NO, protože reakce ozonu s jinými plyny (např. CO₂, CO, NH₃, C₂H₄, H₂O v plynné fázi) mají mnohem vyšší aktivační energii a probíhají velmi pomalu. Nároky na ovládání chemiluminiscenčního analyzátoru jsou srovnatelné s obsluhou počítače. Jeho výhodou je vysoká citlivost (detekční limit 1 ppb a nižší), výsledky měření jsou vysoce reprodukovatelné a měření je možné provádět při několika výdechových rychlostech. Nevýhodou je vysoká pořizovací cena. Tento typ analyzátoru vyžaduje pravidelnou kalibraci NO plynem. Dále probíhá technický vývoj v oblasti analyzátorů NO, který se zaměřuje na vylepšení chemiluminiscenčních přístrojů o elektronickou dynamickou kontrolu výdechové rychlosti, automatickou kalibraci a podobně (15). Vyvíjeny jsou i přístroje s jinými fyzikálními principy stanovení NO jako je absorpce monochromatického světla z diodového laseru, které mohou kromě NO změřit současně i koncentraci jiných plynů (CO₂, CO) (46).

Obr. 4: Vyšetření FE_{NO} chemiluminiscenčním analyzátoem NO řízené počítačem.
(snímek vlastní)



Obr. 5: Vyšetření nNO chemiluminiscenčním analyzátoem NO řízené počítačem s olivou
v nosním prúduchu (snímek vlastní)



2.1.6 Doporučený postup vyšetření FE_{NO} technikou jednoho výdechu konstantní výdechovou rychlostí

Platné pokyny Evropské respirační společnosti a Americké hrudní společnosti doporučují vyšetření FE_{NO} při výdechové rychlosti 50 ml/s (FE_{NO,50}) (15). Výdechová rychlost 50 ml/s je výhodná i z jiného důvodu. Většina vyšetřovaných osob zvládne pomocí zpětné vazby udržet konstantní výdechovou rychlost v doporučeném rozmezí 50 ml/s \pm 10 %, po dostatečně dlouhou dobu (alespoň 4 sekundy pro děti mladší 12 let a více než 6 sekund pro starší děti a dospělé). Pokyny odborných společností požadují provést vyšetření dvakrát po sobě a akceptovat průměrný výsledek obou měření pouze v případě, že se ustálené hodnoty FE_{NO} neliší o více než 10 % (nebo o 1 ppb, je-li FE_{NO} <10 ppb). Při vyšetření je důležité vyloučit vliv NO z horních dýchacích cest. V případě, že vyšetřovaná osoba nezvládne nádech a výdech ústy přes náustek přístroje a nadechuje se (popř. vydechuje) i nosem, je nutné použít nosní klapku. Negativní vliv na výsledek vyšetření může mít i koncentrace NO ve vdechovaném vzduchu v místnosti, kde se provádí měření (zejména je - li vyšší než 50 ppb). Vysoká koncentrace NO v okolním vzduchu se projevuje vysokou počáteční hodnotou a delší dobou nutnou pro ustálení FE_{NO} během výdechu. Vyšetřovaná osoba by proto měla nadechovat vzduch s nízkou koncentrací NO (< 5 ppb) nebo použít filtr NO.

Výsledky klinických studií jednoznačně ukázaly, že naprostá většina vyšetřovaných osob je schopná úspěšně zvládnout standardní postup vyšetření. Techniku vyšetření běžně zvládnou děti ve školním věku (6 - 15 let). Podmínkou je, aby nadechly vzduch zbavený NO. Problémy mohou nastat s udržením konstantní výdechové rychlosti po dostatečně dlouhou dobu, to je 4-6 s. Chemiluminiscenční analyzátory pomáhají udržovat konstantní výdechovou rychlost grafickou zpětnou vazbu na monitoru počítače. Výdechové úsilí je v reálném čase měřeno tlakoměrem a výstup je převáděn např. na pohyb symbolu smajlíka či balónu, který musí překonat určitou vzdálenost a pohybovat se v určité výšce. Tím je naznačeno trvání výdechu a výdechová rychlost. U školních dětí uvádějí Alving et al. pro chemiluminiscenční analyzátor více než 95 % úspěšnost (47). Vyšetření na elektrochemickém analyzátoru v ordinaci i domácích podmínkách dosahuje úspěšnost 84 %. Doporučuje se i při správném provedení test alespoň jednou zopakovat a hodnotit průměr dvou úspěšných pokusů. U dětí ve věku pod 6 let je úspěšnost vyšetření na chemiluminiscenčním analyzátoru nízká (49 %). Splnění všech podmínek pro správné provedení techniky jednoho výdechu může být obtížné pro děti předškolního a mladšího školního věku.

2.1.7 Doporučený postup pro vyšetření nNO

Samotné vyšetření je jednoduché, nezatěžující a neinvazivní. Před vyšetřením se nedoporučuje po dobu 10 minut provádět usilovný výdech, například při spirometrickém vyšetření. Nejprve je třeba prohlédnout vyšetřované osobě dutinu ústní a vyloučit akutní zánětlivé onemocnění (faryngitida, tonzilitida, stomatitida aj.).

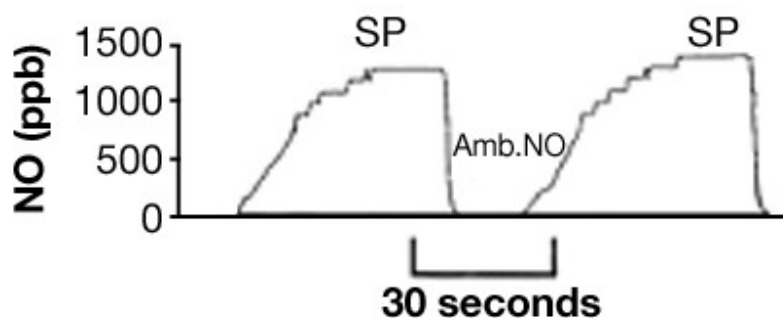
Stanovení koncentrace FE_{NO} ve vydechovaném vzduchu je v ordinaci alergologa snadno proveditelné neinvazivní vyšetření, jehož výsledek je okamžitě dostupný. Výsledek vyšetření vypovídá o přítomnosti eozinofilního zánětu v dýchacích cestách. Vyšetření FE_{NO} je první neinvazivní vyšetření, které se prosadilo v praxi při hodnocení účinnosti léčby pacientů s bronchiálním astmatem a dnes je již alergology rutinně využíváno (48). Naproti tomu o klinickém významu nNO víme poměrně málo a možnosti jeho využití se teprve upřesňují. Jedinou výjimkou je již schválené využití nNO jako rychlého skriningového neinvazivního testu při diagnóze primární ciliární dyskineze.

Dnešním standardem pro hodnocení nNO je měření pomocí chemiluminiscenčního analyzátoru (49). Nejčastěji bývá prováděno měření pasivní aspirace NO z nosní dutiny při ústním výdechu proti odporu. Tím dochází k uzavření měkkého patra a zabránění kontaminaci NO z dolních dýchacích cest a z ústní dutiny. Dítě při vyšetření pohodlně sedí a nosní oliva, která je připojena k analyzátoru, je jemně umístěna do nosního vchodu (Obr. 5). Objemová frakce nNO ve vydechovaném vzduchu se dle mezinárodních doporučení měří technikou jednoho výdechu při kontrolované rychlosti 50 ml/s. Vyšetřovaná osoba vdechne ústy objem vzduchu s nízkou koncentrací NO odpovídající celkové plicní kapacitě a bez prodlevy pomalu vydechuje ústy proti mírnému odporu do přístroje. V průběhu výdechu je monitorován odpor a výdechová rychlost a výsledek je okamžitě převáděn do podoby zvukového, nebo obrazového signálu. Vyšetřovaná osoba tak za pomoci zpětné vazby udržuje konstantní doporučenou výdechovou rychlost. Během výdechu trvajících minimálně 6 s (u dětí < 12 let 4 s) musí dojít k dostatečnému ustálení hodnoty nNO.

Časový interval potřebný k ustálení nNO při zadržení dechu závisí na přísnosti kritérií na stabilitu hodnoty nNO, podle některých studií jsou dostačující intervaly 10-15 s (kontrolovaný výdech) a 10 s (zadržení dechu).

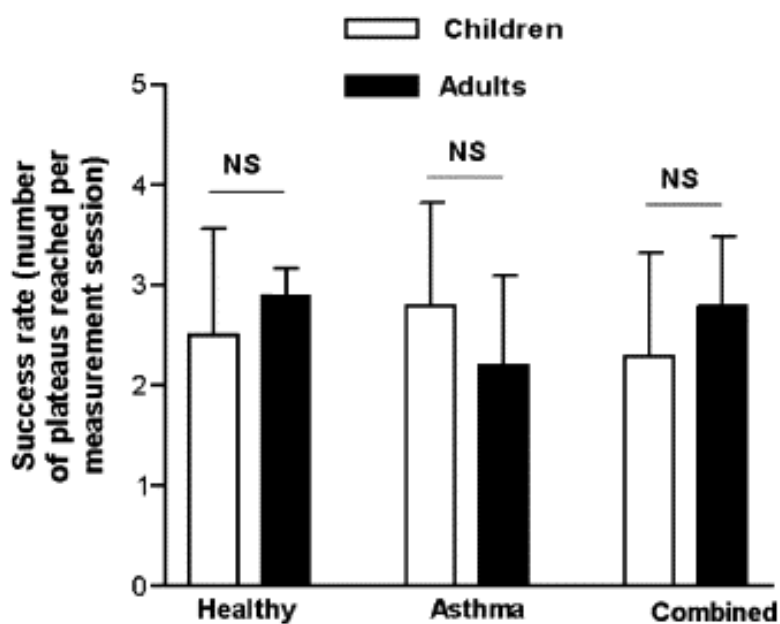
Obr. 6: Závislost koncentrace NO na čase po zahájení výdechu ukazuje rychlost, s jakou dojde k vytvoření ustáleného stavu. SP – interval s ustálenou koncentrací NO

(upraveno dle Kharitonov a kol., 2005)



Obr. 7: Úspěšnost zvládnutí techniky nNO u dospělých a dětí s astmatem a u zdravých.

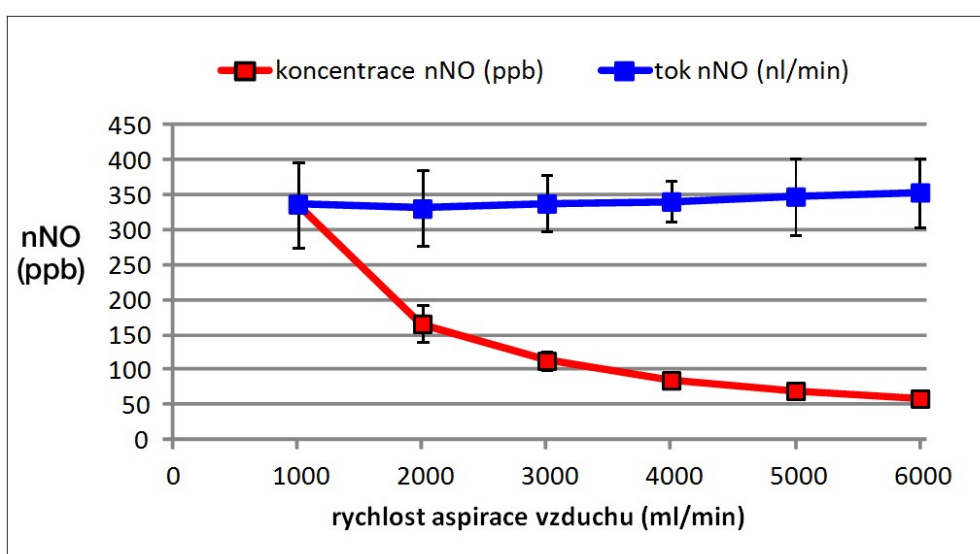
Počet pokusů nutných k dosažení 3 úspěšných měření (upraveno dle Kharitonov a kol., 2005)



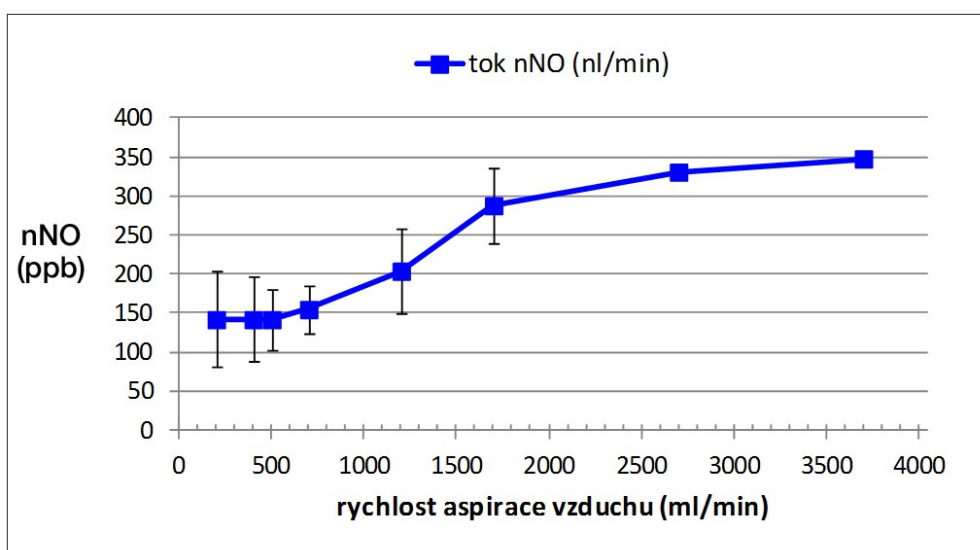
Techniku vyšetření zvládne většina dětí starších 6 let (> 85 %). Nazální vzduch je aspirován během výdechu přes nosní olivu pomocí sacího čerpadla. Hodnota nNO je stanovena po třech výdeších prováděných s více než 30 sekundovým intervalem.

Koncentrace nNO (objemová frakce v jednotkách ppb) a množství nNO uvolněné za časovou jednotku (= průtok × koncentrace NO, nL/min) při aspiraci vzduchu z obou nosních průduchů pomocí nosní masky vyšetřena v rozmezí nízkých transnazálních průtoků (= nízkých objemových rychlostí aspirace vzduchu).

Obr. 8: Vliv rychlosti aspirace vzduchu na hodnoty nNO
(upraveno dle Djupesland a kol., 1999)



Obr. 9: Vliv rychlosti aspirace vzduchu na hodnoty nNO
(upraveno dle Djupesland a kol., 1999)

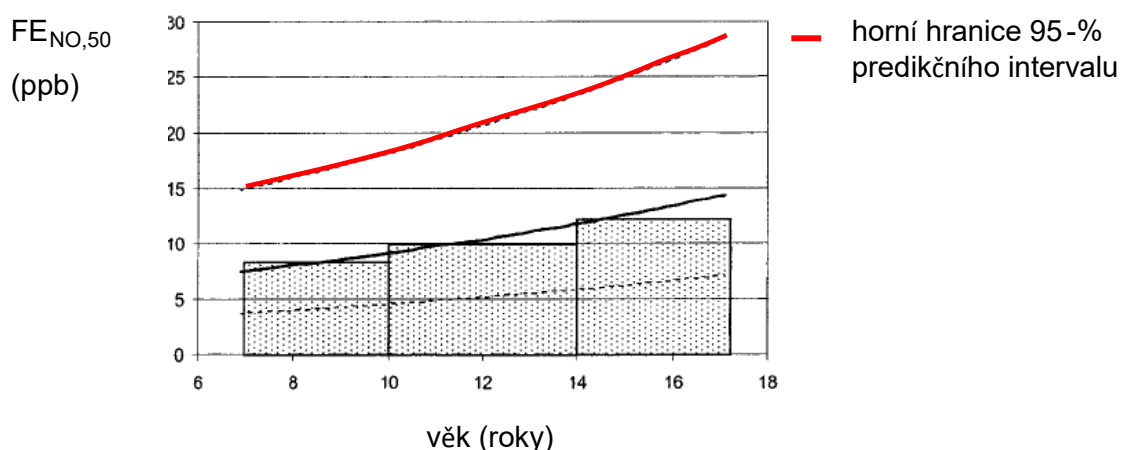


2.1.8 Variabilita koncentrací FE_{NO} u zdravých osob

2.1.8.1 Referenční rozmezí hodnot FE_{NO}

U dospělých zdravých osob a dětí starších 12 let jsou hodnoty FE_{NO} obvykle v rozmezí 5 až 20 ppb. Z důvodu biologické variability bylo definováno rozmezí zvýšených hodnot FE_{NO}, které se pohybují v rozmezí 20 až 50 ppb. Za vysokou hodnotu FE_{NO} je u dospělých a dětí starších 12 let považována hodnota vyšší než 50 ppb. U dětí je nutné řídit se věkovými hranicemi. Studie ukázaly, že ve věkové skupině do 17 let se hodnoty FE_{NO} zvyšují nelineárně v závislosti na věku (Obr. 10 a 11). Obdobná závislost byla pozorována také mezi FE_{NO} a tělesnou výškou (52). Pro děti do 12 let je fyziologické rozmezí 5 - 15 ppb, zvýšené hodnoty se pohybují mezi 15 - 35 ppb a vysoké hodnoty převyšují 35 ppb (Tab. 1).

Obr. 10: Vztah mezi FE_{NO} a věkem zjištěný u dětí školního věku a adolescentů. Průměrná hodnota, spodní i dolní hranice 95 % predikčního intervalu se zvyšují nelineárně (upraveno dle Malmberg a kol., 2006)



Tab. 1: Klasifikace hodnot FE_{NO}

FE _{NO,50} (ppb)	snížené	fyziologické	mírně zvýšené	vysoké
děti <12 let	< 5	5 - 15	15 – 35	> 35
děti ≥12 let a dospělí	< 5	5 - 20	20 – 50	> 50

Horní hranice hodnoty u zdravých dospělých osob závisí na věku a tělesné výšce. Pohlaví na hodnoty nemá vliv. Ženy a muži stejného věku a se stejnou výškou postavy měli srovnatelné hodnoty (54) (Tab. 2).

Tab. 2: Závislosti horní meze 95 % predikčního intervalu pro hodnoty FE_{NO} zdravých nekuřáků (N=1131) na věku a tělesné výšce.

Rozdíly mezi muži a ženami se stejnou výškou nebyly zjištěny
(upraveno dle Travers a kol., 2007)

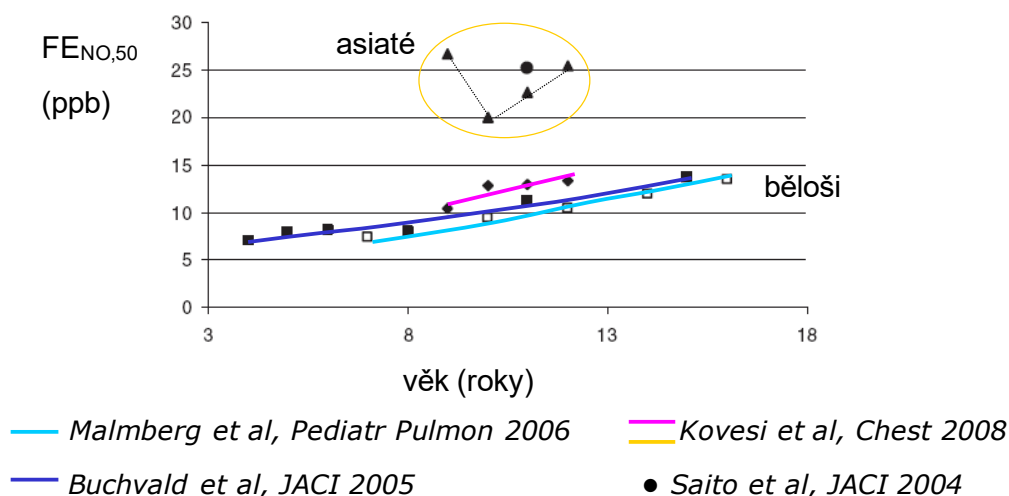
	věk (roky)				
výška	25-34	35-44	45-54	55-64	65-75
≤ 160 cm	24,0	24,5	28,8	31,5	34,1
160-169 cm	27,4	29,7	32,8	35,9	38,9
170-179 cm	31,2	34,1	37,3	40,9	44,3
180-189 cm	35,5	38,9	42,5	46,5	50,4
> 190 cm	40,4	44,3	48,4	53,0	57,4

	věk (roky)				
výška	25-34	35-44	45-54	55-64	65-75
≤ 160 cm	24,0	24,5	28,8	31,5	34,1
160-169 cm	27,4	29,7	32,8	35,9	38,9
170-179 cm	31,2	34,1	37,3	40,9	44,3
180-189 cm	35,5	38,9	42,5	46,5	50,4
> 190 cm	40,4	44,3	48,4	53,0	57,4

Jiné studie, jejichž autoři zkoumali vliv pohlaví nezávisle na vlivu tělesné výšky, našly o 15 až 25 % vyšší hodnoty FE_{NO} u mužů než u žen (55, 56). Nižší hodnoty u žen se vysvětlují nižší produkcí dusičnanů na systémové úrovni (nižší koncentrace v plazmě). Atopie koncentrace FE_{NO} zvyšuje. Kuřáci mají snížené hodnoty a vliv je podobný u osob s atopií i bez atopie (55). Atopie a tělesná námaha koncentrace FE_{NO} zvyšuje.

