

dc\_846\_14

**MTA Doktori Értekezés**

**A LÉGÚTI GYULLADÁS ÉS AZ OXIDATÍV STRESSZ  
NON-INVAZÍV VIZSGÁLATA TÜDŐBETEGSÉGEKBEN**

**dr. Antus Balázs**

Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézet

Budapest

2014

## TARTALOMJEGYZÉK

<b>1. Rövidítések jegyzéke</b>	6
<b>2. Bevezetés</b>	9
<b>3. Irodalmi háttér</b>	12
3.1. Légúti gyulladás kórélettana	12
3.1.1. Légúti gyulladás általános jellemzői	12
3.1.2. COPD	13
3.1.3. Asztma	16
3.1.4. CF	20
3.1.5. Tüdőtranszplantált betegek pulmonalis szövödményei	21
3.1.5.1. Légúti infekciók	21
3.1.5.2. BOS	22
3.2. Oxidatív stressz kórélettana	25
3.2.1. Mi az oxidatív stressz?	25
3.2.2. Oxidatív stressz szerepe a COPD patofiziológiájában	27
3.3. Non-invazív vizsgálómódszerek a pulmonológiában	30
3.4. Légúti gyulladás biomarkerei	33
3.4.1. FENO	33
3.4.1.1. Az NO bioszintézise és tulajdonságai	33
3.4.1.2. A FENO mérése	34
3.4.1.3. FENO és a dohányzás	36
3.4.1.4. Asztma	37
3.4.1.5. COPD	38
3.4.1.6. Légúti infekciók	40
3.4.1.7. CF	41
3.4.1.8. Primer ciliaris diszkinézia	41
3.4.1.9. Tüdőtranszplantáció	41
3.4.2. Köpet eosinophilia	42
3.4.2.1. Asztma	42
3.4.2.2. COPD	44
3.4.3. EBC pH-ja	45
3.4.4. Citokinek és kemokinek	49
3.4.5. Adenozin	50
3.4.6. Eikozanoidok	50
3.4.6.1. Eikozanoidok általános jellemzői	50
3.4.6.2. PGE <sub>2</sub>	52
3.4.6.3. Cisz-LT	54
3.4.6.4. LTB <sub>4</sub>	55
3.5. Oxidatív stressz biomarkerei	56
3.5.1. CO	56
3.5.2. Etán és pentán	56
3.5.3. 8-Izoprosztán	57
3.5.4. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	58
3.5.5. Nitrit és nitrát	58
3.5.6. Nitrozotiolok és nitrotirozin	59
3.5.7. Aldehidek	59
<b>4. Célkitűzések</b>	63
<b>5. Betegek, módszerek és eredmények</b>	64
5.1. A frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid mérés szerepének meghatározása a tüdőtranszplantált betegek pulmonalis szövödményeinek diagnosztikájában	64
5.1.1. Légúti infekciók	64
5.1.1.1. Betegek és vizsgálati protokoll	64

5.1.1.2. Bronchoscopeia	65
5.1.1.3. Légúti infekciók diagnóziisa és kezelése	65
5.1.1.4. Légzésfunkciós vizsgálatok	67
5.1.1.5. FENO-mérés	67
5.1.1.6. Statisztikai analízis	68
5.1.1.7. Eredmények	68
5.1.2. BOS	69
5.1.2.1. Betegek és vizsgálati protokoll	69
5.1.2.2. BOS diagnosztika	70
5.1.2.3. Légzésfunkciós vizsgálatok és FENO-mérés	70
5.1.2.4. Statisztikai analízis	70
5.1.2.5. Eredmények	70
5.2. A frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid koncentrációjának vizsgálata a krónikus obstruktív tüdőbetegség akut exacerbációjában, a mérés prediktív értékének meghatározása a betegek funkcionális válaszkészsége szempontjából	72
5.2.1. Betegek	72
5.2.2. Vizsgálati protokoll	73
5.2.3. Légzésfunkciós vizsgálatok és FENO-mérés	74
5.2.4. Statisztikai analízis	74
5.2.5. Eredmények	74
5.3. A frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid és a köpet sejtprofil kapcsolatának vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegség akut exacerbációjában	77
5.3.1. Betegek	77
5.3.2. Vizsgálati protokoll	78
5.3.3. Légzésfunkciós vizsgálatok és FENO-mérés	79
5.3.4. Köpet gyűjtés, feldolgozás és kiértékelés	79
5.3.5. Statisztikai analízis	80
5.3.6. Eredmények	80
5.4. A kilégzett levegő kondenzátum pH-jának vizsgálata asztma és krónikus obstruktív tüdőbetegség akut exacerbációjában	83
5.4.1. Betegek	83
5.4.2. Vizsgálati protokoll	85
5.4.3. EBC gyűjtése	86
5.4.4. EBC pH-jának meghatározása	86
5.4.5. EBC pH-mérések reprodukálhatósága COPD-ben	86
5.4.6. Nyálkontamináció vizsgálata az EBC mintákban	87
5.4.7. Légzésfunkciós vizsgálatok és FENO-mérés	87
5.4.8. Statisztikai analízis	87
5.4.9. Eredmények	88
5.5. A kilégzett levegő kondenzátum pH-jának vizsgálata cisztás fibrózisban, rosszindulatú tüdődaganatban és bronchiolitis obliterans szindrómában szenvedő tüdőbetegekben	91
5.5.1. CF	91
5.5.1.1. Betegek	91
5.5.1.2. Vizsgálati protokoll	92
5.5.1.3. EBC gyűjtése és pH-jának mérése	92
5.5.1.4. EBC pH-mérések reprodukálhatósága CF-ben	93
5.5.1.5. Köpet gyűjtése és feldolgozása	93
5.5.1.6. Légzésfunkciós vizsgálatok és FENO-mérés	93
5.5.1.7. Statisztikai analízis	93
5.5.1.8. Eredmények	93
5.5.2. Tüdődaganatok	95
5.5.2.1. Betegek	95
5.5.2.2. EBC gyűjtése és pH-jának mérése	96

5.5.2.3. EBC pH-mérések reprodukálhatósága tüdődaganatban	96
5.5.2.4. Statisztikai analízis	97
5.5.2.5. Eredmények	97
5.5.3. BOS	98
5.5.3.1. Betegek és vizsgálati protokoll	98
5.5.3.2. Bronchoscoopia	100
5.5.3.3. EBC gyűjtése és pH-jának mérése	100
5.5.3.4. Légzésfunkciós vizsgálatok	100
5.5.3.5. Statisztikai analízis	100
5.5.3.6. Eredmények	100
5.6. A kilégzett levegő kondenzátum citokin mintázatának vizsgálata rosszindulatú tüdődaganatban és bronchiolitis obliterans szindrómában szenvedő tüdőbetegekben	103
5.6.1. Tüdődaganatok	103
5.6.1.1. Betegek	103
5.6.1.2. EBC gyűjtése	103
5.6.1.3. Citokin microarray	103
5.6.1.4. Légzésfunkciós vizsgálatok és FENO-mérés	103
5.6.1.5. Statisztikai analízis	104
5.6.1.6. Eredmények	104
5.6.2. BOS	105
5.6.2.1. Betegek	105
5.6.2.2. EBC gyűjtése	105
5.6.2.3. Citokin microarray	106
5.6.2.4. Statisztikai analízis	106
5.6.2.5. Eredmények	107
5.7. Az oxidatív stressz vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegségben a légúti malondialdehid koncentráció meghatározása alapján	107
5.7.1. Betegek	107
5.7.2. Vizsgálati protokoll	108
5.7.3. Légzésfunkciós vizsgálatok, FENO-mérések és EBC gyűjtés	108
5.7.4. Köpet gyűjtés és feldolgozás	108
5.7.5. MDA mérése	109
5.7.6. MDA-mérések intra- és inter-assay reprodukálhatósága	110
5.7.7. MDA-mérések napok-közötti variabilitása	111
5.7.8. Statisztikai analízis	111
5.7.9. Eredmények	111
5.8. Eikozanoidok vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegségben szenvedő betegek köpetében	114
5.8.1. Betegek és vizsgálati protokoll	114
5.8.2. Légzésfunkciós vizsgálatok, FENO-mérés és köpet gyűjtés	115
5.8.3. Eikozanoid-mérések	116
5.8.4. Eikozanoid-mérések reprodukálhatósága	116
5.8.5. Statisztikai analízis	116
5.8.6. Eredmények	117
<b>6. Megbeszélés</b>	122
6.1. A frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid mérés szerepének meghatározása a tüdőtranszplantált betegek pulmonalis szövődményeinek diagnosztikájában	122
6.1.1. Légúti infekciók	122
6.1.2. BOS	124
6.2. A frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid koncentrációjának vizsgálata a krónikus obstruktív tüdőbetegség akut exacerbációjában, a mérés prediktív értékének meghatározása a betegek funkcionális válaszkészsége szempontjából	126
6.3. A frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid és a köpet sejtprofil kapcsolatának	

vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegség akut exacerbációjában	130
6.4. A kilégtett levegő kondenzátum pH-jának vizsgálata asztma és krónikus obstruktív tüdőbetegség akut exacerbációjában	132
6.5. A kilégtett levegő kondenzátum pH-jának vizsgálata cisztás fibrózisban, rosszindulatú tüdődaganatban és bronchiolitis obliterans szindrómában szenvedő tüdőbetegekben	135
6.5.1. CF	135
6.5.2. Tüdődaganatok	137
6.5.3. BOS	138
6.6. A kilégtett levegő kondenzátum citokin mintázatának vizsgálata rosszindulatú tüdődaganatban és bronchiolitis obliterans szindrómában szenvedő tüdőbetegekben	139
6.7. Az oxidatív stressz vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegségben a légúti malondialdehid koncentráció meghatározása alapján	142
6.8. Eikozanoidok vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegségben szenvedő betegek köpetében	145
<b>7. A doktori értekezés legfontosabb új megállapításai</b>	149
<b>8. Köszönetnyilvánítás</b>	150
<b>9. A doktori értekezés tárgykörében megjelent saját közlemények jegyzéke</b>	152
9.1. A PhD értekezést megelőzően megjelent közlemények	152
9.2. A PhD értekezést követően megjelent angol nyelvű közlemények	152
9.3. A PhD értekezést követően megjelent magyar nyelvű közlemények	153
9.4. A doktori értekezés tárgyköréhez kapcsolódó könyvfejezetek	154
9.5. A doktori értekezés tárgyköréhez kapcsolódó lektorált szerkesztői levelek és hozzászólások	154
9.6. A doktori disszertáció tárgyköréhez kapcsolódó előadáskivonatok	155
<b>10. A doktori értekezésben nem szereplő, a PhD értekezést követően megjelent saját közlemények jegyzéke</b>	159
10.1. Angol nyelvű közlemények	159
10.2. Magyar nyelvű közlemények	159
<b>11. Tudománymetriai adatok</b>	160
<b>12. Irodalomjegyzék</b>	161

## 1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AA	arachidonsav
Ad	adenocarcinoma
Angiop	angiopoietin
ANOVA	egyutas varianciaanalízis
AP-1	aktivátor protien-1
ASL	légutakat borító folyadékfilm
ATP	adenozin-trifoszfát
ATS	Amerikai Tüdőgyógyász Társaság
BAL	bronchoolveolaris lavage
BO	bronchiolitis obliterans
BOS	bronchiolitis obliterans szindróma
BTS	Brit Tüdőgyógyász Társaság
cAMP	ciklikus adenzin-monofoszfát
CAT	kataláz
CF	cisztás fibrózis
CFTR	cisztás fibrózis transzmembrán vezetőképesség-szabályozó
CI	konfidencia intervallum
cisz-LT	ciszteinil-leukotrién
CMV	cytomegalovírus
CO	szén-monoxid
CO <sub>2</sub>	szén-dioxid
COPD	krónikus obstruktív tüdőbetegség
COX	ciklooxigenáz
CRP	C-reaktív protein
DTT	dithiothreitol
EBC	kilégzett levegő kondenzátum
ECP	eosinophil kationos protein
EIA/ELISA	enzim immunoassay/enzimmel kapcsolt immunoszorbens assay
eNOS	endothelialis nitrogén-monoxid-szintáz
Eo	eosinophil leukocyta
ERS	Európai Tüdőgyógyász Társaság
FENO	frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid
FEV <sub>1</sub>	forszírozott expirációs volumen egy másodperc alatt
FGF	fibroblast növekedési faktor (Fibroblast Growth Factor)
FLAP	5-lipoxigenáz-aktiváló protein
FIt-3 lig	Fms-szerű tirozin kináz-3 ligand (Fms-related tyrosine kinase-3 ligand)
FVC	forszírozott vitálkapacitás
GC	gázkromatográfia
GC/MS	gázkromatográfia/tömegspektroszkópia
GDNF	glia sejtvonalból származó neurotrophicus faktor (Glial Cell-derived Neurotrophic Factor)
GERD	gastrooesophagealis reflux betegség
GINA	Global Initiative for Asthma
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disases
GR	glükokortikoid receptor
GRO- $\alpha$	növekedést szabályozó onkogén- $\alpha$ (Growth Regulated Oncogene- $\alpha$ )
GSH	glutation peroxidáz

GST	glutation-S-transzferáz
HAT	hiszton-acetiltranszferáz
HDAC	hiszton-deacetiláz
4-HHE	4-hidroxi-hexenal
HLA	humán leukocytá antigén
4-HNE	4-hidroxi-nonenal
5-HpETE	5-hidroperoxi-eikozatetraénsav
HPLC	nagy teljesítményű folyadékkromatográfia
HRCT	nagy felbontóképességű számítógépes tomográf
ICS	inhalációs kortikoszteroid
Ig	immunglobulin
IGF-1	inzulin-szerű növekedési faktor-1 (Insulin-like Growth Factor-1)
IL	interleukin
INF- $\gamma$	interferon- $\gamma$
iNOS	indukálható nitrogén-monoxid-szintáz
IP-10	interferon- $\gamma$ -indukálta protein 10 (Interferon- $\gamma$ -induced Protein 10)
IPF	idiopathiás tüdőfibrózis
ISHLT	International Society of Heart and Lung Transplantation
LC	folyadékkromatográfia
5-LOX	5-lipoxigenáz
LRTI	alsó légúti infekció
LT	leukotrién
Ly	lymphocytá
Ma	macrophag
MAP	mitogén-aktiválta protein
MCP-1	monocytá kemotaktikus protein-1 (Monocyte Chemotactic Protein-1)
MDA	malondialdehyd
MDC	macrophagokból-származó kemoattraktáns (Macrophage-Derived Chemokine)
MEF <sub>50</sub>	maximális kilégzési áramlás az FVC görbe 50%-ánál mérve
MHC	fő hisztokompatibilitási komplex
MIG	interferon- $\gamma$ -indukálta monokin (Monokine Induced by Interferon- $\gamma$ )
MIP-3 $\alpha$	macrophag inflammatorikus protein-3 $\alpha$ (Macrophage Inflammatory Protein-3 $\alpha$ )
MMP	mátrix metalloproteáz
MPO	myeloperoxidáz
n	vizsgálatban résztvevő személyek száma
NADPH	nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát
NE	neutrophil elasztáz
Ne	neutrophil leukocytá
NF- $\kappa$ B	nukleáris faktor- $\kappa$ B
NH <sub>3</sub>	ammónia
3-NT	3-nitrotirozin
NO	nitrogén-monoxid
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	nitrit
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	nitrát
NOS	nitrogén-monoxid-szintáz
NSCLC	nem kissejtes tüdődaganat
PaCO <sub>2</sub>	parciális artériás szén-dioxid nyomás
PaO <sub>2</sub>	parciális artériás oxigén nyomás
pCO <sub>2</sub>	kondenzátum parciális szén-dioxid nyomása

PDGF	vérlemezke eredetű növekedési faktor (Platelet-Derived Growth Factor)
PG	prostaglandin
PGHS	prostaglandin-H-szintáz
PI	planocellularis carcinoma
PLA <sub>2</sub>	foszfolipáz-A <sub>2</sub>
POX	peroxidáz
ppb	részecske per milliárd
PPH	primer pulmonalis hipertonia
PTX	pneumothorax
RANTES	Regulated on Activation Normal T-cell-Expressed and -Secreted
RIA	radioimmunoassay
RNI	reaktív nitrogén intermedier
ROC	Receiver Operating Characteristic
ROI	reaktív oxigén intermedier
SCLC	kissejtes tüdődaganat
SD	szórás
SEM	átlag szórása
SLPI	szekretoros leukocytá proteáz inhibitor
sO <sub>2</sub>	oxigén szaturáció
SOD	szuperoxid dizmutáz
TBB	transbronchialis biopszia
TCR	T-sejt receptor
TGF-β	transzformáló növekedési faktor-β (Transforming Growth Factor-β)
Th	T-helper
TMP	thymocytá mitogenikus protein (Thymocyte Mitogenic Protein)
TNF-α	tumor nekrozis faktor-α (Tumor Necrosis Factor-α)
TPO	thrombopoetin
TRAIL	TNF-hez hasonló apoptózist indukáló ligand (TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand)
URTI	felső légúti infekció
VEGF	vascularis endothelialis növekedési faktor (Vascular Endothelial Growth Factor)
WBC	fehérvérsejtszám
WHO	Egészségügyi Világszervezet

A rövidítések tekintetében igazodtam a többségi irodalmi gyakorlathoz, mondat szerkesztés vonatkozásában pedig a magyar nyelvhasználat szabályaihoz.



## 2. BEVEZETÉS

A krónikus légúti gyulladás számos, különböző etiológiájú tüdőbetegség alapvető patofiziológiai jellegzetessége. Légúti gyulladás figyelhető meg az asztmában, a krónikus obstruktív tüdőbetegségben (COPD), a cisztás fibrózisban (CF), vagy a tüdőtranszplantált betegekben kialakuló bronchiolitis obliterans szindrómában (BOS).

A légúti gyulladás kialakulásában számos gyulladásos sejt és mediátor vesz részt. A gyulladásos mediátorok legtöbbször citokinek, kemokinek, növekedési faktorok, oxidánsok vagy egyéb vazoaktív anyagok, melyek részben a hörgőnyálkahártyát infiltráló gyulladásos sejtekben, részben a tüdő parenchyma strukturális sejtjeiben termelődnek. Mivel a különböző tüdőbetegségekben a légúti gyulladást eltérő sejtes és mediátorképzési arányok jellemzik, és mivel ugyanazon tüdőbetegségnek többféle fenotípusa is lehet, ezért az egyes kórképekben eltérő gyulladásos sejt és mediátor *mintázatok* fordulhatnak elő.

Közismert, hogy a rutin klinikai gyakorlatban a tüdőbetegekben zajló légúti gyulladásra nem vagy csak indirekt módon lehet következtetni. A tüdőbetegségek diagnosztikájában általánosan használt spirometriás paraméterek ugyan fontos funkcionális jellemzők, azonban a légúti gyulladás megítélésére vagy a különböző gyulladásos fenotípusok elkülönítésére nem alkalmasak. Hasonlóan, a vér- vagy vizeletvizsgálatok sem adnak elegendő információt a légutakban zajló gyulladásos folyamatokról.

A légúti gyulladás fennállása legbiztosabban biopsziás mintavétel útján ítéhető meg, ami azonban *invazív* vizsgálat, így a gyulladás vizsgálata céljából rutinszerűen nem végezhető. Ezt a problémát küszöbölik ki az ún. *non-invazív* vizsgálómódszerek a pulmonológiában. Ilyen módszer a kilégzett levegő gázfázisának, a kilégzett levegő kondenzátumának (EBC) vagy az indukált köpetnek a vizsgálata. E vizsgálómódszerek közül az indukált köpet vizsgálatát és a frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid (FENO) mérését néhány gyógyintézetben már a gyakorlatban is alkalmazzák, bár hasznosságuk még az asztmás típusú gyulladás vizsgálatában is mai napig vitatott. A FENO-mérés szerepe más tüdőbetegségekben, így például a COPD-t illetően még bizonytalanabb. Ugyanakkor különleges jelentősége lehet a tüdőtranszplantált betegek pulmonalis szövödményeinek (infekció, BOS) diagnosztikájában.

Az elmúlt években számos kutatócsoport közölt mérési eredményeket gyulladásos mediátoroknak a köpetben és/vagy az EBC-ben való kimutathatóságára különböző tüdőbetegségek esetében. Egyes szerzők a kimutatott mediátoroknak biológiai nyomjelző, ún. *biomarker* funkciót is tulajdonítanak. A biomarkerek a jövőben a gyulladás fenotipizálásában,

a betegség monitorozásában vagy a betegek terápiás válaszkészségének megítélésében lehetnek a klinikusok segítségére. Az eikozanoidok a gyulladáshoz vezető mediátorok fontos csoportját képviselik, szerepük az asztmában jól ismert, míg más kórképekben, így például a COPD-ben funkciójuk sok szempontból tisztázatlan.

Az EBC egyik legígéretesebb biomarkere a kémhatása, azaz a pH-ja. A feltételezések szerint a légutak savasodása a légúti gyulladás egyik kísérője. A pH-mérési eredmények azonban óvatossággal kezelendők, ugyanis a választott mérés technika – a tapasztalatok szerint – befolyásolhatja a kapott adatokat. Ennek is tulajdonítható, hogy az eddigi eredmények ellentmondásosak. Megfelelően standardizált módszer alkalmazásával korábban széleskörű méréseket nem végeztek.

A kimutatott biomarkerek egy másik csoportja a tüdőben zajló oxidatív stressz mértékéről ad információt. Közismert, hogy az oxidatív stressz a tüdőbetegségek patomechanizmusának egyik meghatározó eleme. Az oxidatív stressz lényege az oxidáns anyagok légúti felhalmozódása, mely folyamat a gyulladás fenntartásán, különböző vaso- és bronchokonstriktor hatású mediátorok termelődésén és a tüdő szöveti struktúráinak közvetlen károsításán keresztül járul hozzá a tüdőbetegségek kialakulásához. Az oxidatív stressz különösen a – már említett – COPD-ben játszik meghatározó patofiziológiai szerepet a dohányfüst nagy mennyiségű oxidáns tartalma miatt. Jelenleg ugyanakkor kevésbé ismert, hogy mely légúti biomarkerek alkalmasak az oxidatív stressz monitorozására a COPD-ben, továbbá, hogy mely markerek alkalmasak a stabil klinikai állapotú, valamint az exacerbációban lévő betegek esetenkénti összevetésére.

A fentebbi gondolatok napjainkban is a légúti biomarker kutatás gyakran tárgyalt kérdésköréit jelentik. Mindezeknek a tudományos vizsgálata közel két évtizedes múltra tekint vissza az *Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézet Kórleletani Osztályán*. A kutatások megalapozója *Horváth Ildikó* professzorasszony volt, akit a tudományterület hazai úttörőjének is tekintenek. A Professzorasszony a későbbiekben meghatározó szerepet töltött be olyan nemzetközi kutatási fórumok munkájában, melyek szakmai ajánlásai napjainkban is irányadóak a légúti biomarkerek tudományos vizsgálataiban.

Jómagam az *Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézetben* gyógyító-orvosi tevékenységem mellett 2003-ban kapcsolódtam be a légúti biomarkerek kutatásába. Számomra a fentiekben érintett tudományos kérdések nem csupán elvont elméleti felvetéseket, esetleg kutató intézeti alapkutatási témákat, hanem gyakorlati, a mindennapi orvoslásban is megoldandó klinikusi feladatokat jelentettek. Az elméleti ismeretek és a gyógyítás gyakorlati igényeinek szükségszerű összetartozása, továbbá az *Országos Korányi*

*Tbc és Pulmonológiai Intézet* tudományos múltja, és számomra az intézeten belüli korábbi kutatások folytatási lehetősége vezetett el oda, hogy éveken át tudományos szinten foglalkozhattam a biomarkerek klinikai alkalmazhatóságának kérdéskörével.

Disszertációmban az utóbbi 10 évben tüdőbetegeken végzett kutatási eredményeimet foglaltam össze. E meglehetősen szerteágazó vizsgálatok kettős célúak voltak. Egyrészt, pontosan és reprodukálhatóan mérhető biomarkereket kívántunk meghatározni a köpetben és az EBC-ben. Másrészt, a biomarkerek klinikai alkalmazhatóságát kívántuk vizsgálni különböző tüdőbetegségekben. Mindezeknek megfelelően vizsgálataink részben gyulladásos mediátorok és oxidatív stressz markerek mennyiségi kimutatására, részben a légúti pH mint biomarker szerepének tisztázására irányultak. További vizsgálatainkban pedig a FENO-mérés lehetséges klinikai felhasználását elemeztük COPD-s, illetve tüdőtranszplantált betegekben. A vizsgálatokba az *Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézetben* kezelt betegeket vontuk be, kihasználva az Intézetben megforduló betegek hazánkban sok szempontból egyedülállónak tekinthető sokszínűségét.

### 3. IRODALMI HÁTTÉR

#### 3.1. Légúti gyulladás kórétana

##### 3.1.1. Légúti gyulladás általános jellemzői

Az evolúció során kialakult természetes ellenállás legismertebb védekező reakciója a gyulladás, azaz az inflammáció. Közismert, hogy közel 2000 évvel ezelőtt *Cornelius Celsus* a *De Medicina* című munkájában a gyulladás helyi kardinális tüneteiként a pírt (*rubor*), a duzzanatot (*tumor*), a lokális hőmérséklet-emelkedést (*calor*) és a fájdalmat (*dolor*) említi. Később *Galenus* a gyulladás ötödik alapvető tüneteként ezekhez még a működéscsökkenést (*functio laesa*) teszi hozzá.

A gyulladás bonyolult folyamat, lefolyásában és kimenetelében egyaránt változatos, és a legkülönbözőbb belső és külső okok idézhetik elő. Kimenetelét tekintve teljes gyógyulással és akár teljes szövetpusztulással is járhat. Dinamikájában általában akut és krónikus formát lehet elkülöníteni. A gyulladás folyamatként a különböző sejtek: polimorf leukocyták, macrophagok, lymphocyták, thrombocyták, dendritikus sejtek, hízósejtek és endothelsejtek működése jellegzetesen megváltozik, aktiválódnak és mobilizálódnak, biológiailag hatásos vegyi anyagokat, azaz gyulladásos mediátorokat termelnek. A gyulladás a helyi tünetek ellenére sosem értelmezhető *lokalizált* folyamatnak, hanem mindig a szervezet egészére kiterjedő, bonyolult, kóros reakció. A gyulladás kiterjedését és végső kimenetelét a szövetkárosodást előidéző okok sajátosságai és mértéke, illetve az adott szervezet természetes és szerzett ellenálló képessége együttesen szabják meg.

Krónikus légúti gyulladás megjelenésével számos tüdőgyógyászati kórképben találkozunk, így például az asztmában, a COPD-ben, a CF-ben vagy a bronchiectasiában. Légúti gyulladást indukál önmagában a dohányzás is, mint a tüdőbetegségek legfontosabb rizikófaktora. Végül, a légúti inflammáció a tüdőbetegek egy különleges csoportjában, a tüdőtranszplantált betegekben is megfigyelhető, különösen, ha a tüdő allograftban pulmonalis szövődmények is megjelennek.

A légúti gyulladás főbb sajátosságai megegyeznek a gyulladásos reakcióról fentebb, általánosságokban leírtakkal. Mivel a légzőtraktus a külső környezettel állandó közvetlen összeköttetésben áll, a gyulladás fenntartásában vagy ampfikációjában sok esetben a vírusokkal és a baktériumokkal szembeni cellularis és/vagy humoralis immunválasz is szerepet játszik. Emellett döntő jelentőségű az inhalatív allergének belégzése egyes kórképek,

így például az asztma patogenezisében. Végül – az előbb említett sejtek mellett – a légúti epithelsejtek is fontos szerepet játszanak a gyulladás szabályozásában.

A továbbiakban, a disszertációmban részletesen vizsgált tüdőbetegségekre jellemző légúti gyulladás főbb patológiai jellemzőit ismertetem.

### 3.1.2. COPD

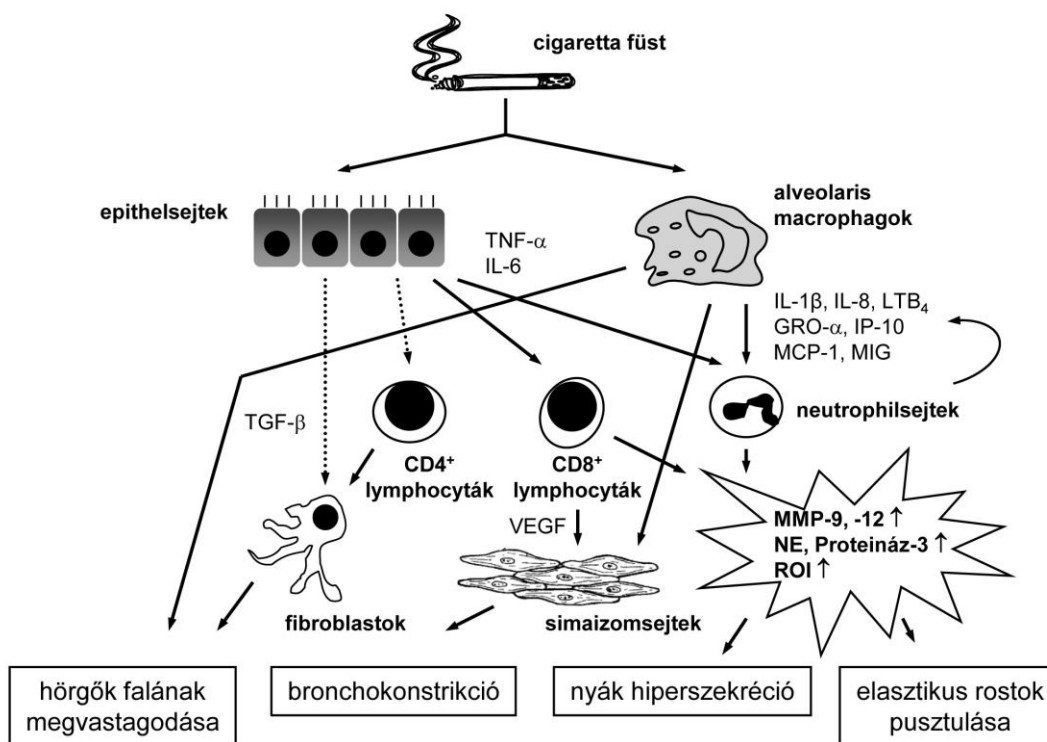
A COPD-t idült légúti gyulladás, nagyrészt irreverzibilis légúti obstrukció, progresszív kórlefolyás és változó mértékű extrapulmonalis tünetek megjelenése jellemzi. A tüdőszövet pusztulása és a következményes légúti obstrukció elsősorban a dohányzás hatására kialakuló kóros gyulladás következménye [1].

A COPD korunk egyik népbetegsége, az epidemiológiai adatok szerint a felnőtt lakosság 5–13%-át érinti [2]. A betegség jelentős mortalitási és morbiditási tényező, jelenleg a 45 évnél idősebbek között a 4. vezető halálok, de az *Egészségügyi Világszervezet (WHO)* becslése szerint 2020-ra a 3. leggyakoribb halálorkká válik a világon [3]. A COPD az egészségügyi kiadások szempontjából is költséges kórkép, elsősorban az akut exacerbációk kórházi kezelése miatt. A hazai adatok szerint a pulmonológiai fekvőbeteg ellátásban a COPD kezelése kb. 21%-ot tesz ki [4].

A COPD-t kísérő krónikus légúti gyulladást a neutrophilsejtek, a macrophagok és a CD8<sup>+</sup> T-lymphocyták nagyszámú jelenléte jellemzi (*1. ábra*) [1,5]. Kisebb számban CD4<sup>+</sup> T-lymphocyták és eosinophilejtek is előfordulnak. A gyulladásos sejtinfiltráció kimutatható a légutakban, a parenchymában és a pulmonalis érrendszerben egyaránt. A gyulladás fenntartásában elsősorban a dohányfüst expozíciónak van meghatározó szerepe. A dohányfüst vagy más toxikus gázok belégzése a bronchialis epithelsejtek károsodását okozza, ami a nem-specifikus (neutrophilsejtek és macrophagok) és az adaptív (T-lymphocyták) immunsejtek aktiválásához vezet [6]. Az adaptív immunválasz aktiválásának típusos jele a bronchialis lymphoid folliculusok megjelenése, illetve a peribronchialis szöveteknek érett B- és T-sejtekkel való kifejezett infiltrációja. A folliculusokból izolált oligoklonális B-lymphocyták proliferációját mikrobiális antigének és epithelialis vagy mesenchymalis degradációs produktumok, valamint a dohányfüst komponensei ellen termelődő auto-antigének okozzák [7].

Az epithelsejtekből és az aktivált gyulladásos sejtekből különböző citokinek, kemokinek, proteázok, vazoaktív anyagok, reaktív oxigén származékok és egyéb szöveti károsodást okozó ágensek szabadulnak fel (*1. ábra*) [5,8]. Ilyenek a neutrophil kemotaktikus

faktorok közé sorolható leukotrién-B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) és az interleukin-8 (IL-8), vagy az alveolaris macrophagokból felszabaduló IL-1 $\beta$ , valamint a tumor nekrozis faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), amelyek mind a szöveti destrukció központi mediátorai. Fontos kemokin a monocyta kemotaktikus protein-1 (MCP-1), az interferon- $\gamma$ -indukálta protein-10 (IP-10), az interferon- $\gamma$ -indukálta monokin (MIG), valamint a növekedést szabályozó onkogén- $\alpha$  (GRO- $\alpha$ ) is, míg a legfontosabb proteázok közé a mátrix metalloproteáz-9 és -12 (MMP-9 és -12) sorolható. A COPD-vel társuló szisztémás gyulladás kialakulásában az IL-6 játszik fontos szerepet. A transzformáló növekedési faktor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) a sejtek proliferációjának szabályozásában vesz részt, és elősegíti a tüdő fibroblastok extracelluláris mátrixtermelését. A vascularis endothelialis növekedési faktor (VEGF) mint angiogén mediátor az érrendszer remodelling folyamataiban érintett a COPD-ben.



1. ábra. A COPD-t kísérő krónikus gyulladás

ROI: reaktív oxigén intermedier, IL: interleukin, MMP: mátrix metalloproteáz, NE: neutrophil elasztáz, LTB<sub>4</sub>: leukotrién-B<sub>4</sub>, MCP-1: monocyta kemotaktikus protein-1, IP-10: interferon- $\gamma$ -indukálta protein-10, MIG: interferon- $\gamma$ -indukálta monokin, GRO- $\alpha$ : növekedést szabályozó onkogén- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ : tumor nekrozis faktor- $\alpha$ , VEGF: vascularis endothelialis növekedési faktor, TGF- $\beta$ : transzformáló növekedési faktor- $\beta$

A légúti gyulladás perzisztálása a betegség progressziójához és a tüdőszövet átalakulásához vezet, ami típusosan négy jellegzetes folyamatból áll [9]: (i) a hörgők falának megvastagodása, (ii) a simaizomsejtek tónusának megnövekedése (bronchokonstrikció), (iii) a

nyák kiválasztás fokozódása (nyák hiperszekréció) és (iv) az elasztikus rostok elpusztulása (1. ábra). Ez utóbbi folyamatnak különösen az emphysemás fenotípus kialakulásában van döntő szerepe, míg a légutak hegesedése főként az obstruktív bronchitisben fordul elő.

E morfológiai változások hátterében két alapvető patomechanizmus, az oxidatív stressz és a szöveti proteáz/anti-proteáz egyensúly megbomlása áll [1,4]. A COPD progressziója során a gyulladással sejtinfiltráció fokozódik mind a légúti nyálkahártyában, mind a bronchusok falában. A fibroblastok aktivációja és proliferációja a kislégutakban kollagén depozícióhoz vezet. Ezzel párhuzamosan a CD8<sup>+</sup> T-sejtekből és a macrophagokból citolitikus fehérjék (perforin) és szerin proteázok (neutrophil elasztáz [NE], proteináz-3) szabadulnak fel, amelyek az epithelsejtek és az alveolaris septumok destrukcióját okozzák [8]. Jóllehet a dohányzás elhagyásával a betegségre jellemző progresszív funkcióvesztés némileg mérsékelhető, azonban a neutrophilsejt dominanciával járó légúti gyulladás továbbra is kimutatható a tüdőben.

A COPD egy rendkívül heterogén kórkép, számos fenotípus jellemzi [10,11]. Heterogenitás mutatkozik a klinikai tünetek intenzitásában, a dohányzással való összefüggésben, a radiomorfológiai jelek megjelenésében, az exacerbációk gyakoriságában és a betegség progressziójában. Heterogenitás látszik továbbá a COPD-t kísérő krónikus légúti gyulladás sejtes összetételében és a mediátorképzés arányaiban is, továbbá különbségek észlelhetők a betegek kortikoszteroidokkal szembeni válaszkészségében is. A COPD fenotípusokra való felosztása valójában nem új koncepció. Már az 1950-es években ismert volt a *pink puffer*, azaz a dominánsan emphysemás, és a *blue bloater*, azaz a dominánsan bronchitises típusok elkülönítése. Ez a megkülönböztetés napjainkra már tankönyvi ismeretnek számít. Az ismertebb fenotípusok: a gyors FEV<sub>1</sub>-vesztő forma, a dominánsan emphysemás vagy bronchitises típus, a gyakran exacerbálódó csoport és a kortikoszteroidra érzékeny típus.

Sok fenotípus esetében azonban vitatott, hogy mennyire tekinthetők valóban önálló entitásnak. Így például, a közelmúltban az *Evaluation of COPD Longitudinally to identify Predictive Surrogate Endpoints* (ECLIPSE) vizsgálatból készült fenotípus-elemzésben Agusti és mtsai. a szisztémás markerek széles spektrumát használva – C-reaktív protein (CRP), fibrinogén, fehérvérsejtszám (WBC), IL-6, IL-8 és TNF- $\alpha$  – egy emelkedett szisztémás gyulladással járó COPD-s alcsoportot különítettek el [12]. A magasabb szisztémás gyulladással járó fenotípusban magasabb össz mortalityást és exacerbációs arányt észleltek. E biomarkereket azonban vérmintákban és nem légúti mintákban határozták meg, így a tüdőbetegekben fennálló társbetegségek befolyásolhatták az eredményeket.

A COPD akut exacerbációja (*fellángolása*) a kórkép meghatározó sajátossága. Az exacerbációk gyakorisága befolyásolja a betegek életminőségét és a kórkép progresszivitását [13]. A COPD akut exacerbációja során a légúti gyulladás súlyosbodása és a légúti áramláskorlátozottság fokozódása figyelhető meg. Az exacerbáció leggyakrabban bakteriális vagy virális fertőzés következménye. Exacerbációt válthat ki a környezetből származó káros anyagok belégzésének fokozódása is. Az esetek kb. 20–25%-ában az exacerbáció oka ismeretlen marad.

Az exacerbáció során a köpet neutrophil- és lymphocytasejtszáma jelentősen megemelkedik, melyet a gyulladásos mediátorok (LTB<sub>4</sub>, myeloperoxidáz-1 [MPO-1], eosinophil kationos protein [ECP], eotaxin, regulated on activation normal T-cell-expressed and -secreted [RANTES], IL-6, CRP) koncentrációjának emelkedése kísér [14]. Az exacerbációk 10–20%-ában a köpetben az eosinophilejtek száma is megnő, ezeket az exacerbációkat általában vírusfertőzések okozzák [15]. Az exacerbációk kortikoszteroidokkal és hörgőtágítókkal való kezelése során a köpet neutrophil- és lymphocytasejtszáma csökken [16,17], miközben a sejtek százalékos aránya általában nem változik a köpetben [16].

Végül megemlíteném, hogy az exacerbációk is különböző fenotípusokra oszthatók. Így például *Bafadhel és mtsai.* a közelmúltban négy különböző exacerbációs fenotípust (virális, bakteriális, eosinophilejt predominanciájú és az ún. *gyulladástól-mentes*) különítették el klaszter-analízissel [18]. Jelenleg e felosztás klinikai relevanciája még bizonytalan, és nem ismert az sem, hogy e fenotípusokat mely biomarkerek milyen prediktív értékkel képesek előre jelezni.

### **3.1.3. Asztma**

A *Global Initiative for Asthma* (GINA) definíciója szerint az asztma a légutak olyan krónikus gyulladásos betegsége, amelyet reverzibilis kilégzési áramláskorlátozottság és bronchialis hiperreaktivitás jellemez, és amelynek kialakulásában számos gyulladásos sejt játszik szerepet [19]. Az allergiás szenzitizáció és az asztma kialakulása genetikai és környezeti hatások függvénye. A genetikai faktorok a citokineképződés zavarát okozva a T-helper 2-es (Th2) lymphocytákhoz kötődő immunválaszok felerősítésével és a T-helper 1-es (Th1) aktivitás gyengítésével hatnak. A környezeti hatások (fertőzések, allergének, légszennyező anyagok és dohányfüst, táplálkozás) a káros immunreakciókat felerősítik, amik együttesen vezetnek az asztma kialakulásához. Hasonlóan a COPD-hez, az asztma is heterogén kórkép, amelyen belül számos fenotípust lehet elkülöníteni.



Az asztma prevalenciája a legtöbb európai országban 5–10% körüli, hazánkban a tüdőgondozó intézetek által nyilvántartott asztmások száma 2011-ben 262 000 fő volt, az éves új megbetegedések száma pedig az utóbbi 5 évben 15 000–20 000 között mozgott [20,21]. A COPD-hez hasonlóan az asztma is népbetegségnek tekinthető. A kórkép mortalitása szintén nem elhanyagolható: az asztma évente világszerte kb. 250 000 ember halálát okozza. Az asztma az egészségügyi kiadások szempontjából is jelentős tétel, a kórkép ellátásának a költsége a betegség súlyosságának és kontrolljának a függvénye, és szorosan összefügg az akut exacerbációk gyakoriságával.

1. táblázat  
A COPD-re és az asztmára jellemző légúti gyulladás összehasonlítása

	Asztma	COPD
<b>Légúti obstrukció</b>	reverzibilis	nagyrészt irreverzibilis
<b>Légúti gyulladás lokalizációja</b>	nagyobb konduktív légutak	kislégutak tüdő parenchyma
<b>Gyulladásos sejtek</b>		
neutrophil granulocyták	+ / ++ <sup>a</sup>	++ / ++++ <sup>a</sup>
eosinophil granulocyták	+ / ++++ <sup>a</sup>	0 / + <sup>a</sup>
hízósejtek	++	0
macrophagok	+	++ / ++++ <sup>a</sup>
CD8 <sup>+</sup> T-sejtek	+	+++
CD4 <sup>+</sup> T-sejtek (Th2)	++ / +++	+
CD4 <sup>+</sup> T-sejtek (Th1)	+	+ / ++
B-sejtek	++ (IgE termelés)	+
dendritikus sejtek	+	bizonytalan jelentőség
<b>Citokinek, enzimek és egyéb mediátorok</b>	IL-4, IL-5, IL-13, hisztamin, adenzin	TNF- $\alpha$ , NE, perforin, proteináz-3
<b>Kemokinek</b>	eotaxin, IL-8 <sup>a</sup>	MCP-1, GRO- $\alpha$ , IL-8 <sup>a</sup>
<b>Lipid mediátorok</b>	cisz-LT (LTC <sub>4</sub> , LTD <sub>4</sub> , LTE <sub>4</sub> ), PGD <sub>2</sub>	LTB <sub>4</sub>
<b>Fibrózis</b>	subepithelialis	peribronchialis
<b>Parenchymadestrukción</b>	0 / +	+++ <sup>b</sup>
<b>Nyák hiperszekréció</b>	++	+++
<b>Oxidatív stressz</b>	+ / ++ <sup>a</sup>	+++ / ++++ <sup>a</sup>
<b>Kortikoszteroid érzékenység</b>	++ / +++	0 / +

0: nincs vagy minimális jelentőség, +/++/+++ / ++++/++++/+++++: relatív jelentőség mértéke, IL: interleukin, MCP-1: monocyta kemotaktikus protein-1, cisz-LT: ciszteinil-leukotrién, LTB<sub>4</sub>: leukotrién-B<sub>4</sub>, PGD<sub>2</sub>: prosztoglandin-D<sub>2</sub>, IgE: immunglobulin-E, TNF- $\alpha$ : tumor nekrozis faktor- $\alpha$ , GRO- $\alpha$ : növekedést szabályozó onkogén- $\alpha$ , NE: neutrophil elasztáz, <sup>a</sup>akut exacerbációban, <sup>b</sup>emphysemában

Az asztmára jellemző légúti gyulladás és áramláskorlátozottság hátterében fokozott bronchokonstrikción, nyálkahártya ödéma, fokozott nyáktermelés, illetve egyes esetekben a légutak strukturális átépülése, a remodelling figyelhető meg [22]. Az asztma és a COPD

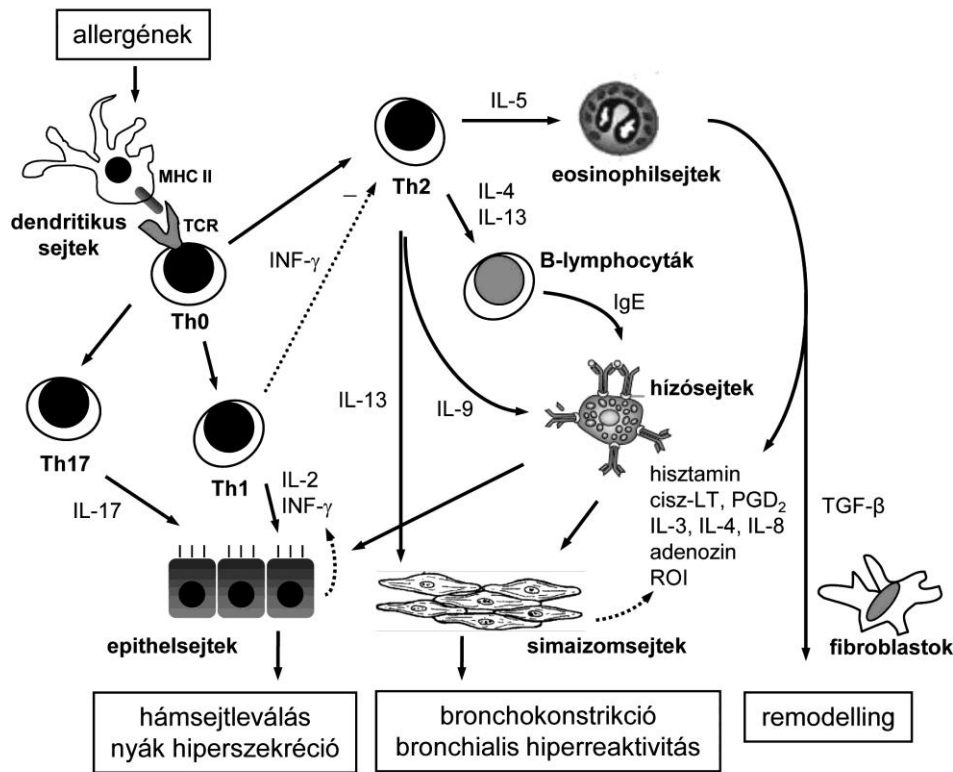
összehasonlítása kapcsán közismert, hogy az asztmában a légúti gyulladás elsősorban a nagyobb légutakban, míg a COPD-ben főleg a perifériás kislégutakban és a tüdő parenchymában jelenik meg (1. táblázat) [23]. Az asztmában a gyulladással sejtek főleg eosinophilsejtek, hízósejtek, illetve a Th2-es lymphocyták, míg a legfontosabb mediátorok közé a hisztamin, a ciszteinil-leukotriének (cisz-LT) és Th2-es citokinek tartoznak. Ezzel ellentétben, a COPD-ben a neutrophilsejtek és a macrophagok dominálnak, és a LTB<sub>4</sub>, a TNF- $\alpha$  és az IL-8 a leggyakrabban kimutatott gyulladással mediátor. A fokozott nyákszekréció mindkét kórképre jellemző, míg parenchymadestrukciónal főleg a COPD-ben kell számolni. Az asztmás légúti gyulladás szteroidokra sokkal érzékenyebb, aminek hátterében a COPD-re jellemző oxidatív stressz áll, ami a szteroidokkal szemben részleges rezisztenciát okoz.

Az asztmás betegekben a regulatorikus T-lymphocyták csökkent száma, és – főleg a súlyos, kevésbé szteroidérzékeny asztma esetén – az IL-17-et termelő T-sejtek (Th17) emelkedett száma mutatható ki [23]. A dendritikus sejtek antigén prezentáló sejtekként működnek: az általuk prezentált antigének a sejt felszíni fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) II molekulákkal komplexet alkotva indukálják a naiv T-lymphocytáknak (Th0) Th2-es vagy Th1-es lymphocytákká való differenciálódását (2. ábra) [24].

A folyamat ezt követően az asztmára jellemző citokin környezet következtében a Th2-es típusú lymphocyták termelésének irányába tolódik el. A Th2-es sejtek specifikus citokin termelésükkel (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13) irányítják az egész Th2 dominanciájú allergiás gyulladással folyamat kialakulását és lezajlását, a Th1-es citokinek (IL-2 és interferon- $\gamma$  [INF- $\gamma$ ]) gátló hatása kevésbé érvényesül. Az IL-4 és IL-5 citokinek a B-sejtek immunglobulin-E (IgE) termelésének induktorai, az IL-5 az eosinophilsejtek aktivációját segíti elő, míg az IL-9 a hízósejtek proliferációját fokozza. Ezen interakciók révén alakul ki a B-sejtek IgE termelése és az asztmára jellemző szöveti eosinophilia. A hízósejtek degranulációját főleg a nagy affinitású IgE-receptorokon keresztül az antigének okozzák. A hízósejtekből és az eosinophilsejtekből felszabaduló pro-inflammatorikus citokinek (IL-3, IL-4, IL-8, TNF- $\alpha$ ), szabadgyök természetű anyagok és egyéb gyulladással mediátorok (hisztamin, cisz-LT, adenozin, prosztaglandin-D<sub>2</sub> [PGD<sub>2</sub>]) végül együttesen hozzák létre az asztmára jellemző gyulladással reakciót és szöveti elváltozásokat (2. ábra).

A légutakban az epithelsejteknek kulcsszerepük van az inhalált ágensek (allergének, vírusok, légszennyezés) hatására kialakuló gyulladással reakció szabályozásában, és számos gyulladással mediátort is termelnek [22]. Hasonlóan, a légúti simaizomsejtek is részt vesznek a gyulladással mediátor-termelésben, a fibroblastok és myofibroblastok pedig kötőszöveti

elemeket és pro-fibrotikus citokineket (TGF- $\beta$ ) szekretálnak, amelyeknek a légúti remodelling kialakulásában van szerepük. Végül elmondható, hogy a légúti áramláskorlátozottság kialakulásában a légúti kolinerg idegvégződések reflexes aktivációjához kötődő hörgögörcs és nyáktermelés is szerepet játszik.



2. ábra. Az asztmát kísérő krónikus gyulladás

Th1: T-helper 1-es sejt, Th2: T-helper 2-es sejt, Th0: naív T-sejt, Th17: interleukin-17-et termelő T-helper sejt, IL: interleukin, cisz-LT: ciszteinil-leukotrién, PGD<sub>2</sub>: prosztoglandin-D<sub>2</sub>, INF- $\gamma$ : interferon- $\gamma$ , TCR: T-sejt receptor, TGF- $\beta$ : transzformáló növekedési faktor- $\beta$ , IgE: immunglobulin-E, ROI: reaktív oxigén intermedier, MHC II: fő hisztokompatibilitási komplex II

Hasonlóan a COPD-hez, az asztma akut exacerbációjára (*asztmás roham*) is a kórkép jellegzetes sajátossága. Az akut asztmát progresszíven fokozódó nehézlégzés, mellkasi feszülés és az egyéb ismert klinikai tünetek súlyosbodása jellemzi. Az asztma romlását számos tényező előidézheti: légúti vírusinfekció, nagy mennyiségű allergén expozíció, fizikai terhelés, gyógyszerek és egyéb légúti irritánsok [22]. Akut asztmában a légúti gyulladás súlyosbodása figyelhető meg, amely mind a gyulladásos sejtek nagyobb számában, mind a sejtek fokozott mediátor-termelésében nyilvánul meg [23]. Az exacerbációk kortikoszteroidokkal és hörgőtágítókkal való kezelése során a légúti obstrukció oldódik, a légúti gyulladás és a hipoxaemia csökken és a betegek panaszai mérséklődnek. A hazai [20] és a nemzetközi [19] ajánlások szerint az asztma fenntartó/megelőző kezelésének célja a kontrollált állapot elérése és hosszú-távú fenntartása, valamint az állapotromláshoz vezető rizikótényezők kerülése.

### 3.1.4. CF

A CF a leggyakoribb autoszomális recesszív módon öröklődő anyagcsere betegség a kaukázusi populációban, melynek háttérében a CF transzmembrán vezetőképesség-szabályozó (CFTR) fehérjét kódoló gén mutációja áll [25]. A mutáció következtében a légúti epithelsejtek apikális membránján keresztül zajló kloridion-transzport zavart szenved, és az exokrin mirigyek váladéka besűrűsödik, víztartalma csökken,  $\text{Na}^+$  és  $\text{Cl}^-$  ion tartalma viszont kórosan megemelkedik. A besűrűsödött váladék elzárja a mirigyek kivezető járatait, és krónikus váladékpangás, majd krónikus gyulladás jön létre.

Genetikai vizsgálatok szerint az esetek 70%-ában az ún. CFTR gén  $\Delta\text{F508}$  mutációja felelős a betegség kialakulásért. A gén a 7-es kromoszóma 7q31-es középső régiójában helyezkedik el. Az esetek 30%-ában egyéb, ritkább mutáns gének okozzák a kórkép kialakulását. Napjainkban a betegség diagnosztizálását minden esetben genetikai vizsgálat is kíséri.

Bár a betegség különböző szervi manifesztációkhoz vezethet, felnőttkorban leggyakrabban légzőszervi károsodások figyelhetők meg [26]. A CF-re jellemző pulmonalis betegségben a légutak neutrophilsejt dominanciával járó súlyos, krónikus gyulladása és bakteriális kolonizációja alakul ki, ami a tüdő szöveteinek fibrocisztikus átépüléséhez és végül légzési elégtelenség megjelenéséhez vezet. CF-ben a CFTR hiánya vagy elégtelen működése miatt csökken a  $\text{Cl}^-$  és a  $\text{HCO}_3^-$  ionok szekréciója, ami mérsékli a víz kiválasztást is. Mindemellett a  $\text{Na}^+$  ionok fokozott reabszorpciója serkenti a lumenből való vízvisszaszívást. E két hatás eredőjeként a légutakat borító folyadékfilm (ASL) réteg dehidráldódik, amely a hámsejtek apikális oldalán lévő csillók mozgásának lelassulásához és a *mucociliaris clearance* károsodásához vezet.

Károsodik a mucociliaris transzportfunkció, és az elzáródott légutak mögött atelectasiás tüdőrészek alakulnak ki. A légúti hám pusztulása, a gyulladás, a peribronchialis fibrosis és a bronchusfal elvékonyodása következtében bronchiectasia jön létre. A neutrophilsejtek mellett a légúti nyálkahártyában és a bronchusok falában nagyszámú macrophagot, T- és B-sejtet, valamint dendritikus sejtet is lehet találni. A légúti gyulladás fenntartásában a neutrophilsejtek és macrophagok által termelt citokineknek (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ), kemokineknek (IL-8, RANTES), oxidatív szabadgyököknek és proteázoknak van a legnagyobb szerepük [26]. A citokinek és kemokinek termelésének fokozódása

leggyakrabban az NF- $\kappa$ B transzkripciós faktor aktivációjának tulajdonítható, melyet bakteriális toxinok és egyéb pro-inflammatorikus citokinek okoznak.

A légutakban a kezdeti stádiumban leggyakrabban *Staphylococcus (S.) aureus* és *Haemophilus (H.) influenzae*, később a *Pseudomonas (P.) aeruginosa* megtelepedése figyelhető meg. További, ritkábban előforduló kórokozók a *Burkholderia (B.) cepacia* vagy a *Stenotrophomonas (S.) maltophilia*.

A CF-es betegekben előforduló baktériumok közül klinikai és prognosztikai szempontból a legkedvezőtlenebb következménye a *P. aeruginosa* légúti megtelepedésének van [27]. A rutin klinikai gyakorlatban a *P. aeruginosa* kimutatása köpet vagy bronchoalveolaris lavage (BAL) bakteriológiai tenyésztése során történik. *P. aeruginosa* megjelenése mindenképpen rosszabb prognózist, a légúti gyulladás súlyosbodását, globális légzési elégtelenség és vég-állapotú tüdőbetegség kialakulását vetíti előre, melynek gyakran egyedüli terápiás megoldása a tüdőtranszplantáció lehet. A *P. aeruginosa* kolonizáció korai felismerése alapvető jelentőségű, és szoros összefüggésben van a későbbi eradikációs kezelési stratégiák (inhalációs és/vagy szisztémás antibiotikum kúrák) hatásosságával. Jelenleg nem áll rendelkezésre olyan non-invazív diagnosztikai módszer, amellyel a légutak bakteriális kolonizációja kimutatható lenne.

### **3.1.5. Tüdőtranszplantált betegek pulmonalis szövődményei**

Közismert, hogy a tüdőtranszplantáció számos pulmonalis szövődmény kialakulásával járhat. Munkánk során kizárólag a légúti infekciók és a BOS szövődményét vizsgáltuk.

#### **3.1.5.1. Légúti infekciók**

A tüdőtranszplantációt követő korai időszakban a legnagyobb arányban az infekciók felelősek a korai és a késői morbiditásért és mortalitásért [28]. A posztoperatív első 30 napon belüli halálozás 21%-a, az első éven belüli halálozás 40%-a infekciós eredetű. Az első hónapban a betegek 35–70%-ánál bakteriális pneumónia alakul ki, amelynek kb. felét *Gram*-negatív pálcák okozzák, dominálón *Pseudomonas*-törzsek [29]. A betegek a műtétet követően antibiotikus profilaxisban részesülnek, amit a donortüdőből kimutatott baktérium törzsek rezisztenciatesztje alapján határoznak meg.

