

УДК 616.24-002-053.31-073.173:612.233:546.172.6

Д.М. Криворотько

*Харківський національний медичний університет
КЗОЗ «ОДКЛ № 1», м. Харків*

КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ РІВНІВ МЕТАБОЛІТІВ ОКСИДУ АЗОТУ В КОНДЕНСАТІ ПОВІТРЯ ВИДИХУ НОВОНАРОДЖЕНИХ З ПНЕВМОНІЄЮ

Спектрофотометричним методом досліджені рівні NO_2 , NO_3 і NO_x (загального) конденсату повітря видиху (КПВ) у 48 новонароджених з пневмонією та 20 новонароджених без захворювань респіраторної системи (контрольна група). Встановлені референтні значення вмісту метаболітів оксиду азоту КПВ: NO_2 — $(0,18 \pm 0,01)$ мг/л, NO_3 — $(0,54 \pm 0,02)$ мг/л і NO_x — $(0,72 \pm 0,02)$ мг/л. Доведено вірогідне підвищення рівнів метаболітів оксиду азоту в КПВ: NO_2 — до $(0,79 \pm 0,05)$ мг/л ($p < 0,001$), NO_3 — до $(0,75 \pm 0,05)$ мг/л ($p < 0,05$), NO_x — до $(1,51 \pm 0,08)$ мг/л ($p < 0,001$) — у новонароджених із пневмонією в гострій період (у порівнянні з контролем) і вірогідне ($p < 0,001$) зниження рівнів усіх метаболітів оксиду азоту КПВ у періоді реконвалесценції (в порівнянні з показником у гострій період), при цьому референтних значень досягав лише рівень NO_3 , а рівні NO_2 і NO_x КПВ залишалися вірогідно підвищеними у порівнянні з контролем. Доведена можливість застосування рівнів метаболітів оксиду азоту КПВ у якості діагностичних і прогностичних критеріїв пневмонії новонароджених.

Ключові слова: новонароджені, пневмонія, конденсат повітря видиху, оксид азоту.

Пневмонія в дітей раннього віку є актуальною проблемою педіатрії. Актуальність обумовлена перш за все розповсюдженістю — у світі щорічно реєструється до 150 млн. випадків пневмонії в дітей віком до 5 років [1]. Незважаючи на значний прогрес медичної науки, смертність від пневмонії залишається значущою, особливо в неонатальному періоді. У світі пневмонія є основною причиною смерті дітей до 5 років [2]. Щорічно вона зумовлює 800 тис. смертей немовлят у країнах, що розвиваються [3, 4]. За даними аутопсії, пневмонія діагностується у 20–32 % живонароджених та у 15–38 % мертвонароджених немовлят [5]. Дані щодо розповсюдженості і смертності свідчать про необхідність удосконалення методів діагностики та моніторингу перебігу пневмоній у новонароджених.

Одним із перспективних методів дослідження респіраторної системи є аналіз конденсату повітря видиху (КПВ), який почали активно вивчати з 70-х років минулого століття

після відкриття Нобелевським лауреатом Linus Pauling окремих хімічних сполук у КПВ. Згодом науковцями було ідентифіковано до 250 речовин у КПВ і встановлено особливості хімічного складу при різних хворобах [6]. Аналіз КПВ отримав значне розповсюдження не тільки в наукових лабораторіях, а і на практиці, бо є неінвазивним, безпечним, простим у виконанні, дешевим, високочутливим і специфічним для окремих нозологій та хімічних сполук. Діагностичні можливості дослідження експірату при захворюваннях респіраторної системи підтверджуються тим, що зміни концентрацій хімічних речовин у ньому, легеневої тканині та бронхоальвелярній лаважній рідині односпрямовані [7].

Серед хімічних речовин, що містяться в конденсаті, найвірогідніші кореляційні зв'язки з запальними явищами в респіраторній системі встановлені для оксиду азоту (NO). Вперше його рівень було визначено в 1991 р. L. Gustafsson зі співавт., а вже з 2003 р. розпочато промислове виробництво детекторів

© Д.М. Криворотько, 2012

NO у повітрі видиху [8]. У провідних клініках світу рівні цього метаболіта в повітрі видиху застосовуються в практиці алергологів, пульмонологів для підбору протизапальної терапії хронічних хвороб легенів.

