Az intrathoracalis légutak szerepe az Obstruktív alvási apnoe patomechanizmusában

Doktori tézisek

Kunos László

Semmelweis Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Témavezető: Dr. Bikov András, Ph.D., klinikai szakorvos

Hivatalos bírálók: Dr. Purebl György, Ph.D. egyetemi docens
Dr. Vizi Éva, Ph.D. osztályvezető főorvos

Szigorlati Bizottság elnöke: Dr. Arató András, MTA doktora, egyetemi tanár
Szigorlati Bizottság tagjai: Dr. Tory Kálmán, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Szabó László, Ph.D., osztályvezető főorvos

Budapest
2018

1. Bevezetés

Az obstruktív alvási apnoe (OSA) a garat alvás során fellépő repetitív kollapszusával, illetve következményes intermittáló hipoxia és mikroébredések kialakulásával jellemezhető megbetegedés. Gyakorisága magas, középsúlyos és súlyos mértékben a felnőtt, 30 és 70 év közötti populációban férfiak esetében 13%-ra, míg nőknél 6%-ra tehető. Megfelelő terápia nélkül a betegek életminősége és életkilátása is jelentősen romolhat a következményesen fellépő nappali aluszékonyság, kognitív funkciózavarok és a kardio- és cerebrovaszkuláris, illetve metabolikus megbetegedések fokozott kockázata miatt.
A szövődményes megbetegedések és tünetek hátterében leginkább az alvás során fellépő repetitív hipoxia és alvásfragmentáció állhat, melyek szisztémás és légúti oxidatív stressz előidézésével, illetve inflammációs folyamatok aktiválásával vezetnek a következményes állapotok kialakulásához.

Az intrathoracalis légutak a légzészavar kapcsán fellépő lokális gyulladás, illetve térfogatváltozások kapcsán is fontos tényezői az OSA patomechanizmusának.
Számos vizsgálatban igazolták a kilégzett levegőből vett mintákban a gyulladásos folyamatokban részt vevő citokinek, illetve az oxidatív és nitrozatív stressz markereinek emelkedett szintjeit, melyek a fokozott légúti gyulladás fennállását támasztják alá.

A légúti gyulladásos és metabolikus folyamatok markerei a kilégzett illékony anyagok (VOCs), melyek analízisére alkalmas technika az elektronikus orr. Az elektronikus orral végzett detekció több illékony molekula együttes

mérésén alapul. Az eszköz működése a biológiai olfaktorikus receptorokhoz hasonló, amennyiben a beépített érzékelők nem egy adott ligandra szelektívek, hanem a hozzájuk kötődő anyagok összessége eredményezi a jelmintázat kialakulását, mely adatredukciót követően, főkomponensek meghatározásával válik statisztikailag jellemezhetővé.

A légúti gyulladásos folyamatok mellett a tüdőtérfogatok szerepe is feltételezhető az OSA patomechanizmusában. Ismert, hogy a csökkent tüdőtérfogatok összefüggést mutatnak az OSA súlyosságával függetlenül attól, hogy a páciens szenved-e légúti, vagy parenchymás tüdőbetegségben. Emellett negatív összefüggés figyelhető meg az OSA apnoe-hipopnoe index (AHI) vagy légzészavar index (RDI) által jellemzett súlyossága és a kilégzési rezerv volumen, funkcionális reziduális kapacitás, illetve a forszírozott kilégzés első másodpercében kilégzett volumen (FEV_1) között. Ezzel összhangban szignifikáns összefüggés mutatkozik OSA-s páciensek esetén a csökkent tüdőtérfogatok és az össz-halálozás között. A légúti térfogatok és az OSA kapcsolatát a felső légutak kollapszibilitásának mértékét befolyásoló, hosszirányú mechanikai húzóerő, illetve a nagyobb tüdőtérfogatok magasabb puffer-kapacitása is magyarázhatja.

A következőkben ismertetett vizsgálataink célja volt bizonyos mintavételi metodikai tényezők hatásainak vizsgálata a kilégzett illékony anyagok mintázatára és ennek kapcsán az elektronikus orr eszköz diszkriminációs képességeire. Vizsgáltuk emellett a kilégzett illékony anyagok mintázatának, illetve egyes

légzésfunkciós paraméterek napszaki változásait obstruktív alvási apnoéban szenvedő pácienseknél.