A korai posztoperatív időszakban az invazív gomba- (*Aspergillus* és *Candida*) és *cytomagalovírus* (CMV)-infekciók a 100 napig tartó inhalatív amphotericin és szisztémás valganciklovir profilaxis hatására kevesebb, mint 10–10%-ban lépnek fel. Számuk a profilaxis

befejezése után azonban megemelkedik. A későbbiekben a kialakuló BOS szintén hajlamosít a fertőzésekre, elsősorban vírusfertőzésekre és *Gram*-negatív bakteriális fertőzésekre. Az infekciók sikeres leküzdésének alapja a rutinszerűen, illetve a tünetek fellépte után minél hamarabb elvégzett kontroll laboratóriumi, radiológiai, légzésfunkciós, köpet- és bronchoszkópos vizsgálatok, majd a célzott terápia bevezetése. Az infekciók felismerése azonban nehéz a sokszor atípusos vagy tünetzegény klinikai kép miatt. További nehézséget jelent az infekciók és az akut kilökődések differenciáldiagnosztikája. Egy, a légúti infekciókra specifikus és szenzitív, lehetőleg non-invazív diagnosztikai tesztnek nagy jelentősége lenne a tüdőtranszplantált betegek gondozása és monitorozása során.

### 3.1.5.2. BOS

Napjainkban a transzplantáltak késői elvesztésének leggyakoribb oka a késői allograft diszfunkció, azaz BOS kialakulása [30]. A definíció szerint a bronchiolitis obliterans (BO) a bronchiolusokban megjelenő szövettani elváltozást jelenti, melynek klinikai megfelelője a BOS. A BOS a tüdőtranszplantáltak 50–60%-ában alakul ki öt évvel a tüdőtranszplantáció után, és a harmadik posztoperatív év után a transzplantáltak halálozásának több mint 30%-áért felelős [31]. A kórképre a bronchiolusok falának fibroproliferatív átépülése jellemző, ami végül légúti obstrukcióhoz és progresszív szervkárosodáshoz vezet. A betegek életminősége romlik és egyre gyakoribb kórházi ápolásra szorulnak.

2. táblázat

#### A BOS kialakulásában résztvevő rizikófaktorok

Alloantigén-dependens	Alloantigén-independens
HLA-mismatch	ischaemiás-reperfúziós károsodás
akut kilökődések száma és súlyossága	CMV infekció és pneumonitis
lymphocytas bronchiolitis	egyéb légúti infekciók
anti-HLA antitestek	GERD
	elégtelen beteg compliance

HLA: humán leukocytá antigén, CMV: cytomegalovírus, GERD: gastrooesophagealis reflux betegség

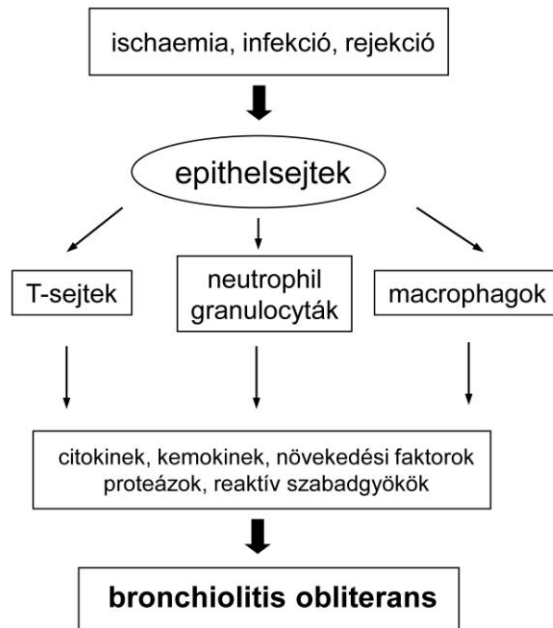
A BOS kialakulásában szerepet játszó rizikótényezőket alloantigen-dependens és alloantigen-independens faktorokra osztják (2. táblázat). A két legfontosabb alloantigen-dependens rizikófaktor az akut kilökődés és humán leukocytá antigén (HLA)-mismatch. Az alloantigen-independens faktorok közé elsősorban az ischaemiás-reperfúziós károsodás, a CMV és egyéb légúti infekciók, valamint a gastrooesophagealis reflux betegség (GERD) tartoznak.

Patológiai szempontból a BO hegesedéssel járó kórkép, ami a porcszövetet már nem tartalmazó bronchiolusokban alakul ki a transzplantált tüdőben [30]. Kialakulásának kezdeti szakaszában lymphocyták infiltrálják a submucosát (lymphocytas bronchiolitis), majd fibroblastok és myofibroblastok vándorolnak be a bronchiolusok lumenébe, ahol egy polipoid formájú granulációs szövetet hoznak létre. A folyamat előrehaladtával a fibrotikus szövet excentrikus vagy koncentrikus módon szűkíteni kezdi a bronchiolusok lumenét. A granulációs szövet növekedésével párhuzamosan a bronchialis epithelium fokozatosan eltűnik, nekrotizál. A folyamat progresszív jellegű, amely végül hónapok vagy évek alatt a teljes bronchialis lumen elzáródásához vezet. A fibroproliferatív lézió kialakulása során megkülönböztetnek egy *aktív* fázist, amikor a folyamatot még kifejezett mononuclearis sejtinfiltráció kíséri, és egy *inaktív* (késői) szakaszt, amikor a gyulladásos sejtek már eltűnnek és a sejtzegény, extracelluláris mátrix proteinekből felépülő hegszövet részlegesen vagy teljesen kitölti a bronchiolusok lumenét.

Napjainkban minden szerv transzplantációjának kidolgozott kísérletes állatmodellje van. A patkány vagy egér trachea heterotop transzplantációja az irodalomban széles körben elfogadott állatkísérleti modell a BOS tanulmányozására. E modell első hazai beállítása munkacsoportunk nevéhez fűződik [32]. Ezen állatkísérletes modellen végzett kutatási eredmények alapján napjainkban a legtöbb szerző a BO patofiziológiájának kezdeti lépését a bronchialis epithelium sérülésében látja. A *response to injury* hipotézis szerint az ischaemiás-reperfúziós károsodás, az infekciók, a rejekciók, a mikroaspiráció egyaránt az epithelsejtek károsodását okozzák. A káros hatás következményeként olyan szöveti regeneráció indul meg, ami a gátló tényezők hiánya és/vagy a pro-fibrotikus tényezők túlsúlya miatt tovább folytatódik, és végül kiterjedt hegszövet képződéséhez vezet. Így a BO-t egy olyan végső, közös kórállapotnak tekinthetjük, amely lényegében független a kiváltó noxától (3. ábra).

A sérült epithelsejtekből pro-inflammatorikus citokinek (IL-2, IL-8, INF- $\gamma$ ) és kemokinek (MCP-1, RANTES) szabadulnak fel, melyek hatására alloreaktív T-sejtek és kisebb mennyiségben neutrophil granulocyták és macrophagok infiltrálják a graft szövetét. Ezek a citokinek és kemokinek nagy mennyiségben kimutathatók a BOS-ban szenvedő betegek BAL folyadékában [33]. Az aktivált neutrophil granulocyták proteázokat, reaktív szabadgyököket termelnek, és az általuk okozott oxidatív stressz jelentős mértékben hozzájárul az epithelsejtek pusztulásához és a légúti gyulladás fenntartásához [34]. A macrophagok ezzel szemben típusosan pro-fibrotikus citokineket (TGF- $\beta$ , vérlemezke eredetű növekedési faktor [PDGF], inzulin-szerű növekedési faktor-1 [IGF-1]) termelnek, melyek a

fibroblastok és a simaizomsejtek proliferációját és mátrixfehérje szintézisét indukálják. E citokinek fokozott intragraft mRNS expresszióját munkacsoportunk is igazolta állatkísérletekben [35,36].



3. ábra. A BOS kialakulásában szerepet játszó mechanizmusok

A BOS diagnózisának felállításához nem szükséges BO-t igazoló szövettani lelet. Különösen a korai időszakban, amikor BO-nak a kiterjedése a bronchiolusokban nagyon eltérő, a TBB szenzitivitása alacsony. Jelenleg, a diagnózis felállítása a légzésfunkciós értékek progresszív csökkenésén alapul [37]. A spirometriai értékek csökkenése azonban nem specifikus tünet, és sokszor csak előrehaladott stádiumban igazolható. Klinikailag nagy jelentőségű lenne egy olyan, lehetőleg non-invazív vizsgálómódszer kidolgozása, amely főleg a korai (pre-klinikai) stádiumban tenné lehetővé a BOS felismerését.

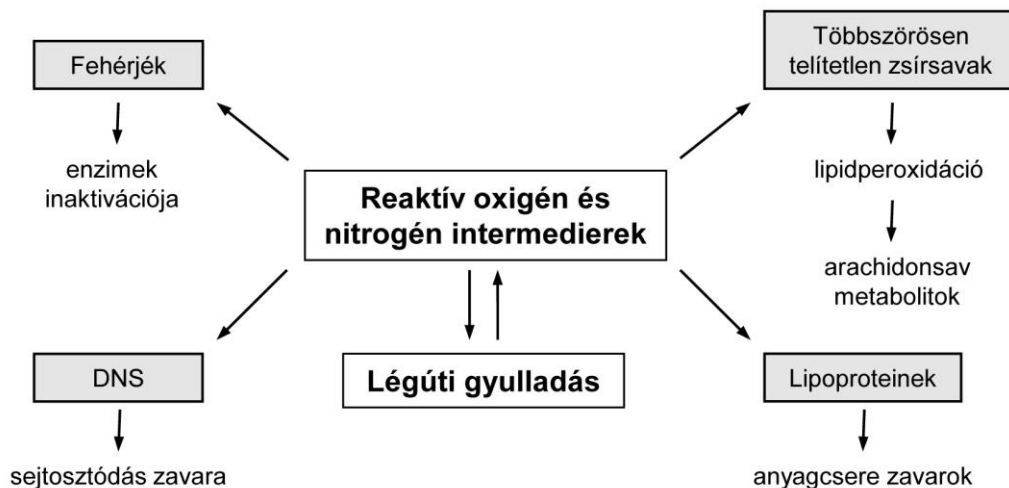
Jelenleg a BOS-nak hatékony gyógykezelése nincsen. Kórképe esetén fokozott immunszuppresszió javasolt, bár a jelenleg rendelkezésre álló immunszuppresszív gyógyszerek csak szerény mértékben és csak a korai fázisban képesek a BOS progresszióját csökkenteni. A túlzott immunszuppresszió a fertőzések kockázatát is növeli. A BOS kialakulása befolyásolható az alloantigén-independens folyamatok gátlásával is, legalábbis experimentális körülmények között. Munkacsoportunk korábbi megfigyelései szerint a renin-angiotenzin rendszer és az endothelin rendszer is részt vesz a BO kialakulásában, és a két rendszer farmakológiai gátlásával a BO progressziója lassítható [38,39]. A tüdőtranszplantáció jelenlegi magyarországi helyzetéről, illetve a bevezetésére tett erőfeszítésekről az aktuális hazai szakirodalomban tájékozódhatunk [40].



### 3.2. Oxidatív stressz kórélettana

#### 3.2.1. Mi az oxidatív stressz?

Az oxidatív stressz molekuláris alapja az, hogy miközben a szénben és hidrogénben gazdag szubsztátokat (táplálékot) a szervezet elégeti, a tüdőben felvett molekuláris oxigén bonyolult biokémiai folyamatok útján vízzé redukálódik, melynek során különböző reaktív oxigén származékok termelődnek. Ezek a szabadgyök természetű anyagok károsítják a fehérjéket, a lipoproteineket, a DNS-t, valamint a sejtmembránok fő alkotóelemeit, a többszörösen telítetlen zsírsavakat (4. ábra) [41,42]. Az interakció során az enzimek inaktíválódnak, a sejtosztódás zavart szenved, a sejtmembrán integritása meg bomlik és gyulladásos folyamatokat indukáló mediátorok szabadulnak fel. A károsodások súlyosságát növeli, hogy a folyamat – megfelelő gátlás hiányában – láncreakciószerűen önmagát erősíti.

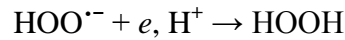


4. ábra. A szervezetben keletkező reaktív oxigén és nitrogén intermedierek káros hatásai

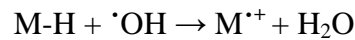
Az említett bonyolult biokémiai folyamat lényege, hogy a molekuláris oxigén ( $O_2$ ) önmagában gyenge oxidáló szer, stabil molekula, mégpedig két oxigén atomjának elektron szerkezetéből fakadó erős kötések ( $\sigma$  és  $\pi$ ) miatt. Fény és/vagy hő hatására azonban a kötésekben résztvevő elektronok átrendeződésével ún. delta ( $\Delta$ ), majd nagy energiájú szigma ( $\Sigma$ ) állapotú szinglet oxigénmolekula keletkezik, amelyből a sejtek egyik legfontosabb alkotója a nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát (NADPH) hatására elektronfelvétellel a jóval reakcióképesebb szuperoxid gyökanion ( $O_2^{\cdot-}$ ) képződik.



A szuperoxid gyökanion további két lépésben elektronfelvétellel és protonnal reagálva a gyenge oxidáló képességű hidrogén-peroxiddá (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) alakul át.



Az intracelluláris folyadék pH-jánál ez a vegyült aránylag stabil, azonban a *Fenton és Haber-Weiss* reakcióban az oxigének közötti  $\sigma$  kötés homolízissel felnyílik, és a molekula a rendkívül reaktív hidroxilgyökké (HO $\cdot$ ) alakul át [43]. Ez az agresszív gyök a szervezetben a szerves molekulákból hidrogénygyököt lehasítva vízzé alakul, miközben a szerves molekulákból (MH) gyökkationt szabadít fel.



A gyökkation stabilizálódása során számos egyéb oxigén tartalmú szabadgyök képződik, mint például a hidroperoxil- (HOO $\cdot$ ), az alkoxi- (RO $\cdot$ ) és az alkilperoxilgyök (ROO $\cdot$ ), összefoglaló néven reaktív oxigén intermedierek (ROI), de további ún. reaktív nitrogén intermedierek (RNI), mint például a nitrogén-monoxid (NO $\cdot$ ), a nitrit (NO<sub>2</sub> $^-$ ), a peroxinitrit (ONOO $^-$ ) és a nitrát (NO<sub>3</sub> $^-$ ) is keletkezhetnek [42,44].

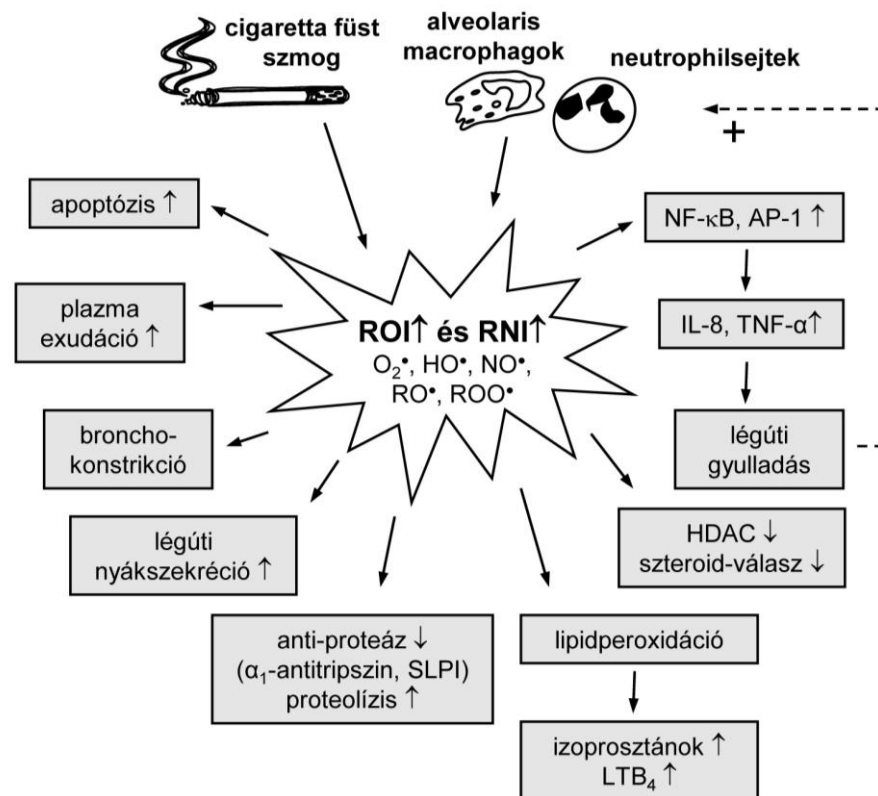
Ezek a szövetkárosító anyagok a szervezetben fiziológiai körülmények között is folyamatosan képződnek (mitokondriális elektron transzport, leukocyták fagocitózisa, stb.) és számos élettani folyamatban (sejtosztódás, apoptózis, stb.) szabályozó szerepet töltenek be. Ugyanakkor viszont a reaktív intermedierek szabályozatlan, gyorsuló keletkezése és az általuk okozott sejtkárosodás a szervezetben az ún. oxidatív stresszhez vezet.

A szervezet antioxidáns molekulákkal, úgymint a C- és E-vitaminnal, a karotinoidokkal, a polifenolokkal, fémkötő vegyületekkel, valamint különböző enzimekkel (szuperoxid dizmutáz [SOD], kataláz [CAT], glutation peroxidáz [GSH], glutation-S-transzferáz [GST]) védekezik a ROI-k és az RNI-k károsító hatásával szemben. Oxidatív stressz során az oxidáns és az antioxidáns anyagok egyensúlya az előzőek javára tolódik el. A ROI-k okozta elváltozások következtében a sejtek membránjában folyó lipidperoxidáció felgyorsul, a sejtmembrán, valamint annak felszínén lévő, a sejtek kommunikációját biztosító *szénhidrát antennák* számottevően károsodnak, a fehérjék és a nukleinsavak másodlagos és harmadlagos szerkezete megváltozik és végül különféle kórképek (szív és érrendszeri károsodás, cukorbetegség, Parkinson- és Alzheimer-kór, stb.) alakulnak ki.

Az oxidatív stressz számos tüdőbetegség patogenezisében is tetten érhető. Mivel kutatómunkánkban részletesen tanulmányoztuk a folyamat COPD-ben való kimutathatóságát, ezért az alábbiakban e kórképben betöltött szerepét ismertetem részletesebben.

### 3.2.2. Oxidatív stressz szerepe a COPD patofiziológiájában

A COPD patomechanizmusának egyik meghatározó eleme az oxidatív stressz, amelynek lényege az oxidáns anyagok légúti felhalmozódása a szervezet antioxidáns kapacitásának kimerülése következtében [1,5,42]. Az oxidáns–antioxidáns egyensúly megbomlása az oxidáns anyagok túlzott termelődése vagy az antioxidáns rendszerek aktivitásának csökkenése miatt egyaránt létrejöhethet. Az oxidatív stressz a légúti gyulladás fenntartásán, különböző vaso- és bronchokonstriktor hatású mediátorok termelésén és a tüdő szöveti struktúráinak közvetlen károsításán keresztül járul hozzá a COPD kialakulásához (5. ábra).



5. ábra. Az oxidatív stressz szerepe a COPD patofiziológiájában

ROI: reaktív oxigén intermedier, RNI: reaktív nitrogén intermedier, HAT: hiszton-acetiltranszferáz, HDAC: hiszton-deacetiláz, IL-8: interleukin-8, TNF- $\alpha$ : tumor nekrozis faktor- $\alpha$ , LTB<sub>4</sub>: leukotrién-B<sub>4</sub>, SLPI: szekretoros leukocytá proteáz inhibitor, NF- $\kappa$ B: nukleáris faktor- $\kappa$ B, AP-1: aktivátor protein-1

A COPD-ben felszabaduló endogén oxidánsok részben a légutakat infiltráló aktivált gyulladásos sejtekből, részben a légúti epithelsejtekből származnak [41,42]. Emellett a belélegzett dohányfüst és más légszennyező gázok is nagy mennyiségben tartalmaznak ROI-kat [45].

A gyulladásos sejtek közül különösen a macrophagok és a neutrophil granulocyták játszanak szerepet a ROI-k és a RNI-k termelésében. A neutrophilsejtekben az MPO enzim a

szuperoxid gyökkanionokból ( $O_2^{\cdot-}$ ) keletkező  $H_2O_2$ -ot – klorid ionok jelenlétében – az erősen oxidáló hatású hipoklórsavvá (HOCl) metabolizálja [46]. A szuperoxid gyökkanionok és a gyökös természetű NO interakciójából peroxinitrit ( $ONOO^-$ ) is képződik, ami szintén kifejezetten sejtkárosító hatású [47].

A reaktív szabadgyökök részben *direkt*, részben *indirekt* hatásokon keresztül okozzák a tüdő szöveteinek pusztulását COPD-ben. Az oxidatív stressz direkt cellularis hatásai rendkívül sokrétűek: fokozzák az apoptózist az endothel- és epithelsejtekben [48], bronchokonstriktiót okoznak a légúti simaizomsejtekben [49], elősegítik a plazma exudációt [50], fokozzák a kolinerg ingerület-indukálta bronchokonstriktiót az acetilkolin-észteráz gátlásán keresztül [51] és növelik a légúti nyáktermelődést [49,52].

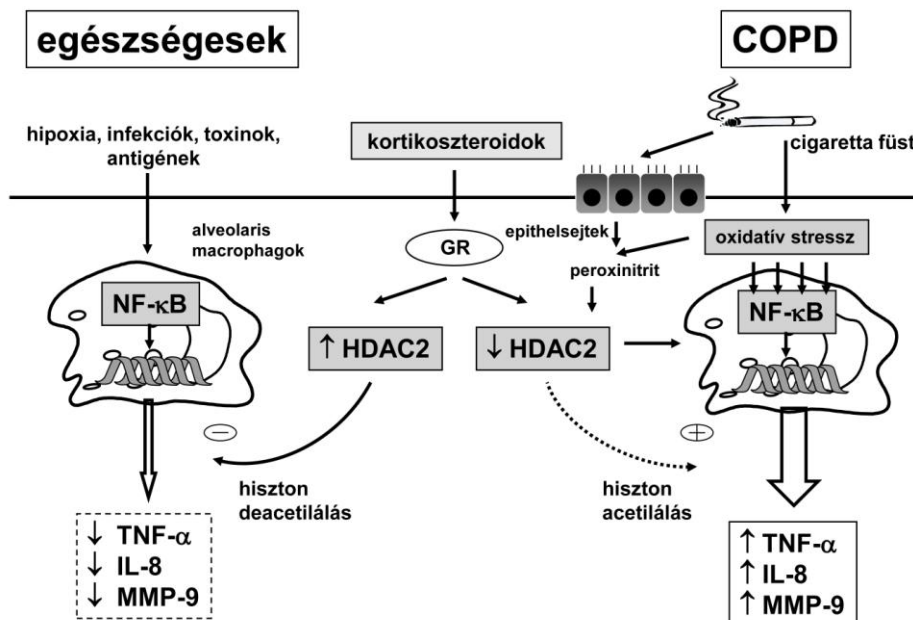
Az indirekt hatások szintén nagyon összetettek, különböző transzkripciós faktorok és gyulladáshoz vezető mediátorok termelését, illetve szignál transzdukciós jelátviteli kaszkádok aktiválását foglalják magukban. A ROI-k által aktivált transzkripciós faktorok közül a nukleáris faktor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) és az aktivátor protein-1 (AP-1) a legismertebbek, amelyek számos gyulladáshoz vezető gén aktivációjáért felelősek [53,54]. A folyamat több, egymást követő redox-szenzitív lépésen keresztül valósul meg. A termelődő citokinek (IL-8, TNF- $\alpha$ ) a COPD-re jellemző, neutrophilsejt dominanciával járó légúti gyulladáshoz vezető mediátorai.

Az oxidánsoknak a mitogén-aktiválta protein (MAP) kináz enzimsalád tagjaira gyakorolt hatásai szintén közismertek, így például a  $H_2O_2$  potens aktivátora a p38 MAP kináznak macrophagokban [55,56]. Az oxidatív stressz indirekt hatásai között említhető még a szöveti antiproteáz – úgymint:  $\alpha_1$ -antitripszin, szekretoros leukocita proteáz inhibitor (SLPI) – rendszerekre gyakorolt gátló hatás, ami a proteáz–antiproteáz egyensúly eltolódásához és a tüdőparenchyma pusztulásához vezet [57].

Az oxidatív stressz további következménye, hogy a hiszton-deacetiláz (HDAC) enzimsalád aktivitása is csökken, ami a glükokortikoidok gyulladáscsökkentő hatásának felfüggesztéséhez és számos pro-inflammatorikus gén expressziójának fokozódásához vezet [58]. Ez utóbbi mechanizmusok állnak – legalábbis részben – a COPD-re jellemző szteroidrezisztencia hátterében. Mint ismeretes, a core hisztonok N-terminális régiójának poszt-transzlációs módosulása (acetilálás, metilálás, foszforiláció, stb.) fontos génregulációs folyamat. A hiszton-acetiltranszferáz (HAT) aktivitású koaktivátorok fokozzák az egyes pro-inflammatorikus gének expresszióját, míg a HDAC hatású korepresszorok csökkentik a pro-inflammatorikus génszakaszokon a kifejeződés mértékét. Egészséges körülmények között a kortikoszteroidok az intracellularis receptoraikhoz kapcsolódva növelik a HDAC2 enzim expresszióját, ami a core hisztonok acetilálásának visszaszorításán keresztül csökkenti a pro-

inflammatorikus citokinek termelődését a sejtekben (6. ábra). A COPD-s betegekben a cigarettafüst hatására – az NF- $\kappa$ B transzkripciós faktor indukcióján keresztül – a proinflammatorikus citokinek expressziója fokozódik. Az oxidatív stressz során – mint már említettem – peroxinitrit (ONOO<sup>-</sup>) is képződik, amely az HDAC2 enzimsaládot inaktiválja, így az egyensúly a hisztonok acetilálása felé tolódik el, és a szteroidok gyulladáscsökkentő hatásukat nem vagy csak korlátozott mértékben képesek kifejteni.

A reaktív szabadgyökök felhalmozódásának további fontos következménye a sejtmembránok felépítésében résztvevő többszörösen telítetlen zsírsavak gyorsuló oxidációja (lipidperoxidáció), ami a sejtmembrán számottevő károsodását okozza (4. ábra). Mint ismeretes, a COPD-re jellemző légúti gyulladás fontos mediátorai a prosztaglandinok (PG-ok) és a leukotriének (LT-ek). Bioszintézisük kiindulási anyaga a foszfolipidek építőköve, az arachidonsav (AA), amely mind enzimek által katalizált, mind pedig ROI-k és RNI-k által kiváltott úton alakul át. Míg az előbbi esetben a PG-ok és LT-ek optikailag tiszta (sztereoegységes) formában keletkeznek, addig a ROI-k és RNI-k által kiváltott átalakulás eltérő biológiai hatást hordozó sztereoizomereket és nagyszámú bomlásterméket (pl. alacsony molekula tömegű alkánok, aldehidek) eredményeznek. Ezek, mint biológiai nyomjelzők utalnak az adott szövetben folyó lipidperoxidáció mértékére. Bioszintézisükkel és a légutakban való kimutatásukkal a disszertációm 3.5.3. és 3.5.7. fejezeteiben foglalkozom részletesebben.



6. ábra. A COPD-re jellemző szteroid-rezisztencia kialakulásának mechanizmusa

HAT: hiszton-acetiltranszferáz, HDAC: hiszton-deacetiláz, IL-8: interleukin-8, TNF- $\alpha$ : tumor nekrozis faktor- $\alpha$ , MMP-9: mátrix metalloproteináz-9, NF- $\kappa$ B: nukleáris faktor- $\kappa$ B, GR: glükokortikoid receptor

### 3.3. Non-invazív vizsgálómódszerek a pulmonológiában

Jóllehet a légúti gyulladás számos tüdőbetegség alapvető jellegzetessége, a klinikai gyakorlatban a légúti gyulladás mértékére, típusára a legjobb esetben is csak indirekt módon lehet következtetni. A rutinszerűen használt spirometriás paraméterek, mégpedig az egy másodperc alatt mért forszírozott expirációs volumen ( $FEV_1$ ) vagy a forszírozott vitálkapacitás (FVC) fontos funkcionális jellemzők, ám a légúti gyulladás megítélésére vagy a különböző fenotípusok elkülönítésére nem alkalmasak. Hasonlóan, a rutin laboratóriumi vizsgálatok sem adnak információt a tüdőben zajló oxidatív stressz mértékéről.

Az utóbbi években több tudományos közleményben a szerzők a tüdőbetegségekben szerepet játszó gyulladáshoz kapcsolódó mediátoroknak biomarker funkciót tulajdonítanak [59,60]. A biomarkereknek számos potenciális klinikai felhasználása lehet, például a diagnózis felállításában, a fenotípusok elkülönítésében, a légúti gyulladás monitorozásában vagy a terápiás válaszkészség (pl. szteroid *responder* és *non-responder*) megítélésében. A biomarkerek egy másik csoportja a tüdőben zajló oxidatív stressz mértékéről ad információt, melynek pontos követésére ugyancsak nincs lehetőség a klinikai gyakorlatban. Mindezeknek a jelentőségét jól tükrözi, hogy az Európai Tüdőgyógyász Társaság (ERS) 2010-ben egy teljes monográfiát jelentett meg a kilégzett biomarkerekkel kapcsolatos kutatási eredményekről [61].

Gyulladáshoz kapcsolódó mediátorok és oxidatív stressz markerek detektálhatók a szérumban, azonban az így kapott adatok nem a tüdőben közvetlenül zajló folyamatokról adnak információt. Közvetlen mintavételi eljárás a BAL vagy a transbronchialis biopszia (TBB), amelyek azonban *invazív* beavatkozások. E vizsgálatoknak jelentős kockázata van, a beteg számára megerőltetőek, súlyos állapotú betegekben nem is végezhetőek, így a gyulladás vizsgálata céljából nem jönnek szóba. Az *invazív* vizsgálómódszereknek klinikai vizsgálatokban való alkalmazása is problematikus, különösen, ha multi-centrikus, nagy betegszámon végzett vizsgálatokról van szó.

Ezzel ellentétben, a kilégzett gázok, az EBC vagy az indukált köpet vizsgálata *non-invazív* technikák, amelyek segítségével a légutakban zajló patológiás folyamatokról közvetlenül nyerhetők információk (egyes szerzők a köpetindukciót *szemi-invazív* vizsgálatnak tekintik). E módszerek előnye, hogy a bronchoscopiához (TBB, BAL) képest sokkal könnyebben kivitelezhetőek és a betegek számára sem jelentenek nagy megterhelést. A mintagyűjtés viszonylag egyszerű, alacsony költségű, gyakran ismételtető és általában nem igényel bonyolult laboratóriumi infrastruktúrát (3. táblázat).

A vizsgálómódszerek hátránya ugyanakkor, hogy a vizsgálni kívánt mediátorok sokszor csak nagyon kis koncentrációban vannak jelen a mintában. Több marker esetében gyenge a reprodukálhatóság és nagy a variabilitás. Sok mérésnél a mintagyűjtés technikája, a mintatárolás és számos egyéb *zavaró* faktor jelentősen befolyásolhatja az eredményeket.

Az EBC gyűjtése azon a jelenségen alapul, hogy a levegő, a tüdőből való kiáramlása során az ASL-ből apró cseppecskéket sodor magával, majd a kilégzett pára egy hideg felszínnel érintkezve lecsapódik és kondenzátumként összegyűjthető. A feltételezések szerint az EBC összetételének változásából az ASL kémiai tulajdonságaira és komponenseire lehet következtetni, és mivel az ASL egyes alkotóelemeinek koncentrációja a tüdőbetegségekre jellemző módon megváltozhat, az EBC komponensei biomarker szerepet játszhatnak a légúti kórállapotok felismerésében vagy monitorozásában.

A mintagyűjtés a vizsgált személy normál légzése mellett történik. A mintagyűjtés időtartama általában 10 perc, amely idő alatt kb. 1–2 ml víztiszta kondenzátum nyerhető. Napjainkban, a kereskedelmi forgalomban számos kondenzátum-gyűjtő berendezés kapható. Vannak nagyméretű, saját hűtőberendezéssel rendelkező készülékek (pl. EcoScreen [Jaeger]), de elérhetők kisméretű, hordozható, saját energiaellátást nem igénylő eszközök is (pl. R-Tube [Respiratory Research]), melyek otthoni vagy akár betegágy melletti kondenzátum gyűjtésre is alkalmasak (7. ábra). Horváth Ildikó professzorasszony vezetésével az ATS/ERS 2005-ben jelentettek meg szakmai ajánlást az EBC gyűjtés módszertani kérdéseiről [62]. A hazai szakirodalomban a metodika részleteit először Horváth és mtsai. ismertették [63].

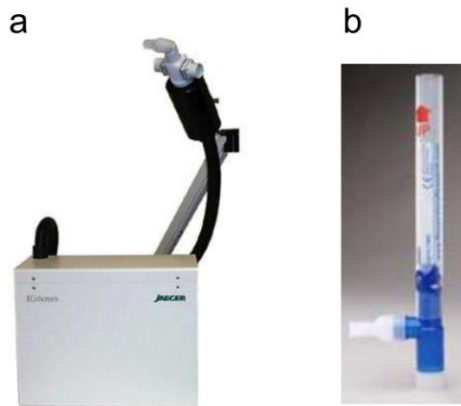
3. táblázat

**A non-invazív vizsgálómódszerek előnyei és hátrányai**

<b>Előnyök</b>	<b>Hátrányok</b>
egyszerű, non-invazív	nagy variabilitás
biztonságos	közepes reprodukálhatóság
alacsony költségű	standardizálás hiánya (mintagyűjtés, analízis)
nem befolyásolja a légutakban zajló patológiai folyamatokat gyakran ismételhető	zavaró tényezők (dohányzás, táplálkozás, nyálkontamináció, stb.)
<i>on-line</i> mérés (FENO, CO)	

A köpet vizsgálata a sejtprofil meghatározására, illetve a felülúszóban található gyulladásoz mediátorok és oxidánsok mérésére terjed ki. A köpet sejtprofiljának meghatározásakor a köpetben lévő sejteket (macrophagok, lymphocyták, neutrophil- és eosinophilsejtek)

százalékos arányban vagy a köpet súlyára/térfogatára vonatkoztatva abszolút értékben adják meg. A köpet felszakadását hipertóniás (0.9–5%) sóoldat ultrahangos porlasztóval történő belégzésével lehet elősegíteni, amit köpetindukciónak hívunk [64]. Az indukció általában 5–10 percig tart. A hipertóniás sóoldat köpetet indukáló hatásának pontos mechanizmusa nem ismert, valószínű, hogy az indukció egyrészt fokozza a víztranszportot a légúti epitheliumon keresztül, másrészt ingerli a köhögési receptorokat, és növeli a mucociliaris clearance-t.



7. ábra. Az EBC gyűjtésére alkalmas eszközök  
 „a” panel: EcoScreen® (Jaeger) és „b” panel: R-Tube® (Respiratory Research)

A sóoldat belégzése után a vizsgált személynek az alsó légúti váladékát egy steril tartályba kell felköhögnie. A mintavétel akkor megfelelő, ha a mintában a szájüregi kontaminációt jelző laphámsejtek aránya 20%-nál kisebb. Indukció segítségével a spontán köpettel nem rendelkező betegek esetében kb. 70–80%-ban lehet megfelelő minőségű köpetmintához jutni [64].

A köpetindukció biztonságos, egyedüli szövődeményeként enyhe hörgőgörcs jelentkezhethet, amelyet a legtöbb protokollban az indukció előtt alkalmazott rövid-hatású inhalatív  $\beta_2$ -agonista (pl. salbutamol) pre-medikációval védenek ki [65]. Jelentősebb FEV<sub>1</sub>-csökkenés (>10%) csak nagyon ritkán fordul elő, leginkább súlyos, nem kontrollált asztmásoknál. Az indukció akár exacerbációban lévő asztmás [66] vagy COPD-s betegeken [67] is elvégezhető. Az ERS 2002-ben jelentetett meg ajánlást a köpetindukció és a mintafeldolgozás módszerére vonatkozóan [68]. A köpetindukciós módszerrel nyert köpetmintában a mediátorok az EBC-hez képest sokkal magasabb koncentrációban vannak jelen, ami előnyt jelent a detektálásukban.

A köpetindukció módszerének klinikai elterjedését több tényező is nehezíti. Az indukció felügyelet mellett végzendő, a köpetfeldolgozás idő- és munkaigényes feladat, ami laboratóriumi háttérrel is szükségessé tesz, végül a köpet sejtes fázisának kiértékelése is csak



gyakorlott orvos vagy asszisztens kezében megbízható. Ezzel együtt, a módszer több nagy, európai pulmonológiai centrumban a rutin klinikai gyakorlatban is elérhető.

Az indukcióhoz képest a spontán köpet gyűjtése technikailag sokkal egyszerűbb, nem különbözik a bakteriológiai célra történő rutin köpetleadástól [69]. Természetesen a köpet feldolgozása és kiértékelése ekkor is feladatot jelent. A spontán köpet vizsgálatával általában hasonló információk nyerhetők a légúti gyulladásra vonatkozóan, mint az indukcióval nyert minták analizálásával [70].

Az asztmához képest a COPD esetében gyakrabban van lehetőség spontán köpet gyűjtésére, különösen a krónikus bronchitises fenotípusba tartozó betegek körében. Spontán köpet gyűjthető exacerbációban lévő COPD-s betegekből is. A kilégzett levegőben, az EBC-ben és a köpetben leggyakrabban vizsgált biomarkereket a 4. táblázatban foglaltam össze.

4. táblázat  
A gyakrabban vizsgált légúti biomarkerek

Kilégzett gázok	EBC / köpet
FENO	pH <sup>#</sup>
CO	citokinek és kemokinek (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , MCP-1, MIP-1 $\alpha$ ) aldehidek (heptanal, nonanal, hexanal, malondilaldehid)
etán	
pentán	mátrix metalloproteinázok (MMP-9, MMP-12) nitrogén oxidok (NO <sub>2</sub> , NO <sub>3</sub> ), nitrotirozin, nitrozotiolok prostaglandinok (PGE <sub>2</sub> , PGD <sub>2</sub> ) 8-izoprosztán leukotriének (LTB <sub>4</sub> , LTC <sub>4</sub> , LTD <sub>4</sub> , LTE <sub>4</sub> )

FENO: fracionált kilégzett nitrogén-monoxid, CO: szén-monoxid, IL: interleukin, TNF- $\alpha$ : tumor nekrozis faktor- $\alpha$ , INF- $\gamma$ : interferon- $\gamma$ , MCP-1: monocyta kemotaktikus protein-1, MIP-1 $\alpha$ : macrophag inhibitoros protein-1 $\alpha$ , NO<sub>2</sub>: nitrit, NO<sub>3</sub>: nitrát, MMP: mátrix metalloproteináz, PG: prosztoglandin, <sup>#</sup>EBC-ben mérhető

### 3.4. Légúti gyulladás biomarkerei

#### 3.4.1. FENO

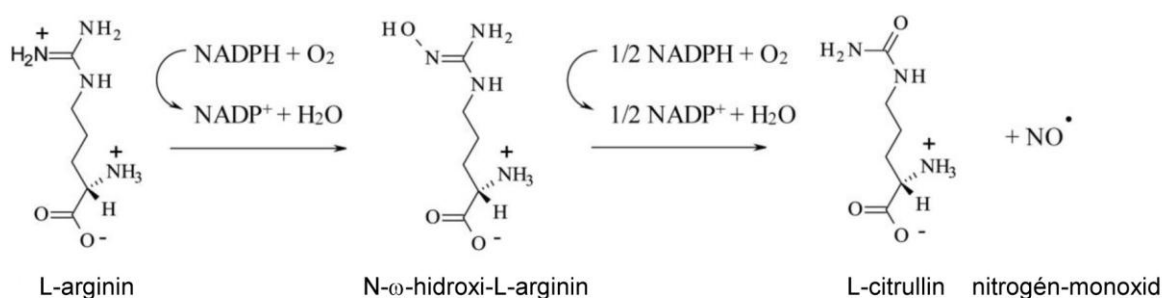
##### 3.4.1.1. Az NO bioszintézise és tulajdonságai

Az NO mint a nitrogén legegyszerűbb oxidja vízben rosszul oldódó, kis molekulású, könnyen diffundáló, színtelen gáz. A 90-es évek elején *Gustafsson és mtsai.* mutatták ki elsőként, hogy a kilégzett emberi levegő is tartalmaz NO-t [71]. Pár évvel később két

független munkacsoport azt állapította meg, hogy a FENO koncentrációja asztmás betegek esetében az egészségesekhez képest megemelkedett [72,73].

Az NO L-argininből képződik a nitrogén-monoxid szintáz (NOS) enzim hatására (8. ábra) [74]. Az enzimnek legalább három különböző izoformája létezik az emberi szervezetben. Az NO<sup>•</sup> rendkívül reakcióképes gyök, féléletideje nagyon rövid (kb. 5 másodperc). A szervezetben a szuperoxid gyökionnal gyorsan reagál, miközben peroxinitrit gyökkanionon (ONOO<sup>•-</sup>) keresztül nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), peroxinitrát gyökkanionon (O<sub>2</sub>NOO<sup>•-</sup>) keresztül pedig nitrát (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) keletkezik. A peroxinitrit gyökkanion erős nitrozáló, a peroxinitrát pedig erős nitráló szer, mivel az előbbi oxigénvesztéssel nitrozil (<sup>+</sup>NO), az utóbbi pedig nitrónium (<sup>+</sup>NO<sub>2</sub>) kationná alakul át.

A nitrozil kation könnyen reagál elektronban gazdag nitrogént tartalmazó bázisokkal – például dopaminnal vagy adrenalinallal – miközben karcinogén nitrozaminok (R<sub>2</sub>N-NO) keletkeznek. A nitrónium kation pedig a fehérjék tirozin egységének p-hidroxi fenilcsoportját módosítja, miáltal megváltoztatja ezek biokémiai szerepét.



8. ábra. A nitrogén-monoxid (NO<sup>•</sup>) bioszintézise a szervezetben

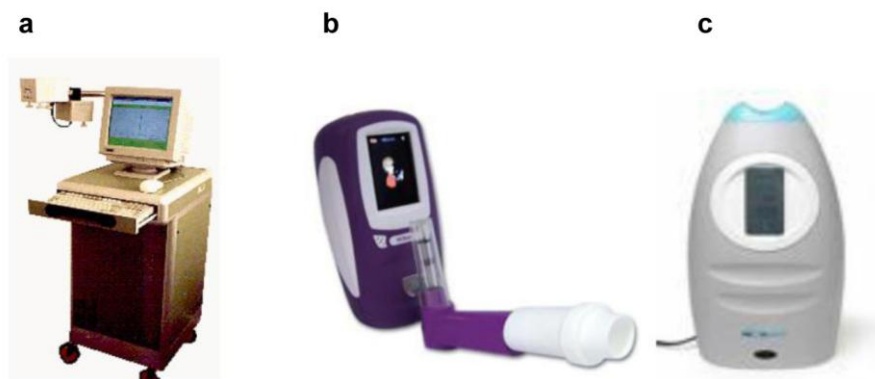
A tüdőben a legtöbb sejt képes NO termelésére, így a vascularis endothelium, az epithelium, a macrophagok, a hízósejtek, a granulocyták, a simaizomsejtek, valamint a fibroblastok [75,76]. Az NO számos élettani funkciót tölt be a tüdőben: növeli az erek permeabilitását, pulmonalis vazodilatációt okoz, a bronchusokat relaxálja, szabályozza a csillók működését, neurotranszmitterként részt vesz a légutak non-adrenerg és non-kolinerg beidegzésében, továbbá mint citotoxikus és bakteriotoxikus anyag szerepe van a tüdő fiziológiás védekező rendszerének működésében.

#### 3.4.1.2. A FENO mérése

A FENO mérése a légzésfunkciós méréshez hasonlóan egy kilégzési manőver során történik. A mérés során a vizsgált személy – a teljes, vagy közel teljes tüdőkapacitását igénybe vevő,

mély kilégzést követően – egy adott ellenállással (8–10 vízcm) szemben, állandó kilégzési áramlási sebességgel (jelenlegi ajánlás: 50 mL/s) fújja ki a levegőt. Az ellenállás biztosítja a kifújás alatt a lágyszájpad záródását, így a felső légutakból származó NO nem keveredik az alsó légutakból származó NO-val. A FENO koncentrációja részecske per milliárd (ppb) mértékegységben mérhető. A mérés ma már standardizált formában történik, az ATS legutóbb 2011-ben jelentetett meg ajánlást a mérési metodikáról [77]. A technikailag megfelelően végzett mérésnek a reprodukálhatósága jó, az egymást követő mérések közötti eltérések az irodalomban [78], de a saját tapasztalataink szerint is 5%-on belül vannak. Az egészséges emberekben a FENO koncentrációja 25 ppb alatt van.

Napjainkban, a kereskedelmi forgalomban számos FENO mérőműszer kapható (9. ábra). A műszerek méretben, árban és működési elvükben is nagyon különbözőek. A mérés *arany standardjának* a kemilumineszcencia elve alapján történő meghatározás számít. A kemilumineszcens mérőműszerek (pl. Logan<sup>®</sup> LR2500, Logan Research Ltd., Rochester, Kent UK) nagyon pontosak, ugyanakkor nagyméretűek, drágák és gyakori kalibrációjuk szükséges, így a rutin klinikai gyakorlatban kevésbé terjedtek el.

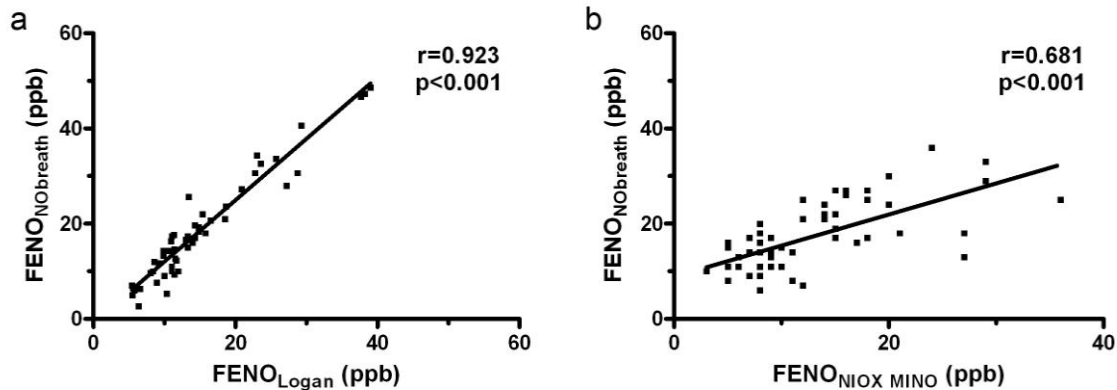


9. ábra. A FENO koncentráció mérésére alkalmas mérőkészülékek

„a” panel: Logan<sup>®</sup> LR2500 (Logan Research), „b” panel: NObreath<sup>®</sup> (Bedfont) és „c” panel: NIOX MINO<sup>®</sup> (Aerocrine)

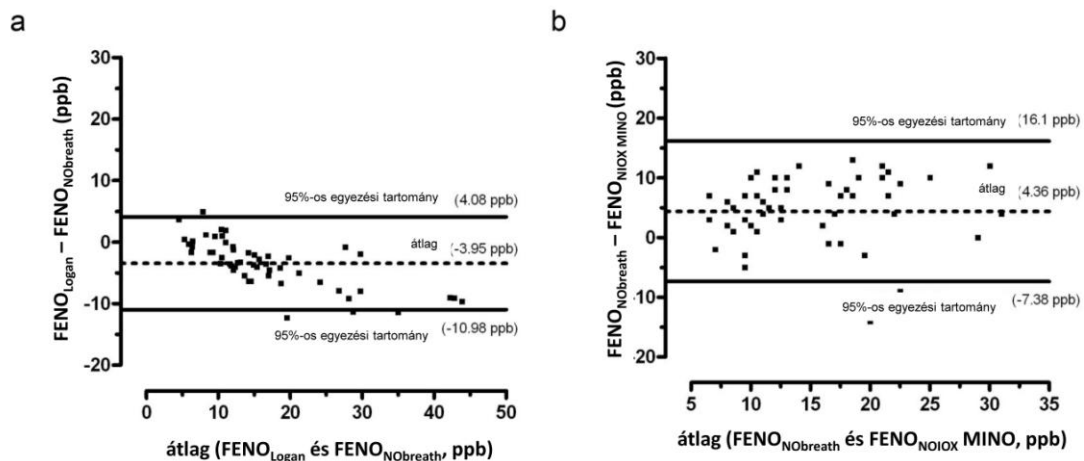
Az újabb fejlesztésű, kisméretű, hordozható készülékekben (NIOX MINO<sup>®</sup> [Aerocrine AB, Solna, Svédország], NObreath<sup>®</sup> [Bedfont Scientific Ltd., Rochester, Kent, UK]) a FENO mérése elektrokémiai szenzorral történik. Ezek a készülékek a klinikai gyakorlatban sokkal könnyebben használhatóak. Az általunk [79] és más kutatócsoportok [80,81] által végzett összehasonlító vizsgálatok alapján elmondható, hogy a hordozható készülékekkel kapott adatok megbízhatóak, jól reprodukálhatóak és jó egyezést mutatnak a korábban már validált, standard kemilumineszcens mérőműszerekkel (10. és 11. ábra). E mérőkészülékek ma már klinikai vizsgálóeszköznek számítanak. A mérést sok európai országban a légzésfunkciós

méréssel párhuzamosan végzik. Hazánkban a mérés csak néhány pulmonológiai centrumban elérhető.



10. ábra. A FENO értékek korrelációja különböző mérőműszerek alkalmazásakor

A NObreath és a Logan („a” panel), valamint a NObreath és a NIOX MINO („b” panel) készülékekkel mért FENO értékek korrelációja egészséges emberekben (n=18) [79]. A mérések három különböző időpontban történtek, a mért értékeket együttesen ábrázoltuk. Az „a” panelen minden pont három mérés átlagának felel meg. A „b” panelen a pontok egy mérést takarnak. ppb: részecske per milliárd



11. ábra. Különböző mérőműszerekkel kapott FENO értékek összehasonlítása

Az egyezés mértéke a NObreath és a Logan („a” panel), valamint a NObreath és a NIOX MINO („b” panel) mérőkészülékek között a Bland–Altman teszt alapján [79]. A mérés során a különböző műszerekkel kapott FENO értékek átlagát ugyanezen értékek különbségéhez viszonyítva ábrázoltuk minden vizsgálati személynél (n=18). Az „a” panelen minden pont három mérés átlagának felel meg, míg a „b” panelen minden pont egy mérést takar. ppb: részecske per milliárd

### 3.4.1.3. FENO és a dohányzás

Klinikai szempontból a FENO-mérés legfontosabb zavaró tényezője a dohányzás, mivel ez csökkenti a FENO értéket [74-76]. A dohányzás hatása elfedheti a gyulladással járó FENO emelkedést. A dohányzás zavaró hatása főleg a COPD-s betegeknél jelent nehézséget, bár az asztmás betegek egy része is dohányzó. A dohányzás hatása részben a dohányfüst magas NO tartalmának az endothelialis NOS-ra (eNOS) gyakorolt gátló

hatásának, részben az NO fokozott metabolizmusának tulajdonítható (3.4.1.1. fejezet), amit a cigarettafüstben nagymennyiségben található különféle oxidáns anyagok indukálnak. Emellett a dohányfüst az NO-termelő sejtekre direkt toxikus hatású is lehet.

#### 3.4.1.4. Asztma

A tüdőbetegségek közül az asztma bronchiale kezelésénél lehet leginkább jelentős a FENO-mérés. Számos kutatócsoport [72,73] – köztük a mi munkacsoportunk [82] is – igazolta, hogy a FENO koncentrációja jelentősen emelkedik asztmás roham alatt, és csökken a kortikoszteroidok hatására (12. ábra). A leukotrién-antagonisták a szteroidokhoz képest gyengébb gyulladáscsökkentők, így csak kismértékben csökkentik a FENO szintet. A rövid- és a hosszú-hatású  $\beta_2$ -mimetikumok nem befolyásolják a FENO koncentrációját. A teofillin származékok enyhe gyulladáscsökkentő hatással bírnak, és úgy tűnik, hogy a FENO szintet ezek sem befolyásolják lényegesen.

Asztmásokban a FENO koncentrációja viszonylag szoros összefüggést mutat a légúti hiperreaktivitás mértékével, a perifériás vér és az indukált köpet eosinophilejtszámával, valamint a szérum ECP koncentrációjával [83,84]. Nincs viszont szoros korreláció a FENO és a rutin légzésfunkciós paraméterek (pl. FEV<sub>1</sub>) között. Így, normális légzésfunkció mellett is mérhetünk emelkedett FENO értéket, ami eosinophilejt dominanciával járó légúti gyulladásra utal.

A FENO szintjének emelkedése leginkább az atópiás asztmás betegekben mutatható ki. A nem atópiás asztmások között gyakran lehet normális FENO szintet mérni [85], aminek okát a nem atópiás asztmások gyakori neutrophilejtes légúti gyulladására vezethetjük vissza. [86]. *Horváth és Barnes* azt is igazolták, hogy panaszmentes atópiás embereknek is magasabb a FENO koncentrációja [87].

Az asztmás légúti gyulladás során észlelt FENO-emelkedés elsősorban az ún. indukálható NOS (iNOS) által képzett NO-nak tulajdonítható. Az iNOS expressziója főleg az eosinophilejtekben és az epithelsejtekben mutatható ki [75,76]. Az iNOS fokozott expressziójáért gyulladással citokinek (IL-1, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), bakteriális toxinok és lipopoliszacharidok felelősek. A szteroidok csökkentik az iNOS termelődését, ami fontos tényezője komplex gyulladáscsökkentő hatásuknak.

Klinikai szempontból a FENO-mérés segíthet az asztma diagnózisának felállításában és az asztma differenciáldiagnózisában, különösen az atípusos tünetekkel, időszakos száraz köhögéssel jelentkező betegekben [83,84]. A FENO-mérés előnyös lehet az asztmás betegek

monitorozása során is. Így például *Green és mtsai.* kimutatták, hogy a FENO alapján történő kezelés mellett az egy éves időtartam alatt jelentkező exacerbációk száma egyharmadára csökkent a hagyományosan kezelt betegekhez képest, miközben az adagolt gyulladáscsökkentők összmennyiségében nem volt különbség a két csoport között. [88]. Más adatok szerint a FENO emelkedése 80–90%-os pozitív prediktív értékkel jelzi az asztmás állapot várható romlását, még a klinikai tünetek megjelenése előtt [89].

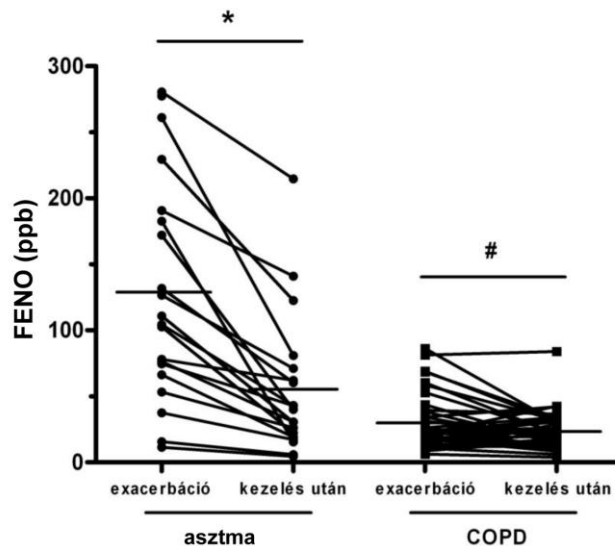
A FENO-mérés legfontosabb célja az eosinophil és nem eosinophil típusú légúti gyulladás elkülönítése [83,84]. Mivel az eosinophilsejt dominanciával járó légúti gyulladás szteroidérzékeny, szemben a nem eosinophil típusú gyulladással, a teszt klinikai felhasználása leginkább a szteroidra érzékeny betegek kiválasztásában lehet. Több, mint egy évtizeddel ezelőtt *Little és mtsai.* azt igazolták, hogy rövid ideig tartó szisztémás szteroid kezelés után észlelhető FEV<sub>1</sub> növekedést a 10 ppb-nél magasabb NO szint 59%-os szenzitivitással és 90%-os specificitással vetíti előre (a FENO mérése ebben a vizsgálatban a korábban használatos metodika szerint történt, az újabb ajánlások szerint ez kb. 23 ppb-nek felelne meg) [90]. A teszt negatív és pozitív prediktív értéke 72 és 83% volt. Egy másik, asztmásokon végzett vizsgálat eredménye szerint a 47 ppb feletti FENO szint a rövid ideig tartó inhalációs kortikoszteroid (ICS) kúra után észlelhető FEV<sub>1</sub> növekedést 67%-os szenzitivitással és 78%-os specificitással jósolja meg [91]. A vizsgálatban a teszt pozitív és negatív prediktív értéke 47 és 89% volt. A FENO jó prediktív értékű biomarkernek bizonyult enyhe vagy mérsékelt súlyos perzisztáló asztmás gyerekekben is az ICS kúrára kapott terápiás válasz megítélésében [92].

A FENO-mérés a beteg *compliance* megítélésének is eszköze lehet, mivel a magas FENO érték az ICS önkényes elhagyását vagy az inhalátor nem megfelelő használatát jelzi a kezelőorvos számára [93]. Mindezen megfontolások ellenére a GINA jelenlegi ajánlása – a megfelelő prospektív vizsgálatok hiányára hivatkozva – továbbra is csak kiegészítő vizsgálatként javasolja alkalmazását az asztmás betegekben [19].

#### 3.4.1.5. COPD

A FENO-mérés klinikai felhasználhatósága a COPD-ben sokkal kevésbé ismert, mint az asztmában. A stabil COPD-s betegek FENO szintje hasonló [94,95] vagy csak kismértékben emelkedett [96,97] az egészségesekéhez képest. Az emelkedés mértéke mindenképpen jóval kisebb, mint asztmásokban. A vártnál alacsonyabb FENO szint elsősorban a dohányzás hatásának következménye.