Актуальними та невирішеними залишаються питання дефініції рівнів метаболітів оксиду азоту в конденсаті повітря видиху новонароджених при запальних процесах у легенях (зокрема при пневмонії), бо відомі лише поодинокі наукові роботи з цієї проблеми з суперечливими висновками [9, 10]. З іншого боку, існує потреба ідентифікації об'єктивних маркерів запалення саме в цьому віковому періоді, коли зберігаються найбільші захворюваність, розповсюдженість, летальність від пневмонії та мають місце певні обмеження щодо використання інших параклінічних методів дослідження (наприклад, збір харкотиння або визначення функції зовнішнього дихання методом спірографії).

Мета дослідження — підвищення якості медичної допомоги новонародженим, хворим на пневмонію, шляхом удосконалення діагностики та моніторингу на основі впровадження оцінки маркерів запалення в КПВ.

Матеріал і методи. Робота виконана на базі відділень анестезіології та інтенсивної терапії новонароджених, патології новонароджених КЗОЗ «ОДКЛ № 1» в 2009–2012 рр. Під спостереженням знаходились новонароджені з пневмонією (основна група, $n=48$) та без захворювань респіраторної системи (контрольна група, $n=20$). Обстеження, верифікацію діагнозу та лікування новонароджених з пневмонією проводили згідно з «Тимчасовими стандартами обсягів діагностичних досліджень, лікувальних заходів та критеріїв якості лікування дітей» (Наказ МОЗ України № 226 від 27 липня 1998 р.) і «Протоколу лікування дітей з пневмонією» (Наказ МОЗ України № 18 від 13 січня 2005 р.). Застосовували класифікацію, що регламентована даним Протоколом, з визначенням патогенетичного варіанту (вроджена, аспіраційна, постнатальна, вентиляційна пневмонії), форми, локалізації, перебігу пневмонії, ступеня дихальної недостатності та наявності ускладнень.

Встановлювали рівні метаболітів оксиду азоту в КПВ новонароджених без ураження респіраторної системи (референтні значення) і новонароджених з пневмонією в

гострому та періоді реконвалесценції. Оцінювали можливість застосування рівнів даних метаболітів у КПВ у якості маркерів запалення при пневмонії в новонароджених.

Збір КПВ у новонароджених здійснювали в гострому періоді та періоді реконвалесценції пневмонії приладом власного виробництва [11]. Рівень нітратів і нітритів у КПВ визначали спектрофотометричним методом реактивом Гріса–Ілосвая. Для відновлення нітратів до нітритів використовували іони ванадію [12].

Дослідження проведено відповідно до вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин (Страсбург, 18.03.86), директиви Ради Європейського економічного товариства по захисту хребетних тварин (Страсбург, 24.11.86), Статуту Української асоціації з біоетики та норм GLP (1992 р.), вимог та норм ІСН ІЗ8Р (2002 р.), типових положень з питань етики МОЗ України № 281 від 01.11.2000.

Результати оброблені методами варіаційної статистики.

Результати. Основну групу становили 48 новонароджених з пневмонією. Серед хворих переважали хлопчики (32 дитини — 66,7 %). За клініко-анамнестичними та лабораторно-інструментальними даними діагностували вроджену (внутрішньоутробну) пневмонію в 16 (33,3 %) дітей, набуту — в 34 (70,8 %), серед яких вентиляційну — у 23 (67,7 %) та негоспітальну — в 11 (32,3 %) хворих. У більшості пацієнтів (27 дітей — 56,3 %) пневмонію діагностовано в перші три дні життя, у 7 (14,5 %) хворих — на 4-ту–7-му добу, в 14 (29,2 %) немовлят — після раннього неонатального періоду. Супутнім діагнозом у всіх хворих було гіпоксично-ішемічне ураження центральної нервової системи середнього ступеня тяжкості.

Контрольну групу становили 20 пацієнтів, що були порівнянні за віком, показниками фізичного розвитку, супутнім діагнозом з хворими основної групи та не мали ураження респіраторної системи.

Рівні NO_2 , NO_3 і NO_x КПВ у хворих на пневмонію в гострому та періоді реконвалесценції в порівнянні з референтними рівнями подано в таблиці. Визначали середнє значення (M), середню похибку середнього значення (m) та 95 % довірчий інтервал (ДІ).