2. Célkitűzések

1. Eltérő mintagyűjtési technikák hatásainak vizsgálata a kilégzett illékony anyagok mintázatára.
2. Az alvás kilégzett illékony anyagok mintázatára kifejtett hatásainak vizsgálata alvás alatti légzészavar tüneteitől szenvedő pácienseknél.
3. Egyes légzésfunkciós paraméterek napszaki változásának vizsgálata OSA-s és egészséges egyéneknél.

3. Módszerek

3.1. A vizsgálatokba bevont önkéntesek

A vizsgálatokban összesen 241 önkéntes vett részt.
Az alvás alatti légzészavarban, illetve tüdőrákban szenvedő betegeket a Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinika alvásdiagnosztikai laboratóriumában, illetve onkológiáján toboroztuk.
Az egészséges kontrollok a Semmelweis Egyetem hallgatói és dolgozói közül kerültek ki.
Minden bevont vizsgálati alany a vizsgálatokat megelőzően önkéntes beleegyező nyilatkozatot írt alá.

3.2. Vizsgálati protokollok

Az eltérő mintagyűjtési technikák kilégzett levegő mintázatára kifejtett hatásait 37 egészséges és 27 tüdőrákban szenvedő páciens részvételével vizsgáltuk. A kilégzett levegő mintázatát Cyranose 320 elektronikus orr alkalmazásával detektáltuk, minden résztvevő esetében négy eltérő mintavételi metodika alkalmazásával. A mintavételi metodikák a kilégzési áramlási sebességet, a levegővisszatartás időtartamát és az anatómiai holttérből származó levegő kezelését illetően tértek el egymástól.

Az alvás hatásait a kilégzett levegő mintázatára 26, alvás alatti légzészavar tüneteivel rendelkező és 36 kontroll páciens részvételével vizsgáltuk. Minden résztvevőnél felügyelt poliszomnográfiával (Somnoscreen PSG, Somnomedics GmbH, Germany) igazoltuk, illetve zártuk ki alvás alatti légzészavar fennállását. Kilégzett levegő mintákat este, elalvás előtt, illetve reggel, röviddel ébredés után gyűjtöttünk, majd a levegő mintázatát

Cyranose 320 elektronikus orr alkalmazásával detektáltuk.

Az alvás légzésfunkciós paraméterekre kifejtett hatását 42 OSA-s és 73 OSA-ban nem szenvedő páciens részvételével vizsgáltuk. Minden résztvevőnél felügyelt poliszomnográfiával (Somnoscreen plus Tele PSG, Somnomedics GmbH, Germany) igazoltuk, illetve zártuk ki alvás alatti légzészavar fennállását. A résztvevőknél este, elalvás előtt, illetve reggel a poliszomnográfiás vizsgálatot követően Otthon spirométer (Thor Medical Systems, Budapest, Hungary) használatával detektáltuk a FVC és FEV_1 értékeket.

3.3. A kilégzett levegő gyűjtése

A páciensek VOC-szűrőn keresztül végeztek mély belégzést belégzési kapacitásukig, majd kontrolláltan 50 ml/sec sebességgel lélegeztek ki az áramlási sebesség eszközös ellenőrzése mellett és - a lágyszájpad lezárása céljából – ellenállással szemben (15–20 H_2Ocm). A kilégzett levegő anatómiai holtteret reprezentáló első 500 ml-ét egy alacsony ellenállású T-szelep alkalmazásával távolítottuk el, a további levegőmennyiséget pedig teflon borítású Mylar zsákokba gyűjtöttük.

A metodikai tényezők hatásait elemző vizsgálatunkban a kilégzési áramlási sebesség, levegő visszatartási idő és az anatómiai holttér hatásainak vizsgálata céljából a fenti mintavételi eljárást módosítottuk. A kilégzési áramlási sebesség hatásának elemzése céljából az áramlási sebességet 75 ml/sec-ra változtattuk és ennek eredményét vetettük össze az 50 ml/sec-on történt mérésekkel. A levegő visszatartási idő jelentőségének megítélése céljából a páciensek VOC-filteren keresztüli mély belégzést követően 10 másodpercig tartották vissza a

levegőt, majd ezt követően lélegeztek ki 50 ml/sec sebességgel. Végül a páciensek az első mérésnél leírt módon végezték a kilégzési manővert, de az anatómiai holttérnek megfelelő levegőt nem távolítottuk el a rendszerből, így kevert levegőmintát gyűjtöttünk.

