UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta v Hradci Králové

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

Tomáš Rybnikár

Autoreferát disertační práce

Doktorský studijní program: Chirurgie

Hradec Králové

2018

Disertační práce byla vypracována v rámci *kombinovaného* studia doktorského studijního programu Chirurgie na Klinice otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku Lékařské fakulty v Hradci Králové.

Autor: **MUDr. Tomáš Rybnikár**
Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, LF a FN v Hradci Králové

Školitel: prof. MUDr. Ivan Hybášek, DrSc., emeritní profesor ORL, LF UK v Hradci Králové

.

Školitel konzultant: doc. MUDr. Jiřina Chládková, Ph.D., Dětská klinika FN Hradec Králové

Oponenti: prof. MUDr. Ivo Šlapák, CSc., Klinika dětské otorhinolaryngologie, LF MU a FN Brno
doc. MUDr. Vít Petrů, CSc., Alergologie a klinická imunologie, Synlab Czech s.r.o.

Obhajoba se bude konat před Komisí pro obhajoby OR Chirurgie dne 19. 12. 2018
v Bedrnově pavilonu, konferenční místnost 1.patro, budova č. 21, areál FN HK od 13 hod.

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy, Šimkova 870, 500 03 Hradec Králové (tel. 495 816 134).

doc. MUDr. RNDr. Milan Kaška, Ph.D.
Předseda komise pro obhajoby disertačních prací v doktorském studijním programu Chirurgie
Garant studijního programu

OBSAH

1. SOUHRN 4

2. SUMMARY 5

3. ÚVOD 6

4. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE 8

5. METODIKA A SOUBOR..... 8

5.1. Studovaný soubor..... 8

5.2. Epifaryngoskopie 9

5.3. Rinomanometrie 9

5.4. Adenoidektomie 9

5.5. Vyšetření koncentrace nNO a FE_{NO} 10

5.6. Alergologické vyšetření 10

5.7. Statistické metody 10

6. VÝSLEDKY 11

6.1. Výsledky vyšetření nNO a FENO u nemocných v závislosti na stupni AV a v kontrolní skupině 12

6.2. Vliv dalších faktorů na výsledky vyšetření nNO a FE_{NO} 13

6.3. Změny hodnot nNO a FnNO po adenoidektomii 13

6.4. Výsledky rinomanometrického vyšetření 14

7. DISKUZE 15

8. ZÁVĚRY 18

9. POUŽITÁ LITERATURA 21

10. PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI AUTORA 22

1. Souhrn

Úvod: 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, nedoslýchavost na podkladě sekretorické 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 zarážející, že v odborném tisku je minimum informací o možném vlivu adenoidních vegetací na výsledek vyšetření nNO a FE_{NO}.

Cíle: Prospektivní studie 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 (RMM). Poprvé byl sledován vliv adenoidektomie na výsledek vyšetření nazálního NO (nNO).

Metodika: Studie se zúčastnili zdravé děti a dospívající (n=38) a jejich nemocní vrstevníci (n=105) doporučení k vyšetření pro podezření na AV jako příčinu chronických zdravotních obtíží. Věkové rozmezí bylo 5-18 let. Účastníci podstoupili epifaryngoskopické vyšetření a v indikovaných případech adenoidektomii, alergologické vyšetření včetně kožních prick testů, měření nNO a koncentrace NO ve vzduchu vydechovaném ústy (FE_{NO}) na chemiluminiscenčním analyzátoru NO.

Výsledky: U dětí a mladistvých s adenoidními vegetacemi jsou oproti zdravým vrstevníkům koncentrace nNO snížené a to v závislosti na jejich stupni. Koncentrace FE_{NO} byla ve všech skupinách srovnatelná. Prakticky důležité je zjištění, že u 10 (9,5%) nemocných s AV bylo před adenotomií snížení nNO natolik výrazné, že tok nNO byl nižší než hraniční hodnota skríningového testu pro primární ciliární dyskinezi (PCD).

Závěr: 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. Vyšetření nNO je rychlé a neinvazivní, je však ovlivněno množstvím faktorů, které jej limitují pro použití v běžné praxi. Výsledky práce ale poprvé upozornily na skutečnost, že obstruktivní AV patří k rušivým faktorům a je potřeba je před vyšetřením nNO vyloučit, aby nebyla negativně ovlivněna specificita nNO při využití jako skríningového testu na PCD.