Рівні NO_2 , NO_3 і NO_x у КПВ новонароджених з пневмонією, мг/л

Метаболіти NO	Контроль (n=20)	Основна група (n=48)	
		гострий період	період реконвалесценції
NO_2	0,18±0,01 (0,15–0,21)	0,78±0,05 p<0,001	0,55±0,04 p, p ₁ <0,001
NO_3	0,54±0,02 (0,50–0,58)	0,75±0,05 p<0,05	0,55±0,03 p>0,05; p ₁ ≤0,001
NO_x	0,72±0,02 (0,67–0,77)	1,53±0,08 p<0,001	1,10±0,06 p, p ₁ <0,001

Примітки: 1. В дужках у контрольній групі подано 95 % ДІ.

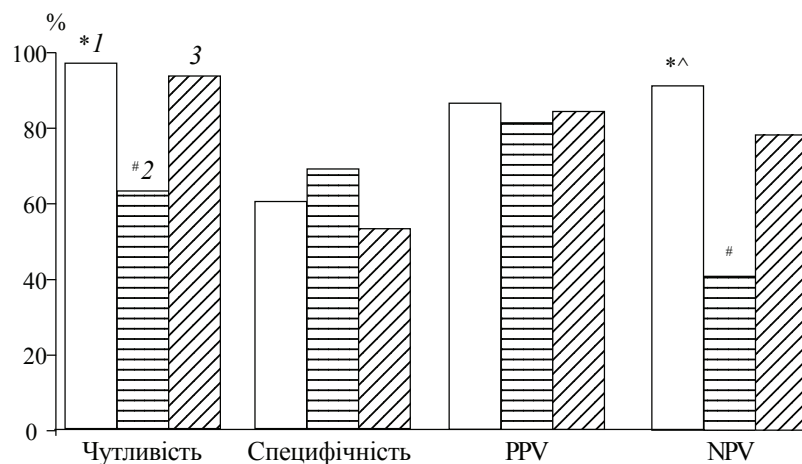
2. Різниця достовірна при порівнянні показника: p — з контролем; p₁ — з показником у гострий період.

За отриманими даними в гострий період захворювання вірогідно підвищені рівні всіх метаболітів оксиду азоту в КПВ, що свідчить про достатню зрілість ферментних систем NO-синтетази дитини вже в неонатальному періоді, доводить наявність даної патогенетичної ланки в розвитку пневмонії в періоді новонародженості та дає підстави розглядати показники NO_2 , NO_3 і NO_x КПВ як маркери запалення при пневмонії.

Наявність вірогідних відмінностей у порівнянні з референтними значеннями дозволяє розглядати тест визначення вмісту метаболітів оксиду азоту у КПВ як діагностичний при пневмонії в новонароджених. Для оцінки діагностичної значущості тесту були розраховані чутливість, специфічність, прогностична значущість позитивного результату (positive

predictive value — PPV) та негативного результату (negative predictive value — NPV). При розрахунках еталонним тестом діагностики вважали рентгенографію органів грудної клітки. Діагностична значущість визначення рівня метаболітів оксиду азоту КПВ при пневмонії в новонароджених подана на рисунку.

Таким чином, найвищу чутливість і прогностичну значущість як позитивного, так і негативного результатів при діагностиці пневмонії в гострому періоді має тест визначення рівня NO_2 КПВ. На другому місці за діагностичною значущістю знаходиться визначення рівня NO_x . Найменші чутливість і прогностичну значущість має тест визначення вмісту NO_3 у КПВ. Специфічність усіх тестів невисока — 55–65 % без вірогідної різниці між метаболітами.



Діагностична валідність рівнів NO_2 (1), NO_3 (2) і NO_x (3) КПВ при пневмонії в новонароджених: * p<0,001 — відносно NO_3 ; # p<0,001 — відносно NO_x ; ^ p<0,05 — відносно NO_x

У періоді реконвалесценції пневмонії (таблиця) у хворих основної групи відмічається вірогідне ($p < 0,001$) зниження рівнів усіх метаболітів оксиду азоту в порівнянні з показниками в гострий період. Але якщо рівень NO_3 КПВ у періоді реконвалесценції нормалізується, то концентрації NO_2 і NO_x залишаються вірогідно ($p < 0,001$) підвищеними в порівнянні з контролем, що свідчить про більш пізнє відновлення метаболічних порушень у порівнянні з ліквідацією ексудації в альвеолах, підтвердженою рентгенологічним дослідженням. Виявлені статистичні закономірності дозволяють розглядати визначення вмісту метаболітів оксиду азоту у КПВ як прогностичний тест для моніторингу запального процесу в легенях.