Popsány byly rozdíly mezi etniky. Čínské děti vydechují až dvojnásobně vyšší koncentrace FE_{NO} ve srovnání s bělošskou populací (57) (Obr. 11). U černošských dětí jsou oproti bělošským hodnoty zvýšené jenom mírně (58). Příčiny rozdílů nejsou jasné, popsané polymorfizmy genů pro endoteliální a neuronální NO syntázy neovlivňují koncentrace vydechovaného NO.

Obr. 11: Závislost průměrné hodnoty FE_{NO} na věku dětí - souhrn publikovaných studií (52, 58-60).



2.1.8.2 Vnější faktory způsobující biologickou variabilitu FE_{NO}

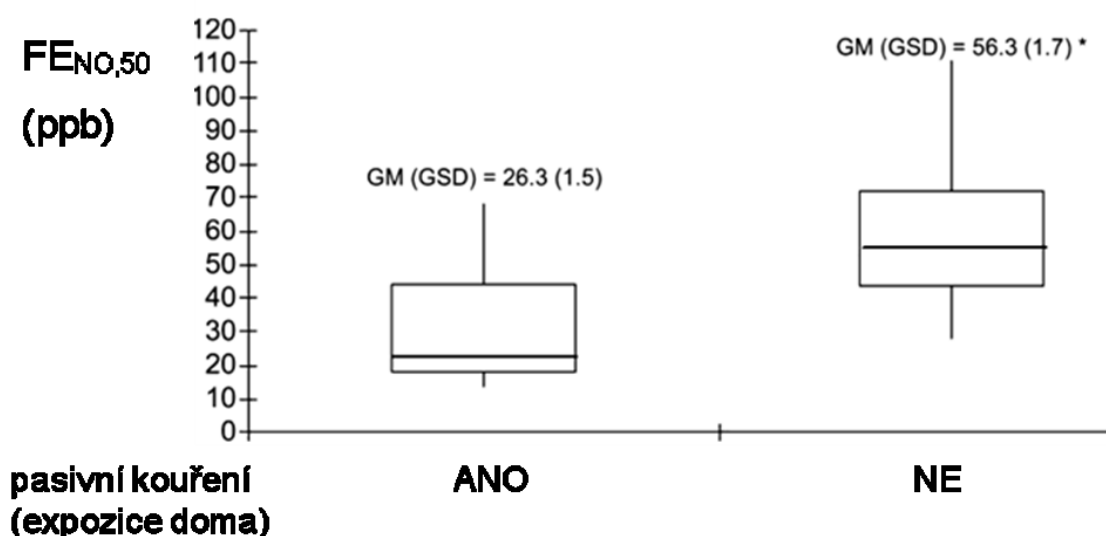
Výsledek vyšetření FE_{NO} ovlivňuje kromě výšky, pohlaví, věku a etnické příslušnosti i řada zevních faktorů (obsah dusičnanů v potravě a vzduchu, fyzická aktivita, dechový manévr, kouření cigaret, farmakoterapie). Potenciální faktory ovlivňující výslednou hodnotu FE_{NO} je třeba brát v úvahu při interpretaci výsledků v běžné praxi.

Bylo prokázáno, že potrava s vysokým obsahem dusičnanů zvyšuje FE_{NO}. Za 2 hod. po příjmu 230 mg dusičnanů v potravě (100 g listového salátu a 50 g ředkviček) se zvýšil FE_{NO} u zdravých neatopických osob o 10.4 ppb (62 %), za 15 hod. přetrvávalo zvýšení o 4 ppb (22 %) a teprve za 20 hod. byl zaznamenán pokles na jeho původní hodnoty (61). Je nutné se při vyšetření FE_{NO} dotázat na konzumaci potravy před testem a pacienta poučit, aby 24 hod. před dalším plánovaným vyšetřením nekonzumoval potraviny bohaté na dusičnany. Nevhodné z tohoto pohledu jsou i nápoje obsahující kofein, které mohou přechodně zvýšit hodnotu FE_{NO}, zatímco alkohol způsobující dilataci cév koncentraci FE_{NO} snižuje (62). Z tohoto důvodu se doporučuje, aby nemocný 1 hod. před vyšetřením nepil alkohol (zbytkový alkohol může být naúlezen za 12 a více hod.) a nic nejedl.

Kouření je dalším faktorem, který má vliv na interpretaci výsledků vyšetření FE_{NO}. U kuřáků bez alergie nebo astmatu je FE_{NO} až o 50 % nižší než u zdravých nekuřáků. Vliv kouření cigaret bezprostředně před testem je mírný. FE_{NO} se dále sníží asi o 10 %, ale do 30 min. se hodnota vrací na původní úroveň (sníženou oproti nekuřákům) (63). Vliv cigaretového kouře na hodnotu FE_{NO} je vysvětlován snížením aktivity enzymů iNOS a nNOS. Z tohoto důvodu se doporučuje, aby nemocný nejméně 1 hodinu před vyšetřením nekouřil.

Mírně snížené hodnoty FE_{NO} (10 %) byly zaznamenány také u osob udávajících kouření v minulosti po dobu delší než jeden rok (64). Pasivní kouření má u dospělých malý nebo zanedbatelný vliv. Nejednotné jsou závěry studií o vlivu pasivního kouření u dětí. Pasivní kouření u dětí s atopickým astmatem může způsobit výrazný pokles hodnot (65) (Obr. 12). Hodnota FE_{NO} klesá přibližně o 10 % vlivem zvýšené fyzické aktivity a usilovného výdechu bezprostředně před testem. Po spirometrii se hodnota snižuje o 10 % až 15 % a k návratu na původní hodnotu dochází za 1 hod. (66).

Obr. 12: Průměry hodnot FE_{NO} u dětí s atopickým astmatem a expozicí cigaretovému kouři v domácnosti (upraveno dle Laoudi, 2010)



Těhotenství nemění FE_{NO} u zdravých žen ani u astmatiček (67). Diurnální kolísání hodnot je u zdravých dospělých osob pravděpodobně do 15 %, odpolední hodnoty jsou vyšší než ranní (68, 69). Z tohoto důvodu je třeba provádět měření v přibližně stejnou denní dobu jako je tomu u spirometrie. Mechanismus diurnální variability je stále nejasný, uplatňovat se mohou faktory vnitřní (aktivita průduškového zánětu) i vnější (spánek, příjem potravy aj.). Vliv různých faktorů na hodnotu FE_{NO} shrnuje Tab. 3.

Tab. 3: Vliv různých faktorů na hodnotu FE_{NO}

Faktor	změna FE_{NO,50}
zvýšená fyzická aktivita	snížení o 5 až 25 % za 15 minut po standardní zátěži (6 min. chůze) -20 %, návrat za 1 hod.
usilovný výdech	po spirometrii beze změny nebo snížení o 10 % až 15 %
strava bohatá na dusičnany	za 2 hod. po příjmu 230 mg dusičnanů v potravě nárůst o 10 ppb (62 %), návrat za 20 hod.
velmi tučná strava	2 hod. po velmi tučném jídle nárůst o 15 %
zvýšený příjem argininu	0,2 g/kg: nárůst o 15 % 1 hod. po příjmu a pokles za 2 hod.
cigaretový kouř	aktivní kouření - snížení (chronický i akutní vliv) pasivní kouření u dospělých nemá vliv u dětí na snížení hodnot
zvýšená konzumace alkoholu	0,4 g etanolu/kg: pokles do 10 %
bronchokonstrikce	bronchoprovokační test s histaminem nebo metacholinem: snížení o 25 %
hypoxie	snížení

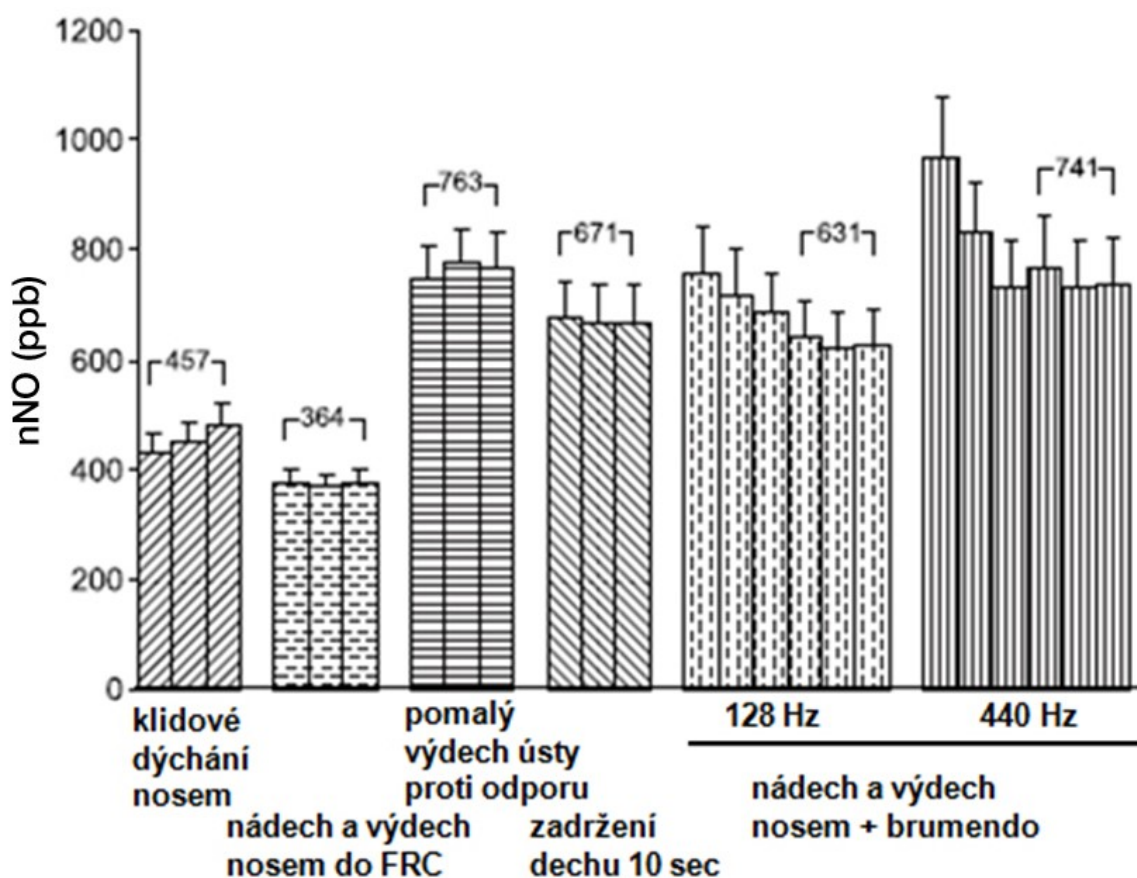
2.1.9 Variabilita koncentrací nNO u zdravých osob

Referenční rozmezí naměřených hodnot závisí na použité technice. Vliv má i koncentrace NO v okolním prostředí (s výjimkou výdechu kontrolovanou rychlostí nosem = analogie s FE_{NO} při výdechu ústy). Fyziologické hodnoty nNO byly měřeny několika autory, většinou však pouze u malého souboru dětí. Srovnání výsledků je mnohdy obtížné také pro nejednotnou techniku měření. Na rozdíl od měření FE_{NO} nejsou zatím výsledky měření nNO standardizovány. Největší skupina 289 zdravých dětí byla vyšetřena Strubenem a kol. s použitím chemiluminiscenčního analyzátoru. Hodnoty nNO se pohybovaly v rozmezí 200 až 800 ppb (70).

2.1.9.1 Srovnání technik vyšetření nNO

De Winter vyšetřil vzorek 38 zdravých mladých osob (10 mužů / 28 žen) při aspiraci vzduchu rychlostí 300 ml/min (5 ml/s) (71) (Obr. 13). V práci bylo srovnáno 6 metod měření – při klidovém dýchání, hlubokém nádechu a výdechu nosem, při pomalém výdechu ústy a při zadržení dechu. Výsledek byl na použité metodě silně závislý. Brumendo zvyšuje nNO, pravděpodobný mechanismus je zlepšená ventilace paranazálních sinů.

Obr. 13: Srovnání vlivu různých způsobů a rychlosti dýchání, včetně jeho zadržení, na hodnoty nNO (upraveno dle de Winter a kol., 2009)

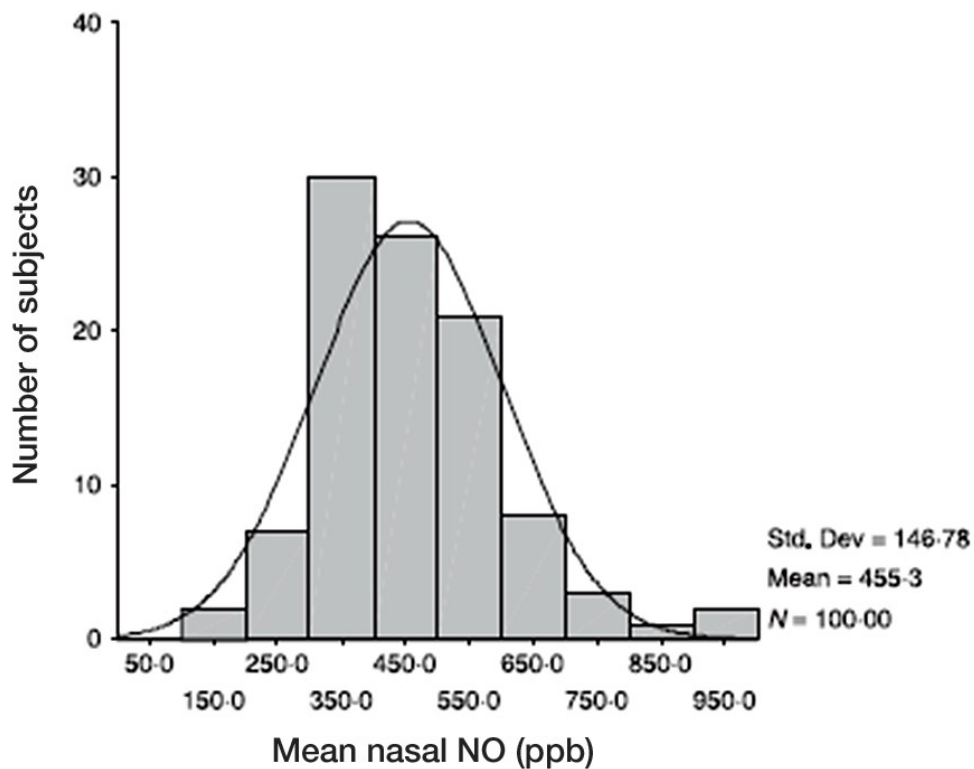


2.1.9.2 Faktory způsobující variabilitu nNO

Výsledek vyšetření nNO, stejně jako již dříve uvedeného vyšetření FE_{NO}, ovlivňuje řada zevních faktorů (obsah dusičnanů v potravě, alkohol, kofein, fyzická aktivita, aktivní a pasivní kouření, některá farmaka). Je proto vhodné, aby pacient 24 hod. před plánovaným vyšetřením nekonzumoval potraviny bohaté na dusičnany (15). Nevhodné jsou i nápoje obsahující kofein (zvyšuje hodnotu NO), či alkohol (snižuje NO). Obecným doporučením je nejíst a nepít alespoň 1 hodinu před vyšetřením.

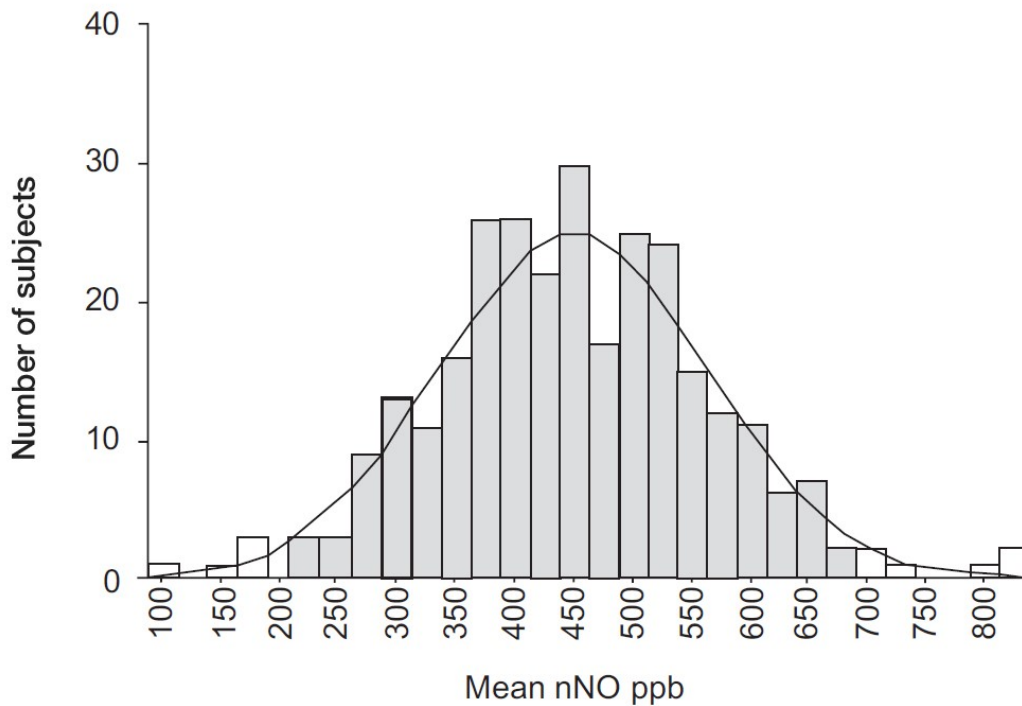
V Strubenově souboru 289 zdravých dětí ve věku od 6 do 17 let byla nalezena závislost na pohlaví, výšce, BMI a pasivním kouření. Hodnoty byly signifikantně nižší u dětí mladších 12 let a dětí s adenoidektomií v anamnéze. Nižší hodnoty nNO (100 – 200 ppb) byly popsány u dětí s nedokončenou pneumatizací vedlejších nosních dutin (70). Průměrná hodnota nNO byla 449 ppb.

Obr. 14: Referenční hodnoty nNO u zdravých dospělých (upraveno dle Struben a kol., 2005)



Hodnoty nNO vyšetřené u 100 zdravých dospělých nekuřáků (37 mužů a 63 žen, věkový interval 18-70 let). Byl použit chemiluminiscenční analyzátor. Průměr nNO byl 455 ppb. Koncentrace nNO se zvyšovala s tělesnou výškou (51 ppb / 10 cm) (72) (Obr.14).

Obr. 15: Referenční hodnoty nNO u zdravých dětí (upraveno dle Struben a kol., 2005)



2.1.9.3 Vliv dusičnanů v potravě na nNO

Po dvou dnech stravy chudé na dusičnany zdraví dobrovolníci (10 mužů a 10 žen, nekuřáci) zkonsumovali 100 g hlávkového salátu, 75 g špenátu, 100 g šunky, 75 g okurek, 3-5 brambor a rajče = 1 g dusičnanů a 1,4 g argininu (61). FE_{NO} se zvýšilo o 47% (rozsah: 7 – 89 %), nNO technikou aspirace při zadržení dechu o 13 % (rozsah: $0,1 \pm 36$ %)

2.1.9.4 Vliv kouření na hodnoty nNO

Nižší hodnoty nNO byly prokázány u kuřáků, kouření hodnoty nNO ovlivňuje však méně než FE_{NO} . Pravděpodobná příčina je nižší aktivita NOS2, obstrukce či snížená ventilace vedlejších nosních dutin a v neposlední řadě i zvýšená nosní sekrece u kuřáků (73) (Tab. 4).

Tab. 4: Vliv kouření na nosní NO (upraveno dle Zhou a kol., 2011)

Category	Sample Size	nNO (mean nL/min \pm SD)	CCR* (mean \pm SD)
Nonsmokers	35	303 \pm 90	1.06 \pm 0.77
NS/SHS	18	304 \pm 88	1.34 \pm 0.78
Smokers	35	278 \pm 136	5.43 \pm 1.46

2.1.10 FE_{NO} u onemocnění dýchacích cest

2.1.10.1 FE_{NO} u nemocných s atopií a alergií

Děti a dospělí s atopií a alergií mají zvýšené hodnoty FE_{NO} (60, 74). Koncentrace FE_{NO} u nich závisejí na míře expozice alergenům. U dětí je zvýšení FE_{NO} ovlivněno počtem pozitivních výsledků v kožním *prick* testu na pyly, roztoče a plísňe. V rozsáhlé populační studii u dětí bez symptomů astmatu (n=450) bylo při jednom pozitivním výsledku v kožním *prick* testu průměrné zvýšení ve srovnání s dětmi bez atopie o 50 % a při více než jednom o 100 %. Naproti tomu u dětí se symptomy astmatu v posledních 12 měsících bylo při jednom pozitivním výsledku zvýšení dokonce o 200%, zatímco u asymptomatických dětí o 30 % (interakce atopie-astma) (75).

