



Misurazione dell'ossido nitrico esalato con apparecchi portatili*

Confronto con la tecnica "gold standard"

Daniel Menzies, MBChB; Arun Nair, MBBS; Brian J. Lipworth, MD

Background: La misurazione dell'ossido nitrico esalato frazionato (FENO) può essere d'aiuto nella diagnosi di asma e può anche essere considerata come un sostituto marker infiammatorio sul quale basarsi per prendere delle decisioni terapeutiche negli algoritmi della gestione dell'asma. Fino a poco tempo fa questa tecnica era limitata all'ambito della ricerca e degli istituti di cure secondarie. È stato sviluppato un analizzatore dell'ossido nitrico portatile (MINO; Aerocrine AB; Smidesvägen, Svezia), ma esistono pochi dati che confrontano questo dispositivo con gli analizzatori più grandi in uso presso i laboratori (NIOX; Aerocrine AB).

Metodi: Un totale di 101 pazienti asmatici (64 trattati con corticosteroidi per via inalatoria) e di 50 volontari sani è stato sottoposto a misure simultanee di FENO utilizzando le apparecchiature NIOX e MINO.

Risultati: Sia negli asmatici che nei volontari sani c'è stata una buona correlazione tra le misurazioni ottenute con ciascun dispositivo ($r = 0,94$ e $0,96$, rispettivamente). L'analisi di Altman-Bland ha confermato questa concordanza. Le curve ROC (receiver operating characteristic) che distinguevano gli asmatici dai volontari sani ottenute utilizzando il NIOX e il MINO hanno mostrato una sensibilità dell'83,2% e una specificità del 72%, utilizzando come valori cutoff 13 e 12,5 parti per miliardo, rispettivamente.

Conclusioni: I valori di FENO ottenuti utilizzando un analizzatore portatile hanno una buona correlazione con quelli ottenuti utilizzando un analizzatore di laboratorio e possono essere utilizzati per distinguere i pazienti asmatici da quelli non asmatici. Questo potrebbe facilitare la misurazione dell'infiammazione nelle vie aeree degli asmatici a livello di cure primarie.

(CHEST Edizione Italiana 2007; 2:3-7)

Parole chiave: asma; ossido nitrico esalato

Abbreviazioni: AUC = area sotto la curva; IC = intervallo di confidenza; FENO = ossido nitrico esalato frazionato; ICS = corticosteroidi inalatori; ppb = parti per miliardo; ROC = curve ROC

*Da Asthma & Allergy Research Group, Dundee, UK.

Nessuno degli autori è coinvolto in organizzazioni con interessi finanziari diretti relativi all'argomento trattato dall'articolo.

Manoscritto ricevuto il 25 maggio 2006; revisione accettata il 21 settembre 2006.

La riproduzione di questo articolo è vietata in assenza di autorizzazione scritta dell'American College of Chest Physicians (www.chestjournal.org/misc/reprints.shtml).

Corrispondenza: Brian Lipworth, MD, University of Dundee, Asthma and Allergy Research Group, Clinical Pharmacology, Ninewells Hospital and Medical School, Dundee, Scotland DD1 9SY, UK; e-mail: b.j.lipworth@dundee.ac.uk

(CHEST 2007; 131:410-414)

La misurazione dell'ossido nitrico esalato frazionato (FENO) nei pazienti asmatici viene sempre di più riconosciuta come un potenziale strumento di aiuto nella diagnosi e nella gestione della malattia. Elevati livelli di FENO in pazienti asmatici sembrano essere correlati con la gravità della malattia e, in modo rilevante, anche con un successivo peggioramento nel controllo dell'asma.^{1,2} Due studi prospettici randomizzati e controllati^{3,4} in bambini e adulti hanno mostrato l'utilità dell'incorporare questa misurazione di infiammazione delle vie aeree nell'algo-

ritmo terapeutico. Utilizzare il FENO nel regolare la dose giornaliera di un corticosteroide inalatorio (ICS) porta a riduzione dell'iper-reattività bronchiale e della dose totale di ICS necessario per mantenere la malattia controllata, se confrontato con la spirometria tradizionale e con l'approccio basato sui sintomi. Inoltre, in pazienti non in terapia steroidea con diagnosi dubbia, la misurazione del FENO ha valore predittivo positivo se confrontato con il test di provocazione bronchiale con la metacolina.⁵ Questo strumento è stato finora utilizzato limitatamente nelle cure secondarie a causa della relativa spesa e delle dimensioni fisiche dell'attrezzatura necessaria per intraprendere questa misurazione. Al contrario, la misurazione del FENO potrebbe essere più utile a livello delle cure primarie in cui vengono maggiormente seguiti i pazienti asmatici. È stato realizzato un nuovo dispositivo portatile che misura l'ossido nitrico (MINO; Aerocrine AB; Smidesvägen, Svezia) che potrebbe essere ideale per essere utilizzato in ambito di cure primarie, anche se esistono pochi dati sul confronto delle misurazioni ottenute con questo strumento e con gli analizzatori convenzionali a chemiluminescenza. Abbiamo valutato in modo prospettico il MINO e un analizzatore di laboratorio a chemiluminescenza sia in asmatici che in volontari sani per stabilire se i risultati sono sovrapponibili.

