

Měření vydechovaného oxidu dusnatého u dětí léčených speleoterapií a suplementací fytopreparáty

MUDr. Vladimír Svozil¹, MUDr. Josef Richter², MUDr. Jaromír Bertlik³, RNDr. Vlastimil Král, CSc.², Ing. Iva Stiborová², MUDr. Josef Mašláň¹, MUDr. Rudolf Odehnal¹, MUDr. Miloš Verner¹, MUDr. Ludovít Filo¹, MUDr. Stanislava Richterová⁴, Mgr. Lucie Rajnohová-Dobiášová²

¹Sanatorium Edel, s. r. o., Zlaté Hory

²Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem

³ALVEO

⁴Státní zdravotní ústav Praha

U 127 dětí v režimu speleoterapie a 97 dětí léčených speleoterapií a nutričním režimem (alveo preparát) byly měřeny hodnoty vydechovaného oxidu dusnatého (eNO) před a po léčebném pobytu. Byl nalezen výrazný vliv speleoterapie na zlepšení nálezu eNO. Toto ovlivnění bylo výraznější u dětí s komplexním režimem speleoterapie a fytoterapie.

Klíčová slova: vydechovaný oxid dusnatý, speleoterapie, fytoterapie.

Measurement of exhaled nitric oxide in children influenced speleotheapeutic and phytotheapeutic regime

Measurement of exhaled NO levels have been used to monitor the effect of speleotheapeutic (127 children) and complex (speleotheapeutic and phytotheapeutic) regime (97 children) exposed to very low levels of contamination on fair pollution leads to improving of the eNO levels. This effect has been more powerful in the group of children with speleotheapeutic and phytotheapeutic.

Key words: exhaled nitric oxide, children, speleotheapeutic, phytotheapeutic.

Pediatr. pro Praxi 2010; 11(3): 186–189

Měření hodnot výdechového kyslíčnicku dusnatého (NO) se zdá být nadějným příslibem pro sledování zánětlivých změn dýchacích cest především u dětí, kde se ukazuje být daleko citlivějším indikátorem průběhu onemocnění astmatem než například ECP, solubilní receptor pro IL – 2, nebo eosinofilní protein X v moči (1–4). NO je důležitý nespecifický mediátor zánětu (1). Endogenní oxid dusnatý je syntetizován z L-argininu prostřednictvím enzymu NO syntetázy (2, 4). Je uvolňován do dýchacích cest řadou buněk přítomných v plicním traktu, včetně buněk endoteliálních. Jeho hodnoty jsou ovlivňovány u zdravé populace řadou faktorů, mimo jiné kvalitou ovzduší, aktivním i pasivním kouřením, fyzickou zátěží, složením výživy. Na změnách se podílí i výška jedince, jeho věk a některé další vlivy (1, 2, 4–9). Jedinečnost stanovení eNO je v jednoduchosti měření a dobré reprodukovatelnosti při dodržení doporučených postupů. Ve srovnání s jinými metodami hodnocení zánětu dýchacích cest jsou nálezy získané stanovením eNO významně přesnější (4, 10, 11).

Význam speleoterapie a klimatoterapie je stále předmětem rozsáhlých diskuzí. Je pravdou, že dostupnost studií je v této problematice velmi omezená. Kontrolní studie sledující účinek

těchto alternativních postupů jsou výjimečné (12–15). Možnost sledování eNO spolu s léčebným speleotheapeutickým přístupem, klimatoterapií a úpravou celkového režimu dítěte je předmětem našeho sdělení.

