

Dr. Szekanecz Zoltán MTA doktora

Egyetemi tanár, igazgató

Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar

Belgyógyászati Intézet Reumatológiai Tanszék

**Válasz Szekanecz Zoltán Professzor úr részére az „Asztma terhességben”
című MTA doktori értekezésemről készített bírálatára**

Hálásan köszönöm Professzor úrnak, hogy elvállalta doktori értekezésem bírálatát. Köszönöm elismerő szavait, építő kritikai megjegyzéseit, a munka erősségeinek és gyengeségeinek összegzését, illetve a terület továbbgondolását, elmélyítését segítő kérdéseit, melyekre a következőket válaszolom:

- 1. A Bevezetésben is utalás történik arra, hogy a terhesség három trimeszterében eltérő folyamatok zajlanak asztmában. Bár a perinatális események a legfontosabbak, mégis kérdezem, röviden foglalja össze milyen az asztmával, gyulladásal összefüggő jelenségek zajlanak az első, második és harmadik trimeszterben.*

Az asztmás klinikai tünetek terhességi korrallal történő változásáról egyre több adat áll rendelkezésre. Régen ismert, hogy az asztma, és ezzel a tünetek intenzitása, a terhesség során a betegek 1/3-ában javult, 1/3-ában romlik, és további 1/3-ában nem változik (Schatz M et al. The course of asthma during pregnancy, post partum, and with successive pregnancies: a prospective analysis. J Allergy Clin Immunol. 1988;81:509-17). A várandósság szakaszait tekintve, az első trimeszterben ritka az exacerbatio, kevés a tünet, itt a betegek általában kontrolláltak, sőt állapotuk javulhat is a terhességet megelőző állapothoz képest (okok: részben az immunszuppresszió, részben egyes légzésfunkciós paraméterek a terhesség alatt javulnak, még jó a légzésmechanika). Ezt követően a betegek 30-40%-ában a tünetek fokozódásával kell számolni: a második és harmadik trimeszter alatt gyakran romlanak az asztmás tünetek, fulladás, köhögéses rohamok jelennek meg, az ezek hátterében álló mechanizmusok azonban még nem ismertek. Schatz és mtsai adatai alapján az asztmás tünetek romlása leginkább a 25. és 32. gesztációs hét között alakul ki. Szisztémás szteroid

adását igénylő akut exacerbációk is leginkább a második és harmadik trimeszterben fordulnak elő, a gyakoriság csúcsa a 6. hónapban van. A vajúadás és szülés alatt már csak a betegek kb. 10%-a tapasztal általában enyhe és jól uralható tüneteket (Schatz M. Asthma and pregnancy. *Lancet*. 1999; 353(9160): 1202-1204). Egy adott beteg egymást követő terhességei során az asztma hasonló lefolyása várható, továbbá, a várandósságot megelőzően súlyos asztmában szenvedők és a már az első trimeszterben is panaszos/rossz életminőségű betegek súlyosabb betegséglefolyásra számíthatnak a második és harmadik trimeszter során (Gluck JC et al. The effect of pregnancy on the course of asthma. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2006; 26(1): 63-80, Schatz M et al. The relationship of asthma-specific quality of life during pregnancy to subsequent asthma and perinatal morbidity. *J Asthma*. 2010; 47(1): 46-50).

Az asztmás légúti gyulladás terhesség során történő longitudinális leírása még várat magára, részben a szóba jövő vizsgálatok (pl. indukált köpet, hörgőmosó folyadék) invazív volta, nehéz hozzáférhetősége, részben a terhességben rendelkezésre álló adatok szűkössége miatt (pl. FE_{NO} , kilégzett levegő kondenzátum mediátorok vagy pH). Nemrégiben került megállapításra, hogy a FE_{NO} értékek az egészséges terhesség lefolyása, trimeszterei során állandó értéket mutatnak, továbbá a kontrollált és exacerbáció nélküli asztmás terhesség lefolyásával sem változnak jelentősen (Wu L et al. Significance of fractional exhaled nitric oxide in the diagnosis of asthma in pregnant women. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2015 Feb;38(2):115-8; csak összefoglaló érhető el angol nyelven), azonban nem kontrollált asztma esetén nagy intraindividuális változékonysággal bírnak (Nittner-Marszalska M et al. Fractionated exhaled nitric oxide ($FE(NO)$) is not a sufficiently reliable test for monitoring asthma in pregnancy. *Nitric Oxide*. 2013 Sep 1;33:56-63.). Az első multicentrikus, prospektív, légúti gyulladás követését célzó vizsgálat asztmás terhességben jelenleg zajlik (Murphy VE et al. The Breathing for Life Trial: a randomised controlled trial of fractional exhaled nitric oxide (FE_{NO})-based management of asthma during pregnancy and its impact on perinatal outcomes and infant and childhood respiratory health. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2016 May 17;16:111. doi: 10.1186/s12884-016-0890-3).

A gyulladás szisztémás markereinek asztmás terhesség trimeszterei során történő változása tekintetében még kevesebb adat áll rendelkezésre. Saját eredményeink alapján a Hsp70 szint trimeszterenként nő asztmás terhességben, ami egyrészt az asztmás gyulladás része, másrészt emelkedett szintje együtt járhat különböző terhességi szövődmények (koraszülés, preeclampsia) rizikófaktorozódásával (Molvarec A et al. Association of elevated serum heat-shock protein 70 concentration with transient hypertension of pregnancy, preeclampsia and

superimposed preeclampsia: a case-control study. J Human Hypert 2006; 20(10):780–6). A szabad VEGF szintekben viszont nem mutattunk ki időbeli változást a terhesség trimeszterei során. A suPAR vagy periostin tekintetében trimeszterenkénti adatok asztmás terhességben még nem állnak rendelkezésre.