FE_{NO} není biomarker atopie, ale spíše zánětu po expozici příčinným alergenem, který může být zatím bezpříznakový, ale který může vést po různě dlouhé době k rozvoji méně nebo více vyjádřených respiračních příznaků. Děti s atopickým průduškovým astmatem a sezónní alergickou rýmou mají zvýšené hodnoty FE_{NO}, které závisejí na expozici alergenu.

2.1.10.2 Vztah mezi FE_{NO} a infekcemi dýchacích cest

FE_{NO} je nespecifický ukazatel zánětu průdušek. Zvýšená hodnota FE_{NO} je také při infekci dýchacích cest, zejména u rinovirových infekcí (76), což je v souladu s indukci iNOS prokázanou v buňkách nosní sliznice (77) a také in vitro v epiteliálních buňkách dýchacích cest (78). Infekce vyvolaná RSV viry a viry chřipky v akutní fázi naopak mírně snižují FE_{NO} (79, 80). Bakteriální infekce dýchacích cest a plic nezvyšují FE_{NO}. Až o 800 % zvýšila hodnotu FE_{NO} infekce dýchacích cest u osob bez atopie a astmatu a její úprava do normálního rozmezí nastala až za 3 týdny (76).

2.1.10.3 Hodnoty FE_{NO} u dalších onemocnění

Zvýšené hodnoty FE_{NO} byly prokázány u nemocných s chronickou obstrukční plicní nemocí, bronchiektáziemi, tuberkulózou, gastroezofageálním refluxem, jaterní cirhózou, systémovým *lupus erythematodes* a potransplantační obliterující bronchiolitidou. Naopak nízké hodnoty FE_{NO} se vyskytují u osob s cystickou fibrózou, primární ciliární dyskinezií, bronchopulmonální dysplazií, infekcí virem HIV, plicní hypertenzí a u kuřáků (81).

Cystická fibróza (CF)

Přes přítomnost intenzivního zánětu je FE_{NO} u nemocných s CF snižené nebo normální. Příčiny nízké hodnoty FE_{NO} jsou pravděpodobně snižená difúze NO přes průduškovou stěnu a hlen a zvýšené odstraňování NO v reakci s kyslíkovými radikály (zvýšený oxidační stres). Také se může jednat o důsledek snížené exprese iNOS při chronickém zánětu. Snižování nazálního NO se vysvětluje poklesem ventilace vedlejších nosních dutin. Dýchacích cesty nemocných s CF jsou zvýšeně vystaveny oxidativnímu stresu. I z tohoto důvodu jsou ve vydechaném vzduchu a vzduchu v nosní dutině u nemocných s CF pozoruhodně nízké hodnoty FE_{NO} < 5 ppb. Neutrofilní uvolňují v dýchacích cestách superoxid, který rychle mění NO na dusitan. Touto reakcí lze pravděpodobně vysvětlit, proč u nemocných s CF nedochází k zvýšení hodnot FE_{NO} a ani ke vzestupu poměru NO₂/NO₃ ve sputu při antibiotické terapii recidivujících pneumonií (82).

Chronická obstrukční plicní nemoc (CHOPN)

Podle závěrů některých studií jsou koncentrace FE_{NO} u nemocných s klidovou CHOPN stejné jako u zdravých osob (83, 84). Navzdory tomu, že má zánět u CHOPN převážně neutrofilní charakter, většina autorů ale popisuje lehké zvýšení FE_{NO}, které činí maximálně dvojnásobek hodnot u zdravých osob (85, 86). Tato skutečnost se vysvětluje tím, že mezi astmatem a CHOPN existuje překryvný syndrom (87). Nicméně nemocní s CHOPN mají výrazně nižší koncentrace vydechaného NO ve srovnání s astmatiky před léčbou inhalačními kortikosteroidy.

Exacerbaci CHOPN doprovází nárůst koncentrací vydechaného oxidu dusnatého, který nereaguje tak rychle na podávání IKS, jako tomu je u astmatu. Intravenózně podávané KS snížily FE_{NO} za 10 dní po zahájení léčby (88). K poklesu koncentrací FE_{NO} dochází na rozdíl od exacerbace astmatu pozvolna v průběhu měsíců po stabilizaci nemoci.

Bronchiektázie

Klinické studie uvádějí snížené, normální i zvýšené hodnoty FE_{NO} u nemocných s bronchiektáziemi. Bylo prokázáno, že hodnota FE_{NO} koreluje s tíží onemocnění stanovenou pomocí počítačové tomografie (89). Analýza FE_{NO} při více výdechových rychlostech ukázala na snížené bronchiální NO u nemocných s primární ciliární dyskinezi (PCD) na rozdíl od nemocných s bronchiektáziemi bez PCD. Alveolární NO byl srovnatelný se zdravými osobami. Klinický význam stanovení FE_{NO} u nemocných s bronchiektáziemi by mohl být dvojnásobný. Za prvé při rozpoznání exacerbací bakteriální infekce dýchacích cest, kdy jsou naměřeny vysoké hodnoty FE_{NO}. Za druhé se odliší nemocní s CF a PCD, u nichž jsou abnormálně nízké koncentrace FE_{NO} a také nazálního NO (90).

Intersticiální plicní onemocnění

Klinický význam stanovení FE_{NO} u této skupiny onemocnění spočívá v rozpoznání plicní hypertenze a při průkazu aktivního zánětu. U nemocných s intersticiálním plicním onemocněním a sekundární plicní hypertenzí v rámci arteriosklerózy je na rozdíl od zdravých jedinců a nemocných s intersticiálním plicním onemocněním bez plicní hypertenze hodnota FE_{NO} snižena (91).

Exogenní alergická alveolitida

Zvýšené hodnoty FE_{NO} a CO u nemocných s exogenní alergickou alveolitidou závisí na aktivitě onemocnění (92).

Tuberkulóza

U nemocných s aktivní plicní tuberkulózou bylo popsáno dvojnásobné zvýšení hodnot FE_{NO} v porovnání se zdravými osobami. Po tříměsíční farmakoterapii antituberkulotiky se hodnoty FE_{NO} normalizují. Příčinou je zvýšená exprese NOS2 v alveolárních makrofázích (93).

Sarkoidóza

U aktivní plicní formy sarkoidózy nejsou hodnoty FE_{NO} zvýšeny (94).

V případě *syndromu dechové tísně u dospělých*, pro který je typický převážně neutrofilní zánět plic, je koncentrace FE_{NO} nízká, zatímco koncentrace peroxodisitanu v broncho-alveolární tekutině je zvýšená (81).

Tab. 5: Hodnoty FE_{NO} u onemocnění (upraveno podle Abba a kol., 2009).

ZVÝŠENÍ	SNÍŽENÍ	MALÝ VLIV
atopické průduškové astma	cystická fibróza	bronchiektázie
alergická rýma	primární ciliární dyskineze	klidová CHOPN
exacerbace CHOPN	primární plicní hypertenze	plicní fibróza
bronchiektázie	pneumonie	sklerodermie
karcinom plic	laryngotracheomalacie	sarkoidóza
transplantace plic (akutní rejekce)	infekce virem HIV	
RV infekce HDC	gastroezofageální reflux	
plicní tuberkulóza		
jaterní cirhóza, hepatopulmonální sy.		
nespecifické střevní záněty		
systémový lupus erythematodes		

2.1.11 Hodnoty nNO u onemocnění v otorinolaryngologii

Dnes již prakticky rutinní měření vydechovaného FENO alergology a pneumology vzbudilo v posledních letech zájem o měření nNO také u onemocnění horních cest dýchacích. V literatuře se tak začínají objevovat práce, zabývající se měřením nNO například u ciliární dyskineze, adenoidních vegetací, či akutní a chronické rinosinuitidy.

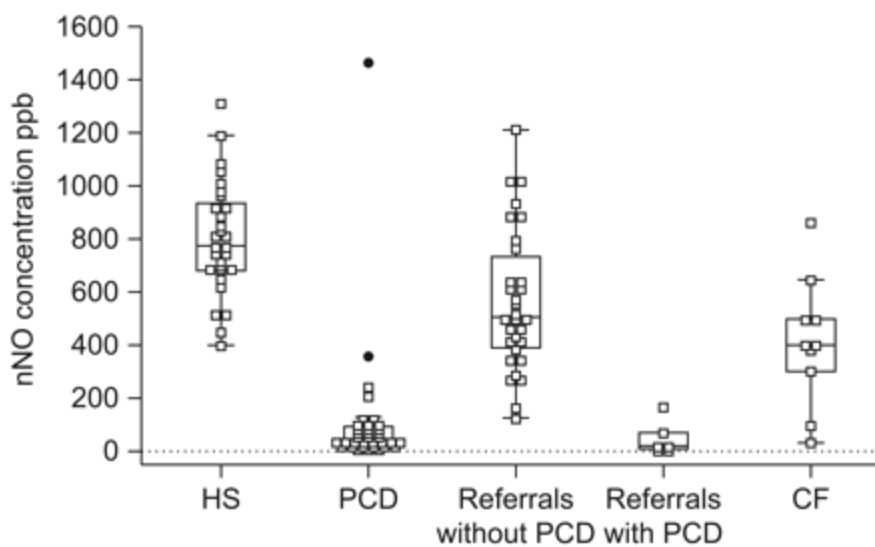
Ciliární dyskineze

Možnost vyloučit či potvrdit PCD jednoduchým měřením nosní koncentrace NO je klinicky velmi atraktivní, protože diagnóza PCD je obtížná a vyžaduje komplexní posouzení ciliární struktury a funkce včetně použití elektronové mikroskopie.

I proto existují snahy použít měření nNO k odlišení PCD od jiných onemocnění dýchacích cest, jako např. bronchiektázie, cystické fibrózy, nebo bronchiálního astmatu. Ukazuje se, že hodnoty nNO jsou u PCD významně nižší, než u ostatních klinických jednotek (95) (Obr. 16). Např. ve studii Naranga a kol. prokazovaly hodnoty nNO úrovně pod 250 ppb diagnózu PCD se senzitivitou 97 % a specificitou 90 % (96). Obdobně vysokou citlivost metody pro určení diagnózy PCD uvádějí také Horvath a kol. (97) a Corbelli a kol. (98).

V současné době lze proto měření nNO použít především jako primární skrínigovou metodu k vyloučení PCD u dětí s chronickými nebo opakujícími se respirační příznaky. V případě nízkých hodnot (nNO < 100 ppb) musí být diagnóza PCD potvrzena provedením sacharinového testu a následným mikroskopickým vyšetřením vzorku nosní sliznice v elektronovém mikroskopu.

Obr. 16: Hodnoty nNO u zdravých jedinců, u onemocnění cystickou fibrózou a ciliární dyskinezí. HS – zdraví jedinci, PCD – primární ciliární dyskineze, CF – cystická fibróza (upraveno dle Marthin a kol., 2011)



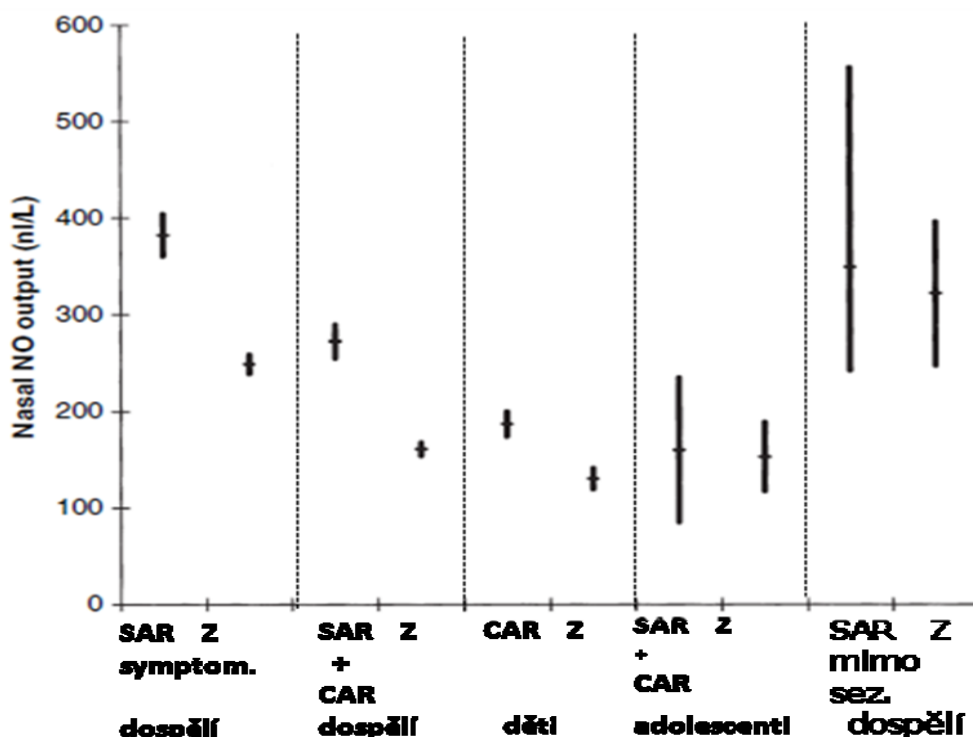
Adenoidní vegetace

Jediná práce Torretty a spolupracovníků, zabývající se vyšetřením nNO u dětí s adenoidními vegetacemi, udává průměr hodnot nNO 721 ppb s velkými individuálními rozdíly. Hodnoty vyšší než 450 ppb však byly naměřeny u více než 70 % dětí. Autoři současně prokázali výrazně nižší hodnoty nNO u velkých adenoidních vegetací, obturujících choany (99). Měření ukazují, že děti s adenoidními vegetacemi mají častěji zvýšené hladiny nNO v důsledku zánětu, u velkých vegetací však může být výsledkem měření i opačný vlivem obstrukce nosních dutin. Zdá se tedy, že svou roli v patogenezi rekurentního zánětu nosohltanu u adenoidních vegetací může hrát i NO.

Alergická rýma

Přestože bylo několika studiemi prokázáno, že hodnoty nNO jsou u pacientů s alergickou rýmou vyšší než v kontrolní skupině, výsledky zůstávají nejednoznačné (39). Problémem je, že zatímco u výrazné hypertrofie nosních sliznic jsou hodnoty nNO velmi nízké, u alergiků bez výrazné slizniční hypertrofie jsou hodnoty nNO až extrémně vysoké. To je následek prostorových změn v dutině nosní (100). Pro definitivní závěry bude nutné provedení dalších studií s velkým souborem pacientů.

Tab. 6: Hodnoty nNO u onemocnění alergickou rýmou. SAR – sezonní rýma, CAR – celoroční rýma (upraveno dle Struben a kol., 2009)



Chronická rinosinusitida

Ani u chronické rinosinusitidy (CHR) nejsou výsledky měření nNO zcela jednoznačné. Zatímco vyšší hodnoty mohou být naměřené při zvýšené aktivitě zánětu, nižší hodnoty, které jsou pro toto onemocnění typičtější, jsou důsledkem nosní obstrukce zvláště v případě masivní nosní polypózy (45). Bonmarito a kol. (45) i Colantonio a kol. (101) uvedli významně nižší hodnoty nNO u pacientů s nosní polypózou. Tyto výsledky byly připsány blokádě ostiomeatálních jednotek a tak nemožnosti nově vytvořenému NO dosáhnout nosní dutiny. NO je považován za lokální obranný mechanismus dýchacích cest proti bakteriím a virům, to je pravděpodobný důvod, proč pacienti s nosní polypózou trpí častějšími infekty vedlejších nosních dutin. Měření nNO může být použito také pro sledování úspěšnosti léčby. Vliv chirurgické a konzervativní léčby na hodnoty nNO studovali Ragab a kol. (102). Po chirurgické i konzervativní léčbě došlo k signifikantnímu zvýšení hodnot nNO. Chirurgická léčba vedla ke zvýšení nNO oproti pacientům léčeným konzervativně. Chirurgická léčba chronické sinusitidy tak může ve výsledku vést k obnově mukociliární

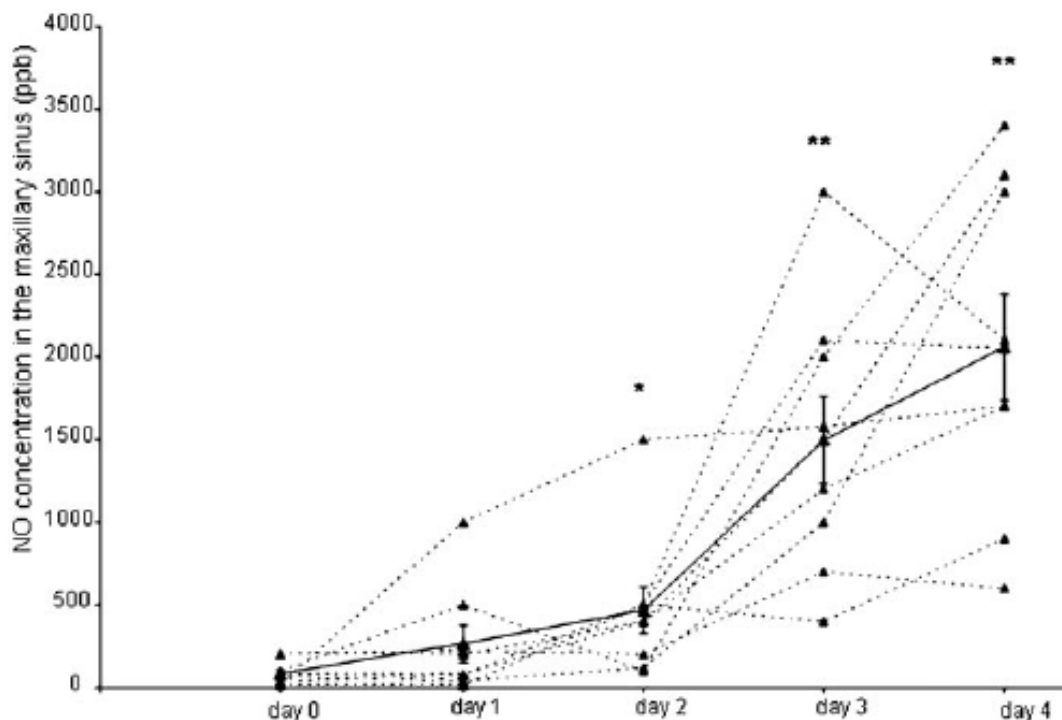
funkce sliznice s normální produkcí NO, který volně prochází ostii, čímž se zvýší hodnoty NO v nosní dutině. Ukazuje se tak důležitá role velikosti ostií vedlejších nosních dutin.

Vztah mezi rozsahem operace a hodnotami nNO sledovali Kirihene a kol., kteří současně prokázali snížení hodnot nNO po léčbě topickými kortikoidy (103). Lindberg a kol. ve svých studiích našli nižší hodnoty nNO u pacientů s chronickou rinosinuitidou (104, 105).

Akutní rinosinuitida

Deja a kol. (106) a Baraldi a kol. (107) ve studiích uvedli nižší hodnoty nNO u pacientů s akutní sinusitidou. Baraldi a kol. u dětí a Degano a kol. u dospělých prokázali zvýšení nNO po léčbě akutního zánětu antibiotiky (40, 107) (Obr. 17). Nízké hodnoty nNO u akutních sinusitid se vysvětlují obstrukcí ostií vedlejších nosních dutin lokálním edémem a kongescí sliznic.