3.4. A kilégzett levegő mintázatának detektálása

A kilégzett illékony anyagok mintázatát Cyranose 320 elektronikus orr (Smiths Detection, Pasadena, USA) segítségével detektáltuk, közvetlenül a mintavételeket követően. A kilégzett vízpára zavaró hatását a 4 vízre szenzitív szenzor (5,6,23,31) kizárásával elimináltuk. A 28 szenzorjelet, melyek a vizsgált anyag illetve a háttér gáz (vizsgálataink során a VOC-szűrt szobalevegő) közötti arányokból adódnak, főkomponens analízis (principal component analysis, PCA) segítségével redukáltuk.

3.5. Alvásvizsgálatok

A vizsgálatok során végzett felügyelt poliszomnográfiát végeztünk az alvás alatti légzészavarok és az alvás jellemzőinek vizsgálata céljából. A mérések során a vonatkozó irányelveknek megfelelően elektroenkefalogram (EEG), elektrookulogram (EOG), elektromyogram (EMG), mellkasi és hasi légzőmozgások, intranazális nyomás, légzési hangok, elektrokardiogram (EKG) és folyamatos oxigén szaturáció detektálást végeztünk. Az alvásfázisok, mozgási és kardiopulmonális események elemzése manuálisan, az American Academy of Sleep Medicine (AASM) irányelvének megfelelően történt.
A rögzített adatok alapján meghatároztuk a hipnogram szerkezetét, a mikroébredések számát, az apnoe-hipopnoe

indexet (AHI), a légzészavar-indexet (RDI) és az oxigén-deszaturációs indexet (ODI).

3.6. Légzésfunkciós vizsgálatok

A légzésfunkciós vizsgálatokat az Otthon készülékkel végeztük (Thor Medical Systems, Budapest, Hungary) a European Respiratory Society irányelveinek megfelelően.
Legalább három, technikailag megfelelő mérést (a két legmagasabb mért FVC és FEV_1 érték közötti különbség 150 ml-nél alacsonyabb) végeztünk minden páciensnél. Az FVC és FEV_1 értékekből a legmagasabb mért eredményt vettük számításba.

3.7. Statisztikai analízis

A vizsgálataink során kereskedelmi forgalomban kapható statisztikai programokat használtunk (Statistica 8.0, SPSS 15, Graph Pad Prism 5.03).

Az elektronikus orral végzett mérések adatait illetően mindkét vizsgálatnál adatredukció céljából a szenzorjelek főkomponens analízisét végeztük el (PCA) majd a továbbiakban a legmagasabb Eigen értékű főkomponenseket (PC1, PC2 és PC3) használtuk.
A kilégzett levegő jellemzőit a három főkomponens multivariáns diszkrimináció analízissel történő (Mahalanobis távolság) együttes elemzésével kategorizáltuk, illetve hasonlítottuk össze. Az egyes esetek kategorizálása céljából lépcsőzetes lineáris kanonikus diszkrimináció analízist végeztünk, a szélsőséges esetek kizárása pedig Mahalanobis távolság alkalmazásával történt. Az eredmények validálásához kereszt-validációt végeztünk, szintén a Mahalanobis-távolság segítségével.

Pearson korrelációt, multivariáns lineáris és logisztikus regressziós analízist végeztünk a főkomponensek és a klinikai jellemzők összefüggéseinek azonosítása céljából.

A mintagyűjtéssel összefüggő metodikai tényezők hatásait vizsgáló kutatásunk során a főkomponenseket repeated-measures ANOVA teszttel, majd Dunnet post hoc teszt alkalmazásával hasonlítottuk össze.