2. *Ugyanígy, bár összefoglalja melyek a hat kezelési lépcső választható gyógyszerei, melyek alkalmazhatók a terhesség elején, és melyek a végén? Vagy mindegyik bármikor alkalmazható? A felsorolt szerek közül melyik adhatók szoptatás alatt és melyek nem?*

A gyógyszerek terhesség alatt történő alkalmazhatóságát az amerikai FDA (Food and Drug Administration) osztályozás határozza meg, amely A-D és X betűkkel jelöli az egyes szereket (US Food and Drug Administration: Pregnancy and Lactation Labeling (Drugs) Final Rule. <http://www.fda.gov/drugs/developmentapprovalprocess/developmentresources/labeling/ucm093307.htm>). E szerint az asztma kezelésében alkalmazott gyógyszerek többsége a kedvező FDA B (állatkísérletek nem mutatnak magzati kockázatot, nincsenek megfelelő kontrollált humán vizsgálatok) vagy FDA C (állatkísérletek magzati kockázatot mutathatnak, humán kontrollált adat nincs, az alkalmazás előnyei felülmúlhatják a kockázatokat) kategóriába sorolható, tehát terhesség során adható, vagy a haszon/kockázat elv mérlegelése alapján adható. A kategória a teljes terhességre vonatkozik, trimeszterenkénti eltérés az asztmában alkalmazott inhalációs készítmények esetében nincs, hiszen a fő cél végig a kontrollált asztma fenntartása. Általános szabály, hogy javasolt az inhalációs gyógyszerbeviteli készítmények előnyben részesítése az orális gyógyszerekkel szemben, az alacsony szisztémás biohasznosulás miatt. További alapelv, hogy még az organogenezis tekintetében legfontosabb első trimeszterben is a legfontosabb cél a tünetmentesség elérése és fenntartása, így a kezelés ebben az időszakban is megegyezik a többi trimeszterben alkalmazott terápiával (Schatz M, Dombrowski MP: Asthma in Pregnancy. N Engl J Med 2009; 360:1862-1869).

A fenntartó terápia gerincét jelentő inhalációs kortikoszteroidok közül a budezonid FDA B, a többi hatóanyag FDA C kategóriába tartozik, valamennyi készítmény alkalmazásának haszna felülmúlja az esetleges kockázatokat; újabb adatok kimondják, hogy ezek a szerek nem jelentenek kockázatot a magzatra nézve (Smy L et al. Is it safe to use inhaled corticosteroids in pregnancy? Can Fam Physician. 2014 Sep;60(9):809-12). A béta-agonisták közül a salbutamol, formoterol, és salmeterol FDA C kategóriába tartoznak, ezek is alkalmazhatók a terhesség során végig (Murphy VE. Managing asthma in pregnancy. Breathe 2015; 11: 258-

267). Mindemellett, a korábbiakban összefüggést vetettek fel a terhesség alatti hörgőtágító használat, valamint a magzati szívfejlődési rendellenességek és gastroschisis kialakulása között, azonban figyelembe kell venni, hogy a gyakoribb salbutamol használat rossz asztmakontrollt jelent, ami önmagában fokozza a magzati károsodások esélyét (Lin S et al. Maternal asthma medication use and the risk of gastroschisis. *Am J Epidemiol.* 2008 Jul 1;168(1):73-9, Garne E et al. Use of asthma medication during pregnancy and risk of specific congenital anomalies: A European case-malformed control study. *J Allergy Clin Immunol.* 2015 Dec;136(6):1496-502.e1-7).

A szisztémás készítményekkel kapcsolatosan óvatosabb a szakirodalom. Az orális kortikoszteroid kezelés fokozott rizikót jelent a preeclampsia, hypertensio, koraszülés (37. hét előtt), alacsony születési súly (<2500 g), szájpada és ajakhasadék kialakulására (ez utóbbi két malformáció kialakulásának fokozott kockázata első trimeszterbeli szteroid expozíció esetén jelentkezik). Mivel azonban nem dönthető el, hogy a kockázatok hátterében a súlyos asztma, hypoxaemia vagy a gyógyszer expozíció áll, a jelenlegi ajánlások alapján akut asztma exacerbáció esetén a terhesség mindegyik trimeszterében indokolt a szisztémás szteroidok adása (Oren D et al. Using corticosteroids during pregnancy. Are topical, inhaled, or systemic agents associated with risk? *Can Fam Physician.* 2004;50:1083-5). A leukotrién receptor antagonisták mérsékelt hatásuk és bizonytalan biztonságosságuk miatt másodvonalas szerekek az asztma terhesség alatti kezelésében (Bakhireva LN et al. Safety of leukotriene receptor antagonists in pregnancy. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119:618-25), hasonlóan a teofillin származékokhoz. Ez utóbbiak, átjutva a placentán, a magzatban az anyai szérumhoz hasonló koncentrációt érnek el, és szimpatomimetikus hatásuk révén neonatalis tachycardiát, irritabilitást okozhatnak (Labovitz E et al. Placental theophylline transfer in pregnant asthmatics. *JAMA.* 1982 12;247(6):786-8).

A szoptatás alatt az asztma kezelése a nem terhes felnőtt asztmásokra vonatkozó irányelv mentén történik (www.ginasthma.org). A legtöbb készítmény inhalációs úton kerül bevitelre, minimális szisztémás hozzáférhetőség mellett, így biztonságosan alkalmazható a laktáció idején (az anyatejbe minimális frakció választódik ki). Az orálisan szedett gyógyszerek (teofillin, szisztémás szteroid, leukotrién receptor antagonista) viszont az anyatejbe kiválasztódnak, így ezek adása kerülendő a szoptatás alatt; kivételt képez a szisztémás szteroidok alkalmazása anyai akut asztma exacerbáció esetén, ahol az állapotromlás szakszerű ellátása az elsődleges cél.