Számos vizsgálatban végeztek korrelációs számításokat a FENO szint és a betegek aktuális FEV<sub>1</sub> értéke között, annak eldöntésére, hogy van-e kapcsolat a COPD súlyossága (stádiumbeosztása) és a FENO között. A vizsgálatok egy részében korrelációt nem találtak [98,99], még másokban pozitív [97,100] vagy negatív [96,101] összefüggést is igazoltak. Az eredmények ellentmondásossága miatt a FENO-mérés a COPD súlyosságának megítélésére nem alkalmas.



12. ábra. A FENO szintjének változása asztma és COPD exacerbációban

A FENO szintje akut exacerbáció miatt hospitalizált asztmás (n=20) és COPD-s (n=38) betegek kórházi felvételekor, majd a kezelés után a betegek távozásakor [82]. A vízszintes vonal az átlagértéket jelzi. ppb: részecske per milliárd, \*p<0.001 és #p<0.05 exacerbáció vs. kezelés után

Több kutatócsoport ugyanakkor szignifikáns korrelációt talált a COPD-s betegek alapvonalis FENO szintje és rövid ideig tartó kortikoszteroid kúra után észlelhető FEV<sub>1</sub>-növekedés mértéke között [102,103]. Azokban a betegekben volt észlelhető nagyobb FEV<sub>1</sub>-növekedés a kortikoszteroid kezelés után, akiknek a köpetében több eosinophilejt volt.

Úgy tűnik, hogy a FENO szint és a  $\beta_2$ -receptor agonistákra kapott válasz között is kapcsolat van COPD-s betegekben. *Papi és mtsai.* kimutatták, hogy a rövid-hatású  $\beta_2$ -receptor agonistákra részleges funkcionális reverzibilitást mutató COPD-s betegekben mind a köpet eosinophilejtszám, mind a FENO szint magasabb a reverzibilitást nem mutató betegekéhez képest [104]. Mivel a légúti obstrukció reverzibilitása közismerten az asztmára jellemző tulajdonság, így az eosinophilia és az emelkedett FENO szint egyidejű kimutatása e betegekben nem meglepő.

Két másik, közelmúltban végzett vizsgálatban FENO határértéket (*cut point*) is sikerült meghatározni a rövid ideig tartó inhalációs [105] vagy *per os* [106] szteroid kezelés

hatására észlelt FEV<sub>1</sub>-növekedés szempontjából. Jóllehet a magas NO szint (>50 ppb) csak korlátozott mértékben utalt a kedvező szteroid válaszra (pozitív prediktív érték: 67%), az alacsony NO szintnek (<25 ppb) magas negatív prediktív értéke (87%) volt, amely a szteroid válasz hiányát vetítette előre nagy biztonsággal [106]. Bár a szteroid kezelés után észlelt FEV<sub>1</sub>-növekedés abszolút értéke nem volt nagy, a kezeléssel párhuzamosan a 6-perces járástávolság is nőtt, és kissé javult a betegek életminősége is. *Smith és mtsai*-nak megfigyelései szerint az obstruktív tüdőbetegségekben a szteroid válasz megjósolásában a FENO mérése sikeresen alkalmazható a pontos diagnosztikai besorolástól függetlenül (asztma vagy COPD) [91].

Összességében, – amint ezt munkacsoportunk a hazai szakirodalomban [107,108] is részletesen bemutatta – e vizsgálatok szerint a FENO-mérés a jövőben alkalmas lehet a COPD-s betegek fenotipizálásában és szteroidérzékenységének megállapításában. Meg kell ugyanakkor jegyezni, hogy e vizsgálatokban a FENO prediktív értékét csak a FEV<sub>1</sub> növekedés szempontjából értékelték, és a FENO-nak az egyéb ismert betegségműtatókkal (exacerbációk gyakorisága, hospitalizációk száma, életminőség, stb.) való kapcsolatát nem elemezték. Nem ismert például, hogy FENO-mérés alkalmas-e a gyakran exacerbáló COPD-s betegek elkülönítésére; vagy hogy változik-e a magasabb FENO értékkel rendelkező betegekben a funkcionális romlás üteme. COPD akut exacerbációban a FENO szint emelkedik a stabil állapothoz képest [99,101,109]. Az emelkedés mértéke azonban jelentősen elmarad az asztma exacerbációban mért emelkedés mértékétől [82]. Az exacerbáció kezelésének FENO szintre gyakorolt hatása ellentmondásos, egyes vizsgálatokban a FENO csökkenését igazolták [99], míg más munkákban változást nem tapasztaltak [109].

Az exacerbáció során észlelt FENO-emelkedés klinikai relevanciája saját vizsgálataink elvégzéséig nem volt ismert. Ismeretlen volt, hogy van-e összefüggés a FENO szint és a kezelés során elért FEV<sub>1</sub>-növekedés között; valamint, hogy az exacerbáció idején mért FENO értékből a betegek funkcionális válaszkészsége megjósolható-e. Bizonytalan volt a magas FENO szint oka is, és nem volt adat arra sem, hogy a fenti összefüggéseket a dohányzás befolyásolja-e vagy sem.

#### 3.4.1.6. Légúti infekciók

A légúti vírusinfekciók a FENO szint emelkedését okozzák [110], és valószínű, hogy ez hozzájárul mind az asztmásokban, mind a COPD-s betegekben az akut exacerbáció során észlelt FENO-emelkedéshez, mivel ezeket gyakran vírusinfekciók váltják ki.



#### 3.4.1.7. CF

CF-ben a légutakban kifejezett neutrophilsejtes gyulladás alakul ki, és számos, az iNOS szintézisét indukáló gyulladáscitokin (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) fokozott mértékben expresszálódik. A CF-es betegek FENO szintje ugyanakkor normális vagy még alacsonyabb, mint az egészségeseké [111,112]. Korábbi munkáink során igazoltuk, hogy akut exacerbációban a FENO szint ugyan emelkedik, de csak szerény mértékben és inkább csak az egészségesekre jellemző értéket éri el [113].

Az alacsony FENO koncentrációnak több oka is lehet. Elképzelhető, hogy a gyulladás során termelődő NO lokálisan gyorsan metabolizálódik (3.4.1.1. pont) [111,114]. Egy másik magyarázat szerint a CF-re jellemző sűrű váladék akadályozza az NO diffúzióját a légutak lumenébe [74]. Végül, alacsonyabb FENO szinthez vezethet a bronchialis epitheliumnak a CF-ben tapasztalt csökkent iNOS expressziója is [115].

Összességében – a számos korlátozó tényező miatt – a CF-es betegcsoportban a FENO-mérés klinikai relevanciája nem jelentős [116].

#### 3.4.1.8. Primer ciliaris diszkinézia

A primer ciliaris diszkinézia ritka, autoszomális, recesszíven öröklődő betegség, melynek oka a csillók ultrastrukturális károsodása, melynek következtében mozgásuk inkoordinálttá válik. Valamennyi szervrendszer érintett lehet, ahol csillószőrök előfordulnak (orr, légutak, petevezeték). Az atípusos tünetek miatt (köhögés, purulens köpetürítés, sinusitis, otitis media) a betegség a legtöbb esetben nem kerül felismerésre.

*Horváth és mtsai.* igazolták, hogy e betegcsoportban mind a FENO, mind a nasalis NO koncentrációja nagyon alacsony [117]. Mivel hasonlóan alacsony értékek más betegségekben nem fordulnak elő, ezért a mérés, mint egyszerű szűrővizsgálat önmagában is elegendő lehet a diagnózis felállításához megfelelő kórtörténet és klinikai tünetek mellett.

#### 3.4.1.9. Tüdőtranszplantáció

Mivel a tüdőtranszplantált betegeknél a pulmonalis szövődmények felismerése sokszor nehéz, az utóbbi években nagy érdeklődés kísérte a FENO-mérés alkalmazhatóságát e szövődmények diagnosztikájában.

Néhány korai, keresztmetszeti vizsgálatban azt mutatták ki, hogy a BOS-ban szenvedő betegeknél a FENO szint magasabb a BOS-mentes, egészséges transzplantált betegekhez képest [118,119]. Ezt az összefüggést egy- és kétoldali tüdőátültetettekben is igazolták [120]. Később, követéses vizsgálatokban *Verleden és mtsai.* megállapították, hogy a FENO szint

emelkedése 6–8 hónappal előzi meg a légzésfunkció (FEV<sub>1</sub>) beszűkülését, aminek alapján a BOS diagnózisa felállítható [121]. Utóbb, ezeket a megfigyeléseket úgy pontosították, hogy számottevő FENO szint emelkedés csak az ún. funkcionálisan *instabil* BOS esetében mutatható ki, és a *stabil*, azaz légzésfunkciós romlást aktuálisan nem mutató BOS-ban szenvedő betegekben a FENO szint normális [122,123]. A BOS diagnosztika szempontjából a vizsgálómódszer specificitását és szenzitivitást *Neurohr és mtsai.* nagyon magasnak (94 és 82%) [122], míg mások ennél jóval alacsonyabbnak (67 és 56%) találták [124].

A BOS-sal kapcsolatos eltérő megfigyelések háttérében leginkább az állhat, hogy a vizsgálatokban nem kellően hosszú követési időt vettek alapul, és a betegek FENO adatait sem a saját alapvonalai adataikhoz hasonlították. Egyes vizsgálatokban az alacsony betegszám is korlátozó tényező lehet. Így, jelenleg bizonytalan, hogy a FENO-mérés milyen hatékonysággal használható fel a BOS diagnosztikájában transzplantált betegekben.

A fenti adatokkal ellentétben más kutatócsoportok kizárólag az akut kilökődés során detektáltak magasabb FENO koncentrációt tüdőátültetett betegekben [125]. Néhány munkacsoport megfigyelései szerint a FENO szint megemelkedhet pulmonalis infekciók során is [118,119]. E vizsgálatokban azonban a bakteriális és a virális infekciókat együttesen kezelték, és a felső és az alsó légúti infekciókat sem különítették el egymástól. A vizsgálatok nem tisztázták az infekciók kezelésének a FENO szintre gyakorolt hatását sem.

### **3.4.2. Köpet eosinophilia**

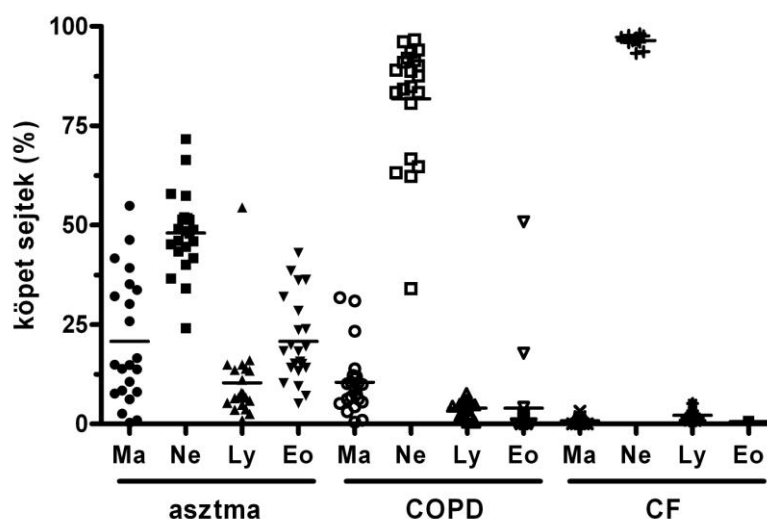
#### *3.4.2.1. Asztma*

Az asztma típusosan köpet eosinophiliával járó kórkép [126]. A megfigyelések szerint a szteroid-naív asztmások közel 80%-ának, míg a szteroiddal kezelt szimptomás betegek kb. 50%-ának a köpetében nagyobb az eosinophilejtek aránya az egészséges populációhoz képest [127]. Az arány széles tartományban mozoghat (0–50%) és egyben jelentősen befolyásolja a többi sejt százalékos előfordulási gyakoriságát is (*13. ábra*).

Asztmában a legtöbb szerző a köpet eosinophiliát a légúti eosinophilia biomarkerének tekinti, mivel a köpet, a BAL és a TBB minták eosinophilejtszáma szoros korrelációt mutat egymással [128]. A köpet eosinophiliának a légzésfunkciós paraméterekkel, illetve a légúti hiperreaktivitás mértékével való összefüggése általában nem konzekvens.

A klinikai tanulmányok eredményei alapján a köpet eosinophilejtszámának meghatározása diagnosztikai és monitorozási célból egyaránt történhet. A diagnózis felállítása szempontjából a köpet eosinophiliát a legtöbb szerző magas diagnosztikai értékűnek tartja.

Így például *Hunter és mtsai.* a teszt szenzitivitását 80%-osnak, míg specificitását 95%-osnak találták 1%-os köpet eosinophilsejt arányt határértékül véve (a vizsgálatban az asztma diagnózisát úgy definiálták, hogy a kórjelző anamnézis mellett legalább egy kritérium teljesült a következők közül: (i) 20%-ot meghaladó FEV<sub>1</sub>-csökkenés a metakolin provokációs tesztben; (ii) pozitív reverzibilitási próba inhalációs  $\beta_2$ -agonista alkalmazásával, vagy (iii) kóros variabilitás igazolása a légúti csúcsáramlás monitorozása során) [129].



13. ábra. Az indukált köpet sejtes fázisa különböző tüdőbetegségekben

A köpetminták stabil állapotú asztmás (n=22, GINA IV-V. stádium), COPD-s (n=21, GOLD II-IV. stádium) és CF-es (n=14) betegekből származnak [126]. A vízszintes vonal az átlagértéket jelzi. Ma: macrophag, Ne: neutrophil leukocyta, Ly: lymphocyta, Eo: eosinophil leukocyta

Jóllehet a köpet eosinophilia típusos lelet asztmában, éppen a köpetvizsgálatok rutinszerű alkalmazása során derült ki, hogy a szteroid-naív betegek 25–50%, míg az inhalációs szteroidokkal kezeltéknek kb. 50%-a valójában nem mutat köpet eosinophiliát [127,130]. A nem eosinophil (neutrophil) asztmás fenotípus klinikai jelentőségét az adja, hogy e betegeknek a szteroidérzékenysége jóval kisebb a köpet eosinophiliával rendelkező betegekhez képest [128,131].

A köpet eosinophilia prediktív értéke a szteroidválasz szempontjából objektív formában meg is határozható. Egy évtizeddel ezelőtt *Little és mtsai.* asztmás betegeket vizsgálva azt mutatták ki, hogy a rövid-ideig (2 hét) tartó szisztémás szteroid kezelés után a 15%-ot meghaladó FEV<sub>1</sub>-növekedést a köpet eosinophilia (>4%) 54%-os szenzitivitással és 76%-os specificitással vetíti előre [90]. A teszt negatív és pozitív prediktív értéke 68 és 64% volt.

A szteroidérzékenység kimutatására végzett rövid-távú vizsgálatok mellett néhány hosszú-távú vizsgálat is alátámasztja a köpet eosinophilia meghatározásának klinikai hasznát.

E tanulmányokból egyrészt az látszik, hogy a köpet eosinophilia már néhány héttel az akut exacerbáció előtt megjelenik, és mintegy előre jelzi a közelgő állapotromlást [132]. Angol szerzők igazolták továbbá, hogy a köpet eosinophilsejtszámát is figyelembe vevő és azt alacsony szinten tartó, ún. köpet-alapú kezelési stratégia 12 hónappal a bevezetése után az asztma exacerbációk számát csökkenti (35 vs. 109 exacerbáció) a klasszikus (Brit Tüdőgyógyász Társaság [BTS] által javasolt) kezelési protokollhoz képest [130]. Fontos hangsúlyozni, hogy a köpet-alapú kezelési csoportban a szteroidkészítmények összdózisa nem volt nagyobb a BTS-alapú kezelési csoporthoz képest.

Jelenleg vita folyik arról, hogy e kezelési stratégia mely asztma fenotípusok esetében a legcélravezetőbb. Úgy tűnik, hogy az asztmások egy része jól követhető és gondozható a hagyományos (pl. BTS vagy GINA) kezelési protokollok alapján, míg a másik része a gyulladás-monitorozáson alapuló (*inflammometria*) gondozási stratégiával jár jobban.

#### 3.4.2.2. COPD

A köpet vizsgálata a COPD-ben is értékes információt nyújt a légúti gyulladás típusáról és a háttérben zajló komplex gyulladásos folyamatok patofiziológiájáról. COPD-ben típusosan mind a köpet teljes sejtszáma, mind a neutrophilsejtek aránya megemelkedik. Az irodalmi [133,134] és a saját [135,136] adataink szerint a stabil állapotú COPD-s betegeknél az indukált köpet sejtes összetételének 70–90%-át neutrophilsejtek teszik ki, míg a macrophagok 10–20%-ban, a lymphocyták pedig 1–3%-ban fordulnak elő. A lymphocyták között a CD8<sup>+</sup> T-sejtek aránya magas. Típusos esetben az eosinophilsejtek nem vagy csak nagyon alacsony százalékban (<1%) fordulnak elő (13. ábra)

Számos tanulmányban igazolták, hogy a köpet neutrophilsejtszáma a betegek FEV<sub>1</sub> értékével fordítottan, míg a FEV<sub>1</sub>-csökkenés mértékével egyenesen arányos, ami jól tükrözi a neutrophilsejtek központi patofiziológiai szerepét COPD-ben [131]. Hasonlóan az asztmához, a köpet sejtprofiljának vizsgálata a COPD-vel kapcsolatos klinikai tanulmányokban is gyakori vizsgálati végpont. Az inhalációs és szisztémás kortikoszteroidok stabil betegeknél általában nem befolyásolják a köpet neutrophilsejtszámát, míg például az orális teofillin készítmények kismértékben csökkentik azt [59].

A stabil COPD-s betegek egy alcsoportjában az eosinophilsejtek aránya a köpetben emelkedett. A köpet eosinophilia definíciója nem teljesen egységes, a legtöbb szerző 2–3%-os eosinophilsejtszámot tekint határértéknek, e feletti értékek számítanak köpet eosinophiliának [131].

Az utóbbi években több vizsgálat is igazolta, hogy a köpet eosinophiliával (>3%) rendelkező stabil COPD-s betegekben nagyobb FEV<sub>1</sub>-növekedés észlelhető a rövid ideig tartó szisztémás [134,137,138] vagy inhalációs [133] kortikoszteroid kezelés után, mint a köpet eosinophiliával nem rendelkező betegekben. A szteroid kezelés hatására az eosinophilszámuk száma általában csökkent, míg a neutrophilszámuk száma nem változott [137,138].

Más vizsgálatokban azt is kimutatták, hogy a rövid-hatású  $\beta_2$ -receptor agonistákra részleges funkcionális reverzibilitást mutató COPD-s betegek köpetében az eosinophilszám emelkedett a reverzibilitást nem mutató betegekéhez képest [104]. Így – hasonlóan az asztmához – a köpet eosinophilia a COPD-ben is a nagyobb szteroidérzékenységére utal. Jelenleg intenzív kutatás tárgya, hogy a köpet eosinophilia kimutatásával milyen biztonsággal lehet a kortikoszteroidokkal szembeni hosszú-távú érzékenységre következtetni.

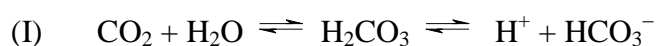
Az indukált köpet vizsgálata a COPD kezelési stratégiájában is beépíthető, bár ennek klinikai hasznára ma még sokkal kevesebb a bizonyíték, mint asztmában. Egyetlen angol munkacsoport közölte csupán, hogy a köpet eosinophilszámát tartósan 3% alatt tartó COPD-kezelési protokoll 12 hónapos követési időszak után a súlyos, hospitalizációt igénylő exacerbációk számát 62%-kal szorítja vissza a standard BTS irányelvekre alapozott kezelési stratégiához képest [139]. Itt is fontos hangsúlyozni, hogy a kedvező változás oka nem a kortikoszteroidok összdózisának emelkedése volt a köpet sejtprofilját is figyelembevevő kezelési csoportban. A tanulmány szerint az enyhébb, kórházi felvételt nem igénylő exacerbációk gyakoriságában nem volt különbség a BTS irányelvekre épülő és a köpet-alapú kezelési csoportok között.

### **3.4.3. EBC pH-ja**

Napjainkban az EBC egyik legtöbbet vizsgált kémiai jellemzője a kémhatása, azaz a pH-ja. A feltételezések szerint a légutak savasodása a légúti gyulladás egyik kísérője, amelynek figyelembevétele klinikai és kóreltani megfontolások mellett az inhalációs gyógyszerek tüdőből való felszívódása szempontjából is lényeges lehet. A savasodásnak közvetlen patofiziológiai következményei is lehetnek, mint például a fokozott bronchokonstrikció [140], a csökkent ciliaris működés [141], a légúti epithelium károsodása [142] vagy a légúti nyák viszkozitásának növekedése [143]. A pH-mérés előnye, hogy nagyon pontosan mérhető, nincs szükség bonyolult analitikai technika beállítására és – hasonlóan a FENO-méréshez –

azonnali eredményt ad. További szempont, hogy a szervezetünkre jellemző pH-nál nem merül fel a detektációs limithez közeli mérések interpretálásának problémája.

A kondenzátum kémhatását számos összetevője befolyásolja, mindenekelőtt az EBC-ben található különböző illékony (szén-dioxid [CO<sub>2</sub>] és ammónia [NH<sub>3</sub>]) és nem illékony (ionok, szerves savak, aminosavak, stb.) anyagok. Mivel az EBC puffer kapacitása nagyon alacsony, ezen anyagok koncentrációjának kisfokú változása a pH jelentős változását okozhatja. Közismert, hogy a CO<sub>2</sub> vizes közegben túlnyomórészt szénsavként (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) van jelen, melyre az alábbi folyamatok jellemzők (reakció I), azaz a rendszerben protonok (H<sup>+</sup>) és (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) anionok is jelen vannak:



Mivel a CO<sub>2</sub> mellett az EBC jelentős mennyiségben tartalmaz ammóniát is, további átalakulás lehetséges, ami a pH szempontjából szintén lényeges (reakció II). A két reakció egymástól azonban nem függetlenül zajlik, az EBC puffer kapacitása nagyrészt a közeg ammónium-hidrokarbonát (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>HCO<sub>2</sub>O<sup>-</sup>) koncentrációjától függ.

Mindezen megfontolások ellenére az EBC-ben lévő NH<sub>3</sub> szerepe ellentmondásos. *Effros és mtsai.* szerint a légúti NH<sub>3</sub> jelentős mértékben befolyásolja az EBC pH-ját [144]. Az ammónia részben az alsó légutakban, részben a szájüregben keletkezhet. Ez utóbbi termelésében a szájüregi baktérium flóra játszik döntő szerepet. Az EBC gyűjtése alatt a kilégzett levegő apró nyálcseppcskéket sodorhat magával, ami növeli az EBC minták NH<sub>3</sub> koncentrációját és egyben felveti a nyálkontamináció lehetőségét is. *Hunt és mtsai*-nak experimentális megfigyelése ugyanakkor, amely szerint az EBC NH<sub>3</sub> koncentrációjának a csökkenése az oropharyngealis rész endotrachealis tubussal való áthidalása után nem eredményezi automatikusan az EBC kémhatásának megváltozását, ellentmond e teóriának [145]. Az ammónia szerepéről a két kutatócsoport között évek óta élénk vita folyik.

Amint arra saját munkacsoportunk is rámutatott, az irodalmi adatok alapján az NH<sub>3</sub> koncentrációja az EBC-ben jelentős variabilitást mutat (82–798 μM), és nem függ össze egyértelműen az EBC pH-jával [146]. Érdekes módon még az extrém NH<sub>3</sub> koncentráció (>2000 μM) emelkedéssel járó krónikus vesebeteggekben sem tapasztalható jelentős eltérés az EBC pH-ban az egészségesekhez képest [147].

Az EBC kémhatása pH-elektrodák vagy vérgázanalizátorok segítségével mérhető. A vérgázanalizátorok használatának előnye, hogy e műszerekkel egyben a kondenzátum

parciális CO<sub>2</sub> nyomása (pCO<sub>2</sub>) is mérhető. Amint ezt munkacsoportunk kimutatta, az EBC minták pCO<sub>2</sub> értéke széles tartományban mozog [148].

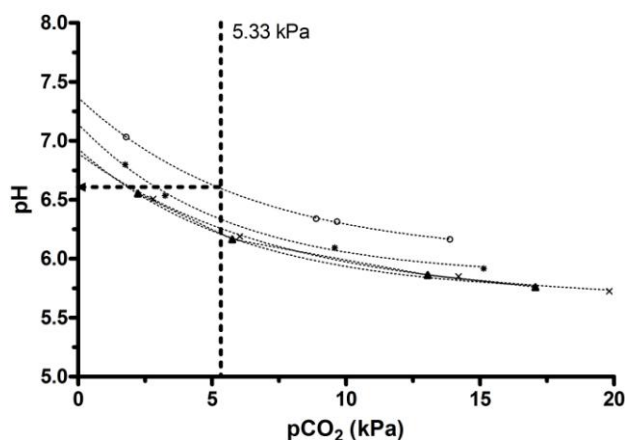
Az elmúlt években több kutatócsoport közölt olyan adatokat, amelyek szerint az asztmában [149,150,151], a COPD-ben [152,153] vagy a CF-ben [154,155] szenvedő betegekben az EBC savasabb az egészségesekhez képest. Néhány munkacsoport tüdődaganatokban [156] és a tüdőtranszplantált betegekben előforduló BOS-ban [157] is alacsonyabb pH-t mért az egészséges kontroll csoporthoz képest. A savasodás leginkább a kórképek akut exacerbációiban volt kimutatható, a klinikailag stabil állapotú betegekben a pH sokszor megegyezett az egészségesekével. Egyes tanulmányok szerint az EBC pH-ja az exacerbációban lévő betegek szisztémás szteroidokkal vagy antibiotikumokkal való kezelése után normalizálódik, ami felveti a pH-nak légúti biomarkerként való alkalmazását [149,154,158]. Fontos továbbá megjegyezni, hogy *Kostikas és mtsai.* szoros negatív korrelációt találtak a légúti pH és a köpet neutrophil-, valamint eosinophilsejtszáma között COPD-ben, illetve asztmában, ami arra utal, hogy a savasodás mértékéből a légúti gyulladás mértékére lehet következtetni e kórképekben [152].

Érdekes módon *Hunt és mtsai.* első közleményükben [149] a pH-ban 2-nél nagyobb csökkenést dokumentáltak asztma exacerbációban, míg más kutatók – bár reprodukálták az acidózist – ennél jóval kisebb mértékű (~0.3–0.5) pH csökkenésről számoltak be az asztmás [151], a COPD-s [153] vagy a CF-es [158] betegekben.

A fenti adatokkal szemben más munkacsoportok az EBC kémhatásában szignifikáns változást a fenti kórképekben nem találtak [159,160,161]. Az eredmények ellentmondásossága több tényezőnek is tulajdonítható. Egyrészt, az EBC kémhatását több olyan faktor (kondenzátor típusa, hőmérséklet, dohányzás, stb.) is befolyásolja, amelyek nem voltak megfelelően standardizálva a korábbi vizsgálatokban.

Másrészt, a korábbi munkákban a pH meghatározása nem kellő precizitással történt. Mivel az EBC puffer kapacitása nagyon alacsony, a mintákban lévő CO<sub>2</sub> mennyisége jelentősen befolyásolja annak pH-ját. A különböző munkacsoportok különböző mérés technikát használnak az EBC kémhatásának meghatározására. A legtöbben a mintákban lévő és a pH-mérés pontosságát nagyban zavaró CO<sub>2</sub>-ot a minták argon vagy hélium gázzal való átbuborékolásával (10 perc, 350 mL/min) próbálják *kiűzni* vagy *kibuborékolatni* a mintákból, és ezt tekintik a pH-mérés standard módszerének [162]. A buborékolatás után a mintákban visszamaradó CO<sub>2</sub> mennyisége azonban véletlenszerű, és továbbra is nagyban zavarja a pH pontos meghatározását, így a mérés gyengén reprodukálható [148]. Más munkacsoportok a mérések során egyszerűen nem veszik figyelembe a CO<sub>2</sub> zavaró hatását

(nyers mintafeldolgozás) és a pH-mérés előtt semmilyen kibuborékoltatást nem végeznek. Részben a CO<sub>2</sub> zavaró hatásával magyarázható, hogy a korábbiakban egyesek 7.57 [152], míg mások 8.26 [150] körüli pH-t mértek egészségesekben.



14. ábra. A pH és a pCO<sub>2</sub> összefüggése az EBC-ben

Egészséges kontroll személyek (n=5) EBC mintáinak pH-görbéi [169]. Az ábrán minden görbe egy-egy személy EBC mintájának felel meg. Minden mintát rövid ideig (~1 másodperc) CO<sub>2</sub> gázzal áramoltattuk át, majd négy, egymást követő alkalommal meghatároztuk a minta pCO<sub>2</sub> értékét és pH-ját vérgázanalizátor segítségével, végül az így kapott pontokat ábráztuk

A közelmúltban a munkacsoportunk által kidolgozott mérés technika segítségével a CO<sub>2</sub> zavaró hatása kiküszöbölhető [148]. A módszer lényege, hogy a minták CO<sub>2</sub>-vel való ismételt átáramoltatása során a mintákból párhuzamosan pH és pCO<sub>2</sub> mérése történik, majd a két paraméter közötti logaritmikus összefüggés (*Henderson–Hasselbach* egyenlet) felhasználásával adott pCO<sub>2</sub> érték (5.33 kPa) mellett határozzuk meg a mintára jellemző pH-t (14. ábra). Az CO<sub>2</sub> standardizációs módszer használatával a pH reprodukálhatósága az EBC-ben megközelítőleg 6-szor jobb, mint az *argon-buborékolatás* vagy a *nyers* mintafeldolgozás módszerének, így jelenleg a legmegbízhatóbb mérés technikának tekinthető.

A CO<sub>2</sub> standardizációs módszer használatával munkacsoportunk a közelmúltban igazolta, hogy a kondenzátor típusa [163], a kondenzálóberendezés hőmérséklete [163], a folyadékbevitel [164], valamint a külső környezet páratartalma [165] is szignifikánsan befolyásolja az EBC pH-ját. Munkáink során bizonyítást nyert továbbá az is, hogy az EBC pH napi variabilitása még az egészségeseknél is igen jelentős [164]. A pH variabilitása az általunk vizsgált pulmonológiai kórképekben – így az asztmában [82], a COPD-ben [82], a CF-ben [166], a tüdődaganatban [167] és a BOS-ban [168,169] – hasonló volt. E betegekben végzett pH-méréseink eredményét disszertációm 5.4. és 5.5. fejezeteiben mutatom be részletesen.



### 3.4.4. Citokinek és kemokinek

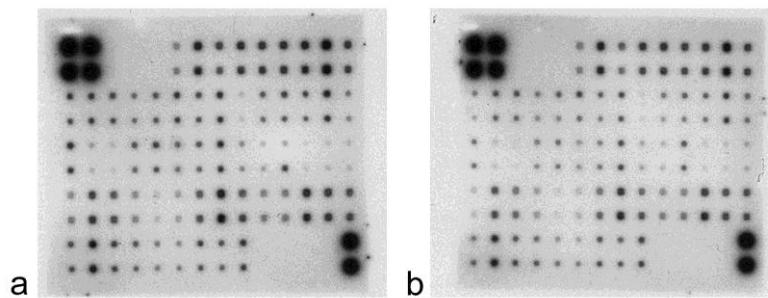
Tekintettel a citokinek központi patofiziológiai szerepére a gyulladósos tüdőbetegségekben, számos vizsgálat irányult ezek kimutatására [60,62]. A mérések leggyakrabban enzim immunoassay/enzimmel kapcsolt immunoszorbens assay (EIA/ELISA) vagy radioimmunoassay (RIA) módszerrel történtek, bár újabban e módszereknél érzékenyebb és párhuzamosan akár száz citokin mérésére is lehetőséget adó antitest microarray technikák kerültek előtérbe [170]. A microarray módszer előnye, hogy egy-egy kitüntetett szerepű faktor vizsgálata helyett citokin mintázatok analízisére alkalmas.

Mind a köpet felülúszó, mind az EBC számos citokint és kemokint tartalmaz. EIA/ELISA technika alkalmazásával több tanulmányban is kimutatták, hogy a kilégzett IL-1 $\beta$ , IL-6 és a TNF- $\alpha$  szint emelkedett COPD-ben az egészségesekhez képest [171,172], bár a TNF- $\alpha$ -ra vonatkozó adatokat más vizsgálatokban nem erősítették meg [173]. Az ellentmondó eredmények feltételezett tudományos magyarázata az, hogy a fehérje természetű citokinek koncentrációja az EBC-ben nagyon alacsony és közel vannak a jelenleg használatos kitek detektációs limitjéhez, amely csökkenti a mérések reprodukálhatóságát.

Az antitest microarray technika alkalmazásával *Matsunaga és mtsai.* a közelmúltban azt mutatták ki, hogy egyes gyulladósos citokinek (TNF- $\alpha$ , RANTES, IL-4, IL-8, IL-17 és TGF- $\beta_1$ ) szintje 1.5–2.7-szeres növekedést mutat asztmás betegek EBC mintáiban az egészségesekhez képest [174]. A módszer COPD-ben való teszteléséről egy német munkacsoport számolt be elsőként. Igazolták, hogy COPD exacerbációban számos citokin és kemokin (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF- $\alpha$ ) expressziója szignifikánsan megemelkedik a stabil állapothoz képest [175]. A stabil COPD-s betegek és az egészségesek között ugyanakkor csak néhány citokin (IL-1 $\beta$  és IL-12) szintjében volt eltérés. A vizsgálatban az ICS kezelés több citokin (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10 és IL-12) szintjét szignifikánsan csökkentette.

Kilégzett, illékony szerves vegyületeknek ion mobilizációs spektrometriával [176], gázkromatográfia/tömegspektroszkópiával (GC/MS) [177] vagy elektronikus orral [178] való detektálása és mintázat-elemzése alkalmas lehet a tüdődaganatos és a daganatban nem szenvedő betegek elkülönítésére. E vizsgálatok alapján felmerül, hogy a daganatos és a nem daganatos betegek légúti citokin mintázata is eltérő lehet. Saját vizsgálati anyagunkban ugyanakkor nem tudtunk különbséget kimutatni a citokin mintázat tekintetében a

planocellularis carcinomában szenvedő és az egészséges kontroll személyek között, bár a vizsgálatba csak nagyon kevés beteg bevonására volt lehetőség (15. ábra) [179].



15. ábra. **Reprezentatív antitest microarray membránok**

A méréseket planocellularis carcinomában szenvedő betegek („a” panel) és egészségesek („b” panel) EBC mintáinak felhasználásával végeztük [179]

### 3.4.5. Adenozin

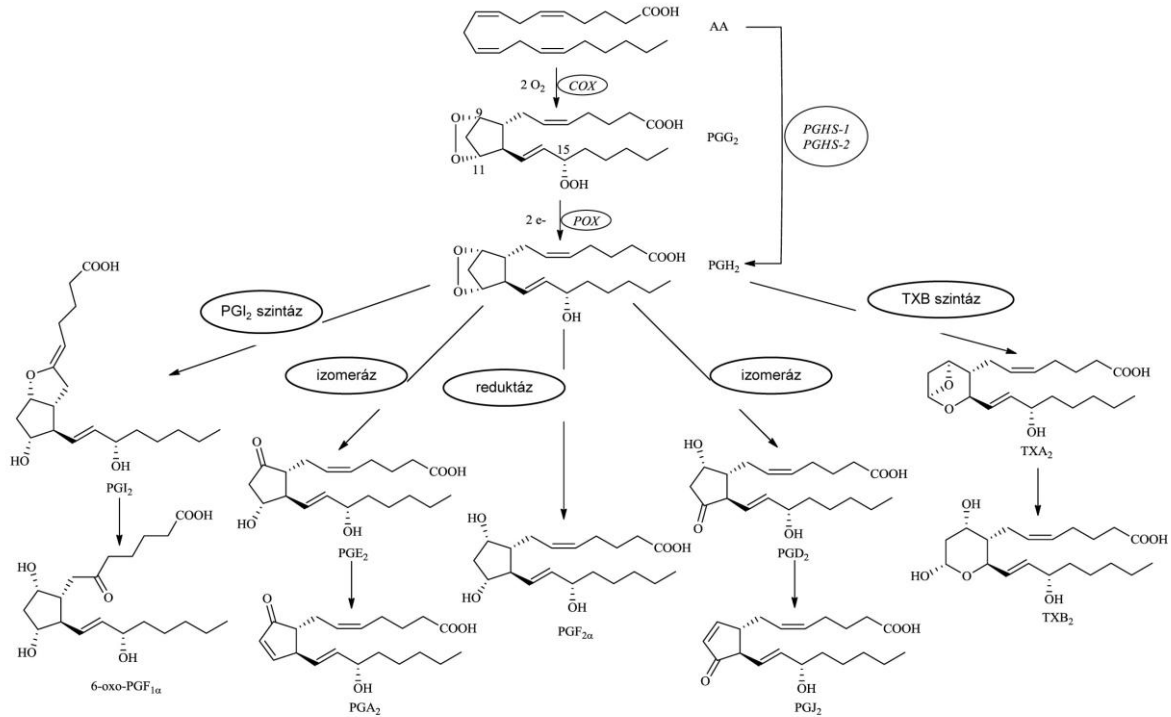
Az adenozin az adenozin-trifoszfát (ATP) bomlásterméke, amely mint gyulladáshoz vezető mediátor és bronchokonstriktor ágens szerepet játszhat az asztma, különös tekintettel a terhelés-indukálta asztma patogenezisében [180]. Az adenozin koncentrációja nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával (HPLC) határozható meg a legpontosabban, a módszer méréshatára 2 nM.

Az adenozinnak első alkalommal való kimutatása asztmás betegek kondenzátumában Horváth Ildikó professzorasszony munkacsoportjának nevéhez fűződik [181]. A munkacsoport a későbbi vizsgálatokban az ATP koncentrációját is mérte az EBC-ben kemilumineszcens módszer segítségével. E vizsgálatokban azonban nem találtak különbségeket az ATP koncentrációjában az egészségesek, illetve a COPD-s és az asztmás betegek között [182,183].

### 3.4.6. Eikozanoidok

#### 3.4.6.1. Eikozanoidok általános jellemzői

Az összefoglaló néven eikozanoidoknak nevezett leukotriének (LT-ek), prosztaglandinok (PG-ok) és thromboxánok (TXB-ok) közismert gyulladáshoz vezető mediátorok az allergiás rhinitisben és az asztmában [184]. E mediátorok szerepet játszhatnak a COPD patofiziológiájában is, bár az erre vonatkozó irodalmi adat jóval kevesebb [185].



16. ábra. A prosztoglandinok és a thromboxánok bioszintézise

AA: arachidonsav, COX: ciklooxigenáz, POX: peroxidáz, PG: prosztoglandin, PGHS: prosztoglandin-H-szintáz, TX: thromboxán

A húsz szénatomos eikozanoidok az AA különböző származékai. Viszonylag egyszerűen detektálhatók különböző testfolyadékokban, így a köpetben, a BAL-ban és az EBC-ben is EIA/ELISA vagy RIA módszerek segítségével. Vannak kutatók, akik e módszereknél talán megbízhatóbb, ugyanakkor bonyolultabb és nagyobb költségigényű GC/MS-t használnak a kimutatásra [60,62].

Az eikozanoidok bioszintézisének első lépéseként a sejtmembrán foszfolipidjeiből a foszfolipáz-A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) enzim hatására AA keletkezik. Az eikozanoidok további szintézisének két kulcsenzimje ismert: a ciklooxigenáz (COX) és az 5-lipoxigenáz (5-LOX). A COX enzim által katalizált reakcióúton a PG-ok és a TXB-ok (16. ábra), míg az 5-LOX által katalizált útvonalon a LT-ek keletkeznek (17. ábra).

A PG-ok szintéziséért felelős COX enzimnek több izoformája is ismert, a legfontosabbak a COX-1 és a COX-2. Míg a COX-1 folyamatosan termelődik a sejtekben és egy *alapszintű* PG szintéziséért felelős, addig a COX-2 gyulladás hatására indukálódik [186]. A PG-ok bioszintézisének első lépéseként a COX enzim az AA-at prosztoglandin-G<sub>2</sub>-vé (PGG<sub>2</sub>) konvertálja, amely ezt követően prosztoglandin-H<sub>2</sub>-vé (PGH<sub>2</sub>) alakul át. A PGH<sub>2</sub> különböző enzimek által katalizált folyamatokban alakul tovább prosztoglandin-E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>),

prostaglandin-D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>), prosztaciklin-I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>), valamint tromboxán-A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), illetve tromboxán-B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>) molekulákká (16. ábra).

A LT-ek szerkezetileg két csoportra oszthatók. A szabad AA-at az 5-LOX enzim az 5-lipoxigenáz-aktiváló protein (FLAP) jelenlétében előbb egy intermedierré, 5-hidroperoxi-eikozatetraénsavvá, (5-HpETE) alakítja át, majd ezen intermediereken keresztül leukotrién-A<sub>4</sub> (LTA<sub>4</sub>) keletkezik (17. ábra). Az LTA<sub>4</sub>-ből a LTB<sub>4</sub>-szintáz által katalizált úton a dihidroxileukotriének (köztük az LTB<sub>4</sub>) keletkeznek, míg az LTC<sub>4</sub>-szintáz által katalizált úton a cisz-LT-ek (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> és LTE<sub>4</sub>) jönnek létre. Az LTC<sub>4</sub> egy speciális transzportfehérje segítségével kijut a sejtből. További átalakulásként az LTC<sub>4</sub>-ből a glutamil-transzpeptidáz enzim LTD<sub>4</sub>-et szintetizál, ami szekvenciális aminosav-hidrolízis útján LTE<sub>4</sub>-gyé alakul. A LT-ek a receptorhoz való kötődés után a citoplazmában elhelyezkedő G-fehérjével lépnek kapcsolatba. Ennek következtében az intracelluláris Ca<sup>2+</sup> szint nő, a ciklikus adenzinmonofoszfát (cAMP) szint csökken, ami a protein-kinázok aktiválása révén szerteágazó élettani hatásokhoz vezet.

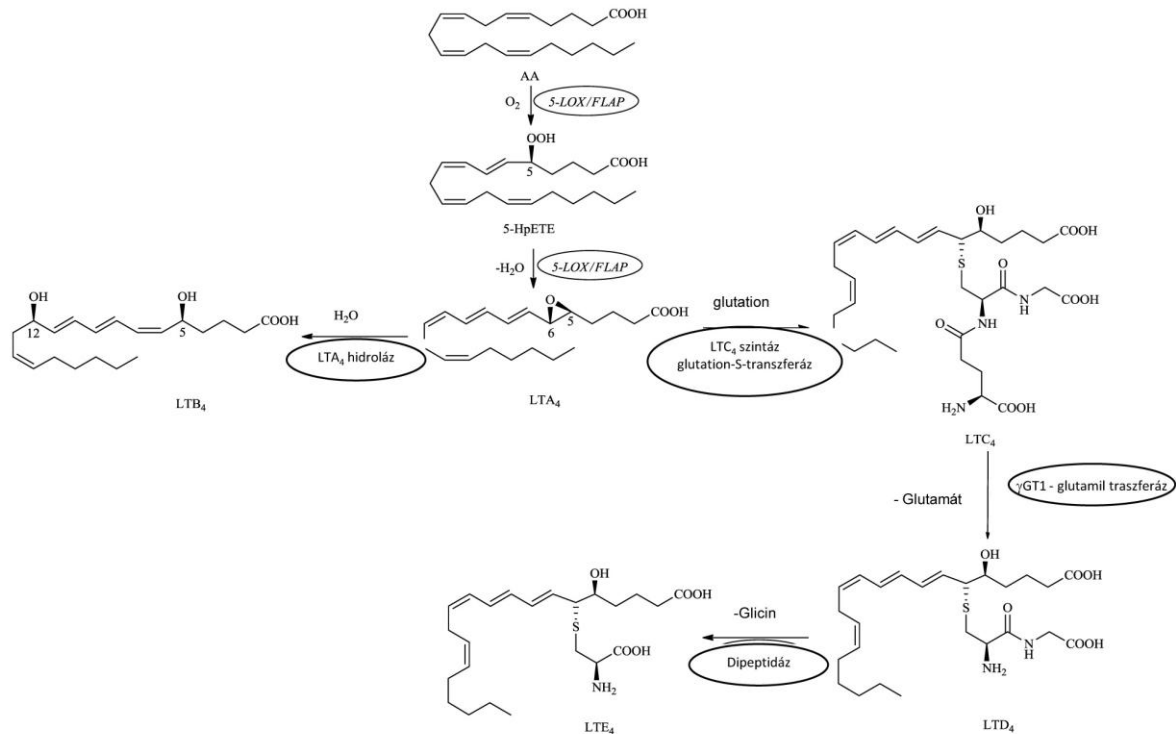
Az eikozanoidok összetett biológiai hatásúak, így például a légúti traktusban részt vesznek a gyulladós sejtek toborzásában, a nyákszekréció, a vascularis és a bronchialis tónus szabályozásában, a sejtproliferáció gátlásában és indukciójában, a köhögési inger aktivációjában, valamint az oxidatív stressz kialakulásában. Hatásaik sokszor egymással is ellentétesek. Így például a PGD<sub>2</sub> inhalációja asztmás betegekben és egészségesekben dózisfüggően fokozza a bronchialis simaizomzat összehúzódását [187], míg a PGI<sub>2</sub> inhalációja a légúti obstrukció enyhüléséhez vezet, legalábbis az arra érzékeny (responder) asztmás betegek csoportjában [188].

#### 3.4.6.2. PGE<sub>2</sub>

A PGE<sub>2</sub> a PG-ok közül a legtöbbet tanulmányozott molekula. Legismertebb szerepe az aszpirin-indukálta asztma patomechanizmusában van [184]. Kimutatták, hogy az asztmás betegekben izolált bronchialis fibroblastokban a PGE<sub>2</sub>-szintézis intrinsic defektust mutat, ami az aszpirin-indukálta asztmában a legkifejezettebb [189]. A feltételezések szerint a bronchodilatátor hatású PGE<sub>2</sub> mennyiségének csökkenése túlzott mennyiségű cisz-LT képzéshez vezet, amely hörgőgörcsöt okoz (PGE<sub>2</sub>-fék kiesési hipotézis). Az aszpirin-indukálta hörgőgörcs PGE<sub>2</sub> inhalációjával gátolható [190].

Több kutatócsoport vizsgálta a PGE<sub>2</sub> mennyiségi változását COPD-s betegek légúti mintáiban is. Az eredmények szerint az EBC PGE<sub>2</sub> szintje emelkedett COPD-ben az egészséges kontroll személyekhez képest [191,192,193], bár az adatok bizonyos kritikával

kezelendők az EBC-mérések ismert metodikai problémái miatt. Egy lengyel munkacsoport megfigyelései szerint az exacerbációban lévő COPD-s betegek EBC mintáiban a PGE<sub>2</sub> szintje nem változik a stabil állapothoz képest [191].



### 17. ábra. A leukotriének bioszintézise

AA: arachidonsav, LT: leukotrién, 5-LOX: 5-lipoxigenáz, FLAP: 5-lipoxigenáz-aktiváló protein

Az EBC mellett a COPD-s betegek köpetében is kimutatható PGE<sub>2</sub>. A betegek és az egészségesek ilyen módon való elkülönítését azonban a dohányzás mint zavaró tényező nehezíti. Egészségesekben ugyanis a dohányzás hatására a köpet PGE<sub>2</sub> koncentrációja éppúgy megemelkedik, mint az ex-dohányos COPD-s betegekben [194]. Továbbá jelentős PGE<sub>2</sub> szint emelkedés jellemzi a krónikus köhögésben szenvedő eosinophil bronchitises betegeket is [195,196], bár meg kell említeni, ez utóbbi összefüggést nem minden közlemény igazolta [197]. A köpet PGE<sub>2</sub> koncentrációjának a COPD súlyosságával vagy rutin spirometriai paraméterekkel való kapcsolata bizonytalan, az egyik vizsgálatban negatív korrelációt igazoltak a PGE<sub>2</sub> szint és a FEV<sub>1</sub> között [198].

A PGE<sub>2</sub> szintjének meghatározása mellett több munkacsoport vizsgálta a szintézisért felelős enzim, a COX-2 mennyiségi változását is COPD-ben. Úgy tűnik, hogy a köpet sejtes fázisában a COX-2 szintje jó korrelációt mutat a felülúszó PGE<sub>2</sub> koncentrációjával: értéke a dohányzó COPD-s betegekben a legmagasabb, a dohányzásról leszokott betegekben pedig szintje csökken [194]. A COX-2 expresszió dohányos egészségesekben is megemelkedik.

A fenti hatások mellett több munkacsoport is igazolta a PGE<sub>2</sub> nyákszekréciót stimuláló hatását, amit a molekula egyes mucin gének (MUC5AC, MUCB) expressziójának fokozódásán keresztül fejt ki [199]. Ezen *in vitro* eredményekkel jó egyezést mutat annak a kettős-vak, placebo-kontrollált klinikai vizsgálatnak az eredménye, amely szerint az indometacin – mint nem-szelektív COX-gátló – kúraszerű belélegzése a köpet mennyiségének és a légzési panaszok csökkenéséhez vezet krónikus bronchitises és bronchiectasiás betegeknél [200]. Ezen betegek köpetében számos eikozanoid (PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub> és TXB<sub>2</sub>) csökkenését is igazolták a szerzők. Végül megemlíthető, hogy mivel a PGE<sub>2</sub> stimulálja a légúti érző idegvégződéseket, a molekula szerepet játszhat a köhögési inger kialakításában is [201].

#### 3.4.6.3. Cisz-LT

A cisz-LT-ek patofiziológiai szerepe az asztmás gyulladás és az allergiás rhinitis kialakulásában közismert [184]. Bronchokonstriktor hatásuk mellett fokozzák a nyákképződést és az érpermeabilitást, elősegítik a szöveti ödéma kialakulását, serkentik a légúti nyálkahártya eosinophilsejtes infiltrációját, csökkentik a ciliumok mozgását, valamint szenzitivizálják a szenzoros idegvégződéseket, neuropeptidok felszabadulását okozva. Munkacsoportunk megfigyelései szerint fontos mediátorai a terhelés-indukálta bronchokonstriktió kialakulásának is asztmás betegekben [202]. Hatásukat a tüdőben döntően az I-es típusú receptorok (cisz-LT<sub>1</sub>) közvetítik, amelyek kimutathatóak a peribronchialis és peribronchiolaris izomzatban, az alveolaris macrophagokban és a fehérvérsejtekben. Termelődésük főleg a hízósejtekhez, az eosinophil- és a basophilsejtekhez, valamint a macrophagokhoz köthető.

A cisz-LT-eknek a COPD kórfolyamatában betöltött szerepe sokkal kevésbé ismert. Jelentőségük a teljes COPD-s populációban bizonyosan kisebb az asztmához képest, ugyanakkor elképzelhető, hogy a COPD-s betegek egyes alcsoportjaiban lényeges mediátor funkciót töltenek be [203].

Cisz-LT-ek detektálhatók COPD-s betegek köpetében [204], mennyiségi változásukat elemző vizsgálatok száma ugyanakkor a COPD-ben kevés. A közelmúltban egy lengyel munkacsoport közölte, hogy stabil betegekben szintjük az EBC-ben magasabb az egészséges kontroll csoporthoz képest [191]. Exacerbációban koncentrációjuk tovább emelkedik, ami aztán néhány héttel az exacerbáció kezelése után a stabil állapotra jellemző szintre tér vissza. Az eredmények jó összhangban vannak egy másik, szintén a közelmúltból származó megfigyeléssel, amely szerint markáns cisz-LT<sub>1</sub> receptor expresszió mutatható ki

endobronchialisán az akut exacerbációban lévő COPD-s betegekben [205]. A szerzők adatai szerint a receptorokat a bronchusok falában főleg a hízósejtek és a macrophagok expresszálják.

#### 3.4.6.4. *LTB<sub>4</sub>*

*In vitro* megfigyelések szerint a dihidroxi-leukotriének csoportjába tartozó *LTB<sub>4</sub>* fontos neutrophil kemoattraktáns: fokozza a neutrophilsejtek légutakba történő toborzását, elősegíti a neutrophil- és endothelsejtek közötti interakciót, fokozza a neutrophilsejtek granulációját, aminek következtében proteázok (pl: MPO, NE), oxidánsok és egyéb mediátorok szabadulnak fel. Bár az *LTB<sub>4</sub>*-nek közvetlen hatása a légúti simaizomzatra nincs, a nyákszekréció és érpermeabilitás fokozása útján hozzájárulhat a légúti obstrukció növekedéséhez is.

Az *LTB<sub>4</sub>* az egyik legtöbbet vizsgált lipid mediátor COPD kórképében. Az *LTB<sub>4</sub>* könnyen kimutatható COPD-s betegek köpetének felülúszójából, az EBC-ben való kimutathatósága ugyanakkor ellentmondásos. Jóllehet szakirodalmi közlés, hogy a COPD-s betegek mintáiban az *LTB<sub>4</sub>* koncentráció emelkedett az egészségesekhez képest [191,206], illetve, hogy akut exacerbációban az *LTB<sub>4</sub>* szint tovább emelkedik [191,207], a mérési eredmények rendkívül nagy variabilitást mutattak, még hasonló eszközök és detektációs technikák alkalmazásával is. Az adatok gyenge reprodukálhatóságát több kutatócsoport is megfigyelte, melynek háttérében metodikai tényezőket, esetleg a minták nyállal való kontaminációját valószínűsítették [208]. Laboratóriumunkban az *LTB<sub>4</sub>* nem volt kimutatható az EBC-ben [163]. Valószínű, hogy az *LTB<sub>4</sub>* nagyon alacsony (sokszor méréshatár alatti) koncentrációban van csak jelen az EBC-ben.

A köpetben több kutatócsoport is emelkedett *LTB<sub>4</sub>* szintet igazolt a stabil COPD-s betegekben az egészségesekhez képest, bár a mért értékek itt is nagy variabilitást mutatnak [206,209]. Több szerző azt is igazolta, hogy az *LTB<sub>4</sub>*, mint potens neutrophil kemoattraktáns szoros pozitív korrelációt mutat a köpet neutrophilsejtszámával COPD-ben [209,210]. Mások ugyanakkor nem igazoltak emelkedett *LTB<sub>4</sub>* szintet COPD-s betegek köpetében [211]. Az 5.8. fejezetben részletesen leírt vizsgálatunk eredményei szerint akut exacerbációban a mediátor koncentrációja tovább emelkedik a köpetben [212].

Az *LTB<sub>4</sub>*-nek a dohányzási státusszal való kapcsolata ellentmondásos. *Carpagnano és mtsai.* szerint dohányzás hatására az *LTB<sub>4</sub>* szint emelkedik [213], míg más kutatók munkái alapján az *LTB<sub>4</sub>* koncentrációja a dohányzási állapottal nem függ össze [214]; sőt, a dohányzásról való leszokás után a marker szintje éveken át folyamatosan emelkedett marad a köpetben [215].

### 3.5. Oxidatív stressz biomarkerei

#### 3.5.1. CO

Az NO mellett a kilégzett levegőben detektálható másik egyszerű gáz a szén-monoxid (CO). A CO mérése a légutakban zajló oxidatív stressz mértékéről ad információt [74]. A kilégzett CO egyrészt a környezetből származó és a belégzés során a tüdőbe került CO-ból, másrészt – a korábbi feltételezésekkel ellentétben – nem elsősorban a *heam* molekula *heam oxigenáz* enzim katalizálta endogén metabolizmusából, hanem a lipidmembrán peroxidatív degradációjából származik [216].

Az elmúlt években számos kutatócsoport közölt adatokat arról, hogy a kilégzett CO szintje emelkedett krónikus légúti gyulladással járó tüdőbetegségeken, így az asztmában [217], a COPD-ben [218,219] és a bronchiectasiában [220]. Egyes megfigyelések szerint a CO koncentrációja légúti infekciók során is megemelkedik [221]. Más vizsgálatokban ugyanakkor nem találtak különbséget az asztmás betegek és az egészségesek között [222].

Klinikai szempontból a fenti mérések legnagyobb problematikája, hogy önmagában a dohányzás is jelentősen növeli a kilégzett CO szintet [223,224]. A dohányzás hatása különösen a COPD-s betegek mérésénél jelent gondot, még akkor is, ha egyes megfigyelések szerint az ex-dohányos COPD-s betegekben a CO szint magasabb a nem dohányzó egészségesekhez képest a COPD-re jellemző megnövekedett oxidatív stressz miatt [218].

COPD akut exacerbációjában a kilégzett CO koncentrációja tovább emelkedhet [225]. Saját korábbi megfigyeléseink szerint ugyanakkor ez a változás a dohányzás CO szintet emelő hatásához képest elhanyagolható (kutatócsoportunk nem publikált eredménye). Így, a kilégzett CO szintet leginkább a dohányzás és annak mértéke határozza meg. Napjainkban a kilégzett CO-mérést a dohányzásról való leszokás objektív mutatójaként tartják leginkább felhasználhatónak [61,74].

#### 3.5.2. Etán és pentán

A kilégzett levegőben az NO és a CO mellett más egyszerű szénhidrogének, így például az  $\omega$ -3 többszörösen telítetlen zsírsavak peroxidációjából keletkező etán, vagy a  $\omega$ -6 többszörösen telítetlen zsírsavakból hasonlóan képződő pentán is kimutathatóak [59]. Kimutatásuk GC-ás elválasztást követően kemilumineszcenciás detektálással történik.



E molekulákat a legtöbb kutatócsoport a lipidperoxidáció érzékeny markereinek tekinti. *Paredi és mtsai*-nak megfigyelései szerint a COPD-s betegek kilégtett etán szintje magasabb az egészségesekhez képest, és a légúti etán szint a COPD súlyosságával is korrelációt mutat [219]. A betegek szteroiddal való kezelése az etán szintet csökkentette. Az etán szintje azonban a dohányzás hatására is megemelkedik, ami a dohányfüst oxidatív stresszt indukáló hatásával magyarázható.