MATERIALI E METODI

Sono stati reclutati dal nostro database per studi clinici 101 pazienti con asma da lieve a moderato (64 dei quali ricevevano ICS) e 50 volontari sani (Tabella 1). Il comitato di etica Tayside Committee for Research Ethics ha espresso un parere favorevole.

Misurazione dell'ossido nitrico esalato

Tutti i partecipanti sono stati sottoposti a misurazione del FENO attraverso analizzatore NIOX con un flusso di 50 mL/sec

e una pressione di 10 cmH₂O. Sono state eseguite tre manovre adeguate con un plateau di almeno 8 sec e la media aritmetica ottenuta era in linea con le raccomandazioni della European Respiratory Society/American Thoracic Society.⁶ Subito dopo veniva effettuata una singola misurazione con il portatile MINO con stesso flusso e stessa pressione. Il sensore del dispositivo veniva cambiato periodicamente, in linea con le istruzioni del produttore.

Spirometria

La spirometria è stata eseguita dopo la misurazione del FENO (SuperSpiro spirometer; MicoMedical Ltd; Rochester, Regno Unito) secondo le linee guida dell'American Thoracic Society.⁷

Analisi statistica

Prima dell'analisi i dati dell'ossido nitrico sono stati trasformati in logaritmo per normalizzare la distribuzione. Per il confronto fra le due popolazioni, asmatici e non asmatici, è stato utilizzato il t test per dati non appaiati; per il confronto dei dispositivi sono state utilizzate la correlazione di Pearson e l'analisi di Altman-Bland, mentre la correlazione di Spearman è stata utilizzata per identificare la potenziale tendenza per la separazione della concordanza ad alti e bassi valori. Le curve ROC sono state costruite utilizzando i dati grezzi (cioè, prima della trasformazione logaritmica) per stabilire l'area sotto la curva (AUC) e la sensibilità e specificità di distinguere soggetti asmatici e volontari sani per ciascun dispositivo.⁸ In seguito, l'AUC di ciascun dispositivo è stata confrontata con modalità a coppie per stabilire se esistevano differenze nel potere discriminativo tra NIOX e MINO. Data la natura dello studio, non è stato possibile effettuarlo in cieco, sebbene i dati siano stati ottenuti da un ricercatore che non ha partecipato all'analisi. L'analisi non è stata eseguita in cieco.

RISULTATI

Tutti i pazienti sono stati in grado di fornire manovre tecnicamente accettabili con entrambi i dispositivi. La media aritmetica (DS) ottenuta utilizzando il NIOX e il MINO nei volontari sani era di 22,6 (DS 20,0) e 24,7 (DS 22,3), rispettivamente; negli asmatici questi valori erano di 36,7 parti per miliardo

Tabella 1—Caratteristiche di base

Caratteristiche	Pazienti asmatici	Volontari sani	Differenza*	Valore di p
Sesso				
Maschio	47	18		
Femmina	54	32		
Età media, † anni	48,5 (1,29)	35,6 (1,70)		
FEV ₁ , † % teorico	84,3 (1,84)	98,7 (1,61)	14,4 (9,5–19,2)	0,001
FENO, ‡ ppb				
NIOX	26,9 (24,8–29,6)	17,7 (16,1–19,4)	1,52§ (1,18–1,96)	0,001
MINO	26,6 (24,5–28,9)	19,3 (17,6–21,1)	1,38§ (1,08–1,77)	0,011
ICS dose quotidianall	400 (200–775)			

*I valori tra parentesi sono IC del 95%.

†Valori espressi come media (SEM).

‡Valori espressi come media geometrica (ES della media geometrica).

§Valori espressi come differenza dalla media geometrica.

||Valori espressi come mediana (range interquartile).

