

Oponentský posudek disertační práce

Kondenzát vydechovaného vzduchu v diagnostice plicních nemocí

Univerzita Karlova Univerzita

3. Lékařská fakulta

Autor Mudr. Vladimír Řihák

Oponent: Doc. Mudr. Jaromír Musil PhD

Tato práce si klade za cíl ověřit, zda koncentrace vybraných potenciálních markerů onemocnění dýchacích cest v kondenzátu vydechovaného vzduchu (KVV) jsou u nemocných zvýšené, zda se liší u jednotlivých typů onemocnění, zda odrážejí jejich tíži. U skupin asymptomatických pacientů s jasně stanovenou diagnosou by umožnilo zjištění zvýšené hladiny markerů časnější diagnostiku exacerbace a zda u skupiny aktivních kuřáků může upozornit na rozvoj nového onemocnění. Cílem je ověření, zda lze tuto metodu použít v rámci prevence.

Práce má 97 stran, 3 obrázky, 2 tabulky. Obsahuje 443 literárních citací z mezinárodní literatury, jednu z české. Nejsou zde uvedeny práce autora. Práce je psána spisovnou češtinou, s minimem překlepů. Autor nepoužívá amerikanismy.

V rozsáhlé teoretické části se autor podrobně zabývá vydechovaným oxidem dusnatým (NO), způsobem jeho produkce, mechanismem jeho působení, metabolizmem. Dále se zabývá NO syntetázami, jejich expresí v různých typech buněk. Uvádí i údaje o dynamice NO u plicních nemocí. Zabývá se i metodikou jeho měření. Dále se autor věnuje problematice zánětlivých markerů, oxidativního stresu a NO u nemocných s kontrolovaným a nekontrolovaným astmatem, chronickou obstrukční plicní nemocí (CHOPN) ve stabilním stádiu a při exacerbaci a u nemocných s kryptogenní fibrotizující alveolitidou.

Vlastní práce byla vytvořena na souboru 124 osob. První skupinu tvořili zdraví nekuřáci (18 osob), 11 bylo kuřáků bez projevů jakéhokoli onemocnění, 20 nemocných s astmatem nekontrolovanou léčbou, 15 astmatiků s kontrolovaným astmatem, 22 nemocných s exacerbací CHOPN, 15 nemocných s CHOPN ve stabilním stádiu, 18 nemocných s kryptogenní fibrotizující alveolitidou, kteří měli známky nemoci.

Sběr KVV byl prováděn přístrojem EcoScreen (Jager Toennies, Německo). Konstrukce tohoto přístroje zabraňuje kontaminaci vzorku slinami. Kondenzát byl zmražen na teplotu -70%. Koncentrace dusitanů a dusičnanů byla vyšetřena metodou kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí. Koncentrace IL-1 β byly vyšetřeny metodou ELISA Quantikine Human IL-1 β a IL-18 setem Human IL-18 Elisa Kit. K porovnání výsledků byla použita jednofaktorová analýza rozptylu po logaritmické transformaci koncentrací a Spearmanova pořadová korelace.

Autor došel k následujícím zjištěním:

1. Koncentrace dusitanů u zdravých kuřáků byly o 43% vyšší než u nekuřáků, ale rozdíl nebyl statisticky významný ($p = 12$)
2. Koncentrace dusitanů byly u nemocných s astmatem ve stabilní stádiu astmatu i při exacerbaci vyšší než u zdravých nemocných ($p > 0.05$)
3. Při analýze zahrnující obě skupiny s astmatem i zdravé jedince byl zjištěn trend k poklesu FEV1 se zvyšující se koncentrací dusitanů ($r = -0.31$)
4. Koncentrace dusitanů v KVV u nemocných s exacerbací CHOPN byly vyšší než u nemocných ve stabilním stádiu ($p < 0.05$) a než u zdravých ($p < 0.01$).
5. Dusitany v KVV byly v porovnání se zdravými zvýšené u nemocných s kryptogenní fibrotizující alveolitidou ($p < 0.05$)
6. Porovnání koncentrací IL-1 β IL-18 pro malý počet pozitivních nálezů nemohlo být provedeno.

Koncentrace dusitanů a dusičnanů v tekutinách z dýchacích cest jsou odrazem tvorby a oxidativního metabolismu NO.

Zvýšení koncentrace dusitanů u nemocných s astmatem ve stabilní stádiu astmatu ve srovnání se zdravými je potvrzeno řadou prací. U nemocných s CHOPN jsou výsledky rozporupné, jako markery zánětu v KVV se obvykle doporučuje pH, LT-B4, cytokiny (např. IL-6, IL-10), peroxid vodíku, 8 isoprostan.

Otázky a připomínky:

1. Jak dlouho byl skladován kondenzát po odběru?
2. Měl autor k dispozici k vymývání přístroje deionizovanou vodu?
3. Proč si autor vybral jako marker oxidativního stresu právě vyšetření koncentrací dusitanů a dusičnanů?
4. Kolik nemocných s astmatem bylo v lehkém stádiu, kolik bylo atopických?
5. Jak si autor vysvětluje zvýšenou koncentraci dusitanů při exacerbaci CHOPN, tak i astmatu?

Závěr:

Autor se zabývá málo studovaným problémem vyšetření dusitanů a dusičnanů v KVV u nemocných s astmatem, CHOPN. U nemocných s KFA toto vyšetření dosud nebylo prováděno.

Výhodou této metodiky je bezpečnost a neinvazivnost pro nemocného. Metoda však trpí řadou nevyřešených problémů např. vlivem různých povrchů na koncentraci odebraných vzorků, denním kolísáním koncentrací jednotlivých látek. Nevýhodou metody je rovněž doba od odebrání vzorků do zpracování.

Stanovení koncentrace zánětlivých markerů umožní neinvazivně sledovat dynamiku onemocnění. Tato metoda by mohla přispět i v diferenciální diagnostice nemocí a i v možném ověření účinků léků.

Při celkovém zhodnocení práce doporučuji jako podklad pro disertační řízení.

V Čakovičkách dne 05.05.2015

Doc.Mudr.J. Musil Ph.D.