### 3.5.3. 8-Izoprosztán

A tüdőbetegségekben az egyik legtöbbet vizsgált prosztanoid a 8-izoprosztán, ami a sztereoegységes  $\text{PGF}_{2\alpha}$  izomerje. Az izoprosztánok általában vazo- és bronchokonstriktor hatású prosztanoidok, amelyek fontos biomarkerei a szöveteket károsító oxidatív stressznek a legkülönbözőbb tüdő- és belgyógyászati kórképekben [226]. Hasonlóan más AA származékokhoz, a 8-izoprosztán is viszonylag egyszerűen mérhető mind a köpetben, mind az EBC-ben EIA/ELISA vagy RIA segítségével. Mások ezeknél az eljárásoknál megbízhatóbb, ugyanakkor az analitikai módszerek alkalmazásában nagyobb jártasságot igénylő GC/MS-t használnak a kimutatásra [60,62]. A módszerek méréshatára általában 3-5 pg/mL körül van.

Az elmúlt években több kutatócsoport is kimutatta, hogy a 8-izoprosztán szintje emelkedett COPD-s betegek köpetfelülúszójában vagy kondenzátumában az egészségesekhez képest, ami megnövekedett oxidatív stresszre utal [227,228,229]. Viszonylag szoros összefüggés látszik a légúti 8-izoprosztán szint és az ismert spirometriai paraméterek, illetve a COPD súlyosságát jellemző egyéb klinikai mutatók között. Így például, a  $\text{FEV}_1$  és a markernek a köpetben vagy az EBC-ben mért koncentrációja között fordított arány áll fenn [227], míg pozitív korreláció látszik a 8-izoprosztán szint és az emphysema nagy felbontóképességű számítógépes tomográfion (HRCT) meghatározott súlyossági foka (score) között [230].

Több munkacsoport is igazolta, hogy a dohányzás önmagában is növeli a kilégtett 8-izoprosztán szintet a légutakban [227-229], ami a dohányzás oxidatív stresszt indukáló hatásai miatt könnyen érthető. Ez a körülmény azonban nehezíti az egészséges dohányzók és a COPD-s betegek egymástól való elkülönítését, és csökkenti a marker klinikai felhasználhatóságát. Más vizsgálatokban a dohányzás zavaró hatását nem mutatták ki [214].

Úgy tűnik, hogy a 8-izoprosztán szint tovább emelkedik COPD akut exacerbációban, legalábbis az EBC-ben [191,207]. E vizsgálatokban a betegek antibiotikumokkal és kortikoszteroidokkal való kezelése után a 8-izoprosztán szint csökkent, ami felveti a marker

klinikai monitorozásra való felhasználhatóságának lehetőségét, bár a dohányzó és a nem dohányzó betegek különválasztása a vizsgálatban nem volt megfelelő. A saját vizsgálataink elvégzéséig a 8-izoprosztánnak a köpetben való kimutatására COPD exacerbációban lévő betegekben irodalmi adat nem volt.

#### **3.5.4. $H_2O_2$**

A  $H_2O_2$  egészséges személyekben a fagocitózis során a szuperoxid gyökionból ( $O_2^{\cdot-}$ ) képződik a SOD enzim hatására. Az enzim a fehérvérsejtekben termelődik elsősorban. Az EBC  $H_2O_2$  tartalma kolorimetrikus, fluorimetrikus vagy kemilumineszcens módszerrel határozható meg. A mérések a torna-peroxidáz reakción alapulnak. A módszerek mérés határa  $0.1 \mu M$  körül van.

Több munkacsoport is igazolta, hogy COPD-s betegek kondenzátumának  $H_2O_2$  koncentrációja szignifikánsan nagyobb, mint az egészségeseké [231,232]. Akut exacerbációban a kilégzett  $H_2O_2$  szint tovább növekszik [231,233]. Ismert néhány klinikai vizsgálat is, amelyekben a kondenzátum  $H_2O_2$  koncentrációja mint vizsgálati végpont szerepelt. Ilyen például, az a randomizált, kettős-vak, placebo-kontrollált vizsgálat, amelyben azt igazolták, hogy az antioxidáns hatású N-acetilcisztein 9 és 12 hónapos kezelési idő után csökkenti a kondenzátum  $H_2O_2$  koncentrációját [234]. Az ICS készítmények hatása a kilégzett  $H_2O_2$  koncentrációra ellentmondásos, egyes klinikai vizsgálatokban csökkent [235], míg másokban [236] nem változott a marker szintje a kezelési periódus után.

Stabil COPD-s betegekben a kilégzett  $H_2O_2$  szint szoros korrelációt mutat a  $FEV_1$  értékkel, a köpet neutrophilszámával és a dyspnoe jellemzésére szolgáló mutatókkal, ami e biomarker oxidatív stressz kimutatására való alkalmasságát vetíti előre [237]. A disszertációmban nem részletezett munkáink során azonban kimutattuk, hogy a kilégzett  $H_2O_2$  szintje jelentősen függ a mintagyűjtés alatti légzési ritmustól is, tehát esetleges klinikai vizsgálati módszerként való bevezetése előtt mérésének további standardizálása szükséges [238].

#### **3.5.5. Nitrit és nitrát**

A 3.4.1.1. fejezetben már ismertettem, hogy az  $NO^{\cdot}$ -ből szuperoxid gyökionnal reagálva nitrit ( $NO_2^-$ ) és nitrát ( $NO_3^-$ ) keletkezik. Az EBC nitrit és nitrát szintjének meghatározására spektrofotometriás, fluorimetrikus vagy kemilumineszcens módszert használnak. Az eljárás

során a nitrátot nitritté redukálják, és az reagál a kimutatásra alkalmas vegyülettel (pl. *Greiss-reagens*). A módszerek méréshatára 0.1  $\mu\text{M}$  körül van. Néhány munkacsoport HPLC technikát használ a meghatározásra.

A nitrogén oxidok koncentrációját több kutatócsoport is vizsgálta az EBC-ben. Egy olasz munkacsoport megfigyelései szerint a COPD-s betegek kondenzátumának  $\text{NO}_2^-$  koncentrációja szignifikánsan nagyobb az egészséges dohányzókhoz és a nem dohányzókhoz képest [239], míg az  $\text{NO}_3^-$  szint nem különbözik a COPD-s és az egészséges csoport között [240]. Az  $\text{NO}_3^-$  koncentrációját ugyanakkor a dohányzás növeli [240].

### 3.5.6. Nitrozotiolok és nitrotirozin

A nitrozotiolok (R-S-NO) az  $\text{NO}^\bullet$  és tiol csoportot (SH) tartalmazó vegyületek (R-SH) reakciójában keletkeznek ( $\text{R-SH} + \text{NO}^\bullet \rightarrow \text{R-S-NO} + \text{H}^\bullet$ ). Kimutatásuk a belőlük oxidációval keletkező nitrát ( $\text{NO}_3^-$ ) formájában történik kolorimetrikus módszerrel. A módszer méréshatára 0.025  $\mu\text{M}$ .

A 3-nitrotirozin (3-NT) a tirozin tartalmú fehérjék nitrálását követő lebontás során keletkezik. Káros hatása az enzimek aktivitáscsökkentése, mindenekelőtt gátolja a kináz aktivitáshoz kötődő szubsztrát foszforilációt. A 3-NT kimutatása fontos biomarkere a tüdőbetegségekben zajló nitrozatív stressz mértékének. Mennyisége EIA módszerrel mérhető, a méréshatár általában 4–5  $\text{pg/mL}$  között van.

Úgy tűnik, hogy a nitrozotiolok és a 3-NT kimutathatók mind az EBC-ben, mind pedig a köpetben. A korábbiakban már említett olasz munkacsoport adatai szerint az EBC-ben a nitrozotiolok és a 3-NT koncentrációja magasabb COPD-ben, mint az egészségesekben, bár a dohányzás önmagában is növeli a nitrozotiolok szintjét [239]. A mérések átlagértéke azonban igen alacsony, alig haladja meg a kitek méréshatárát. *Sugiura és mtsai*-nak adatai szerint a COPD-s betegek köpet felülúszójának is magasabb a 3-NT koncentrációja az egészségesekhez képest, bár itt is elmondható, hogy a dohányzásnak zavaró hatása van [241].

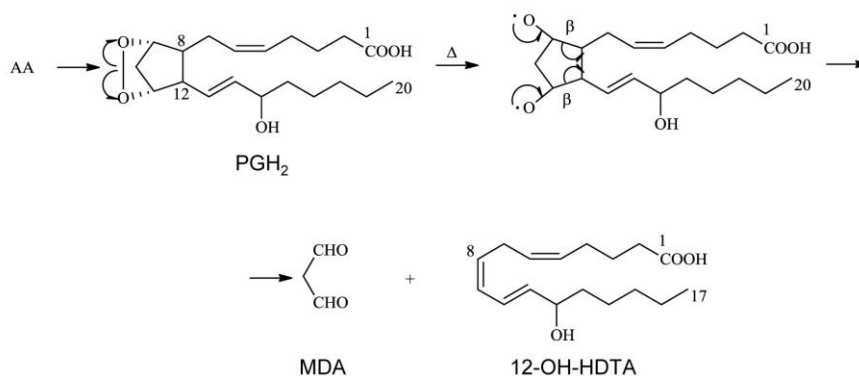
### 3.5.7. Aldehidek

Oxidatív stressz hatására a sejtmembrán foszfolipidjeiből a megfelelő hidroperoxidok keletkeznek, melyek lebontása során aldehidek, mint például malondialdehid (MDA), akrolein, n-hexanal, n-heptanal, n-nonanal, 4-hidroxi-hexenal (4-HHE) és 4-hidroxi-nonenal (4-HNE) keletkezik. Mennyiségükből az oxidatív stressz mértékére lehet következtetni.

Koncentrációjukat folyadékkromatográfia/légköri nyomású kémiai ionizációs tandem tömegspektroszkópiával (LC/APCI-MS/MS) lehet igen pontosan mérni [60,62,242]. A méréshatár 1–20 nmol/L között van. A módszer bonyolult, jelentős laboratóriumi infrastruktúrát és nagy szakmai tapasztalatot igényel.

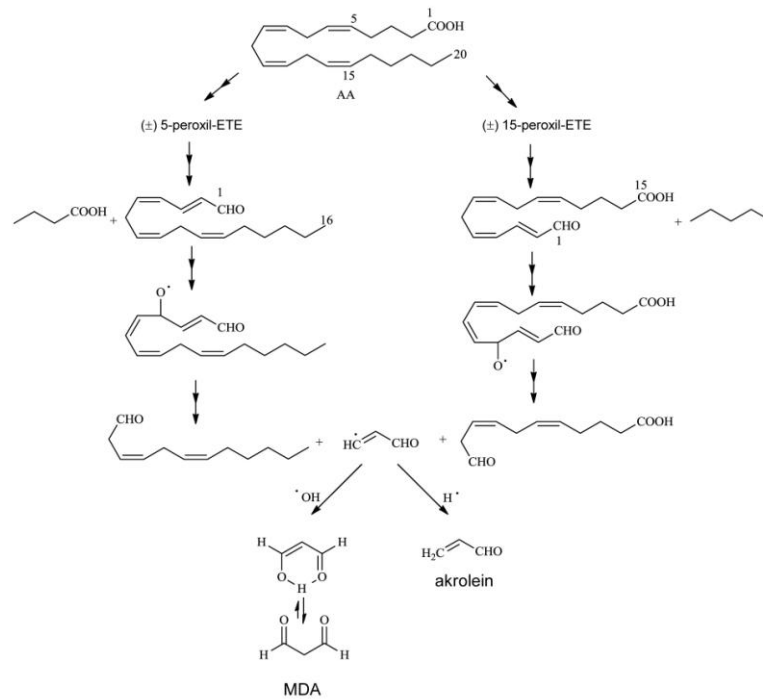
Az eddigi vizsgálatok szerint az EBC-ben az említett aldehidek közül az MDA, az akrolein és az n-alkenalok minden esetben kimutathatók, míg a 4-HHE és a 4-HNE csak kevés mintában és csak nagyon alacsony koncentrációban detektálhatók [242]. *Corradi és mtsai.* egy korábbi vizsgálatukban a fenti aldehideket stabil klinikai állapotú asztmás és COPD-s betegek indukált köpetében és EBC-jükben mérve megállapították, hogy az akrolein és az n-hexanal koncentrációja mindkét betegcsoportban megemelkedik az egészségesekhez képest, mind az EBC-ben, mind pedig a köpetben [243]. Az n-nonanal koncentrációja viszont csak a COPD-s betegcsoportban tért el az egészségesekétől. Sem az n-heptanal, sem pedig a 4-HHE és a 4-HNE szintje szignifikánsan nem különbözött az egészségesekétől, függetlenül attól, hogy a mérések az EBC-ben vagy a köpet felülúszókban történtek.

Klinikai szempontból a fenti mérések diagnosztikai jelentősége azért kétséges, mert az egészséges dohányzóknál is a dohányzás jelentősen növeli e biomarkerek szintjét [242]. Úgy tűnik, hogy az eddig vizsgált aldehidek közül az MDA mérésével lehet leginkább a betegeket az aktív dohányosoktól elkülöníteni [244]. Az MDA oxidatív stressz markerként való használata mellett szól az is, hogy koncentrációja a légúti mintákban izokratikus HPLC-vel nagy pontossággal mérhető [245]. A mérés viszonylag egyszerű és kis térfogatú mintából is elvégezhető (~100  $\mu$ L). A méréshatár általában 0.01–0.02  $\mu$ mol/L. Egyes munkacsoportok az MDA szintjét a tiobarbiturátsavval vagy a 2,4-dinitro-fenilhidrazinnal való kondenzációs termék kimutatása alapján határozták meg, de ezek nem tekinthetők elég specifikus módszereknek.

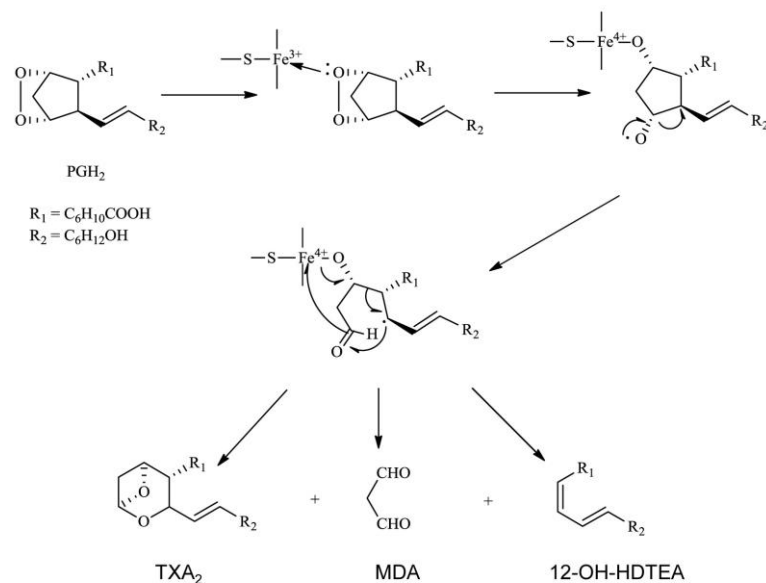


18. ábra. Malondialdehid bioszintézise arachidonsavból kiindulva (Pryor és Stanley szerint)

A lipidperoxidáció során az MDA különböző módon keletkezhet. *Pryor és Stanley* szerint AA-ból PGH<sub>2</sub> intermediéren keresztül a 12-hidroxi-hexadecatetraénsav (12-OH-HDTEA) mellett keletkezik (18. ábra) [246]. *Esterbauer és mtsai.* a 90-es évek elején az AA-ból kiindulva az MDA bioszintézisének két további formáját is igazolták (19. ábra) [247]. *Hecker és Ullrich* vizsgálata szerint ugyanakkor egyes szövetekben az MDA PGH<sub>2</sub>-ből kiindulva enzimatis úton is keletkezhet (20. ábra) [248].



19. ábra. Malondialdehyd és akrolein bioszintézise arachidonsavból kiindulva (*Esterbauer és mtsai.* szerint)



20. ábra. Malondialdehyd bioszintézise prosztaglandin-H<sub>2</sub>-ből kiindulva (*Hecker és Ullrich* szerint)

Az MDA könnyen kapcsolódhat fehérjék lizin aminosavjával, valamint a DNS lánc felépítésében résztvevő deoxi-guanozinnal is, aminek következtében ezek szerkezete módosul és a biológiai funkciójuk alapvetően megváltozik.

A korábbi években két olasz munkacsoport közölt adatokat stabil állapotú COPD-s betegek légúti mintáiban (EBC és köpet) végzett MDA mérésekről. A betegek részben dohányosak, részben ex-dohányosak voltak. Eredményeik azt mutatták, hogy az MDA szintje COPD-s betegekben emelkedett az egészséges kontroll csoporthoz képest mind a köpetben [243], mind pedig az EBC-ben [244,249]. Az értékelhetőséget, illetve a klinikai felhasználhatóságot azonban bizonytalanná teszi, hogy a vizsgálatokban [244,249] a dohányos és az ex-dohányos betegek nem voltak megfelelően szétválasztva. Az MDA-nak a COPD exacerbációban való mennyiségi meghatározásáról saját vizsgálataink előtt irodalmi közlésről nem volt tudomásunk.

#### 4. CÉLKITŰZÉSEK

Az értekezésben ismertetett kutatómunkám célkitűzéseit az alábbiakban foglalom össze:

1. **A frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid mérés szerepének meghatározása a tüdőtranszplantált betegek pulmonalis szövődményeinek diagnosztikájában.**
2. **A frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid koncentrációjának vizsgálata a krónikus obstruktív tüdőbetegség akut exacerbációjában, a mérés prediktív értékének meghatározása a betegek funkcionális válaszkészsége szempontjából.**
3. **A frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid és a köpet sejtprofil kapcsolatának vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegség akut exacerbációjában.**
4. **A kilégzett levegő kondenzátum pH-jának vizsgálata asztma és krónikus obstruktív tüdőbetegség akut exacerbációjában.**
5. **A kilégzett levegő kondenzátum pH-jának vizsgálata cisztás fibrózisban, rosszindulatú tüdődaganatban és bronchiolitis obliterans szindrómában szenvedő tüdőbetegekben.**
6. **A kilégzett levegő kondenzátum citokin mintázatának vizsgálata rosszindulatú tüdődaganatban és bronchiolitis obliterans szindrómában szenvedő tüdőbetegekben.**
7. **Az oxidatív stressz vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegségben a légúti malondialdehid koncentráció meghatározása alapján.**
8. **Eikozanoidok vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegségben szenvedő betegek köpetében.**

## 5. BETEGEK, MÓDSZEREK ÉS EREDMÉNYEK

A disszertációban ismertetett vizsgálatokat a vonatkozó etikai törvények és az *Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézet Etikai Bizottságának* engedélyével végeztük. A résztvevők minden esetben írásos beleegyező nyilatkozatot adtak.

### 5.1. A frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid mérés szerepének meghatározása a tüdőtranszplantált betegek pulmonalis szövődményeinek diagnosztikájában

#### 5.1.1. Légúti infekciók

##### 5.1.1.1. Betegek és vizsgálati protokoll

Longitudinális vizsgálatunkba kilenc, klinikailag és funkcionálisan stabil állapotú, nem dohányzó tüdőtranszplantált beteget vontunk be (5. táblázat). A vizsgálat kezdetekor a betegeknél a műtét óta eltelt átlagos idő  $8.5 \pm 3.4$  hónap volt. A FENO-mérésekre a rutin vagy a soron kívüli (sürgősségi) ambuláns vizitek alkalmával került sor. A vizsgálatban a betegek átlagos követési ideje  $27.0 \pm 3.2$  hónap volt. Betegenként átlagosan 16 vizit adatait rögzítettük (tartomány: 11-24). Összesen 148 FENO-mérést végeztünk.

5. táblázat  
A vizsgálati csoportok demográfiai és légzésfunkciós adatai

	Tüdőtranszplantáltak n = 9	Egészségesek n = 12
Életkor (év)	$28.2 \pm 1.9$	$28.5 \pm 4.1$
Nem (férfi/nő, n)	5 / 4	6 / 6
FEV <sub>1</sub> (%)	$85.1 \pm 4.4$	$99.4 \pm 11.6$
Alapbetegség (n, %)		-
CF	5 (56)	
IPF	1 (11)	
PPH	3 (33)	

Az adatok átlag $\pm$ SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. FEV<sub>1</sub>: forszírozott kilégzési térfogat 1 másodperc alatt, CF: cisztás fibrózis, IPF: idiopathiás tüdőfibrózis, PPH: primer pulmonalis hipertónia

Nyolc betegnél kétoldali tüdőtranszplantáció, egynél szív-tüdőtranszplantáció történt. A betegek rutinszerűen hármass immunszuppresszív kezelésben (prednisonon, mycopenolát mofetil és cyclosporin vagy tacrolimus) részesültek. Minden beteg rendszeres antibiotikus



profilaxist (trimethoprim sulphamethoxazole, heti 3 nap) is kapott. A kontroll csoportba 12 nem dohányzó, egészséges embert vontunk be, akiknél a megelőző 3 hét alatt akut légúti infekció nem volt, illetve krónikus betegségben sem szenvedtek (5. táblázat).

#### 5.1.1.2. Bronchoscopya

Minden transzplantált betegnél surveillance bronchoscopyára (BAL, TBB) került sor a műtétet követő 1., 2., 3., 6. és 12. hónapban a beteg állapotától függetlenül. A későbbiekben évente egy alkalommal történt surveillance bronchoscopya. Pulmonalis komplikáció gyanújakor a surveillance bronchoscopyáktól függetlenül sürgősségi hörgőtükrözés és mintavétel történt. A BAL-ból minden esetben baktérium-, vírus- és gombatenyésztés, valamint CMV kimutatás történt. A TBB minták szövettani kiértékelése a hatályos nemzetközi irányelvek és útmutatók szerint történt [250].

A vizsgálati periódus alatt három betegnek A1, míg egy betegnek A2 súlyosságú akut rejekciója volt (alacsony számuk miatt az akut rejekciók során mért FENO értékeket nem elemeztük). BOS-ra jellemző szövettani eltérést egy esetben sem észleltünk. A CMV infekciók vagy reaktivációk esetei kizárásra kerültek a vizsgálatból.

#### 5.1.1.3. Légúti infekciók diagnózisa és kezelése

A vizsgálat ideje alatt hat betegnek 1, kettőnek 3 és egynek 4 alkalommal volt légúti infekciója. Összesen 6 felső légúti (URTI) és 10 alsó légúti infekció (LRTI) fordult elő (6. táblázat).

Felső légúti infekciót (URTI) diagnosztizáltunk, ha a következő tünetek közül legalább négy fennállt: orrfolyás, orrdugulás, torokfájás, rekedtség, láz, tüszögés és fejfájás, anélkül, hogy a betegnél bármilyen funkcionális vagy radiológiai eltérés jelét láttuk volna. Az infekciókat két esetben kísérte leukocytosis és/vagy CRP szint emelkedés.

Az alsó légúti infekciók között (LRTI) kilenc betegnél az infekció tünetekkel járt, míg egy beteg tünetmentes volt. A szimptomás esetekben a diagnózist a következő kritérium alapján állítottuk fel: purulens köpetürítés, mellkasi fájdalom, dyspnoe vagy láz fennállása, amit vagy légzésfunkciós romlás (a FEV<sub>1</sub> érték több, mint 10%-os csökkenése) vagy radiológiai infiltrátum, esetleg mindkettő kísért. Az egyetlen tünetmentes betegnél a mellkas röntgenfelvételen pneumoniára jellemző beszűrődés volt látható, amit emelkedett WBC (>12×10<sup>9</sup>/L) és CRP érték (>150 mg/L) kísért.

Két felső légúti infekció (URTI) esetében tenyésztettünk ki kórokozót (*H. influenzae* és *S. aureus*) a torokváladékból. Az alsó légúti infekciók között (LRTI) négy esetben tudtunk

kórokozót kimutatni a köpetből (*S. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*) és három esetben a BAL-ból (*Enterococcus*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*). Egy esetben *P. aeruginosa* a haemokultúrából is kitenyésztett. Gomba infekció egyáltalán nem fordult elő.

6. táblázat  
A légúti infekcióban szenvedő tüdőtranszplantált betegek adatai

Betegek sorszám	Tünetek		Baktérium tenyésztés (BAL, köpet vagy torokváladék)	CRP ↑ és/vagy WBC ↑	FEV <sub>1</sub> ↓	Új eltérés a mellkas röntgenen
	URTI	LRTI				
1.	-	+	negatív	+	-	+
2.	-	-	negatív	+	-	+
3.	-	+	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+
4.	-	+	negatív	+	+	+
5.	+	-	<i>Hemophilus influenzae</i>	-	-	-
6.	+	-	negatív	-	-	-
7.	-	+	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	+	+	-
8.	-	+	<i>Enterococcus</i>	-	-	-
9.	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	-
10.	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	-
11.	+	-	negatív	+	-	-
12.	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	-	-
13.	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+
14.	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	-	+	-
15.	+	-	negatív	-	-	-
16.	+	-	negatív	-	-	-

FEV<sub>1</sub>: forszírozott kilégzési térfogat 1 másodperc alatt, LRTI: alsó légúti infekció, URTI: felső légúti infekció, BAL: bronchoalveolaris lavage, CRP: C-reaktív protein, WBC: fehérvérsejtszám

Két esetben az infekció egybeesett a surveillance bronchoscope időpontjával, ezekben az esetekben TBB is történt. A biopsziák szövettani vizsgálata akut kilökődést nem mutatott (A0B0). A légúti infekciók idején rögzített klinikai, laboratóriumi és tenyésztési adatokat a 6. táblázat mutatja.

Az infekciókat legalább 7 napig antibiotikumokkal kezeltünk. Egy betegnél a BAL-ból *Enterococcus* tenyésztett ki. Itt GERD-et igazoltunk és az antibiotikum mellé proton-pumpa gátlót is adtunk. Az antibiotikus terápia minden betegnél gyógyulást eredményezett, a csökkent FEV<sub>1</sub> értékek a stabil állapotban mért alapszintre tértek vissza. Azoknál a betegeknél, akiknél az infekció idején pulmonalis infiltrátumot láttunk, a kezelés után teljes radiológiai regressziót értünk el.

A labor-, a röntgen- és a légzésfunkciós vizsgálatokat, valamint a FENO és egyéb laboratóriumi méréseket minden infekció esetén két alkalommal végeztük el: először 1–2 nappal a klinikai tünetek megjelenése után, majd 2–3 hét múlva, amikor a betegek már tünetmentessé váltak. A légúti infekcióban szenvedő betegek esetében a vérsüllyedés és a CRP szint szignifikánsan csökkent a stabil állapothoz képest (7. táblázat). A légzésfunkciós értékek szintén romlottak az infekciók idején, bár a különbség nem volt szignifikáns.

7. táblázat  
A tüdőtranszplantált betegek légzésfunkciós és laboratóriumi értékei  
klinikailag stabil állapotban és légúti infekciók idején

	Stabil állapot	Infekció
<b>FVC (%)</b>	84.2 ± 5.2	78.7 ± 5.9
<b>FEV<sub>1</sub> (%)</b>	85.0 ± 4.4	76.8 ± 4.2
<b>MEF<sub>50</sub> (%)</b>	98.7 ± 8.8	89.6 ± 8.4
<b>Vérsüllyedés (mm/h)</b>	14.2 ± 2.7	26.5 ± 6.7*
<b>CRP (mg/L)</b>	5.5 ± 1.4	52.6 ± 23.6*
<b>WBC (×10<sup>9</sup>/L)</b>	8.6 ± 0.5	8.7 ± 0.9

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek. FVC: forszírozott vitálkapacitás, FEV<sub>1</sub>: forszírozott kilégzési térfogat 1 másodperc alatt, MEF<sub>50</sub>: maximális kilégzési áramlás az FVC görbe 50%-ánál mérve, CRP: C-reaktív protein, WBC: fehérvérsejtszám; \*p<0.05 vs. stabil állapot

#### 5.1.1.4. Légzésfunkciós vizsgálatok

A légzésfunkciós vizsgálatokat elektronikus spirométerrel (MEDICOR MS-11, Piston Kft., Budapest) végeztük az ATS hatályos iránymutatásának megfelelően [251].

#### 5.1.1.5. FENO-mérés

A FENO-méréseket kemilumineszcens analízátorral (Model LR2500; Logan Research, Rochester, UK) végeztük, hasonlóan a korábbi vizsgálatainkhoz [181,252]. A mérés orrklipp használata nélkül, a teljes tüdőkapacitás szintjéről indulva, 20–30 sec alatt, adott ellenállással szembeni (0.4±0.05 kPa) lassú kilégzési manőver (5–6 L/min) során történt. A kilégzési áramlás 250 mL/sec volt. Minden betegnél három sikeres mérés történt, a méréseket átlagoltuk.

Minden transzplantált betegnél az ún. *alapvonal*i FENO szintet a klinikailag stabil állapotban történt viziteken mért FENO értékek átlagaként határoztuk meg. Azoknál a betegeknél, akiknek egy infekciója volt a követési periódusban, az ekkor mért FENO értéket vettük alapul, míg azoknál a betegeknél, akiknek több infekciója volt, az infekciók során mért

FENO értékek álagát számítottuk ki és használtuk fel az összehasonlító elemzésekben. Az infekció idején a FENO szint emelkedését százalékos formában is megadtuk az alapvonalis FENO szinthez viszonyítva.

#### 5.1.1.6. Statisztikai analízis

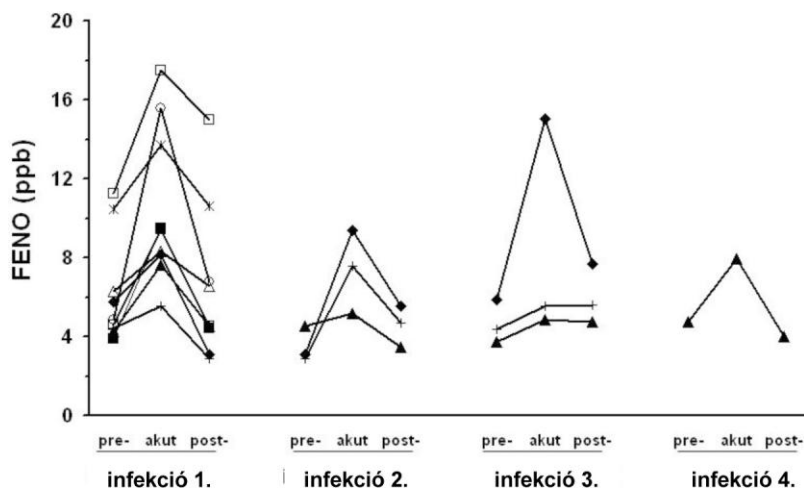
Az eredményeket átlag±átlag szórása (SEM) formában adtuk meg. A FENO értékek összehasonlítását egyutas varianciaanalízis (ANOVA) követő *Bonferroni* teszttel végeztük (GraphPad Prism 4.0, GraphPad Software Inc., San Diego, USA). A korrelációs számítások a *Pearson*-módszer szerint készültek. A FENO szintre vonatkozó szenzitivitás és a specificitás kiszámításakor a vágópontokat (*cut off*) az átlag±2-szeres szórás (SD) képlet alapján határoztuk meg. Szignifikáns eltérést  $p < 0.05$  esetén véleményyeztünk.

#### 5.1.1.7. Eredmények

Légúti infekciók idején a FENO szint szignifikánsan megemelkedett a klinikailag stabil, infekciómentes periódusban mért alapszinthez képest ( $7.6 \pm 1.1$  vs.  $10.8 \pm 1.3$  ppb;  $p < 0.05$ ). A FENO szint százalékban kifejezett emelkedése az infekció idején  $54.2 \pm 13.5\%$  volt, a százalékos emelkedés mértékében a felső és az alsó légúti infekciók között különbség nem mutatkozott (URTI:  $40.4 \pm 17.7$  vs. LRTI:  $64.9 \pm 19.7\%$ ;  $p > 0.05$ ). Az antibiotikus kezelés hatására a FENO értékek normalizálódtak, így az infekciók előtt és után mért értékek között szignifikáns különbséget nem tapasztaltunk ( $6.9 \pm 1.1$  vs  $7.4 \pm 1.3$  ppb,  $p > 0.05$ ; 21. ábra). A klinikailag stabil állapotban az egymást követő vizitek során mért FENO értékek variabilitása 8.2% volt (tartomány: 4.1–15.7).

Az infekciók kimutatására a FENO-mérés szenzitivitását és specificitását 57, illetve 96%-nak találtuk 4.04 ppb vágópont érték mellett. Az alapvonalis FENO értékek hasonlóak voltak a tüdőtranszplantált betegek csoportjában ( $7.6 \pm 1.1$  ppb, tartomány: 4.4–14.4) és az egészséges kontroll csoportban ( $6.0 \pm 0.5$  ppb, tartomány: 2.6–8.9;  $p > 0.05$ ). A műtéthez vezető diagnózis nem befolyásolta az alapvonalis FENO szintet vagy az infekciók gyakoriságát (adatokat nem mutatjuk).

A klinikailag stabil periódusban és az infekciós epizódok során a FENO értékek nem korreláltak a légzésfunkciós (FVC, FEV<sub>1</sub> és MEF<sub>50</sub>) paraméterekkel vagy a rutin laboratóriumi (CRP, WBC, vérsüllyedés) értékekkel (adatokat nem mutatjuk).



21. ábra. A FENO koncentrációjának individuális értékei a légúti infekcióban szenvedő tüdőtranszplantált betegekben

A FENO mérésekre minden esetben az infekciók előtt (pre), alatt (akut) és a gyógyulást követően 2–3 héttel (post) került sor. ppb: részecske per milliárd

## 5.1.2. BOS

### 5.1.2.1. Betegek és vizsgálati protokoll

2005 január és 2010 június között 30, kezdetben BOS 0 stádiumú, nem dohányzó tüdőtranszplantált betegnél végeztünk FENO-mérést az egyéb rutin vizsgálatok mellett az ambuláns kontroll vizitek alkalmával (8. táblázat). A betegek közül egy részesült szív-tüdőátültetésben, a többi beteg kétoldali tüdőátültetésen esett át. A vizsgálat kezdetekor a betegeknél a transzplantáció óta eltelt átlagos idő  $42.6 \pm 3.7$  hónap volt.

A betegek rutinszerűen hármas immunszuppresszív kezelésben (prednisolon, mycofenolat mofetil és cyclosporin [5 beteg] vagy tacrolimus [25 beteg]) részesültek, a korábbi vizsgálatainkban részletesen leírt protokollnak megfelelően [168]. Everolimus kezelésben öt beteg részesült, négy beteg kapott tartósan azitromycint BOS kialakulása miatt. Minden beteg rendszeres antibiotikus profilaxisban (trimethoprim sulphamethoxazole, heti 3 nap), valamint tartós  $H_2$ -receptor antagonistá (20 beteg) vagy proton-pumpa gátló (10 beteg) kezelésben részesült.

A betegek követése során a surveillance bronchoscopiákat és a kapcsolódó mintavételeket (BAL, TBB) az 5.1.1.2. pontban leírtak szerint végeztük.

A vizsgálat során a légúti infekciót, az akut rejekeciót vagy egyéb akut szövődeményt mutató eseteket kizártuk, analízisre kizárólag akut eseménytől mentes klinikai állapotú betegek FENO adatai kerültek. Betegenként átlagosan 38 (tartomány: 20 és 56 között) mérést

végeztünk. A vizsgálat során összesen 1137 mérés történt. Az átlagos követési idő  $50.8 \pm 2.5$  hónap volt.

8. táblázat  
A tüdőtranszplantált betegek demográfiai és klinikai adatai

	Tüdőtranszplantált betegek n = 30
<b>Életkor (év)</b>	38.2 ± 3.1
<b>Nem (férfi/nő, n)</b>	13 / 17
<b>Alapbetegség (n, %)</b>	
<b>CF</b>	13 (43)
<b>IPF</b>	5 (17)
<b>COPD</b>	5 (17)
<b>PPH</b>	4 (13)
<b>Egyéb</b>	3 (10)

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. CF: cisztás fibrózis, IPF: idiopathiás tüdőfibrózis, COPD: krónikus obstruktív tüdőbetegség, PPH: primer pulmonalis hipertónia

#### 5.1.2.2. BOS diagnosztika

A BOS diagnózisának felállítását az *International Society of Heart and Lung Transplantation* (ISHLT) megfelelő ajánlásaira alapoztuk [37]. A diagnózis felállítása során minden egyéb, potenciálisan légzésfunkciós romlást előidéző tényezőt kizártunk.

#### 5.1.2.3. Légzésfunkciós vizsgálatok és FENO-mérés

A légzésfunkciós vizsgálatokat az 5.1.1.4. fejezetben leírtaknak megfelelően végeztük. A FENO mérése az 5.1.1.5. fejezetben leírtak szerint, de 50 mL/sec kilégzési áramlás mellett az ATS/ERS 2005 évi ajánlása [253] alapján történt.

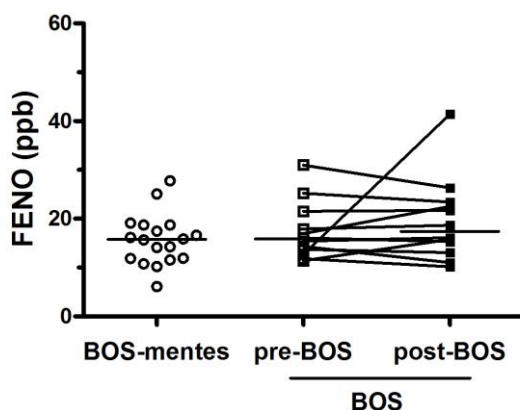
#### 5.1.2.4. Statisztikai analízis

Az eredmények átlag±SEM formában szerepelnek. Az adatelemzések során a *Kolmogorov–Smirnov* tesztet, *Student*-féle *t*-próbát és az ANOVA-t követő *Newman–Keuls* tesztet használtunk (GraphPad Prism). A különbségeket  $p < 0.05$  esetén tekintettük szignifikánsnak.

#### 5.1.2.5. Eredmények

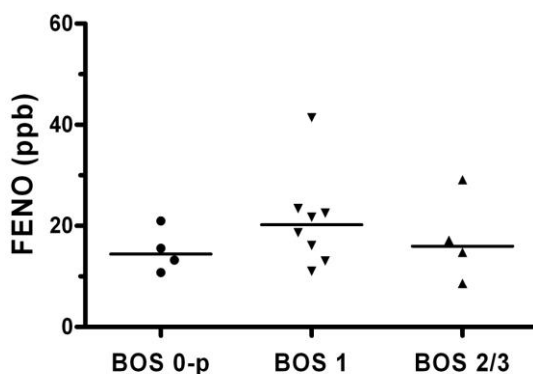
A követési időszak alatt a 30 betegből nyolc beteg került BOS 1 stádiumba, egy betegnél BOS 2, további három betegnél BOS 3 stádium alakult ki. A vizsgálat végén összesen 12 beteg tartozott a BOS csoportba. BOS 0-p stádiumba négy beteg tartozott (ezeket a betegeket

alacsony számuk miatt nem különítettük el, őket a BOS 0 csoportba tartozónak tekintettük). A követés során egy BOS 3 stádiumban lévő beteget veszítettünk el. A vizsgálat végére 18 beteg maradt BOS-mentes (BOS 0). A BOS-mentes betegek a vizsgálat befejezése után még legalább 6 hónapon át a BOS 0 stádiumban maradtak.



22. ábra. A FENO koncentrációja a tüdőtranszplantált betegekben

A FENO szintje a BOS-mentes (BOS 0, n=18) és a BOS szövödményét mutató (n=12) tüdőtranszplantált betegekben a BOS kialakulása előtt (pre-BOS) és utána (post-BOS). Az ábrákon lévő pontok az adott betegben mért FENO értékek átlagának felelnek meg. A vízszintes vonal az átlagértéket jelzi. ppb: részecske per milliárd

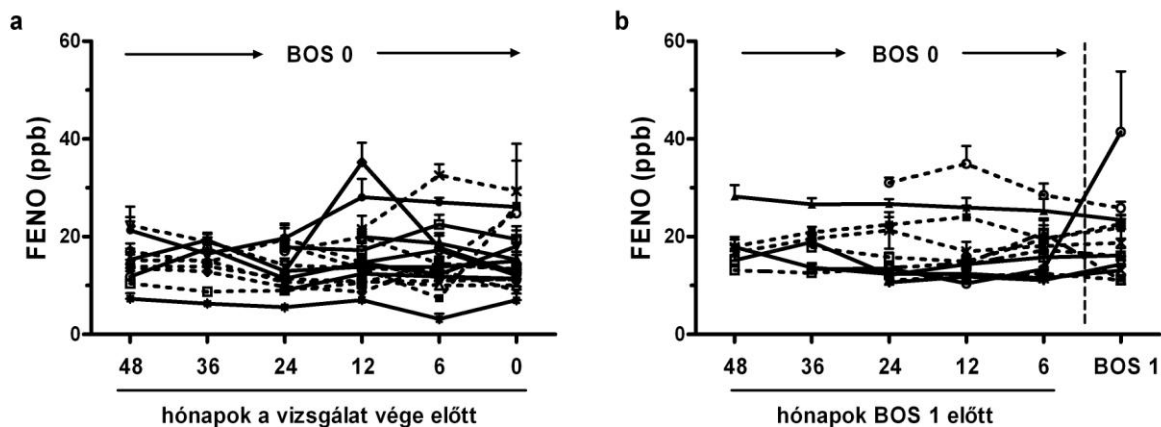


23. ábra. A FENO koncentrációja a különböző BOS stádiumokban

A FENO szintje a BOS 0-p (n=4), a BOS 1 (n=8) és a BOS 2/3 (n=4) stádiumban lévő tüdőtranszplantált betegekben. Az ábrákon lévő pontok az adott betegben mért FENO értékek átlagának felelnek meg. A vízszintes vonal az átlagértéket jelzi. ppb: részecske per milliárd

A FENO átlagértéke a BOS-mentes és a BOS szövödményét mutató betegcsoportban – a BOS kialakulása előtt és után – közel azonos volt (BOS 0:  $15.9 \pm 1.6$ , pre-BOS:  $16.7 \pm 1.3$  és post-BOS:  $19.6 \pm 2.5$  ppb,  $p > 0.05$ ; 22. ábra). A BOS csoporton belül a korai (BOS 1) és késői (BOS 2/3) stádiumba sorolt betegek FENO értékei sem különböztek egymástól szignifikánsan ( $p > 0.05$ ; 23. ábra). Hasonlóan, a BOS 1 stádiumába való átlépést megelőző 6 hónapon belüli FENO értékek sem különböztek ugyanazon betegek korábbi FENO értékeitől (adatokat nem mutatjuk).

A BOS-mentes (BOS 0) betegek közül hármat jellemzett viszonylag magas FENO érték. Ezekben a betegekben a vizsgálatot követő 6 hónapon belül sem alakult ki BOS (24. ábra). A BOS 1 stádiumba került betegek között egy betegnek volt viszonylagosan emelkedett FENO szintje.



24. ábra. A FENO koncentrációjának változása a tüdőtranszplantált betegekben

A FENO szint individuális változása a követési időszak alatt a BOS-mentes („a” panel, n=18) és a BOS 1 stádiumba került („b” panel, n=12) tüdőtranszplantált betegekben (a BOS 1 stádiumba került betegekből később 4 beteg BOS 2/3 stádiumba is került). Az ábrákon lévő pontok az adott betegben, az adott időszak alatt mért FENO értékek átlagának felelnek meg. A hibásávok a SEM-et mutatják. ppb: részecske per milliárd

## 5.2. A frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid koncentrációjának vizsgálata a krónikus obstruktív tüdőbetegség akut exacerbációjában, a mérés prediktív értékének meghatározása a betegek funkcionális válaszkészsége szempontjából

### 5.2.1. Betegek

A vizsgálatba 2008 január és 2008 december között akut exacerbáció miatt az *Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézetbe* kórházi felvételre került COPD-s betegeket vontunk be. Kizárási kritériumként szerepel (i) asztma vagy egyéb tüdőbetegség (pneumonia, pneumothorax [PTX], tüdődaganat, intersticiális tüdőbetegség, stb.) fennállása, (ii) súlyos veseelégtelenség vagy májbetegség, valamint (iii) szisztémás kortikoszteroid kezelés megkezdése a hospitalizáció előtt. A vizsgálatba bevont 58 beteg demográfiai és klinikai adatait a 9. táblázat foglalja össze. A csomag-év nem különbözött szignifikánsan az aktív dohányos és az ex-dohányos betegcsoport között ( $p=0.761$ ). A bevont betegek nagy része (83%) a hospitalizáció előtt tartósan ICS terápiában részesült.



9. táblázat  
**Az akut exacerbáció miatt hospitalizált COPD-s betegek  
 demográfiai és klinikai adatai**

	<b>Betegek n = 58</b>
<b>Életkor (év)</b>	61.8 ± 2.9
<b>Nem (férfi/nő, n)</b>	36 / 22
<b>Dohányzás</b>	
<b>Aktív dohányos (n, %)</b>	46 (79)
<b>Csomag-év</b>	38.1 ± 4.1
<b>Ex-dohányos (n, %)</b>	12 (21)
<b>Csomag-év</b>	40.4 ± 4.8
<b>ICS + (n, %)</b>	48 (83)
<b>ICS – (n, %)</b>	10 (17)
<b>Laboratóriumi leletek<sup>#</sup></b>	
<b>Vérsüllyedés (mm/h)</b>	32.5 ± 5.68
<b>WBC (×10<sup>9</sup>/L)</b>	13.1 ± 1.9
<b>CRP (mg/L)</b>	38.2 ± 11.1

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. ICS: inhalációs kortikoszteroid, CRP: C-reaktív protein, WBC: fehérvérsejtszám; <sup>#</sup>kórházi felvételtkor

Az exacerbáció diagnózisát a *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Diseases* (GOLD) megfelelő ajánlására alapoztuk [254]. Exacerbációnak tartottuk a beteg nehézlégzésének, köhögésének és/vagy köpetürítésének (mennyiségi vagy minőségi) rosszabbodását, amely az alapbetegség szokásos kezelésének megváltoztatását tette szükségessé. Minden beteg korábbi dokumentációjában obstruktív légzészavar (FEV<sub>1</sub><80% és poszt-bronchodilatátor FEV<sub>1</sub>/FVC<70%) fennállása szerepelt.

Dohányzóknak azokat a betegeket tartottuk, akik naponta legalább egy cigarettát szívtak el. Az ex-dohányos betegek a vizsgálatba való bevonás előtt legalább 6 hónappal abbahagyták a dohányzást. A FENO-mérést megelőző 12 órában egyetlen beteg sem dohányzott.

### 5.2.2. Vizsgálati protokoll

FENO, vérgáz és légzésfunkció mérésére két alkalommal került sor: először a betegek kórházi felvételekor, majd másodszor a kezelési periódus végén a betegek távozásakor. A rutin laboratóriumi vizsgálatok (WBC, CRP, vérsüllyedés) és a mellkas röntgen a betegek kórházi felvételének napján történtek. A vérgáz értékek meghatározása arterializált kapilláris vérből (fülcimpa) történt vérgázanalizátor (ABL 520, Radiometer, Koppenhága, Dánia) segítségével.

A betegek kórházi terápiáját a mindenkori kezelőorvos határozta meg. Minden beteg szisztémás (*i.v.* vagy *per os*) szteroid lökéskezelésben (átlagos metilprednizolon dózis:  $22.8 \pm 3.1$  mg/d) részesült, amelyet különböző rövid- és hosszú-hatású hörgőtágítókkal egészítettünk ki. A gépi porlasztású hörgőtágító kezelés során 8 beteg antikolinerg, míg 50 beteg  $\beta_2$ -agonistával kombinált antikolinerg gyógyszert kapott. Teofillin-készítményt 48, míg antibiotikumot 30 beteg kapott. Az intenzív ellátásra és/vagy gépi lélegeztetésre szoruló betegeket a vizsgálatból kizártuk. A beteget kezelő klinikusok a vizsgálatban közvetlenül nem voltak érintettek és a betegek FENO adatait sem ismerték.

### **5.2.3. Légzésfunkciós vizsgálatok és FENO-mérés**

A légzésfunkciós vizsgálatokat az 5.1.1.4. fejezetben leírtaknak megfelelően végeztük, míg a FENO mérése az 5.1.1.5. fejezetben leírtak szerint, de 50 mL/sec kilégzési áramlás mellett az ATS/ERS 2005 évi ajánlása [253] alapján történt.

### **5.2.4. Statisztikai analízis**

Az eredmények átlag $\pm$ SEM vagy geometriai közép (95%-os konfidencia intervallum [CI]) formában szerepelnek. Mivel a FENO értékek nem mutattak normál eloszlást (*Kolmogorov-Smirnov* teszt), az adatokat log-transzformált formában analizáltuk. A kórházi felvételkor és a távozáskor mért klinikai adatokat párosított *Student*-féle *t*-próbával hasonlítottuk össze. A dohányzás hatását párosítatlan *t*-teszttel vizsgáltuk. A korrelációs koefficienseket a *Pearson*-módszer szerint számoltuk. A szignifikáns FEV<sub>1</sub>-növekedést (>12% és >200mL) megjósoló optimális FENO vágópontot (*cut point*) az ún. *Receiver Operating Characteristic* (ROC) görbe analízis alapján határoztuk meg. Ha a ROC görbe alatti terület értéke 0.8 felett volt, a tesztet jó prediktív értékűnek tartottuk [255,256]. Számításainkat a GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.) statisztikai programmal végeztük. A különbségeket  $p < 0.05$  esetén tekintettük szignifikánsnak.

### **5.2.5. Eredmények**

Kórházi felvételkor a betegek súlyos ventilációs zavart, hipoxaemiát és emelkedett szisztémás gyulladási marker szinteket mutattak (9. és 10. táblázat). A kórházi kezelés során a betegek légzési státusza és oxigenizációja jelentősen javult.

10. táblázat  
Az akut exacerbáció miatt hospitalizált COPD-s betegek légzésfunkciós,  
FENO és vérgáz adatai

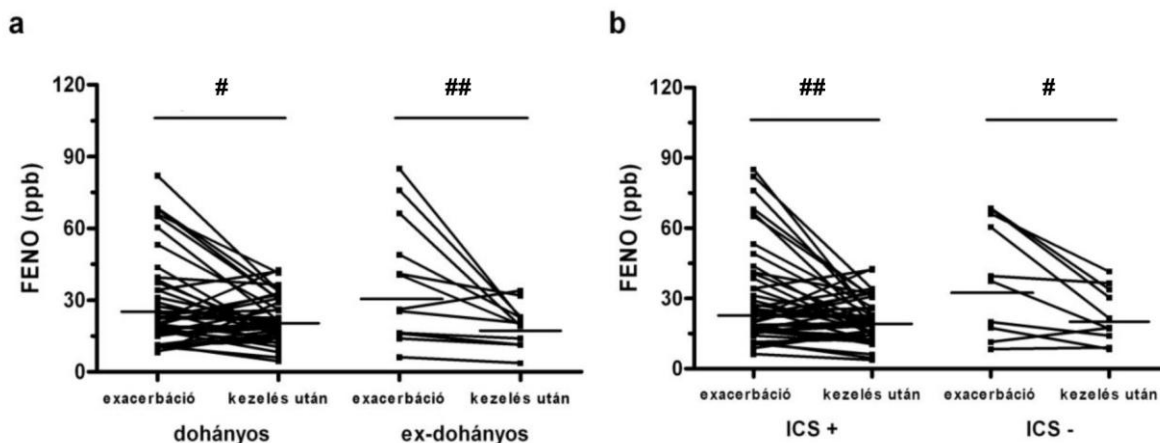
	Exacerbáció	Kezelés után	p érték
<b>FVC (L)</b>	2.13 ± 0.1	2.44 ± 0.1	<0.001
<b>FVC (%)</b>	72.4 ± 2.6	84.0 ± 2.7	<0.001
<b>FEV<sub>1</sub> (L)</b>	1.06 ± 0.07	1.26 ± 0.08	<0.001
<b>FEV<sub>1</sub> (%)</b>	45.1 ± 2.4	53.7 ± 2.9	<0.001
<b>FVC/FEV<sub>1</sub></b>	49.5 ± 1.7	50.9 ± 1.8	0.194
<b>FENO (ppb)<sup>#</sup></b>	25.3 (21.2-30.1)	19.7 (17.2-22.6)	0.002
<b>dohányos</b>	24.1 (20.1-29.1)	20.4 (17.6-23.6)	0.04
<b>ex-dohányos</b>	30.0 (18.2-49.6)	17.2 (11.9-25.1)	0.003
<b>ICS +</b>	24.2 (20.1-29.0)	19.1 (16.4-22.3)	0.005
<b>ICS –</b>	31.3 (17.8-55.1)	22.6 (13.4-20.1)	0.014
<b>pH</b>	7.39 ± 0.01	7.39 ± 0.01	0.780
<b>PaCO<sub>2</sub> (Hgmm)</b>	42.6 ± 1.6	44.3 ± 1.4	0.096
<b>PaO<sub>2</sub> (Hgmm)</b>	53.2 ± 1.7	62.8 ± 2.6	<0.001
<b>sO<sub>2</sub> (%)</b>	86.0 ± 2.0	91.0 ± 1.0	0.001

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. FVC: forszírozott vitálkapacitás, FEV<sub>1</sub>: forszírozott kilégzési térfogat 1 másodperc alatt, ICS: inhalációs kortikoszteroid, FENO: frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid, PaCO<sub>2</sub>: parciális szén-dioxid nyomás, PaO<sub>2</sub>: parciális oxigén nyomás, sO<sub>2</sub>: oxigén szaturáció, ppb: részecske per milliárd.  
<sup>#</sup>geometriai közép (95% CI)

A FENO koncentrációja szignifikánsan nőtt a kezelés során, függetlenül a betegek dohányzási státuszától, illetve attól, hogy korábban ICS terápiában részesültek vagy nem (10. táblázat, 25. ábra). A dohányos betegek FENO értéke kissé alacsonyabbnak mutatkozott az ex-dohányosokhoz képest, a különbség azonban nem volt szignifikáns (p=0.312). A betegek távozásakor a dohányos és az ex-dohányos betegek FENO értéke közel azonos volt (p=0.325). A tartósan ICS kezelésben részesült betegek FENO értéke felvételnél kissé alacsonyabb volt az ICS kezelésben nem részesültekéhez képest, azonban ez a különbség sem jelzett szignifikáns (p=0.26) eltérést. A férfiakban (26.2 [21.8-31.1] ppb) és a nőkben (24.4 [22.2-29.5] ppb) a FENO szint azonos volt (p=0.751).

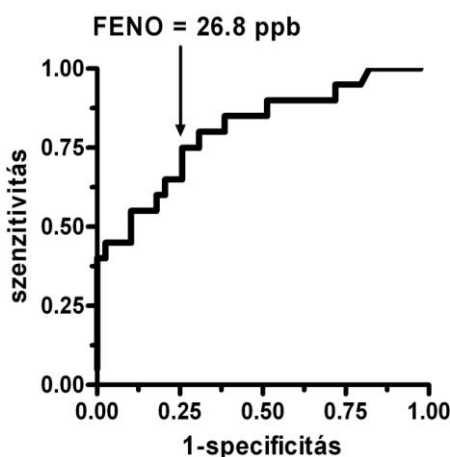
Vizsgálatunkban igen határozott pozitív korreláció mutatkozott a felvételnél mért FENO szint és a kezelés során elért FEV<sub>1</sub>-növekedés mértéke között ( $\Delta$ FEV<sub>1</sub>: r=0.441, p<0.001;  $\Delta$ FEV<sub>1</sub>%: r=0.377, p=0.003). Ez az összefüggés a dohányos ( $\Delta$ FEV<sub>1</sub>: r=0.403, p=0.008), az ex-dohányos ( $\Delta$ FEV<sub>1</sub>: r=0.654, p=0.001), az ICS terápiában részesült ( $\Delta$ FEV<sub>1</sub>: r=0.334, p=0.01) és terápiában nem részesült ( $\Delta$ FEV<sub>1</sub>: r=0.366, p=0.03) betegek között egyaránt kimutatható volt.

Az analízis során a kórházi kezelés eredményeként elért FENO szint változást is kiértékeltek. Hasonlóan a FENO szint és a FEV<sub>1</sub>-növekedés között tapasztalt korrelációhoz, a FENO szint változása is összefüggést mutatott a kezelést során elért FEV<sub>1</sub>-növekedés mértékével ( $\Delta$ FEV<sub>1</sub>:  $r=0.383$ ,  $p=0.037$ ;  $\Delta$ FEV<sub>1</sub>%:  $r=0.383$ ,  $p=0.028$ ). A korreláció mind a dohányos, mind az ex-dohányos betegek között igazolható volt (adatokat nem mutatjuk). Az FVC, a PaO<sub>2</sub> és az oxigén szaturáció (sO<sub>2</sub>) értéke nem mutatott korrelációt a FENO értékekkel vagy annak változásával (adatokat nem mutatjuk).