Впровадження отриманих результатів у практику дозволить удосконалити спостереження немовлят із пневмонією: поліпшити діагностику при підвищенні безпеки обстеження, зокрема, зменшити частоту рентгенологічних та інших інвазивних методів дослідження; підвищити ефективність лікування шляхом визначення обсягу й тривалості антибактеріальної терапії з урахуванням динаміки рівнів метаболітів оксиду азоту КПВ як маркера запалення.

Список літератури

1. Майданник В. Г. Сучасні тенденції в лікуванні інфекцій дихальних шляхів у дітей / В. Г. Майданник // Дитячий лікар. — 2010. — № 3 (5). — С. 46–50.
2. Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000; for the Child Health Epidemiology Reference Group of WHO and UNICEF / L. Liu, H. L. Johnson, S. Cousens [et al.] // Lancet. — 2012. — № 379. — P. 2151–2161.
3. Duke T. Neonatal pneumonia in developing countries / T. Duke // Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal. Ed. — 2005. — № 90. — P. 211.
4. Helping clinicians provide the best patient care [Електронний ресурс] / M. E. Speer, J. A. Garcia-Prats, M. S. Edwards, M. S. Kim // Neonatal Pneumonia. — Режим доступу : <http://www.uptodate.com/contents/neonatal-pneumonia>.
5. Barnett E. D. Bacterial infections of the respiratory tract / E. D. Barnett, J. O. Klein // Infectious diseases of the fetus and the newborn / ed. by J. S. Remington et al. — [7th ed.]. — Philadelphia : Elsevier Saunders, 2010. — 276 p.
6. Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography / L. Pauling, A. B. Robinson, R. Teranishi [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1971. — № 68. — P. 2374–2376.
7. Utility of exhaled breath condensates in chronic obstructive pulmonary disease: a critical review / R. M. Effros, J. Su, R. Casaburi [et al.] // Curr. Opin. Pulm. Med. — 2005. — № 11 (2). — P. 135–144.
8. Validation study of fractional exhaled nitric oxide measurements using a handheld monitoring device / M. Gill, G. R. Graff, A. J. Adler [et al.] // J. Asthma. — 2006. — № 43. — P. 731–734.

Висновки

1. Референтними значеннями метаболітів оксиду азоту в конденсаті повітря видиху у новонароджених є: NO_2 — (0,18±0,01) мг/л, NO_3 — (0,54±0,02) мг/л і NO_x — (0,72±0,02) мг/л.

2. У новонароджених із пневмонією в гострий період відмічається вірогідне підвищення у конденсаті повітря видиху рівнів NO_2 — до (0,79±0,05) мг/л ($p < 0,001$), NO_3 — до (0,75±0,05) мг/л ($p < 0,05$) і NO_x — до (1,51±0,08) мг/л ($p < 0,001$). Найбільша діагностична значущість притаманна тестам визначення вмісту NO_2 та NO_x у конденсаті повітря видиху: чутливість — 98 та 94 %; специфічність — 60 та 55 %; PPV — 85 та 83 %; NPV — 92 та 79 % відповідно.

3. У періоді реконвалесценції відбувається вірогідне ($p < 0,001$) зниження рівнів усіх метаболітів оксиду азоту в конденсаті повітря видиху, при цьому референтних значень досягає тільки рівень NO_3 , а значення NO_2 і NO_x конденсату повітря видиху залишаються вірогідно підвищеними в порівнянні з контролем.

4. Можливо застосування рівнів метаболітів оксиду азоту конденсату повітря видиху на практиці в якості діагностичних і прогностичних критеріїв пневмонії новонароджених.