3. *Leírja, hogy a kortikoszteroidok fokozzák a koraszülés esélyét, másrészt viszont visszaszorítják az asztmát. Emellett a gyógyszer-táblázatban a szisztémás szteroid kezelés nem szerepel lehetséges opcióként, csak roham esetén szabad adni. Kérdésem, hogy súlyos, nehezen kezelhető asztmában szisztémás szteroid adható-e tartósabban, és ez esetben a cost-benefit arányra vonatkozóan (asztma javulás vs. terhesség kimenetelének romlása) vannak-e vizsgálatok?*

Az asztma rendszeres fenntartó kezelésének alapját az inhalációs szteroidok jelentik, amelyek a terhesség szempontjából biztonságosak. Ezen készítmények használata nem befolyásolja a magzat glükokortikoid szenzitív folyamatait (Hodys NA et al. Fetal glucocorticoid-regulated pathways are not affected by inhaled corticosteroid use for asthma during pregnancy. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011 Mar 15;183(6):716-22). Az orális kortikoszteroid kezelés viszont fokozott rizikót jelent egy sor terhességi szövődmény tekintetében. Mivel nem dönthető el, hogy a kockázatok hátterében a súlyos asztma, hypoxaemia vagy a gyógyszer expozíció áll, a jelenlegi ajánlások alapján a terhesség mindegyik trimeszterében indokolt a szisztémás szteroidok adása akut asztma exacerbáció esetén (ld. fenn). Fenntartó kezelésként súlyos asztmában adásukra szükség lehet, itt kevés rendszerezett adat áll rendelkezésre, a kérdés megválaszolására kontrollált randomizált klinikai vizsgálat nem történt. Egy prospektív követéses vizsgálatban a szisztémás szteroid fenntartó terápia – a légzésfunkcióra és számos egyéb anyai tényezőre történt korrekció után is – emelte a koraszülés rizikóját (Schatz M. et al. The relationship of asthma medication use to perinatal outcomes. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:1040-1045). Egy másik vizsgálat során azt találták, hogy a szisztémás szteroid csökkenti az átlagos születési súlyt (kb. 200 grammal; szignifikáns eltérés mind az egészséges-, mint az inhalációs módon kezelt asztmás terhesek adataihoz képest) és hosszt is (ez utóbbit azonban csak az egészséges terhesek adataihoz képest), azonban nem emeli az intrauterin növekedési retardáció (IUGR; <10 percentilis) rizikóját. Nem volt kizárható, hogy az alacsonyabb értékek hátterében inkább a nem kontrollált, tünetes asztma okozta hypoxaemia állt. Mindezek alapján a cikk szerzői és a jelen irányelvek alapján, amennyiben súlyos asztmás beteg terhessége kialakul, úgy a minél jobb betegségkontroll a terhesség sikeres kihordásának alapja, ezért ennek érdekében akár rendszeres szisztémás szteroid is adható (Bakhireva LN et al. Asthma medication use in pregnancy and fetal growth. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;116(3):503-9, www.ginasthma.org, Murphy VE et al. Asthma during Pregnancy: Exacerbations, Management, and Health Outcomes for Mother and Infant. *Semin Respir Crit Care Med.* 2017;38(2):160-173).

4. Mi az esélye az asztmás terhesek esetében, hogy a gyermek is asztmás lesz?

Az asztma kórfejlődésében részben genetikai, részben környezeti tényezők vesznek részt. A legerősebb genetikai tényező az anyai asztma, amely négyszeresre, míg az apai asztma háromszorosra emeli a gyermek asztma-kockázatát (Litonjua AA et al. Parental history and the risk for childhood asthma. Does mother confer more risk than father? Am J Respir Crit Care Med. 1998;158(1):176-81). Azonban a genetikai predispozíción túl, maga a terhesség alatti aktív asztmás gyulladás additív rizikót jelent. A legfrissebb erre vonatkozó adat idén született, a Dán Születési Regiszter adatai elemzése alapján. A szerzők 15014 asztmás anya gyermekének adatait elemezve igazolták, hogy a korai kialakulású gyermekkori perzisztáló asztma kockázatát emeli a terhesség alatti enyhe nem kontrollált (OR 1.19; 95% CI 1.05-1.35), mérsékelten súlyos/súlyos kontrollált (OR 1.33; 95% CI 1.09-1.63), és mérsékelten súlyos/súlyos nem kontrollált (OR 1.37; 95% CI 1.17-1.61) asztma - az enyhe kontrollált asztmás terhesek gyermekeinek adataihoz képest (Liu X et al. Maternal asthma severity and control during pregnancy and risk of offspring asthma. J Allergy Clin Immunol. 2017 Jun 27. pii: S0091-6749(17)30854-0). A terhesség alatti aktív asztma tehát 19-37%-os additív rizikóemelkedést jelent a gyermek számára az asztma kialakulása tekintetében.

5. Bőven szól a T-sejtekről és alcsoportjairól. A B-sejtek, röviden, milyen szerepet játszanak asztmában? (Az omalizumab/ Xolair a B-sejtek által termelt IgE-t gátolja.) Van-e adat az effektor és regulatórikus B-sejtek szerepéről? A Xolair adható-e terheseknek?

A B lymphocyták szerepe az asztma patogenezisében igazolt (Geunwoong N et al. Regulatory B cells and allergic diseases. Allergy Asthma Immunol Res 2011; 3(3):168-177). A B lymphocytá sejtcsalád effektor szubpopulációi a CD5+ B1 sejtek, amelyek elsősorban savós hártyákon találhatók meg, és polireaktív ún. természetes antitesteket termelnek, valamint a B2 sejtek, amelyek - specifikus antitesttermelésük által - a konvencionális humorális immunválasz főszereplői (Kasaian MT et al. Autoimmunity-prone B-1 (CD5 B) cells, natural antibodies and self recognition. Autoimmunity 1993;15:315-29). Az alapvetően effektor szerepű B sejt frakció által termelt allergén-specifikus IgE molekula a hízósejtek és basophil granulocyták receptoraihoz kötődve az allergén expozíciójára egy korai és késői fázisból álló

allergiás reakciót indít el (ezt az IgE mediált mechanizmust gátolja az omalizumab), ami az allergiás asztma patomechanizmusának alapja.