25. ábra. A FENO koncentrációjának változása az exacerbációban lévő COPD-s betegek kezelés során

A FENO szint („a” panel) dohányos és ex-dohányos, valamint („b” panel) inhalációs kortikoszteroid (ICS) terápiában részesült (+) és nem részesült (-) COPD-s betegekben akut exacerbáció idején és ennek kórházi kezelése után. A vízszintes vonal a geometrikus középértéket jelzi. # $p<0.05$  és ## $p<0.005$  exacerbáció vs. kezelés után. ppb: részecske per milliárd



26. ábra. A FENO mérés prediktív értékének meghatározása

A FENO szint mint a COPD akut exacerbációjának kezelése során elért szignifikáns FEV<sub>1</sub>-növekedést előrejelző marker a ROC görbe analízis alapján. Az optimális FENO vágópontot az ábrán bejelöltük. ppb: részecske per milliárd

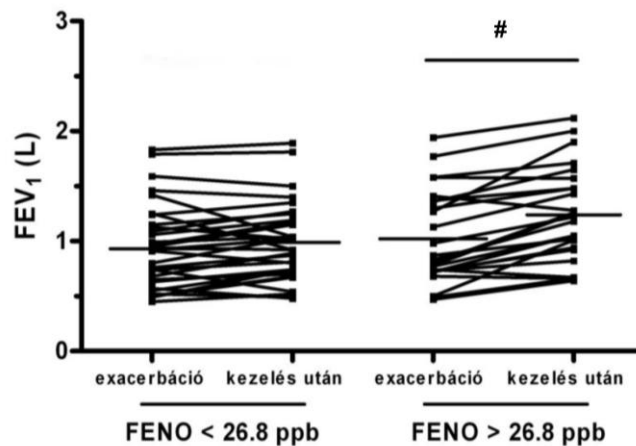
A ROC görbe alatti terület 0.82 volt, ami arra utal, hogy a FENO nagy bizonyossággal jósolja meg a kezelés során elérhető szignifikáns FEV<sub>1</sub>-növekedés mértékét. Az optimális vágópont

26.8 ppb-nél húzódott (26. ábra). A vizsgálómódszer szenzitivitása 74%, specificitása 75%, pozitív és negatív prediktív értéke 60, illetve 85% volt.

Az előzőekben számszerűsített vágópont felhasználásával további alcsoport analízis történt. Az alacsony FENO értékkel (<26.8 ppb) jellemzett alcsoportban (n=34) a FEV<sub>1</sub> értéke nem változott számottevően a kezelés során, míg a magas FENO értékkel (>26.8 ppb) jellemzett alcsoportban (n=24) a FEV<sub>1</sub> értéke szignifikánsan nőtt a betegek távozásakor a felvételkor mért értékhez képest (27. ábra).

Más vizsgálatokkal való összehasonlíthatóság céljából meghatároztuk a FENO-mérés prediktív értékét egy tetszőlegesen megválasztott magas (50 ppb) vágópont kiválasztása esetén is. A teszt szenzitivitása 24%, specificitása 92%, pozitív és negatív prediktív értéke ebben az esetben 75, illetve 77% volt.

Betegeinknél a kórházi tartózkodás átlagos ideje 10.8±0.5 nap volt. A kórházban töltött napok száma szignifikáns negatív korrelációt mutatott a felvételkor mért FENO koncentrációval ( $r=-0.297$ ,  $p=0.016$ ). A FENO és a légzésfunkciós paraméterek abszolút értéke között sem felvételkor, sem távozásakor korreláció nem volt (adatokat nem mutatjuk).



27. ábra. A FEV<sub>1</sub>-változás mértéke a különböző FENO szinttel jellemzett betegekben

Az exacerbáció kezelése során elért FEV<sub>1</sub>-változás a kórházi felvételkor 26.8 ppb-nél alacsonyabb, valamint 26.8 ppb-nél magasabb FENO koncentrációval jellemzett COPD-s betegekben. A vízszintes vonal az átlagértéket jelzi. # $p<0.001$  exacerbáció vs. kezelés után. ppb: részecske per milliárd

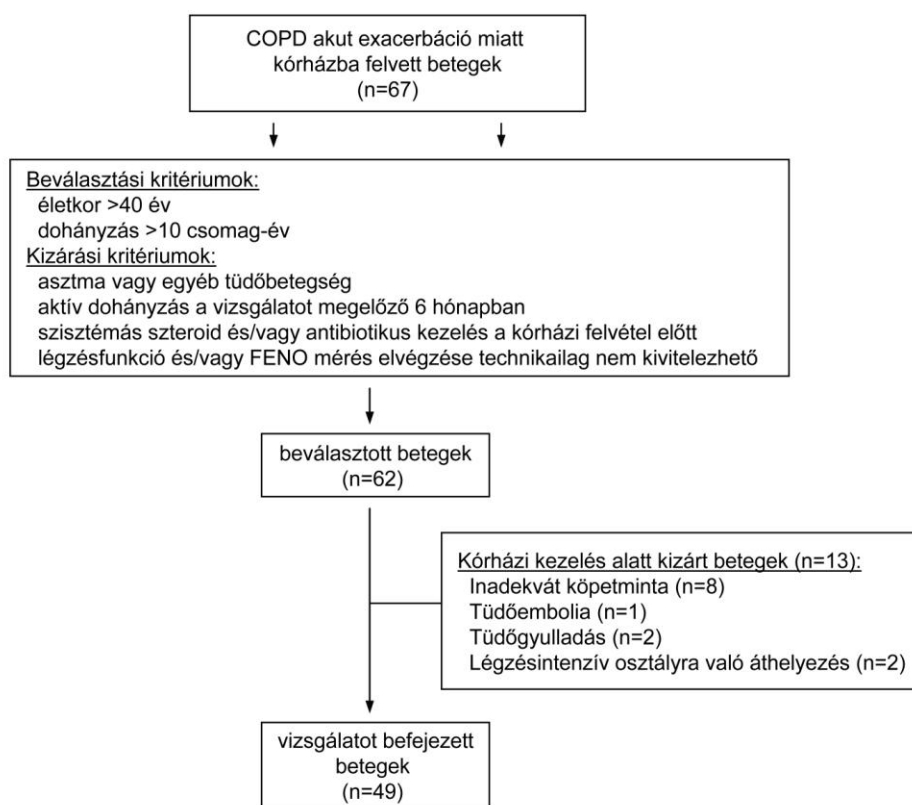
### 5.3. A frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid és a köpet sejtprofil kapcsolatának vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegség akut exacerbációjában

#### 5.3.1. Betegek

A vizsgálatba bevont betegek mindannyian COPD akut exacerbáció miatt kerültek kórházi felvételre az Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézetbe. Beválasztási kritériumként

szerepelt (i) COPD akut exacerbáció diagnózisa, (ii) életkor >40 év, valamint (iii) >10 csomag-év a dohányzási anamnézisben (28. ábra).

Az exacerbáció diagnózisát a GOLD megfelelő ajánlására alapoztuk [254]. Akut exacerbációnak tekintettük a beteg nehézlégzésének, köhögésének és/vagy köpetürítésének (mennyiségi vagy minőségi) rosszabbodását, ami az alapbetegség fenntartó kezelésének megváltoztatását tette szükségessé. A vizsgálatban kizárási kritériumként szerepelt (i) asztma vagy egyéb tüdőbetegség (pneumonia, PTX, tüdődaganat, interstitialis tüdőbetegség, stb.) fennállása, (ii) szisztémás kortikoszteroid vagy antibiotikus kezelés a hospitalizáció előtt, (iii) súlyos nehézlégzés, amely kizárta a légzésfunkciós mérés, illetve a köpet gyűjtés elvégzését, valamint (iv) az aktív dohányzás a vizsgálatot megelőző 6 hónapban.



28. ábra. A vizsgálat folyamatábrája

### 5.3.2. Vizsgálati protokoll

A vizsgálat során 67 beteg került szűrésre, 62 betegnél teljesültek a beválogatási kritériumok. A kórházi kezelés során 13 beteg kizárássra került a vizsgálatokból (28. ábra). A vizsgálatok végezetül 49 beteg esetében zárultak le, e betegek demográfiai és klinikai adatait a *II. táblázatban* foglaltuk össze.

11. táblázat  
Az akut exacerbáció miatt hospitalizált COPD-s betegek demográfiai és klinikai adatai

	Betegek n = 49
Életkor (év)	68.8 ± 1.3
Nem (férfi/nő, n)	29 / 20
Csomag-év	36.8 ± 5.3
<b>GOLD stádium (n,%)</b>	
<b>I.</b>	3 (6)
<b>II.</b>	15 (31)
<b>III.</b>	19 (39)
<b>IV.</b>	12 (24)
<b>Pulmonológiai gyógyszeres kezelés<sup>#</sup> (n,%)</b>	
<b>ICS</b>	37 (76)
<b>LABA</b>	41 (84)
<b>LAMA</b>	29 (59)
<b>Laboratóriumi leletek<sup>§</sup></b>	
<b>WBC (×10<sup>9</sup>/L)</b>	11.0 ± 0.7
<b>CRP (mg/L)</b>	56.4 ± 10.3

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. ICS: inhalációs kortikoszteroid, LABA: hosszú-hatású β<sub>2</sub>-agonista, LAMA: hosszú-hatású antikolinergikum, CRP: C-reaktív protein, WBC: fehérvérsejt szám; <sup>#</sup>kórházi felvétel előtt, <sup>§</sup>kórházi felvételnél

A köpet gyűjtésére, valamint a FENO, a vérgáz és a légzésfunkciós vizsgálatok elvégzésére két alkalommal került sor: először a betegek kórházi felvételekor, majd másodszor a kezelési periódus végén, a betegek kórházi távozását megelőzően. A rutin laboratóriumi vizsgálatok, a mellkas röntgen és a vérgáz értékek mérése az 5.2.2. pontban leírtak szerint történt. A betegek kórházi terápiáját a mindenkori kezelőorvos határozta meg. A kezelőorvosok a vizsgálatban közvetlenül nem voltak érintettek, a betegek FENO és köpet sejtprofil adatait sem ismerték.

### 5.3.3. Légzésfunkciós vizsgálatok és FENO-mérés

A légzésfunkciós vizsgálatokat az 5.1.1.4. pont, míg a FENO-méréseket az 5.1.1.5. fejezetben leírtak szerint 50 mL/sec áramlási sebesség mellett végeztük.

### 5.3.4. Köpet gyűjtés, feldolgozás és kiértékelés

A spontán köpet gyűjtése a reggeli órákban történt, a feldolgozást minden esetben a gyűjtést követően 2 órán belül elvégeztük. A köpetmintákat először dithiothreitol (DTT)-tartalmú

(0.1%) foszfát-puffer hozzáadásával homogenizáltuk, majd egy 40 µm-es szűrőn szűrtük át és centrifugáltuk. A mintát akkor tartottuk megfelelőnek, ha a szájúregi kontaminációt jelző laphámsejtek aránya 20%-nál kisebb volt. A *May-Grünwald-Giemsa* oldattal megfestett citospineken differenciált sejtszámlálást végeztünk. Citospinenként legalább 400 gyulladós sejtet számoltunk meg. Vizsgálati eredményként a különböző sejttípusokat százalékos arányban adtuk meg az összes (nem laphám eredetű) gyulladós sejt számához viszonyítva.

### 5.3.5. Statisztikai analízis

Az adatok átlag±SEM vagy medián (interkvartilis tartomány) formában szerepelnek. Az adatok eloszlását a *Kolmogorov-Smirnov* teszttel vizsgáltuk. A kórházi felvételnél és a távozáskor mért adatokat párosított *Student*-féle *t*-próbával (parametrikus adatok) vagy *Wilcoxon* előjeles rang-próbával (nem parametrikus adatok) hasonlítottuk össze. A korrelációs koefficienseket a *Spearman*-módszer szerint számoltuk. Az exacerbáció idején, a köpet eosinophiliát (>3% köpet eosinophilsejtszám) megjósoló optimális FENO és perifériás vér eosinophilsejtszám vágó pontokat a ROC görbe alapján határoztuk meg. A köpet eosinophiliának a kezelés során elért szignifikáns FEV<sub>1</sub>-növekedésre (>12% és >200mL) vonatkozó prediktív értékét szintén a ROC görbe alapján határoztuk meg. Ha a ROC görbe alatti terület értéke 0.8 felett volt, a tesztet jó prediktív értékűnek tartottuk [255,256]. A power-analízis során  $\alpha=0.05$  és hatásnagyság (*effect size*)=0.91 értékekkel számoltunk. A számításokat a GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.) és a G\*Power 3.1.1 (G\*Power Software Inc., Kiel, Németország) statisztikai programokkal végeztük. A különbségeket  $p<0.05$  esetén tekintettük szignifikánsnak.

### 5.3.6. Eredmények

Kórházi felvételnél a betegek súlyos ventilációs zavart, hipoxaemiát és emelkedett szisztémás gyulladós marker szinteket mutattak (11. és 12. táblázat). A kezelés során minden beteg szisztémás (*i.v.* vagy *per os*) szteroid lökéskészítésben (átlagos metilprednizolon dózis: 26.1±4.8 mg/d) részesült, melyet különböző rövid- és hosszú-hatású hörgőtágítókkal egészítettünk ki. A betegek 88%-a kapott oxigént. Antibiotikum terápiaiban 28 beteg részesült. Az átlagos ápolási idő 11.2±0.8 nap volt. A kórházi kezelés után a betegek légzési státusza javult, a FENO értéke pedig szignifikánsan csökkent (12. táblázat).



12. táblázat

Az akut exacerbáció miatt hospitalizált COPD-s betegek légzésfunkciós, FENO, vérgáz és köpet sejtprofil adatai

	Exacerbáció	Kezelés után	p érték
<b>FVC (L)</b>	1.96 ± 0.11	2.16 ± 0.13	0.013
<b>FVC (%)</b>	72.1 ± 3.3	79.9 ± 3.4	0.002
<b>FEV<sub>1</sub> (L)</b>	0.94 ± 0.07	1.12 ± 0.09	<0.001
<b>FEV<sub>1</sub> (%)</b>	43.6 ± 3.1	51.9 ± 3.3	<0.001
<b>FVC/FEV<sub>1</sub> (%)</b>	48.2 ± 2.4	51.7 ± 2.6	0.048
<b>FENO (ppb)<sup>#</sup></b>	11.1 (6.2-20.8)	9.5 (6.3-15.8)	0.012
<b>ICS +</b>	10.0 (4.4-19.2)	9.2 (5.8-17.1)	0.024
<b>ICS –</b>	15.5 (8.3-29.9)	10.3 (5.9-14.8)	0.031
<b>pH</b>	7.40 ± 0.01	7.39 ± 0.01	0.515
<b>PaCO<sub>2</sub> (kPa)</b>	5.40 ± 0.24	5.92 ± 0.23	0.061
<b>PaO<sub>2</sub> (kPa)</b>	6.98 ± 0.23	7.57 ± 0.19	0.036
<b>Köpet<sup>#</sup></b>			
<b>Teljes sejtszám (×10<sup>6</sup>/g)</b>	2.33 (1.15-4.33)	1.38 (0.63-2.32)	<0.005
<b>Neutrophil granulocyta (×10<sup>6</sup>/g)</b>	2.45 (1.05-5.94)	1.41 (0.68-2.65)	0.023
<b>Macrophag (×10<sup>5</sup>/g)</b>	0.49 (0.24-1.04)	0.44 (0.11-0.91)	0.498
<b>Lymphocyta (×10<sup>5</sup>/g)</b>	0.84 (0.36-1.34)	0.39 (0.21-0.58)	<0.005
<b>Eosinophil granulocyta (×10<sup>4</sup>/g)</b>	0.56 (0-6.2)	0.21 (0-2.7)	0.202

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. FVC: forszírozott vitálkapacitás, FEV<sub>1</sub>: forszírozott kilégzési térfogat 1 másodperc alatt, ICS: inhalációs kortikoszteroid, FENO: frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid, ppb: részecske per milliárd, PaCO<sub>2</sub>: parciális szén-dioxid nyomás, PaO<sub>2</sub>: parciális oxigén nyomás. <sup>#</sup>medián (interkvartilis tartomány)

A köpet összes sejtszáma, valamint a neutrophil- és a lymphocytasejtszáma szignifikánsan csökkent a kezelés során (12. táblázat). A gyulladásosejtek százalékos megoszlása a köpetben ugyanakkor hasonló volt a felvételkor és a távozáskor (adatokat nem mutatjuk).

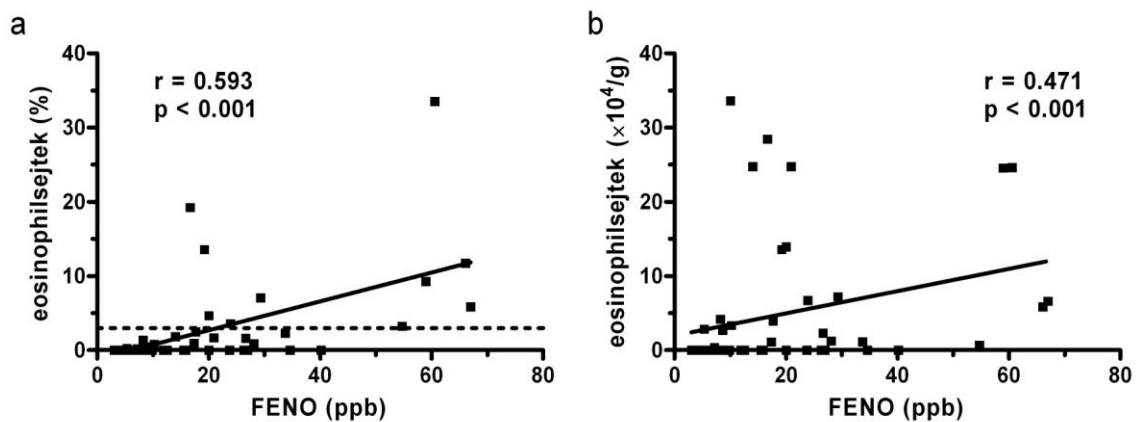
Köpet eosinophiliát (>3%) 10 betegnél tapasztaltunk. E betegekben a köpetnek mind az abszolút (10.4 [6.2-24.6] vs. 0.21 [0-8.5] ×10<sup>4</sup>/g, p<0.014), mind pedig a százalékos (8.2 [3.4-16.4] vs. 0.9 [0.5-10.9]%, p=0.037) eosinophilsejtszáma csökkent a kezelés során. A köpet eosinophiliát nem mutató betegekben (n=39) az eosinophilsejtek száma nem változott a kezelési periódus alatt (adatokat nem mutatjuk).

Mind a köpet eosinophiliával rendelkező (FEV<sub>1</sub>: 1.0±0.17 vs. 1.3±0.2 L, p=0.036; FEV<sub>1</sub> %: 42.9±5.0 vs. 57.1±6.8%, p=0.027), mind pedig a köpet eosinophiliával nem rendelkező betegcsoportban (FEV<sub>1</sub>: 0.8±0.02 vs. 0.95±0.06 L, p=0.007; FEV<sub>1</sub> %: 42.5±2.9 vs. 44.6±2.9%, p=0.005) a FEV<sub>1</sub> értéke szignifikánsan nőtt a kórházi kezelés során. Megjegyzendő azonban, hogy a FEV<sub>1</sub>-növekedés mértéke nagyobb volt a köpet eosinophiliát mutató alsó csoportban (ΔFEV<sub>1</sub>: 0.35±0.12 vs. 0.13±0.04 L, p=0.046; ΔFEV<sub>1</sub> %: 16.5±4.3 vs. 7.1±2.3%, p=0.042). A köpet eosinophiliát mutató és nem mutató betegek között standardizált

FEV<sub>1</sub>-különbség (literben és százalékban mérve) kimutatására a vizsgálat ereje 81 és 83% volt.

A betegek FEV<sub>1</sub>-növekedésének mértékét a korábbi vizsgálatunkban [257] meghatározott FENO vágópont (26.8 ppb) figyelembevételével is meghatároztuk. A korábbi eredményeinkhez hasonlóan a FEV<sub>1</sub>-növekedés mértéke nagyobb volt a magas (>26.8 ppb) FENO értékű betegekben az alacsony (<26.8 ppb) FENO értékű betegekhez képest ( $\Delta$ FEV<sub>1</sub>: 0.32±0.13 vs. 0.11±0.04 L, p=0.04;  $\Delta$ FEV<sub>1</sub> %: 15.4±4.1 vs. 5.5±1.9%, p=0.022).

Vizsgálatunkban szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a köpet eosinophilejtek százalékos megoszlása és a FENO szint között mind az exacerbáció idején (r=0.593, p<0.001; 29. ábra), mind a kezelés után (r=0.337, p=0.044). Szignifikáns korreláció volt az eosinophilejtek abszolút száma és a FENO koncentráció között is (exacerbáció: r=0.471, p<0.001, 29. ábra; kezelés után: r=0.339, p=0.041). A korreláció kimutathatóságát nem befolyásolta a betegek ICS státusza a kórházi felvétel előtt (ICS+: r=0.551, p<0.001 köpet eosinophilejt százalékos arányra; ICS-: r=0.611, p<0.001 köpet eosinophilejt százalékos arányra). A köpet neutrophil granulocytá-, macrophag- és lymphocytasejtszáma a FENO adatokkal nem korrelált (adatokat nem mutatjuk).



29. ábra. A FENO koncentrációjának és a köpet eosinophilejtszámának összefüggése COPD exacerbációban

A FENO koncentráció és a köpet százalékos („a” panel), valamint abszolút („b” panel) eosinophilejtszáma közötti kapcsolat COPD akut exacerbáció miatt hospitalizált betegekben kórházi felvételkor. A szaggatott vonal az „a” panelen a 3%-os köpet eosinophiliát jelzi. ppb: részecske per milliárd

A ROC görbe analízis alapján a FENO jó prediktív értékű biomarkernek bizonyult a köpet eosinophilia prognózisa szempontjából (13. táblázat). Az analízist 1 és 2%-os eosinophilejtszámra vonatkoztatva is elvégeztük. Jóllehet a vágópontok kissé alacsonyabbak voltak, a teszt szenzitivitása és specificitása lényegesen nem változott. A

FEV<sub>1</sub>-növekedés előrejelzése szempontjából a köpet eosinophiliára (>3%) vonatkoztatva a ROC görbe alatti terület 0.72 volt.

13. táblázat  
A FENO mérés szenzitivitása és specificitása a köpet eosinophilia kimutathatósága szempontjából COPD exacerbációban

Köpet eosinophilia	ROC AUC	FENO vágópont (ppb)	Szenzitivitás (%)	Specificitás (%)
>3%	0.89	19.0	90	74
>2%	0.88	17.5	90	75
>1%	0.86	16.3	87	78

FENO: frakcionált kilégtett nitrogén-monoxid, ppb: részecske per milliárd, ROC AUC: a Receiver Operating Characteristic (ROC) görbe alatti terület

A vér százalékos eosinophilsejtszáma nagyobb volt a köpet eosinophiliát mutató betegekben a köpet neutrophiliát mutató betegekhez képest ( $3.0 \pm 1.3$  vs.  $0.8 \pm 0.03\%$ ,  $p=0.016$ ). A köpet eosinophiliát (exacerbáció idején) a vér százalékos eosinophilsejtszáma azonban csak gyenge prediktív értékkel vetítette előre (ROC görbe alatti terület: 0.65). Az optimális vágópontnál (3.5%) a teszt szenzitivitása és specificitása 44, illetve 94% volt.

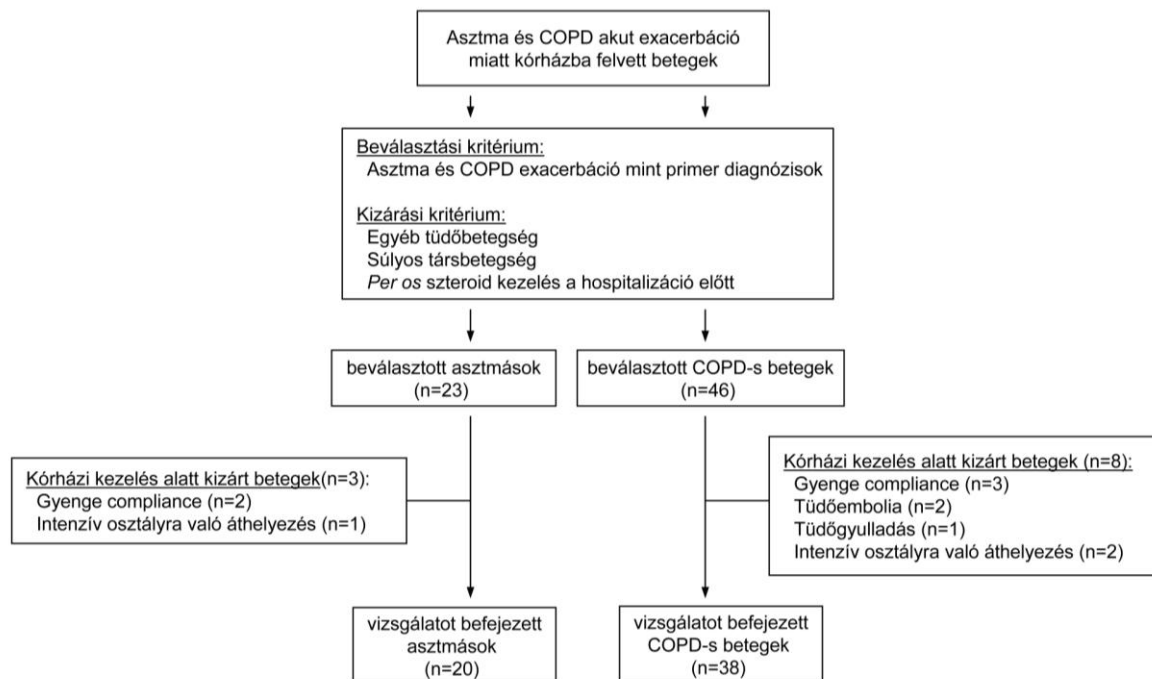
#### 5.4. A kilégtett levegő kondenzátum pH-jának vizsgálata asztma és krónikus obstruktív tüdőbetegség akut exacerbációjában

##### 5.4.1. Betegek

A vizsgálat az *Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézetben* az akut exacerbáció miatt felvételre került asztmás és COPD-s betegekre terjedt ki (30. ábra). A vizsgálatba összesen 20 nem dohányos asztmás és 21 dohányos, valamint 17 ex-dohányos COPD-s beteg került bevonásra. A kizárási kritériumok megegyeztek az 5.2.1. fejezetben leírtakkal. A felvételt megelőzően 14 asztmás és 30 COPD-s beteg részesült tartósan ICS terápiában.

Az asztma diagnózisát a nemzetközi ajánlásoknak megfelelően állítottuk fel [19]. A 20 asztmás beteg közül 3 betegnek súlyos perzisztáló, 8 betegnek középsúlyos perzisztáló, 7 betegnek enyhe perzisztáló és 3 betegnek enyhe intermittáló asztmája volt. Mindegyik asztmás atópiás volt, amit pozitív bőrpróba (*Prick-teszt*) alapján állapítottunk meg. Asztma exacerbációnak tartottuk a beteg légzési panaszainak (nehézlégzés, sípoló légzés, köhögés) azon rosszabbodását, amely nem javult a fenntartó kezelés során rutinszerűen adott

gyógyszerekre. A rosszul kooperáló, intenzív ellátásra vagy gépi lélegeztetésre szoruló betegeket a vizsgálatból kizártuk.



30. ábra. A vizsgálat folyamatábrája

A COPD-t a dohányzás következtében kialakuló, progresszív, nagyrészt irreverzibilis légúti obstrukcióval járó krónikus tüdőbetegségként definiáltuk, a nemzetközi ajánlásoknak megfelelően [258]. Minden beteg korábbi dokumentációjában obstruktív légzéscsökkentés (FEV<sub>1</sub><80% és poszt-bronchodilatátor FEV<sub>1</sub>/FVC<70%) fennállása szerepelt. A 38 beteg közül 14 beteg nagyon súlyos (IV. stádium), 17 súlyos (III. stádium) és 7 közepsúlyos (II. stádium) COPD-s volt. Dohányzóknak azokat a betegeket tartottuk, akik naponta legalább egy cigarettát szívtak el. Az ex-dohányos betegek a vizsgálatba való bevonás előtt legalább 6 hónappal abbahagyták a dohányzást. A kondenzátum gyűjtést és a FENO-mérést megelőző 12 órában egyetlen beteg sem dohányzott.

A COPD akut exacerbáció diagnózisát az irányadó GOLD ajánlására alapoztuk [258]. Akut exacerbációnak tartottuk a beteg nehézlégzésének, köhögésének és/vagy köpetürítésének (mennyiségi vagy minőségi) rosszabbodását, amely az alapbetegség fenntartó kezelésének megváltoztatását tette szükségessé. A vizsgálatba csak II. súlyossági fokozatba tartozó exacerbációs epizódok kerültek bevonásra. A gyengén kooperáló vagy intenzív ellátásra (gépi lélegeztetésre) szoruló betegeket (III. súlyossági fokozat) a vizsgálatból kizártuk.

A kontroll csoportot 18 dohányzó és 18 nem dohányzó egészséges személy alkotta. A kontroll személyeknél atópia, akut vagy krónikus tüdőbetegség nem állt fenn és legalább 4

hétre visszamenőleg légúti infekciójuk sem volt. Az egészségesek gyógyszeres kezelésben nem részesültek. A vizsgálatba bevont betegek és egészséges önkéntesek klinikai és demográfiai adatait, illetve dohányzási szokásait a 14. táblázatban tüntettük fel. A dohányos és ex-dohányos egészséges csoport, illetve COPD-s csoport csomag-év indexe szignifikánsan nem különbözött egymástól ( $p > 0.05$ ).

14. táblázat  
Az akut exacerbáció miatt hospitalizált asztmás és COPD-s betegek,  
illetve egészséges kontroll személyek demográfiai és klinikai adatai

	Asztma n = 20	COPD n = 38	Kontroll n = 36
<b>Nem (férfi/nő, n)</b>	10 / 10	20 / 18	18 / 18
<b>Életkor (év)</b>	56.5 ± 4.1	64.5 ± 2.4	59.9 ± 3.8
<b>Dohányzás</b>			
Aktív dohányos (n)	0	21	18
Csomag-év	-	42.4 ± 2.3	40.2 ± 3.5
Ex-dohányos (n)	0	17	0
Csomag-év	-	39.5 ± 4.4	-
Nem dohányzó (n)	20	0	18
<b>EBC minták (n)</b>			
EcoScreen	40	76	36
R-Tube	-	24	36
<b>Laboratóriumi leletek<sup>#</sup></b>			
WBC ( $\times 10^9/L$ )	10.0 ± 1.1	10.0 ± 0.8	-
Vérsüllyedés (mm/h)	20.7 ± 3.6	32.2 ± 5.2	-
CRP (mg/L)	23.2 ± 9.1	29.2 ± 8.9	-
Eosinophilejtek (%)	3.9 ± 1.4*	1.1 ± 0.3	-

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. EBC: kilégtett levegő kondenzátum, CRP: C-reaktív protein, WBC: fehérvérsejt szám; <sup>#</sup>kórházi felvételtkor, \* $p < 0.05$  vs. COPD-s betegek

#### 5.4.2. Vizsgálati protokoll

Az EBC gyűjtésére, a FENO, a vérgáz és a légzésfunkció mérésére két alkalommal került sor: először a betegek kórházba kerülésekor, majd másodszor a kezelési periódus végén, a betegek távozásakor. A mellkas röntgen, a rutin laboratóriumi vizsgálatok és vérgáz mérése az 5.2.2. pontban leírtaknak megfelelően történt.

A betegek kórházi terápiáját a mindenkori kezelőorvos határozta meg. Minden beteg szisztémás (*i.v.* vagy *per os*) szteroid lökéskészítésben (átlagos metilprednizolon dózis: 24.4±3.7 mg/d) részesült, amelyet különböző rövid- és hosszú-hatású hörgőtágítókkal egészítettünk ki. Az asztmás betegek hörgőtágítóként  $\beta_2$ -agonistákat kaptak. A COPD-s

betegek közül 8 beteg antikolinergikumot, míg 30 beteg kombináltan  $\beta_2$ -agonista és antikolinerg gyógyszereket kapott. Teofillin készítményt 28 COPD-s és 15 asztmás beteg kapott, antibiotikum kezelésben 17 COPD-s beteg részesült. A kezelőorvosok a vizsgálatban közvetlenül nem voltak érintettek és nem ismerték a betegek pH-mérési adatait sem.

#### **5.4.3. EBC gyűjtése**

Az EBC gyűjtése EcoScreen (Jaeger, Hoechberg, Németország) és R-Tube (Respiratory Research Inc., Charlottesville, VA, USA) típusú kondenzátorokkal, konstans körülmények között történt. A gyűjtés alatt az alanyok orrcsipesz használata nélkül, nyugalmi frekvenciával és légzési térfogattal lélegeztek 10 percen át. Az R-Tube típusú kondenzáló berendezésnek a külső fém hengerét  $-80^\circ\text{C}$ -on tároltuk a gyűjtés előtt. Az EcoScreen kondenzátor használata során a mintagyűjtés  $-20^\circ\text{C}$ -on történt. A pH-mérések előtt a mintákat  $-80^\circ\text{C}$ -on tároltuk, az átlagos tárolási idő  $2.9 \pm 5.5$  hónap volt.

A különböző csoportokban és eszközökkel gyűjtött minták számát a 14. táblázatban foglaltuk össze. Az EcoScreen eszközzel minden asztmás és COPD-s betegből gyűjtöttünk mintát. 12 COPD-s betegből R-Tube kondenzátorral is történt mintavétel. A kontroll csoportban mindkét kondenzátorral gyűjtöttünk mintát. A vizsgálat során összesen 212 EBC mintát gyűjtöttünk.

#### **5.4.4. EBC pH-jának meghatározása**

Az EBC pH-ját a laboratóriumunkban korábban kifejlesztett  $\text{CO}_2$ -standardizációs módszerrel mértük (3.4.3. fejezet) [148]. A mintákat rövid ideig ( $\sim 1$  sec)  $\text{CO}_2$  gázzal buborékolattuk át, összesen négy alkalommal. Minden egyes átbuborékolatás után az EBC egy *aliquot* mennyiségű részletéből vérgázanalizátor segítségével (ABL 520) parallel pH- és  $\text{pCO}_2$ -méréseket végeztünk. Az adatokból minden egyes EBC mintához felvettünk egy pH- $\text{pCO}_2$  görbét, majd kiszámoltuk az 5.33 kPa  $\text{pCO}_2$  nyomáshoz tartozó pH-t, felhasználva a pH és a  $\text{pCO}_2$  értékek között fennálló logaritmikus összefüggést.

#### **5.4.5. EBC pH-mérések reprodukálhatósága COPD-ben**

A pH-mérések COPD-s betegekben való reprodukálhatóságát előkísérletekben elemeztük. E vizsgálatba 14 stabil állapotú, ex-dohányos COPD-s beteget (férfi: 8, nő: 6, életkor:  $70.3 \pm 2.6$

év, csomag-év:  $39.0 \pm 5.0$ ) vontunk be. A betegekből EBC mintavételre két egymást követő napon került sor EcoScreen kondenzátorral, az EBC pH-ját a fent leírt módon határoztuk meg.

#### **5.4.6. Nyálkontamináció vizsgálata az EBC mintákban**

A gyűjtött EBC minták nyállal való esetleges kontaminációját szintén előkísérletekben vizsgáltuk. A nyálkontaminációra a minták  $\alpha$ -amiláz aktivitásából következtettünk. A minták  $\alpha$ -amiláz aktivitását fluorimetrián alapuló módszerrel (EnzChek, Ultra Amylase Assay Kit, Molecular Probes, Leiden, Hollandia) határoztuk meg. Az excitációs és az emissziós szűrőket 485 és 535 nm-re állítottuk be (Plate Chamelon V Microplate Reader, Hidex, Turku, Finnország), a kit detektációs limitje pedig 2 U/L volt. A vizsgálat során 10–10 mintát gyűjtöttünk az EcoScreen és az R-Tube eszközökkel, majd a gyűjtött mintákból meghatároztuk az  $\alpha$ -amiláz aktivitást.

#### **5.4.7. Légzésfunkciós vizsgálatok és FENO-mérés**

A légzésfunkciós vizsgálatokat az 5.1.1.4. fejezetben leírtaknak megfelelően végeztük. A FENO mérése kemilumineszcens analizátorral 50 mL/sec kilégzési áramlás mellett az ATS/ERS ajánlása szerint történt az 5.1.1.5. fejezetben leírtaknak megfelelően.

#### **5.4.8. Statisztikai analízis**

Az adatok átlag $\pm$ SEM vagy geometriai közép (95%-os CI) formában szerepelnek. Mivel a FENO értékek nem mutattak normál eloszlást (*Kolmogorov–Smirnov* teszt), az adatokat log-transzformált formában analizáltuk. A pH értékek normál eloszlásúak voltak. A kórházi felvételkor és a távozáskor mért adatokat párosított *Student*-féle *t*-próbával hasonlítottuk össze. A dohányzás hatását párosítatlan *t*-teszttel vizsgáltuk. Az asztmás és COPD-s betegek, valamint az egészségesek pH értékeit egyutas ANOVA-t követő *Newman–Keuls* teszttel analizáltuk. A korrelációs koefficienseket a *Pearson*-módszer szerint számoltuk. A power-analízis során  $\alpha=0.05$  és hatásnagyság=0.67 értékekkel számoltunk. A számításokat a GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.) és a G\*Power (G\*Power Software Inc.) statisztikai programokkal végeztük. A különbségeket  $p<0.05$  esetén tekintettük szignifikánsnak.

### 5.4.9. Eredmények

Kórházi felvételnél a betegeket súlyos ventilációs zavar és hipoxaemia jellemezte, valamint emelkedett szisztémás gyulladásos markerek jelenlétét mutatták (14. táblázat). A perifériás vérben az eosinophilejtek száma az asztmásoknál magasabb volt.

A kórházi kezelés során a légzésfunkciós paraméterek és a betegek PaO<sub>2</sub> értéke mindkét betegcsoportban szignifikánsan nőtt (15. táblázat). A FENO szint a kezelés során csökkent, a csökkenés mértéke az asztmásokban kifejezettebb volt. A COPD-s betegcsoportban a dohányos betegek FENO értéke kissé alacsonyabb volt az ex-dohányos betegekéhez képest (21.3 [15.6-29.0] vs. 27.3 [19.4-38.3] ppb), a különbség azonban nem volt szignifikáns (p>0.05). A FENO szint mind a dohányos (16.6 (12.4 – 20.8) ppb, p<0.05), mind pedig az ex-dohányos COPD-s betegekben (23.1 [16.1-28.9] ppb, p<0.05) csökkent a kezelés hatására.

15. táblázat

**Akut exacerbáció miatt hospitalizált asztmás és COPD-s betegek légzésfunkciós, FENO és vérgáz adatai a kórházi felvételnél, majd a kezelés után**

	Asztma		COPD	
	exacerbáció	kezelés után	exacerbáció	kezelés után
<b>FVC (L)</b>	2.56 ± 0.22	3.47 ± 0.26*	2.28 ± 0.15	2.53 ± 0.16*
<b>FVC (%)</b>	74.6 ± 4.1	100.7 ± 3.4*	73.0 ± 3.5	82.0 ± 3.6*
<b>FEV<sub>1</sub> (L)</b>	1.7 ± 0.17	2.57 ± 0.21*	1.10 ± 0.11	1.25 ± 0.13 <sup>§</sup>
<b>FEV<sub>1</sub> (%)</b>	59.7 ± 3.9	91.4 ± 4.7*	43.6 ± 2.9	49.0 ± 3.6 <sup>§</sup>
<b>FVC/FEV<sub>1</sub> (%)</b>	66.0 ± 2.7	72.5 ± 2.1 <sup>§</sup>	47.9 ± 2.4	48.5 ± 2.6
<b>FENO (ppb)<sup>#</sup></b>	97.3 (64.3-147.1)	36.3 (22.4-58.8)*	23.8 (19.4-29.7)	19.9 (16.4-24.2)*
<b>pH</b>	7.42 ± 0.01	7.41 ± 0.01	7.40 ± 0.01	7.40 ± 0.01
<b>PaCO<sub>2</sub> (kPa)</b>	5.41 ± 0.10	5.53 ± 0.21	5.60 ± 0.35	6.01 ± 0.31
<b>PaO<sub>2</sub> (kPa)</b>	7.00 ± 0.29	8.48 ± 0.24 <sup>§</sup>	6.99 ± 0.38	8.51 ± 0.68 <sup>§</sup>

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. FVC: forszírozott vitálkapacitás, FEV<sub>1</sub>: forszírozott kilégzési térfogat 1 másodperc alatt, ICS: inhalációs kortikoszteroid, FENO: frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid, ppb: részecske per milliárd, PaCO<sub>2</sub>: parciális széndioxid nyomás, PaO<sub>2</sub>: parciális oxigén nyomás. <sup>#</sup>geometriai közép (95% CI), \*p<0.001 exacerbáció vs. kezelés után, <sup>§</sup>p<0.05 exacerbáció vs. kezelés után, <sup>§</sup>p<0.01 exacerbáció vs. kezelés után

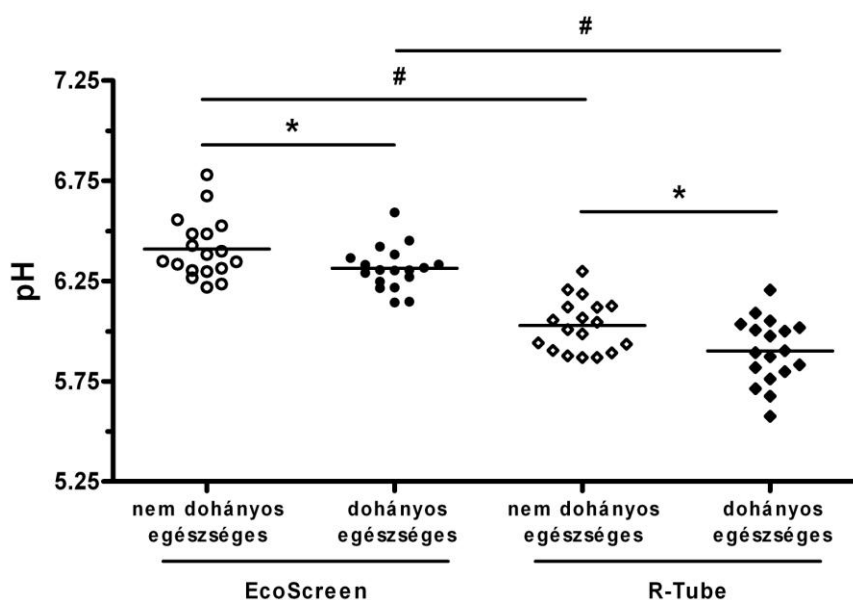
Az egészséges kontroll csoporton belül a dohányosok EBC pH-ja szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a nem dohányosoké, függetlenül a kondenzáló berendezés típusától (EcoScreen: 6.31±0.03 vs. 6.41±0.04, p<0.05; R-Tube: 5.90±0.04 vs. 6.03±0.03, p<0.05; 31. ábra). A



kondenzátum a dohányos COPD-s betegekben is savasabb volt, mint az ex-dohányosokban ( $6.29 \pm 0.03$  vs.  $6.39 \pm 0.04$ ,  $p < 0.05$ ).

Az R-Tube segítségével gyűjtött minták mind a dohányos, mind a nem dohányos egészségesegekben savasabbak voltak az EcoScreen berendezéssel gyűjtött mintákhoz képest ( $p < 0.001$ , 31. ábra). Hasonlóan, a COPD-s betegekben is az R-Tube eszközzel gyűjtött EBC minták savasabbak voltak az EcoScreen kondenzátorral gyűjtött mintákhoz képest.

Az exacerbációban lévő asztmás betegek EBC pH-ja szignifikánsan alacsonyabb volt az egészséges kontroll csoporthoz képest ( $6.24 \pm 0.03$  vs.  $6.41 \pm 0.04$ ,  $p < 0.01$ , 32. ábra). A betegek kezelése során a pH szignifikánsan nőtt (kezelés után:  $6.33 \pm 0.03$ ,  $p < 0.05$ ). Ugyanakkor a kórházi felvételtkor az ICS terápiában részesülő és nem részesülő asztmás betegek pH-ja közel azonos volt ( $6.25 \pm 0.03$  vs.  $6.22 \pm 0.04$ ,  $p > 0.05$ ).

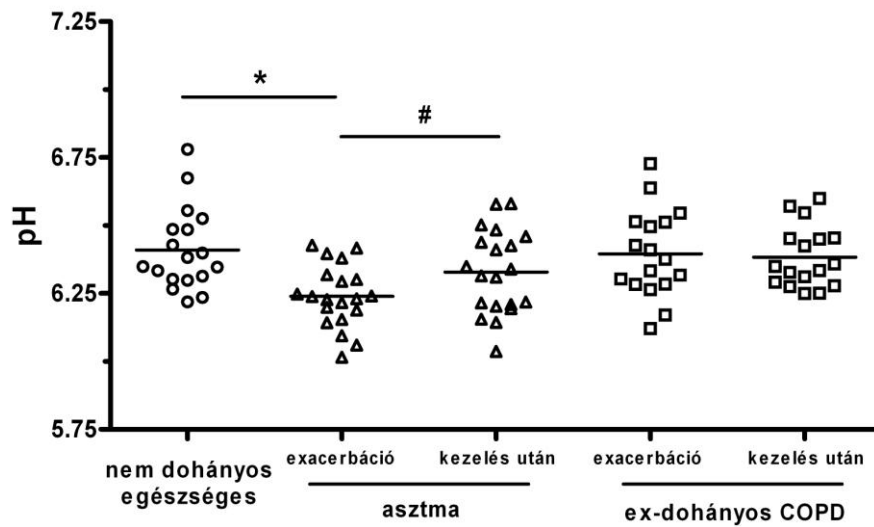


31. ábra. Az EBC pH-ja a nem dohányos és a dohányos egészségesegekben

Az EBC mintákat az EcoScreen és az R-Tube típusú kondenzátorokkal egyaránt gyűjtöttük. A vízszintes vonal az átlagértéket jelzi. \*  $p < 0.05$  dohányos vs. nem dohányos egészséges kontroll, #  $p < 0.001$  R-Tube vs. EcoScreen kondenzátorral gyűjtött EBC minta

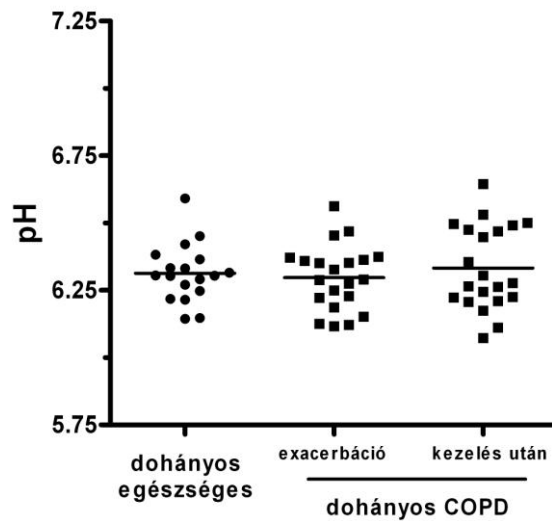
A dohányos és az ex-dohányos COPD-s betegeket egy csoportként kezelve, az exacerbációban, illetve a kezelés után lévő betegek kondenzátumának pH-ja nem különbözött egymástól (exacerbáció:  $6.34 \pm 0.02$  vs. kezelés után:  $6.36 \pm 0.02$ ,  $p > 0.05$ ). Hasonló eredményt kaptunk akkor is, amikor a COPD-s betegeket dohányos és ex-dohányos alcsoportokra bontottuk (dohányos COPD:  $6.29 \pm 0.03$  vs.  $6.33 \pm 0.03$ ,  $p > 0.05$ , 33. ábra; ex-dohányos COPD:  $6.39 \pm 0.04$  vs.  $6.38 \pm 0.03$ ,  $p > 0.05$ , 32. ábra). Az ICS terápiában részesülő és nem részesülő COPD-s betegek pH-ja szignifikáns eltérést nem mutatott (ISC+:  $6.35 \pm 0.03$  vs. ICS-:

6.33±0.03, p>0.05). A COPD-s betegek és az egészségesek között standardizált pH különbség kimutatására a vizsgálat ereje 89%-os volt.



32. ábra. Az EBC pH-ja a nem dohányos egészségesekben, valamint az akut exacerbációban lévő nem dohányos asztmás és ex-dohányos COPD-s betegekben

Az EBC mintákat az EcoScreen típusú kondenzátorral gyűjtöttük. A vízszintes vonal az átlagértéket jelzi. \*p<0.01 exacerbációban lévő asztmás betegek vs. egészséges kontroll, #p<0.05 exacerbáció vs. kezelés után



33. ábra. Az EBC pH-ja a dohányos egészségesekben, valamint az akut exacerbációban lévő dohányos COPD-s betegekben

Az EBC mintákat az EcoScreen kondenzátorral gyűjtöttük. A vízszintes vonal az átlagértéket jelzi

A COPD-s betegek egy részében (n=12) mintavétel történt R-Tube kondenzátorral. Az EcoScreen kondenzátorral kapott eredményekhez hasonlóan az exacerbációban és a kezelés után mért pH értékek nagyon hasonlóak voltak (exacerbáció: 6.03±0.08 vs. kezelés után: 6.04±0.08, p>0.05).

Eredményeink szerint a gyűjtött mintákban (EcoScreen és R-Tube) a nyál hígulásának mértéke több mint 1 000 000-szoros volt, függetlenül a kondenzátor típusától. Fontos kiemelni, hogy a jelen vizsgálatban használt kit érzékenysége lényegesen nagyobb volt a korábbiakban általunk [163], illetve más munkacsoportok [259] által használt kitekhez képest. E vizsgálatokban a nyál hígulásának csak mintegy 1 000-szeresét lehetett detektálni.

A pH értékek COPD-s betegekben való reprodukálhatóságának meghatározásakor a két időpontban vett kondenzátum minta pH-ja hasonló volt ( $6.43 \pm 0.04$  vs.  $6.44 \pm 0.06$ ,  $p > 0.05$ ). Mind a pH értékek közötti átlagos különbség (0.164), mind a mérések variációs koefficiense (1.8%) hasonló volt a korábban asztmásokban és egészségesekben meghatározott értékekhez képest [148].

Az EBC savassága, a FENO szint, valamint a légzésfunkciós és vérgáz értékek között szignifikáns korrelációt egyik betegcsoportban sem találtunk (adatokat nem mutatjuk).

## **5.5. A kilégtett levegő kondenzátum pH-jának vizsgálata cisztás fibrózisban, rosszindulatú tüdődaganatban és bronchiolitis obliterans szindrómában szenvedő tüdőbetegekben**

### **5.5.1.CF**

#### *5.5.1.1. Betegek*

A vizsgálatba 46 CF-es beteget és 28 egészséges kontroll személyt vontunk be. A CF diagnózisát a jellegzetes klinikai tünetek, valamint a kóros eredményű verejtek teszt ( $\text{Cl}^-$  ion koncentráció  $> 60$  mmol/L) alapján állítottuk fel. A diagnózis megerősítését genetikai vizsgálat is kísérte, 27 betegnél igazoltunk  $\Delta\text{F508}$  mutációt. Negyvenhárom betegnek volt krónikus bakteriális kolonizációja (*P. aeruginosa*: 9 beteg, *P. aeruginosa* + *S. aureus*: 13 beteg, *P. aeruginosa* + *Escherichia Coli*: 2 beteg, *P. aeruginosa* + *B. cepacia*: 3 beteg, *S. aureus*: 11 beteg, *S. aureus* + *H. influenzae*: 2 beteg, *S. aureus* + *B. cepacia*: 1 beteg, *S. aureus* + *S. maltophilia*: 2 beteg). Krónikus kolonizációt akkor véleményeztünk, ha egy betegnek 6 hónapon belül legalább 3 pozitív tenyésztési eredménye volt különböző légúti mintákból. A *P. aeruginosa* baktériummal kolonizált betegek közül 18-an részesültek inhalációs antibiotikus kezelésben (tobramycin vagy colomycin) az EBC gyűjtés időpontjában. A fenn maradó 9 beteg ilyen inhalációs kezelést nem kapott. Minden CF-es beteg és kontroll személy nem dohányzó volt. A bevont betegek és egészségesek demográfiai és klinikai adatait a 16. táblázatban tüntettük fel.

## 5.5.1.2. Vizsgálati protokoll

Az EBC gyűjtésére a betegek stabil klinikai állapotában, rutin ambuláns kontroll vizsgálatokon került sor. A mintagyűjtést megelőzően legalább 1 hónappal a betegeknek nem volt légúti infekciójuk és nem részesültek sem szisztémás szteroid, sem antibiotikus kezelésben.

## 5.5.1.3. EBC gyűjtése és pH-jának mérése

Az EBC gyűjtése EcoScreen (Jaeger) és R-Tube (Respiratory Research) típusú kondenzátorokkal történt az 5.4.3. fejezetben leírtaknak megfelelően. Mindegyik betegről mindegyik eszközzel azonos számú mintagyűjtés történt, összesen 148 (2×28 + 2×46) mintát gyűjtöttünk. Az EBC pH-jának meghatározását az 5.4.4. fejezetben leírtak szerint végeztük.

16. táblázat

A CF-es betegek és egészséges kontroll személyek demográfiai és klinikai adatai

	Kontroll n = 28	CF n = 46
Bakteriális kolonizáció (n)	-	43
<i>P. aeruginosa</i> kolonizáció (n)	-	27
Nem (férfi/nő, n)	14 / 14	28 / 16
Életkor (év)	34.2 ± 2.9	32.8 ± 1.4
WBC (×10 <sup>9</sup> /L)	-	9.1 ± 0.7
Vérsüllyedés (mm/h)	-	42.9 ± 7.6
CRP (mg/L)	-	17.1 ± 4.8
FVC (%)	97.8 ± 6.1	69.2 ± 4.3
FEV <sub>1</sub> (%)	96.2 ± 8.6	51.0 ± 4.7
FENO (ppb) <sup>#</sup>	13.5 (9.1-17.3)	8.2 (5.1-11.8) <sup>*</sup>
Inhalációs medikáció	-	
ICS (+/-, n)		30 / 16
Tobramycin vagy Colomycin (+/-, n) <sup>§</sup>		18 / 9
DNáz (+/-, n)		43 / 3
Köpet <sup>##</sup>	-	
Teljes sejtszám (×10 <sup>7</sup> /g)		1.23 ± 0.27
Neutrophilsejtek (%)		87.4 ± 0.5
Macrophagok (%)		9.2 ± 0.4
Lymphocyták (%)		2.5 ± 0.3
Eosinophilsejtek (%)		0.9 ± 0.2

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. FVC: forszírozott vitálkapacitás, FEV<sub>1</sub>: forszírozott kilégzési térfogat 1 másodperc alatt, ICS: inhalációs kortikoszteroid, FENO: frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid, CRP: C-reaktív protein, WBC: fehérvérsejtszám, ppb: részecske per milliárd. <sup>#</sup>geometriai közép (95% CI), <sup>\*</sup>p=0.018 vs. egészséges kontroll, <sup>§</sup>*P. aeruginosa*val kolonizált betegek között, <sup>##</sup>20 CF-es betegből gyűjtve

#### 5.5.1.4. EBC pH-mérések reprodukálhatósága CF-ben

A pH-mérések reprodukálhatóságát 12 CF-es betegen (férfi: 6, nő: 6, életkor:  $31.3 \pm 4.5$  év) vizsgáltuk. A betegekből EcoScreen kondenzátorral két egymást követő napon gyűjtöttünk EBC mintát.

#### 5.5.1.5. Köpet gyűjtése és feldolgoása

A betegek egy alcsoportjában ( $n=20$ ) spontán köpetet gyűjtöttünk, a köpetmintákat az 5.3.4. fejezetben leírtaknak megfelelően dolgoztuk fel. A különböző sejttípusokat (macrophag, neutrophil és eosinophil granulocytá és lymphocytá) százalékos arányban adtuk meg, mégpedig az összes (nem laphám eredetű) gyulladásozó sejt számához viszonyítva.

#### 5.5.1.6. Légzésfunkciós vizsgálatok és FENO-mérés

A légzésfunkciós vizsgálatokat az 5.1.1.4. fejezetben leírtaknak megfelelően végeztük. A FENO mérése kemilumineszcens analízátorral 50 mL/sec kilégzési áramlás mellett az ATS/ERS ajánlása szerint történt az 5.1.1.5. fejezetben leírtaknak megfelelően.

#### 5.5.1.7. Statisztikai analízis

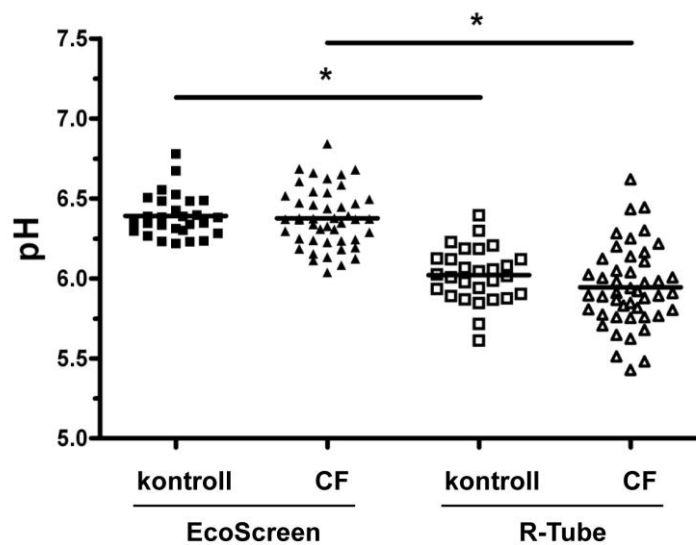
Az adatok átlag $\pm$ SEM vagy geometriai közép (95%-os CI) formában szerepelnek. Mivel a FENO értékek nem mutattak normál eloszlást (*Kolmogorov–Smirnov* teszt), az adatokat log-transzformált formában analizáltuk. Az pH értékek normál eloszlásúak voltak. A betegek és az egészségesek pH adatait párosítatlan *Student*-féle *t*-teszttel vizsgáltuk. A korrelációs koefficienseket a *Pearson*-módszer szerint számoltuk. A pH-mérések reprodukálhatóságát a *Bland–Altman* teszttel vizsgáltuk. A power-analízis során  $\alpha=0.05$  és hatásnagyság=0.93 értékekkel számoltunk. A hatásnagyságot előkísérletben határoztuk meg, a pH-ban a klinikailag releváns különbséget 0.2 értékben definiáltuk. A számításokat a GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.) és a G\*Power (G\*Power Software Inc.) statisztikai programokkal végeztük. A különbségeket  $p<0.05$  esetén tekintettük szignifikánsnak.