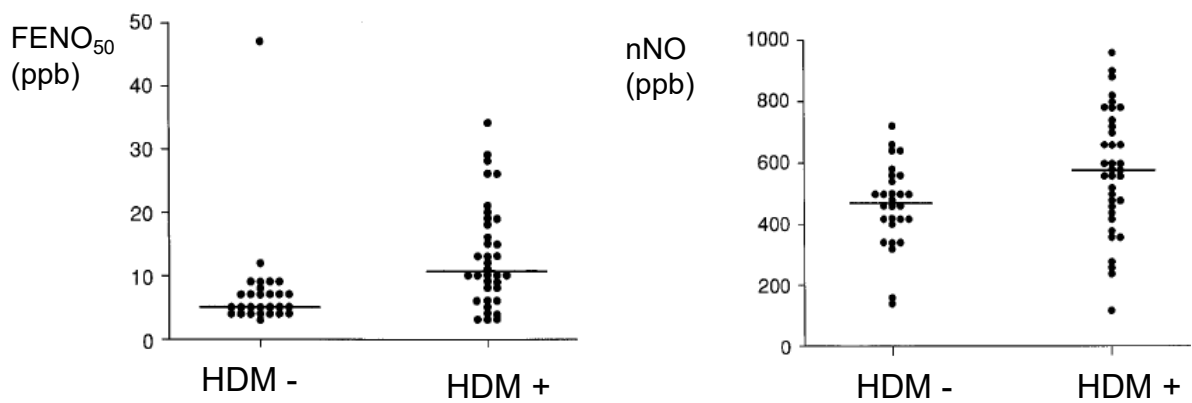
Obr. 17: Závislost hodnot nNO na léčbě akutní rinosinuitidy
(upraveno dle Degano a kol., 2005)



Atopie

Zvýšení nNO bylo zaznamenáno zejména u osob s přecitlivělostí na alergeny kočky domácí a roztočů, ale není tak výrazné jako u FE_{NO} (108) (Obr. 18).

Obr. 18: FENO a nosní NO u osob s přecitlivělostí na alergeny roztočů (HDM+) (upraveno dle Moody a kol., 2000)



3 Cíle disertační práce

Hlavní cíl je snaha přispět k objasnění diagnostického významu nNO a FE_{NO} v otorinolaryngologii u dětí s adenoidními vegetacemi.

Dílčí cíle:

1. Vyšetřit nNO a FE_{NO} u dětí a mladistvých s adenoidními vegetacemi.
2. Popsat vztah mezi velikostí adenoidních vegetací (stupeň obstrukce) podle epifaryngoskopického vyšetření a koncentracemi nNO a FE_{NO}.
3. Objasnit vztah mezi koncentracemi nNO a FE_{NO} a výsledkem rinomanometrického vyšetření.
4. Posoudit změny nNO a FE_{NO} v důsledku adenoidektomie (AT).

Pracovní hypotézy:

1. AV v závislosti na velikosti ovlivňují výsledky vyšetření nNO a FE_{NO}. Předpoklad je, že s rostoucí velikostí AV v důsledku chronického zánětu spojeného s AV dochází ke snížení ventilace vedlejších nosních dutin, které jsou hlavním zdrojem NO.
2. Aktivní přední RMM by měla naměřit vyšší odpor proti průtoku ve skupinách s vyšším stupněm velikosti AV a výsledek by měl korelovat (negativní korelace) s výsledkem nNO.
3. Po provedené adenoidektomii dojde zejména ve skupinách s vyšším stupněm velikosti AV k nárůstu nNO, zatímco odpor proti průtoku se sníží.

4 Metodika a soubor

4.1 Studovaný soubor

Studie byla schválena Etickou komisí Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Do studie byli zařazeni děti (a dospívající) s doporučením k vyšetření na Klinice otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice v Hradci Králové pro podezření na adenoidní vegetace jako příčinu chronických zdravotních obtíží. Stavby vylučující zařazení do studie byly akutní respirační onemocnění a závažná chronická onemocnění včetně cystické fibrózy, PCD a průduškového astmatu nedostatečně kompenzovaná. Kontrolní soubor tvořily děti s nezápalivým onemocněním a před plánovaným chirurgickým výkonem v oblasti hlavy a krku mimo AT.

4.2 Epifaryngoskopie a určení velikosti AV

Velikost AV byla posuzována pomocí peroperační endoskopie transorálně, používány byly endoskopy průměru 4 mm, úhlem pohledu 70 stupňů. Velikost AV je klasifikována 3 stupni, stupeň I je velikost AV nepřesahující 1/3 choan, II je v rozsahu 1/3 až 2/3 choan, stupeň III přesahující 2/3 choan.

4.3 Rinomanometrie

U větších dětí lze využít k objektivizaci nosní průchodnosti a nosního dýchání rinomanometrie. Pro potřeby této práce byl využíván Rhinomanometer 200 (Atmos, Lenzkirch, Germany). Při aktivní dynamické metodě měřen tlak a zároveň průtok vzduchu v jednom nosním průduchu v každém okamžiku vlastního vdechu a výdechu pacienta. Při předním způsobu je sonda zavedena do nosního vchodu jedné měřené strany a registruje změny tlaku v nosohltanu (princip tzv. kontralaterální rinomanometrie). Sonda pro měření průtoku je umístěna v masce, kterou má pacient přiloženou k obličeji. Z vytvořeného grafu (osa x - průtok, osa y - tlak) je možno hodnotit řadu kvantitativních i kvalitativních parametrů, pomocí mikroprocesorů jsou vypočítány hodnoty jednotlivých a celkového nosního odporu (109).

Byly získány dva záznamy rinomanometrické křivky (pro levou a pravou stranu). Ze záznamů byl odvozen transnazální inspirační průtok pro pravou a levou nostrilu (V'_{nar} a V'_{nal}) a celkový nosní inspirační průtok ($V'_{na} = V'_{nar} + V'_{nal}$) při transnazálním tlaku 150 Pa.

Vyšetřovaná osoba v klidu dýchala nosem se zavřenými ústy. Dále byly vypočítány hodnoty inspirační rezistence pro levou a pravou nostrilu (R_{nar} , R_{nal}) a celková rezistence $1/R_{na} = (1/R_{nar} + 1/R_{nal})$. Jak V_{na} , tak R_{na} byly vyjádřeny v absolutních jednotkách i relativně v procentech náležité hodnoty vypočítané podle publikovaného vztahu pro referenční populaci zdravých dětí. Stupeň obstrukce byl získán na základě porovnání výsledku s prahovými hodnotami pro V'_{nar} (%) podle práce Zapletal a kol.: stupeň 1 (bez obstrukce, normální průtok): 71 - 100 % predikované hodnoty; stupeň 2 (mírná obstrukce): 57 - 70 %; stupeň 3 (střední obstrukce): 43 - 56 %; stupeň 4 (těžká obstrukce): 29 - 42 % a stupeň 5 (velmi těžká obstrukce): < 29 % (109).

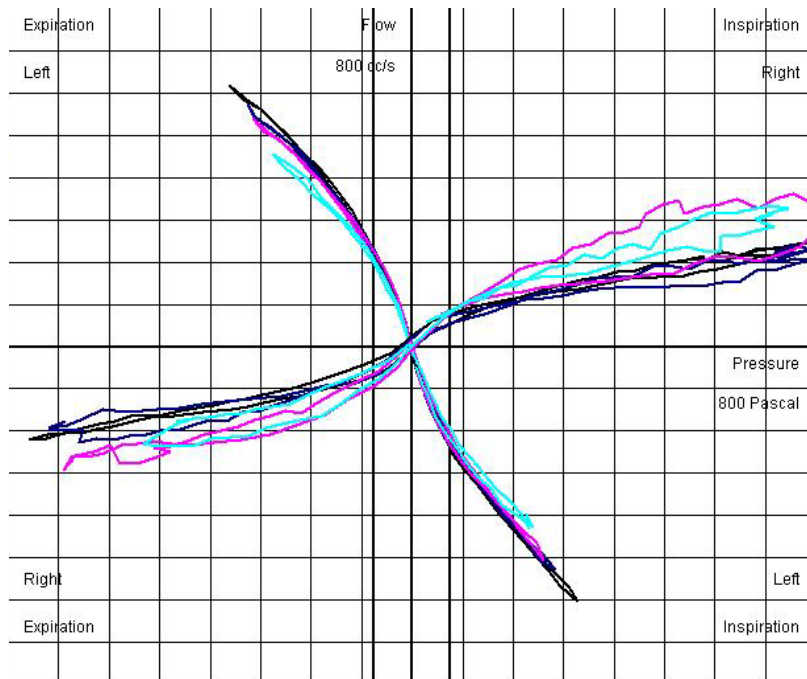
Obr. 19: Provedení rinomanometrie



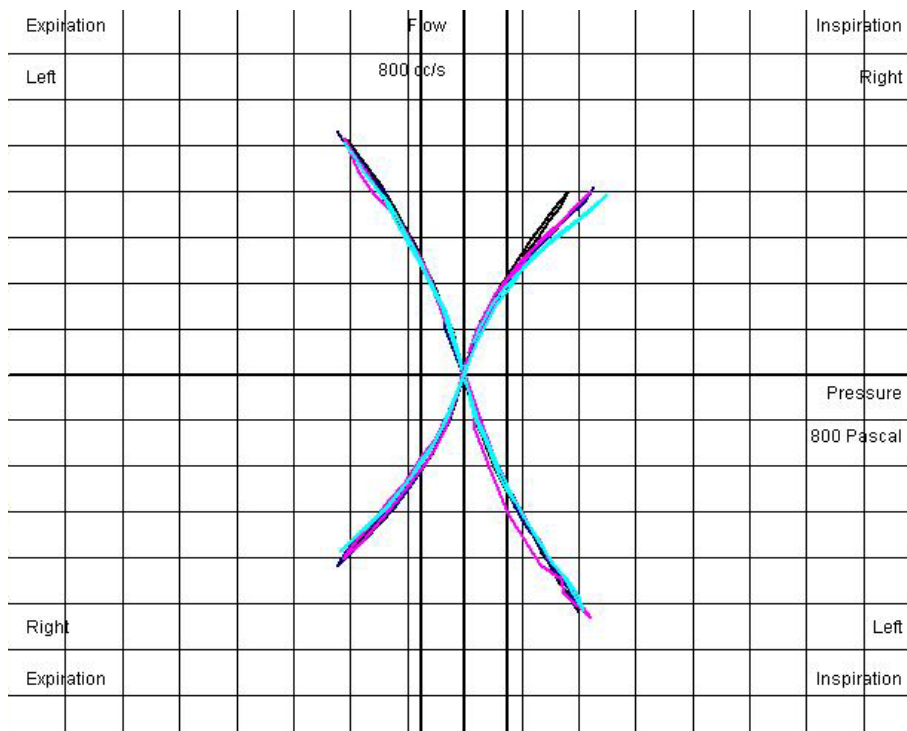
Obr.20: Rinomanometr



Obr. 21: Záznam RMM před operací - zhoršená nosní průchodnost



Obr.22: Záznam RMM po operaci – zlepšení nosní průchodnosti



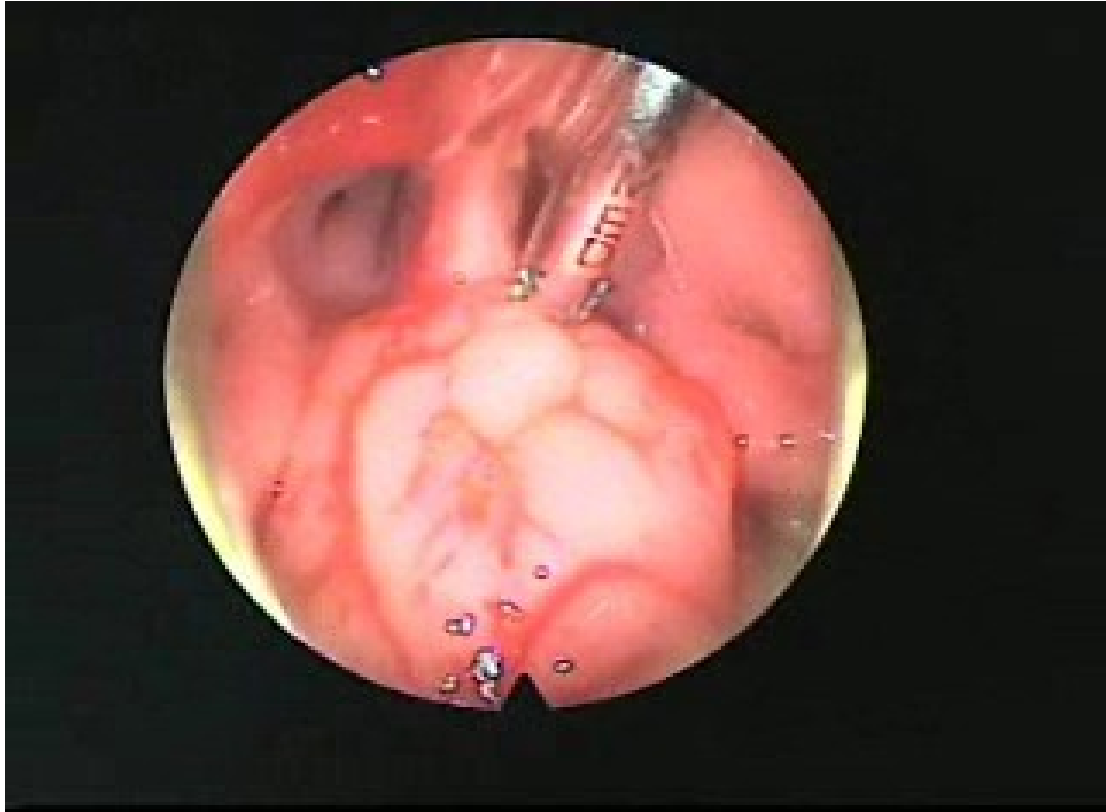
4.4 Adenoidektomie

Indikace k výkonu byly mechanická obstrukce nosohltanu, spojená až s trvalou neprůchodností, nosní sekrecí, chrápáním a chronická sekretorická otitida způsobující nedoslýchavost převodního typu. Dále adenoidní vegetace jako možný infekční fokus u recidivujících respiračních infekcí, recidivujících středoušních zánětů a sleep apnoe syndromu.

U přijímaných dětí byla předoperačně vyšetřena krevní srážlivost (INR, APTT). Během výzkumu po zavedení dotazníku na koagulační poměry dítěte a rodičů laboratorní vyšetření již bylo požadováno pouze u podezření na poruchu srážlivosti. Bylo požadováno vyšetření pediatrem před celkovou anestezií, ve které byl výkon prováděn.

Nemocný ležel na zádech, s hlavou v mírném záklonu. Vlastní výkon byl prováděn v celkové anestézii s perorální endotracheální intubací. Poté byl zaveden ústní rozvěrač, provedena tamponáda hypofaryngu longetou. Odtážení měkkého patra bylo provedeno bužiení zavedenými nosní dutinou a vytažených ústy. Nejprve byl endoskopicky zhodnocen nález a velikost AV. Operatér zaznamenal velikost AV a jejich vztah k choanám a ústím sluchových tub. Velikost AV byla posuzována z peroperační transorální endoskopie s použitím endoskopů Wolf průměru 4 mm s úhlem pohledu 70 stupňů. Podle velikosti AV byly rozlišovány 3 stupně, přičemž stupeň I je velikost AV nepřesahující 1/3 choan, stupeň II AV v rozsahu 1/3 až 2/3 choan, stupeň III AV přesahující 2/3 choan. AV byla odstraněna Beckmannovou kyretou a případná zbylá drobná adenoidní tkáň v oblasti choan či ústí sluchových tub poté jemným zahnutým chapáčkem. Závěrem výkonu byla posouzena operační plocha, stavěno možné krvácení elektrokauterizací s následným odstraněním tamponády a ústního rozvěrače s jazykovou lopatkou.

Obr. 23: Adenoidektomie - pohled 70 stupňovou optikou



Obr. 24: Endoskopická adenoidektomie



4.5 Vyšetření koncentrace nNO a FE_{NO}

Koncentrace FE_{NO} a nNO byly změřeny na chemiluminiscenčním analyzátoru NO (CLD88sp, Ecomedics, Duernten, Švýcarsko). Postup vyšetření FE_{NO} při výdechové rychlosti 50 ml/s byl standardní, shodný s mezinárodními doporučeními (2). Při měření nNO byl vzduch nasáván z kanyly v nazální zátce rychlostí 330 ml/min. a vyšetřované osoby prováděly standardní výdech ústy proti mírnému odporu jako při vyšetření FE_{NO}. Objemový tok nosního NO (nl/min) byl vypočítán jako součin koncentrace nNO (ppb) a rychlosti nasávání vzduchu kanylou (0,33 l/min) a porovnán s prahovou hodnotou využívanou při skríningu PCD 73 nl/min.

4.6 Alergologické vyšetření

Dále bylo u všech dětí provedeno alergologické vyšetření v odborné ordinaci na Dětské klinice FNHK. Kožní prick testy soupravou Alyostal (Stallergènes, Paříž, Francie) zahrnuly běžné inhalované alergeny (pyl břízovitých stromů, travin, obilovin, pelyňku, alergeny roztočů, kočky, psa a plísní rodu *Cladosporium* a *Alternaria*) a pozitivní a negativní kontrolu. Spirometrie byla provedena standardním postupem s využitím přístroje Masterscreen (Jaeger, Hochberg, SRN) (110).

4.7 Statistické metody

Ke statistickým výpočtům byl použit program GraphPad Prism verze 5.0 pro Windows (GraphPad Software, San Diego, Kalifornie, USA). Naměřené hodnoty nNO a FE_{NO} byly statisticky analyzovány neparametrickými testy (Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, Wilcoxon, Spearman) a za hladinu statistické významnosti byla stanovena hodnota $p < 0,05$.

5 Výsledky

5.1 Charakteristiky souboru

Studovaný soubor zahrnul 143 dětí (a dospívajících) ve věku od 5 do 18 let (38 zdravých a 105 nemocných s AV). Na základě výsledku epifaryngoskopie byl soubor nemocných podle velikosti a vztahu adenoidních vegetací (AV) k choanám rozdělen na tři stupně I, II a III. Základní charakteristiky kontrolního souboru a nemocných uvádí Tab. 7.

Věk byl v kontrolním souboru a ve skupině AV I vyšší než ve skupinách AV II a AV III. Ve skupině AV I byl výrazně vyšší výskyt atopie, alergické rýmy a průduškového astmatu. Je možné se oprávněně domnívat, že alergické onemocnění horních cest dýchacích se v této skupině významně spolupodílelo na chronických zdravotních potížích. V souboru bylo 55 osob s atopií (26 dívek a 29 chlapců) s mediánem věku 9,1 let (rozmezí 5,0 - 17,9) a 88 osob bez atopie (38 dívek a 50 chlapců) s průměrným věkem 8,2 let (SD 3,8). Věk osob s atopií a bez atopie se nelišil ($p = 0,77$).

Tab. 7: Charakteristiky souboru dětí a dospívajících.

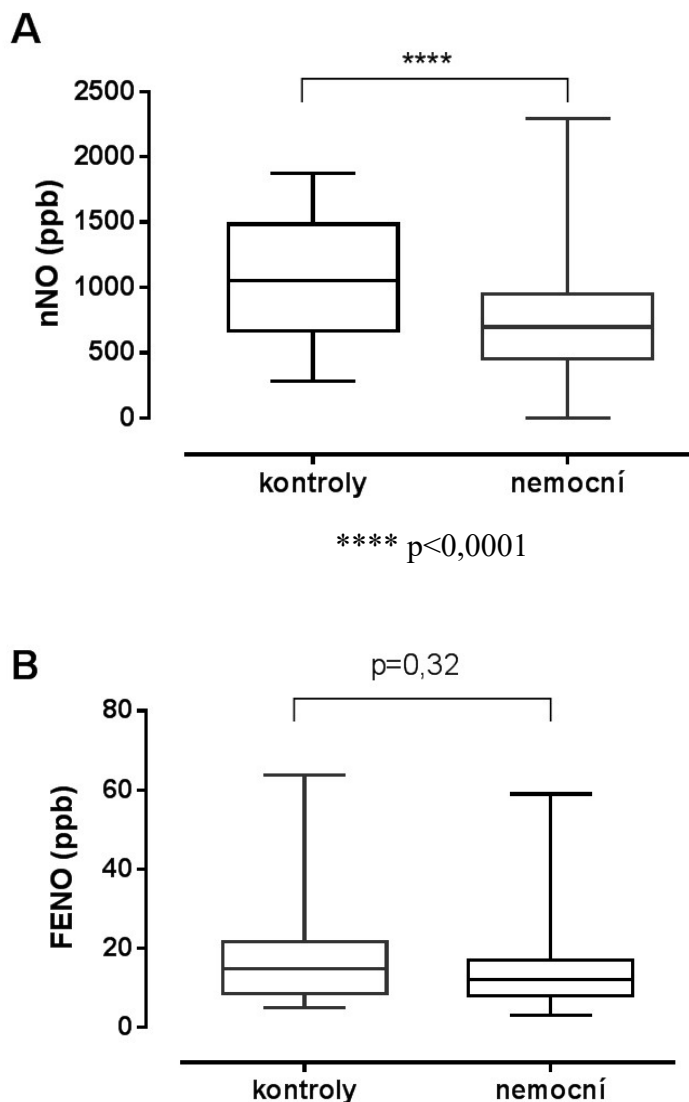
	kontroly	stupeň adenoidních vegetací		
		I	II	III
počet (n)	38	27	48	30
pohlaví (n) (chlapci/dívky)	19/19	15/12	25/23	20/10
věk (roky) ^a	12,9 (6,0-17,8) ^{II,III}	11,0 (5,9-17,9) ^{II,III}	8,9 (5,0-16,1) ^{K,I}	8,8 (5,2-17,2) ^{K,I}
FEV ₁ (% n.h.) ^b	101 (10,3) ^I	109 (11,9) ^K	103 (10,0)	103 (14,1)
pozitivita prick testu (%)	36,8	63,0 ^{II,III}	31,3 ^I	30,0 ^I
alergická rýma (%)	0 ^I	29,6 ^{K,II}	6,3 ^I	10
atopické astma (%)	0 ^I	29,6 ^{K,II,III}	2,1 ^I	3,3 ^I

a...medián a rozmezí; b...průměr a směrodatná odchylka. Horní indexy ukazují, mezi kterými skupinami byly zjištěny statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$).