Az utóbbi időben a B sejt populáción belül regulátoros szereppel bíró szubpopulációk is felfedezésre kerültek: az IL-10 termelő B10 sejt (Mazer B. Is there a place for B cells as regulators of immune tolerance in allergic diseases? Clin Exp Allergy 2014;44:469-71), a FoxP3+ Breg sejt (Noh J et al. Presence of Foxp3-expressing CD19(+)CD5(+) B cells in human peripheral blood mononuclear cells: human CD19(+)CD5(+)Foxp3(+) regulatory B cell. Immune Netw 2010;10:247-9), illetve a TGF- β 1 expresszáló Br3 sejt (Lotz M et al. Transforming growth factor β as endogenous growth inhibitor of chronic lymphocytic leukemia B cells. J Exp Med 1994;179:999-1004). A Breg sejtek elősegítik a Treg sejtek infiltrációját a tüdőbe, szerepet játszanak az effektor T sejtek apoptózisában, továbbá gátolják az IL-4 és IL-17 szekréciót (Amu S et al. Regulatory B cells prevent and reverse allergic airway inflammation via FoxP3-positive T regulatory cells in a murine model. J Allergy Clin Immunol 2010;125:1114-24). Asztmában tehát a regulátoros B lymphocyták a Th2 és Th17 immunválasz ellensúlyozásával mérséklék a légúti gyulladást (Braza F et al. A regulatory CD9(+) B-cell subset inhibits HDM-induced allergic airway inflammation. Allergy 2015;70(11):1421-31). A patomechanizmushoz azonban hozzátartozik az is, hogy allergiás asztmában alacsonyabb regulátoros B sejtszám igazolható, illetve a B sejtek lipopoliszacharid expozíció kiváltott IL-10 termelése elmarad az egészségesekétől (van der Vlugt LE et al. CD24(hi) CD27(+) B cells from patients with allergic asthma have impaired regulatory activity in response to lipopolysaccharide. Clin Exp Allergy. 2014;44:517-28). Újabb adatok szerint az allergénnel szembeni tolerancia kiépítésében is szerepet játszanak a Breg sejtek, ugyanis specifikus immunterápia hatására a Breg sejtek allergénspecifikus expansióját lehet megfigyelni (van de Veen W et al. Role of regulatory B cells in immune tolerance to allergens and beyond. J Allergy Clin Immunol 2016;138:654-65).

Az Xolair jelenlegi alkalmazási előirata alapján „a készítményt terhesség ideje alatt nem szabad alkalmazni, csak akkor, ha erre egyértelműen szükség van”. Eddig 190 omalizumabot kapó asztmás terhes asszony szisztematikusan gyűjtött adata áll rendelkezésre, ezek alapján 156 élveszületés (160 újszülött, 4 ikerpár), 1 neonatális halálozás, 11 spontán és 1 művi vetélés történt ebben a betegcsoportban. A koraszülés aránya 14.5%, az IUGR aránya 10% volt, és 20 újszülött esetében észleltek valamilyen congenitális malformációt. A szerzők arra következtettek, hogy a leírt gyakoriságok megfelelnek a súlyos asztma által okozott kockázatoknak, így az omalizumab biztonságosnak tűnik, azonban alkalmazását a terhesség

alatt részletes haszon-rizikó mérlegelésnek kell megelőznie; tehát csak abban az esetben adható a graviditás alatt, ha a betegség egyéb gyógyszereléssel nem kontrollálható elfogadható mértékig (Namazy J et al. The Xolair Pregnancy Registry (EXPECT): the safety of omalizumab use during pregnancy. J Allergy Clin Immunol. 2015;135(2):407-12).

6. *Egy hazai munkacsoport, Szekeres-Barthó professzornő és mtsai a progeszteron-indukált blokkoló faktorról (PIBF) foglalkoznak, melyet terhesség alatt a progeszteron indukál. A PIBF az immunológiai egyensúlyt Th2 irányában tolja el, gátolja a Th1 folyamatokat, az NK sejteket. Adódik, hogy a PIBF szerepet játszhat asztmában, terhességben vagy mindkettőben. Van-e erre vonatkozó irodalmi adat?*

Az egészséges terhességre jellemző fiziológiás immuntolerancia egyik fontos mechanizmusa a lymphocyták - terhesség alatt emelkedett mennyiségű progeszteron által kiváltott - progeszteron-indukált blokkoló faktor (PIBF) termelése, mely mechanizmus gyakorlatilag teljes leírása, kutatása a Szekeres Professzor asszony által vezetett munkacsoportnak köszönhető. A PIBF termelése a terhesség során az emelkedő progeszteron szint hatására indul meg, ehhez apai antigén nem szükséges (Cohen RA et al. Evidence that exposure to progesterone alone is a sufficient stimulus to cause a precipitous rise in the immunomodulatory protein the progesterone induced blocking factor (PIBF). J Assist Reprod Genet. 2016;33(2):221-9). A PIBF fokozza a T sejtek Th2 irányú differenciációját és Th2 cytokin termelését (IL-4, IL-5, IL-10 és IL-13), illetve gátolja a természetes ölősejtek (NK sejtek) aktivitását, cytotoxicitását (Szekeres-Bartho J et al. A progesterone-dependent immunomodulatory protein alters the Th1/Th2 balance. J Reprod Immunol 1996;31:81-95). A PIBF hatásához feltehetően egyéb, terhességhez kapcsolt mechanizmusra is szükség van, ugyanis, míg egészséges és patológiás gravidák mononuclearis sejtjei esetében, in vitro körülmények között, PIBF hatására a cytokin termelés Th2 irányba tolódik el, nem terhes asszonyoknál ilyen változás nem tapasztalható (Raghupathy R et al. Progesterone-induced blocking factor (PIBF) modulates cytokine production by lymphocytes from women with recurrent miscarriage or preterm delivery. J Reprod Immunol. 2009;80(1-2):91-9).

Fiziológiás terhességben a PIBF termelő sejtek jelen vannak a deciduában, biztosítva a decidua alacsony NK sejt aktivitását, így kedvező feltételeket teremtve a szemi-allograft magzat kihordásához (Szekeres-Bartho J et al. The antiabortive effect of progesterone-induced blocking factor in mice is manifested by modulating NK activity. Cell Immunol 1997;177:194–199). A PIBF csökkenti a Th1 aktivitást is, ezzel az immunegyensúlyt az

effektívebb cellularis immunitás felől a „tolerogénebb” humorális immunitás felé tolva (Blois SM et al. Depletion of CD8+ cells abolishes the pregnancy protective effect of progesterone substitution with dydrogesterone in mice by altering the Th1/Th2 cytokine profile. *J Immunol* 2004;172:5893–5899).