2. Summary

Introduction: Adenoids are common disease in childhood, especially at preschool age. The main symptoms of adenoids are nose obstruction, chronic rhinitis, cough, relapsing otitis media, sinusitis, sleeping disorders and otitis media with effusion. The nasal patency influences the nasal nitric oxid (nNO) concentration. However, there are only a few published data about concentration of nNO in patients with adenoids.

Aims: The prospective study explores the influence of adenoids on nNO in children. The investigated parameters in probands are the age, atopic diseases, allergic rhinitis and bronchial asthma. The results of nNO are compared with epipharyngoscopy, rhinomanometry and effect of adenoidectomy.

Methods: The study was carried out on children with adenoids (n=105) at the age from 5 to 18 years old. The control group consists of 38 healthy children. All children underwent epipharyngoscopy, allergology examination including prick test and measurement of nNO and fractional exhaled nitric oxide (FE_{NO}) by the chemoluminescence analyzer.

Results: The concentration of nNO is lower in children with adenoids in comparison with healthy children. The nNO depression depends on size of adenoids. In 10 patients (9,5%) with adenoids the depression of nNO was under the screening limit for primary ciliary dyskinesia. The concentration of FE_{NO} was not influenced by adenoids.

Conclusion: Adenoids influence the concentration of nNO. In larger size of adenoids the concentration of nNO decreases regardless of allergy and atopic personal history. The examination of nNO is easy, quick and non-invasive examination. However, the big variability of nNO results in patients with adenoids is the main limit for common use of the method. Important finding is low value of nNO in patients with obstructive adenoids which can be reason for false positive screening of primary ciliary dyskinesia.

3. 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 nejpřínosnější 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 uzávěru 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).

Produkci NO v HDC je možné změřit vyšetřením nazálního NO (nNO). Nejčastěji se provádí aspirace vzduchu analyzátorem NO z kanyly v zátce umístěné v jednom nosním průduchu při současném uzávěru 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 dyskinezí (PCD) je koncentrace nNO velmi nízká a využívá se jako skríningový 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 sekretorické 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 zarážející, 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.

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 - NO_2). Část molekul NO_2 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. CO_2, CO, NH_3, C_2H_4, H_2O 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.

4. Cíle disertační práce

Hlavním cílem provedené studie je snaha přispět k objasnění diagnostického významu nNO a FE_{NO} v otorinolaryngologii u dětí s adenoidními vegetacemi.

Dílčí cíle disertační práce jsou následující:

1. Vyšetřit nNO a FE_{NO} u dětí a mladistvých s adenoidními vegetacemi.
2. Zjistit vztah mezi velikostí adenoidních vegetací (stupeň obstrukce) podle epifaryngoskopického vyšetření a koncentracemi nNO a FE_{NO}.
3. Zjistit 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 nárustu nNO, zatímco odpor proti průtoku se sníží.

5. Metodika a soubor

5.1 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. Kritéria vylučující účast zahrnula akutní respirační onemocnění a závažná onemocnění včetně cystické fibrózy, PCD a průduškového astmatu pod nedostatečnou kontrolou. Kontrolní soubor tvořili děti a mladiství s nezánětlivým onemocněním a pacienti před plánovaným chirurgickým výkonem v oblasti hlavy a krku mimo AT.

5.2 Epifaryngoskopie a určení velikosti AV

Velikost AV byla posuzována z peroperační endoskopie transorálně, používány byly endoskopy Wolf průměru 4mm, úhlem pohledu 70 stupňů. Podle velikosti AV jsou 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.

5.3 Rinomanometrie

U větších dětí lze využít k objektivizaci nosní průchodnosti a nosního dýchání rinomanometrie. Pro potřeby této práce je využíván a Rhinomanometer 200 (Atmos, Lenzkirch, Germany). Při aktivní dynamické metodě je 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 (7). Byly získány dva záznamy rinomanometrické křivky (pro levý a pravý průduch). 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 klidově dýchala nosem se zavřenými ústy. Dále byly vypočítány hodnoty inspirační rezistence pro levou a pravou nostrilu (Rnar, Rnal) a celková rezistence 1/Rna = (1/Rnar + 1/Rnal). Jak Vna, tak Rna 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 % (7).