Soubor a metoda

Do sledování jsme zařadili 127 jedinců se zdravotní indikací opakovaných infekcí horních cest dýchacích, tvořících kontrolní skupinu s režimem klimatické léčby a speleoterapie v průběhu pobytu v zařízení léčebny EDEL Zlaté Hory v letním období, především v měsících červenec – září (116 ze 127 jedinců, tj. 91,3 % souboru). V zimním období, především v měsících listopad – březen, byla sledována skupina 97 dětí se speciálním nutričním režimem. Těmto dětem byl podáván fytopreparát ALVEO jako potravinový

výplněk v doporučené dávce po celou dobu léčebného pobytu. Alveo preparát firmy Akuna se skládá z 26 rostlinných extraktů a je k dispozici v řadě států EU, v USA i Kanadě s kreditem FDA a u nás povolením MZ ČR (16). Skupina dětí se speciálním režimem ALVEO se skládala z 55 chlapců ve věku $9,28 \pm 2,94$ let a 42 dívek v průměrném věku $10,12 \pm 2,62$ let. Kontrolní soubor tvořilo 86 chlapců ve věku $11,6 \pm 2,52$ let a 41 dívek ve věku $9,28 \pm 2,94$ let.

U všech sledovaných dětí byl bezprostředně po nástupu do léčebny měřen eNO s použitím přístroje NIOX s využitím doporučeného postupu (5). Měření bylo provedeno vždy ve stejnou denní dobu a opakováno před opuštěním léčebny na konci léčebného režimu.

U všech dětí byly provedeny odběry slin, a to na začátku a na konci léčebného pobytu

Tabulka 1. FENO (hodnoty koncentrace exhalovaného kyslíčnicku dusnatého (eNO)) u dětí s režimem ALVEO a kontrol

	n	X	SD	L 95% CI	U 95% CI
ALVEO 1	97	11,59	2,01	10,09	13,34
2	97	10,19	1,6	9,26	11,19
KONTROLA 1	127	11,02	1,98	9,79	12,39
2	127	9,33	1,04	8,73	10,44

s využitím postupů zavedených na našich pracovištích a odpovídajících normám odběru (1, 17). Ve slinách byla stanovena hladina albuminu jako indikátoru zánětlivé iritace respiračního traktu (17) s použitím přístroje Dade Behring BN II.

Statistické hodnocení bylo provedeno s využitím stávajících programů Microsoft Excel a speciálních programů Graf Pad Instat 3 a Prism 4. Získané údaje hodnot eNO a albuminu byly konvertovány do logaritmických hodnot z důvodu zajištění normálního rozložení hodnot. Po provedení statistických hodnocení byly hodnoty konvertovány do hodnot původních. Pro vyhodnocení bylo využito párového i nepárového t – testu (Kruskal Wallis), ANOVA testu a dalších postupů, doporučených statistickými programy Graf Pad.

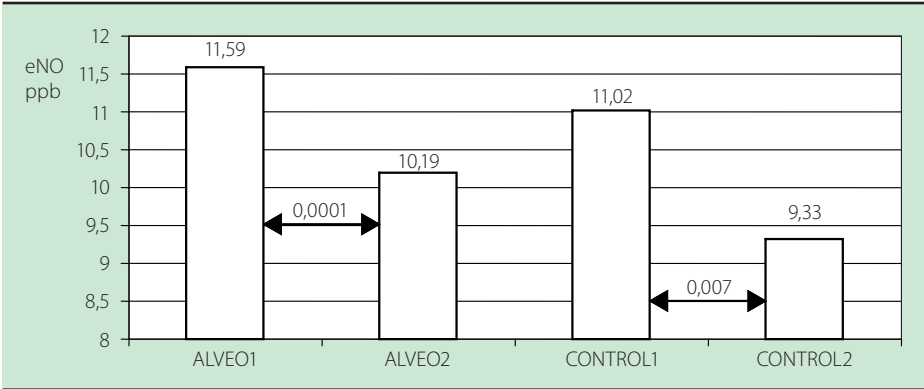
U všech dětí zařazených do studie byl získán informovaný souhlas rodičů a založen do studie. Etické podmínky byly zajištěny stejným způsobem, který uvádíme v prvním sdělení (17).