Egészséges terhességben a PIBF koncentrációja folyamatosan emelkedik egészen a 37. hétig, ezután pedig jelentős csökkenés mutatkozik a szülésig, míg patológiás terhességekben (pl. visszatérő vetélés, koraszülés) a PIBF szint emelkedése elmarad (Raghupathy R et al. Progesterone-induced blocking factor (PIBF) modulates cytokine production by lymphocytes from women with recurrent miscarriage or preterm delivery. *J Reprod Immunol.* 2009;80(1-2):91-9). A PIBF koncentráció a terhesség során prediktív értékű a magzat állapota és a terhesség kimenetele tekintetében (Polgar B et al. Urinary progesterone-induced blocking factor concentration is related to pregnancy outcome. *Biol Reprod* 2004;71:1699–1705), például, szintén Szekeres professzor asszony munkacsoportjának adatai alapján, az alacsony keringő PIBF szint a koraszülés jó prediktora (Hudić. Maternal serum progesterone-induced blocking factor (PIBF) in the prediction of preterm birth. *J Reprod Immunol.* 2015;109:36-40).

Allergiás asztmában, a fiziológiás terhességhez hasonlóan, szintén az immunrendszer Th2 irányú polarizáltsága jellemző. Mivel az asztma lefolyását, tünetességét, illetve a gyulladásos cytokin termelést a változó nemi hormonszint szint befolyásolhatja, pl. a menstruációs ciklus során (Semik-Orzech A et al. Serum estradiol concentration, estradiol-to-progesterone ratio and sputum IL-5 and IL-8 concentrations are increased in luteal phase of the menstrual cycle in perimenstrual asthma patients. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2017;49(4):161-170), valóban érdekes lenne asztmások esetében vizsgálni a PIBF szintjét és kapcsolatát a tünetek súlyosságával, azonban erre vonatkozó adatot az irodalomban nem találtam.

Asztmás terhességben, saját adataink alapján, a Th2 polarizáltság mellett a celluláris, Th1 immunválasz erősödése is tapasztalható, illetve sérül az immuntolerancia, ugyanis az egészséges terhességben észlelhető perifériás Treg sejtarány emelkedés nem alakul ki, több egyéb változás mellett (Tamási L et al. Increased interferongamma- and interleukin-4-synthesizing subsets of circulating T lymphocytes in pregnant asthmatics. *Clin Exp Allergy* 2005; 35(9):1197, Bohács A et al. Effector and Regulatory Lymphocytes in Asthmatic Pregnant Women. *Am J Reprod Immunol* 2010;64:(6) pp. 393-401). Felmerül a sejtimmunológiai változások hátterében a PIBF jelentős szerepe, ennek tisztázása mindenképpen érdekes jövőbeli kutatási irány munkacsoportunk számára.

7. *A saját vizsgálatokra rátérve, a biomarkereket a vérben nézték. Talán egyedül a VEGF esetében írja, hogy BAL-ra vonatkozóan is vannak eredmények. Gyulladásos biomarkerek esetén a keringő marker értéke általában alacsonyabb a gyulladásos milieuból nyert adatokhoz képest. A vizsgált 7-8 biomarkerrel kapcsolatban vannak-e BAL adatok? Volt-e olyan asztmás terhes, akinél bronchosopia történt, és akitől BAL mintát lehetett (volna) mérni? Volt-e saját BAL biomarker adatuk? Végül, ha már kondenzátumot nyertek, valamelyik biomarkert mérték-e a kondenzátumban? A jövőben a II. és III. témát össze lehetne kapcsolni azzal, hogy a kondenzátumban megnézni az adott 7-8 biomarker szintjét a négy vizsgálati csoportban.*

Valóban, az asztmás légúti gyulladás tanulmányozására a lokális, alsólégúti minta az optimális. Kutatásaink során azonban a markereket perifériás vérből vagy nem invazív módon gyűjthető légúti mintából mértük. Bronchosopia, bronchoalveolaris lavage (BAL) etikai, biztonságossági okokból nem történt terhességben. A nem invazív módon gyűjthető légúti minták közül FE_{NO} mérés történt, illetve a kilégzett levegőkondenzátum esetében pH mérés és VEGF meghatározási kísérlet, amely azonban nem járt sikerrel, ugyanis a VEGF szintje a kilégzett levegő kondenzátumban a minták döntő többségében az detektációs küszöb alatt volt.

Irodalmi adatok rendelkezésre állnak alsólégúti mintában vagy indukált köpetben mért gyulladásos markerek szintjéről *asztmában*: a Hsp70 (Tong W et al. Heat shock proteins' mRNA expression in asthma. *Respirology* 2000;5(3):227-30), a VEGF (Feltis BN et al. Increased vascular endothelial growth factor and receptors: relationship to angiogenesis in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173(11):1201–1207), a hialuronsav (Ayars AGet al. Sputum hyaluronan and versican in severe eosinophilic asthma. *Int Arch Allergy Immunol.* 2013;161(1):65-73), valamint a C5a (Krug N et al. Complement factors C3a and C5a are increased in bronchoalveolar lavage fluid after segmental allergen provocation in subjects with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164(10Pt 1):1841-1843) alsólégúti mennyisége asztmában magasabb, mint egészségesekben. Továbbá, korábbi saját vizsgálatunkban a survivin expresszióját fokozottnak találtuk asztmás betegek indukált köpetében (Ungvári I et al. Evaluation of a partial genome screening of two asthma susceptibility regions using bayesian network based bayesian multilevel analysis of relevance. *PLoS One* 2012; 7(3):e33573.).

Asztmás terhességben azonban invazív légúti mintavételt igénylő kutatások nemzetközi szinten sem történnek, BAL adatok nem állnak rendelkezésre. Így valóban, a kilégzett levegőkondenzátum mintáinkban az eddig vérben megmért biomarkerek szintjének meghatározása érdekes eredményekkel szolgálhat, a továbbiakban erre mindenképpen kísérletet teszünk, ezzel teljesebb képet kapva az asztmáról, és összekötve a kutatás szisztémás keringésre és lokális légúti gyulladás monitorozására vonatkozó részeit.