5.4 Adenoidektomie

Indikace k výkonu byly mechanická obstrukce nosohltanu, spojená s trvalou neprůchodností, nosní sekrecí, chrápáním, dále chronická sekretorická otitida způsobující nedoslýchavost převodního typu. Dále adenoidní vegetace jako možný infekční fokus u recidivujících respiračních infektů, recidivujících středoušních zánětů a sleep apnoe syndromu. U přijímaných dětí byla předoperačně vyšetřena 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, hlava v mírném záklonu. Vlastní výkon byl prováděn v celkové anestézii s perorální endotracheální intubací. Poté byl zaveden ústní rozvěrač, provedena tamponáda hypofaryngu longetou. Odtažení měkkého patra bylo provedeno bužiemi zavedenými nosní dutinou a vytažených ústy. Nejprve byl endoskopicky zhodnocen nález a velikost AV. Operatér zaznamenal velikost AV, vztah AV k choanám a ústím sluchových tub. Velikost AV byla posuzována z peroperační transorální endoskopie, používány byly endoskopy průměru 4 mm s úhlem pohledu 70 stupňů. Podle velikosti AV jsou 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 kyretou, případná zbylá drobná adenoidní tkáň v oblasti choan či ústí sluchových tub jemným zahnutým chapáčkem. Závěrem výkonu byla posouzena operační plocha, stavěno možné krvácení elektrokauterizací s následným odstraněním tamponády a ústního rozvěrače s jazykovou lopatkou.

5.5 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. 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.

5.6 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) (8).

5.7 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 $p < 0,05$.

6 Výsledky

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 stupně I, II a III. Základní charakteristiky kontrolního souboru a nemocných uvádí Tab. 1.

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. 1: Charakteristiky souboru dětí a dospívajících.

	kontroly (K)	stupeň adenoidních vegetací		
		I	II	III
počet	38	27	48	30
pohlaví (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).

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

V celém souboru se koncentrace nNO pohybovala v širokém rozmezí 1 až 2290 ppb a 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). Mediány koncentrace nNO (25. až 75. percentily) činily 1051 ppb (669 – 1485) a 698 ppb (457 – 948). Koncentrace FE_{NO} byla v obou skupinách srovnatelná.

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. Jelikož nebyla v kontrolním souboru provedena epifaryngoskopie, byly dále porovnány výsledky vyšetření nNO a FE_{NO} pouze ve skupinách nemocných s různým stupněm AV. Kruskal-Wallisův test potvrdil statisticky významný vliv stupně AV na koncentraci nNO (P<0,01). Také analýza ANOVA (p<0,05) a *post-hoc* testování lineárního trendu k poklesu nNO se zvyšujícím se stupněm AV potvrdily signifikantní závislost nNO na stupni AV (p<0,01). Koncentrace FE_{NO} nebyla stupněm AV ovlivněna. Byl pozorován trend k vyšším hodnotám ve skupině AV I, ale rozdíl se jevil hraničně signifikantní.

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. Koncentrace ve skupině AVIII byla nižší než ve skupině AVII. Po vyřazení nemocných s atopií se velikost souboru zmenšila 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. Analýzy závislosti koncentrace FE_{NO} na stupni AV provedené zvlášť u atopiků a neatopiků neprokázaly rozdíly.

6.2 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). 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. 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). Koncentrace se zvyšovala s věkem (r_s=0,44; p<0,0001).

Hodnoty toku 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 skríningový 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 %), 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 FEV_1 (medián 106 oproti 104 % n.h.; p=0,73).

6.3 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. Tab.2 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. 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.

Tab. 2: Koncentrace nNO (nNO a hodnoty toku nNO (FnNO) před a za jeden měsíc po adenoidektomii (AT).

		Skupiny pac. dle stupně adenoidních vegetací			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 srovnámí hodnot mezi skupinami (p < 0,05, Dunn test). b… Signifikantní výsledky párového srovnámí hodnot před a po adenoidektomii (p < 0,05).*

6.4 Výsledky rinomanometrického vyšetření

Hodnoty V'_{na} and R_{na} před adenoidektomií se ve skupinách s různým stupněm AV nelišily. (tabulka 15, obrázky 32-34). Při relativním vyjádření hodnot R_{na} v procentech náležité hodnoty kontrolní populace (R_{na} = 100 %) byly výsledky nemocných s AV všech stupňů významně zvýšené (o 40, 27 and 37 % ve skupinách AV I, II a III, $p < 0.05$ 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). Procenta nemocných s významnou obstrukcí (stupně 3 až 5) ve skupinách s AV stupňů I, II a III činila 25, 32 a 35 %. Mezi hodnotami R_{na} a nNO před AT nebyla zjištěna korelace. Nekorelovaly mezi sebou ani diference hodnot (postR_{na}- preR_{na}) a (postnNO- prenNO).

