

## **Oponentský posudek disertační práce**

**Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze**

**Doktorský studijní program:**      **Pediatric**

**Uchazeč:**                                      **MUDr. Marian Šenkeřík**

**Pracoviště:**                                      **Dětské oddělení Pardubické nemocnice  
Nemocnice Pardubického kraje**

**Název disertační práce:**      **Akutní a chronická  
onemocnění plic a dýchacích cest u  
dětí: nové bioindikátory a  
molekulární cíle pro farmakoterapii**

**Školitel:**                                      **doc. MUDr. J. Chládková,  
Ph.D.**

**Oponent:**                                      **prof. MUDr. F. Kopřiva, Ph.D.**

**Pracoviště oponenta:**      **Dětská klinika FN a LF UP  
Olomouc**

Náplní předložené disertační práce je zhodnocení vlivu různých výdechových rychlostí a nezávislých parametrů NO při vyšetření koncentrace oxidu dusnatého (NO) ve vydechovaném vzduchu (FENO), zejména alveolární koncentrace (CANO) a bronchiálního toku NO (JawNO) u dětí

a dospívajících s alergickými onemocněními dýchacích cest na poměru frakcí NO na výsledné hodnotě ppb s cílem standardizace a validace vyšetření. Text práce je na 66 stranách s doprovodnými 22 obrázky a 14 tabulkami a seznamem literatury. Práce je zvykle dělená - Úvod do problematiky, cíle práce a hypotézy, metody, výsledky s bohatou diskuzí. V textu je jen minimálně překlepů, některé věty nezní jazykově nejlépe.

V „Úvodu do problematiky“ – uvádí autor jako rizikový faktor atopii. Na rozdíl od dospělých pacientů u více jak 96% dětí s astmatem se jedná o I.typ imunopatologické reakce dle Coombe –Gella mediované IgE protilátkami a zbytek o smíšený typ zánětu i imunopatologických mechanismů. Na s. 10 autor uvádí, že vysoké koncentrace látek vyvolá toxické poškození - přestavba je výsledkem neadekvátní odpovědi na uvolněné nadměrné množství TGF-beta eozinofily a stimulací fibroblastů k tvorbě kolagenu. Přestavba již není plně reversibilní. V dalších letech byl sledován Asthma Predictive Index (API) a výsledky vyšetření kožních testů, spec IgE, spirometrických vyšetření i FeNO. V některých pracech (Castro-Rodriguez, Savenije, Leonardi) se potvrdila - negativní prediktivní výpověď v rozmezí od 93.9% v 6 letech do 86.5% v 13 let r. 91.9% v. 82,4% jak u dětí s wheezingem v prvních

letech života či recidivujícími ataky wheezingu v prvních letech života. Logicky je vysvětlen metabolismus a funkce NO v dýchacích cestách a patogenezi AB. Autor upozorňuje na vliv nitračního stresu i vliv metabolitů na fibrogenezi. Na tvorbu NO mají vliv zánětlivé působky TNF-alfa, IL-1beta či IFN-gama.

Jedinou neinvazivní metodou vyšetření zánětu v dýchacích cestách, již využívanou v praxi, je stanovení koncentrace oxidu dusnatého (NO) ve vydechovaném vzduchu při rychlosti 50ml/s. Celková koncentrace FENO ve vydechovaném vzduchu z dolních dýchacích cest je ale součtem alveolární koncentrace NO a koncentrace určené bronchiálním zdrojem NO. Měřením FENO při více výdechových rychlostech se poměr NO z velkých a malých dýchacích cest mění.

Autor popisuje a srovnává dvoukompartmentový model, který plíce a dolní dýchací cesty pojímá jako dva prostory, tzv. kompartmenty, ve kterých dochází k pohybu NO prouděním a difuzí a trumpetový model, který více odpovídá rostoucímu součtu plochy všech dýchacích cest v určité vzdálenosti od ústní dutiny. Dvoukompartmentový model je dnes akceptován jako přijatelné zjednodušení složitých procesů v dolních dýchacích cestách.

Autor detailně popisuje matematické metody podle Pietropaoliho (metoda P) a metoda podle Tsoukiase (metoda T) využívají lineární regresní analýzu. O princip lineární závislosti FENO na reciproké hodnotě výdechové rychlosti se opírá Pietropaoliho metoda. Hogmanová a spol. Navrhli metodu odhadu parametrů přestupu NO při rychlostech 10, 100a 300 ml/s. U trumpetového modelu je třeba používat korekční faktory. Další metodou zatím jen laboratorní je analýza cyklicky se měnící vydechované koncentrace NO při klidovém dýchání pomocí tříkompartmentového modelu.

Autor v tabulce 2. Uvádí hodnoty FENO, a jen Th2 zánět, ale pomíjí úroveň BHR a roli IFN gama.