8. *A Treg eredmények (55. oldal, 3. ábra) igen elgondolkasztóak. Az egészséges, nem terhesekhez képest a terhesség emeli a Treg számot, az asztma pedig terheseken visszacsökkenti. Ezáltal asztmás terhesekben ugyanannyi a Treg szám, mint egészséges nem terhesekben (3. ábra). Vagyis azt gondolhatnánk, hogy a terhesség és az asztma együtt semmit nem csinál a Treg sejtekkel, holott ez valószínűleg nem igaz. A sejtszámokon túl van-e adat a Treg sejtek funkciójára, fenotípusára vonatkozóan, amely eltérő lehet az AT és ENT csoportban? Ugyanez figyelhető meg a Th17/Treg arányokkal kapcsolatban (62. oldal, 8f. ábra), vagyis egészségesekben ha terhes az illető ez az arány csökken, de ha még asztmás is lesz akkor megint nő, és az ENT és AT csoportokban az arány hasonló. Van-e adat arra, hogy az asztma gyógyszerei befolyásolták-e a Treg sejteket illetve a Th17/Treg arányt?*

Vizsgálataink során a CD4+CD25+FoxP3+ Treg sejtek arányát határoztuk meg a CD4+ sejteken belül (vagy a második vizsgálatban a teljes lymphocyta populáción belül is), további funkcionális vizsgálatok/fenotipizálás nem történtek. Az asztmás terhes csoport sejtarányait elsősorban az egészséges terhes csoporthoz hasonlítottuk, így értékelve az asztma okozta hatást a fiziológiás gesztáció immunológiai folyamataira: az összehasonlításból látható volt, hogy a konkomittáló asztma megváltoztatja/csökkenti az egészséges gesztációra jellemző magas Treg arányt. Az egészséges és asztmás nem terhes csoportok csupán a teljes kép tisztázása érdekében kerültek bevonásra. A Treg (és később a Th17/Treg) arányok asztmás terhességben az egészséges terhességhez képest eltérnek, aminek következménye a tolerancia sérülése, de valóban megegyeznek az egészséges nem terhes kontrollok értékeivel. Ez azonban nem jelenti azt, hogy fiziológiás állapottal van dolgunk, hiszen a fiziológiás terhességre magas Treg arány lenne jellemző. Mindemellett a Treg sejtek további fenotipizálása segítséget jelentene eredményeink interpretációjában. Preeclampszában például Molvarecz és mtsai igazolták, hogy a Treg sejtek száma alacsonyabb, mint egészséges terhességben, és megfelel az egészséges nem terhesek szintjének; ők azonban további

szuáptipizálást is végeztek. Eredményeik alapján a konvencionális CD4+CD25+ FoxP3+ Treg sejtek mellett az aktivált, CD4+CD25+FoxP3^{high} sejtek és a nem konvencionális, CD4+CD25-FoxP3+ Treg sejtek aránya is alacsonyabb preeclampszában, mint egészséges terhességben, és megfelel a nem terhesek szintjének (Toldi G et al. The frequency of peripheral blood CD4+ CD25^{high} FoxP3+ and CD4+ CD25- FoxP3+ regulatory T cells in normal pregnancy and pre-eclampsia. Am J Reprod Immunol. 2012;68(2):175-80). Asztmás terhességben a Treg sejtek FoxP3 expressziójának változó mértéke néhány hónapja került leírásra és mindössze egy vizsgálat történt eddig: úgy tűnik, hogy egészséges terhesség során a Treg sejtek FoxP3 expressziója alacsonyabb, mint nem terhes esetben, és a csökkenés mértéke asztmás terhességben szignifikánsan elmarad az egészséges terhességre jellemző csökkenéstől (Martins C et al. Regulatory T and B Cells in Asthmatic Women: Variations From Pregnancy to Postpartum J Investig Allergol Clin Immunol 2017; Vol 27(1): 46-57). A további, ennél részletesebb Treg fenotipizálás asztmás terhességben még várat magára, és mindenképpen ígéretes kutatási téma munkacsoportunk számára.

Az asztma gyógyszereinek Treg sejtarányra gyakorolt hatásáról asztmás terhességben saját kutatásainkból van adat: inhalációs kortikoszteroid rendszeres használata mellett magasabb Treg sejtarány trendje volt igazolható (6,3%±0,6 vs. 4,6%±0,5; p=0,06), mint inhalációs szteroid nélkül. Ehhez hasonlóan, nem terhes asztmás betegekben a budezonid Treg funkciót elősegítő, aktiváló hatását írták le (Pace E et al. Budesonide increases TLR4 and TLR2 expression in Treg lymphocytes of allergic asthmatics. Pulm Pharmacol Ther. 2015;32:93-100). A kép azonban korántsem tisztázott, az adatok ellentmondásosak, ugyanis asztma egérmodellben például a kortikoszteroidok (dexametazon és budezonid) Treg arányt csökkentő effektusát igazolták (Olsen PC et al. Glucocorticoids decrease Treg cell numbers in lungs of allergic mice. Eur J Pharmacol. 2015 15;747:52-8).

9. *Nagyon szép és konzekvens eredmény hogy a kilégzett NO-t a terhesség önmagában nem befolyásolja, az asztma emeli. A FE_{NO} szinttel egyedül a légúti ellenállást korreláltatták, amely szignifikáns volt annak ellenére, hogy a gyulladásoo sejtekkel a FE_{NO} nem mutatott összefüggést. Vizsgálták-e a FE_{NO} összefüggéseit más légzésfunkciós paraméterekkel (pl. VC, FEV₁, stb.), illetve az alkalmazott terápia hogyan hat a FE_{NO}-ra?*

A FE_{NO} összefüggését asztmás terhességben az alábbi klinikai paraméterekkel vizsgáltuk meg: FEV₁, FVC, PEF és Raw, illetve ACT pontszám (a Raw-on kívül a többi elemzés az

értékezésben nem szerepelt); ezek közül csak a nagyon objektív paraméternek tartott Raw korrelált a FE_{NO} szinttel. Fontos azonban megjegyezni, hogy jól kontrollált betegek kerültek bevonásra, akik medián ACT összpontszáma 24 pont, FEV_1 értéke 84%, FVC értéke 96% volt (Asztmás Terhes Ambulanciánkon igyekszünk minden beteg esetében elérni és fenntartani a megfelelő asztma kontrollt, így tünetes és nem kontrollált, nem kezelt betegek vizsgálatára egyre ritkábban van mód). Nem elemeztük az inhalációs kortikoszteroid kezelés hatását a FE_{NO} szintre, ugyanis a bevont 22 beteg közül 18 beteg használt ilyen készítményt, a medián napi dózis 500 μ g beklometazonnak felelt meg. A másik vizsgálatban minden asztmás terhes inhalációs kortikoszteroid kezelésben részesült, itt a medián napi dózis 775 μ g beklometazonnak felelt meg. Az inhalációs szteroidot nem használó asztmás terhesek összességében kis elemszáma ($N=4$), illetve a hasonló napi dózisok nem tették lehetővé annak elemzését, hogy a kezelés befolyásolja-e a FE_{NO} -t terhességben.