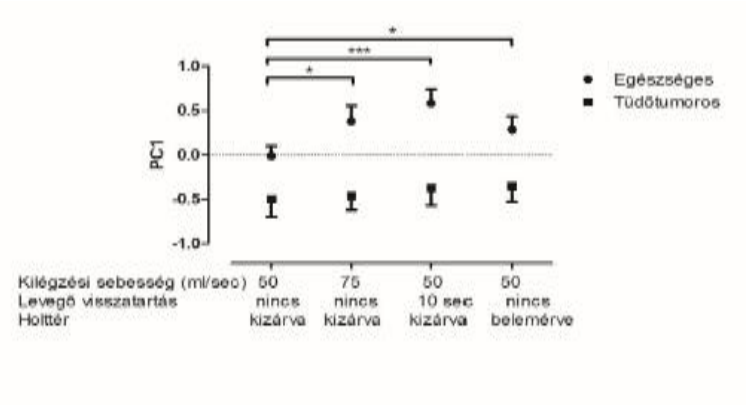
A légzésfunkciós paraméterek változását elemző vizsgálatunkban az adatok eloszlását Kolmogorov-Smirnov teszttel vizsgáltuk. Nem párosított t teszt, Mann-Whitney és χ^2 tesztek alkalmazásával vetettük össze az OSA és a kontroll csoport klinikai jellemzőit. Az este és reggel mért légzésfunkciós paramétereket Wilcoxon teszt használatával hasonlítottuk össze. A légzésfunkciós értékek és klinikai jellemzők összefüggéseit Spearman teszttel értékeltük. A potenciálisan befolyásoló változók hatásának elemzésére többszörös logisztikus regressziót alkalmaztunk.

4. Eredmények

4.1. A metodikai tényezők hatásai

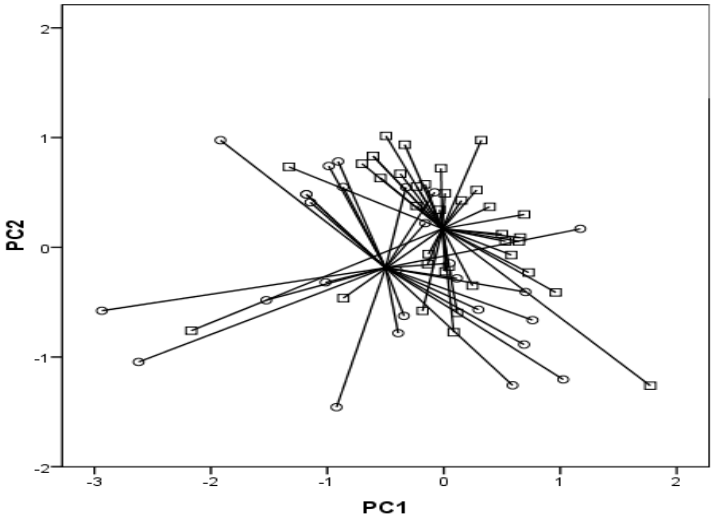
A kilégzési áramlási sebesség, a levegő visszatartása és az anatómiai holttérből származó levegő szignifikánsan befolyásolta az egészséges egyének kilégzett levegő mintázatát, tüdődaganatban szenvedőknél azonban ugyanez nem igazolódott (1. Ábra)

1. Ábra
A kilégzési áramlási sebesség, a levegő visszatartás és az anatómiai holttér hatásai a főkomponensekre.
(*-p < 0,05, **-p < 0,01, ***-p < 0,001)



Szignifikáns eltérést találtunk a tüdőrákban szenvedő és az egészséges egyének kilégzett levegő mintázatában a korábban standardizált mintagyűjtési metodika használatával (50 ml/sec, nincs levegő-visszatartás, az anatómiai holttér kizárva, p=0,02, 2. Ábra).

2. Ábra.
A főkomponens analízis kétdimenziós ábrázolása egészséges (négyzetek) és tüdőrákos (körök) pácienseknél.

