

VÁLASZ OPPONENSI VÉLEMÉNYRE
Bíráló: Prof. Dr. Novák Zoltán, egyetemi tanár

Tisztelt Professor Úr!

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani akadémiai doktori értekezésem alapos bírálatért. Köszönöm kutatásaink időszerűségét, és annak szakmai színvonalát méltató szavait. Jól esett Professor Úr azon dicsérő észrevétele is, miszerint hangsúlyt fektettem eredményeinknek a hazai szakirodalomban való bemutatására is, amellet, hogy ezeket nívós, magas impact faktorral rendelkező pulmonológiai folyóiratokban publikáltuk.

Bírálóm *általános észrevételeivel* egyetértek: az alacsony esetszámok esetében a százalékos megoszlás feltüntetése szükségtelen; a tárgyalás során, a 75. oldalon, a FENO koncentráció-változás irányát tekintve elírás történt; illetve, valóban szükséges lett volna a kizárási kritériumok pontosítása az 5.3. alfejezetben. A disszertáció szerkesztése során bennem is felmerült, hogy az egyes alfejezetekben az eredmények bemutatása után tárgyaljam az egyazon alfejezethez tartozó megbeszélést, de végül – az egységesebb tárgyalás érdekében – ezt a lehetőséget elvettem, és az értekezésben bemutatott összes vizsgálatot a 6. fejezetben együttesen összegeztem.

A felmerült opponensi kérdésekre azok sorrendjében az alábbiakban válaszolok.

1. A különböző vizsgálatokba bevont betegek különböző személyek voltak, kivéve a tüdőtranszplantált betegeket, akiket több vizsgálatba is bevontunk. E betegek száma országos szinten nagyon alacsony, gondozásuk a vizsgálatok elvégzésekor Intézetünkhöz kötődött, így kézenfekvő volt, hogy e betegek több vizsgálatunkban is szerepeljenek. Más intézményekből tüdőtranszplantált betegek bevonására nem is lett volna lehetőségünk.
2. A kondenzátum pH-jának meghatározása során nem számoltunk az EBC hígulásával. Mint ismeretes, az EBC gyűjtése azon a jelenségen alapul, hogy a levegő, a tüdőből való kiáramlása során a légutakat borító folyadékfilmből (ASL) apró cseppecskéket sodor magával, majd a kilégzett pára egy hideg felszínnel érintkezve lecsapódik és kondenzátumként összegyűjthető. Az ASL cseppecskékek vízpárával való hígulása, és ennek figyelembevétele a kondenzátumban kimutatható anyagok koncentrációjának

meghatározásakor évek óta vita tárgya, elfogadott hígulási faktor nincs. Több munkacsoport is próbálkozott a kondenzátum konduktivitását (Effros és mtsai. Am J Respir Crit Care Med 2002; 165: 663-9; Effros és mtsai. Am J Respir Crit Care Med 2003; 168: 1500-5) vagy annak urea koncentrációját (Esther és mtsai. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2009; 296: L987-93; Quan és mtsai. J Chromatogr Sci 2010; 48: 140-4) alapul venni, és indikátorként felhasználni a hígulás mértékének meghatározásához. E méréseket azonban megfelelő precizitással az EBC-ben önmagában is igen problematikus elvégezni. Ezenfelül, az EBC-ben kimutatható markerek koncentrációját hígulási faktorról korrigálni csak abban az esetben lehetne, ha az adott indikátor koncentrációja az ASL-ben és a plazmában azonos, ez azonban nem feltétlenül helytálló megállapítás. Mindezen megfontolások alapján vizsgálatainkban hígulási faktorról nem számoltunk.