Výsledky

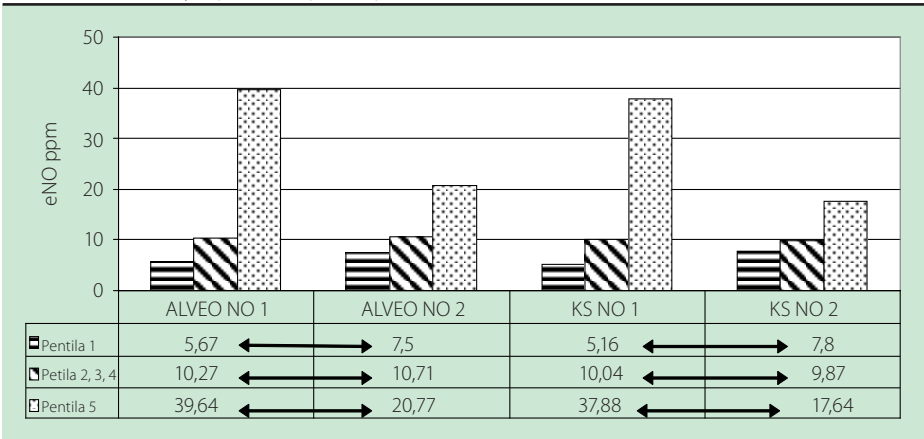
Jak v kontrolních souborech, tak v souboru dětí s režimem ALVEO jsme zjistili ve 2. odběru pokles hodnot eNO ve výdechovém vzduchu (graf 1). Mírně vyšší hodnoty u dětí skupiny ALVEO byly pravděpodobně ovlivněny sezónou odběru (18). Poměrně široké rozpětí zjištěných hodnot v obou sledovaných skupinách nás vedlo k detailnímu rozboru získaných nálezů. Po rozdělení dat obou souborů jsme zjistili významné rozdíly změn nálezů u nízkých a vysokých hodnot eNO (graf 2). Zjistili jsme, že zvolený režim speleoterapie vede u vysokých hodnot ke statisticky významnému poklesu eNO, a to u jedinců obou souborů, zatímco snížené hodnoty zjištěné u dětí na začátku pobytu mají po léčebném pobytu trend zvýšení (graf 3 a 4). Nálezy výdechového eNO u dětí s hodnotami druhé až čtvrté pentily jsou statisticky nevýznamné. Detailně jsou tyto změny znázorněny v grafu 3 a 4.

Zjistili jsme, že hodnoty eNO jsou ovlivněny věkem. Zatímco u mladších dětí dolní pentily souboru s průměrným věkem 7,95 let jsme našli málo významné změny ($p < 0,05$), u dětí horní pentily souboru s průměrným věkem (14,6 let) jsme zjistili významný pokles hodnot ($p < 0,01$). Tyto nálezy nás vedly k porovnání vztahu výšky sledovaných dětí a hodnot eNO. Zjistili jsme statisticky vysoce významný rozdíl u dětí nižšího růstu (průměr 116,3 cm) proti dětem vyššího vzrůstu (průměr 156,6 cm) s nálezem eNO ($8,83 \pm 1,48$ resp. $19,01 \pm 2,16$). Tomu odpovídají i nálezy rozložení souboru

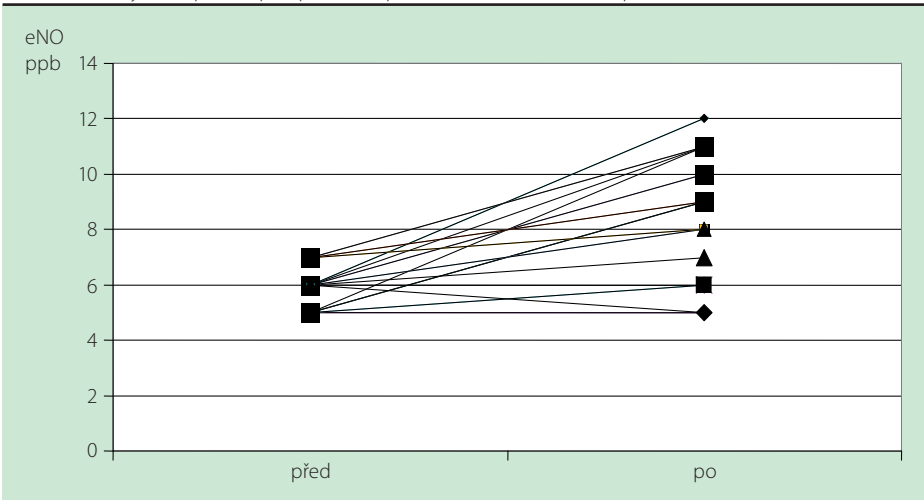
Graf 1. Hodnoty FENO u dětí s programem ALVEO a kontrolní skupiny speleoterapie