Az irodalomban *nem terhes asztmában* konzekvens adatok bizonyítják, hogy az inhalációs kortikoszteroid kezelés a légúti gyulladás mérséklésével csökkenti a FE_{NO} értéket (Van Muylem A et al. Acinar effect of inhaled steroids evidenced by exhaled nitric oxide. J Allergy Clin Immunol. 2010;126(4):730-735.e2, Kerckx Y, Michils A, Ricciardolo FLM et al. Perspectives on exhaled nitric oxide. J Breath Res. 2017 doi: 10.1088/1752-7163/aa7f0e). *Asztmás terhességben* is hatékonyak tűnik a FE_{NO} irányította terápiás algoritmus alkalmazása (Powell H et al. Management of asthma in pregnancy guided by measurement of fraction of exhaled nitric oxide: a double-blind, randomised controlled trial. Lancet. 2011;378(9795):983–90), habár jelenleg zajlik egy nagyszabású klinikai vizsgálat ennek alátámasztására (Murphy VE et al. The Breathing for Life Trial: a randomised controlled trial of fractional exhaled nitric oxide (FE_{NO})-based management of asthma during pregnancy and its impact on perinatal outcomes and infant and childhood respiratory health. BMC Pregnancy Childbirth. 2016, 17;16:111).

10. Nagyon fontos adat, hogy a kondenzátum savasodása figyelhető meg asztmában. A 18. ábra alapján az ET és AT 8,1 és 7,6 pH között mozog. Magam teljesen járatlan vagyok abban, hogy ezeket az abszolút pH értékeket hogyan kell értékelni? Milyen pH jelent már klinikailag szignifikáns savasodást és pl. egy asztmás roham idején vagy súlyos asztmában milyen lenne a betegek kondenzátum pH-ja? Az asztmás terhesekben a savasodás alacsonyabb újszülött születési súlyt jelzett. A pH más szülészeti mutatókkal

(pl. koraszülés aránya) is összefüggést mutathat? Egyértelmű, hogyha az asztmát jól kezeljük, akkor ez a savasodás elmarad?

Az EBC pH mérésével a légutakat borító folyadékfilm aktuális kémhatásáról nyerhetünk információt, értéke egészséges nem terhesekben 7,5-7,7 között mozog (Vaughan J et al. Exhaled breath condensate pH is a robust and reproducible assay of airway acidity. Eur Respir J. 2003;22(6):889-94). Egészséges terhességben maga a terhesség emeli az EBC pH-t, itt saját adataink alapján értéke 8,1 körüli.

Akut asztmában az EBC pH savasodik, a savasodás összefüggésbe hozható az oxidatív stressz fokozódásával, az epithelsejtek károsodásával, a ciliáris motilitás csökkenésével, a gyulladásos sejtek funkciójának megváltozásával, valamint a bronchospazmus kialakulásával (Ricciardolo FL et al. Acid stress in the pathology of asthma. J Allergy Clin Immunol 2004, 113: 610–619). *Nem terhes asztmás betegekben* az EBC pH 7,2 alatti értéke klinikailag szignifikáns, asztmás rohammal összefüggő mértékű savasodást (Kostikas K et al. Exhaled NO and exhaled breath condensate pH in the evaluation of asthma control. Respir Med 2011, 105(4):526-532), de már 7,3 körüli értéke instabil asztmát jelez (Tomasiak-Lozowska MM et al. Inflammatory markers and acid-base equilibrium in exhaled breath condensate of stable and unstable asthma patients. Int Arch Allergy Immunol. 2012;159(2):121-9). A savasodás kortikoszteroid kezelésre reverzibilis (Hunt JF et al. Endogenous airway acidification. Implications for asthma pathophysiology. Am J Respir Crit Care Med. 2000;161(3 Pt 1):694-9), továbbá az asztma megfelelő kontrollja, kezelése, és a stabil állapot az EBC pH savasodásának megszűnésével jár (Tomasiak-Lozowska MM et al. Inflammatory markers and acid-base equilibrium in exhaled breath condensate of stable and unstable asthma patients. Int Arch Allergy Immunol. 2012;159(2):121-9).

Terhes asztmások esetében, a gesztáció saját EBC pH-t emelő hatása miatt az asztmás roham és az instabil vagy súlyos asztma is feltehetően a fent leírtaknál magasabb EBC pH-val jár, illetve magasabb „cut-off” értékekkel kell számolni, azonban a saját adatainkon túl erre vonatkozóan még nem történtek vizsgálatok.

Saját betegcsoportunkban koraszülés, egyéb terhességi patológia nem fordult elő, és az EBC pH más szülészeti mutatókkal (pl. koraszülés aránya) való összefüggéséről irodalmi adatok jelenleg még nem állnak rendelkezésre.

11. Nagyon értékes, hogy új vér-biomarkereket keresnek, amelyekkel az asztmával szövődött terhességben zajló immunológiai-gyulladásos eseményeket jellemezni lehet és ezek közül néhány aktivitási és/vagy prediktív értékkel is bírhat. A markerek többsége a gyulladásban, angiogenezisben is részt vesz. Egyenként nem fűznék megjegyzést hozzá. Inkább általános kérdés: összefoglalóan melyekkel kapcsolatban ismert, hogy a terápia hogyan befolyásolja őket, a kezelés mellett változik-e vérszintjük, és van-e köztük olyan, amely prediktív értékű lehet az asztma illetve a terhesség kimenetelére nézve? A reumatológiában a multi-biomarker meghatározás felé megy a világ, pl. van olyan kit, ami 13 féle gyulladásos biomarkert tartalmaz. Van-e adat, vagy terveznek-e olyan vizsgálatot, amelyben a vizsgált 7-8 markert, vagy néhányat kombinálnak, és ezzel próbálják fokozni a biomarkerek értékét és a légzésfunkcióval való összefüggések erejét? Saját megítélése szerint a sok markerből melyek lennének e tekintetben a legfontosabbak?