5.2 Výsledky vyšetření nNO a FENO u nemocných v závislosti na stupni AV a v kontrolní skupině

V celém souboru se hodnoty koncentrací nNO pohybovaly v širokém rozmezí 1 až 2290 ppb, kdy jejich medián dosáhl 731 ppb. Koncentrace nNO byla vyšší v kontrolním souboru než v souboru nemocných s chronickými zdravotními potížemi ukazujícími na AV ($p < 0,0001$, Obr. 25A). Mediány koncentrace nNO (25. až 75. percentily) činily 1051 ppb (669 – 1485) a 698 ppb (457 – 948). Koncentrace FENO byla v obou skupinách srovnatelná (Obr. 25B).

Obr. 25 A, B: Koncentrace nosního oxidu dusnatého (nNO, A) a frakce NO ve vydechovaném vzduchu (FENO, B) v kontrolním souboru a v souboru nemocných s chronickými zdravotními potížemi ukazujícími na AV.



Po rozdělení souboru nemocných na tři podskupiny AV I až III byla koncentrace nNO nejvyšší v kontrolním souboru a u nemocných se snižovala s rostoucím stupněm AV (Tab. 8). Jelikož nebyla v kontrolním souboru provedena epifaryngoskopie, byly dále porovnány výsledky vyšetření nNO a FE_{NO} pouze v podskupinách nemocných s různým stupněm AV. Kruskal-Wallisův test potvrdil statisticky významný vliv stupně AV na koncentraci nNO ($P < 0,01$, Obr. 26). Také analýza ANOVA ($p < 0,05$) a *post-hoc* testování lineárního trendu k poklesu nNO se zvyšujícím se stupněm AV potvrdila signifikantní závislost nNO na stupni AV ($p < 0,01$). Koncentrace FE_{NO} nebyla stupněm AV ovlivněna (Obr. 26). Byl pozorován trend k vyšším hodnotám ve skupině AV I, ale rozdíl byl jen hraničně signifikantní.

Tab. 8: Výsledky vyšetření nosního NO (nNO) a frakce NO ve vydechovaném vzduchu (FE_{NO})

	kontroly (K)	stupeň adenoidních vegetací		
		I	II	III
počet (n)	38	27	48	30
nNO (ppb)	1050 (669-1485) ^{II,III}	814 (477-1190) ^{III}	728 (597-970) ^K	539 (397-727) ^{K,I}
FENO (ppb)	14,8 (8,5-21,7)	16,4 (10,5-31,8)	10,5 (7,1-15,8)	12,5 (8,0-17,3)

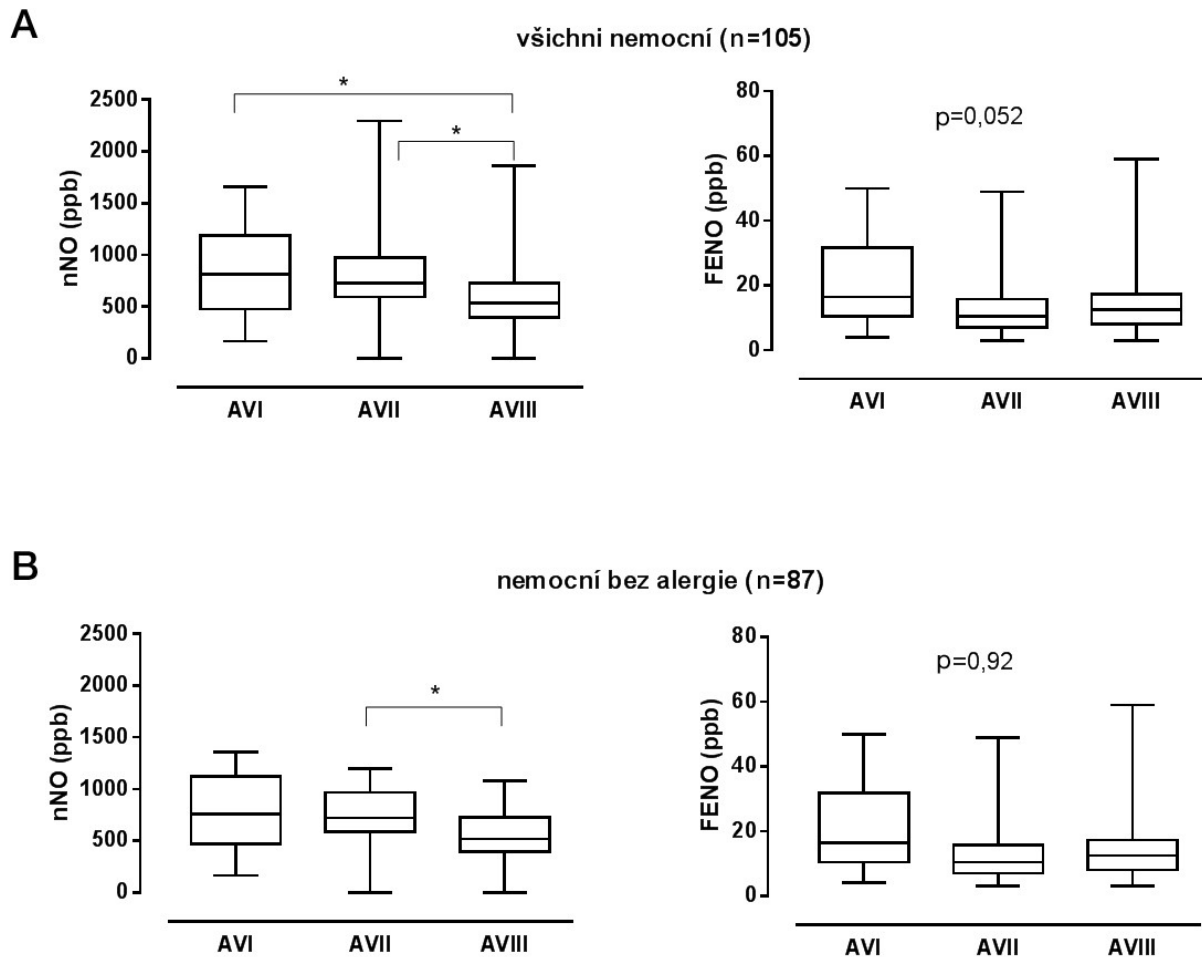
Tabulka uvádí mediány a rozmezí mezi 25. a 75. percentilem. Kruskalův-Wallisův test na vliv skupiny: nNO $P < 0,001$; FE_{NO} $P = 0,070$. Horní indexy ukazují, mezi kterými podskupinami byly zjištěny statisticky významné rozdíly (Dunnův test, $p < 0,05$)

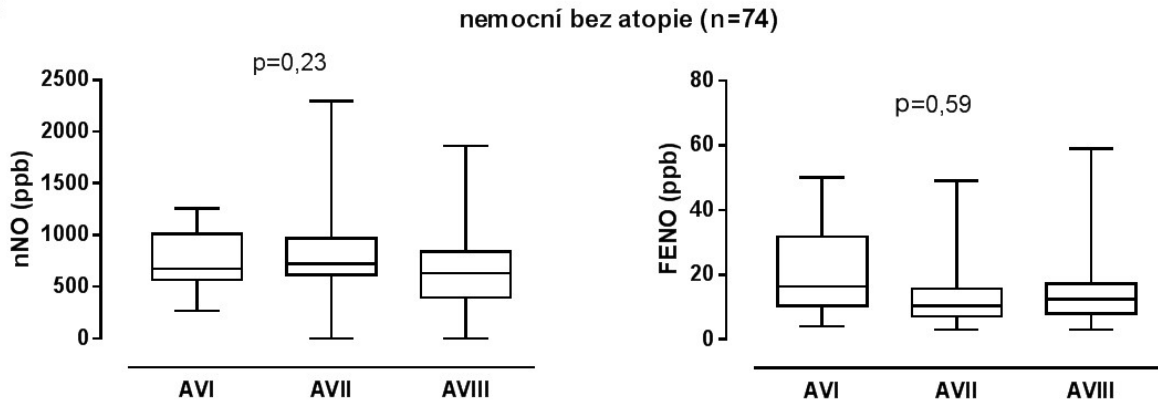
Vzhledem k vyššímu výskytu atopie i alergických onemocnění ve skupině AV I byla navíc statistická analýza vlivu AV provedena u nemocných bez alergického onemocnění (alergická rýma a/nebo astma) a také zvlášť u nemocných s atopií a bez atopie. Po vyřazení osob s alergickým onemocněním (alergická rýma a/nebo astma) Kruskal-Wallisův test opět potvrdil statisticky významný vliv stupně AV na koncentraci nNO ($P < 0,02$, Obr. 26 prostřední panel). Koncentrace v podskupině AV III byla nižší než v podskupině AV II.

Po vyřazení nemocných s atopií se počet pacientů v souboru snížil na 74 osob. Vliv stupně AV na nNO nebyl u nemocných bez atopie prokázán. Koncentrace FE_{NO} nebyla stupněm AV ovlivněna.

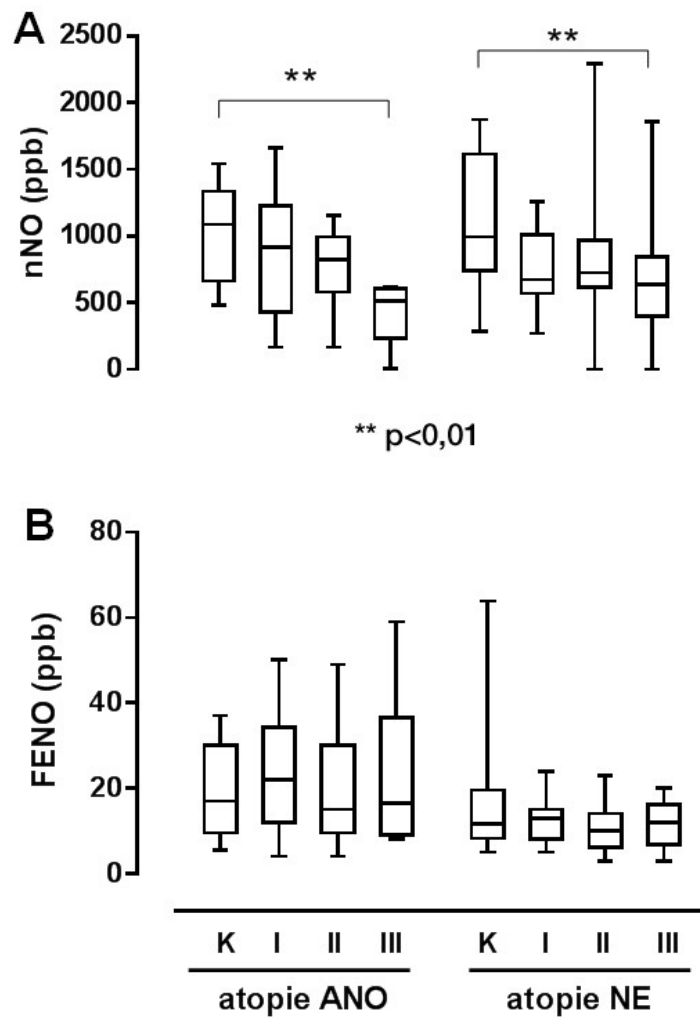
Při porovnání s kontrolním souborem byla závislost mezi nNO a stupněm AV potvrzena u osob s atopií. U osob bez atopie byl patrný rozdíl mezi kontrolami a všemi skupinami nemocných, zatímco vliv stupně AV nebyl zaznamenán (Obr. 27). Analýzy závislosti koncentrace FE_{NO} na stupni AV provedené zvlášť u atopiků a neatopiků neprokázaly rozdíly.

Obr. 26 A, B a C: Srovnání výsledků vyšetření nNO a FE_{NO} u nemocných s adenoidními vegetacemi stupňů (A-C).



C

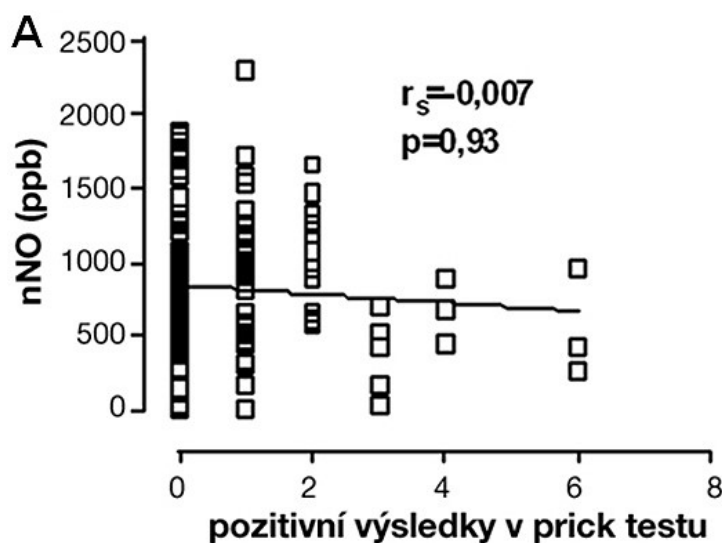
Obr. 27 A, B: Srovnání výsledků vyšetření nNO (A) a FE_{NO} (B) u kontrolního souboru (K) a u nemocných s adenoidními vegetacemi stupňů I, II a III v závislosti na výskytu atopie.

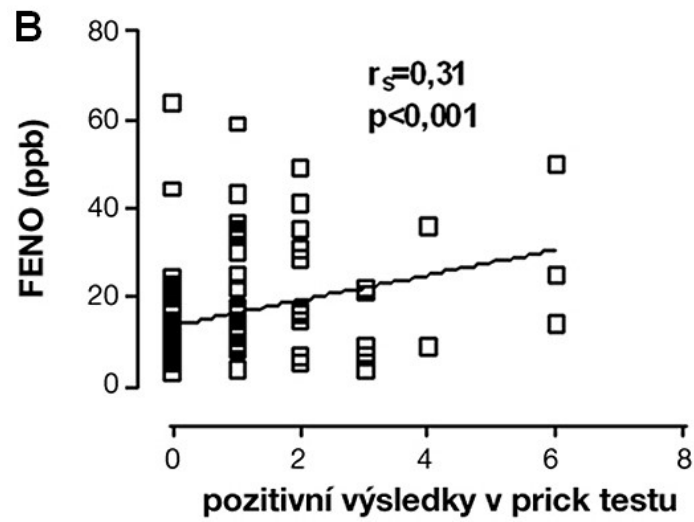


5.3 Vliv dalších faktorů na výsledky vyšetření nNO a FE_{NO}

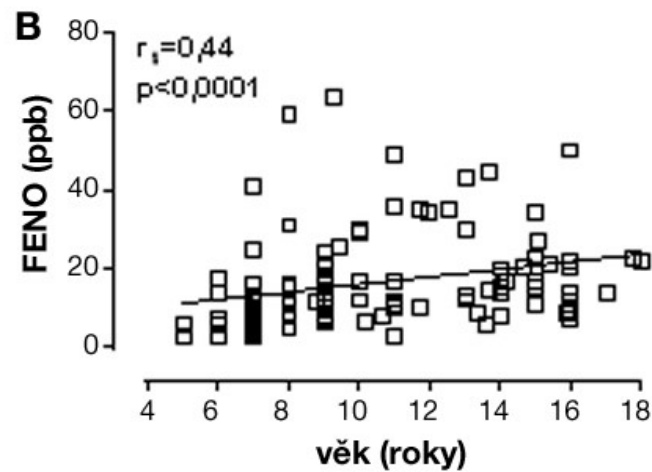
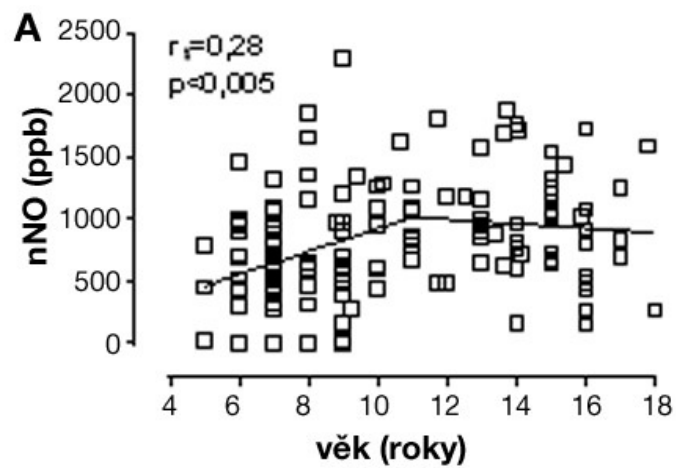
Mediány nNO se u osob s atopií (698 ppb) a bez atopie (752 ppb) nelišily ($p=0,90$). Koncentrace nNO nezávisela na počtu pozitivních výsledků v prick testu ($r_s=-0,007$; $p=0,93$) (Obr. 28A). Zvyšovala se s věkem, ale korelace byla netěsná ($r_s=0,28$; $p<0,005$). Nárůst navíc nebyl monotónní a od věkové hranice 12 let byl patrný mírný pokles nNO (Obr. 29A). Na rozdíl od nNO byla u osob s atopií koncentrace FE_{NO} vyšší (medián 16,8) než u osob bez atopie (medián 11,0 ppb; $p<0,0005$) a závisela na počtu pozitivních výsledků v kožním prick testu ($r_s=0,31$; $p<0,001$) (Obr. 28B). Koncentrace se zvyšovala s věkem ($r_s=0,44$; $p<0,0001$) (Obr. 29B).

Obr. 28 A, B: Vztah mezi počtem pozitivních výsledků v kožním prick testu a nNO (A); FE_{NO} (B).





Obr. 29 A, B: Vztah mezi věkem a nNO (A) ; FE_{NO} (B).



5.4 Hodnoty průtoku nosního NO (FnNO) před adenoidektomií a jejich porovnání s prahovou hodnotou testu na primární ciliární dyskinezi

Porovnání s prahovou hodnotou objemového toku nNO 73 nl/min, která byla navržena pro screeningový test na PCD, ukázalo, že z celého souboru 105 nemocných je výsledek nižší u 10 (9,5 %). Z nich 4 pacienti měli atopii. Ve skupinách AV I, II a III se jednalo o 1 (4,3 %), resp. 4 (8,3 %) a 5 (16,7 %) nemocných. Nemocní s podprahovou hodnotou objemového toku nNO měli s ostatními nemocnými srovnatelný věk (medián 8,5 oproti 9,1 let; $p = 0,45$) i výsledky vyšetření FE_{NO} (medián 15 oproti 12 ppb; $p=0,84$) a FEV₁ (medián 106 oproti 104 % n.h.; $p = 0,73$).

Tab. 9: Koncentrace nNO (nNO a hodnoty toku nNO (FnNO) před a za jeden měsíc po adenoidektomii (AT).