#### 5.5.1.8. Eredmények

A CF-es betegeket kóros légzésfunkciós értékek, emelkedett CRP szintek és alacsonyabb FENO értékek jellemezték az egészséges személyekhez képest (16. táblázat). Az emelkedett CRP szint feltehetően a kolonizált betegek magas arányával (93%) állt összefüggésben. A köpet sejtprofilja a más vizsgálatokban kapott értékekhez hasonló volt [260].

A CF-es betegcsoport és az egészségesek kondenzátumának pH-ja nem mutatott eltérést függetlenül a kondenzáló berendezés típusától (EcoScreen: CF:  $6.38 \pm 0.03$  vs. kontroll:  $6.39 \pm 0.03$ ,  $p=0.699$ ; R-Tube: CF:  $5.94 \pm 0.04$  vs. kontroll:  $6.02 \pm 0.03$ ,  $p=0.159$ ; 34. ábra). A CF-es betegek és az egészségesek között standardizált pH különbség kimutatására a vizsgálat ereje 89%-os volt.

A továbbiakban a bakteriálisan kolonizált CF-es betegeket két alcsoportra bontottuk és azt vizsgáltuk, hogy a *P. aeruginosával* való kolonizáció befolyásolja-e az EBC pH-ját. Az R-Tube eszköz segítségével gyűjtött frakciók körében a *P. aeruginosával* kolonizált betegek ( $n=27$ ) mintáinak pH-ja megegyezett a *P. aeruginosától* eltérő baktériummal kolonizált betegek ( $n=16$ ) pH-jával ( $5.98 \pm 0.04$  vs.  $5.91 \pm 0.06$ ,  $p=0.328$ ; 35. ábra). Az EcoScreen berendezéssel gyűjtött minták között a *P. aeruginosával* kolonizált betegek kondenzátum mintái csekély mértékben savasabbak voltak a *P. aeruginosától* eltérő baktériummal kolonizált betegek mintáihoz képest, a különbség azonban nem volt szignifikáns ( $6.33 \pm 0.03$  vs.  $6.42 \pm 0.04$ ,  $p=0.119$ ; 35. ábra).



34. ábra. Az EBC pH-ja a CF-es betegekben és az egészséges kontroll személyekben. Az EBC mintákat az EcoScreen és az R-Tube típusú kondenzátorokkal gyűjtöttük. A vízszintes vonal az átlagértéket jelzi. \*  $p < 0.001$  R-Tube vs. EcoScreen kondenzátorral gyűjtött EBC minta

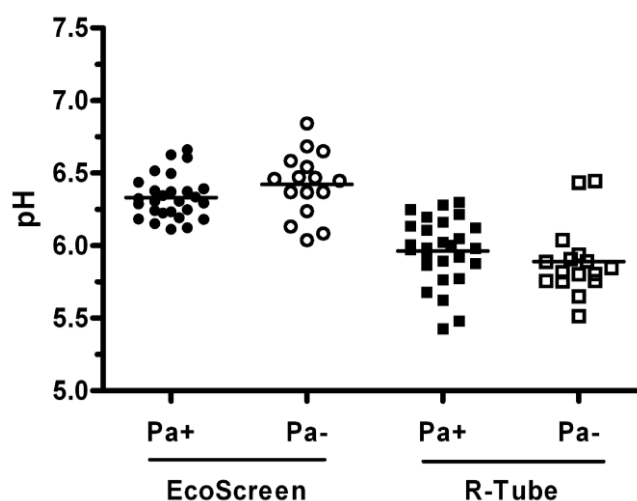
A továbbiakban az ICS kezelés hatását vizsgáltuk. Eredményeink szerint a mintavételkor ICS terápiában részesülő és nem részesülő CF-es betegek pH-ja közel azonos volt (EcoScreen:  $6.39 \pm 0.03$  vs.  $6.36 \pm 0.05$ ,  $p=0.655$ ; R-Tube:  $5.91 \pm 0.04$  vs.  $5.93 \pm 0.07$ ,  $p=0.819$ ). Hasonlóan, az inhalációs antibiotikumok hatását vizsgálva a *P. aeruginosával* kolonizált betegek körében, a rendszeresen tobramycinnel vagy colomycinnel kezelt betegek pH-ja is csak kismértékben

volt magasabb az antibiotikumokkal nem kezelt betegek értékeihez képest (EcoScreen:  $6.33 \pm 0.03$  vs.  $6.25 \pm 0.04$ ,  $p=0.135$ ; R-Tube:  $5.96 \pm 0.04$  vs.  $5.85 \pm 0.06$ ,  $p=0.193$ ).

Az R-Tube eszköz segítségével gyűjtött minták mind a CF-es betegekben, mind az egészségesekben savasabbak voltak az EcoScreen berendezéssel gyűjtött mintákhoz képest ( $p < 0.001$ , 34. ábra).

A pH-mérések reprodukálhatóságát a két időpontban vett kondenzátum minta hasonló pH-ja ( $6.34 \pm 0.04$  vs.  $6.32 \pm 0.04$ ,  $p > 0.05$ ) bizonyította. Mind a pH értékek közötti átlagos különbség ( $0.172 \pm 0.03$ ), mind a mérések variációs koefficiense (1.9%) hasonló volt a korábban meghatározott értékekhez viszonyítva [148].

Végül, az EBC savassága, a FENO szint, valamint a légzésfunkciós és a vérgáz értékek között szignifikáns korrelációt egyik csoportban sem találtunk. Hasonlóan, a köpetnek sem a teljes, sem a differenciált sejtszáma nem korrelált a pH értékekkel (adatokat nem mutatjuk).



35. ábra. A *P. aeruginosa* baktériummal való kolonizáció hatása az EBC pH-jára

Az EBC pH értéke a *P. aeruginosa*-val (Pa+,  $n=27$ ) és a *P. aeruginosa*-tól eltérő baktériummal (Pa-,  $n=16$ ) kolonizált CF-es betegekben. Az EBC mintákat az EcoScreen és az R-Tube típusú kondenzátorokkal gyűjtöttük. A vízszintes vonal az átlagértéket jelzi

## 5.5.2. Tüdődaganatok

### 5.5.2.1. Betegek

A vizsgálatba szövettani vizsgálattal igazolt rosszindulatú tüdődaganatban (planocellularis carcinoma [Pl]: 17 beteg, adenocarcinoma [Ad]: 16 beteg, kissejtes tüdődaganat [SCLC]: 10 beteg) szenvedő betegeket és egészséges alanyokat vontunk be. Az egészséges személyek mellkas röntgen felvételén daganatra utaló eltérés nem látszott. A betegek és a kontroll személyek egyaránt dohányosok voltak. Stádiumbeosztás szempontjából a daganatos betegek

közül 6 beteg I-es stádiumú, 4 beteg II-es stádiumú, 13 beteg III-as stádiumú és 20 beteg IV-es stádiumú volt [261]. A betegek és az egészségesek klinikai adatait az 17. táblázatban tüntettük fel.

17. táblázat  
A tüdődaganatos betegek és egészséges kontroll személyek  
demográfiai, klinikai és onkológiai adatai

	Kontroll n = 20	Tüdődaganat n = 43
<b>Nem (férfi/nő, n)</b>	10 / 10	29 / 14
<b>Életkor (év)</b>	49.1 ± 2.5	62.6 ± 1.4
<b>Dohányzás (csomag-év)</b>	34.3 ± 3.3	38.5 ± 5.8
<b>FVC (%)</b>	98.2 ± 3.1	87.8 ± 3.1
<b>FEV<sub>1</sub> (%)</b>	96.2 ± 4.6	77.5 ± 3.3
<b>FEV<sub>1</sub>/FVC (%)</b>	90.4 ± 3.5	71.0 ± 1.2
<b>T stádium</b>		
<b>T<sub>1-2</sub></b>	-	17
<b>T<sub>3-4</sub></b>		26
<b>N stádium</b>		
<b>N<sub>0-1</sub></b>		15
<b>N<sub>2-3</sub></b>		28
<b>M stádium</b>		
<b>M<sub>0</sub></b>		23
<b>M<sub>1</sub></b>		20

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. FVC: forszírozott vitálkapacitás, FEV<sub>1</sub>: forszírozott kilégzési térfogat 1 másodperc alatt

Tizennyolc tüdődaganatos beteg kórképéhez COPD-s társbetegség is társult, a COPD diagnózisát a megfelelő ajánlásokra alapoztuk [258]. A 18 beteg közül 3 beteg súlyos (III. stádium), 11 közepsúlyos (II. stádium) és 4 enyhe (I. stádium) COPD-s volt.

#### 5.5.2.2. EBC gyűjtése és pH-jának mérése

Az EBC gyűjtése EcoScreen (Jaeger) típusú kondenzátorral történt az 5.4.3. fejezetben leírtaknak megfelelően. A mintagyűjtés minden esetben a sugárkezelést, a sebészeti- vagy kemoterápiás ellátást, azaz az onkológiai kezelést megelőzően történt. Az EBC pH-jának meghatározását az 5.4.4. fejezetben leírtak szerint végeztük.

#### 5.5.2.3. EBC pH-mérések reprodukálhatósága tüdődaganatban

A pH-mérések reprodukálhatóságát a betegek egy külön alcsoportján (n=12; férfi: 8, nő: 4, életkor: 64.3±3.1 év, csomag-év: 39.1±6.2) vizsgáltuk. A betegekből EcoScreen kondenzátorral két egymást követő napon vettünk EBC mintát.



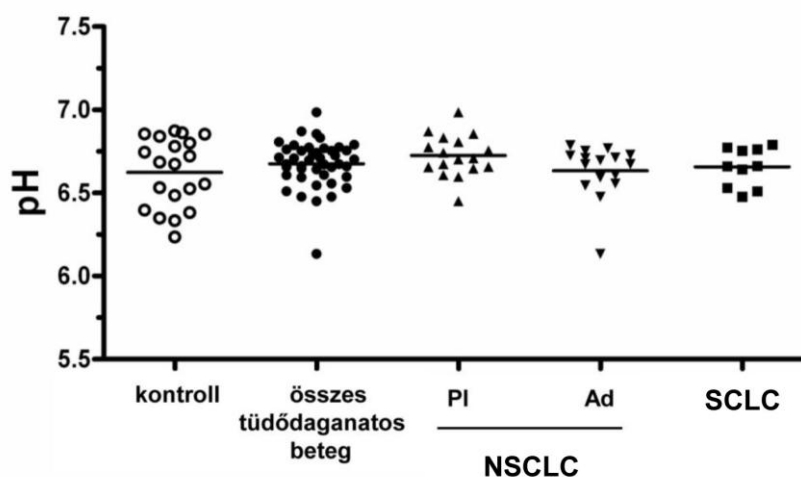
#### 5.5.2.4. Statisztikai analízis

Az adatok átlag $\pm$ SEM formában szerepelnek. A pH értékek normál eloszlásúak voltak (*Kolmogorov–Smirnov* teszt), az adatokat egyutas ANOVA-t követő *Newman–Keuls* teszttel analizáltuk. A számításokat a GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.) statisztikai programmal végeztük. A különbségeket  $p < 0.05$  esetén tekintettük szignifikánsnak.

#### 5.5.2.5. Eredmények

A tüdődaganatban szenvedő betegcsoport és az egészségesek kondenzátumának pH-ja nem mutatott eltérést (tüdődaganatos betegek:  $6.68 \pm 0.02$  vs. egészségesek:  $6.63 \pm 0.05$ ,  $p > 0.05$ ). Hasonló eredményt kaptunk akkor is, amikor a daganat szövettani típusa alapján a betegeket alcsoportokra bontottuk (PI:  $6.73 \pm 0.03$ , Ad:  $6.64 \pm 0.04$  és SCLC:  $6.66 \pm 0.04$ ,  $p > 0.05$ ; 36. ábra).

A továbbiakban a betegeket a tumorok stádiumbeosztása alapján csoportosítottuk. A különböző stádiumokba tartozó betegek pH-ja szignifikáns eltérést nem mutatott (I. stádium:  $6.75 \pm 0.04$ , II. stádium:  $6.67 \pm 0.05$ , III. stádium:  $6.68 \pm 0.03$  és IV. stádium:  $6.67 \pm 0.03$ ,  $p > 0.05$ ). Hasonlóan, a különböző T, N és M stádiumú betegek pH értékei is megegyeztek egymással (adatokat nem mutatjuk). A COPD mint társbetegség fennállása a pH-t érdemben nem befolyásolta (adatokat nem mutatjuk).



36. ábra. Az EBC pH-ja tüdődaganatos betegekben és egészséges kontroll személyekben

PI: planocellularis carcinoma, Ad: adenocarcinoma, NSCLC: nem kissejtes tüdődaganat, SCLC: kissejtes tüdődaganat. A vízszintes vonal az átlagértéket jelzi

A pH-mérések reprodukálhatóságának meghatározásakor a két időpontban vett kondenzátum minta pH-ja hasonló volt ( $6.64 \pm 0.06$  vs.  $6.67 \pm 0.05$ ,  $p > 0.05$ ). Mindezekén túl, mind a pH értékek közötti átlagos különbség (0.104), mind a mérések variációs koefficiense (2.8%)

hasonló volt a korábban egészségesekben és asztmásokban meghatározott értékekhez képest [148,82].

### 5.5.3. BOS

#### 5.5.3.1. Betegek és vizsgálati protokoll

A vizsgálatokra 2006 január és 2010 június között az *Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézetben* gondozott tüdőtranszplantált betegek bevonásával került sor, feltéve, ha a betegek műtét utáni túlélése elérte a 6 hónapot. Kizárásra kerültek azok a betegek, akiknél (i) rosszindulatú daganat, (ii) súlyos máj- vagy veseelégtelenség állt fenn, illetve (iii) azok, akiknél a gyenge klinikai állapot miatt az EBC gyűjtés nem volt megvalósítható.

A vizsgálat összesen 31 (14 férfi, 17 nő, életkor:  $39.5 \pm 1.8$  év) nem dohányzó tüdőtranszplantált beteget érintett. A vizsgálat kezdetekor a betegeknél a transzplantáció óta eltelt átlagos idő  $44.7 \pm 3.8$  hónap volt. A mintagyűjtés a rutin ambuláns kontroll vizitek során történt. A légúti infekciót, az akut rejekciót vagy egyéb akut szövődményt mutató eseteket kizártuk, analízisre kizárólag akut eseménytől mentes (legalább a megelőző 4 héten át) klinikai állapotú betegek adatai kerültek. Az átlagos követési idő  $22.3 \pm 4.1$  hónap volt. Betegenként átlagosan 4 (tartomány: 2 és 9 között) mintát gyűjtöttünk, ami összességében 118 mintát jelentett.

A kontroll csoportba 20 nem dohányzó, egészséges önkéntes tartozott. Az egészségeseknél atópia, akut vagy krónikus tüdőbetegség nem állt fenn, gyógyszereket nem szedtek, fiziológiás spirometriás paraméterek jellemezték mindnyájukat és legalább 4 hétre visszamenőleg légúti infekciójuk sem volt. Az egészségeseknél a mintagyűjtést 1 és 2 hónap múlva ismételtük meg, összesen 60 mintát gyűjtve.

A vizsgálat kezdetén a 31 transzplantált betegből 16 volt BOS 0 stádiumban és maradt is ugyanebben az állapotban a vizsgálat végéig (BOS-mentes csoport). 6 olyan beteg volt, akiknél ugyan a BOS szövődménye már kimutatható volt (BOS 1 stádium: 4 beteg, BOS 2 stádium: 1 beteg, BOS 3 stádium: 1 beteg), de besorolt állapotuk súlyossága nem változott a vizsgálat során. A követési idő alatt 3 beteg került BOS 0-p, míg 6 beteg BOS 1 vagy súlyosabb stádiumba (BOS 1 stádium: 4 beteg, BOS 3 stádium: 2 beteg), így a vizsgálat végére a BOS-ba tartozó betegek száma 15-re emelkedett (BOS csoport). Azoknál a betegeknél, akiknél a BOS szövődmény a vizsgálat során alakult ki, legalább két mintát gyűjtöttünk a BOS kialakulása előtt és után. A BOS diagnózisának felállítását az ISHLT

megfelelő ajánlásaira alapoztuk [37] úgy, hogy minden egyéb, potenciálisan légzésfunkciós romlást előidéző tényezőt kizártunk.

A betegek közül egy részesült szív-tüdőátültetésben, a többi beteg kétoldali tüdőátültetésen esett át. A betegek rutinszerűen hármass immunszuppresszív kezelésben (prednisolon, mycopenolát mofetil és cyclosporin [5 beteg] vagy tacrolimus [26 beteg]) részesültek, a korábbi vizsgálatainkban részletesen leírt protokollnak megfelelően [169]. Everolimus kezelésben 5 beteg részesült, 5 beteg pedig tartósan azitromycint kapott a BOS kialakulása miatt. Minden beteg rendszeres antibiotikus profilaxisban (trimethoprim sulphamethoxazole, heti 3 nap), valamint tartós H<sub>2</sub>-receptor antagonistá (21 beteg) vagy proton-pumpa gátló (10 beteg) kezelésben részesült. Az első 3 poszt-transzplantációs hónapban minden beteg ganciclovir vagy valganciclovir kezelést kapott. A BOS-ban szenvedő és a BOS-mentes tüdőtranszplantált betegek, valamint az egészségesek demográfiai és klinikai adatait a 18. táblázatban tüntettük fel.

18. táblázat  
A tüdőtranszplantált betegek és az egészségesek demográfiai és klinikai adatai

	Kontroll n = 20	BOS-mentes n = 16	BOS n = 15
<b>Nem (férfi/nő, n)</b>	10 / 10	7 / 9	7 / 8
<b>Életkor (év)</b>	40.1 ± 2.5	38.3 ± 2.2	41.1 ± 3.0
<b>Transzplantáció utáni idő (hónap)<sup>#</sup></b>	-	41.5 ± 4.7	49.9 ± 6.3
<b>FEV<sub>1</sub> (%)</b>			
<b>vizsgálat kezdetén</b>	97.1 ± 5.5	88.3 ± 5.3	69.1 ± 5.5*
<b>vizsgálat végén</b>		82.4 ± 6.4	57.2 ± 6.9*
<b>Alapbetegség (n)</b>			
<b>CF</b>	-		14
<b>IPF</b>			5
<b>COPD</b>			5
<b>PPH</b>			4
<b>Egyéb</b>			3

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. FEV<sub>1</sub>: forszírozott kilégzési térfogat 1 másodperc alatt, CF: cisztás fibrózis, IPF: idiopathiás tüdőfibrózis, COPD: krónikus obstruktív tüdőbetegség, PPH: primer pulmonalis hipertónia, <sup>#</sup>vizsgálat kezdetén, \*p<0.05 vs. BOS-mentes betegek

A CF-es betegek között 8 betegnek volt krónikus bakteriális kolonizációja (*P. aeruginosa*: 6 beteg, *S. aureus*: 2 beteg). Krónikus kolonizációt akkor véleményeztünk, ha ugyanannak a betegnek 6 hónapon belül legalább 3 pozitív tenyésztési eredménye volt különböző légúti mintákban. A nem CF-es betegnek kolonizációja nem volt.

### 5.5.3.2. Bronchoscopeia

A betegek követése során a surveillance bronchoscopeiákat és a kapcsolódó mintavételeket (BAL, TBB) az 5.1.1.2. fejezetben leírtak szerint végeztük.

### 5.5.3.3. EBC gyűjtése és pH-jának mérése

Az EBC gyűjtése EcoScreen (Jaeger) típusú kondenzátorral történt az 5.4.3. pont alatt leírtaknak megfelelően. A mintákat  $-80^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk, az átlagos tárolási idő  $2.4 \pm 2.1$  hónap volt. Az EBC pH-jának meghatározását az 5.4.4. alatt leírtak szerint végeztük.

### 5.5.3.4. Légzésfunkciós vizsgálatok

A légzésfunkciós vizsgálatokat az 5.1.1.4. fejezetben leírtaknak megfelelően végeztük.

### 5.5.3.5. Statisztikai analízis

Az adatok  $\text{átlag} \pm \text{SEM}$  formában szerepelnek. A pH értékek normál eloszlásúak (*Kolmogorov–Smirnov* teszt) voltak, az adatokat egyutas ANOVA-t követő *Newman–Keuls* teszttel analizáltuk. A BOS valamely stádiumában lévő és a BOS-mentes betegek adatait párosítatlan *Student*-féle *t*-teszttel vizsgáltuk. A korrelációs koefficienseket a *Pearson*-módszer szerint számoltuk. A pH értékek vizitek közötti variabilitást a variációs koefficienssel és a *Bland–Altman* teszttel jellemeztük. A *Bland–Altman* tesztnél az egyezési tartományok kiszámításánál az adott betegnél, a vizitek során mért legnagyobb és legkisebb pH értékeket ( $\text{pH}_1$  és  $\text{pH}_2$ ) vettük alapul, hasonlóan korábbi munkáinkhoz [169]. A power-analízis során  $\alpha=0.05$  és hatásnagyság=0.47 értékekkel számoltunk. A számításokat a GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.) és a G\*Power (G\*Power Software Inc.) statisztikai programokkal végeztük. A különbségeket  $p<0.05$  esetén tekintettük szignifikánsnak.

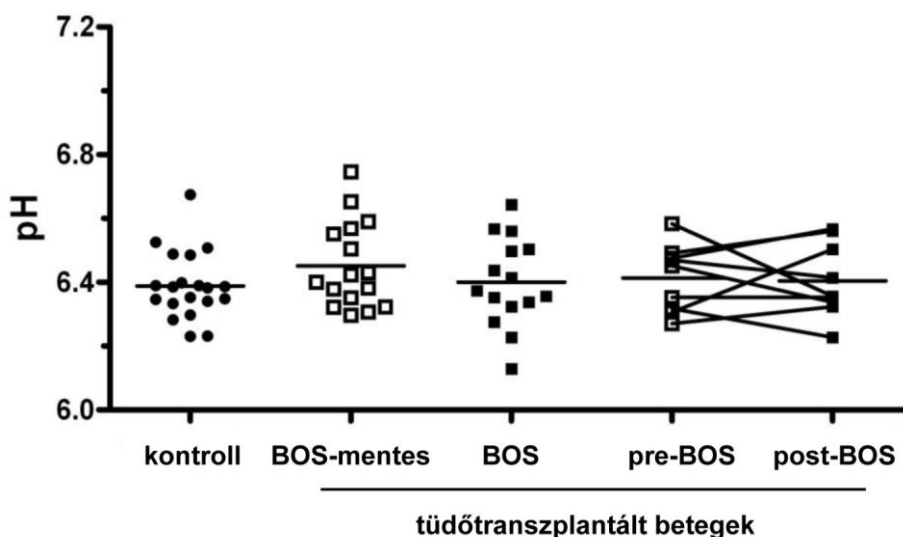
### 5.5.3.6. Eredmények

A BOS szövődményét mutató betegek ( $6.40 \pm 0.04$ ), a BOS-mentes betegek ( $6.45 \pm 0.03$ ), valamint az egészségesek ( $6.39 \pm 0.02$ ) kondenzátumának pH-ja nem mutatott különbséget ( $p>0.05$ , 37. ábra). Azon betegekben ( $n=9$ ), akikben a BOS szövődménye a követési idő alatt alakult ki, az EBC kémhatása a BOS kialakulása előtt és után azonos volt (pre-BOS:  $6.41 \pm 0.04$  és post-BOS:  $6.41 \pm 0.04$  ppb,  $p>0.05$ ; 37. ábra).

Az EBC pH-ját a BOS stádiumbesorolása nem befolyásolta (38. ábra). A BOS jellemezte és a BOS-mentes betegek között standardizált pH különbség kimutatására a

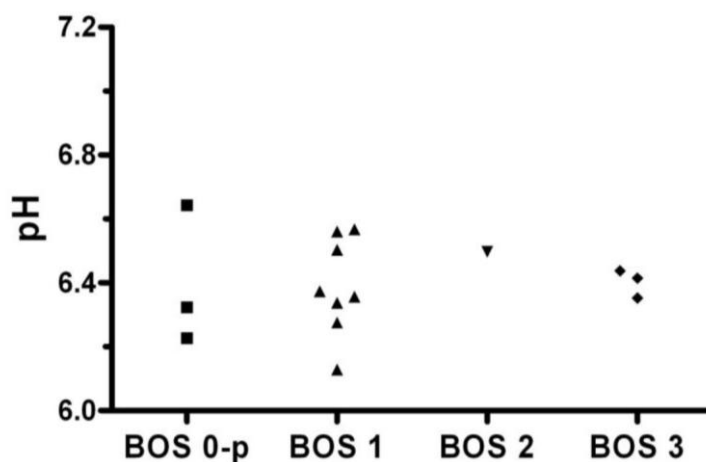
vizsgálat ereje 84%-os volt. A pH értékek vizitek közötti variabilitását a 19. táblázatban és a 39. ábrán foglaltuk össze.

A továbbiakban a transzplantált betegeket két alcsoportra (CF [n=14] és nem CF [n=17]) bontva azt vizsgáltuk, hogy a CF-es alapbetegség befolyásolja-e a pH-t és annak variabilitását. Mind a pH értéke (CF:  $6.43 \pm 0.02$  vs. nem CF:  $6.42 \pm 0.03$ ;  $p > 0.05$ ), mind annak variabilitása (variációs koefficiens: CF:  $2.2 \pm 0.2$  vs. nem CF:  $1.7 \pm 0.3$ ; egyezési tartomány: CF: -0.55 és 0.09 és nem CF: -0.51 vs. 0.1) a CF-es és a nem CF-es alcsoportban hasonló volt ( $p > 0.05$ ).



37. ábra. Az EBC pH-ja egészségesekben és tüdőtranszplantált betegekben

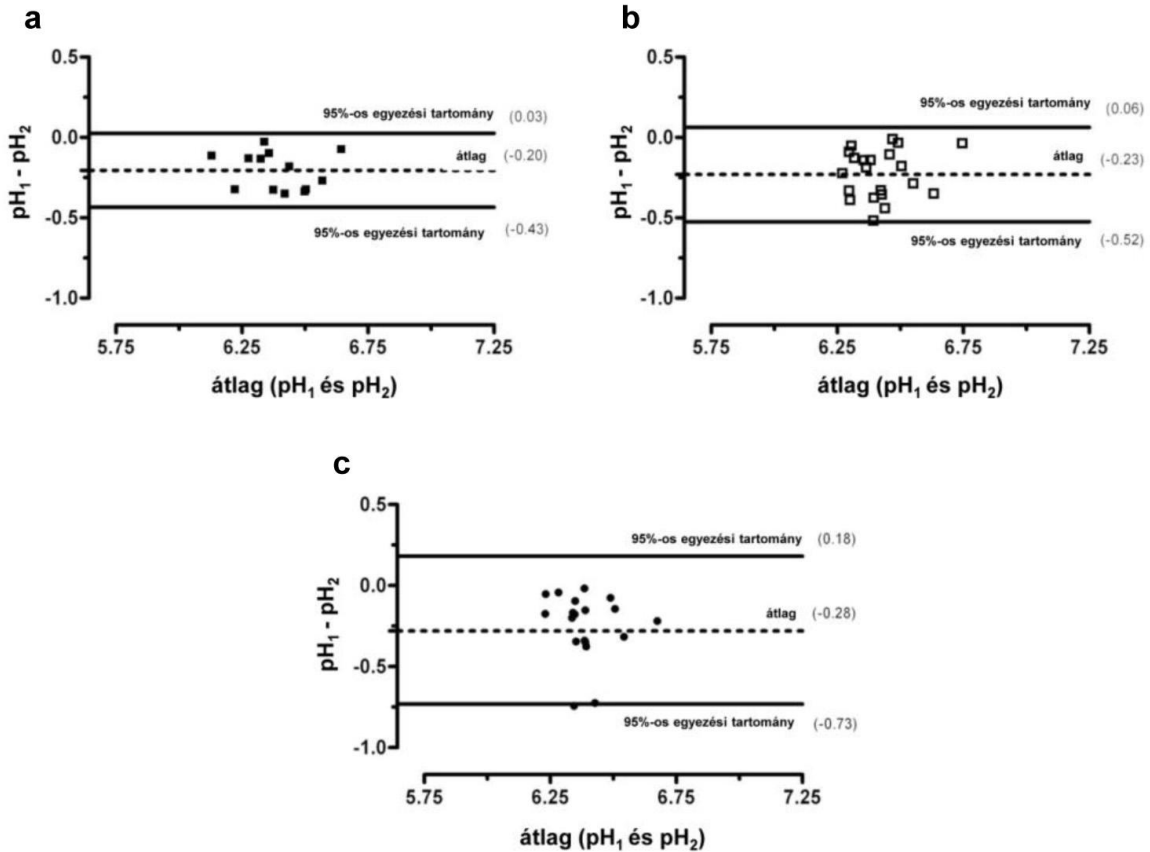
Az EBC pH-ja az egészségesekben (n=20) és a BOS-mentes (n=16), illetve a BOS szövődményét mutató (n=15) tüdőtranszplantált betegekben. Az egészségesekben minden pont három mérés átlagának felel meg, míg a transzplantált betegekben a pontok a követési idő alatt regisztrált összes pH érték átlagának felelnek meg. A pre- és post-BOS alcsoportokban (n=9) a pontok a BOS előtt és a BOS után mért pH értékek átlagát mutatják betegenként. A vízszintes vonal az átlagértéket jelzi



38. ábra. Az EBC pH-ja a különböző BOS stádiumokban

Az ábrán minden pont az adott BOS stádiumban mért pH értékek átlagának felel meg betegenként

Ezt követően a transzplantált CF-es betegeket kolonizált (n=8) és nem kolonizált (n=6) csoportokra osztottuk és a bakteriális kolonizáció hatását vizsgáltuk. Mind a pH értéke, mind annak variabilitása a két alcsoportban hasonló volt (adatokat nem mutatjuk). Végül, elmondható, hogy az EBC pH-ja, valamint a légzésfunkciós és a vérgáz értékek között szignifikáns korrelációt egyik csoportban sem találtunk (adatokat nem mutatjuk).



39. ábra. Az EBC pH-jának variabilitása tüdőtranszplantált betegekben

Az EBC pH-jának variabilitása a Bland–Altman teszt alapján a BOS szövődményét mutató transzplantáltakban („a” panel), a BOS-mentes transzplantáltakban („b” panel) és a nem transzplantált kontroll személyekben („c” panel). Az ábrákon a pH<sub>1</sub> és a pH<sub>2</sub> értékek átlagát hasonlítottuk össze ugyanezen adatok különbségével

19. táblázat

**A pH-mérések variabilitása a vizsgálati csoportokban**

Betegcsoportok	Variációs koefficiens (%)	Egyezési tartomány <sup>#</sup>
<b>BOS</b>	2.0 ± 0.3	-0.43 és 0.03
<b>BOS-mentes</b>	1.7 ± 0.2	-0.52 és 0.06
<b>Kontroll</b>	2.3 ± 0.3	-0.73 és 0.18

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek. BOS: bronchiolitis obliterans szindróma, <sup>#</sup>Bland–Altman teszt alapján

## **5.6. A kilégzett levegő kondenzátum citokin mintázatának vizsgálata rosszindulatú tüdődaganatban és bronchiolitis obliterans szindrómában szenvedő tüdőbetegekben**

### **5.6.1. Tüdődaganatok**

#### *5.6.1.1. Betegek*

A vizsgálatba 50 dohányzó, tüdődaganatban szenvedő beteget és 25 dohányzó, tüdődaganatban nem szenvedő kontroll személyt vontunk be (20. táblázat). A rosszindulatú tüdőbetegség diagnózisát minden esetben szövettani vizsgálatra alapoztuk (PI: 24 beteg, Ad: 17 beteg, SCLC: 9 beteg). A beválasztott betegek (n=14) és kontroll személyek (n=10) egy része COPD-ben is szenvedett [258], azonban a különböző GOLD stádiumú betegek megoszlásában a két csoport között szignifikáns különbség nem volt ( $p>0.05$ ).

#### *5.6.1.2. EBC gyűjtése*

Az EBC gyűjtése EcoScreen (Jaeger) típusú kondenzátorral 15 percen át az 5.4.3. fejezetben leírtaknak megfelelően történt. A mintagyűjtés előtt a betegek onkológiai kezelést (sebészet, sugárkezelés vagy kemoterápia) nem kaptak. A mintákat  $-80^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk.

#### *5.6.1.3. Citokin microarray*

A mérés során a tumoros mintákból 1 mL-t, míg a kontroll mintákból 2 mL-t liofilizáltunk, majd a liofilizált mintákat ionmentes vízben (Buffer A, Sigma) reszuszpendáltuk, és csoportonként (daganatos és kontroll) egyesítettük (*poolozás*). A két poolozott EBC frakciót 120 különböző citokin párhuzamos detektálására alkalmas microarray vizsgálatnak vetettük alá (Human Cytokine Antibody Array VIII; Raybiotech Inc., Norcross, GA, USA). Minden citokint duplikátumban vizsgáltunk. A citokinek detektációs tartománya 1 és 10 000 pg/mL között mozgott. Az intenzitásokat kemilumineszcencia elvén működő detektációs rendszerrel kvantifikáltuk, az analízis alapját a Genetools (Syngene, UK) program képezte, oly módon, hogy minden citokin intenzitását a háttérintenzitással korrigáltuk és a membránokon lévő pozitív kontrollok intenzitásához normalizáltuk.

#### *5.6.1.4. Légzésfunkciós vizsgálatok és FENO-mérés*

A légzésfunkciós vizsgálatokat és a FENO mérést az 5.1.1.4. és az 5.1.1.5. fejezetben leírtaknak megfelelően végeztük.

20. táblázat

**A tüdődaganatos betegek és a kontroll személyek  
demográfiai, klinikai és onkológiai adatai**

	<b>Kontroll</b> n = 25	<b>Tüdődaganat</b> n = 50
<b>Nem (férfi/nő, n)</b>	13 / 12	25 /25
<b>Életkor (év)</b>	52.1 ± 3.5	61.0 ± 4.4
<b>Dohányzás (csomag-év)</b>	35.3 ± 5.2	48.2 ± 4.8
<b>FVC (%)</b>	100.1 ± 3.1	80.2 ± 3.1
<b>FEV<sub>1</sub> (%)</b>	88.2 ± 4.9	71.3 ± 3.3
<b>FEV<sub>1</sub>/FVC (%)</b>	71.3 ± 1.9	69.3 ± 3.9
<b>FENO (ppb)</b>	7.0 ± 4.4	6.9 ± 4.1
<b>COPD stádium (n)</b>		
<b>I.</b>	4	5
<b>II.</b>	4	6
<b>III.</b>	2	3
<b>IV.</b>	0	0
<b>Daganat stádium (n)</b>	-	
<b>I.</b>		5
<b>II.</b>		5
<b>III/a.</b>		4
<b>III/b.</b>		11
<b>IV.</b>		25

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. FVC: forszírozott vitálkapacitás, FEV<sub>1</sub>: forszírozott kilégzési térfogat 1 másodperc alatt, FENO: frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid, ppb: részecske per milliárd

#### 5.6.1.5. Statisztikai analízis

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek. A citokin szintekben bekövetkező változást akkor tartottuk szignifikánsnak, ha (i) az legalább 2-szeres csökkenést vagy növekedést mutatott a daganatos mintában a kontrollhoz képest, és (ii) a membránon lévő párhuzamosok (duplikátumok) közötti variabilitás 25%-nál kisebb volt.

#### 5.6.1.6. Eredmények

A 120 eltérő citokin detektálható mértékű jelet adott mindkét egyesített (poolozott) EBC frakcióban. Három citokin szintje mutatott legalább 2-szeres növekedést, míg hat citokin szintje legalább 2-szeres csökkenést a tumoros minta-poolban a kontroll mintákhoz képest (21. táblázat). A legnagyobb mértékű növekedés (3.08-szoros) a lymphocytá kemoattraktáns CCL28 faktort jellemezte, míg a legjelentősebb csökkenést a fibroblast növekedési faktor-6-nál (FGF-6) mértünk (3.16-szoros).



21. táblázat

**A 2-szeresnél nagyobb vagy kisebb relatív eltérést mutató citokinek a két poolozott EBC frakcióban**

Citokinek	Relatív intenzitás változás	
	csökkenés	növekedés
<b>Eotaxin-2</b>	2.55	
<b>Eotaxin-3</b>	2.43	
<b>FGF-6</b>	3.16	
<b>FGF-7</b>	2.52	
<b>Flt-3 lig.</b>	2.25	
<b>IL-10</b>	2.49	
<b>CCL28</b>		3.08
<b>GRO-<math>\alpha</math></b>		2.35
<b>MIP-3<math>\alpha</math></b>		2.00

FGF: fibroblast növekedési faktor, Flt-3 lig: Fms-szerű tirozin kináz-3 ligand, IL: interleukin, MIP-3 $\alpha$ : macrophag inflammatorikus protein-3 $\alpha$

## 5.6.2. BOS

### 5.6.2.1. Betegek

A vizsgálatba 8 BOS-ban szenvedő és 8 egészséges, BOS-mentes tüdőtranszplantált beteget vontunk be (22. táblázat). A BOS diagnózisának felállítását az ISHLT megfelelő ajánlásaira alapoztuk [37], és minden lehetséges légzésfunkciós romlást előidéző tényezőt kizártunk. A betegek között dohányos nem volt.

### 5.6.2.2. EBC gyűjtése

Az EBC gyűjtés a rutin ambuláns kontroll vizitek során történt. A vizsgálat során a légúti infekciót, az akut rejekeciót vagy egyéb akut szövödményt mutató eseteket kizártuk, az analízisbe kizárólag a vizsgálatot megelőző 4 hétben akut eseménytől mentes klinikai állapotú betegek adatai kerültek. Betegenként 3 alkalommal 1–1 mintát gyűjtöttünk, ami összességében 48 mintát jelentett (3×8 minta/csoport). Az átlagos követési idő 2.3±2.6 hónap volt. A betegek BOS stádiumbesorolása a követési idő alatt nem változott. Az EBC gyűjtése EcoScreen (Jaeger) típusú kondenzátorral az 5.4.3. fejezetben leírtaknak megfelelően történt. A mintákat –80°C-on tároltuk.

A CF-es betegek között két betegnek volt krónikus bakteriális kolonizációja (*P. aeruginosa*), egy a BOS-mentes és egy a BOS csoportban. Krónikus kolonizációt akkor véleményeztünk, ha ugyanannak a betegnek 6 hónapon belül legalább 3 pozitív tenyésztési

eredménye volt különböző légúti mintákban. A betegek közül egy részesült szív-tüdőátültetésben, a többi beteg kétoldali tüdőátültetésen esett át. A betegek rutinszerűen hármass immunszuppresszív kezelésben (prednisolon, mycofenolat mofetil és cyclosporin vagy tacrolimus) részesültek, a korábbi vizsgálatainkban leírt protokollnak megfelelően [169]. A követési időszak alatt a tacrolimus dózist két alkalommal változtattuk, egy BOS-ban szenvedő és egy BOS-mentes betegben. A többi gyógyszer dózisa nem változtattunk.

22. táblázat

**A tüdőtranszplantált betegek demográfiai és klinikai adatai**

	<b>BOS-mentes</b> n = 8	<b>BOS</b> n = 8
<b>Nem (férfi/nő, n)</b>	4 / 4	3 / 5
<b>Életkor (év)</b>	33.6 ± 5.1	31.1 ± 5.6
<b>BOS stádium (n)</b>		
<b>0</b>	8	0
<b>1</b>	0	4
<b>2</b>	0	3
<b>3</b>	0	1
<b>FEV<sub>1</sub> (%)</b>	84.4 ± 5.5	48.6 ± 7.7
<b>EBC minták (n)</b>	24	24
<b>Alapbetegség (n)</b>		
<b>CF</b>	4	4
<b>IPF</b>	2	2
<b>PPH</b>	1	2
<b>Egyéb</b>	1	0

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. FEV<sub>1</sub>: forszírozott kilégzési térfogat 1 másodperc alatt, EBC: kilégzett levegő kondenzátum, CF: cisztás fibrózis, IPF: idiopathiás tüdőfibrózis, PPH: primer pulmonalis hipertónia

**5.6.2.3. Citokin microarray**

A mérés során az EBC mintákból 1 mL-t liofilizáltunk, majd a liofilizált mintákat ionmentes vízben reszuspendáltuk és csoportonként (BOS-mentes betegek vs. BOS-betegek) egyesítettük. A két egyesített (poolozott) EBC frakciót 120 citokin párhuzamos detektálására alkalmas microarray (Raybiotech Inc.) vizsgálatnak vetettük alá az 5.6.1.3. pontban leírtaknak megfelelően. Az intenzitások kiértékelése szintén hasonló módon történt.

**5.6.2.4. Statisztikai analízis**

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek. A citokin szintekben bekövetkező változást akkor tartottuk szignifikánsnak, ha (i) az legalább 2-szeres csökkenést vagy növekedést

mutatott a BOS szövődményében szenvedő betegekben a BOS-mentes betegekhez képest, és (ii) a membránon lévő párhuzamosok (duplikátumok) közötti variabilitás 25%-nál kisebb volt.

#### 5.6.2.5. Eredmények

A vizsgált 120 különböző citokin közül 108 volt detektálható mindkét poolozott EBC frakcióban. Kilenc citokin szintje mutatott legalább 2-szeres növekedést, míg négy citokin szintje legalább 2-szeres csökkenést a BOS-ban szenvedő betegek mintájában a BOS-mentes kontroll csoport mintájához képest (23. táblázat).

23. táblázat  
A 2-szeresnél nagyobb vagy kisebb relatív eltérést mutató citokinek a két poolozott EBC mintában

Citokinek	Relatív intenzitás változás		Citokinek	Relatív intenzitás változás	
	növekedés	csökkenés		növekedés	csökkenés
<b>TMP</b>	2.74		<b>INF-<math>\gamma</math></b>	3.23	
<b>TPO</b>	2.47		<b>MIP-3<math>\alpha</math></b>	4.17	
<b>TRAIL-R3</b>	2.41		<b>FGF-4</b>		2.42
<b>VEGF</b>	2.17		<b>Angiop-2</b>		2.27
<b>VEGF-D</b>	3.77		<b>GDNF</b>		4.62
<b>IL-10</b>	5.41		<b>MDC</b>		5.02
<b>IL-13</b>	3.51				

TMP: thymocita mitogenikus protein, TPO: thrombopoetin, TRAIL: TNF-hez hasonló apoptózist indukáló ligand, VEGF: vascularis endothelialis növekedési faktor, IL: interleukin, INF- $\gamma$ : interferon- $\gamma$ , MIP-3 $\alpha$ : macrophag inflammatorikus protein-3 $\alpha$ , FGF: fibroblast növekedési faktor, Angiop: angiopoietin, GDNF: glia sejtvonalból származó neurotrophicus faktor, MDC: macrophagokból-származó kemoattraktáns

## 5.7. Az oxidatív stressz vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegségben a légúti malondialdehid koncentráció meghatározása alapján

### 5.7.1. Betegek

A vizsgálatba akut exacerbáció miatt az Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézetben kórházi felvételre került COPD-s betegeket vontunk be. Beválasztási kritériumként szerepelt (i) COPD akut exacerbáció diagnózisa, (ii) életkor >40 év, valamint (iii) dohányzás >10 csomag-év az anamnézisben (40. ábra). A COPD akut exacerbáció diagnózisát a GOLD

megfelelő ajánlására alapoztuk [254]. A kizárási kritériumok megegyeztek az 5.3.1. fejezetben leírtakkal.

A vizsgálatba a fentiek mellett 21 klinikailag stabil COPD-s beteg, valamint 20 egészséges kontroll személy is beválasztásra került (24. táblázat). A stabil COPD-s betegek beválasztási kritériuma a következő volt: (i) életkor >40 év, (ii) dohányzás >10 csomag-év és (iii) obstruktív légzészavar ( $FEV_1 < 80\%$  és poszt-bronchodilatátor  $FEV_1/FVC < 70\%$ ) fennállása. Az egészséges önkénteseknél atópia, akut vagy krónikus tüdőbetegség nem állt fenn, és a vizsgálat előtt 4 hétre visszamenőleg légúti infekciójuk sem volt. Az egészségesek gyógyszeres kezelésben nem részesültek.

### **5.7.2. Vizsgálati protokoll**

Az exacerbációban lévő betegekből EBC és spontán köpetgyűjtésre, valamint FENO, vérgáz és légzésfunkciós mérésekre két alkalommal került sor: először a betegek kórházi felvételekor, majd másodszor – a kezelés után – a betegek távozásakor. A mellkas röntgen vizsgálatok a kórházi felvétel napján történtek. A vérgáz mérése az 5.5.2. pontban leírtak szerint történt. A stabil betegekből és az egészséges kontroll személyekből ambuláns vizitek alkalmával EBC-t és indukált köpetet gyűjtöttünk. A betegek kórházi terápiáját a mindenkori kezelőorvos határozta meg. A kezelőorvosok a vizsgálatban közvetlenül nem voltak érintettek, a betegek MDA mérési adatait nem ismerték.

### **5.7.3. Légzésfunkciós vizsgálatok, FENO-mérések és EBC gyűjtés**

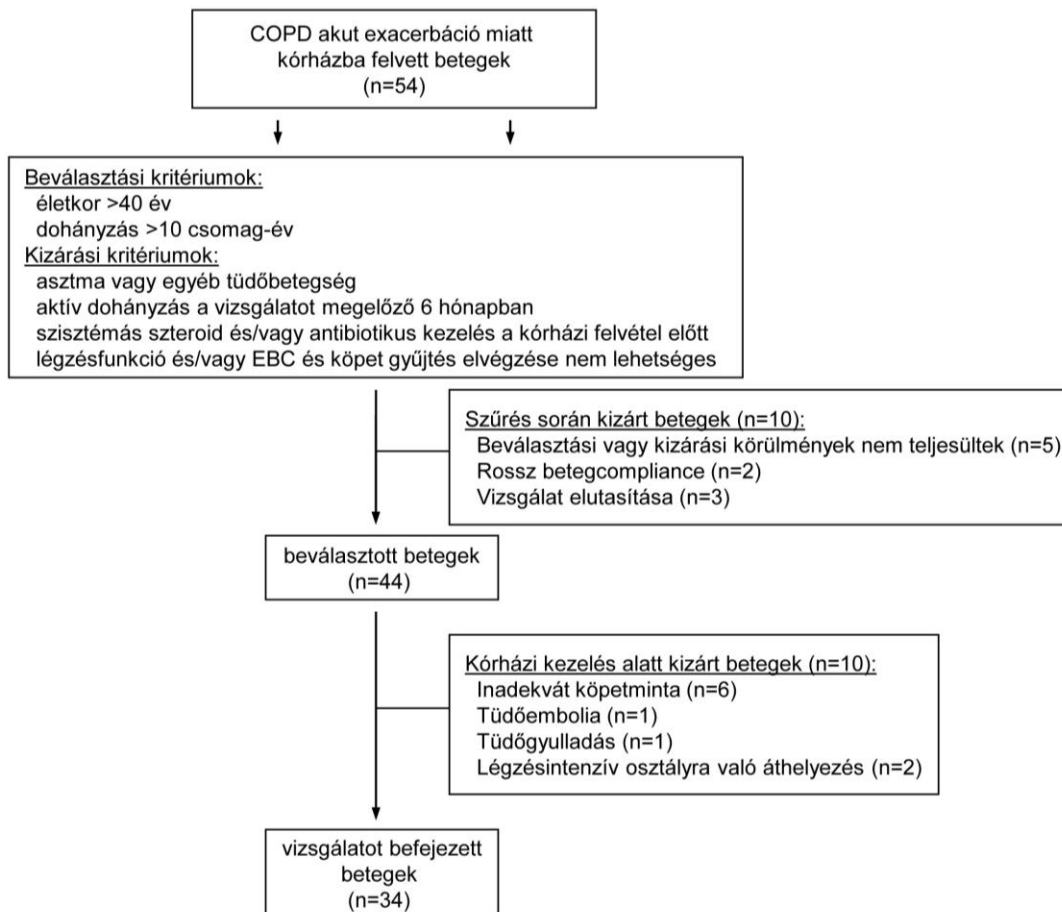
A légzésfunkciós vizsgálatokat az 5.1.1.4. pont, míg a FENO méréseket az 5.1.1.5. fejezetben leírtak szerint 50 mL/sec áramlási sebesség mellett végeztük. Az EBC gyűjtése az 5.4.3. fejezetben leírtaknak megfelelően történt.

### **5.7.4. Köpet gyűjtés és feldolgozás**

A stabil betegek esetén a köpetindukciót hipertóniás sóoldat (4%) ultrahangos porlasztóval való belélegeztetésével (1 mL/min; UltraNed 2000, DeVilbiss Healthcare Ltd., Tipton, UK) végeztük. Az exacerbációban lévő betegekből spontán köpetet gyűjtöttünk.

A köpetmintákat az 5.3.4. pontban leírtaknak megfelelően dolgoztuk fel. A különböző sejttípusokat (macrophag, neutrophil és eosinophil granulocytá és lymphocytá) százalékos

arányban adtuk meg az összes (nem laphám eredetű) gyulladásoos sejt viszonylatában. Előkísérletekben igazoltuk, hogy a DTT-vel való kezelés (0.1%) nem befolyásolja a köpet MDA koncentrációjának meghatározását (DTT-vel kezelt köpet:  $209.9 \pm 51.7$  vs. DTT-mentes köpet:  $145.2 \pm 26.7$  nmol/L,  $p > 0.05$ ;  $n=6$ ).



40. ábra. A vizsgálat folyamatábrája

### 5.7.5. MDA mérése

A köpetfelülűszók és az EBC minták MDA koncentrációját a *Lärstad és mtsai.* által kidolgozott módszer szerint [245] izokratikus HPLC technikával határoztuk meg. A mérésekhez 25  $\mu$ L EBC-t vagy köpetmintát használtunk fel, a forgalmazó cég ajánlásait követve (MDA Reagens Kit, Chromsystems Ltd., München, Németország). A méréseket fluoreszcens detektorral felszerelt HPLC készülékkel (Jasco FP-2020 Plus, ABL&E-Jasco Ltd., Budapest, Magyarország) végeztük, az elválasztásra MDA HPLC-oszlopot (Chromsystems) használtunk. A mérések 1.0 mL/min áramlási sebesség mellett 515 nm excitációs, illetve 553 nm emissziós hullámhosszokon történtek. Egy méréshez 20  $\mu$ L minta került felvitelre. A kit méréshatára 0.01  $\mu$ mol/L volt.

A köpetindukciónak az MDA szintre gyakorolt közvetlen hatását előkísérletben tanulmányoztuk, mégpedig stabil COPD-s betegek egy csoportjának (n=10) indukált és spontán köpetmintáin. Vizsgálati eredményként az MDA koncentrációja az indukált és a spontán köpetmintákban hasonlóan bizonyult ( $135.7 \pm 9.7$  vs.  $148.1 \pm 7.3$  nmol/L,  $p > 0.05$ ). A mérés visszamérhetőségi koefficiense 48.7 nmol/L, egyezési tartománya  $-30.8$  és  $55.7$  volt.

24. táblázat  
A vizsgálatot befejezett betegek légzésfunkciós, FENO és vérgáz adatai

	Kontroll n = 20	Stabil COPD n = 21	COPD exacerbáció n = 34	
Nem (férfi/nő, n)	10 / 10	13 / 8	20 / 14	
Életkor (év)	$61.8 \pm 1.6$	$63.1 \pm 1.8$	$64.2 \pm 2.5$	
Csomag-év	$51.6 \pm 5.2$	$39.5 \pm 3.9$	$40.5 \pm 4.2$	
<b>GOLD stádium (n,%)</b>				
I.	-	4 (19)	2 (6)	
II.		12 (57)	10 (29)	
III.		5 (24)	15 (44)	
IV.		0 (0)	7 (21)	
			<b>exacerbáció</b>	<b>kezelés után</b>
FVC (L)	$3.92 \pm 0.20$	$3.39 \pm 0.16$	$1.96 \pm 0.11$	$2.16 \pm 0.13^{\#}$
FVC (%)	$104.2 \pm 2.7$	$83.4 \pm 2.9$	$72.1 \pm 3.3$	$79.9 \pm 3.4^{\#\#}$
FEV <sub>1</sub> (L)	$2.93 \pm 0.14$	$1.74 \pm 0.13$	$0.94 \pm 0.07$	$1.11 \pm 0.08^{\#\#}$
FEV <sub>1</sub> (%)	$111.3 \pm 3.3$	$63.1 \pm 4.3^*$	$43.7 \pm 2.85$	$51.9 \pm 3.1^{\#\#}$
FVC/FEV <sub>1</sub> (%)	$77.0 \pm 1.4$	$49.4 \pm 2.2^{**}$	$48.2 \pm 2.2$	$52.0 \pm 2.9^{\#}$
FENO (ppb) <sup>§</sup>	7.1 (5.9-9.9)	8.7 (6.0-11.4)	12.7 (6.18-28.7)	10.2 (6.55-17.3) <sup>#</sup>
PaCO <sub>2</sub> (kPa)	$5.2 \pm 0.13$	$5.2 \pm 0.12$	$5.33 \pm 0.17$	$5.64 \pm 0.21$
PaO <sub>2</sub> (kPa)	$10.3 \pm 0.73$	$8.4 \pm 0.22^*$	$6.92 \pm 0.23$	$7.57 \pm 0.20^{\#}$

Az adatok átlag $\pm$ SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. FVC: forszírozott vitálkapacitás, FEV<sub>1</sub>: forszírozott kilégzési térfogat 1 másodperc alatt, FENO: frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid, ppb: részecske per milliárd, PaCO<sub>2</sub>: parciális szén-dioxid nyomás, PaO<sub>2</sub>: parciális oxigén nyomás. <sup>§</sup>medián (interkvartilis tartomány), \* $p < 0.05$  stabil COPD vs. kontroll, \*\* $p < 0.001$  stabil COPD vs. kontroll, <sup>#</sup> $p < 0.05$  exacerbáció vs. kezelés után, <sup>\#\#</sup> $p < 0.001$  exacerbáció vs. kezelés után

### 5.7.6. MDA-mérések intra- és inter-assay reprodukálhatósága

Az MDA mérések intra-assay reprodukálhatóságának meghatározásához a már megmért EBC (n=12) és köpetminták (n=12) egy csoportját 4°C-on tároltuk két héten át, majd ismételtelen lemértük. Az MDA mérések inter-assay reprodukálhatóságának meghatározásához stabil COPD-s beteg egy csoportjának (n=12) köpet és EBC mintáit közvetlenül a gyűjtés után kettéosztottuk, majd a mintákat külön-külön dolgoztuk fel és mértük meg.

### 5.7.7. MDA-mérések napok-közötti variabilitása

Az MDA mérések napok-közötti variabilitásának meghatározásához stabil COPD-s betegek egy csoportjától (n=12) két egymást követő napon EBC és spontán köpetmintákat gyűjtöttünk, és az ugyanazon betegektől származó mintákat külön-külön feldogoztuk és mértük.

### 5.7.8. Statisztikai analízis

Az adatok átlag $\pm$ SEM vagy medián (interkvartilis tartomány) formában szerepelnek. Az adatok eloszlását a *Kolmogorov–Smirnov* teszttel vizsgáltuk. Az MDA koncentráció értékeket egyutas ANOVA-t követő *Newman–Keuls* teszttel elemeztük. A kórházi felvételkor és a távozáskor mért adatokat párosított a *Student*-féle *t*-próbával (parametrikus adatok) vagy a *Wilcoxon* előjeles *rang*-próbával (nem parametrikus adatok) hasonlítottuk össze. A stabil COPD-s betegek és az egészséges önkéntesek alapvonali adatait párosítatlan *t*-teszttel, illetve a *Mann–Whitney* teszttel hasonlítottuk össze. A korrelációs koefficienseket a *Pearson*-módszer szerint számoltuk. Az MDA mérések reprodukálhatóságát és variabilitását a variációs koefficiens és a *Bland–Altman* teszt segítségével határoztuk meg. A visszaméréseknél meghatároztuk a reprodukálhatósági koefficiens is [262]. A számításokat a GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.) statisztikai programmal végeztük. A különbségeket  $p < 0.05$  esetén tekintettük szignifikánsnak.

### 5.7.9. Eredmények

A vizsgálat során 54 betegből 44-nél teljesültek a beválasztási kritériumok. A kórházi kezelés során 10 beteg került kizárássra, így végezetül a vizsgálat 34 beteg részvételével fejeződhetett be (40. ábra).

A kórházi kezelés során minden beteg szisztémás (*i.v.* vagy *per os*) szteroid lőkéskezelésben részesült, amelyet rövid-hatású hörgtágítókkal ( $\beta_2$ -agonista és/vagy antikolinergikum) egészítettünk ki. A betegek 73%-a hosszú-hatású hörgtágítókra ( $\beta_2$ -agonista vagy antikolinergikum), valamint 89%-uk oxigénterápiára is szorult. Antibiotikum terápiában 19 beteg részesült. Az átlagos ápolási idő  $10.9 \pm 1.5$  nap volt.

A kórházi kezelés után a betegek klinikai állapota javult, a légzésfunkciós paraméterek és a betegek  $\text{PaO}_2$  értéke szignifikánsan nőtt, a FENO értékek pedig szignifikánsan

csökkentek (24. táblázat). A betegek gyógyulásával párhuzamosan a köpet neutrophilsejtszáma csökkent (25. táblázat). A gyulladásos sejtek százalékos megoszlása a köpetben ugyanakkor hasonló volt a kórházi felvételtkor és távozáskor.