Graf 2. FENO změny v pentilách před a po léčebném režimu



Graf 3. Změny eNO před a po speleoterapii a ALVEO režimu (dolní pentila)



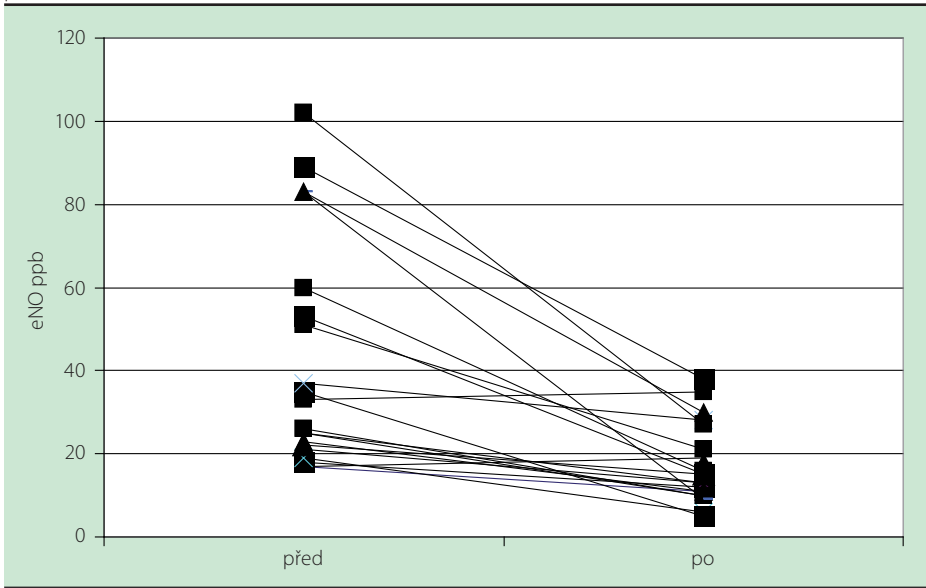
dle věku (graf 5). U hodnocení nálezů eNO dle pohlaví jsme nezjistili statisticky významné rozdíly mezi chlapci a dívkami ($9,3 \pm 1,62$ resp. $11,2 \pm 1,55$ ppm) u dívek ($p = 0,06$). Při hodnocení rozdílů hodnot eNO v závislosti na BMI jsme nezjistili významné rozdíly u dětí zařazených do horní resp. dolní pentily (17,7 ppm resp. 19,2 ppm pro děti s průměrem BMI 14,62, resp. 23,93). Nezjistili jsme statisticky významný rozdíl hodnot eNO u dětí s vysokými, resp. nízkými

průměrnými hodnotami salivárního albuminu jako indikátoru zánětu dutiny ústní.