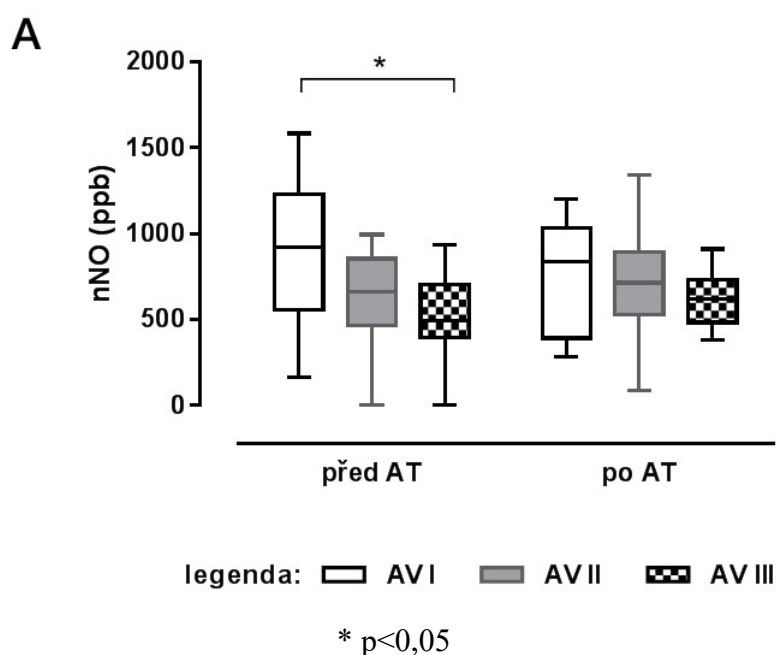
		Skupiny pac. dle stupně adenoidektomií			p – hodnota pravděpodob.
		1	2	3	
nNO (ppb)	před AT	920 (555-1233)	663 (467-855)	491 (396-706) ¹	<0,05
	po AT	839 (392-1035)	713 (526-895)	633 (564-745) ^b	0,40
FnNO (nL/min)	před AT	303 (183-407)	219 (154-282)	162 (131-233) ¹	<0,05
	po AT	277 (129-341)	235 (174-295)	209 (186-246) ^b	0,40

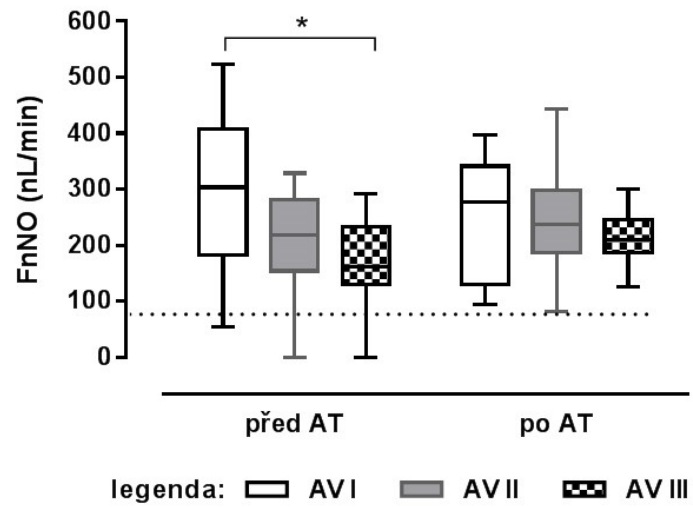
Hodnoty jsou mediány a rozmezí pro (25-75percentily) a...p-hodnota získaná Kruskal-Wallisovým testem. Výsledky srovnání hodnot mezi skupinami ($p < 0,05$, Dunn test). b... Signifikantní výsledky párového srovnání hodnot před a po adenoidektomii ($p < 0,05$).

5.5 Změny hodnot nNO a FnNO po adenoidektomii

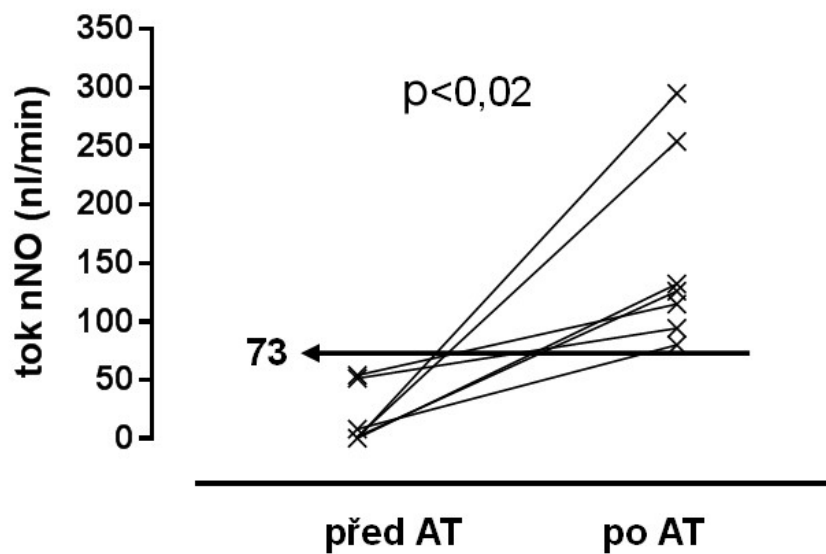
U menší části souboru nemocných s AV (n=42) bylo vyšetření nNO opakováno za 4 týdny po AT. Ve skupinách AV I, II a III druhé vyšetření podstoupilo 9, 20 a 13 nemocných a mediány rozdílu mezi koncentrací nNO vyšetřenou po AT a před jejím provedením dosáhly - 1 ppb, 100 ppb a 335 ppb. Tabulka uvádí výsledky nNO a FnNO u části souboru s opakovaným vyšetřením za jeden měsíc po adenoidektomii. Výsledky byly porovnány mezi skupinami (tj. v závislosti na stupni AV) a změny výsledků párovým testem. Párové srovnání změn toku nNO (FnNO) před a po adenoidektomii (Obr. 30 A, B). Rozdíl byl statisticky významný pouze ve skupině AV III ($p < 0,05$). Z 10 nemocných s původně podprahovými hodnotami objemového toku nNO podstoupilo 7 opakované vyšetření po adenoidektomii. Medián (25. - 75. percentil) objemového toku nNO před a po AT u nich byl 1,3 nl/min. (0,3-52) a 126 nl/min. (94 - 254) ($p < 0,02$). U žádného nemocného nebyl po AT výsledek nižší než prahová hodnota 73 nl/min. (Obr. 31).

Obr. 30 A, B: nosní NO (nNO) (A) a tok nosního NO (FnNO) (B) před a po adenoidektomii ve skupinách nemocných s různým stupněm adenoidních vegetací (AV). Tečkovaná linie ukazuje prahovou hodnotu FnNO ve skrínigovém testu na primární ciliární dyskinezi (FnNO = 77 nL/min).



B

Obr. 31: Párové srovnání výsledku vyšetření toku nNO (FnNO) u nemocných s podprahovými hodnotami FnNO v testu na primární ciliární dyskinezi před adenoidektomií (prahová hodnota toku nNO 73 nl/min je vyznačena šipkou), kteří podstoupili druhé vyšetření za měsíc po adenoidektomií (n=7). Po adenoidektomií byl pozorován vzestup toku nNO (FnNO) až nad prahové hodnoty.



5.6 Výsledky rinomanometrického vyšetření

Hodnoty V'_{na} and R_{na} před adenoidektomií se ve skupinách s různým stupněm AV nelišily. (Tab. 10, Obr. 32 - 34). Při vyjádření relativní četnosti hodnot R_{na} v procentech náležité hodnoty kontrolní populace ($R_{na} = 100\%$) byly naměřené hodnoty u nemocných s AV všech stupňů významně zvýšené (o 40, 27 a 37 % ve skupinách AV I, II a III, při $p < 0.05$ pro všechny skupiny). Transnazální inspirační průtok (V'_{na}) byl nižší o 21, 29 and 27 % ($p < 0.05$ pro všechny skupiny). Před adenoidektomií byl ve všech skupinách (AV I až III) srovnatelný průměrný stupeň nosní obstrukce ($p = 0.81$) (Obr. 35). Relativní četnost nemocných s významnou obstrukcí (stupně 3 až 5) ve skupinách dle AV stupňů I, II a III činila 25, 32 a 35 %. Mezi hodnotami R_{na} a nNO před AT nebyla zjištěna korelace (Obr. 36). Nekorelovaly mezi sebou ani rozdíly hodnot $postR_{na} - preR_{na}$ a $postnNO - prenNO$ (Obr. 37).

Tab. 10: Celkový nosní inspirační průtok (V'_{na}) a odporu proti průtoku (R_{na}) při tlaku 150 Pa. Hodnoty před a po adenoidektomii (AT).

		stupeň adenoidních vegetací			P-hodnota ^a
		I	II	III	
V'_{na} (mL/s)	před AT	447 (393-503)	460 (273-610)	445 (327-536)	0,85
	po AT	519 (388-731)	573 (404-872) ^c	691 (466-911) ^c	0,55
V'_{na} (% n.h.)	před AT	71 (57-88)	79 (48-102) ^b	73 (53-97) ^b	0,89
	po AT	86 (61-124)	99 (70-141) ^c	124 (81-157) ^c	0,40
R_{na} (kPa/L/s)	před AT	0,338 (0,298-0,382)	0,316 (0,261-0,511)	0,354 (0,314-0,461)	0,57
	po AT	0,311 (0,220-0,390)	0,287 (0,177-0,392)	0,307 (0,193-0,440) ^c	0,80
R_{na} (% n.h.)	před AT	140 (114-177)	127 (99-212) ^b	137 (110-192) ^b	0,84
	po AT	116 (81-163)	105 (77-143) ^c	92 (69-120) ^c	0,39

Symbols: n.h. ...náležitá hodnota u zdravých osob vypočtená podle predikční rovnice (10)

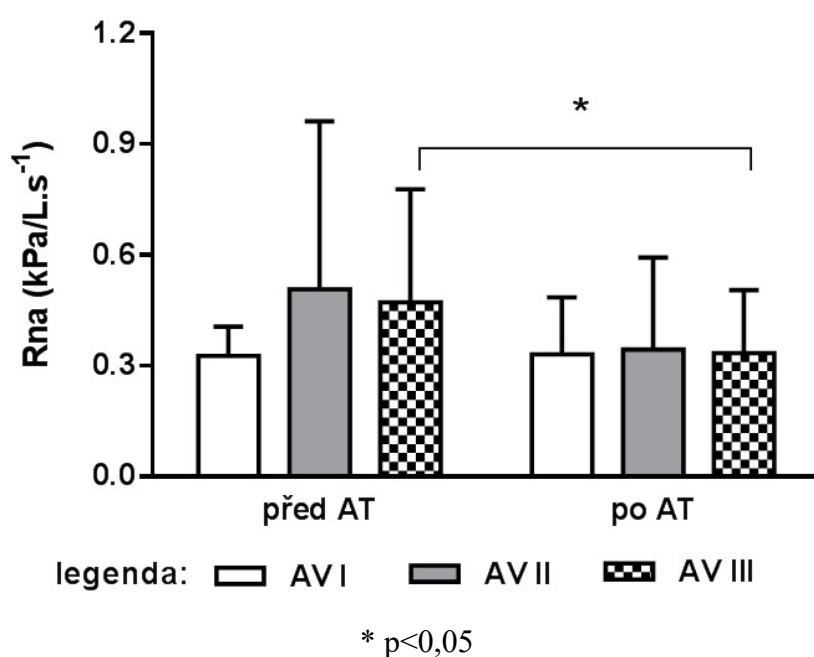
a...výsledek testu Kruskal-Wallis ANOVA na vliv stupně AV

b...signifikantní diference mezi zjištěnou a náležitou hodnotou zdravé kontrolní populace (=100%), $p < 0,05$.

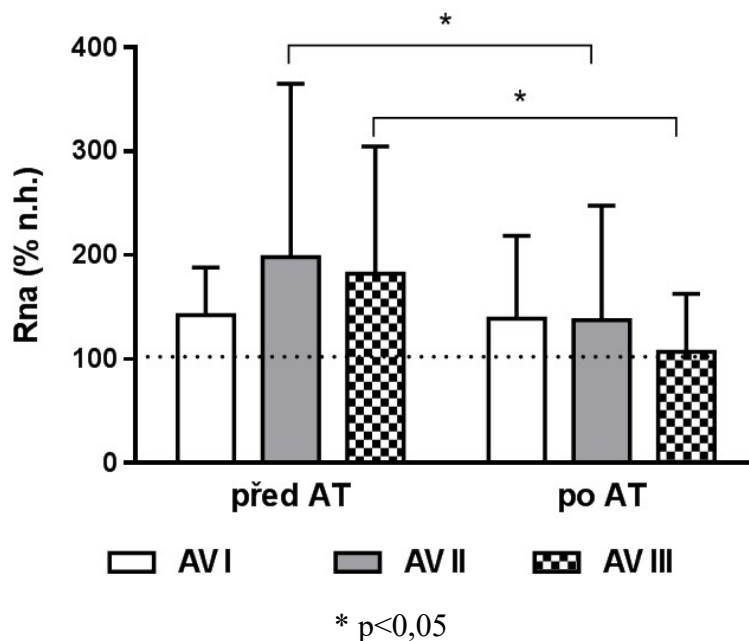
c... signifikantní diference mezi hodnotami před a po adenoidektomii pozorovanými uvnitř skupiny, $p < 0,05$

Po adenoidektomii se všechny rinomanometrické charakteristiky signifikantně změnily ve skupinách s AV II a III ($p < 0.05$). Výjimkou byla celková rezistence R_{na} ve skupině s AV II ($p = 0.15$) (Obr. 32). Při porovnání V'_{na} a R_{na} relativní četnosti (%) náležitých hodnot zdravé kontrolní populace se výsledky nemocných po adenoidektomii a zdravých osob nelišily (Tab. 15).

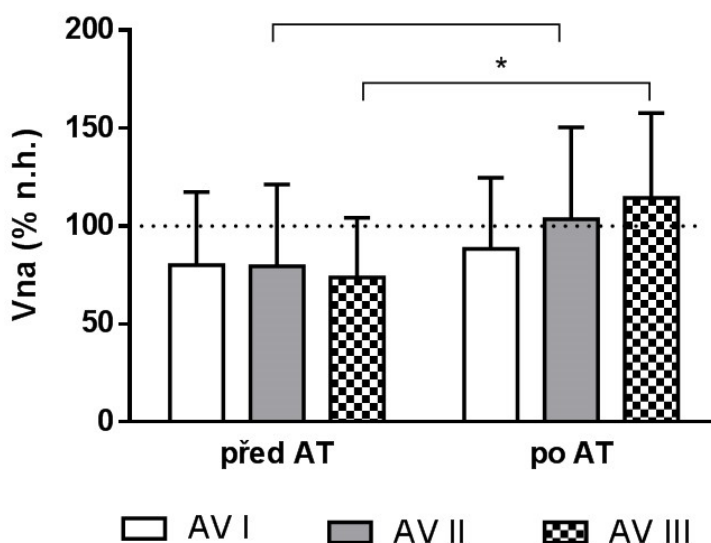
Obr. 32: Celková rezistence proti průtoku (R_{na} , $\text{kPa}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) při transnasálním tlaku 150 Pa ve skupinách s adenoidními vegetacemi stupně I, II a III a její změny za jeden měsíc po adenoidektomii.



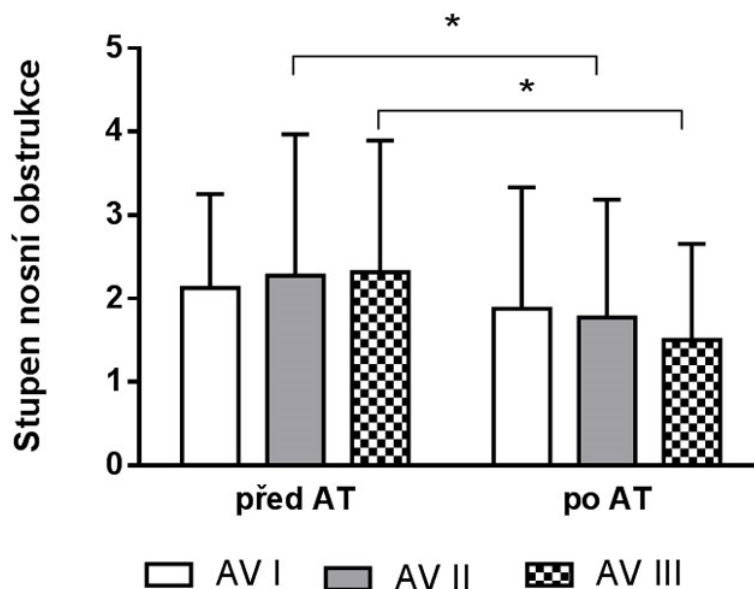
Obr. 33: Celková rezistence proti průtoku (Rna) při transnasálním tlaku 150 Pa vyjádřená v procentech náležité hodnoty (predikované hodnoty zdravé kontrolní populace) ve skupinách s adenoidními vegetacemi stupně I, II a III a její změny za jeden měsíc po AT.



Obr. 34: Celkový nazální inspirační průtok vyjádřený v procentech náležité hodnoty (predikované hodnoty zdravé kontrolní populace) při transnasálním tlaku 150 Pa ve skupinách s adenoidními vegetacemi stupně I, II a III a jeho změny za jeden měsíc po adenoidektomii.

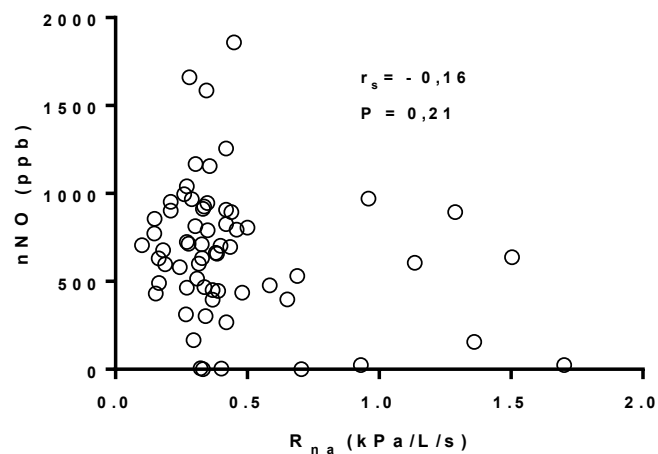


Obr. 35: Stupeň nosní obstrukce proti průchodu vzduchu při klasifikaci podle Zapletala a spol. (109) ve skupinách s adenoidními vegetacemi stupně I, II a III a jeho změny za jeden měsíc po adenoidektomii.

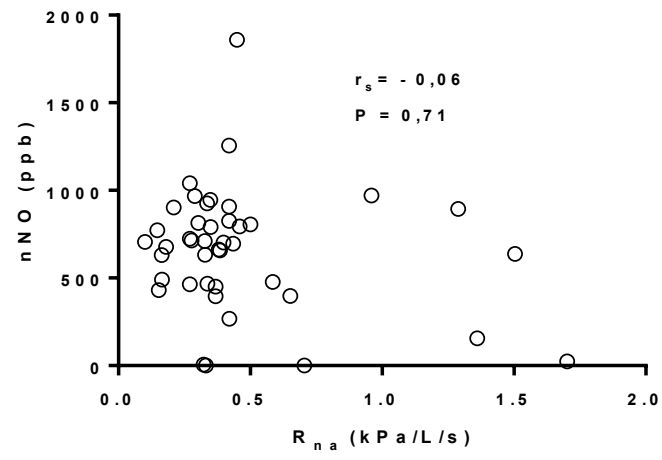


Obr. 36 A, B a C: Vztah mezi celkovým odporem proti průtoku (R_{na} , $kPa \cdot L^{-1} \cdot s^{-1}$) při transnasálním tlaku 150 Pa a koncentrací nNO před adenoidektomií (A) u všech nemocných, (B) ve skupině nemocných bez atopie a (C) s atopií.