25. táblázat  
A vizsgálatot befejezett betegek köpet sejtprofil adatai

	Kontroll	Stabil COPD	COPD exacerbáció	
			exacerbáció	kezelés után
<b>Teljes sejtszám</b> ×10 <sup>6</sup> /g	0.3 (0.24-0.69)	0.58 (0.3-2.1)*	2.4 (0.96-7.6)	1.3 (0.64-3.0) <sup>#</sup>
<b>Neutrophil granulocyta</b> %	76.6 (69.8-87.1)	87.5 (73.7-91.7)	94.7 (92.6-97.6)	93.9 (90.4-96.1)
×10 <sup>6</sup> /g	0.27 (0.13-0.57)	0.51 (0.25-2.0)*	2.1 (0.89-5.8)	1.04 (0.62-2.33) <sup>#</sup>
<b>Macrophag</b> %	16.5 (10.8-25.9)	9.1 (5.3-12.1)	1.4 (0.46-2.95)	2.6 (1.46-4.35)
×10 <sup>5</sup> /g	0.8 (0.27-1.4)	0.5 (0.28-1.2)	0.4 (0.15-1.32)	0.39 (0.07-0.74)
<b>Lymphocyta</b> %	2.2 (0.84-3.8)	4.1 (2.3-5.3)*	2.3 (1.4-3.8)	2.5 (1.4-3.3)
×10 <sup>5</sup> /g	0.8 (0.25-3.7)	1.9 (1.4-3.0)*	5.6 (1.9-16.7)	2.7 (1.1-4.6) <sup>§</sup>
<b>Eosinophil granulocyta</b> %	0.0 (0.0-1.2)	0.0 (0.0-2.3)	0.0 (0.0-1.2)	0.0 (0.0-0.77)
×10 <sup>4</sup> /g	0.0 (0.0-2.2)	0.0 (0.0-6.5)	0.0 (0.0-1.8)	0.0 (0.0-1.2)

Az adatok medián (interkvartilis tartomány) formában szerepelnek. \*p<0.05 stabil COPD vs. kontroll, <sup>#</sup>p<0.05 exacerbáció vs. kezelés után, <sup>§</sup>p<0.01 exacerbáció vs. kezelés után

Az MDA-mérések intra- és inter-assay, valamint napok-közötti reprodukálhatóságára vonatkozó adatait a 26. táblázatban foglaltuk össze. Az intra- és inter-assay reprodukálhatóság meghatározásakor a variációs koefficiens és az egyezési tartományok hasonlóak voltak a köpetben és az EBC-ben. Az intra-assay reprodukálhatósági koefficiens a köpetben 25.7, míg az EBC-ben 18.5 nmol/L volt. Az inter-assay reprodukálhatósági koefficient a köpetben 54.9, míg az EBC-ben 34.0 nmol/L-nek mértük.

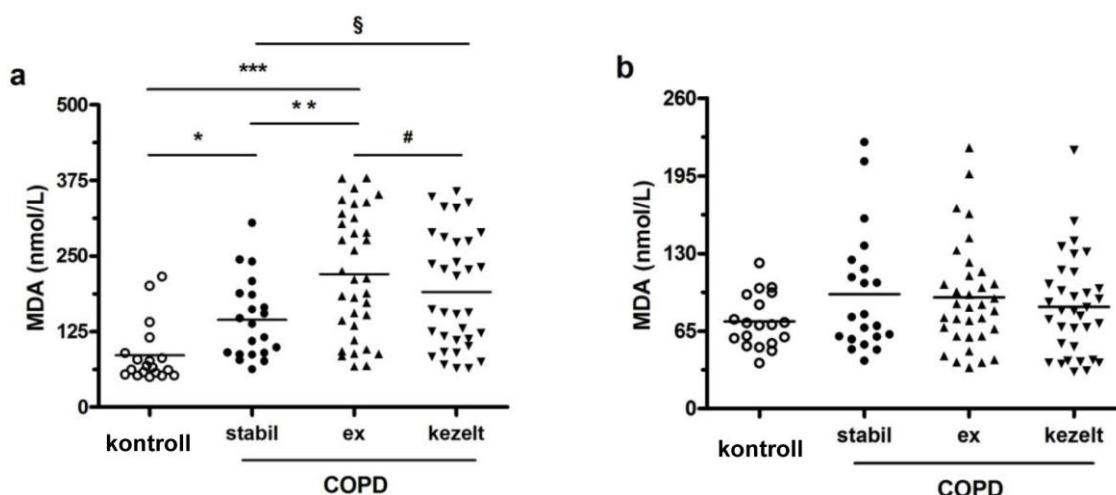
Az MDA-mérések napok-közötti reprodukálhatósága az EBC-ben jóval gyengébb volt, mint a köpetben (26. táblázat). Köpetben a két mérés közötti átlagos különbség 15.5 nmol/L volt, amely érték az EBC-ben 30.9 nmol/L-re nőtt. A variációs koefficiens értéke az EBC-ben szignifikánsan nagyobb volt, mint a köpetben. Hasonlóan, az egyezési tartományok is szélesebbek voltak az EBC-ben, mint a köpetben. A reprodukálhatósági koefficient a köpetben 43.2, míg az EBC-ben 75.1 nmol/L-nek mértük.



26. táblázat  
Az MDA-mérések reprodukálhatósága a köpet és az EBC mintákban

	MDA mérések (nmol/L)		Variációs koefficiens	Egyezési tartomány <sup>#</sup>
	1. minta	2. minta	%	
<b>intra-assay reprodukálhatóság</b>				
köpet	115.5 ± 19.3	110.7 ± 16.3	6.6	-19.6 és 29.3
EBC	61.2 ± 8.2	56.4 ± 6.3	7.6	-11.6 és 21.0
<b>inter-assay reprodukálhatóság</b>				
köpet	152.8 ± 11.5	161.3 ± 16.0	9.1	-31.9 és 45.0
EBC	74.0 ± 8.4	77.1 ± 7.8	12.9	-37.3 és 31.2
<b>napok-közötti reprodukálhatóság</b>				
köpet	123.9 ± 8.5	128.1 ± 7.8	9.3	-47.5 és 39.2
EBC	81.9 ± 7.0	96.7 ± 7.7	24.3*	-85.5 és 56.0

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. \*p<0.05 EBC vs. köpet, <sup>#</sup>Bland-Altman teszt alapján



41. ábra. A légúti minták MDA koncentrációja a különböző vizsgálati csoportokban

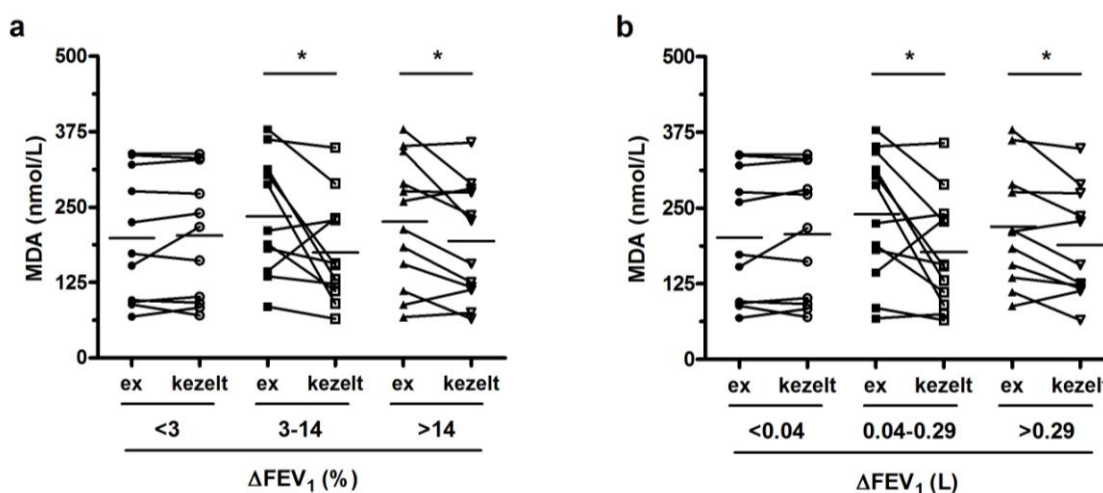
A köpet („a” panel) és az EBC („b” panel) MDA koncentrációja egészségesekben, stabil COPD-s betegekben, valamint akut exacerbációban lévő COPD-s betegekben kórházi felvételnél (ex) és kezelés után (kezelt). A vízszintes vonal az átlagértéket jelzi. \*p<0.05 stabil beteg vs. egészséges kontroll, \*\*p<0.01 exacerbációban lévő vs. stabil beteg, \*\*\*p<0.001 exacerbációban lévő beteg vs. egészséges kontroll, §p<0.05 kezelt vs. stabil beteg <sup>#</sup>p<0.05 exacerbáció vs. kezelés után

A köpet MDA koncentrációja a stabil COPD-s betegekben szignifikánsan magasabb volt az egészséges kontroll csoporthoz képest (144.6±14.3 nmol/L vs. 85.9±11.3 nmol/L, p<0.05; 41. ábra). Az exacerbációban lévő betegekben a köpet MDA koncentrációja tovább emelkedett (220.0±17.5 nmol/L, p<0.01), majd a kezelés után csökkent (190.7±16.3 nmol/L, p<0.05).

A továbbiakban a köpet MDA koncentrációjának és a betegek funkcionális válaszkészségének kapcsolatát elemeztük. Ennek során az exacerbációban lévő betegeket tercilisekre osztottuk a kezelés során elért FEV<sub>1</sub>-növekedés ( $\Delta$ FEV<sub>1</sub>) szempontjából. Kimutattuk, hogy a felső és a középső tercilisbe tartozó betegekben a kezelés során a köpet MDA szintje szignifikánsan csökkent ( $p < 0.05$ ), míg az alsó tercilisbe tartozó betegekben a marker koncentrációja nem változott a hospitalizáció ideje alatt ( $p > 0.05$ ; 42. ábra).

Az EBC MDA koncentrációja a stabil ( $96.1 \pm 11.6$  nmol/L) és az exacerbációban lévő betegekben ( $93.3 \pm 7.6$  nmol/L), valamint az egészséges önkéntesekben ( $73.1 \pm 5.1$  nmol/L) hasonló volt ( $p > 0.05$ ; 41. ábra). Az exacerbáció kezelése nem befolyásolta az EBC MDA szintjét ( $85.3 \pm 7.1$  nmol/L,  $p > 0.05$ ).

Az EBC és a köpet MDA koncentrációja, a FENO szintek, a légzésfunkciós és a vérgáz értékek, valamint a köpet sejtprofilja (összes és differenciált) között szignifikáns korrelációt egyik vizsgálati csoportban sem találtunk (adatokat nem mutatjuk).



42. ábra. A köpet MDA koncentráció-változásának és az exacerbációban lévő betegek funkcionális válaszkészségének kapcsolata

A köpet MDA koncentrációjának individuális változásai akut exacerbációban lévő COPD-s betegekben kórházi felvételnél (ex), majd kezelés után (kezelt). A betegek a kezelés során elért és százalékban („a” panel) vagy literben mért („b” panel) FEV<sub>1</sub>-növekedés ( $\Delta$ FEV<sub>1</sub>) alapján tercilisekre osztottuk fel. A vízszintes vonal az átlagértéket jelzi. \* $p < 0.05$  exacerbáció vs. kezelés után

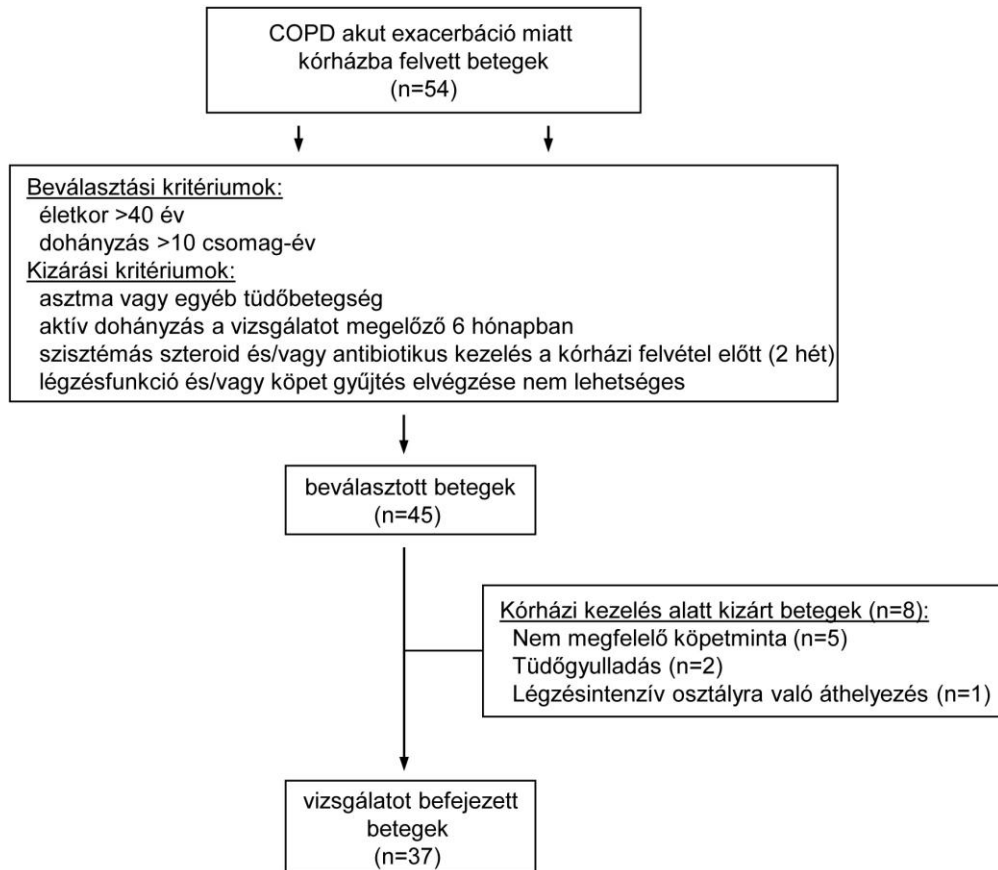
## 5.8. Eikozanoidok vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegségben szenvedő betegek köpetében

### 5.8.1. Betegek és vizsgálati protokoll

A vizsgálatba akut exacerbáció miatt az Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézetben kórházi felvételre került COPD-s betegeket, valamint 25 klinikailag stabil COPD-s beteget

vontunk be. A kórházba került betegek bevásztási és kizárási kritériumai megegyeztek az 5.3.1. fejezetben leírtakkal, míg a stabil betegek bevásztási kritériumai az 5.7.1. pontban leírtaknak feleltek meg (43. ábra).

Az exacerbációban lévő betegekből spontán köpetgyűjtésre, illetve FENO, vérgáz és légzésfunkciós mérésre két alkalommal került sor: először a betegek kórházi felvételekor, majd másodszor a kezelés után a betegek kórházból való távozásakor. A stabil betegekből ambuláns vizitek alkalmával indukált köpetet gyűjtöttünk.



43. ábra. A vizsgálat folyamatábrája

### 5.8.2. Légzésfunkciós vizsgálatok, FENO-mérés és köpet gyűjtés

A légzésfunkciós vizsgálatokat az 5.1.1.4. pont, míg a FENO méréseket az 5.1.1.5. fejezetben leírtak szerint 50 mL/sec áramlási sebesség mellett végeztük. A köpetmintákat az 5.3.4. pontban leírtaknak megfelelően dolgoztuk fel. A különböző sejttípusokat (macrophag, neutrophil és eosinophil granulocytá és lymphocytá) százalékos arányban adtuk meg az összes (nem laphám eredetű) gyulladásos sejt számához viszonyítva.

### 5.8.3. Eikozanoid-mérések

A köpetfelülúszók LTB<sub>4</sub>, 8-izoprosztán, cisz-LT és a PGE<sub>2</sub> stabil derivátumának koncentrációját EIA módszer (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA) segítségével határoztuk meg, a kiteket forgalmazó cég ajánlásait követve. Az assay elvégzésekor a standardokhoz a DTT-t olyan mennyiségben adagoltuk, hogy DTT-nek a standardokban való koncentrációja megegyezzen a köpetminták DTT koncentrációjával (0.04%). A LTB<sub>4</sub>, a 8-izoprosztán, a cisz-LT és a PGE<sub>2</sub> detektációs határértéke a DTT-vel kezelt köpetmintákban 18, 4, 28 és 2 pg/mL volt.

A köpetindukciónak az eikozanoidok szintjére gyakorolt közvetlen hatását előkísérletekben vizsgáltuk, melynek során stabil COPD-s betegek egy alcsoportjából (n=10) indukált és spontán köpetmintát gyűjtöttünk. Ezen minták vizsgálati eredményeként az eikozanoidok koncentrációja az indukált és a spontán köpetmintákban hasonló volt (27. táblázat).

27. táblázat  
Az eikozanoidok koncentrációja a spontán és az indukált köpetben

Mediátor	Koncentráció a köpetben (pg/mL)			Variációs koefficiens %	Egyezési tartomány <sup>#</sup>
	spontán	indukált	p érték		
<b>8-izoprosztán</b>	183.0 (4.1-1233)	195.7 (3.4-1299)	0.937	18.9	-179.1 és 127.2
<b>cisz-LT</b>	446.5 (50.9-1563)	399.2 (151.3-1563)	0.902	22.0	-204.9 és 281.7
<b>PGE<sub>2</sub></b>	28.7 (6.6-80.6)	22.4 (2.2-81.4)	0.605	21.8	-13.2 és 22.1
<b>LTB<sub>4</sub></b>	973.5 (418.9-1654)	907.1 (346.2-1500)	0.798	14.8	-245.0 és 383.1

Az adatok medián (interkvartilis tartomány) formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. LTB<sub>4</sub>: leukotrién-B<sub>4</sub>, PGE<sub>2</sub>: prosztaglandin-E<sub>2</sub>, cisz-LT: ciszteinil-leukotrién. <sup>#</sup>Bland–Altman teszt alapján

### 5.8.4. Eikozanoid-mérések reprodukálhatósága

A mérések inter-assay reprodukálhatóságának meghatározásához stabil COPD-s betegek egy alcsoportjában (n=6) a gyűjtött köpetet közvetlenül a gyűjtés után kettéosztottuk, majd a mintákat külön-külön dolgoztuk fel, beleértve a mérések elvégzését is.

### 5.8.5. Statisztikai analízis

Az adatok átlag±SEM vagy medián (interkvartilis tartomány) formában szerepelnek. Az adatok eloszlását a *Kolmogorov–Smirnov* teszttel vizsgáltuk. A stabil és az exacerbációban

lévő COPD-s betegek eikozanoid szintjeit a *Mann–Whitney* teszttel hasonlítottuk össze. A kórházi felvételnél és a távozáskor mért klinikai adatokat párosított a *Student*-féle *t*-próbával (parametrikus adatok) vagy a *Wilcoxon* előjeles *rang*-próbával (nem parametrikus adatok) hasonlítottuk össze. A korrelációs koefficienseket a *Spearman*-módszer szerint számoltuk. Az eikozanoid mérések reprodukálhatóságát a variációs koefficiens és a *Bland–Altman* teszt segítségével határoztuk meg. A power-analízis során  $\alpha=0.05$  és hatásnagyság=0.87 értékekkel számoltunk. A számításokat a GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.) és a G\*Power (G\*Power Software Inc.) statisztikai programokkal végeztük. A különbségeket  $p<0.05$  esetén tekintettük szignifikánsnak.

28. táblázat  
A vizsgálatot befejezett betegek légzésfunkciós, FENO és vérgáz adatai

	Stabil COPD n = 25	COPD exacerbáció n = 37	
Nem (férfi/nő, n)	15 / 10	22 / 15	
Életkor (év)	62.1 ± 1.6	64.4 ± 2.2	
Csomag-év	48.8 ± 4.8	45.8 ± 4.1	
GOLD stádium (n, %)			
I.	5 (20)	5 (13)	
II.	12 (48)	14 (38)	
III.	8 (32)	11 (30)	
IV.	-	7 (19)	
		<b>exacerbáció</b>	<b>kezelés után</b>
FVC (L)	3.55 ± 0.21	1.93 ± 0.13 <sup>##</sup>	2.23 ± 0.17 <sup>#</sup>
FVC (%)	84.7 ± 3.0	65.4 ± 3.4 <sup>##</sup>	76.5 ± 4.0 <sup>§</sup>
FEV <sub>1</sub> (L)	2.91 ± 0.11	0.92 ± 0.08 <sup>##</sup>	1.14 ± 0.10 <sup>§</sup>
FEV <sub>1</sub> (%)	63.4 ± 4.5	40.2 ± 2.7 <sup>##</sup>	49.6 ± 3.2 <sup>§</sup>
FVC/FEV <sub>1</sub> (%)	50.8 ± 2.1	48.2 ± 3.3	53.7 ± 2.5 <sup>*</sup>
PaCO <sub>2</sub> (kPa)	5.14 ± 0.11	5.54 ± 0.13	5.80 ± 0.14
PaO <sub>2</sub> (kPa)	8.40 ± 0.21	6.81 ± 0.20 <sup>##</sup>	7.16 ± 0.15 <sup>*</sup>
FENO (ppb) <sup>§</sup>	8.6 (5.6-9.9)	13.1 (8.4-26.5)	10.7 (6.9-17.3) <sup>*</sup>

Az adatok átlag±SEM formában szerepelnek, kivéve, ha ezt másképp jelöltük. FVC: forszírozott vitálkapacitás, FEV<sub>1</sub>: forszírozott kilégzési térfogat 1 másodperc alatt, FENO: frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid, ppb: részecske per milliárd, PaCO<sub>2</sub>: parciális szén-dioxid nyomás, PaO<sub>2</sub>: parciális oxigén nyomás, §medián (interkvartilis tartomány). \* $p<0.05$ , # $p<0.01$  vagy § $p<0.001$  kezelés után vs. exacerbáció, ## $p<0.001$  COPD exacerbáció vs. stabil COPD

### 5.8.6. Eredmények

A vizsgálat során 52 exacerbáció miatt hospitalizált betegből 45-nél teljesültek a beválasztási kritériumok (43. ábra). A kórházi kezelés során 8 beteg kizárásra került, így vizsgálatunk

végül 37 akut exacerbációban szenvedő és 25 klinikailag stabil COPD-s beteg összehasonlítására vonatkozik. A vizsgálatot befejezett betegek demográfiai és klinikai adatait a 28. táblázat foglalja össze.

29. táblázat  
A vizsgálatot befejezett betegek köpet sejtprofil adatai

	Stabil COPD	COPD exacerbáció	
		exacerbáció	kezelés után
<b>Teljes sejtszám <math>\times 10^6/g</math></b>	0.6 (0.30-1.27)	2.4 (0.97-6.56)	1.2 (0.64-3.01)*
<b>Neutrophil granulocyt</b>			
%	88 (79.1-91.4)	95 (90.0-97.2)	94 (89.9-96.2)
$\times 10^6/g$	0.6 (0.24-1.04)	1.9 (0.87-5.18)	1.0 (0.42-2.34)#
<b>Macrophag</b>			
%	7.5 (5.1-12.2)	1.5 (0.47-2.6)	2.5 (1.1-4.5)
$\times 10^5/g$	0.5 (0.1-1.4)	0.4 (0.13-1.3)	3.4 (0.07-0.74)
<b>Lymphocyt</b>			
%	3.9 (2.2-5.1)	2.3 (1.4-3.8)	2.5 (1.4-3.1)
$\times 10^5/g$	1.9 (1.0-3.4)	5.5 (1.9-16.5)	2.7 (1.0-4.7)#
<b>Eosinophil granulocyt</b>			
%	0.0 (0.0-1.9)	0.0 (0.0-1.7)	0.0 (0.0-0.82)
$\times 10^4/g$	0.0 (0.0-0.2)	0.0 (0.0-2.6)	0.0 (0.0-1.7)

Az adatok medián (interkvartilis tartomány) formában szerepelnek. \*  $p < 0.05$  és #  $p < 0.01$  kezelés után vs. exacerbáció

30. táblázat  
Az eikozanoid-mérések reprodukálhatósága köpetben

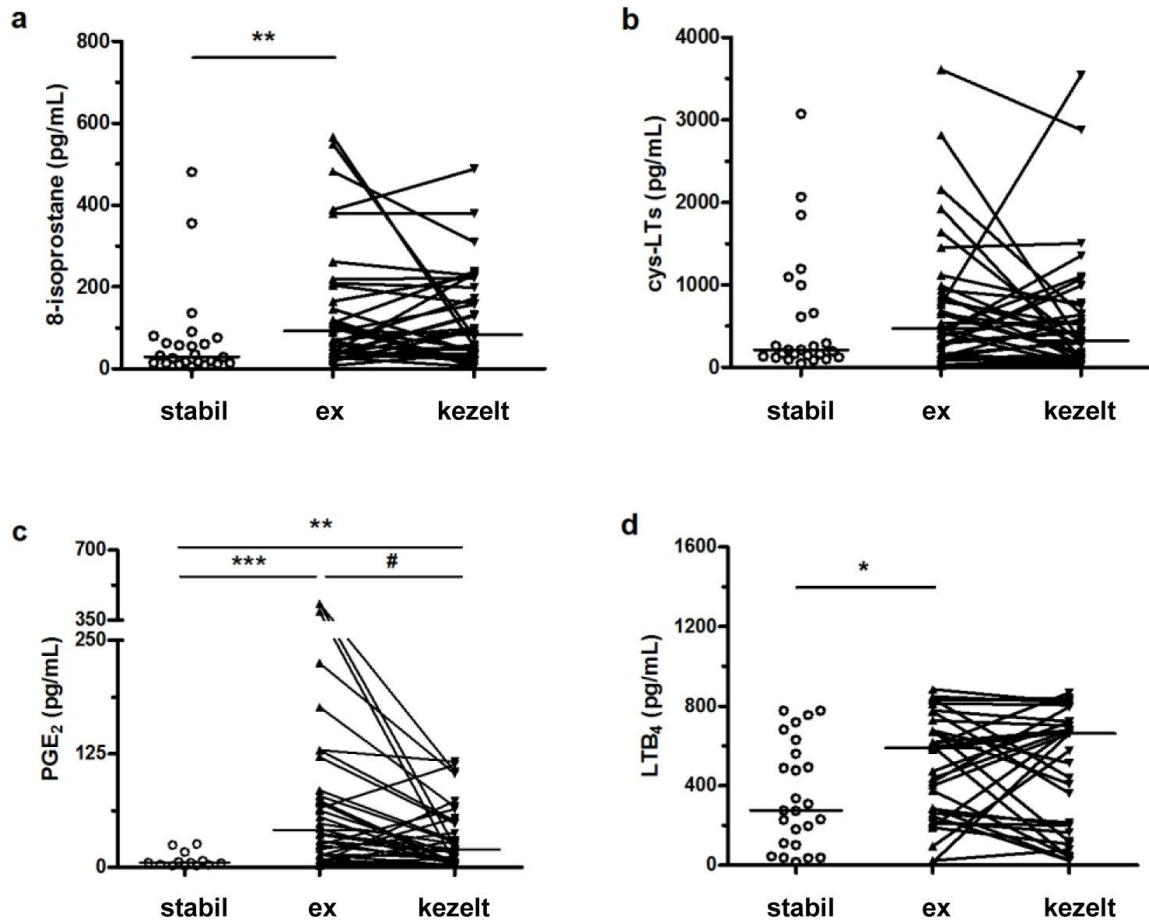
Mediátor	Variációs koefficiens (%)	Egyezési tartomány#
<b>8-izoprosztán</b>	16.1	-186.1 és 119.3
<b>cisz-LT</b>	15.4	-361.3 és 739.3
<b>PGE<sub>2</sub></b>	16.3	-6.3 és 4.4
<b>LTB<sub>4</sub></b>	20.8	-438.6 és 246.2

LTB<sub>4</sub>: leukotrién-B<sub>4</sub>, PGE<sub>2</sub>: prosztaglandin-E<sub>2</sub>, cisz-LT: ciszteinil-leukotrién. #Bland–Altman teszt alapján

A kórházi kezelés során minden beteg szisztémás (*i.v.* vagy *per os*) szteroid lökéskezelésben részesült, amit rövid-hatású hörgőtágítókkal ( $\beta_2$ -agonista és/vagy antikolinergikum) egészítettünk ki. Antibiotikum terápiában 25 beteg részesült. Az átlagos ápolási idő  $12.0 \pm 2.9$  nap volt. A kórházi kezelés után a betegek klinikai állapota javult, a légzésfunkciós paraméterek és a betegek PaO<sub>2</sub> értéke szignifikánsan nőtt, a FENO értéke pedig szignifikánsan csökkent (28. táblázat).

A betegek gyógyulásával párhuzamosan a köpet neutrophilsejtszáma csökkent (29. táblázat). A gyulladásosejtek százalékos megoszlása a köpetben ugyanakkor hasonló volt a felvételtkor és a kórházból való távozáskor.

Az eikozanoid mérések inter-assay reprodukálhatóságára vonatkozó adatokat a 30. táblázatban foglaltuk össze. A leggyengébb reprodukálhatóság a  $LTB_4$ -mérést jellemezte, míg a legjobb reprodukálhatósági mutatója a  $PGE_2$  méréseinek volt.



44. ábra. Az eikozanoidok koncentrációja a stabil, illetve az exacerbációban lévő COPD-s betegek köpetében

A köpet 8-izoprosztán („a” panel), cisz-LT („b” panel),  $PGE_2$  („c” panel) és  $LTB_4$  („d” panel) koncentrációja stabil COPD-s betegekben, valamint akut exacerbációban lévő COPD-s betegekben kórházi felvételtkor (ex) és kezelés után (kezelt). Három exacerbációban lévő betegben a  $PGE_2$  és a  $LTB_4$  szintek magasabbak voltak a kit detektációs limitjénél. A vízszintes vonal a medián értéket jelzi. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  és \*\*\* $p < 0.001$  COPD exacerbáció vs. stabil COPD, # $p < 0.01$  kezelés után vs. exacerbáció

Egyetlen stabil COPD-s betegtől eltekintve a 8-izoprosztán koncentrációja mindegyik köpetben a detektációs limit felett volt. A 8-izoprosztán koncentráció az exacerbációban lévő betegekben szignifikánsan magasabb volt a stabil COPD-s betegekhez képest (89.5 [36.9-

184.7] vs. 29.7 [13.8-68.8] pg/mL,  $p < 0.01$ ; 44. ábra). Kezelés eredményeként a köpet 8-izoprosztán szintje nem változott (84.1 [34.1-185.3] pg/mL,  $p < 0.05$ ).

A cisz-LT-ek szintje mindegyik köpetben a detektációs limit felett volt. Az exacerbációban lévő betegekben a cisz-LT-ek szintje kissé magasabb volt a stabil COPD-s betegekhez képest, a különbség azonban nem volt szignifikáns (211.9 [128.6-827.1] vs. 469.9 [169.2-906.8] pg/mL,  $p > 0.05$ ; 44. ábra). Kezelés hatására a cisz-LT szint nem változott a köpetben (324.2 [114.3-698.1] pg/mL,  $p > 0.05$ ).

A stabil COPD-s beteg köpetében a PGE<sub>2</sub> csak 13 esetben volt detektálható. Az exacerbációban lévő betegek köpetéből nemcsak mindenkor kimutatható volt PGE<sub>2</sub>, hanem koncentrációja is szignifikánsan nagyobb volt a stabil COPD-s betegekéhez viszonyítva. (39.8 [13.3-103.3] vs. 5.05 [2.3-12.1] pg/mL,  $p < 0.001$ ; 44. ábra). Kezelés után a köpet PGE<sub>2</sub> szintje szignifikánsan csökkent (19.6 [4.6-52.5] pg/mL,  $p < 0.01$ ).

A LTB<sub>4</sub> szintje mindegyik köpetben a detektációs limit felett volt. Az exacerbációban lévő betegekben a LTB<sub>4</sub> szint magasabb volt a stabil COPD-s betegekéhez képest (587.7 [252.9-774.8] vs. 276.1 [105.4-594.7] pg/mL,  $p < 0.05$ ; 44. ábra). Kezelés után a LTB<sub>4</sub> szint nem változott (661.5 [182.6-758.1] pg/mL,  $p > 0.05$ ). A stabil és az exacerbációban lévő betegek között standardizált 8-izoprosztán-, cisz-LT-, PGE<sub>2</sub>- és LTB<sub>4</sub>-koncentráció különbség kimutatására a vizsgálat ereje 89, 90, 83 és 89%-os volt.

31. táblázat

A köpet eikozanoid koncentrációja és a klinikai paraméterek közötti korrelációk stabil állapotú és akut exacerbációban lévő COPD-s betegekben

Mediátor	8-izoprosztán		cisz-LT		PGE <sub>2</sub>		LTB <sub>4</sub>	
	r érték	p érték	r érték	p érték	r érték	p érték	r érték	p érték
<b>stabil COPD</b>								
FEV <sub>1</sub> (%)	-0.18	0.39	-0.13	0.52	-0.45	0.10	0.20	0.35
neutrophil granulocyt	0.61	0.004 <sup>†</sup>	0.39	0.07	0.18	0.53	0.52	0.013 <sup>†</sup>
lymphocyt	0.64	0.002 <sup>†</sup>	0.60	0.003 <sup>†</sup>	0.27	0.35	0.38	0.084
<b>COPD exacerbáció</b>								
FEV <sub>1</sub> (%)	0.07	0.75	-0.37	0.07	0.03	0.91	-0.37	0.11
neutrophil granulocyt	-0.05	0.82	0.54	0.003 <sup>†</sup>	0.61	0.001 <sup>†</sup>	0.45	0.024 <sup>†</sup>
lymphocyt	0.07	0.72	0.55	0.002 <sup>†</sup>	0.69	<0.001 <sup>†</sup>	0.24	0.25

FEV<sub>1</sub>: forszírozott kilégzési térfogat 1 másodperc alatt, LTB<sub>4</sub>: leukotrién-B<sub>4</sub>, PGE<sub>2</sub>: prosztaglandin-E<sub>2</sub>, cisz-LT: ciszteinil-leukotrién. <sup>†</sup>szignifikáns korreláció



A stabil COPD-s betegek köpetének neutrophilsejtszáma és a köpet 8-izoprosztán és LTB<sub>4</sub> szintje között szignifikáns pozitív korreláció volt (31. táblázat). A köpet lymphocytasejtszáma szintén korrelációt mutatott a 8-izoprosztán és cisz-LT szinttel.

Az exacerbációban lévő COPD-s betegek között szignifikáns összefüggést igazoltunk a köpet PGE<sub>2</sub> és a köpet neutrophil-, illetve lymphocytasejtszáma között (31. táblázat). Emellett a köpet neutrophilsejtszáma és a köpet LTB<sub>4</sub>, valamint cisz-LT szintje között is korreláció mutatkozott. A cisz-LT szint a köpet lymphocytasejtszámával is szignifikáns összefüggést mutatott. A betegek FEV<sub>1</sub> értéke egyik betegcsoportban sem mutatott korrelációt az eikozanoid koncentrációkkal. Hasonlóan, más légzésfunkciós értékek és sejttípusok sem mutattak szignifikáns korrelációt a köpet eikozanoid szintekkel (adatokat nem mutatjuk).

## 6. MEGBESZÉLÉS

### 6.1. A frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid mérés szerepének meghatározása a tüdőtranszplantált betegek pulmonalis szövődményeinek diagnosztikájában

#### 6.1.1. Légúti infekciók

Követéses vizsgálatunkban tüdőtranszplantált betegek FENO koncentrációját mértük klinikailag stabil állapotban és légúti infekciók idején. Minden betegnél a tünetmentes periódusban mért FENO értékekből átlagot képeztünk (*alapszint*), majd ehhez viszonyítottuk az infekciók idején mért aktuális FENO értékeket. Vizsgálatunkban kimutattuk, hogy a FENO koncentrációja légúti infekciók mellett szignifikánsan megemelkedik, majd az infekció kezelése után – az infekciók szanálódásával párhuzamosan – az alapszintre tér vissza.

Vizsgálatunkban az infekció diagnózisát alapvetően (*i*) klinikai tünetekre, (*ii*) radiológiai eltérésekre és (*iii*) a légzésfunkciós vizsgálatok eredményeire alapoztuk. A felső légúti infekcióknak csak klinikai tünetei voltak, míg az alsó légúti infekciók esetében a szimptomákat légzésfunkciós romlás és/vagy új keletű radiológiai eltérés (infiltrátum) megjelenése is kísérte. Az alsó légúti infekciók esetében gyakori volt a laboratóriumi adatokban való eltérés (leukocytosis és/vagy CRP emelkedés) és az eseteknek közel a felében klinikailag releváns kórokozót is sikerült izolálni a köpetből vagy a BAL-ból. Ezzel ellentétben, a felső légúti infekciónál pozitív tenyésztési lelet vagy a laboratóriumi mérési értékekben eltérés ritkán fordult elő. Fontos kiemelni, hogy a pozitív tenyésztési eredményt önmagában nem tekintettük a diagnózis megalapozójának, segítségével csak a bakteriális légúti kolonizációk eseteit kívántuk elkülöníteni a klinikailag releváns infekcióktól. Összességében, a regisztrált infekciók nagy része alsó légúti bakteriális fertőzés volt, amely klinikailag akut bronchitis, tracheobronchitis vagy pneumonia formájában manifesztálódott.

Hangsúlyozni kell, hogy nincs olyan klinikai vizsgálómódszer, amely teljes bizonyossággal különbséget tesz felső és alsó légúti infekció között, és adott esetben erre klinikailag nincs is mindig szükség. Így, a felső légúti infekciók esetében nem kizárható a légúti gyulladás valamilyen fokú jelenléte az alsó légúti traktusban is. Vizsgálatunkban a FENO-emelkedés mértéke az alsó és a felső légúti infekciók eseteiben hasonló volt.

Eredményeink összhangban vannak két korábbi, keresztmetszeti vizsgálat eredményeivel, melyek szerint tüdőtranszplantált betegekben a pulmonalis infekciók a FENO szint emelkedését okozzák [118,119]. Meg kell azonban jegyezni, hogy e vizsgálatokban csak

a pozitív tenyésztési eredménnyel bíró bakteriális fertőzések kerültek analízisre és az infekciók száma is alacsony volt (a vizsgálatokban power-analízis nem történt). Ezenfelül, e vizsgálatok csak keresztmetszeti jellegűek voltak, a gyógyszeres kezelés hatásvizsgálatára nem került sor.

A fentiekkel ellentétben, *Silkoff és mtsai.* korábban a jelen vizsgálati eredményektől eltérő adatokat közöltek: e munkacsoport ugyanis nem talált különbséget az egészséges és az infekcióban szenvedő tüdőtranszplantált betegek FENO értékei között, míg emelkedést írtak le akut rejecciónak [125]. Az eltérő eredmények háttérében számos tényező állhat. Először is elmondható, hogy a *Silkoff és mtsai.* által közölt vizsgálatban CMV és *Aspergillus* fertőzések is beválasztásra kerültek, míg saját vizsgálatunkban ezeket az eseteket kizártuk. Másodsor, a fertőzések súlyossága különböző lehetett a két vizsgálatban. Harmadszor, elképzelhető, hogy néhány, *Silkoff és mtsai.* által akut rejecciónak véleményezett esetben valójában infekcióról volt szó. Ennek kapcsán megjegyezhető, hogy vizsgálatunkban nem végeztünk szimultán bronchoscopiás vizsgálatot minden infekció diagnózisának felállításakor, eltekintve attól a két esettől, amikor a surveillance bronchoscopya időpontja és az infekció klinikai tüneteinek megjelenése egybeesett. Meggyőződésünk szerint a bronchoscopya elhagyása nem jelentett hiányosságot betegeink kivizsgálása során. A felső légúti infekciók esetében a szimptomák jelenléte egyértelműen légúti fertőzéses (bakteriális és/vagy virális) kórképre utalt. Mind a felső mind az alsó légúti infekciók esetében az antibakteriális és egyéb szupportív kezelés után a légzésfunkciós értékek normalizálódtak, az infiltrátumok felszívódtak, amely szintén arra utal, hogy az állapotromlás háttérében infekció és nem akut rejecciónak állt.

Az utóbbi években több kutatócsoport is felvetette, hogy a FENO-mérés hasznos, non-invazív szűrővizsgálat lehet az allograftot érintő patológiai folyamatok felismerésében [263]. Jóllehet vizsgálatunkban pozitív eredményt kaptunk, azaz a tüdőtranszplantáltaknál a légúti infekciók idején a FENO koncentráció megemelkedett, megjegyezhető, hogy a FENO méréseknek az infekciók diagnosztikájában való alkalmazhatóságát a teszt alacsony szenzitivitása (57%) sajnálatos módon korlátozza. Ugyanakkor a vizsgálat specificitása magas (96%) volt, ami arra utal, hogy megemelkedett FENO érték esetén a klinikusnak légúti infekció lehetőségére feltétlenül gondolnia kell. A teszt pozitív és negatív prediktív értékét a viszonylag alacsony esetszám miatt nem határoztuk meg.

Fontos megjegyezni, hogy az infekció során mért FENO értékeket a betegek saját alapvonalai FENO értékeihez hasonlítottuk. Korábbi irodalmi adatok szerint az alapvonalai FENO koncentrációban jelentős individuális különbségek lehetnek transzplantált betegek

között [264]. Vizsgálatunkban az alapvonalai FENO értékek szintén viszonylag nagy variabilitást mutattak a betegek között.

Számos megfigyelés utal arra, hogy légúti infekció során az emelkedett NO termelés hátterében az iNOS enzim aktivációja áll, amelyet virális [265] vagy bakteriális [266,267] infekciók egyaránt okozhatnak. Jól ismert, hogy a vírus infekciók mind az egészségesekben [110], mind az asztmásokban [268] a FENO koncentráció emelkedését okozzák. A tüdőgyulladás kialakulása a lélegeztetett betegekben szintén FENO emelkedéssel jár [269]. Ezenfelül, *Soccal és mtsai.* azt igazolták, hogy az iNOS mRNS expressziója megnövekszik a BAL folyadékban az infekció szövődményét mutató tüdő allograftokban [270]. E vizsgálati eredmények tükrében feltételezhető, a légúti infekciók során észlelt FENO emelkedés legvalószínűbben a fokozott iNOS expresszióknak tulajdonítható.

A megnövekedett pulmonalis NO termelésnek számos következménye lehet, bár munkánkban ezt közvetlenül nem vizsgáltuk. A hatás egyrészt lehet protektív, mivel az NO-nak élettanilag jelentős antivirális és antibakteriális hatása van a légutakban [271,272]. A légutakban felszabaduló nagy mennyiségű NO ugyanakkor károsíthatja a tüdőparenchyma struktúráját is [273]. Experimentális körülmények között a gyulladással járó sejtek iNOS expressziójának növekedése összefüggést mutat az akut kilökődést [274], illetve a BOS-t [275] kísérő szöveti elváltozások kialakulásával és súlyosságával.

**Összefoglalva, vizsgálatunk során kimutattuk, hogy tüdőtranszplantált betegek légúti infekciója során a FENO koncentráció megemelkedik, ami mindenképpen szorosabb betegkövetést tesz szükségessé és egyben, mint légúti biomarker segítheti az infekció diagnózisának felállítását. A mérés infekció-szűrés céljából való alkalmazását ugyanakkor a vizsgálati módszer alacsony szenzitivitása korlátozza.**

### 6.1.2. BOS

Az Intézetünkben több éven át végzett követéses vizsgálatunkban arra kerestünk választ, hogy a FENO szint rutinszerű mérése segít-e a korai BOS diagnózisának felállításában az egyébként klinikailag panaszmentes tüdőtranszplantált betegekben.

Több mint egy évtizeddel ezelőtt több kutatócsoport arról számolt be, hogy a FENO-mérés alkalmas tüdőtranszplantált betegekben a BOS korai felismerésére is [118,119]. Mint ismeretes, a BOS gyakori pulmonalis szövődmény tüdőátültetett betegekben, melynek alapvető jellegzetessége a bronchiolusok falának fibroproliferatív átépülése, ami progresszív légzésfunkciós csökkenéshez, életminőség romláshoz és végül halálhoz vezet [30]. Mivel a

BOS diagnosztikája igen problematikus, és sokszor csak előrehaladott stádiumban lehetséges, a FENO-mérés, mint egyszerű, non-invazív vizsgálómódszer lehetséges diagnosztikai jelentőségét nagy érdeklődés fogadta a transzplantációs centrumokban.

Miként az értekezés 3.4.1.9. fejezetében részletezésre került, a FENO-mérés diagnosztikai célra való alkalmazása a BOS-ban ellentmondásos, és a vizsgálómódszer szenzitivitását és specificitását a különböző vizsgálatokban nagyon eltérőnek találták [122, 124]. Valószínű, hogy ennek hátterében a BOS betegcsoportba tartozó betegek nagyfokú heterogenitása (stabil/instabil betegek), egyes vizsgálatok alacsony esetszáma vagy más, vizsgálattervezési problémák állnak.

Eredményeink szerint a BOS szövődményét mutató ( $BOS \geq 1$ ) és nem mutató ( $BOS = 0$ ) betegek FENO értékei megegyeznek egymással és csak néhány BOS-t mutató betegben észlelhető számottevő, a FENO értékek variabilitását meghaladó emelkedés. Több tüdőtranszplantált betegben a FENO koncentráció konstansan magasabb anélkül, hogy bennük rövid időn belül (6 hónap) BOS alakulna ki vagy a BOS súlyosbodna. Összességében, eredményeink nem erősítik meg más munkacsoportok korábbi megfigyeléseit, miszerint a BOS megjelenése során a FENO szint szignifikánsan megemelkedik, és hogy ez jó szenzitivitással és specificitással felhasználható lehetne a BOS felismerésére a korai (pre-klinikai) időszakban.

Jóllehet az általunk vizsgált és követett betegek száma alacsonyabb volt más centrumok betegszámaihoz képest, a betegekre vonatkoztatott átlagos követési idő (>4 év) viszont jóval hosszabb volt minden korábbi vizsgálatnál. Abszolút számban is lényegesen több FENO-mérést végeztünk, mint más kutatók. Ilyen értelemben vizsgálatunk egyedülállónak számít a nemzetközi irodalomban.

A saját és más munkacsoportok – elsősorban *Neurohr* [122], valamint *Verleden és mtsai.* [121] – kutatási eredményei közötti különbség oka nem ismert. Elképzelhető, hogy a hazai gyakorlatban a betegek erősebben immunszupprimáltak és/vagy gyakrabban részesülnek inhalációs vagy szisztémás kortikoszteroid kezelésben. Az ICS készítmények általában csökkentik a FENO szintet, még tüdőtranszplantált betegekben is [276]. Vizsgálatunkban azonban a betegek csupán 10%-a részesült rendszeresen ICS kezelésben, amely viszonylag alacsony arány ahhoz, hogy elfogadható módon magyarázza a vizsgálatok közötti különbségeket [277].

Az immunszuppresszió típusa/mértéke szintén befolyásolhatja a FENO szintet [278]. Az erősebb immunszuppresszió a fertőzőes szövődmények gyakoriságát növelhette volna, amit azonban saját beteganyagunknál nem tapasztaltunk. Végül elmondható, hogy a hazai

tüdőtranszplantáltak között a CF-ben szenvedő betegek aránya a külföldi centrumokhoz képest jóval nagyobb, és elméletileg ez is befolyásolhatta a vizsgálatok eredményeit és a FENO-mérés felhasználhatóságát a BOS diagnosztikában. Saját korábbi munkánkban ugyanakkor azt találtuk, hogy a CF miatt operált betegek FENO szintje és ennek variabilitása nem különbözik a más indikációk miatt operált betegek értékeitől, legalábbis a szövődmenymentes esetekben [279].

Több munkacsoport azt találta, hogy a BOS-ban szenvedő betegeken belül csak a funkcionálisan instabil betegeknél mérhető magasabb FENO szint, míg a funkcionálisan stabil betegek FENO szintje valójában normális [122,123]. Mivel azonban a *stabilitás* vagy *instabilitás* megítélése függ a követési idő hosszától, ez a megkülönböztetés félrevezető lehet. Vizsgálatunkban a követési idő több mint 4 év volt, ami elég hosszú időszak ahhoz, hogy a funkcionális romlás üteme elérje a BOS fennállásának kritériumát vagy diagnózisát, és így a betegeinket akár instabil állapotúnak is tekinthetnénk, anélkül, hogy jelentős légúti gyulladás és emelkedett FENO koncentráció jellemezné őket [280].

Végül elképzeltető, hogy a súlyosabb BOS stádiumú (BOS 2 és 3) betegeken a FENO szint később, még hosszabb követési idő alatt mégiscsak megemelkedik (vizsgálatunkban kevés ilyen stádiumú beteg volt). Klinikai szempontból ugyanakkor éppen a korai BOS (BOS 1) felismerésében lenne a legnagyobb szerepe egy non-invazív diagnosztikai módszernek. Ebben a stádiumban van ugyanis a legnagyobb terápiás esély a BOS progressziójának csökkentésére, illetve megállítására.

**Összefoglalva, követéses vizsgálatunk eredményei nem támogatják a FENO-mérés rutinszerű alkalmazását tüdőtranszplantált betegeken BOS diagnosztika céljából.**

## **6.2. A frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid koncentrációjának vizsgálata a krónikus obstruktív tüdőbetegség akut exacerbációjában, a mérés prediktív értékének meghatározása a betegek funkcionális válaszkészsége szempontjából**

Követéses munkánkban a FENO-mérés, mint a légúti gyulladás monitorozására alkalmas non-invazív vizsgálómódszer lehetséges klinikai felhasználását vizsgáltuk akut exacerbáció miatt hospitalizált COPD-s betegeken. Vizsgálatunk során azt igazoltuk, hogy *(i)* az exacerbáció miatt kórházba került COPD-s betegeken a felvételnél mért koncentrációhoz képest a FENO érték csökken a betegek kezelése során; illetve, hogy *(ii)* ez pozitív korrelációt mutat az exacerbáció kezelése során elért FEV<sub>1</sub>-növekedés mértékével; valamint, hogy *(iii)* a FENO-

méréssel az exacerbációban lévő betegek funkcionális válaszkészsége jó hatásfokkal megjósolható.

Jóllehet az elmúlt években számos vizsgálat irányult a FENO koncentrációjának COPD-s betegekben való meghatározására, a módszer klinikai felhasználhatósága e betegcsoportban továbbra is bizonytalan maradt. Jól ismert, hogy a stabil COPD-s beteg FENO szintje hasonló [94,95] vagy csak kismértékben emelkedett [96,97] az egészségesekhez képest. COPD akut exacerbációban ugyanakkor a legtöbb vizsgálat a FENO szint emelkedését írja le a stabil állapothoz képest [99,101,109,281]. E megfigyelést a jelen vizsgálat adatai is megerősítik. Az emelkedés a légúti gyulladás súlyosbodásának következménye, amely közismert patofiziológiai jellemzője az exacerbációnak. Az exacerbáció során észlelt FENO szint emelkedés klinikai relevanciája azonban önmagában csekély.

A korábbi években több kutatócsoport is felvetette, hogy a FENO-mérés klinikai haszna a COPD súlyosságának megítélésében lehet. A légzésfunkciós és a FENO értékek közötti összefüggés azonban meglehetősen ellentmondásos [96–101]. A spirometriai paraméterek abszolút értéke és a FENO szint között a jelen vizsgálatban sem tudunk szignifikáns korrelációt kimutatni. Így, a FENO értékből önmagában a COPD súlyosságára következtetni nem lehet.

Ezzel szemben munkánk során elsőként mutattuk ki, hogy az exacerbációban lévő COPD-s betegekben az exacerbáció idején mért FENO koncentráció korrelációt mutat a betegek funkcionális válaszkészségének mértékével, melyet a kezelés során elért FEV<sub>1</sub>-növekedéssel ( $\Delta$ FEV<sub>1</sub>) jellemeztünk. E megfigyelés alapján felvetettük, hogy a FENO-mérés alkalmas lehet a terápiára *reagáló* vagy *nem reagáló* (responder és non-responder) betegek elkülönítésére. A terápiára *reagáló* betegek azok voltak, akiknek a FEV<sub>1</sub> értéke legalább 12%-kal, de minimum 200 mL-rel nőtt a kórházi kezelés során. A *nem reagáló* betegekben ez a kritérium nem teljesült. Felvetésünket a ROC görbe analízis során igazoltuk, amely szerint a FENO jó prediktív értékű markernek bizonyult a FEV<sub>1</sub>-növekedés előrejelzése szempontjából (ROC görbe alatti terület >0.8). Az optimális vágópont (határérték) 26.8 ppb-nél húzódott, e vágópontnál a teszt szenzitivitása és specificitása közel azonos (~75%) volt. Fontos kiemelni, hogy a teszt negatív prediktív értéke még magasabb volt (85%). Klinikai szempontból ez azt jelenti, hogy az alacsony FENO szint (<26.8 ppb) az exacerbáció idején nagy bizonyossággal vetíti előre a szignifikáns légzésfunkciós javulás elmaradását a kezelés végén.

Megjegyezhető, hogy vizsgálatunkban a vágópont értéke alacsonyabb volt más, hasonló elemzésekben kapott vágópont értékekhez képest (40–50 ppb) [106]. Ennek valószínűsíthető oka az, hogy vizsgálatunkba nagy arányban (>80%) vontunk be a kórházi

felvétel előtt ICS kezelésben részesült betegeket. A viszonylag alacsony határérték a dohányzó betegek magas arányából (79%) is adódhatott.

Vizsgálatunkban azt is kimutattuk, hogy nemcsak a FENO abszolút értéke, hanem annak változása ( $\Delta$ FENO) is korrelációt mutat az exacerbáció kezelése során elért FEV<sub>1</sub>-növekedés mértékével. E megfigyelés klinikai relevanciája azonban az előbbiekhöz képest kisebb.

Vizsgálatunkban összefüggést mutattunk ki a FENO szint és a betegek kórházi kezelésének időtartama között is. Ugyanis, azok a betegek, akiknek FENO koncentrációja kórházi felvételkor magasabb volt, hamarabb kerültek emisszióra. E megfigyelés összhangban van a klinikai tapasztalattal, amely szerint a nagyobb funkcionális válaszkészségű betegek gyógyulása gyorsabb. A gyorsabban felépülő betegek pedig rövidebb ideig igényelnek kórházi ellátást.

Az ICS kezelésnek a FENO koncentrációra gyakorolt hatása ellentmondásos: egyes adatok szerint az ICS készítmények csökkentik a FENO szintet [282,283], míg más referátumokban ilyen hatást nem igazoltak [284,285]. A jelen vizsgálatban a FENO értékek csökkenő tendenciát mutattak a tartósan ICS kezelésben részesült betegekben. A FENO koncentráció és a FEV<sub>1</sub>-növekedés között kimutatott korrelációt az ICS kezelés nem befolyásolta.

Vizsgálatunkhoz hasonló betegkövetésről nagyon kevés irodalmi közlés jelent meg. Egy korábbi referátumban *Augusti és mtsai.* arról számoltak be, hogy nincs szignifikáns változás a FENO értékben COPD-ben szenvedő betegek akut exacerbációjának kezelésekor [109]. Az ellentmondó eredmények pontos oka nem ismert. Elképzelhető, hogy az általunk vizsgált betegek körében jóval több asztmás fenotípusú COPD-s beteg került beválasztásra. Ezek a betegek pedig típusosan nem neutrophil-, hanem inkább eosinophilsejt (>3%) dominanciával járó légúti gyulladást mutatnak, és jobban reagálnak szisztémás szteroidokra [286]. A szteroidokkal szembeni jobb válaszkészség alacsonyabb FENO szintet eredményezhet a kórházi kezelés végén.

Közismert, hogy a dohányzás csökkenti a FENO koncentrációt COPD-ben [96,97,101]. Ezért, a légúti gyulladás súlyosbodását jelző FENO-emelkedést a dohányzás ellensúlyozhatja is [101]. Valószínűleg ez az oka annak, hogy vizsgálatunkban a dohányos betegek FENO koncentrációja csak kismértékben volt alacsonyabb az ex-dohányos betegek értékeihez képest. A kezelésnek a FENO szintre gyakorolt hatása mind a dohányos, mind az ex-dohányos alcsoportban kimutatható volt. Végül fontos hangsúlyozni, hogy a dohányzási status nem befolyásolta a FENO szint és a kezelése során elért FEV<sub>1</sub>-növekedés közötti



korreláció fennállását, azaz a FENO prediktív értéke (szerepe) a dohányzástól viszonylag független.

Vizsgálatunkban a betegek nagy része (83%) teofillin kezelésben is részesült kórházi ellátása során. Mivel a teofillin-készítmények kis mértékben fokozzák a szteroidok gyulladáscsökkentő hatását COPD-ben [287], a kiszámított FENO határérték módosulhat a teofillin-készítményekkel nem kezelt betegekben. Bár megjegyzendő, hogy a változás mértéke igen csekély lehet, mivel a teofillinek önmagukban nem befolyásolják a FENO szintet [288].

Meg kell jegyezni, hogy vizsgálatunknak voltak korlátai. Először is elmondható, vizsgálatunkban a kezelés nem volt standardizálva, ezért nem ismert, hogy pontosan mely gyógyszer(ek) csökkentette(ék) a FENO szintet. A legvalószínűbb hatás a szteroidoknak tulajdonítható. Feltételezhető, hogy azoknál a betegeknél, akiknél a FENO koncentráció megemelkedett, a légúti eosinophils sejtek aránya nagyobb és a betegek szteroidokra is érzékenyebbek, mint ahogyan ezt korábban stabil állapotú COPD-s betegekben igazolták [134,138,289].

Egyes megfigyelések szerint a szteroidok mellett a  $\beta_2$ -agonisták [290] vagy az antibiotikumok [291] is befolyásolhatják a FENO szintet, bár e méréseket csak kevés és nem is COPD-s betegeken végezték, és a változás mértéke sem volt jelentős. Egyes adatok szerint, a hörgők keresztmetszetének ingadozása önmagában is befolyásolhatja a FENO koncentrációt [292], bár megint kérdéses, hogy e hatás a COPD-ben szenvedő betegekre is érvényes-e. Így összességében nem valószínű, hogy vizsgálatunkban a szteroidokon kívül alkalmazott gyógyszerek jelentős hatással lehettek volna a FENO szint változására. Vizsgálatunk további kritikájának tekinthető, hogy a kórházi tartózkodás ideje – mint vizsgálati végpont – nemcsak a betegek terápiás válaszkészségétől függ, hanem számos, a beteg kezelőorvosával összefüggő szubjektív tényezőtől is. Annak ellenére azonban, hogy a kezelési idő ilyen módon szintén nem volt standardizálva vizsgálatunkban, a FENO és a kórházi tartózkodás ideje között szignifikáns összefüggést mutattunk ki.