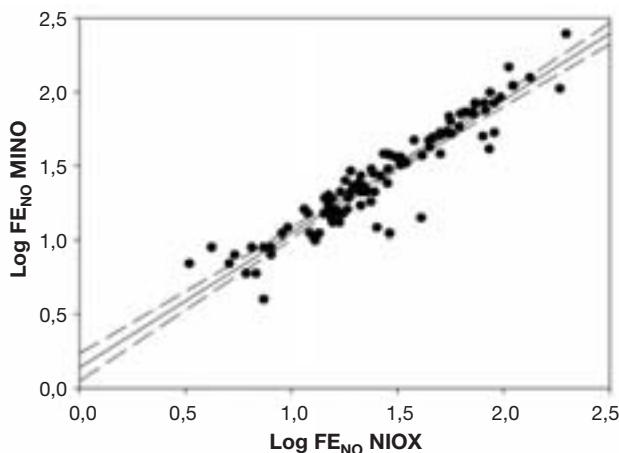


FIGURA 1. Regressione lineare con IC del 95% dei valori del MINO e del NIOX in pazienti asmatici.

(ppb) [DS 37,8 ppb] e 37,8 ppb (DS 36,5), rispettivamente. È stata trovata una correlazione lineare tra i risultati ottenuti con il sistema di laboratorio NIOX e quelli del portatile MINO sia in pazienti asmatici ($r = 0,94$; $p < 0,001$) [Figura 1] che in volontari sani ($r = 0,96$; $p < 0,001$) [Figura 2]. La correlazione era significativa sia negli asmatici che assumevano steroidi ($r = 0,88$; $p < 0,001$) che in quelli che non assumevano tale terapia ($r = 0,98$; $p < 0,001$). Inoltre, l'analisi di Altman-Bland suggeriva un alto grado di concordanza tra i dispositivi (Figura 3, 4) e i valori della correlazione di Spearman hanno confermato l'assenza di errori sistematici nel range di valori (pazienti asmatici $p = 0,458$; volontari sani $p = 0,444$). I pazienti asmatici avevano valori di FENO più alti e valori di FEV₁ inferiori rispetto ai volontari sani (Tabella 1), anche se la differenza era maggiore utilizzando il NIOX (1,52 volte) rispetto al MINO (1,38 volte). L'AUC delle curve ROC calcolate utilizzando

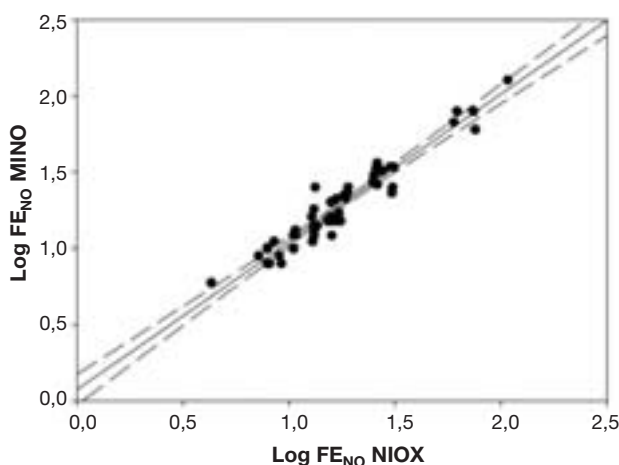


FIGURA 2. Regressione lineare con IC del 95% dei valori del MINO e del NIOX in volontari sani.

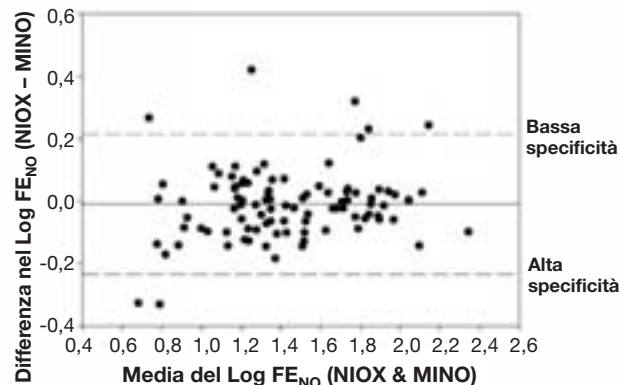


FIGURA 3. Diagramma di Bland-Altman del MINO vs il NIOX in soggetti asmatici.

i dispositivi NIOX e MINO per differenziare gli asmatici dai volontari sani era di 0,654 (intervallo di confidenza [IC] del 95%, da 0,565 a 0,744; $p = 0,002$) e 0,619 (IC 95%, da 0,527 a 0,711; $p = 0,018$), rispettivamente. L'analisi delle curve ROC ha mostrato una sensibilità dell'83,2% e una specificità del 27% per distinguere i pazienti asmatici dai volontari sani utilizzando un cutoff di 13 ppb per il NIOX e 12,5 ppb per il MINO. Il confronto con modalità a coppie delle curve ROC ha mostrato una differenza nell'AUC di 0,036 (IC del 95%, da -0,002 a 0,073); $p = 0,061$) tra il MINO e il NIOX nel distinguere i pazienti asmatici dai volontari sani.