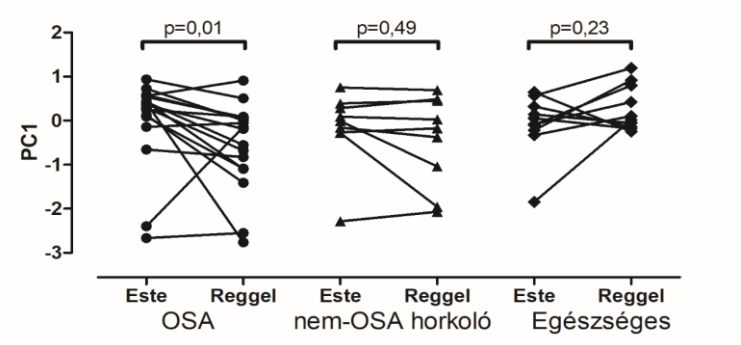


4.2. Az alvás hatása a kilégzett illékony anyagok mintázatára

Az este és reggel detektált kilégzett illékony anyagok mintázatai szignifikáns eltérést mutattak az alvás alatti légzészavar tüneteit mutató (SDB) csoport betegeinél (n=26, PC1, $p<0.01$). Mindazonáltal a reggeli és esti kilégzett levegő mintázata csak az OSÁ-s betegeknél mutatott eltérést (N=17, PC1, p=0.01, 3. Ábra), a nem-OSA-s alcsoportnál (N= 9, p=0,49) nem. A kontroll személyek esetén nem volt mérhető szignifikáns eltérés a reggel és este kilégzett levegő jellemzőiben (p=0,23).

3. Ábra

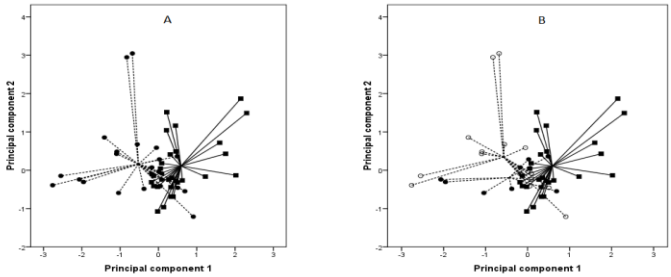
Az este és reggel gyűjtött kilégzett levegő illékony anyag-mintázata közötti különbségek.



A reggeli kilégzett levegő jellemzői szignifikáns eltérést mutattak a SDB és a kontroll csoport között (p<0,001, 4.A ábra). Az eltérés a SDB csoport OSA-s és a csak horkoló pácienseket tartalmazó alcsoportjában is szignifikáns volt a kontrollokhoz viszonyítva (p<0,001, 4.B ábra).

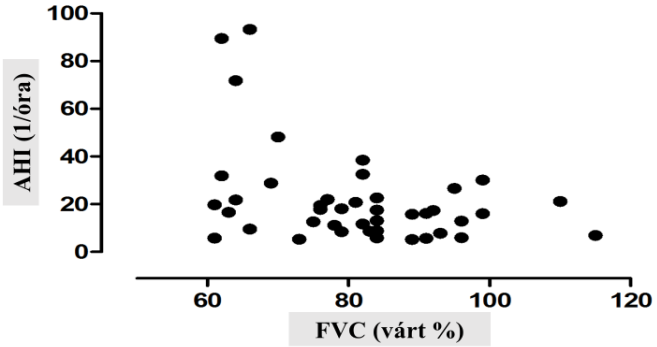
4. A, B Ábra.

A reggeli kilégzett illékony anyagok mintázatának összehasonlítása egészséges (négyzetek) és alvás alatti légzészavarban szenvedő (SDB, A: körök; B: OSA-nyitott körök, nem-OSA-kitöltött körök) pácienseknél.



4.3 Az alvás hatása a légzésfunkciós paraméterekre OSA-ban

Szignifikáns összefüggés volt igazolható az este mért FVC (várt érték százalékában) és az AHI (p = 0,04, r = -0,31; 9. Ábra), ODI (p = 0,04, r = -0,31) és RDI (p=0,01, r = -0,39) értékek között (5. Ábra).



5. Ábra.
Összefüggés a forszírozott vitálkapacitás és az apnoe-hipopnoe index között OSA-s betegeknél

OSA-s betegekben a FEV_1 érték szignifikáns emelkedése volt megfigyelhető estéről reggelre (p=0,02), miközben a FVC (p=0,19) és a FEV_1/FVC arány (p=0,78) nem mutatott szignifikáns változást. A kontroll csoportban az este és reggel mért FEV_1 (p = 0,74), FVC (p = 0,97) és FEV_1/FVC arány (p = 0,54) nem mutatott szignifikáns változást.

Tendenciózus pozitív összefüggés mutatkozott az reggelre kialakuló FEV_1-növekedés és az RDI értéke között (p = 0,05, r = 0,30).