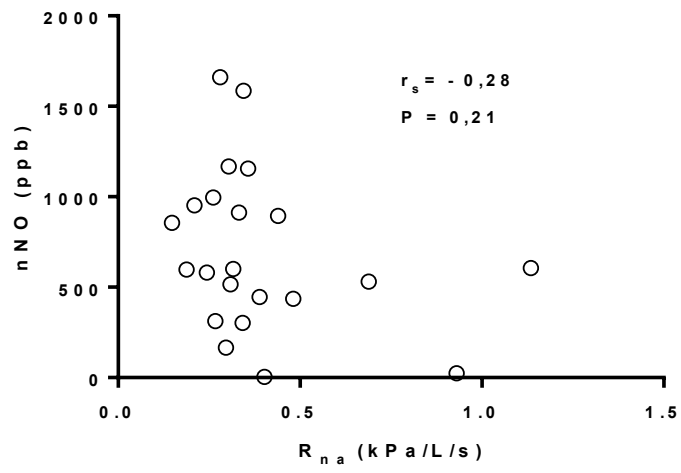
A



B

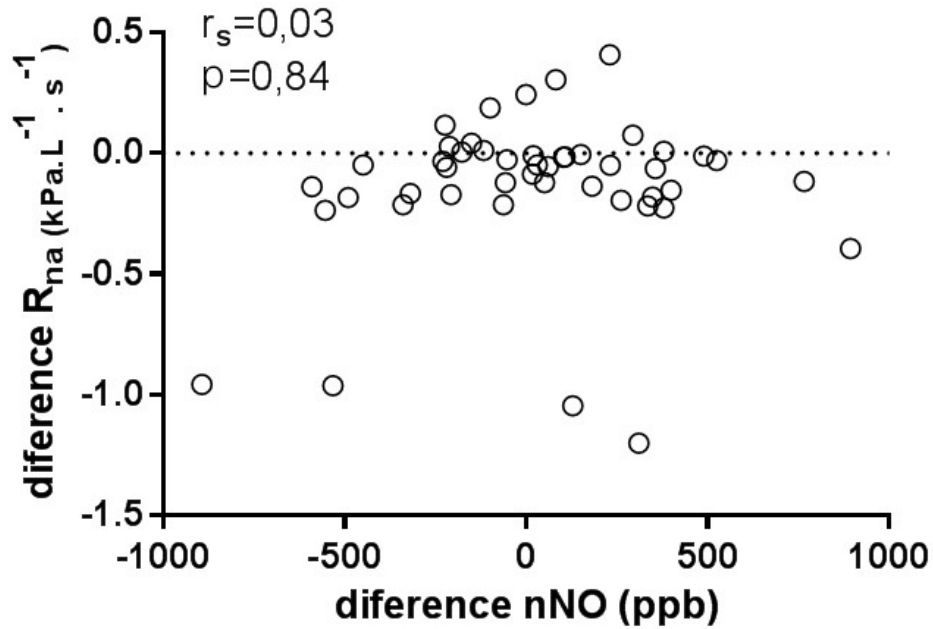


C

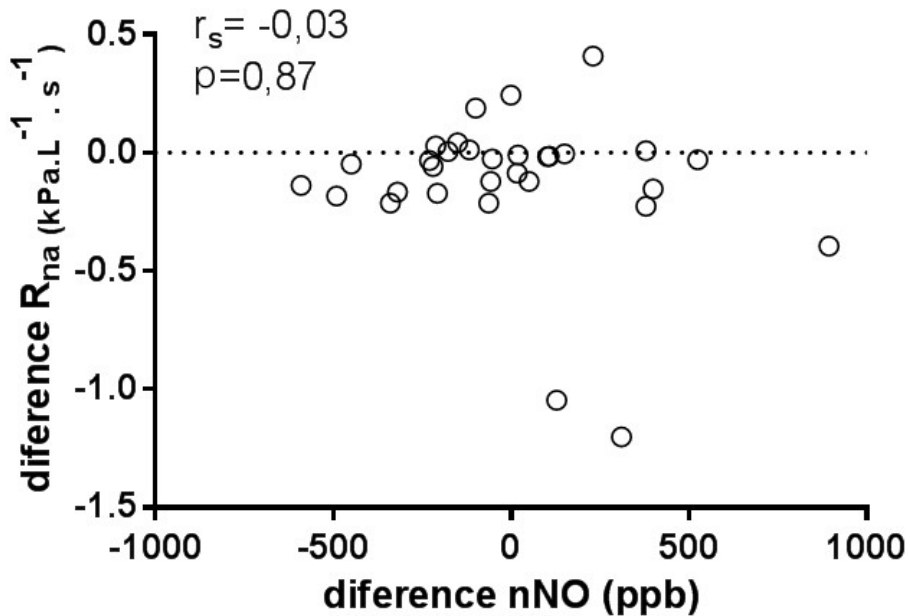


Obr. 37 A, B a C: Vztah mezi rozdílem hodnot celkové rezistence proti průtoku (R_{na}) změřené po a před adenoidektomií (post- pre) a rozdílem hodnot koncentrace nNO (A) u všech nemocných, (B) ve skupině nemocných bez atopie a (C) s atopií.

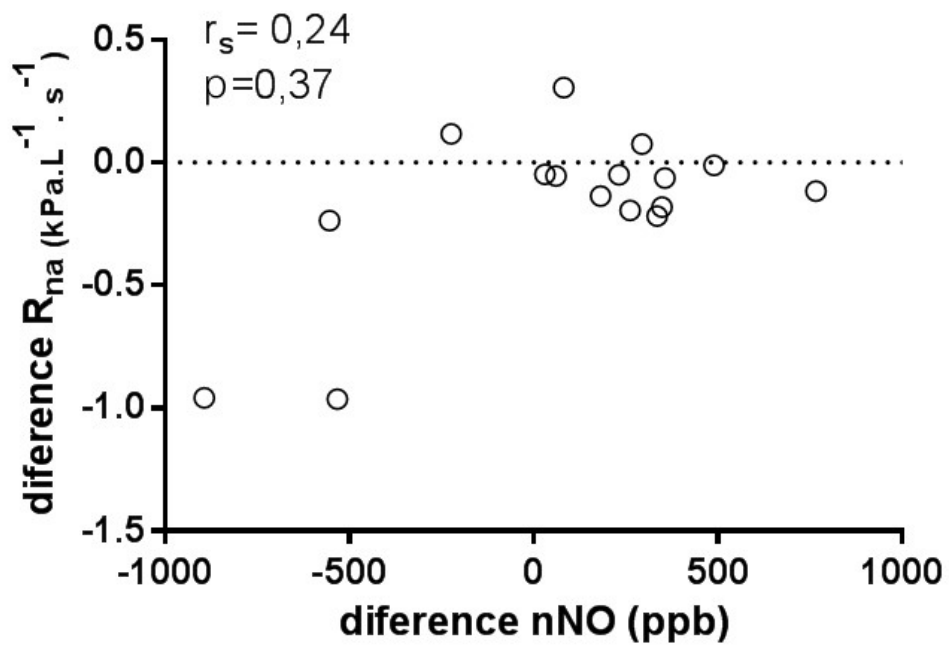
A



B



C



6 Diskuze

Práce hodnotí výsledky vyšetření koncentrace oxidu dusnatého v horních a dolních dýchacích cestách u dětí a mladistvých s AV včetně jejich změn po adenoidektomii. Měření bylo provedeno na chemiluminiscenčním analyzátoru NO technikami podle současných mezinárodních doporučení. Klinická studie zahrnula nemocné, doporučené k vyšetření na Klinice otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku z důvodu chronických zdravotních potíží, ukazujících na jejich možnou příčinu - adenoidní vegetace. Kontrolní soubor tvořili děti a mladiství s nezánettivým onemocněním a pacienti před plánovaným chirurgickým výkonem v oblasti hlavy a krku mimo adenoidektomii. U 42 ze 105 nemocných (40%) byla kromě vyšetření NO provedena i přední rinomanometrie a obě vyšetření byla opakována za jeden měsíc po adenoidektomii. V kontrolním souboru 38 osob nebyla provedena rinomanometrie ani epifaryngoskopie.

Základním zjištěním je, že u nemocných jsou koncentrace nazálního NO (nNO) před adenoidektomií snižené. Rozdíl v mediánech nNO dosáhl 34%. Na základě výsledků jediné dříve publikované studie malého rozsahu (35 dětí a mladistvých) jsme předpokládali, že snížení nNO bude závislé na stupni AV. Tato hypotéza se v naší studii potvrdila v souboru všech nemocných, po vyřazení nemocných s alergickým onemocněním (alergická rýma a /nebo astma) a v souboru atopiků s AV. V této podskupině nemocných činilo snížení mediánu nNO ve skupinách s AV stupňů I, II a III oproti kontrolnímu souboru 13, 22 a 51%. U nemocných s atopií byla tedy koncentrace nNO zřetelně závislá na stupni AV a větší velikosti AV odpovídaly nižší hodnoty nNO. U nemocných s AV bez atopie byly koncentrace nNO nižší než u kontrol, ale mezi stupni I, II a III rozdíly nebyly pozorovány. Důvodem k provedení separátních statistických analýz po vyřazení nemocných s alergií a také zvlášt' u osob s atopií a bez atopie bylo výrazně vyšší zastoupení atopie a alergických onemocnění ve skupině AV I. Pravděpodobně je to možné zdůvodnit použitou metodou získávání účastníků studie. Alergie přispěla ke klinickým obtížím jako důvodu vyhledání lékařské péče u AV nejlehčího stupně I.

S využitím stejné techniky i analyzátoru NO vyšetřili Torreta se spolupracovníky nNO a provedli epifaryngoskopické vyšetření u 35 dětí a mladistvých s mediánem věku 8 let (rozsah: 4 - 17) bez alergických onemocnění (99). Nedostatkem uvedené studie je malý počet sledovaných nemocných a absence kontrolního souboru, která vedla k nesprávné interpretaci výsledků. Autoři označili nNO u dětí s AV nižšího stupně za zvýšené oproti literárně uváděné horní hranici referenčního rozmezí u zdravých dětí 450 ppb. Jedná se pravděpodobně

o medián nNO, který autoři nekriticky převzali z výsledků souboru 289 dětí ve věku 6 - 17 let v populační nizozemské studii (70). V ní ale autoři použili mnohem vyšší rychlost nasávání vzorku vzduchu z nosního průduchu kanylou analyzátoru NO (700 ml/min), která zásadně ovlivňuje hodnoty naměřených koncentrací. Čím je rychlost nasávání vyšší, tím je nNO nižší. Po přepočtu koncentrace 450 ppb z rychlosti 700 na rychlost 330 ml/min, použitou v naší studii a ve studii autorů Toretta a kol., vychází medián u zdravých dětí v nizozemské populační studii 955 ppb. Výsledek nizozemské studie je srovnatelný s mediánem nNO v našem kontrolním souboru (1050 ppb). Tato skutečnost podporuje správnost závěru, že koncentrace nNO jsou u dětí a mladistvých s chronickými zdravotními potížemi ukazujícími na AV ve srovnání se zdravými vrstevníky snižené. Vzhledem k závislosti koncentrace nNO na rychlosti nasávání vzduchu analyzátozem jsme všechny výsledky vyšetření NO v HDC uvedli současně jako koncentraci nNO a objemový tok nNO, tj. součin koncentrace a objemu vzduchu nasátého kanylou za jednotku času. Objemový tok nNO není rychlostí nasávání vzduchu do přístroje ovlivněn.

Ve studii italských autorů (99) byla u dětí bez alergického onemocnění a s vyšším stupněm obstrukce (>75 %) způsobené AV koncentrace nNO signifikantně nižší (medián 539 ppb, n= 23) než u dětí s menším stupněm obstrukce (medián 856 ppb, n=12). To odpovídá našemu nálezu mediánu nNO 518 ppb ve skupině AV III (adenoidní vegetace přesahující svým objemem 2/3 choan) a jejím vyšším hodnotám ve skupinách AV II (724 ppb, p<0,05) a AV I (763 ppb, hraničně signifikantní rozdíl). Závěr o vlivu obstruktivních AV na nNO je tedy v souladu s výsledky naší studie. Publikované studie neobsahují údaje jednoznačně vysvětlující nižší koncentrace nNO u osob s obtulujícími AV. Vedlejší nosní dutiny jsou nejbohatším zdrojem NO v dýchacích cestách. Koncentrace NO ve vzduchu přímo aspirovaném z vedlejších nosních dutin jsou udávány v rozmezí 1000 - 30000 ppb (3). Koncentrace nNO při nasávání vzduchu z nosních průduchů mohou být ovlivněny sníženým průnikem NO z vedlejších do nosních dutin z důvodu otoku a hromadění hlenu podobně jako je tomu u nemocných s akutní a chronickou rinosinuitidou.

S ohledem na mnohostranně prospěšnou úlohu NO v dýchacích cestách a plicní cirkulaci je nutné si uvědomit, že dýchání ústy z důvodu nosní obstrukce u AV zásadně snižuje koncentrace NO v dýchacích cestách. Publikované studie ukázaly, že koncentrace NO ve vzduchu v průduškách při dýchání nosem dosahuje 50 - 200 ppb oproti < 10 ppb při dýchání ústy. Inhalované množství NO uvolněné z horních dýchacích cest se zvyšuje při nárůstu inspiračního průtoku a inhalace NO zlepšuje arteriální oxygenaci. Rozdíl v saturaci hemoglobinu při dýchání nosem a ústy byl pozorován u nemocných i zdravých osob (2).

Jedná se o další škodlivý zdravotní dopad AV, který není tak často zmiňovaný na rozdíl od ostatních jako chronické rýmy, sinusitidy, kašle, recidivujících zánětů středního ucha, nedoslýchavosti na podkladě sekretorické otitidy, poruchu spánku, syndromu spánkové apnoe, nechutenství aj.).

Výsledky naší studie potvrdily známé poznatky o vlivu věku, atopie a počtu pozitivních výsledků v kožním prick testu na FE_{NO}. Dříve publikovaná studie v soulase s našimi výsledky nenalezla vliv AV na FE_{NO} (111). Ve shodě s rozsáhlejšími populačními studii jsme také pozorovali vzestup nNO v závislosti na věku u dětí ve věkovém rozmezí 4-11 let (37, 59, 70). Rozdíl ve věku mezi skupinami nemocných a kontrolním souborem byl v naší studii statisticky významný, ale fakticky malý. Bylo nutné posoudit, do jaké míry se mohl promítnout do závěru o vlivu AV na koncentraci nNO. Podle publikované závislosti nNO na věku, odpovídá nárůstu věku o 3,1 roku tj. největšímu rozdílu v mediánu věku mezi skupinami v naší studii, zvýšení nNO o 35 ppb (70). Hlavní závěr studie o vlivu AV na nNO nemohl tak být věkem zkreslen. Velký rozptyl koncentrace nNO, výrazná odchylka od normálního rozložení hodnot i po logaritmické transformaci a limitovaná velikost souboru zabránily použít vícefaktorovou analýzu parametrickými testy s větší statistickou silou (např. současné posouzení vlivu věku, atopie a stupně AV).

Od metody nNO, zvláště při měření aspirací z kanyly se zátkou v nosním průduchu, nelze patrně očekávat přínos v diagnostice a léčbě nemocných s akutními a chronickými onemocněními HDC. Také u jiných onemocnění než AV jsou nacházeny mírně snížené koncentrace nNO. Jde zejména o akutní a chronickou rinosinusitidu s polypy i bez nosních polypů (4, 5). Nemocní s cystickou fibrózou mají snížené hodnoty nNO i FE_{NO}.

Řádově více je nNO snížené u nemocných s primární ciliární dyskinezi. Jde pravděpodobně o vliv několika mechanismů působících současně, včetně nižší exprese a enzymatické aktivity enzymu NOSII, sníženého přestupu do vzduchu v HDC a naopak zvýšeného záchytu NO, jeho chemické vazby a odstraňování metabolismem v podmínkách hypersekrece hlenu a bakteriální kolonizace DC u nemocných s PCD. Dalším pravděpodobným důvodem je snížená ventilace paranazálních sinů. Podle současných doporučení Americké hrudní společnosti a Evropské respirační společnosti je vyšetření nNO indikováno jako rychlý a jednoduchý skriningový test k vyloučení PCD (6, 15). U nemocných s nízkou hodnotou nNO, ukazující na PCD, je nutné provést vysoce specializované vyšetření řasinek v bioptickém vzorku buněk nosní sliznice (vysokorychlostní video mikroskopie a elektronová mikroskopie), kterému by mělo předcházet u spolupracujících dětí vyšetření sacharinovým testem. V naší studii jsme jako první použili u nemocných s AV přepočtení koncentrace nNO

na objemový tok nNO a řešili otázku, zda se může jeho hodnota snížit až pod prahovou hodnotu skriningového testu pro PCD, tj. 73 pl/min. Došlo k tomu u 9,5 % nemocných s AV. Žádný z 10 nemocných ale neměl symptomy ukazující na PCD. Za přednost je možné také považovat, že se jedná o první studii s opakovaným vyšetřením nNO po AT. U všech 7 pacientů s původně podprahovými hodnotami, kteří podstoupili druhé vyšetření nNO po AT, se tok nNO zvýšil nad prahovou hodnotu.

Přední aktivní rinomanometrie provedená bez anemizace ukázala ve skupinách nemocných se stupněm AV I až III na srovnatelné hodnoty celkového nosního inspiračního průtoku (V'_{na}) a rezistence proti průtoku (R_{na}) při tlaku 150 Pa. Při vyjádření v procentech náležité hodnoty byly výsledky před adenoidektomií signifikantně nižší (V'_{na}) popř. vyšší (R_{na}) než 100%, tj. predikovaná hodnota zdravé populace. Po adenoidektomii došlo ke statisticky významným změnám obou charakteristik ve skupinách AV II a AV III a výsledky se již nelišily od 100 % hodnot u žádné skupiny. Mezi R_{na} a koncentrací nNO před adenoidektomií nebyla korelace. Nekorelovaly ani změny obou charakteristik, tj. difference mezi hodnotami R_{na} a nNO po adenoidektomii a před ní (Tab. 10). Dříve publikovaná studie se zdravými dobrovolníky také nenalezla korelaci mezi R_{na} a nNO (112). Stejná studie potvrdila výbornou shodu mezi výsledky vyšetření nNO s kanylou v pravém a levém nosním průduchu. Proto jsme v naší studii měřili nNO pouze v levém nosním průduchu.

7 Závěry

7.1 Dosažení cílů práce. Potvrzení (ověření) předpokladů a hypotéz.

Možný přínos pro praxi.

Vzhledem k vytyčeným cílům práce je možné zformulovat následující závěry.

Cíl 1. Vyšetřit nNO a FE_{NO} u dětí a mladistvých s adenoidními vegetacemi:

U dětí a mladistvých s chronickými zdravotními obtížemi ukazujícími na adenoidní vegetace (mechanická obstrukce nosohltanu, spojená s trvalou neprůchodností, nosní sekrecí, chrápáním, dále chronická sekretorická otitida způsobující nedoslýchavost převodního typu, adenoidní vegetace jako možný infekční fokus) je koncentrace nNO nižší než u zdravých vrstevníků, zatímco koncentrace FE_{NO} je srovnatelná.

Cíl 2. Zjistit vztah mezi velikostí adenoidních vegetací (stupeň obstrukce) podle epifaryngoskopického vyšetření a koncentracemi nNO a FE_{NO}:

V souladu s předpokladem výsledky studie ukazují, že koncentrace nNO je ovlivněna stupněm AV. Se zvyšujícím se stupněm AV se nNO snižuje. Tento vztah byl potvrzen u všech nemocných, u nemocných bez současné alergie a u atopických nemocných. U nemocných bez atopie ve srovnání se zdravými osobami bez atopie byla koncentrace nNO také nižší, ale rozdíly mezi skupinami s různým stupněm AV nebyly pozorovány. Koncentrace FE_{NO} nebyla stupněm AV ovlivněna. Výsledky ukazují, že od rychlého a neinvazivního vyšetření nNO nelze patrně očekávat přínos v diagnostice a léčbě nemocných s akutními a chronickými onemocněními HDC. Důvodem je množství faktorů, které ovlivňují nNO, velký rozptyl hodnot nNO a relativně malé rozdíly mezi skupinami s různým stupněm AV. Výsledky práce ale poprvé upozornily na skutečnost, že obturující AV patří k rušivým faktorům a je potřeba jejich přítomnost před vyšetřením nNO vyloučit, aby nebyla negativně ovlivněna specificita nNO při jejím využití jako skriningového testu na PCD.

Cíl 3. Zjistit vztah mezi koncentracemi nNO a výsledkem rinomanometrického vyšetření:

Celkový nosní inspirační průtok (V'_{na}) je nižší a rezistence proti průtoku (R_{na}) při tlaku 150 Pa je vyšší u nemocných ve srovnání s predikovanými hodnotami zdravé kontrolní populace (náležité hodnoty podle Zapletal a spolupracovníků). Rinomanometrické charakteristiky získané technikou aktivní přední rinomanometrie ale nejsou schopné odlišit stupně AV. Koncentrace nNO před adenoidektomií nekoreluje s hodnotami V'_{na} a R_{na} . Změny koncentrace nNO v důsledku adenoidektomie nekorelují se změnami rinomanometrických charakteristik.

Cíl 4. Posoudit změny nNO a FENO v důsledku adenoidektomie (AT):

V práci bylo poprvé provedeno měření nNO před adenoidektomií i po ní. Párové srovnání, provedené u části souboru nemocných, ukázalo na statisticky významné zvýšení ve skupině s obstruktivními AV (stupeň III). U všech nemocných s původně podprahovými hodnotami, tj. falešně pozitivním výsledkem testu na PCD, se po adenoidektomií zvýšil tok nNO nad prahovou hodnotu testu na PCD.

Vzhledem k předpokladům je možné formulovat jejich následující prokázání.

Pracovní hypotéza 1. AV v závislosti na velikosti ovlivňují výsledky vyšetření nNO a FE_{NO}:

Platnost byla potvrzena. Hodnota nNO se snižuje se zvyšujícím se stupněm AV

Pracovní hypotéza 2. Aktivní přední RMM by měla naměřit vyšší odpor proti průtoku ve skupinách s vyšším stupněm objemu AV a měla by být negativní korelace s výsledkem nNO:

Přední RMM nekoreluje s velikostí AV. Hodnoty celkového odporu jsou zvýšené u všech nemocných s projevy obstrukce nosních dutin oproti publikovaným náležitým hodnotám zdravé referenční populace. Spíše než velikost AV tedy výsledky ovlivňují chronické zánětlivé změny sliznice apod.

Pracovní hypotéza 3. Po provedené AT dojde zejména v podskupinách se zvýšeným objemem AV k nárůstu nNO, zatímco odpor proti průtoku se sníží:

Platnost byla potvrzena. Po AT došlo ke zvýšení nNO. Hodnota celkového odporu se již nelišila od náležitých referenčních hodnot.