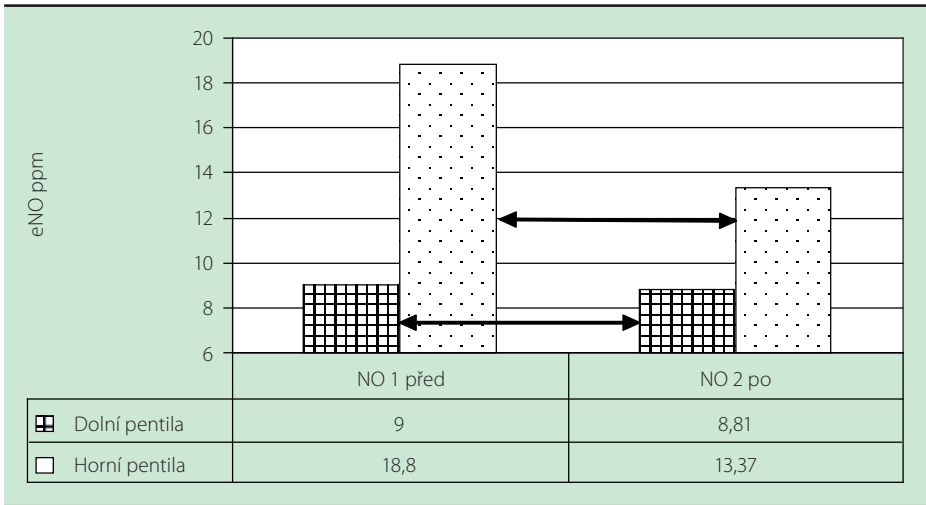
Diskuze

Údaje o významu speleoterapie, resp. klimatoterapie jsou v západní literatuře velmi řídké. Shodují se, že nejsou dostatečné důkazy účinku tohoto způsobu alternativní léčby a že je nezbytné provést opakované kontrolované studie s dlouhodobým následným sledováním (2, 12, 15, 19, 20). V každém případě je speleoterapie

Graf 4. Hodnoty eNO ve výdechovém vzduchu u dětí před a po speleoterapii a ALVEO režimu (horní pentila)



Graf 5. Věk a FENO



a klimatoterapie stále více využívána a jsou stále častější důkazy o pozitivním účinku tohoto léčebného postupu (19). Sledování různých imunologických ukazatelů přineslo již dříve zajímavé důkazy a argumenty pro využívání speleoterapie a klimatoterapie (20).

Přítomnost eNO ve výdechovém vzduchu byla poprvé popsána v roce 1991 Gustafssonem a spol. (18). Toto sdělení následovala řada prací sledujících hodnoty výdechového eNO u různých onemocnění. Ačkoliv dodnes není zcela objasněna patofyziologie tohoto uvolňování, jsou nálezy eNO u astmatiků zjevně vyšší než u zdravých jedinců a vzestup hodnot při aktivaci onemocnění a pokles po protizánětlivé léčbě je zřejmý (5, 8, 10, 14, 15, 17, 21).

Odhlédneme-li od pacienta a problémů spojených s technikou stanovení eNO, vyžaduje interpretace výsledků měření eNO znalost re-

ferenčních hodnot a nezbytnost zajištění přesnosti a reprodukovatelnosti vyšetření (15, 22–24). Význam demografických faktorů je předmětem stále větší pozornosti. Názory na vliv tělesné výšky na hodnoty eNO jsou v literatuře protichůdně diskutovány. Některé novější publikace a také naše nálezy ukazují na vyšší hodnoty v závislosti na tělesné výšce (3, 9, 15, 22). Rovněž tak je nejasný vliv věku na hodnoty eNO u zdravých jedinců (9, 20, 25). Naše nálezy tuto závislost potvrzují. Také jsme nenalezli závislost hodnot eNO na hmotnosti jedinců (vyjádřeno indexem BMI) (20). Častěji jsou udávány hodnoty hraniční pro odlišení astmatiků od neastmatiků s limitem 20–30 ppb (5, 9, 11, 15). Přibližně stejné limity jsou udávány u atopiků (15) a jsou dávány do korelace s pozitivitou výsledků kožního testování a s množstvím eosinofilů v periferní krvi (15). Naopak primární ciliární dyskineze, porucha řasinkového epitelu, je vázána na nízké

hodnoty eNO u vyšetřovaných jedinců. Nálezy jsou u těchto jedinců minimálně o 60 % nižší než u zdravých (26).