5. Következtetések

5.1 Mintagyűjtés során alkalmazott metodikai tényezők hatásainak vizsgálata

- a kilégzési áramlási sebesség, a levegő visszatartás időtartama és az anatómiai holttérből származó levegő szignifikánsan befolyásolhatja a kilégzett levegő detektált mintázatát.
- a mintagyűjtés során alkalmazott metodikai tényezők befolyásolják az elektronikus orr klasszifikációs pontosságát a kóros állapotok egészségestől való elkülönítésében.

5.2 Az alvás hatásai a kilégzett illékony anyagok mintázatára

- Obstruktív alvási apnoéban szenvedő betegeknél alvás során megváltozik a kilégzett illékony anyagok mintázata, ami a légúti gyulladás jellemzőinek megváltozására utalhat.
- A kilégzett levegő elektronikus orral történő vizsgálata csak az alvás utáni órákban végzett mintavétel esetén alkalmas az OSA elkülönítésére.

5.3 Az alvás hatásai a légzésfunkciós paraméterekre

- Kezeletlen obstruktív alvási apnoés betegekben az éjszaka során a FEV_1 értékében szignifikáns emelkedés figyelhető meg.
- A FEV_1 reggelre történő növekedésének mértéke tendenciózus összefüggést mutat az OSA RDI értékkel jellemzett súlyosságával.

- Az OSÁ-s pácienseknél az éjszaka során fellépő FEV_1-növekedést – főként súlyos OSA esetén – számításba kell venni a légzésfunkciós vizsgálatok időbeli tervezésénél, illetve a vizsgálati eredmények értékelésénél.

6. Saját publikációk jegyzéke

6.1. A disszertációhoz kapcsolódó közlemények

- **Kunos L**, Lazar Z, Martinovszky F, Tarnoki AD, Tarnoki DL, Kovacs D, Forgo B, Horvath P, Losonczy G, Bikov A. (2017) Overnight Changes in Lung Function of Obese Patients with Obstructive Sleep Apnoea. LUNG 195(1): 127-133.
  Impakt faktor: 1,915 (2016)
- **Kunos L**, Bikov A, Lazar Z, Korosi BZ, Benedek P, Losonczy G, Horvath I. (2015) Evening and morning exhaled volatile compound patterns are different in obstructive sleep apnoea assessed with electronic nose. SLEEP AND BREATHING 19:(1) pp. 247-253.
  Impakt faktor: 2,332 (2015)
- Bikov A, Hernadi M, Korosi BZ, **Kunos L**, Zsamboki G, Sutto Z, Tarnoki AD, Tarnoki DL, Losonczy G, Horvath I. (2014) Expiratory flow rate, breath hold and anatomic dead space influence electronic nose ability to detect lung cancer. BMC PULMONARY MEDICINE 14:(1) 202. 9 p.
  Impakt faktor: 2,404 (2014)

6.2. Disszertációtól független publikációk és összefoglaló közlemények

- Horvath P., Tarnoki D., Tarnoki A., Karlinger K., Lazar Zs., Losonczy G., **Kunos L.**, Bikov A. (2018) Complement system activation in obstructive sleep apnea. JOURNAL OF SLEEP RESEARCH. e12674.
  Impakt faktor: 3,259 (2017)
- Bikov A., Losonczy G., **Kunos L.** (2017) Role of lung volume and airway inflammation in obstructive sleep

apnea. RESPIRATORY INVESTIGATION 55:326-333.

- Bikov A., **Kunos L**., Pállinger É, Lázár Zs, Kis A, Horváth G, Losonczy G, Komlósi ZI. (2017) Diurnal variation of circulating microvesicles is associated with the severity of obstructive sleep apnea. SLEEP AND BREATHING 21(3):595-600. **Impakt faktor: 2,288 (2016)**
- Bikov A, Hull JH, **Kunos L.** (2016) Exhaled breath analysis, a simple tool to study the pathophysiology of obstructive sleep apnoea. SLEEP MEDICINE REVIEWS 27: pp. 1-8.
  Impakt faktor: 8,958 (2016)
- Pako J, Bikov A, Karlocai K, Csosza G, **Kunos L**, Losonczy G, Horvath I. (2015) Plasma VEGF levels and their relation to right ventricular function in pulmonary hypertension. CLINICAL AND EXPERIMENTAL HYPERTENSION 37:(4) pp. 340-344.
  Impakt faktor: 1,307 (2015)
- Benedek P, Lazar Z, Bikov A, **Kunos L**, Katona G, Horvath I. (2013) Exhaled biomarker pattern is altered in children with obstructive sleep apnoea syndrome. INTERNATIONAL JOURNAL OF PEDIATRIC OTORHINOLARYNGOLOGY 77:(8) pp. 1244-1247.
  Impakt faktor: 1,319 (2013)
- **Kunos L**, Kovats Z, Murakozy G, Sutto Z, Bohacs A, Czebe K, Lang G, Renyi-Vamos F, Klepetko W, Muller V. (2011) Severe mixed sleep apnea after bilateral lung transplantation in a cystic fibrosis patient: a case report. TRANSPLANTATION PROCEEDINGS 43:(4) pp. 1292-1293.
  Impakt faktor: 1,005 (2011)