A vizsgált biomarkerek egy részét először vizsgáltuk mind asztmában, mind asztmás terhességben (pl. suPAR, sFlt1), így a kezelés mellett várható változásuk még nem ismert. A VEGF esetében viszont korábbi adatok igazolták, hogy keringő és légúti szintjét az inhalációs kortikoszteroid kezelés csökkenti (Hoshino M et al. Expression of vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor, and angiogenin immunoreactivity in asthmatic airways and its relationship to angiogenesis. J Allergy Clin Immunol. 2001; 107(2): 295-301, Asai K et al. Increased levels of vascular endothelial growth factor in induced sputum in asthmatic patients. Clin Exp Allergy. 2003; 33(5): 595-599); bár a saját vizsgáltunkban a szteroid-kezelt és szteroid-naív asztmás betegek plazma VEGF értékei között nem mutattunk ki eltérést, emellett a plazma VEGF koncentrációk és az ICS dózisa között sem találtunk kapcsolatot. A hialuronsav metabolizmust a kortikoszteroid és hosszú hatású β 2-agonista kezelés befolyásolja oly módon, hogy a simaizomzat glikozaminoglikán szekrécióját csökkenti (Papakonstantinou E et al. Steroids and β 2-agonists regulate hyaluronan metabolism in asthmatic airway smooth muscle cells. Am J Respir Cell Mol Biol. 2012; 47(6): 759-767), a flutikazon pedig a tüdő fibroblasztok hialuronsav termelését gátolja (Jiang D et al. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. Physiol Rev. 2011; 91(1): 221-264). Az interleukin-5 gátló, asztmában már alkalmazott mepolizumab is csökkenti a köpet hialuronsav koncentrációt (Ayars AG et al. Sputum hyaluronan and versican in severe eosinophilic asthma. Int Arch Allergy Immunol. 2013; 161(1): 65-73).

Irodalmi adatok alapján az asztma súlyosságával, a légzésfunkciós veszteséggel, az asztma kimenetelével (*nem terhes betegek* esetében) kapcsolatban álló keringő markerek a Hsp70 (Hou C et al. Increased heat shock protein 70 levels in induced sputum and plasma correlate with severity of asthma patients. Cell Stress Chaperones. 2011;16(6):663-671), a C5a (Bowser C et al. Correlation of plasma complement split product levels with allergic respiratory disease activity and relation to allergen immunotherapy. Ann Allergy Asthma Immunol 2010; 104(1):42-49), a VEGF, illetve a hialuronsav (források feljebb). A keringő periostin szint pedig a légúti eozinofília jelenleg ismert legjobb keringő markere (Arron JR et al. Noninvasive biomarkers that predict treatment benefit from biologic therapies in asthma. Ann Am Thorac Soc 2013; 10 Suppl: S206-213, Kanemitsu Y et al. Increased periostin associates with greater airflow limitation in patients receiving inhaled corticosteroids. J Allergy Clin Immunol 2013; 132(2):305-12.e3).

Terhességben, saját adataink alapján a keringő Hsp70 koncentrációjának mérése alkalmas lehet az asztma diagnózis felállításának támogatására. Az asztma kimenetelére (asztma kontrollra és légúti áramláskorlátozottság mértékére) prediktív értékű keringő biomarker lehet a suPAR, a hialuronsav, a C5a és periostin, azonban további nagy esetszámú verifikációs vizsgálatok szükségesek.

A multi-biomarker meghatározás, hasonlóan a reumatológiához, az asztma követésében (asztmakontroll, áramláskorlátozottság predikció) is nagyobb hatékonysággal / eredményességgel rendelkezhet, mint egy-egy marker meghatározása. Eredményeink az asztma követésében gyakorlati segítséget nyújtó biomarkercsoport leírását célzó klinikai kutatások megtervezésében nyújthatnak hasznos segítséget, meghatározva a leginkább hasznos komponenseket, amelyek a suPAR, a hialuronsav, a C5a és a periostin.

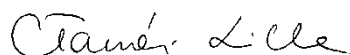
12. Saját rheumatoid arthritises vizsgálataink is alátámasztották, hogy több marker, így a VEGF, survivin, suPAR, hialuronsav és talán a periostin is fokozza a gyulladásos angiogenezist. Esetleg érdemes lenne e biomarkerek szintjét egymással is korreláltatni.

Ebben is tökéletesen egyetértek a Bírálóval, a gyulladásos angiogenezis az asztma pathomechanizmusának is fontos része és összeköttetés a vizsgált markerek között. Tervezés alatt áll egy - a suPAR, hialuronsav, periostin mellett új markerként osteopontin és clusterin meghatározást célzó - vizsgálat asztmában és asztmás terhességben, ahol egy betegen belül

több marker kerülne meghatározásra, így fény derülhetne az egyes molekulák szintjének egymáshoz való viszonyára, korrelációjára. A gyakorlati megvalósítás kihívása a súlyosabb vagy nem kontrollált betegek bevonása, akik esetében markánsabb eltérésekre lehet számítani, és akik esetében a betegség követését segítő eljárások kidolgozása a klinikai betegellátás gyakorlata szempontjából is fontos.

Még egyszer szeretném megköszönni Szekanecz Zoltán Professzor úrnak értekezésem bírálatát, építő kritikai megjegyzéseit, elgondolkodtató, jövőbemutató izgalmas kérdéseit, javaslatait, illetve azt, hogy értekezésem nyilvános vitára bocsátását javasolta.

Tisztelettel kérem válaszaim szíves elfogadását,



Dr. Tamási Lilla

Semmelweis Egyetem, Pulmonológiai Klinika

Budapest, 2017.08.28.