DISCUSSIONE

Questo studio dimostra che i valori di FENO ottenuti con l'uso dello strumento MINO sono direttamente confrontabili con quelli ottenuti usando lo strumento NIOX. Abbiamo confrontato il MINO con l'attuale "gold standard" rappresentato dalla me-

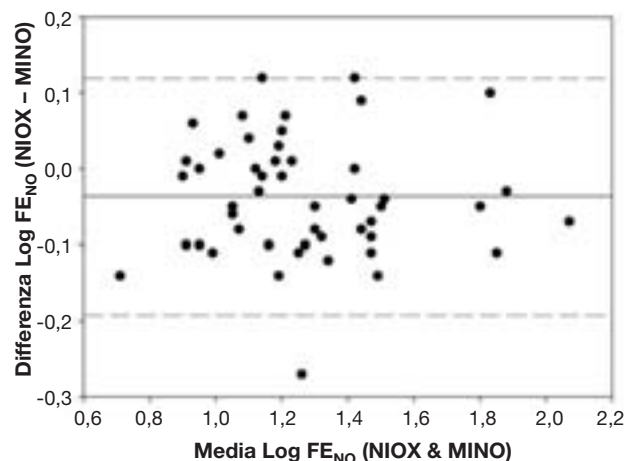


FIGURA 4. Diagramma di Bland-Altman del MINO vs il NIOX in volontari sani.

dia aritmetica di tre misurazioni ottenute con uno strumento validato. Comunque, va notato che, trattandosi di uno strumento relativamente nuovo, non esiste attualmente una tecnica accettata da cui ottenere le misurazioni ed è verosimile che l'accuratezza del MINO possa essere migliorata ulteriormente aumentando il numero di campioni di esalato. Analizzando questi dati, è importante tenere conto che le misurazioni di FENO sia nei pazienti asmatici che nei volontari sani sono spostate a destra e richiedono una appropriata trasformazione prima dell'analisi statistica. A questo riguardo, non sarebbe appropriato eseguire correlazioni con dati a distribuzione non gaussiana ottenuti da questi strumenti, sebbene questo presenti qualche difficoltà per l'interpretazione di misurazioni ottenute in ambito clinico. Fortunatamente, i limiti superiore ed inferiore sul grafico di Bland-Altman equivalgono a ± 2 sulla scala aritmetica. Considerato che la differenza tra i valori per differenziare pazienti asmatici e non asmatici e per predire una riacutizzazione asmatica varia da 10 a 15 ppb ad un flusso convenzionale di 50mL/s, questo grado di accuratezza sembra essere accettabile.^{5,9} Le Figure 1 e 2 mostrano entrambe che la retta di regressione non interseca l'origine degli assi, indicando valori significativamente più alti ottenuti con il MINO rispetto al NIOX. L'ulteriore analisi dimostra che tali valori ammontano a circa 1 ppb sia negli asmatici che nei volontari sani, il che non sarebbe un valore clinicamente rilevante.

Altri autori¹⁰ hanno riportato che le manovre spirometriche in pazienti asmatici causano una caduta dei valori di FENO. È possibile che il sottoporsi alle misurazioni usando il NIOX e successivamente il MINO abbia determinato una lieve sottostima del valore ottenuto con il secondo strumento, sebbene, come già detto, abbiamo trovato un valore significativamente maggiore con il MINO. Non abbiamo ottenuto dati sull'accuratezza del MINO nel tempo, e si può supporre che con l'approssimarsi della fine della sua autonomia il sensore perda in accuratezza. Questo potenziale problema è ulteriormente accentuato dal fatto che il MINO non può essere calibrato, a differenza della sua controparte di laboratorio. Inoltre, non ci sono dati sulla ripetibilità di questo test nello stesso paziente nel tempo. Da notare che i nostri dati sono in accordo con quelli di uno studio più limitato,¹¹ che ha anch'esso dimostrato una buona correlazione tra i due strumenti e uno stesso errore consistente verso valori leggermente più alti ottenuti dal MINO rispetto a quelli ottenuti con il NIOX, compresi tra 1 e 2 ppb. Inoltre, questo studio precedente¹¹ ha dimostrato anche che la ripetibilità delle misurazioni ottenute usando entrambi gli strumenti era simile, con valori mediani di 1,1 e 2,2 ppb, rispettivamente, per il NIOX e il MINO. I dati