Stejně tak jsou nízké hodnoty popisovány u nemocných s cystickou fibrózou. I u dětské populace je potřeba myslet na ovlivnění hodnot eNO nikotinizmem (především vliv pasivního kouření). Redukce hodnot eNO je vázána na intenzitu a délku expozice tabákovému kouři (3, 13, 23, 27). Hodnoty eNO jsou nižší i u dětí, které jsou exponovány tabákovému kouři prenatálně v porovnání s dětmi exponovanými postnatálně nebo neexponovanými (13, 23). Pasivní i aktivní kouření může vysvětlit i poměrně vysoký podíl nízkých hodnot eNO u dětí námi sledovaného souboru. Stále nejsou jednoznačně potvrzeny rozdíly hodnot eNO podle pohlaví u mužů a žen, ale poslední nálezy ukazují na nižší hodnoty u žen (18). V našem souboru jsme nenalezli rozdíly mezi dětmi obou pohlaví.

Ve vztahu k životnímu prostředí a kvalitě nejenom zevního prostředí, ale i prostředí interiéru, je zajímavý nálezy indukce subklinické zánětlivé iritace způsobené formaldehydem se zvýšenými hodnotami eNO u exponovaných jedinců (2, 7).

Výše uvedené nálezy ukazují na nezbytnost kalkulace se všemi faktory, které by mohly ovlivnit stanovení měřených hodnot. Základem pro přesné hodnocení je dodržení metodického pokynu výrobce měřicí techniky, v našem případě firmy Aerocrine – přístroj NIOX – MINO. Dodržení podmínek standardního postupu je nutným předpokladem (5). Pro poznání těchto závislostí bude třeba dalších studií provedených u zdravé populace (27). V námi sledovaných souborech jsme pozorovali významné zlepšení nálezů hladin eNO u dětí, které absolvovaly režim speleoterapie a klimatoterapie spolu s režimem nutriční suplementace. Tyto nálezy budou vyžadovat další sledování, především s dobře definovaným populačním vzorkem. Naše snaha monitorovat zánětlivou iritaci ve vztahu ke zvýšeným hodnotám albuminu ve slinách jako indikátoru zánětlivé reakce (iritace) se neukázala být vhodná z toho důvodu, že vypovídá především o zánětlivé iritaci v dutině ústní resp. v trávicím traktu. Ukazuje se, že pravděpodobně významnějším indikátorem monitorujícím zánětlivé změny by mohlo být měření hodnot eosinofilního proteinu X v moči resp. dalších ukazatelů (21). Prezentované výsledky ukazují významné ovlivnění hodnot eNO klimato a speleoterapií. Na příznivých změnách se bude pravděpodobně podílet i úprava nutričního režimu zvoleným preparátem ALVEO i celý komplexní přístup péče o dítě v léčebném pobytu.