Cíle práce a hypotézy jsou přesně a logicky definovány a odpovídají úrovni poznání v době jejich stanovení.

Určitým nedostatkem omezující zhodnocení získaných výsledků je počet pacientů a jejich zastoupení v jednotlivých skupinách ... a částečně nepřehledné dělení s. 27 a tabulka 4 celkem 78 nemocných ... menší část psychogenní kašel, AV? 20 nemocných jen AR astma neměli vůbec 14 nemocných?!? Chtělo by to pečlivější zpracování a komentář. Malé počty?!?

Autor uvádí výsledky u 78 dětí a dospívajících při různých výdechových rychlostech. Vyšetření koncentrace oxidu dusnatého (FENO) ve vzduchu vydechovaném ústy rychlostí 50 ml/s je v současné době standartní metodou nepřímého sledování aktivity zánětu v DC. Autoři detailně analyzují výsledky a vliv rozdílných výdechových rychlostí na alveolární podíl a bronchiální tok NO na celkovém FENO. U obou metod (P i T) byla nalezena závislost výsledku vyšetření CANO na rozmezí výdechových rychlostí. Vyšším hodnotám výdechových rychlostí odpovídala nižší koncentrace CANO. Kriticky přistupují k získaným výsledkům a až bolestně upozorňují na limitace a nedostatky zvolených metod. Dalším krokem byla modifikace metody podle Högmanové, která spočívala v nahrazení nejnižší výdechové rychlosti 10 ml/s rychlostí 30 ml/s. Úprava byla motivována záměrem zkrátit trvání výdechu, protože ustálení koncentrace FENO je při nízkých výdechových rychlostech mnohem pomalejší. Překvapivé je zjištění, že není rozdíl mezi zvolenou metodou srovnání parametrů FENO u pacientů s AB a AR, ale projevuje se vliv různých rychlostí na CANO a JawNO.

Zhodnocení korelace FENO50 a JawNO a CawNO je na hraně využitelnosti v klinické praxi pro hodnocení dobré odpovědi na léčbu inhalačními kortikoidy.

Autor se svými školiteli se vydali na trnitou a až nebezpečnou cestu převést výsledky experimentální prací do klinické praxe a nabídnout jejich využití v péči o pacienty. Provedli srovnání získaných výsledků publikovanými pracemi a kritické vyhodnocení svých vlastních, a poukazují na omezení metod lineární a nelineární regresní analýzy parametrů NO. I negativní výsledky jsou zhodnocením úsilí, a umožní další krok správným směrem. Oponent se musel vrátit do studentských dob a tvrdě prostudovat teorii matematických modelů, aspoň orientačně.

### **Dotazy oponenta k obhajobě disertační práce**

1. Jak hodnotí vliv dávky kortikoidů a rychlost vlivu na aktivitu iNOS ?

V textu uváděný terapeutický pokus s kortikoidy - jen klinika nebo obj. zhodnocení?!? Jak se hodnotí vliv nebo je rozdíl na tvorbu NO v bronších a alveolech a je rozdíl u dětí v předškolním věku a ve starším věku?!?

2. Výsledky práce jsou částečně limitovány počtem pacientů- není pro rostoucí dětský organismus vhodnější trumpetový model - mění se aktivní povrch plic, somatotyp – není třeba zohlednit detailnější spirometrické vyšetření (nejsou údaje o rychlostech při 25.. . 75%.) i úroveň BHR na věk dítěte ? a tím mění se poměr br. v alv. NO?

3. Nemá vliv na odlišnou tvorbu NO v bronších a alveolech i polymorfismus genů pro NOS, aktivita IFNgama - a není proto třeba vydělit skupinu s EIA? (L Izakovičová) ?

4. Na základě Vaší detailní kritické analýzy nebylo by třeba navrhnout jiný matematický model pro další výzkum pro lepší využití v klinické praxi ?

## **Závěr**

MUDr. Marian Šenkeřík ve své práci prokázal hloubku studia znalostmi uvedenými v textu a detailním rozboru matematických metod a hodnocení výsledků analýz, porozumění danému tématu a tvůrčí i vědecké schopnosti, Je autorem či spoluautorem 8 článků publikovaných v časopisech i s IF, věnujícímu se tématu disertace. Použité

metodické přístupy i přes výhrady vedly k získání kvalitních originálních výsledků a ke splnění cílů, ale předložily i další otazníky studovaného problému a ukázaly další možnosti studia dané problematiky. MUDr. Marian Šenkeřík splnil cíle disertační práce i další náležitosti, a proto doporučuji předloženou disertační práci k obhajobě a následnému udělení akademického titulu Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

V Olomouci 25. 3. 2017

prof. MUDr.

František Kopřiva Ph.D.