9. Определение уровня метаболитов оксида азота у новорожденных в конденсате выдыхаемого воздуха / А. С. Панченко, М. А. Юкина, И. Н. Гаймоленко [и др.] // Дальневосточный медицинский журнал. — 2011. — № 2. — С. 41–43.

10. Яценко Ю. Б. Неінвазивний метод діагностики дихальних розладів легеневого походження у новонароджених при критичних станах : методичні рекомендації / Ю. Б. Яценко, О. Г. Буряк. — К. : Укрмедпатентінформ, 2010. — 25 с.

11. Патент 54790 Україна. Пристрій для збору конденсату повітря видиху / Клименко В. А., Криворотько Д. М., Кожемяка А. І., Сіренко Т. В., Кшемінська Н. А. ; заявник і патентовласник Харківський національний медичний університет. — № 201005878 ; заявл. 17.05.10 ; опубл. 25.11.10, Бюл. № 22.

12. Метельська В. А. Скринінг-метод визначення рівня метаболітів оксиду азоту в сироватці крові / В. А. Метельська, Н. Г. Гуманова // Клінічна лабораторна діагностика. — 2005. — № 6. — С. 15–18.

Д.Н. Криворотько

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ УРОВНЕЙ МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА В КОНДЕНСАТЕ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА У НОВОРОЖДЕННЫХ С ПНЕВМОНИЕЙ

Спектрофотометрическим методом исследованы уровни NO_2 , NO_3 и NO_x (общего) конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) у 48 новорожденных с пневмонией и 20 новорожденных без заболеваний респираторной системы (контрольная группа). Установлены референтные значения содержания метаболитов оксида азота КВВ: NO_2 — $(0,18 \pm 0,01)$ мг/л, NO_3 — $(0,54 \pm 0,02)$ мг/л и NO_x — $(0,72 \pm 0,02)$ мг/л. Доказано достоверное повышение уровней метаболитов оксида азота в КВВ: NO_2 — до $(0,79 \pm 0,05)$ мг/л ($p < 0,001$), NO_3 — до $(0,75 \pm 0,05)$ мг/л ($p < 0,05$), NO_x — до $(1,51 \pm 0,08)$ мг/л ($p < 0,001$) — у новорожденных с пневмонией в острый период (в сравнении с контролем) и достоверное ($p < 0,001$) снижение уровней всех метаболитов оксида азота КВВ в периоде реконвалесценции (по сравнению с показателем в острый период), при этом референтных значений достигал лишь уровень NO_3 , а уровни NO_2 и NO_x КВВ оставались достоверно повышенными по сравнению с контролем. Доказано, что уровни метаболитов оксида азота КВВ могут применяться в качестве диагностических и прогностических критериев пневмонии новорожденных.

Ключевые слова: новорожденные, пневмония, конденсат выдыхаемого воздуха, оксид азота.

D.N. Kryvorotko

A CLINICAL VALUE OF OXIDE NITROGEN METABOLITES LEVELS OF EXHALED BREATH CONDENSATE IN NEWBORNS WITH PNEUMONIA

The levels of NO_2 , NO_3 and NO_x (total) were investigated in exhaled breath condensate (EBC) in 48 newborns with pneumonia and 20 newborns without respiratory system's diseases (control group) by spectrophotometer method. The reference values for nitric oxide metabolites in EBC were established for newborns: NO_2 — $(0,18 \pm 0,01)$ mg/l, NO_3 — $(0,54 \pm 0,02)$ mg/l and NO_x — $(0,72 \pm 0,02)$ mg/l. The levels of nitric oxide metabolites were increased in the acute period of pneumonia vs control: NO_2 — $(0,79 \pm 0,05)$ mg/l ($p < 0,001$), NO_3 — $(0,75 \pm 0,05)$ mg/l ($p < 0,05$), NO_x — $(1,51 \pm 0,08)$ mg/l ($p < 0,001$). The nitric oxide metabolites levels were decreased significantly ($p < 0,001$) in convalescence vs acute period of pneumonia. Only the NO_3 level reached the reference value in convalescence period, and the NO_2 , NO_x levels remained significantly elevated vs control. Therefore, the diagnostic and prognostic values of nitric oxide metabolites levels in EBC in newborns with pneumonia were proved.

Key words: newborns, pneumonia, exhaled breath condensate, nitric oxide.

Поступила 30.03.12