Literatura

1. Čáp P. Stanovení koncentrace vydechovaného oxidu dusnatého – nová diagnostická metoda k posouzení asthma bronchiale. *Prakt. Lék.* 2006; 86: 78–80.
2. Čáp P, Brezina M. Neinvazivní vyšetřování zánětu u astmatu u dětí a dospělých. Praha, Mladá fronta a. s. 2009.
3. Malinovschi A, Janson C, Holmkvist T, et al. Effect of smoking on exhaled nitric oxide and flow-independent nitric oxide exchange parameters. *Eur. Respir. J.*, 2006; 28: 339–345.
4. Richter J, Svozil V, Bertlik J, et al. Sledování imunitní odezvy u dětí v nutričním režimu fytoaterapie preparátem AL-VEO. Zasláno do tisku.
5. American Thoracic Society/European Respiratory Society. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide. *Am. J. respir. Crit. Care Med.* 2005; 171: 912–930.
6. Augustine TK, Hui KP, Ihsan R. Does Exhaled nitric Oxide level vary among different ethnic groups. *Chest Meeting Abstracts* 2004; 126: 758S.
7. Franklin P, Dingle P, Stick S. Raised Exhaled Nitric Oxide in Healthy Children is Associated with Domestic Formaldehyde Levels. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* 2000; 161: 1757–1759.
8. Kharitonov SA, Gonio F, Kelly C, et al. Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *Europ. Resp. J.* 2003; 21: 433–438.
9. 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: 169–175.
10. Piacentini GL, Bodini A, Zerman L, et al. Relationship between exhaled air temperature and exhaled nitric oxide in childhood asthma. *Eur. Respir. J.* 2002; 20: 108–111.
11. Sutherland ER. Sham Procedure versus Usual Care as the Control in Clinical Trials of Devices. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2007; 4: 574–576.
12. Beamon S, Falkenbach A, Fainburg G, Linde K. Speleotherapy for asthma. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2001, CD001741.
13. Gabriele C, Asgarali R, Jaddoe VW, et al. Smoke exposure, airway symptoms and exhaled nitric oxide in infants: the Generation R Study. *Eur. Resp. J.* 2008; 30: 1183.
14. Menzies D, Nair A, Lipworth BJ. Portable Exhaled Nitric Oxide measurement. *Chest* 2007; 131: 410–414.
15. Smith AD, Taylor DR. Je měření oxidu dusnatého ve vydechovaném vzduchu u astmatiků užitečné? *Curr. Opin. Clin. immunol/CS* 2005; 2: 5–10.
16. www.akuna-alveo.co.uk.
17. Ricciardolo FLM. Multiple roles of nitric oxide in the airways. www.thoraxjnl.com 2006; 58: 175–182.
18. Olivieri M, Talamini G, Corradi M, et al. Reference values for exhaled nitric oxide (reveno) study. *Respiratory Research* 2006; 7(94): 1–6.
19. Kalyoncu AF, Selcuk ZT, Iskendarani A, et al. Alternative and complementary medicine for asthma. *Thorax* 1992; 47: 762–764.
20. Mohapl J, Bohac S, Weigl E. Values of selected immunological parameters before and after speleotherapy. *Acta Univ. Palacki Olomu. Fac. Med.* 1991; 131: 197–211.
21. Mattes J, Gravesande KS, Moeller C, et al. Circadian Variation of Exhaled Nitric Oxide and Urinary Eosinophil Protein X in Asthmatic and Healthy Children. *Pediatr. Res.* 2000; 51: 190–194.
22. Cieslak TJ, Frost G, Klentrou P. Effects of physical activity, body fat, and salivary cortisol on mucosal immunity in children. *J. Appl. Physiol.* 2003; 95: 2315–2320.
23. Olin AC, Rosengren A, Thelle DC, et al. Height, Age, and Atopy Are Associated With Fraction of Exhaled Nitric Oxide in a Large Adult General Population Sample. *Chest* 2006; 130: 1319–1325.
24. Votruba J, Čáp P. Vydechovaný oxid dusnatý a jeho korelace s biotickými nálezy u pacientů s chronickým kašlem. *Čas. Lék. Čes.* 2009; 148: 429–433.
25. Franklin PJ, Taplin R, Stick SM. A Community Study of Exhaled Nitric Oxide in Healthy Children. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* 1999; 159: 69–73.
26. Woodehouse T, Kharitonov SA, Mackay IS, et al. Nasal nitric oxide measurements for the screening of primary ciliary dyskinesia. *Eur. Respir. J.* 2003; 21: 43–47.
27. Franklin PJ, Turner S, Mutch R, Stick SM. Parental smoking increases exhaled nitric oxide in young children. *Eur. Resp. J.* 2006; 28: 730–733.

MUDr. Vladimír Svozil

Sanatorium Edel, s. r. o., Zlaté Hory
Lázeňská 491, 793 76 Zlaté Hory
vladimir.svozil@speleoterapie.cz