7 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 nezánětlivým 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 snížené. 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 zvlášť 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 (9). 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 (10). 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 (9). 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 dravými vrstevníky snížené. Vzhledem k závislosti koncentrace nNO na rychlosti nasávání vzduchu analyzátorem 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 (9) 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 prostoru choan) a jejim 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 obstruktivními AV. Vedlejší nosní dutiny jsou nejbohatším zdrojem NO v dýchacích cestách. Koncentrace NO ve vzduchu přímo aspirovaném z vedlejších nosních dutin jsou udávané 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 rinosinusitidou.

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 inhalaci 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 souhlase s našimi výsledky nenalezla vliv AV na FE_{NO} (11). Ve shodě s rozsáhlejšími populačními studiemi jsme také pozorovali vzestup nNO v závislosti na věku u dětí ve věkovém rozmezí 4-11 let (10, 12, 13). 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 hodnotách mediánu věku mezi skupinami v naší studii, zvýšení nNO o 35 ppb (10). 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 fibrózu mají snížené hodnoty nNO i FE_{NO}.

Řádově více je nNO snížené u nemocných s primární ciliární dyskinezí. Jde pravděpodobně o vliv několika mechanizmů 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 metabolizmem 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 skríningový test k vyloučení PCD (6, 14). 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 přepočet koncentrace nNO na objemový tok nNO a řešili otázku, zda se může jeho hodnota snížit až pod prahovou hodnotu skríningového 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 (Rna) při tlaku 150 Pa. Při vyjádření v procentech náležité hodnoty byly výsledky před adenoidektomií signifikantně nižší (V′na) popř. vyšší (Rna) 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 % u žádné skupiny. Mezi Rna a koncentrací nNO před adenoidektomií nebyla korelace. Nekorelovaly ani změny obou charakteristik, tj. diference mezi hodnotami Rna a nNO po a před adenoidektomií. Dříve publikovaná studie se zdravými dobrovolníky také nenalezla korelaci mezi Rna a nNO (15). 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.

8 Závěry

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 přítomnost adenoidních vegetací (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 práce 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 přítomnoat před vyšetřením nNO vyloučit, aby nebyla negativně ovlivněna specificita nNO při jejím využití jako skríningového 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 (Rna) při tlaku 150 Pa je vyšší u nemocných ve srovnání s predikovanými hodnotami zdravé kontrolní populace (náležité hodnoty podle Zapletala 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 Rna. 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 nNO ve skupině s obstruktivními AV (stupeň III). U všech nemocných s původně podprahovými hodnotami, tj. falešně pozitivním výsledkem testu na PCD, se po adenoidektomii zvýšil tok nNO nad prahovou hodnotu testu na PCD.

Vzhledem k předpokladům je možné formulovat jejich následujicí 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 nárustu 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.

9. Vybraná 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. 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.
8. Standardization of Spirometry, 1994 Update. American Thoracic Society. Am J Respir Crit Care Med 1995;152(3):1107-36.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Pijnenburg MW, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide in childhood asthma: a review. Clin Exp Allergy 2008;38(2):246-59.
14. 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.
15. Ferguson EA, Eccles R. Relationship between nasal nitric oxide concentration and nasal airway resistance. Rhinology 1997;35(3):120-3.

10. Přehled publikační činnosti autora

Původní vědecké publikace v časopisech s IF

1. **T. Rybnikár**, M. Šenkeřík, J. Chládek, J. Chládková, D. Kalfeřt, L. Školoudík: Adenoid hypertrophy affects screening for primary ciliary dyskinesia using nasal nitric oxide. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol., 115 (2018), pp. 6 - 9.* **(IF 1,305)**

Ostatní publikace v časopisech s IF

1. Laco, J., Celakovsky, P., Kalfert, D., Hornychova, H., **Rybnikar, T**., Ryska, A.: Tumor-to-tumor metastasis: Warthin tumor as a recipient of lung carcinoma and of renal carcinoma - Report of two cases. *Pathol Res Pract*. 206, 2010, 7 s. 458-62. **(IF 1,258)**

2. **Rybnikár, T.,** Málek, V., Čelakovský, P., Chrobok, V., Mejzlík, J., Kalfeřt, D., Dědková, J., Popper, E.: Tortikolis při Griselově syndromu - kazuistiky. *Cesk Slov Neurol N,* 76, 2013, 2, s. 246-249. **(IF 0,279)**

Původní vědecké práce v časopisech bez IF

1. Školoudík, L., Vokurka, J., Kalfeřt, D., **Rybnikár, T.**, Čelakovský, P.: Adenoidní vegetace a chronická sekretorická otitida. *Otorinolaryng. a Foniatr. /Prague/*, 59, 2010, 2, s. 62-66.