8 Použitá literatura

1. Čáp P, Brezina M. Neinvazivní vyšetřování zánětu u astmatu u dětí a dospělých: Mladá fronta; 2009.
2. Törnberg DC, Marteus H, Schedin U, Alving K, Lundberg JO, Weitzberg E. Nasal and oral contribution to inhaled and exhaled nitric oxide: a study in tracheotomized patients. *Eur Respir J* 2002;19(5):859-64.
3. Lundberg JO, Weitzberg E. Nasal nitric oxide in man. *Thorax* 1999;54(10):947-52.
4. Maniscalco M, Sofia M, Pelaia G. Nitric oxide in upper airways inflammatory diseases. *Inflamm Res* 2007;56(2):58-69.
5. Manna A, Montella S, Maniscalco M, Maglione M, Santamaria F. Clinical application of nasal nitric oxide measurement in pediatric airway diseases. *Pediatr Pulmonol* 2015;50(1):85-99.
6. Barbato A, Frischer T, Kuehni CE, Snijders D, Azevedo I, Baktai G, et al. Primary ciliary dyskinesia: a consensus statement on diagnostic and treatment approaches in children. *Eur Respir J* 2009;34(6):1264-76.
7. Moncada S, Higgs EA. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *Br J Pharmacol* 2006;147 Suppl 1:S193-201.
8. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329(27):2002-12.
9. Cheng H, Wang L, Mollica M, Re AT, Wu S, Zuo L. Nitric oxide in cancer metastasis. *Cancer Lett* 2014;353(1):1-7.
10. Colasanti M, Gradoni L, Mattu M, Persichini T, Salvati L, Venturini G, et al. Molecular bases for the anti-parasitic effect of NO (Review). *Int J Mol Med* 2002;9(2):131-4.
11. Bogdan C. Nitric oxide synthase in innate and adaptive immunity: an update. *Trends Immunol* 2015;36(3):161-78.
12. Ricciardolo FL, Nijkamp FP, Folkerts G. Nitric oxide synthase (NOS) as therapeutic target for asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Drug Targets* 2006;7(6):721-35.
13. Lange M, Enkhbaatar P, Nakano Y, Traber DL. Role of nitric oxide in shock: the large animal perspective. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2009;14:1979-89.

14. Roberts BW, Mitchell J, Kilgannon JH, Chansky ME, Trzeciak S. Nitric oxide donor agents for the treatment of ischemia/reperfusion injury in human subjects: a systematic review. *Shock* 2013;39(3):229-39.
15. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171(8):912-30.
16. Mollsten A, Wessman M, Svensson M, Forsblom C, Parkkonen M, Brismar K, et al. Glu298Asp and NOS4ab polymorphisms in diabetic nephropathy. *Ann Med* 2006;38(7):522-8.
17. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327(6122):524-6.
18. Lundberg JO, Weitzberg E, Cole JA, Benjamin N. Nitrate, bacteria and human health. *Nat Rev Microbiol* 2004;2(7):593-602.
19. Dweik RA. Nitric oxide, hypoxia, and superoxide: the good, the bad, and the ugly! *Thorax* 2005;60(4):265-7.
20. Kobzik L, Bredt DS, Lowenstein CJ, Drazen J, Gaston B, Sugarbaker D, et al. Nitric oxide synthase in human and rat lung: immunocytochemical and histochemical localization. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993;9(4):371-7.
21. Maarsingh H, Zaagsma J, Meurs H. Arginine homeostasis in allergic asthma. *Eur J Pharmacol* 2008;585(2-3):375-84.
22. Dweik RA, Comhair SA, Gaston B, Thunnissen FB, Farver C, Thomassen MJ, et al. NO chemical events in the human airway during the immediate and late antigen-induced asthmatic response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98(5):2622-7.
23. Ricciardolo FL, Di Stefano A, Sabatini F, Folkerts G. Reactive nitrogen species in the respiratory tract. *Eur J Pharmacol* 2006;533(1-3):240-52.
24. MacNee W. Oxidative stress and lung inflammation in airways disease. *Eur J Pharmacol* 2001;429(1-3):195-207.
25. MacPherson JC, Comhair SA, Erzurum SC, Klein DF, Lipscomb MF, Kavuru MS, et al. Eosinophils are a major source of nitric oxide-derived oxidants in severe asthma: characterization of pathways available to eosinophils for generating reactive nitrogen species. *J Immunol* 2001;166(9):5763-72.
26. Donnelly LE. Exhaled breath condensate: nitric oxide-related compounds. *European Respiratory Monograph 49: Exhaled Biomarkers* ed. Horvath I, de Jongste JC, editors: European Respiratory Society; 2010.

27. Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;181(2):852-7.
28. Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J* 1993;6(9):1368-70.
29. Horvath I, de Jongste JC. *European Respiratory Monograph 49: Exhaled Biomarkers*: European Respiratory Society; 2010.
30. Malinovschi A, Janson C, Holm L, Nordvall L, Alving K. Basal and induced NO formation in the pharyngo-oral tract influences estimates of alveolar NO levels. *J Appl Physiol* (1985) 2009;106(2):513-9.
31. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163(7):1693-722.
32. Barnes PJ, Dweik RA, Gelb AF, Gibson PG, George SC, Grasemann H, et al. Exhaled nitric oxide in pulmonary diseases: a comprehensive review. *Chest* 2010;138(3):682-92.
33. de Winter-de Groot KM, van der Ent CK. Nitric oxide in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2005;4 Suppl 2:25-9.
34. Rolla G, Brussino L, Bertero MT, Colagrande P, Converso M, Bucca C, et al. Increased nitric oxide in exhaled air of patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1997;24(6):1066-71.
35. Soderman C, Leone A, Furst V, Persson MG. Endogenous nitric oxide in exhaled air from patients with liver cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 1997;32(6):591-7.
36. Yates DH, Krishnan A, Chow S, Thomas PS. Non-invasive assessment of exhaled biomarkers in lung transplantation. *J Breath Res* 2011;5(2):024001.
37. Pijnenburg MW, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide in childhood asthma: a review. *Clin Exp Allergy* 2008;38(2):246-59.
38. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, Irvin CG, Leigh MW, Lundberg JO, et al. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184(5):602-15.
39. Struben VM, Wieringa MH, Feenstra L, de Jongste JC. Nasal nitric oxide and nasal allergy. *Allergy* 2006;61(6):665-70.
40. Degano B, Genestal M, Serrano E, Rami J, Arnal JF. Effect of treatment on maxillary sinus and nasal nitric oxide concentrations in patients with nosocomial maxillary sinusitis. *Chest* 2005;128(3):1699-705.

41. Jeong JH, Yoo HS, Lee SH, Kim KR, Yoon HJ, Kim SH. Nasal and exhaled nitric oxide in chronic rhinosinusitis with polyps. *Am J Rhinol Allergy* 2014;28(1):e11-6.
42. Jeon EJ, Park YS, Lee SK, Yeo SW, Park SN, Chang KH. Effect of nitric oxide and peroxyxynitrite on mucociliary transport function of experimental otitis media. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;134(1):126-31.
43. John EO, Russell PT, Nam BH, Jinn TH, Jung TT. Concentration of nitric oxide metabolites in middle ear effusion. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2001;60(1):55-8.
44. Lundberg JO, Settergren G, Gelinder S, Lundberg JM, Alving K, Weitzberg E. Inhalation of nasally derived nitric oxide modulates pulmonary function in humans. *Acta Physiol Scand* 1996;158(4):343-7.
45. Bommarito L, Guida G, Heffler E, Badiu I, Nebiolo F, Usai A, et al. Nasal nitric oxide concentration in suspected chronic rhinosinusitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008;101(4):358-62.
46. McManus JB, Shorter JH, Nelson DD, Zahniser MS, Glenn DE, McGovern RM. Pulsed quantum cascade laser instrument with compact design for rapid, high sensitivity measurements of trace gases in air. *Appl Phys B* 2008;92(3):387-92.
47. Alving K, Janson C, Nordvall L. Performance of a new hand-held device for exhaled nitric oxide measurement in adults and children. *Respir Res* 2006;7:67.
48. Taylor DR. Advances in the clinical applications of exhaled nitric oxide measurements. *J Breath Res* 2012;6(4):047102.
49. Corbelli R, Hammer J. Measurement of nasal nitric oxide. *Paediatr Respir Rev* 2007;8(3):269-72.
50. Kharitonov SA, Walker L, Barnes PJ. Repeatability of standardised nasal nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *Respir Med* 2005;99(9):1105-14.
51. Djupesland PG, Chatkin JM, Qian W, Cole P, Zamel N, McClean P, et al. Aerodynamic influences on nasal nitric oxide output measurements. *Acta Otolaryngol* 1999;119(4):479-85.
52. Malmberg LP, Petays T, Haahtela T, Laatikainen T, Jousilahti P, Vartiainen E, et al. Exhaled nitric oxide in healthy nonatopic school-age children: determinants and height-adjusted reference values. *Pediatr Pulmonol* 2006;41(7):635-42.
53. Olin AC, Bake B, Toren K. Fraction of exhaled nitric oxide at 50 mL/s: reference values for adult lifelong never-smokers. *Chest* 2007;131(6):1852-6.

54. Travers J, Marsh S, Aldington S, Williams M, Shirtcliffe P, Pritchard A, et al. Reference ranges for exhaled nitric oxide derived from a random community survey of adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176(3):238-42.
55. Dressel H, de la Motte D, Reichert J, Ochmann U, Petru R, Angerer P, et al. Exhaled nitric oxide: independent effects of atopy, smoking, respiratory tract infection, gender and height. *Respir Med* 2008;102(7):962-9.
56. Taylor DR, Mandhane P, Greene JM, Hancox RJ, Filsell S, McLachlan CR, et al. Factors affecting exhaled nitric oxide measurements: the effect of sex. *Respir Res* 2007;8:82.
57. Wong GW, Liu EK, Leung TF, Yung E, Ko FW, Hui DS, et al. High levels and gender difference of exhaled nitric oxide in Chinese schoolchildren. *Clin Exp Allergy* 2005;35(7):889-93.
58. Kovesi T, Kulka R, Dales R. Exhaled nitric oxide concentration is affected by age, height, and race in healthy 9- to 12-year-old children. *Chest* 2008;133(1):169-75.
59. Buchvald F, Baraldi E, Carraro S, Gaston B, De Jongste J, Pijnenburg MW, et al. Measurements of exhaled nitric oxide in healthy subjects age 4 to 17 years. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115(6):1130-6.
60. Saito J, Inoue K, Sugawara A, Yoshikawa M, Watanabe K, Ishida T, et al. Exhaled nitric oxide as a marker of airway inflammation for an epidemiologic study in schoolchildren. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114(3):512-6.
61. Olin AC, Aldenbratt A, Ekman A, Ljungkvist G, Jungersten L, Alving K, et al. Increased nitric oxide in exhaled air after intake of a nitrate-rich meal. *Respir Med* 2001;95(2):153-8.
62. Yates DH, Kharitonov SA, Robbins RA, Thomas PS, Barnes PJ. The effect of alcohol ingestion on exhaled nitric oxide. *Eur Respir J* 1996;9(6):1130-3.
63. Chambers DC, Tunnicliffe WS, Ayres JG. Acute inhalation of cigarette smoke increases lower respiratory tract nitric oxide concentrations. *Thorax* 1998;53(8):677-9.
64. Balint B, Donnelly LE, Hanazawa T, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased nitric oxide metabolites in exhaled breath condensate after exposure to tobacco smoke. *Thorax* 2001;56(6):456-61.
65. Laoudi Y, Nikasinovic L, Sahraoui F, Grimfeld A, Momas I, Just J. Passive smoking is a major determinant of exhaled nitric oxide levels in allergic asthmatic children. *Allergy* 2010;65(4):491-7.

66. Piacentini GL, Bodini A, Peroni DG, Miraglia del Giudice M, Jr., Costella S, Boner AL. Reduction in exhaled nitric oxide immediately after methacholine challenge in asthmatic children. *Thorax* 2002;57(9):771-3.
67. Kharitonov SA, Gonio F, Kelly C, Meah S, Barnes PJ. Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *Eur Respir J* 2003;21(3):433-8.
68. Stark H, Purokivi M, Kiviranta J, Randell J, Tukiainen H. Short-term and seasonal variations of exhaled and nasal NO in healthy subjects. *Respir Med* 2007;101(2):265-71.
69. Pijnenburg MW, Floor SE, Hop WC, De Jongste JC. Daily ambulatory exhaled nitric oxide measurements in asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 2006;17(3):189-93.
70. Struben VM, Wieringa MH, Mantingh CJ, Bommelje C, Don M, Feenstra L, et al. Nasal NO: normal values in children age 6 through to 17 years. *Eur Respir J* 2005;26(3):453-7.
71. de Winter-de Groot KM, van der Ent CK. Measurement of nasal nitric oxide: evaluation of six different sampling methods. *Eur J Clin Invest* 2009;39(1):72-7.
72. Struben VM, Wieringa MH, Mantingh CJ, Bruinsma SM, de Jongste JC, Feenstra L. Silent and humming nasal NO measurements in adults aged 18-70 years. *Eur J Clin Invest* 2005;35(10):653-7.
73. Zhou H, Zou B, Hazucha M, Carson JL. Nasal nitric oxide and lifestyle exposure to tobacco smoke. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2011;120(7):455-9.
74. Ho LP, Wood FT, Robson A, Innes JA, Greening AP. Atopy influences exhaled nitric oxide levels in adult asthmatics. *Chest* 2000;118(5):1327-31.
75. van Amsterdam JG, Janssen NA, de Meer G, Fischer PH, Nierkens S, van Loveren H, et al. The relationship between exhaled nitric oxide and allergic sensitization in a random sample of school children. *Clin Exp Allergy* 2003;33(2):187-91.
76. 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(2):295-7.
77. Sanders SP, Proud D, Permutt S, Siekierski ES, Yachechko R, Liu MC. Role of nasal nitric oxide in the resolution of experimental rhinovirus infection. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113(4):697-702.
78. Sanders SP, Siekierski ES, Richards SM, Porter JD, Imani F, Proud D. Rhinovirus infection induces expression of type 2 nitric oxide synthase in human respiratory epithelial cells in vitro and in vivo. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107(2):235-43.

79. Gentile DA, Doyle WJ, Belenky S, Ranck H, Angelini B, Skoner DP. Nasal and oral nitric oxide levels during experimental respiratory syncytial virus infection of adults. *Acta Otolaryngol* 2002;122(1):61-6.
80. Murphy AW, Platts-Mills TA, Lobo M, Hayden F. Respiratory nitric oxide levels in experimental human influenza. *Chest* 1998;114(2):452-6.
81. Abba AA. Exhaled nitric oxide in diagnosis and management of respiratory diseases. *Ann Thorac Med* 2009;4(4):173-81.
82. Ho LP, Innes JA, Greening AP. Nitrite levels in breath condensate of patients with cystic fibrosis is elevated in contrast to exhaled nitric oxide. *Thorax* 1998;53(8):680-4.
83. Rutgers SR, van der Mark TW, Coers W, Moshage H, Timens W, Kauffman HF, et al. Markers of nitric oxide metabolism in sputum and exhaled air are not increased in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999;54(7):576-80.
84. Ichinose M, Sugiura H, Yamagata S, Koarai A, Shirato K. Increase in reactive nitrogen species production in chronic obstructive pulmonary disease airways. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162(2 Pt 1):701-6.
85. Liu J, Sandrini A, Thurston MC, Yates DH, Thomas PS. Nitric oxide and exhaled breath nitrite/nitrates in chronic obstructive pulmonary disease patients. *Respiration* 2007;74(6):617-23.
86. Paredi P, Ward S, Cramer D, Barnes PJ, Kharitonov SA. Normal bronchial blood flow in COPD is unaffected by inhaled corticosteroids and correlates with exhaled nitric oxide. *Chest* 2007;131(4):1075-81.
87. Fabbri LM, Romagnoli M, Corbetta L, Casoni G, Busljetic K, Turato G, et al. Differences in airway inflammation in patients with fixed airflow obstruction due to asthma or chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167(3):418-24.
88. Agustí AG, Villaverde JM, Togores B, Bosch M. Serial measurements of exhaled nitric oxide during exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1999;14(3):523-8.
89. Kharitonov SA, Wells AU, O'Connor BJ, Cole PJ, Hansell DM, Logan-Sinclair RB, et al. Elevated levels of exhaled nitric oxide in bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151(6):1889-93.
90. Shoemark A, Wilson R. Bronchial and peripheral airway nitric oxide in primary ciliary dyskinesia and bronchiectasis. *Respir Med* 2009;103(5):700-6.
91. Cameli P, Bargagli E, Refini RM, Pieroni MG, Bennett D, Rottoli P. Exhaled nitric oxide in interstitial lung diseases. *Respir Physiol Neurobiol* 2014;197:46-52.

92. Paredi P, Kharitonov SA, Loukides S, Pantelidis P, du Bois RM, Barnes PJ. Exhaled nitric oxide is increased in active fibrosing alveolitis. *Chest* 1999;115(5):1352-6.
93. Tiev KP, Coste J, Ziani M, Aubourg F, Cabane J, Dinh-Xuan AT. Diagnostic value of exhaled nitric oxide to detect interstitial lung disease in systemic sclerosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2009;26(1):32-8.
94. O'Donnell DM, Moynihan J, Finlay GA, Keatings VM, O'Connor CM, McLoughlin P, et al. Exhaled nitric oxide and bronchoalveolar lavage nitrite/nitrate in active pulmonary sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156(6):1892-6.
95. Marthin JK, Nielsen KG. Choice of nasal nitric oxide technique as first-line test for primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J* 2011;37(3):559-65.
96. Narang I, Ersu R, Wilson NM, Bush A. Nitric oxide in chronic airway inflammation in children: diagnostic use and pathophysiological significance. *Thorax* 2002;57(7):586-9.
97. Horvath I, Loukides S, Wodehouse T, Csiszer E, Cole PJ, Kharitonov SA, et al. Comparison of exhaled and nasal nitric oxide and exhaled carbon monoxide levels in bronchiectatic patients with and without primary ciliary dyskinesia. *Thorax* 2003;58(1):68-72.
98. Corbelli R, Bringolf-Isler B, Amacher A, Sasse B, Spycher M, Hammer J. Nasal nitric oxide measurements to screen children for primary ciliary dyskinesia. *Chest* 2004;126(4):1054-9.
99. Torretta S, Bossi A, Capaccio P, Marchisio P, Esposito S, Brevi A, et al. Nasal nitric oxide in children with adenoidal hypertrophy: a preliminary study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2010;74(6):689-93.
100. Suojalehto H, Vehmas T, Lindstrom I, Kennedy DW, Kilpelainen M, Plosila T, et al. Nasal nitric oxide is dependent on sinus obstruction in allergic rhinitis. *Laryngoscope* 2014;124(6):E213-8.
101. Colantonio D, Brouillette L, Parikh A, Scadding GK. Paradoxical low nasal nitric oxide in nasal polyposis. *Clin Exp Allergy* 2002;32(5):698-701.
102. Ragab SM, Lund VJ, Saleh HA, Scadding G. Nasal nitric oxide in objective evaluation of chronic rhinosinusitis therapy. *Allergy* 2006;61(6):717-24.
103. Kirihene RK, Rees G, Wormald PJ. The influence of the size of the maxillary sinus ostium on the nasal and sinus nitric oxide levels. *Am J Rhinol* 2002;16(5):261-4.
104. Lindberg S, Cervin A, Runer T. Low levels of nasal nitric oxide (NO) correlate to impaired mucociliary function in the upper airways. *Acta Otolaryngol* 1997;117(5):728-34.
105. Lindberg S, Cervin A, Runer T. Nitric oxide (NO) production in the upper airways is decreased in chronic sinusitis. *Acta Otolaryngol* 1997;117(1):113-7.

106. Deja M, Busch T, Bachmann S, Riskowski K, Campean V, Wiedmann B, et al. Reduced nitric oxide in sinus epithelium of patients with radiologic maxillary sinusitis and sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168(3):281-6.
107. Baraldi E, Azzolin NM, Biban P, Zacchello F. Effect of antibiotic therapy on nasal nitric oxide concentration in children with acute sinusitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155(5):1680-3.
108. Moody A, Fergusson W, Wells A, Bartley J, Kolbe J. Increased nitric oxide production in the respiratory tract in asymptomatic pacific islanders: an association with skin prick reactivity to house dust mite. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105(5):895-9.
109. Zapletal A, Chalupova J. Nasal airflow and resistance measured by active anterior rhinomanometry in healthy children and adolescents. *Pediatr Pulmonol* 2002;33(3):174-80.
110. Standardization of Spirometry, 1994 Update. American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152(3):1107-36.
111. Torretta S, Marchisio P, Esposito S, Garavello W, Cappadona M, Clemente IA, et al. Exhaled nitric oxide levels in children with chronic adenotonsillar disease. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2011;24(2):471-80.
112. Ferguson EA, Eccles R. Relationship between nasal nitric oxide concentration and nasal airway resistance. *Rhinology*. 1997;35:120-3.