- Tölgyesi G, Molnar V, Semsei AF, Kiszel P, Ungvari I, Pocza P, Wiener Z, Komlosi ZI, **Kunos L**, Galffy G, Losonczy G, Seres I, Falus A, Szalai CS. (2009) Gene expression profiling of experimental asztma reveals a possible role of paraoxonase-1 in the disease INTERNATIONAL IMMUNOLOGY 21:(8) pp. 967-975.
  Impakt faktor: 3.403 (2009)
- **Kunos L**, Varga J, Horváth G. (2012) Krónikus obstruktív tüdőbetegség és obstruktív alvási apnoe szindróma együttes előfordulása: az "overlap" szindróma ORVOSI HETILAP 153:(23) pp. 892-897.
- Gyulai N, Somoskövi Á, **Kunos L**, Bártfai Z. (2008) Multidrog-rezisztens és extenzíven drog-rezisztens Mycobacterium tuberculosis epidemiológiája és kontrollja: I. rész MAGYAR CSALÁDORVOSOK LAPJA 2008:(Április) pp. 32-35.
- Gyulai N, Somoskövi Á**, Kunos L**, Bártfai Z. (2008) Multidrog-rezisztens és extenzíven drog-rezisztens Mycobacterium tuberculosis epidemiológiája és kontrollja: II. rész MAGYAR CSALÁDORVOSOK LAPJA 2008:(Május) pp. 19-22.
- **Kunos L**, Horváth G, Losonczy G. (2008) Az orális neurokinin-1 (NK1) receptor antagonista aprepitant szerepe az erősen emetogén kemoterápia okozta hányás és hányinger megelőzésében MEDICINA THORACALIS (BUDAPEST) 61:(6) pp. 333-338.
- **Kunos L**, Várdy Visi K, Bártfai Z, Losonczy G. (2008) Az obstruktív alvási apnoe MAGYAR CSALÁDORVOSOK LAPJA 2008:(Március) pp. 10-16.

- **Kunos L** (2008) Az alvás alatti légzészavarok közlekedésbiztonsági vonatkozásai MEDICINA THORACALIS (BUDAPEST) 61:(5) pp. 265-268.
- **Kunos L**. (2013) Az acetilcisztein és más mukolitikumok alkalmazási lehetőségei GYERMEKGYÓGYÁSZAT 2013; 64. (6) pp. 308-312.
- **Kunos L**, Losonczy Gy Alvási apnoe-hipopnoe szindrómák In: Magyar Pál, Losonczy György (szerk.) A pulmonológia kézikönyve. Medicina, Budapest, 2012.: pp. 763-776. (ISBN:978 963 226 340 3)
- **Kunos L**. Alvás alatti légzészavarok. In: Tulassay Zsolt (szerk.). A belgyógyászat alapjai. Medicina, Budapest, 2016.: pp. 758-762. (ISBN:978 963 226 554 4).
- Losonczy G., **Kunos L.** Obezitás és légzőszervi megbetegedések. In: Bedros J Róbert (szerk.) Klinikai obezitológia. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2017.: pp 381-402. (ISBN:978 963 331 343 5)
- **Kunos L.** Alvás alatti légzészavarok vizsgálata. In: Tulassay Zsolt (szerk.) Klinikai belgyógyászat. Medicina, Budapest, 2017.: pp 214-215.
- **Kunos L.** Elzáródásos (obstruktív) alvás apnoe-hipopnoe szindróma. In: Tulassay Zsolt (szerk.) Klinikai belgyógyászat. Medicina, Budapest, 2017.: 233-234.