2. **T. Rybnikár**, M. Šenkeřík, J. Chládek, J. Chládková: Vyšetření nazálního oxidu dusnatého u dětí s adenoidními vegetacemi, Alergie 1/2015, s. 49 – 55.

Ostatní publikace v časopisech bez IF

1. **Rybnikár, T.,** Čelakovský, P., Kalfeřt, D.: Vydechovaný oxid dusnatý jako bioindikátor zánětu horních dýchacích cest - literární přehled. *Otorinolaryng a Foniatr /Prague/,* 64, 2015, 1, s. 50-54.

2. Chládková J., **Rybnikár T.:** Za vším hledej ženu. Alergologie, ročník 13, 2011, č. 3, str. 194 – 201.

3. **Rybnikár T**., Čelakovský P., Vokurka J.: Neobvyklá příčina parafaryngeálního abscesu Otorinolaryng. a Foniat. /Prague/, 58, 2009, No. 4, s. 242-245.

Přednášky, plakátová sdělení na odborných setkáních

1. Rybnikár T., Čelakovský P.: „Komplikace instrumentálního výplachu žaludku“
   Odborná schůze České společnosti otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku
   Hradec Králové 19. 3. 2009.

2. T. Rybnikár, J. Chládková: Význam vyšetřování NO u dětí s adenoidními vegetacemi - úvod do PGS, Krajský seminář studentů PGS ORL klinika FNHK 8. 12. 2010.

3. Rybnikár T., Chládková J.: „Význam vyšetřování vydechovaného NO jako bioindikátoru zánětu u dětí s adenoidními vegetacemi - první výsledky.“ Krajský seminář Pardubického a Královehradeckého kraje, Pardubice, 15. 12. 2011.

4. Rybnikár T., Mejzlík J.: „Tortikolis jako následek prodělaných operací“, ORL seminář Sedmihorky 19. - 20. 10. 2011.

5. Chládková J., Rybnikár T.: „Měření oxidu dusnatého“, mezioborové sympozium Komplexní vyšetření horních a dolních dýchacích cest v ambul. i klinické praxi, Hradec Králové 8. - 9. 4. 2011.

6. Lektorství mezioborového workshopu: Komplexní vyšetření horních a dolních dýchacích cest ORL klinika FNHK 8. - 9. 4. 2011.

7. T. Rybnikár: Traumatologie jícnu, mezioborový seminář ORL kliniky FNHK 9. 11. 2011.

8. Rybnikár T., Chládková J. Klinický význam stanovení nazálního NO v otorinolaryngologii Společný krajský seminář studentů PGS královehradeckého a pardubického kraje 13. 12. 2012.

9. T. Rybnikár: Význam vyšetření NO jako bioindikátoru zánětu u dětí s AV ve vztahu k atopii - předběžné výsledky (téma PGS práce) 74. Kongres České společnosti otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku v Mikulově 13. - 15. 6. 2012.

10. T. Rybnikár, J. Chládková: Vyšetření vydechovaného oxidu dusnatého u dětí s adenoidními vegetacemi 5. česko - slovenský kongres otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, Hr. Králové, 23. - 25. 5. 2013, Poster.

11. T. Rybnikár, V.Málek, J. Mejzlík : Tortikolis jako následek prodělaných operací. XXII. Jihočeské ORL dny Třeboň, 25. - 26. 4. 2013,

12. T. Rybnikár, J. Chládková: Klinický význam stanovení nazálního NO ORL seminář pardubického a královéhradeckého regionu studentů doktorských studijních programů Pardubice, 12. 12. 2013.

13. T. Rybnikár, J. Chládková: Vyšetření vydechovaného NO u dětí s adenoidními vegetacemi 13. konference dětské pneumologie Praha, 29. 3. 2014.

14. T. Rybnikár: Primární ciliární dyskineze, Festival kazuistik Devět skal, 16. - 17. 5. 2014.

15. T. Rybnikár, J. Chládková: Klinický význam stanovení nazálního NO ORL seminář pardubického a královéhradeckého regionu studentů doktorských studijních programů Pardubice, 11. 12. 2014.

16. T. Rybnikár, V. Málek: Tortikolis, Mezioborové sympozium, lázně Bělohrad 10. - 11. 9. 2015.

17. T.Rybnikár, J.Chládková: Význam vyšetření nNO, ORL konference pardubického a královéhradeckého regionu, Třemošnice, 20. - 21. 5. 2016