3. Az 5.1. pontban (64. oldal) ismertetett vizsgálatban a kontroll csoportba bevont személyek egészségesek voltak, és a megelőző 3 hét alatt akut légúti infekciójuk nem volt. E személyekben tehát – a beválasztási kritériumok miatt – infekció nem fordult elő a FENO-mérések idején.
4. Az említett vizsgálatban CMV vagy Aspergillus infekció csak elvétve fordult elő, így ezeket a kis számuk miatt külön vizsgálni, statisztikailag elemezni nem lehetett. Ezek az infekciók klinikai megjelenésük miatt sem illettek az általunk vizsgált infekciók közé. Ilyen szövődmények esetén a tünetek még elhúzódóbbak, a diagnózis felállítása sokszor bizonytalan és körülményes, és a kezelési időtartam is jóval hosszabb, mint az általunk vizsgált légúti virális vagy bakteriális infekciós kórképekben. Így, ezek az infekciók vizsgálatunkból kizárásra kerültek.
5. Az asztmás és a COPD-s betegekben észlelt eltérő pH-értékek oka nem ismert. Amint ezt másik Bírálómnak, Strausz János professzor úrnak írt válaszlevelemben kifejtettem (4. pont), az eosinophilejteknek szerepe lehet az asztma exacerbációt kísérő légúti savasodás kialakulásában. Van Dalen és Kettle vizsgálatai alapján tudjuk, hogy az eosinophilejtekben lévő granulumból eosinophil-peroxidáz szabadul fel, ami – többek között – haloid sav keletkezését katalizálja, és ez a folyamat kiválthatja az asztmások légúti pH-jának csökkenését (van Dalen CJ és Kettle AJ. Biochem J 2001; 358: 233-9). A COPD-s betegekben a légúti eosinophilejtek száma jóval kisebb, ezért

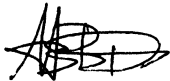
itt ilyen összefüggéssel nem lehet számolni. Az eosinophilsejtek mellett azonban más oka is lehet annak, hogy az asztmás betegekben pH-csökkenés igazolható akut állapotrosszabbodás során. Így például *in vitro* vizsgálatok alapján ismert, hogy a humán légúti epithelsejtekben jelentős glutamináz termelés folyik, ami azonban asztma exacerbációban különböző pro-inflammatorikus citokinek (INF- γ , TNF- α) hatására jelentősen csökken. A csökkent glutamináz aktivitás következtében visszaszorul az intracellularis glutamin-glutamát átalakulás és az epithelsejtek ammónia termelése is. A csökkent ammónia koncentráció az EBC-ben is igazolható, ami végső soron az EBC kémhatásának savasodás irányába való eltolódását eredményezi (Hunt és mtsai. Am J Respir Crit Care Med 2002; 165: 101-7; Griffith OW. Am J Respir Crit Care Med 2002; 165: 1-2). Meg kell azonban jegyezni, hogy Effros és mtsai. vitatják e folyamatoknak *in vivo* környezetben való relevanciáját (Effros RM. Am J Respir Crit Care Med 2003; 167: 91), ezért nem kerültek ezen eredmények részletes tárgyalásra az értekezésemben.

6. A GERD-nek a kondenzátum pH-jára gyakorolt hatása ellentmondásos, amint ezt disszertációm 6.5.3. fejezetében (138. oldal) jeleztem is. Egyes munkacsoportok szerint az EBC pH-ja alacsonyabb GERD-ben, míg más megfigyelések alapján ilyen összefüggés nincs. E vizsgálatok alapvető problémája, hogy a pH-méréseket nem a CO₂ gáz standardizációs módszerrel végezték, így ezen adatok nem tekinthetők teljesen megbízhatónak. Hasonlóan, a Bírálóm által említett vizsgálatban (Bikov és mtsai. Lung, 2015) sem ezt a módszert használták. A kérdés megnyugtató tisztázása egy megfelelően tervezett, keresztmetszeti vizsgálat formájában lenne elképzelhető, amelyben az EBC pH-ját a CO₂ gáz standardizációs módszerrel határoznák meg. Ilyen vizsgálat elvégzését azonban nehezíti, hogy a GERD diagnózisának felállítása sok esetben csak a klinikai tünetekre épül, és a betegek nagy része tartósan reflux ellenes terápiában részesül.
7. A kondenzátum minták citokin mintázat-elemzését csak poolozás után tudtuk elvégezni, és a poolozás célja valóban a fehérje koncentráció növelése volt. Véleményem szerint az általunk alkalmazott és közismerten nagyérzékenységű antitest microarray módszer alkalmas lehet poolozás nélküli EBC minták analízisére is, ha nagyobb mennyiségű mintát sikerülne ugyanazon betegektől nyerni, és azt liofilizálás útján megfelelő mértékben be lehetne koncentrálni (töményíteni). A tapasztalatok

alapján a microarray technika szenzitivitása megegyezik a Western blot módszerével,
míg a hagyományos ELISA/EIA technikákhoz képest ez a módszer érzékenyebb.

Végezetül ismételen szeretném megköszönni Professor Úr elismerő szavait, észrevételeit és
gondolkodásra ösztönző kérdéseit.

Tisztelettel,



dr. Antus Balázs PhD
osztályvezető főorvos

Budapest, 2015. október 08.