delle curve ROC hanno mostrato che sottoporsi a misurazioni di FENO con entrambi gli strumenti è un metodo efficace per differenziare i pazienti asmatici dai volontari sani, come precedentemente riportato.⁵ La gran parte dei pazienti del nostro studio ricevevano una regolare terapia con ICS, e pertanto avevano verosimilmente una soppressione dell'infiammazione delle vie aeree, oppure erano pazienti con asma lieve e non richiedevano una terapia regolare con ICS. Questo potrebbe spiegare il ridotto potere di discriminare del test della nostra coorte in confronto ai dati pubblicati precedentemente, nei quali era stata valutata una popolazione completamente priva di terapia steroidea con elevati livelli di infiammazione delle vie aeree. Inoltre, mentre non c'è differenza nella AUC ($p = 0,061$) tra i due strumenti nella nostra coorte, la misura relativamente piccola del campione non può completamente escludere la possibilità di errore β .

Basare le strategie di controllo dell'asma su indicatori dell'infiammazione bronchiale, invece che sugli indici spirometrici e i sintomi, è sempre più considerato un metodo che può permettere un uso più mirato della terapia steroidea, portando a una riduzione nella frequenza delle riacutizzazioni e ad un minore rimodellamento delle vie aeree.^{3,4,12-14} Comunque, molte delle metodiche finora utilizzate per quantificare l'attività infiammatoria (es. l'iperreattività bronchiale e la conta degli eosinofili nell'espettorato) sono ingombranti, costose, fastidiose per il paziente e impraticabili a livello di medicina generale. Al contrario, la misurazione del FENO è veloce e non invasiva con un'elevata accettabilità da parte del paziente, ma è stata finora confinata a istituti di ricerca e attività di secondo livello. Comunque, la determinazione del livello di FENO clinicamente rilevante rimane una questione irrisolta, con studi clinici prospettici che hanno usato limiti differenti.^{3,4} Il costo di una singola misurazione usando il MINO è circa di \$10 (in dollari USA). L'avvento di uno strumento portatile potrebbe estendere alla medicina generale gli algoritmi di gestione dell'asma basati sul grado di infiammazione, ma è importante sapere se questo strumento riflette in modo accurato l'attività della malattia e correla con le misurazioni ottenute con gli strumenti da laboratorio che sono stati usati finora negli studi clinici. Mentre il nostro studio dimostra l'ultimo punto, sono necessari ulteriori studi clinici prospettici per determinare se questo può essere un valido strumento per la medicina generale e, cosa più importante, se l'uso di misure come il FENO nella pratica quotidiana porterà ad un reale miglioramento nella cura del paziente.

RINGRAZIAMENTI: Il MINO e i relativi kit per i test sono stati gentilmente donati alla Dundee University da Aerocrine AB.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Jatakanon A, Lim S, Kharitonov SA, et al. Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax* 1998; 53:91–95
- 2 Strunk RC, Szeffler SJ, Phillips BR, et al. Relationship of exhaled nitric oxide to clinical and inflammatory markers of persistent asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112:883–892
- 3 Pijnenburg MW, Bakker EM, Hop WC, et al. Titrating steroids on exhaled nitric oxide in children with asthma: a randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:831–836
- 4 Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, et al. Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N Engl J Med* 2005; 352:2163–2173
- 5 Berkman N, Avital A, Breuer R, et al. Exhaled nitric oxide in the diagnosis of asthma: comparison with bronchial provocation tests. *Thorax* 2005; 60:383–388
- 6 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, 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:912–930
- 7 American Thoracic Society. Standardization of spirometry, 1994 update. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:1107–1136
- 8 Hanley JA, McNeil BJ. A method of comparing the areas under receiver operating characteristic curves derived from the same cases. *Radiology* 1983; 148:839–843
- 9 Pijnenburg MW, Hofhuis W, Hop WC, et al. Exhaled nitric oxide predicts asthma relapse in children with clinical asthma remission. *Thorax* 2005; 60:215–218
- 10 Deykin A, Halpern O, Massaro AF, et al. Exhaled nitric oxide after bronchoprovocation and repeated spirometry in patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:769–775
- 11 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
- 12 Green RH, Brightling CE, McKenna S, et al. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360:1715–1721
- 13 Sont JK, Willems LN, Bel EH, et al. Clinical control and histopathologic outcome of asthma when using airway hyper-responsiveness as an additional guide to long-term treatment: the AMPUL Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159:1043–1051
- 14 Jayaram L, Pizzichini MM, Cook RJ, et al. Determining asthma treatment by monitoring sputum cell counts: effect on exacerbations. *Eur Respir J* 2006; 27:483–494