**Összefoglalva, követéses vizsgálatunkban bizonyítottuk, hogy exacerbáció miatt hospitalizált COPD-s betegekben a felvételnél mért FENO szint pozitív korrelációt mutat az exacerbáció kezelése során elért FEV<sub>1</sub>-növekedés mértékével. Kimutattuk továbbá, hogy 26.8 ppb-s optimális FENO határérték mellett a terápiára reagáló és nem reagáló (FEV<sub>1</sub>-növekedés szempontjából) alcsoportok viszonylag jó szenzitivitással és specificitással elkülöníthetők. A FENO és a FEV<sub>1</sub>-növekedés közötti összefüggést nem befolyásolja a betegek dohányzási státusza vagy az ICS használata az exacerbáció előtt.**

### 6.3. A frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid és a köpet sejtprofil kapcsolatának vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegség akut exacerbációjában

Követéses vizsgálatunkban a FENO koncentráció és a légúti gyulladás kapcsolatát elemeztük akut exacerbáció miatt hospitalizált COPD-s betegekben. Vizsgálatunk során azt igazoltuk, hogy *(i)* az FENO szint szoros pozitív korrelációt mutat a köpet eosinophilsejtszámával; valamint, hogy *(ii)* a FENO jó prediktív értékű biomarkere a köpet eosinophiliának COPD exacerbációjában.

Jól ismert, hogy a COPD exacerbációs epizódjai rendkívül heterogének mind az etiológia, mind a légúti gyulladás tekintetében. Jelentős eltéréseket mutat továbbá a betegeknek a kezelésre adott válaszkészsége is. A korábbi vizsgálataink során azt igazoltuk, hogy az exacerbációban lévő COPD-s betegekben a magas FENO koncentráció a betegek nagyobb funkcionális válaszkészségét vetíti előre nagy bizonyossággal [257]. A jelen vizsgálatban azt találtuk, hogy az exacerbáció során mért FENO szint a köpetben lévő eosinophilsejtek százalékos és abszolút számával egyaránt korrelációt mutat, valamint, hogy a FENO-méréssel megfelelő bizonyossággal megítélhető, hogy a betegek köpetében eosinophilia (3%-nál nagyobb eosinophilsejt arány) kimutatható-e vagy sem. A köpet eosinophilia kimutathatóságára vonatkozóan a FENO-mérés optimális határértéke 19 ppb-nél volt. E határértéken a teszt szenzitivitása elérte a 90%-ot. A specificitás ennél alacsonyabb (74%) volt. A teszt pozitív és negatív prediktív értékét a viszonylag alacsony esetszám miatt nem határoztuk meg.

Érdekes, hogy a vizsgálatunkban meghatározott FENO határérték alacsonyabb volt eosinophil bronchitises betegekben a közelmúltban közölt adatokhoz képest [293], amelynek háttérében az állhat, hogy vizsgálatunkba nagy arányban (>75%) vontunk be a kórházi felvétel előtt ICS kezelésben részesülő betegeket. További különbség, hogy a jelen vizsgálatban exacerbációban lévő betegeket vizsgáltunk, míg az említett referátumban stabil állapotú betegek szerepeltek.

Vizsgálatunk másik fontos eredménye, hogy a légúti eosinophiliát mutató betegekben a légzésfunkciós javulás mértéke szignifikánsan nagyobb volt a kizárólag neutrophil légúti gyulladással jellemzett (köpet eosinophiliát nem mutató) betegekhez képest. Az eosinophilsejtszám csak az eosinophiliát mutató alcsoportban csökkent, a teljes betegcsoportban az eosinophilsejtek száma nem változott számottevően a kezelés során. Vizsgálatunkban meghatároztuk a köpet eosinophilia prediktív értékét is a betegek funkcionális válaszkészsége szempontjából. Az érték szerényebbnek bizonyult a FENO-mérés

prediktív értékéhez képest (ROC görbe alatti terület: 0.72 vs. 0.82), amelyet a korábbi vizsgálatunkban határoztunk meg [257]. Az eosinophilia gyengébb prediktív értéke azzal függhet össze, hogy az eosinophilsejtek száma a köpetben nagy variabilitást mutat (tartomány: 0–30) és a betegek egy részében e sejttípus egyáltalán nincs jelen.

A közelmúltban *Bafadhel és mtsai.* kimutatták, hogy a perifériás vér százalékos eosinophilsejtszáma szenzitív biomarkere (ROC görbe alatti terület: 0.85) a köpet eosinophiliának COPD exacerbációban [18]. Vizsgálatunk ezt a megfigyelést nem erősítette meg, mivel e paraméter prediktív értékét jóval kisebbnek találtuk (ROC görbe alatti terület: 0.65). Az eltérő eredmények háttérben a vizsgált betegpopulációban vagy az exacerbációk súlyosságában lévő különbségek állhatnak. Különbségek lehetnek a vér- és köpetminták gyűjtési időpontjában is.

Amint az korábban már disszertációmban részletezésre került (6.2. fejezet), az ICS kezelésnek a FENO szintre gyakorolt hatása ellentmondásos. A jelen vizsgálatban a FENO értékek kis mértékben alacsonyabbak voltak a tartósan ICS kezelésben részesült betegekben az ICS terápiában nem részesültekhez képest, ami hasonló korábbi megfigyeléseinkhez [257]. A FENO szint mind az ICS kezelésben részesült, mind a nem részesült betegekben csökkent. A FENO koncentráció és a köpet eosinophilsejtszám között kimutatott szignifikáns korrelációt az ICS kezelés nem befolyásolta.

A várakozásoknak megfelelően – a betegek gyógyulásával párhuzamosan – a köpet neutrophilsejtszáma csökkent az exacerbáció kezelése során [16]. A kezelés során a köpetben lévő lymphocyták száma is csökkent, ami a vírusok és/vagy a baktériumok eliminációjával összefüggő immunológiai válaszreakció részének tekinthető. *Bathoorn és mtsai*-nak megfigyelésével összhangban [14] a köpetben lévő gyulladásosejteknek csak az abszolút száma csökkent, a sejteknek az egymáshoz viszonyított aránya nem változott.

Ismeretes, hogy a köpetindukciónak vannak előnyei a spontán úton való köpetgyűjtéssel szemben, ami azonban COPD exacerbációban biztonságosan csak az enyhe és közepes súlyos betegek esetében elvégezhető beavatkozás [67]. A jelen vizsgálatba bevont betegek jelentős része súlyos (39%) vagy nagyon súlyos (24%) stádiumú volt. Ezenfelül – az exacerbáció súlyossága miatt – a betegek rendre kórházi felvételre kerültek. Így vizsgálatunkban a biztonságossági szempontok figyelembevételével a betegeknek indukció helyett csak spontán köpetgyűjtés történhetett. Méréseink validitását jelzi, hogy a spontán és az indukált köpetből a légúti gyulladásra vonatkozóan nagyrészt ugyanazon információk nyerhetők [70]. A megfelelő minőségű köpettel nem rendelkező betegek – akár a felvételnél, akár a távozáskor – a vizsgálatból kizárásra kerültek.

A közelmúltban *Siva és mtsai.* kimutatták, hogy ha a COPD kezelése során a konvencionális szempontok mellett az indukált köpet eosinophilsejtszámának csökkentésére is törekednek, akkor a későbbiekben a súlyos, kórházi elhelyezést igénylő akut exacerbációk száma szignifikánsan visszaszorítható [139]. Eredményeink alapján felmerül, hogy egy ilyen kezelési stratégiában az egyszerű FENO-mérés kiválthatja a jóval munkaigényesebb és drágább indukált köpetvizsgálatot. Ez jelentős előrelépést jelentene a COPD-s betegek kezelésében és egyúttal csökkentené a nagy költségigényű hospitalizációs epizódok számát is.

A köpet eosinophilia definíciója nem teljesen egységes a COPD-vel kapcsolatos irodalomban. Vizsgálatunkban az eosinophiliát 3%-os eosinophilsejt arányban határoztuk meg. Ahhoz, hogy adataink szélesebb körben összehasonlíthatóak legyenek, a FENO-mérés prediktív értékét meghatároztuk 1 és 2%-os eosinophilsejt arány mellett is. Mivel azonban csak néhány beteg köpetében volt 1 és 3% között az eosinophilsejtszám, eredményeink lényegesen nem változtak.

Meg kell említeni vizsgálatunk korlátait is. Mégpedig, *(i)* az alkalmazott kórházi kezelés nem volt standardizált, valamint *(ii)* a második köpetgyűjtés és FENO-mérés időpontja viszonylag széles tartományban változott, attól függően, hogy mennyi időt töltött el a beteg a kórházban. Továbbá, *(iii)* a dohányzás zavaró hatását kiküszöbölendő vizsgálatunkat kizárólag ex-dohányos betegeken végeztük. E beválasztási kritérium miatt adataink és kiszámított határértékeink automatikusan nem vonatkoztathatók dohányzó COPD-s betegekre is.

**Összefoglalva, a vizsgálatok során bebizonyosodott, hogy az exacerbációban lévő és légúti (köpet) eosinophiliát mutató COPD-s betegek funkcionális válaszkészsége nagyobb a kizárólag neutrophil légúti gyulladásban szenvedő betegekhez képest. A FENO-méréssel a köpet eosinophilia fennállása biztonságosan megítélhető az akut exacerbáció miatt hospitalizált COPD-s betegeknél. A jövőben a FENO-mérésnek szerepe lehet a COPD-s betegek alcsoportokra való bontásában és akár egyes terápiás intervenciók (például ICS) indikációs körének meghatározásában is, bár ennek további klinikai vizsgálatokban való elemzése szükséges.**

#### **6.4. A kilégtett levegő kondenzátum pH-jának vizsgálata asztma és krónikus obstruktív tüdőbetegség akut exacerbációjában**

Követéses vizsgálataink eredményei szerint *(i)* a kondenzátum pH-ja asztma exacerbáció során csökken, majd az exacerbáció kezelés után az egészségesekhez hasonló szintre tér

vissza; *(ii)* COPD-s betegekben a kondenzátum kémhatása még akut exacerbáció alatt sem változik az egészségesekhez képest; *(iii)* dohányzás hatására a kondenzátum savasabb kémhatású, és *(iv)* a kondenzátum kémhatását a kondenzátor típusa is befolyásolja.

A jelen vizsgálatban első alkalommal mértük a kondenzátum kémhatását a korábban részletesen leírt CO<sub>2</sub> standardizációs módszerrel (3.4.3. fejezet) akut exacerbáció miatt hospitalizált asztmás és COPD-s betegekben. Jóllehet az asztma exacerbációban észlelt kondenzátum savasodás jó egyezést mutat néhány korábbi megfigyeléssel [149,151], vizsgálatunkban a savasodás mértékét jóval kisebbnek találtuk. Stabil asztmásoknál a korábbi vizsgálatok csökkent [150,152,155,294] vagy azonos [159,161,295] EBC pH-t mutattak ki az egészségesekhez képest, bár e vizsgálatok eredményei kritikával kezelendők, mivel a pH-mérések nem a CO<sub>2</sub> standardizációs módszerrel történtek. Savasodással járhat a fizikai terhelés hatására kialakuló bronchokonstriktió is asztmás betegekben, bár e mérések sem a CO<sub>2</sub> standardizációs módszerrel történtek [296]. Egyes vizsgálatokban az egészségesekhez képest különbség csak a közepesúlyos és/vagy a szteroid-naiv asztmás betegeknél volt kimutatható [152].

Vizsgálatunk legértékesebb eredménye, hogy a COPD-s betegeknél még akut exacerbáció esetén sem volt savasodás kimutatható az EBC-ben. Eredményeinket megerősíti, hogy két különböző kondenzátort alkalmazva sem találtunk változást az EBC pH-jában. Tudomásunk szerint hasonló követéses vizsgálat COPD-s betegeken eddig nem történt, a korábbi keresztmetszeti vizsgálatok stabil COPD-s betegeken csökkent [152,153] vagy azonos [160] pH értékeket mutattak ki az EBC-ben az egészségesekhez képest. Néhány további, kis esetszámon végzett vizsgálatban csak enyhe savasodási tendenciát találtak COPD-s betegekben [144]. Mivel az általunk alkalmazott mérés technika pontossága és reprodukálhatósága lényegesen jobb a korábbi módszerekhez képest, eredményeink jelenleg a legmegbízhatóbbaknak tekinthetők.

Betegeink jelentős része tartós ICS kezelésben részesült a hospitalizáció előtt. A korábbi vizsgálatok eredményei szerint az ICS kezelés kis mértékben csökkenti a kondenzátum savasságát asztmásokban, míg COPD-s betegekben ilyen hatást igazolni nem tudtak [152]. A jelen vizsgálatban az ICS kezelésnek sem az asztmásokban, sem a COPD-s betegekben nem volt hatása az EBC kémhatására.

Szintén ellentmondásos az irodalomban, hogy az EBC pH-ja mutat-e korrelációt a betegekben rutinszerűen mért spirometriai paraméterekkel [152-155]. Vizsgálatunk eredményei az összefüggés hiányát erősítik.

Eredményeink jó egyezést mutatnak azzal az általános tapasztalattal, amely szerint a FENO szint asztma exacerbációban megemelkedik, majd szteroid kezelés után csökken. COPD exacerbációban csak kisebb mértékű volt a FENO szint emelkedése, bár kezelés után ekkor is csökkenést tapasztaltunk, hasonlóan más vizsgálatainkhoz [257].

Sokat vitatott, hogy az EBC kémhatását milyen külső környezeti vagy metodikai tényezők befolyásolják. Összevetve az R-Tube típusú kondenzátorral és az EcoScreen készülékkel végzett méréseinket, megállapítható, hogy az előbbivel mért pH értékek kisebbek, azaz az R-Tube típusú eszközzel savasabb EBC nyerhető az EcoScreen készülékhez képest. Így megállapítható, hogy a kondenzátum kémhatására irányuló mérési adatokat a kondenzáló berendezés típusa befolyásolja. Hiteles következtetések érdekében célszerű egy azon készüléken végezni az összehasonlítandó méréseket.

Az R-Tube eszközzel nyerhető savasabb kondenzátum oka nem ismert. Elképzelhető, hogy ebben a kondenzátorok gyűjtőtartályainak felszínét borító anyagok különbözősége (teflon vs. polipropilén) vagy a hőmérséklet szerepet játszik. Saját korábbi munkáinkból ismert ugyanis, hogy az R-Tube készülékkel  $-70^{\circ}\text{C}$ -on gyűjtött kondenzátum savasabb, mint a  $-20^{\circ}\text{C}$ -on gyűjtött kondenzátum [163]. Mindennek azért lehet jelentősége, mert a tapasztalat szerint az R-Tube eszköz külső fémhengere a gyűjtés során lassan felmelegszik, míg az EcoScreen kondenzátor a mérés egész időtartama alatt konstans hőmérsékletet ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) tart fenn beépített hűtési rendszere által. Végül elképzelhető, hogy a különbség egyes illékony molekulák (pl. ammónia) koncentrációjával kapcsolatos. *Wells és mtsai.* ugyanis kimutatták, hogy az alacsonyabb hőmérsékleten gyűjtött kondenzátum ammónia szintje alacsonyabb [145]. Mivel az ammónia befolyásolja az EBC kémhatását, az ammónia szintek különbözősége magyarázhatja az eszközök mérési adatainak különbségét.

A mérés technikától viszont független az a megállapításunk, hogy a dohányzás csökkenti a kondenzátum pH-ját. Ez a tény minden pH-méréssel kapcsolatos vizsgálatnál feltétlenül figyelembeveendő, és arra utal, hogy a dohányzó és nem dohányzó (ex-dohányos) betegek adatait külön-külön kell kiértékelni. A dohányzás hatását mind az egészséges, mind pedig a COPD-s betegcsoportban igazoltuk. A COPD-s betegeken történt korábbi vizsgálatok ellentmondó eredményei részben azzal magyarázhatók, hogy a dohányzás mint zavaró faktor hatását nem vették figyelembe, illetve a vizsgált betegcsoportok eltérő arányban foglaltak magukban aktív dohányos és ex-dohányos betegeket.

Végül elmondható, hogy előkísérleteink adatai alapján az EcoScreen és az R-Tube készülékekkel gyűjtött EBC mintáink rendkívül alacsony koncentrációban ( $<1\ 000\ 000$ -szoros

hígítás) tartalmazhatnak csak nyál amilázt, így – a korábban kritikaként felmerült [144] – nyálkontamináció lehetősége ezekben a vizsgálatokban kizárható volt.

**Összefoglalva eredményeinket, az exacerbációban lévő és kórházi ellátásra szoruló asztmás betegek kondenzátum mintái savasabbak az egészségesekhez képest. Az exacerbáció kezelése során az EBC pH-ja normalizálódik, ami felveti a pH biomarkerként való hasznosításának lehetőségét a légúti gyulladás monitorozásában, bár ennek igazolására további vizsgálatok, így például a köpet sejtprofil és a pH kapcsolatának tisztázása szükséges. A COPD-s betegek akut exacerbációja során a kondenzátum kémhatása változatlan.**

## **6.5. A kilégtett levegő kondenzátum pH-jának vizsgálata cisztás fibrózisban, rosszindulatú tüdődaganatban és bronchiolitis obliterans szindrómában szenvedő tüdőbetegekben**

### **6.5.1. CF**

A vizsgálatban a korábban (3.4.3. fejezet) részletesen leírt CO<sub>2</sub> standardizációs módszerrel mértük a kondenzátum kémhatását CF-es betegekben. Keresztmetszeti vizsgálatunkban kimutattuk, hogy a kondenzátum pH-ja a CF-es betegekben és az egészségesekben hasonló. Fontos kiemelni, hogy ez az eredmény nem a vizsgálat statisztikai gyengességéből adódott, ugyanis megfelelő számú beteget vontunk be ahhoz, hogy klinikailag releváns különbséget tudjunk kimutatni a betegek és az egészségesek között.

Megállapításaink jó egyezést mutatnak *Robroeks és mtsai*-nak a közelmúltban közölt adataival, melyek szerint a CF-es betegekben érdemi savasodás a kondenzátum mintákban nem észlelhető [297]. Ezzel szemben, több más munkacsoport korábban az EBC savasodását észlelte a CF-es betegekben [154,155,295]. Feltételezhető, hogy az eltérő eredmények háttérében a pH mérésével kapcsolatos metodikai különbségek állnak. Mivel az általunk alkalmazott mérés technika pontossága és reprodukálhatósága jobb a korábbi módszerekhez képest, eredményeink jelenleg a legmegbízhatóbbaknak tekinthetők.

Szintén ellentmondásos az irodalomban, hogy az EBC pH-ja mutat-e változást a krónikus bakteriális kolonizációval rendelkező tüdőbetegekben. *Kostikas és mtsai*. szerint a *P. aeruginosával* kolonizált bronchiectasiás betegek kondenzátuma savasabb a nem kolonizált betegekhez képest [152]. Krónikus bakteriális kolonizáció EBC pH-ra gyakorolt hatásával munkacsoportunk tüdőtranszplantált betegek esetén foglalkozott, és azt találtuk, hogy a

kolonizált és a nem kolonizált tüdőtranszplantáltak EBC pH-ja közel azonos [169]. A jelen vizsgálatunknál a betegek olyan nagy arányban voltak bakteriális kolonizált állapotúak, hogy a kolonizáció hatását elkülönítetten nem tudtuk kiszűrni. Munkánk során azonban annyi következtetést levonhattunk, hogy önmagában a *P. aeruginosa* kórokozóval való kolonizáció nem befolyásolta szignifikánsan az EBC kémhatását. Mindezek azért is érdekesek, mert a *P. aeruginosa*val való kolonizáció igen gyakori a CF-es betegek körében és fontos patogenetikai szereppel bír a CF-es beteg állapotromlásában [27]. Így, a különböző baktériumok közül a *P. aeruginosa* megkülönböztetett jelentőségű, korai felismerése non-invazív teszt segítségével a klinikai gyakorlatban nagy jelentőségű lehetne. Jelen CF-re vonatkozó vizsgálatunkban a kolonizációhoz hasonlóan az ICS kezelésnek vagy a *P. aeruginosa* kolonizációval szemben alkalmazott inhalációs antibiotikumok használatának sem volt detektálható hatása az EBC kémhatására.

Egyes megfigyelések szerint a COPD-s vagy bronchiectasiás betegekben a köpet neutrophilsejtszáma és a kondenzátum pH-ja között szoros korreláció áll fenn, azaz a neutrophilsejtszám növekedése markáns pH csökkenéssel jár együtt [152]. Közismert, hogy a CF-es betegekben is súlyos neutrophilsejtes légúti gyulladás alakul ki. Vizsgálatunkban választ kerestünk a neutrophilsejtek számának és az EBC pH-jának kapcsolatára CF-ben. Megállapítottuk, hogy a köpetnek sem a teljes, sem a neutrophilsejtszáma nem mutat összefüggést az EBC kémhatásával, ami arra utal, hogy az EBC pH-jából a légúti gyulladás mértékére következtetni nem lehet.

Tapasztalataink szerint a köpetindukció több szempontból is előnyösebb a spontán úton való köpetgyűjtéssel szemben. Mivel azonban a CF-es betegek (különösen a bakteriális kolonizációval rendelkezők) könnyen ürítenek spontán köpetet, vizsgálatunkban az indukció helyett spontán köpetgyűjtés történt. Vizsgálatunkban a spontán köpet teljes és differenciált sejtszáma hasonló volt az indukált köpet hasonló mutatóihoz [260].

Az R-Tube típusú kondenzátor és az EcoScreen készülék mérési eredményei eltértek egymástól: az EBC minták pH-ja számszerűségét tekintve rendre kisebb volt az R-Tube kondenzátorral mérve, mint az EcoScreen készüléket használva, ami jó összhangban van saját korábbi megfigyeléseinkkel [82,163]. Mivel a két eszközzel kapott számszerű pH értékek között direkt korreláció nincs [163], a két berendezéssel elméletileg különböző eredmény is kapható. Mindezen megfontolások tükrében különösen fontos, hogy vizsgálatunkban mindkét eszközzel hasonló következtetésekre jutottunk.

**Összefoglalva, a CO<sub>2</sub> standardizációs módszer használatával a CF-es betegek kondenzátumának kémhatása megegyezik az egészségesével, annak ellenére, hogy e**



**betegben súlyos krónikus légúti gyulladás áll fenn. Ezen eredmények tükrében az EBC pH mérése, mint non-invazív vizsgálómódszer nem tűnik alkalmasnak a CF pulmonalis manifesztációinak diagnosztikájában.**

### **6.5.2. Tüdődaganatok**

A jelen munkában a korábban (3.4.3. fejezet) részletesen leírt CO<sub>2</sub> standardizációs módszert alkalmazva vizsgáltuk a kondenzátum kémhatását tüdődaganatos betegekben. Keresztmetszeti vizsgálatunkban kimutattuk, hogy a kondenzátum pH-ja a tüdődaganatos betegekben és az egészségesekben hasonló. Eredményeinket sem a daganatok szövettani típusa, sem azok stádiumbesorolása nem befolyásolta.

Betegeink jelentős része (42%) COPD-s társbetegségben is szenvedett. A korábbi vizsgálati eredményeink szerint a COPD fennállása még akut exacerbáció esetén sem befolyásolja a kondenzátum savasságát [82]. E mérésekkel jó egyezésben a jelen vizsgálatban a COPD-nek, mint társbetegségnek nem volt hatása az EBC kémhatására. Így, a COPD mint a pH méréseket potenciálisan *zavaró* vagy *maszkírozó* betegség vizsgálatunkban kizárható volt.

Méréseink nem egy időben történtek, a gyűjtött mintákat a mérés előtt akár több hónapon át –80°C-on tároltuk, ez azonban eredményeinket nem befolyásolta, mivel korábbi munkáink során kimutattuk, hogy a mintatárolás alatt az EBC kémhatása nem változik [298]. Ezt a megfigyelést más munkacsoportok adatai is alátámasztják [162].

Elképzelhető, hogy a daganatok lokalizációja befolyásolja a kondenzátum pH-jának változását tüdődaganatos betegekben. Közismert, hogy perifériás kerekárnyékok esetében a tumoros folyamat a nagyobb bronchusok falát nem infiltrálja, míg a nagy, centrális tüdőtumrok esetében a daganatsejtek direkt inváziója a légutakat közvetlenül is érinti, ami az ASL összetevőinek és sav-bázis viszonyainak a megváltozásához is vezethet. Betegeinket a daganatok lokalizációja szempontjából nem differenciáltuk, mivel a bronchialis falak érintettségét nehéz lett volna pontosan megítélni, ez még mellkasi CT vizsgálatok segítségével is problematikus. Továbbá, a pH mérésnek, mint egy, a tüdőrák szűrésére potenciálisan alkalmas eszköznek csak akkor lehet klinikai létjogosultsága, ha a tumor lokalizációja jelentős szerepet nem játszik a savasság kimutathatóságában.

**Összefoglalva eredményeinket, a tüdődaganatos (nem kissejtes és kissejtes) betegek kondenzátumának kémhatása megegyezik az egészséges, nem daganatos betegekével, így adataink nem támogatják az EBC pH-mérés esetleges alkalmazását a tüdőrák diagnosztika céljából.**

### 6.5.3. BOS

Követéses vizsgálatunkban kimutattuk, hogy a kondenzátum pH-ja a BOS kialakulása során nem változik. Mivel a vizsgálatba bevont betegek nagy része BOS 1 stádiumban volt, megállapításunk leginkább a BOS korai időszakára vonatkozik.

A fenti megállapítás annál is inkább helytálló, mivel a vizsgálatba bevont betegek jó részénél a BOS szövödmény a követési időszak alatt alakult ki. Sem a BOS kialakulását megelőző állapot pH-ja, sem a BOS 1 stádiumában szenvedő betegek pH-ja nem különbözött szignifikánsan a BOS-mentes tüdőtranszplantált betegek pH-jától. Az a megfigyelés, amely szerint a stabil, szövödménymentes tüdőtranszplantált betegek pH-ja és az egészséges, nem transzplantált emberek pH-ja megegyezik egymással, a korábbi vizsgálati eredményeinket erősíti [169]. Vizsgálatunkban a számszerű pH értékek vizitek közötti variabilitását is elemeztük. A variabilitásra a variációs koefficiens és az egyezési tartományok (Bland–Altman teszt) értékeiből következtettünk. A pH variabilitása, azaz annak a vizitek közötti fluktuációja a BOS és a BOS-mentes betegekben hasonló volt.

Elképzelhető, hogy a tüdőátültetéshez vezető alapbetegség befolyásolja az EBC kémhatását, különösen olyan esetekben, amelyeknél az alapbetegség az egyes testszekrétumok összetételének a megváltozását is eredményezi. Vizsgálatunkban ezért külön összehasonlítottuk a CF-es és nem CF-es betegek kondenzátumának kémhatását. A két alcsoport között azonban különbséget nem találtunk.

Egyes irodalmi közlések [152] szerint feltételezhető, hogy az EBC pH-ja változást mutat a bakteriálisan kolonizált tüdőbetegekben. Ezért munkánk során a kolonizált és nem kolonizált CF-es betegeket pH-ját is összehasonlítottuk, különbséget azonban e két csoport között sem találtunk.

Egyes irodalmi adatok alapján az EBC pH-ja változást mutat a GERD-ben [150], míg más megfigyelések alapján ilyen összefüggés nincs [299]. Mivel a GERD előfordulását betegeinkben rutinszerűen nem szűrtük, így a reflux hatását nem tudtuk elemezni vizsgálatunkban. A reflux-ellenes kezelés hatása sem volt követhető vizsgálatunkban, mivel minden beteg H<sub>2</sub>-receptor antagonistá vagy protonpumpa gátló kezelést kapott.

A korábbiakban az EBC kémhatását tüdőtranszplantált betegekben csupán egyetlen munkacsoport vizsgálta és eredményeinkkel ellentétes tapasztalatokról számoltak be, nevezetesen a kondenzátum savasodását írták le a BOS-ban szenvedő betegekben [157]. Mivel mindkét vizsgálatban a középsúlyos állapotú (BOS stádium $\geq$ 2) betegek aránya közel egyező volt (23 vs. 27%), az eltérő eredményekért nem lehet felelős a súlyosabb állapotú

beteg részaránybeli többsége. Feltételezésünk szerint az eltérő eredmények a különböző pH mérési technikákkal állnak összefüggésben. *Dupont és mtsai.* vizsgálatukban nyers mintákat használtak, a CO<sub>2</sub>-gáz mentesítésre – mint legfőbb hibaforrás kiküszöbölésére – semmilyen beavatkozás nem történt. Az általunk alkalmazott módszer pontossága pedig főként erre épült, így eredményeink a korábbi eljárásokhoz képest jóval megbízhatóbbak, amit mindenekelőtt a kiváló reprodukálhatóságuk bizonyít. Végezetül az eltérő eredmények forrása a beválasztott betegek légúti gyulladásának eltérő súlyossági fokozata is lehet. A vizsgálatokat rutinszerű BAL-vizsgálat azonban nem előzte meg, így a légúti gyulladás pontos mértéke és típusa (neutrophil vs. eosinophil) mindkét munkában ismeretlen maradt.

Vizsgálatunkban 5 beteg részesült tartósan azitromycin terápiában (BOS kialakulása miatt). Elképzelhető, hogy e kezelés befolyásolta az EBC pH-ját, azonban e betegek alacsony száma pontos következtetés levonását nem tette lehetővé.

A vizsgálatunkba bevont betegeknek több mint a fele (53%) BOS 1 stádiumban volt, és csak 4 beteg (27%) volt előrehaladottabb, azaz BOS 2 vagy 3 stádiumban. A 9 betegből, akikben a BOS szövődménye a követési idő alatt alakult ki, 7 beteg (78%) BOS 0-p stádiumba, míg 2 beteg (22%) BOS 2–3 stádiumba került. Így, összességében elmondható, hogy a gyűjtött minták nagy része korai BOS stádiumban (0-p vagy 1) lévő betegekből származott. Nem zárható ki, hogy ha több, súlyosabb állapotú beteg mintái kerültek volna mérésre, a légúti savasodás kimutatható lett volna. Mivel azonban az EBC pH-mérésnek klinikai relevanciája leginkább a korai BOS diagnosztikában lehet, ezért vizsgálatunk értékét a súlyosabb betegek alacsony részaránya számottevően nem csökkenti.

Végül megjegyezhető, hogy a beválasztott betegek között COPD-s alapbetegségű személy kevés (16%) volt. Ez annak a következménye, hogy – a nemzetközi gyakorlattól eltérően – a hazai gyakorlatban műtéti előjegyzésre elsősorban fiatal betegek kerülnek, akik között a PPH és CF részaránya sokkal nagyobb.

**Összefoglalva, az EBC pH-jának meghatározása, mint non-invazív szűrőmódszer nem látszik alkalmasnak a korai BOS felismerésére és diagnosztizálására tüdőtranszplantált betegek esetében.**

#### **6.6. A kilégtett levegő kondenzátum citokin mintázatának vizsgálata rosszindulatú tüdődaganatban és bronchiolitis obliterans szindrómában szenvedő tüdőbetegekben.**

Az elmúlt években számos vizsgálat irányult az EBC citokin mintázatának meghatározására különböző tüdőbetegségekben, főként EIA/ELISA technika segítségével [60,62]. A jelen

vizsgálatunkban microarray technikát alkalmaztunk a citokin mintázat elemzésére, aminek számos előnye van az EIA/ELISA módszerekhez képest: egyidejűleg sokkal nagyobb számú citokin vizsgálható, a módszer érzékenysége nagyobb, szélesebb a detektációs tartomány és kisebb a párhuzamosok (duplikátumok) közötti variabilitás, vagyis kisebb a mérési hiba.

Az EBC-ben lévő citokinek meghatározásának legnagyobb problémája, hogy a minták citokin koncentrációja nagyon kicsi és az értékek a vizsgálómódszerek méréshatárához közelítenek [62]. Ez a probléma poolozással kiküszöbölhető, azaz az ugyanazon betegsoporthoz (pl. daganatos) tartozó mintákat egyesítettük, majd ezeket a mintaelegyetet liofilizáltuk, és adott térfogatban újra felvettük. Így a minták fehérje koncentrációja jelentősen emelkedik, ugyanakkor a módszer hátránya, hogy az eredmények individuálisan nem értelmezhetők. Az eljárás további korlátja, hogy csak viszonylag nagy, egyirányú változások detektálhatók és a citokin szintekben esetlegesen bekövetkező kisméretű változások rejtve (*maszkírozva*) maradnak. Természetesen az eredményekből a csoporton belüli tulajdonságokra (pl. a daganatok vagy BOS stádiumbeosztása, szövettani alcsoportok) sem lehet következtetni.

Mindezen korlátokat figyelembe véve vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a tüdődaganatos betegekből származó kondenzátum minták citokin mintázata eltér a tüdődaganatban nem szenvedő kontroll személyek EBC mintáinak citokin mintázatától. Hasonlóan, más citokin mintázatot láttunk a BOS szövödményét mutató betegekből a BOS-mentes betegekhez képest.

A daganatos betegeket vizsgálva az expresszió legnagyobb növekedését a CCL28 kemokin esetében detektáltuk. A CCL28 főleg a légúti epithelsejtekben expresszálódik, fokozza a T- és a B-sejtek migrációját a submucosában, és részt vesz a mucosa fizioológias antibakteriális és antifungális működésének fenntartásában [300]. A kemokin hatásait a CCR3 és a CCR10 kemokin receptorok közvetítik. A CCL28-nak a tüdődaganatokban való szerepére korábbi irodalmi adatok nincsenek. Ismert ugyanakkor, hogy szintje colorektális daganatokban megemelkedik [301] és a kemokin érintett a tumor-indukálta angiogenesis mechanizmusában is [302].

A daganatos betegekből fokozott expressziót mutató másik kemokin a CXCL12, amely a CXCL12 kemokin családjába tartozó GRO- $\alpha$  (CXCL1) volt, amely széles körben vizsgált kemotaktikus hatású molekula a tumorigenezisben. A GRO- $\alpha$ -nak szerepe lehet a primer tüdőrákok [303], illetve más extrapulmonalis daganatok pulmonalis metastasisainak kialakulásában is [304]. Megfigyelésünk jó egyezést mutat ezen irodalmi adatokkal.

Végül a harmadik, expressziójában jelentős emelkedést mutató markernek a MIP-3 $\alpha$  (CCL20) bizonyult, ami a CC-kemokinek családjába tartozó kemokin. A MIP-3 $\alpha$  főleg a lymphocyták számára kemotaktikus hatású molekula, szintje általában gyulladásos folyamatokban emelkedik meg, hatásait a CCR6 kemokin receptoron keresztül fejt ki. A tüdőrák különböző típusaiban betöltött etiológiai és/vagy prognosztikai szerepe bizonytalan, bár néhány vizsgálat felveti ennek lehetőségét a nem kissejtes tüdődaganatokban [305,306].

A BOS szövődményét mutató tüdőtranszplantált betegekben kimutatott citokineknek is lehet patogenetikai szerepük a BOS kialakulásában. Így például, a Th-2-es citokinek csoportjába tartozó IL-13 mind az állatkísérletes [307], mind a humán vizsgálatokban [308] fontos mediátora a BOS-ra jellemző légúti gyulladás és fibrózis kialakulásának. A VEGF mint angiogenetikus növekedési faktor szintén hozzájárul a BOS-ra jellemző fibroproliferatív elváltozások létrejöttéhez [309]. Az IL-1-nek megfelelő TMP jól ismert pro-inflammatorikus citokin, amelynek ugyan a szerepe bizonytalan a BOS kialakulásában, ugyanakkor a patkány trachea transzplantációs modellben – ami a BOS egyik állatmodelljének tekinthető – szintje jelentősen megemelkedik a BOS progressziója során [310]. Végül, a MIP-3 $\alpha$  kemoattraktáns hatású molekula jelenlétét a korai BOS kialakulását kísérő gyulladásos folyamatokban már leírták [311], a pontos szerepére utaló irodalmi adat ugyanakkor kevés.

Mivel a daganatos és a kontroll betegcsoportban minden személy aktív dohányos volt, a dohányzás okozta hatások mindkét vizsgálati csoportban hasonló mértékben jelentkezhetnek. A dohányzás következtében a beválasztott betegek egy része COPD-ben is szenvedett. Mivel azonban a COPD súlyossága mindkét csoportban (daganatos és kontroll) hasonló volt, így a COPD-nek az eredményekre gyakorolt potenciálisan zavaró hatása elhanyagolhatónak tekinthető. A tüdőtranszplantált betegek nem dohányoztak, így itt a dohányzás esetlegesen zavaró hatásával nem kellett számolni.

A tüdőtranszplantált betegek körében végzett vizsgálatunk korlátozó tényezőjének tekinthető, hogy viszonylag kevés beteget vontunk be (n=8) és azok is különböző BOS stádiumúak voltak. Mivel a betegek fele (4 beteg) korai BOS stádiumban volt, elképzelhető, hogy az előrehaladottabb stádiumú (BOS stádium 2–3) betegekben fennálló magasabb citokin szintek maszkírozva maradtak csoport szinten és az eredményekben ez nem tükröződött. Az alacsony betegszám miatt a BOS stádiumokra vonatkozóan alcsoportokat képezni nem volt lehetőség. Vizsgálatunk további kritikájának tekinthető, hogy két beteg krónikus bakteriális kolonizációt mutatott, és elképzelhető, hogy ez befolyásolta az EBC citokin mintázatát. A két kolonizált beteg azonban nem azonos vizsgálati csoportba esett, így összességében a kolonizáció hatása nem tűnik jelentősnek az eredményeink szempontjából. Végül felvethető,

hogy a transzplantációhoz vezető alapbetegség is befolyásolja az EBC citokin mintázatát. Vizsgálatunkban mindkét csoportban a CF-es betegek aránya 50%-os volt, így a CF vonatkozásában ez a felvetés kizárható.

**Összefoglalva, eredményeink alapján elmondható, hogy az antitest microarray módszer alkalmas megfelelő fehérje koncentrációjú (poolozott) EBC minták citokin mintázatának analízisére. Az általunk vizsgált két betegcsoportban különböző citokin mintázatot találtunk a megfelelő kontroll csoportokhoz képest. Igazoltuk, hogy a tüdődaganatos betegek citokin mintázata eltér a daganatban nem szenvedő egészséges kontroll személyek citokin mintázatától, valamint, hogy a BOS szövődményében szenvedő és a BOS-mentes tüdőtranszplantált betegek is elkülöníthetők a citokin mintázatuk alapján. A továbbiakban ezen eredmények validálása szükséges individuális EBC minták szintjén.**

#### **6.7. Az oxidatív stressz vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegségben a légúti malondialdehid koncentráció meghatározása alapján**

Munkánk során az oxidatív stressz monitorozásának lehetőségét vizsgáltuk COPD-ben szenvedő betegek légúti mintáiban az MDA mint a lipidperoxidáció egyik ismert végtermékének mennyiségi meghatározásával.

Követéses vizsgálatunkban kimutattuk, hogy *(i)* a köpet MDA koncentrációja stabil COPD-s betegekben szignifikánsan magasabb az egészséges emberekéhez képest; *(ii)* COPD akut exacerbációja során a köpet MDA szintje tovább emelkedik; majd *(iii)* az exacerbáció kezelés után az MDA szint csökken. Az MDA szintjének csökkenése főként azokban a betegekben volt kimutatható, akiknek a légúti áramláskorlátozottsága is jelentősen javult a kezelés során. A fentiekkel ellentétben a kondenzátum MDA szintje nem mutatott különbséget a COPD-s betegek és az egészségesek között, így a MDA mérése az EBC-ben nem alkalmas az oxidatív stressz monitorozására a légutakban, feltehetően a marker koncentrációjának az EBC-ben való nagyfokú napi variabilitása miatt.

Az MDA légúti koncentrációjának lehetséges változását COPD-ben csupán néhány kutatócsoport vizsgálta korábban, exacerbációban a marker szerepét pedig egyáltalán nem tanulmányozták. Más kórképekben, így például a gyermekkorban jelentkező akut asztmás roham vonatkozásában egy olasz munkacsoport közölt korábban adatokat, amelyek szerint a légúti MDA koncentráció csökken kortikoszteroid kezelés hatására e gyerekekben [312].

A jelen vizsgálatban a COPD exacerbáció során kimutatott MDA koncentráció emelkedés az oxidatív stressz súlyosbodására, illetve az oxidáns anyagok légúti felhalmozódására utal. Fontos megemlíteni, hogy vizsgálatunkba súlyos exacerbációban lévő, azaz kórházi felvételre szoruló és kizárólag ex-dohányos COPD-s betegek kerültek bevonásra. Az aktív dohányosok kizárásával a dohányzás esetleges zavaró hatását kívántuk kiküszöbölni. A kórházi kezelés során minden beteg szisztémás szteroid lövéskezelésben részesült, amelyet rövid- és hosszú-hatású hörgőtágítókkal ( $\beta_2$ -agonisták és/vagy antikolinergikumok) egészítettünk ki. A kórházi kezelés után a betegek klinikai állapota javult, a légzésfunkciós paraméterek és a betegek PaO<sub>2</sub> értéke szignifikánsan nőtt, a FENO értéke pedig szignifikánsan csökkent. A betegek gyógyulásával párhuzamosan a köpet teljes sejtszáma, valamint a neutrophilsejtszáma is szignifikánsan csökkent.

Vizsgálatunk további, klinikai szempontból is értékes megfigyelése az volt, hogy a kezelés hatására a köpet MDA koncentrációjának csökkenése a különböző funkcionális válaszkészségű betegekben eltérő. Azokban a betegekben, amelyekben jelentős FEV<sub>1</sub>-növekedést észleltünk a kezelés során (a betegek felső és középső tercilise), az MDA koncentráció szignifikánsan csökkent. Ezzel szemben, azokban a betegekben, akikben a FEV<sub>1</sub> nem vagy csak kismértékben növekedett (a betegek alsó tercilise), a MDA szint szignifikánsan nem változott a kezelés során.

Az a megfigyelésünk, amely szerint a stabil COPD-s betegek köpetének MDA szintje magasabb az egészséges emberekéhez képest, jó összhangban van *Corradi és mtsai*-nak korábbi adataival [243]. A két vizsgálatban az MDA koncentrációját a köpetben hasonló tartományban mérték. A magasabb MDA szint az oxidatív stressz feltételezett patofiziológiai szerepére utal COPD-ben.

A köpetben megfigyelt és klinikailag is relevánsnak tartott mérési adatokkal szemben, a kondenzátum MDA koncentrációjának mérésével az egészséges emberek és a COPD-s betegek elkülönítése nem volt lehetséges. Az EBC MDA szintje akut exacerbációban sem változott. Ezen adatokból úgy tűnik, hogy az MDA mérése az EBC-ben nem alkalmas az oxidatív stressz monitorozására a légutakban.

Megállapításaink háttérben az MDA koncentrációjának nagyfokú napok-közötti variabilitása állhat, amely e mérések gyenge reprodukálhatóságát eredményezi az EBC-ben. Az EBC-ben más biomarkerek esetében is viszonylag nagy variabilitási mutatók észlelhetők [208,313] és még a kémhatás (pH) is, amely talán az egyik legpontosabban mérhető és legjobban reprodukálható biomarker napjainkban, jelentős napi ingadozást mutat ugyanazon személy esetében is az EBC-ben [164].

Az EBC-ben észlelt nagyfokú napok-közötti variabilitással szemben az MDA mérések intra- és inter-assay reprodukálhatósága hasonlóan jó volt az EBC-ben és a köpetben, ami arra utal, hogy az alkalmazott detektálási rendszer (HPLC) megbízható és önmagában az értékek jól visszamérhetők mind az EBC-ben, mind a köpetben. A HPLC technika közismerten nagyon érzékeny módszer az MDA-hoz hasonló anyagok detektálására vizes közegekben [314]. A preparálás során keletkező végtermék specifikus, amely fluoreszcens detektorral könnyen és nagyon kis koncentrációban mérhető. Ez utóbbi különösen fontos szempont, mivel az EBC rendkívül hígított légúti minta, és ez számos, jól ismert metodikai problémát okoz az egyes összetevők mennyiségi meghatározása során. A mérések megfelelő szenzitivitására utal az is, hogy az MDA minden EBC mintában kimutatható volt. Végül megjegyezhető, hogy az MDA mérések reprodukálhatósági mutatói (variációs koefficiens és egyezési tartományok) jobbak voltak más, az EIA elvén működő detektálási módszerekhez képest [208], ami szintén a HPLC-n alapuló mérés technika megbízhatóbb voltára utal.

A köpetindukciónak ismert előnyei vannak a spontán úton való köpetgyűjtéssel szemben. Az indukció azonban COPD exacerbációban biztonságosan csak az enyhe és középsúlyos betegek esetén elvégezhető beavatkozás [67]. A jelen vizsgálatba bevont betegek jelentős része (>60%) súlyos (GOLD III.) vagy nagyon súlyos (GOLD IV.) stádiumú beteg volt. Továbbá – az exacerbáció súlyossága miatt – a betegek kórházi felvételre szorultak. Így, vizsgálatunkban – gyógykezelés biztonsági és beteg biztonsági szempontok miatt – az exacerbációban lévő betegeknél indukció helyett csak spontán köpetgyűjtés történhetett. Előkísérleteink eredményei szerint azonban az indukció önmagában nem befolyásolja az MDA szintjét a köpetben, így a spontán és az indukció során gyűjtött köpetminták közvetlenül is összehasonlíthatóak.

Hasonlóan *Corradi és mtsai.* által korábban közölt eredményekhez [243] vizsgálatunkban nem találtunk szignifikáns korrelációt a köpet MDA szintje és a légzésfunkciós paraméterek abszolút értéke vagy a köpet gyulladásos sejtprofilja között. Az EBC-ben mért MDA értékek sem korreláltak ezekkel a paraméterekkel. Az irodalmi adatok ellentmondásosak a tekintetben, hogy az MDA értékek mutatnak-e [249] vagy sem [243] korrelációt a COPD-ben vagy az asztmában rutinszerűen mért funkcionális vagy egyéb klinikai mutatókkal. Eredményeink arra utalnak, hogy a légúti áramláskorlátozottság ( $FEV_1$ ) önmagában nem utal az oxidatív stressz mértékére a légutakban.

**Összefoglalva eredményeinket, az MDA mint a lipidperoxidáció egyik ismert mellékterméke HPLC technika segítségével jól detektálható légúti mintákban. A köpet MDA koncentrációja jól reprodukálhatóan mérhető, és e mérések alapján a légutakban**



**zajló oxidatív stressz-hatás mértéke jól nyomon követhető (monitorozható) a stabil, illetve az exacerbációban lévő COPD-s betegekben. Ezzel szemben, a mérések reprodukálhatósága az EBC-ben nem kielégítő, így az MDA biomarker szerepet csak köpet mintákhoz köthetően tölthet be, amennyiben kutatási eredményeink a jövőben széleskörű klinikai vizsgálatokban is validálása kerülnek.**

#### **6.8. Eikozanoidok vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegségben szenvedő betegek köpetében**

Munkánk során a köpet eikozanoid profilját vizsgáltuk stabil klinikai állapotban és akut exacerbációban lévő COPD-s betegekben. Munkánk legértékesebb klinikai megfigyelése az volt, hogy a köpet PGE<sub>2</sub> koncentrációja jelentősen megemelkedik COPD akut exacerbációja során a stabil állapotban észlelt nagyon alacsony szinthez képest. Az exacerbáció kezelés után a PGE<sub>2</sub> szint szignifikánsan csökkent. A köpet LTB<sub>4</sub> és 8-izoprosztán szintje szintén megemelkedett exacerbációban, azonban e mediátorok szintje nem változott a betegek kórházi kezelése alatt, illetve a kórházból való távozásuk időpontjáig.

A fentiekkel ellentétben, a cisz-LT szintek a köpetben nem mutattak változást COPD exacerbációban, ami arra utal, hogy az eikozanoidok ezen csoportjának kóroki szerepe az exacerbációra jellemző légúti gyulladásfokozódásban és áramláskorlátozottság növekedésben nem meghatározó. Fontos hangsúlyozni, hogy megállapításunk nem a vizsgálat statisztikai gyengeségéből adódott, azaz megfelelő számú beteget vontunk be ahhoz, hogy klinikailag releváns cisz-LT szint különbséget tudjunk kimutatni a stabil és az exacerbációban lévő betegek között.

Közismert, hogy az eosinophilsajt és nem eosinophilsajt (neutrophilsajt) dominanciával jellemzett légúti gyulladást különböző mediátorok termelődése kíséri mind az asztmában mind a COPD-ben [8,22,23]. Ezen megfontolások miatt vizsgálatunkban az exacerbációban lévő betegeket két alcsoportra (eosinophil [ $>2\%$ ] vs. nem eosinophil [ $<2\%$ ]) bontottuk. Ennek ellenére, még ilyen bontásban sem tapasztaltunk különbséget a cisz-LT szintekben a stabil és az exacerbációban lévő betegek között (adatokat nem mutatjuk).

Irodalomkövetésünk szerint a köpet PGE<sub>2</sub> koncentrációjának lehetséges változását COPD akut exacerbációban korábban más kutatók nem vizsgálták. Munkacsoportunk erre vállalkozva kimutatta, hogy COPD akut exacerbációra PGE<sub>2</sub> koncentráció emelkedés jellemző. A tapasztaltaknak számos oka és következménye lehet. Részint lehetséges, hogy a jelenség csupán másodlagos, bronchoprotektív reakció, mint ahogy ezt korábban több szerző

is véleményezte stabil asztmás [190], illetve stabil COPD-s [192] betegek esetében. A PGE<sub>2</sub> szint emelkedésnek azonban patogenetikai szerepe is lehet. Egyes megfigyelések szerint, COPD-s betegekben a PGE<sub>2</sub> fokozza a neutrophilsejtek adhézióját a bronchialis epithelsejtekhez mégpedig egy COX-2-dependens mechanizmuson keresztül [194]. Így, a PGE<sub>2</sub> a neutrophil sejtinfiltráció egyik induktora lehet, amit alátámasztani látszik az a tény, hogy vizsgálatunkban a köpet neutrophilsejtszáma és PGE<sub>2</sub> koncentrációja között szoros szignifikáns korreláció állt fenn. Érdekes módon a köpet lymphocytasejtszáma is összefüggést mutatott a PGE<sub>2</sub> szinttel. Végül, a PGE<sub>2</sub> gyulladást- és szövetkárosodást-indukáló hatásaiban az MMP-nek is szerepe lehet, mivel egyes szerzők a PGE<sub>2</sub> és az MMP-2 termelődése között szoros ok-okozati kapcsolatot mutattak ki COPD-ben [315].

Jóllehet a PGE<sub>2</sub> koncentrációja csökkent betegeinkben a kezelés után, szintje a kórházi távozáskor még mindig jelentősen magasabb volt, mint a stabil betegekben. Mivel a PGE<sub>2</sub>-nek a féléletideje a keringésben és valószínűleg a légúti rendszerben is nagyon alacsony (~30 másodperc), és mivel – hasonlóan a több prostanoidhoz – a PGE<sub>2</sub> sem tárolódik intracellularis particulumokban, feltételezhető, hogy a távozó betegekben jelentős *de novo* PGE<sub>2</sub> szintézis zajlott. A stabil betegek köpetében csak 60%-os arányban tudunk PGE<sub>2</sub> jelenlétet kimutatni, mivel nyugalmi körülmények között a PGE<sub>2</sub> csak nagyon alacsony szinten termelődik a légutakban. Eredményeink alapján felmerül a PGE<sub>2</sub>-nak légúti biomarkerként való alkalmazásának ígéretes lehetősége, ami azonban további vizsgálatokat igényel. Mindenekelőtt szükséges a PGE<sub>2</sub> kóroki szerepének tisztázása, továbbá annak a vizsgálata, hogy a terápiás stratégiák felállításakor hogyan lehet vagy kell figyelembe venni a vizsgálatunkban kimutatott mennyiségi változását COPD exacerbációban.

Fiziológiás körülmények között a PGE<sub>2</sub> gyorsan inaktiválódik, 13,14-dihidro-15-keto-PGE<sub>2</sub>-vé alakul a szövetekben a PG-15-dehidrogenáz enzim hatására. Így, az *in vivo* PGE<sub>2</sub> szintézis mértékére főként a stabil PGE<sub>2</sub> metabolitok mennyiségi jelenléte az irányadó. Ezt a metodikát követtük mi is vizsgálatunkban: az általunk alkalmazott kit előírásait követve az összes PGE<sub>2</sub> metabolitot először egy stabil származékká alakítottuk át (*derivatizálás*), majd ennek koncentrációját mértük meg EIA módszer segítségével.

Meg kell jegyezni, hogy cisz-LT és PGE<sub>2</sub> vizsgálati eredményeink ellentétesek *Antczak és mtsai*-nak megfigyeléseivel, melyek szerint az EBC-ben a cisz-LT szintek emelkednek, míg a PGE<sub>2</sub> szintje változatlan COPD exacerbációban [191]. Feltételezhető, hogy az eltérő eredmények hátterében a gyűjtött minták különbözősége (köpet vs. EBC), továbbá az ugyancsak eltérő vizsgálati betegcsoportok beválogatása állhat: így például *Antczak és mtsai*. kizárólag infekciózus exacerbációk eseteit vizsgálták. Kutatócsoportunk

ezzel szemben az exacerbáció okozati hátterének feltárása nélküli, így pozitív köpettenyésztési-lelet kritérium nélküli COPD exacerbációban szenvedő betegek körében végzett vizsgálatot. Mérési adataink így szélesebb betegspektrumra vonatkoznak, ezáltal megállapításaink általánosabb érvényűeknek is tekinthetők. Végezetül megemlíthető, hogy mivel adataink alapján az eikozanoid mérések reprodukálhatósága a köpetben számottevően jobb, mint az EBC-ben [208], ezért eredményeink megbízhatóbbnak tekinthetők, mint az EBC-ben kapott vizsgálati eredmények, bár ilyen tekintetben szisztematikus összehasonlítást nem végeztünk.

A köpetben több kutatócsoport is emelkedett  $LTB_4$  szintet igazolt stabil COPD-s betegekben az egészségesekhez képest [209]. Mások szerint akut exacerbációban a  $LTB_4$  koncentrációja tovább emelkedik [14]. Ez utóbbi megfigyelést a jelen vizsgálati eredményeink is alátámasztják, miként azt is, hogy a  $LTB_4$  koncentráció és a köpet neutrophilszámja között kimutatott szoros korreláció a  $LTB_4$  ismert kemoattraktáns funkciójával állhat összefüggésben a COPD-ben [211]. Érdekes módon a betegek klinikai és funkcionális állapotjavulása nem eredményezte a  $LTB_4$  szint csökkenését a távozás időpontjáig, miként erre már e fejezet elején is utalás történt. A légúti gyulladás elhúzódása az exacerbáció gyógyulása során azonban ismert és mások által is jól dokumentált jelenség [316]. Valószínű, hogy hosszabb követési idő után a csökkenést mi is tapasztaltuk volna.

Az elmúlt években több kutatócsoport is kimutatta, hogy a 8-izoprosztán szintje emelkedett COPD-s betegek köpetfelülúszójában, BAL folyadékában és/vagy kondenzátumában az egészségesekhez képest [227,228]. A jelenség megnövekedett oxidatív stresszre utal. Vizsgálatunkban a 8-izoprosztán szintnek a köpetben való megemelkedését akut exacerbációban igazoltuk. Ezt az összefüggést korábban más munkacsoportok csak az EBC vonatkozásában publikálták [191,207]. Az EBC-ben ugyanakkor a 8-izoprosztán szintje 5-10-szer alacsonyabb a köpethez képest, amely számos detektálási nehézséget és mérési bizonytalanságot vethet fel [60].

Eredményeink összhangban vannak korábbi irodalmi közlésekkel, melyek szerint az exacerbációra jellemző oxidatív stressz növekedése monitorozható egyes kilégtett biomarkerek – így például a  $H_2O_2$  [231] – koncentráció mérésével. Mérési eredményeink ugyanakkor arra is utalnak, hogy a beteg klinikai és funkcionális állapotjavulását eredményező kórházi kezelés még nem eredményezi az oxidatív stressz automatikus csökkenését a betegek kórházi távozásakor. Feltételezhető, hogy az oxidatív stressz-hatás mértéke csak jóval később – hetek vagy hónapok múltán – éri el azt a szintet, ami a stabil

klinikai állapotú COPD-s betegekre jellemző. E feltételezés pontos tisztázásához további követéses vizsgálatokra van szükség.

Az irodalmi közlések ellentmondásosak a tekintetben, hogy a lipid mediátorok mutatnak-e korrelációt a betegekben rutinszerűen mért spirometriai paraméterekkel a COPD-s betegekben [191,207]. Vizsgálatunkban szignifikáns összefüggést nem tapasztaltunk, ami arra utal, hogy légúti áramláskorlátozottság mindenkori értéke ( $FEV_1$ ) önmagában nem determinálja az oxidatív stressz vagy a gyulladás mértékét a légutakban. Hasonló következtetésre jutottunk korábban az MDA-mérések vonatkozásában is [317].

Vizsgálatunkban a stabil betegeknél köpetindukció történt, míg az exacerbációban lévő betegekből spontán köpetet gyűjtöttünk. Mint ahogyan azt már korábban említettük, a köpetindukciónak vannak bizonyos előnyei a spontán úton való köpetgyűjtéssel szemben. Ugyanakkor, a köpetindukció súlyos exacerbációban lévő betegekben etikai okok miatt nem végezhető. Fontos kiemelni, hogy előkísérleteink eredményei szerint az indukció önmagában nem befolyásolja az eikozanoidok szintjét a köpetben, így a spontán módon és az indukció során gyűjtött köpetminták közvetlenül is összehasonlíthatók.

Végül fontos megjegyezni, hogy vizsgálatunkba kizárólag ex-dohányos betegeket vontunk be. Több munkacsoport is igazolta, hogy a dohányzás önmagában is növeli a kilégzett 8-izoprosztán [228],  $LTB_4$  [213] vagy  $PGE_2$  szintet [194] a légutakban, ami a dohányzás gyulladás- és oxidatív stresszt-indukáló hatásai miatt érthető. Vizsgálatunkban a dohányzás esetlegesen zavaró hatása kizárható volt, köszönhetően az alkalmazott beválasztási stratégiának.

**Összefoglalva, vizsgálatunkban az eikozanoidok mintázatát elemeztük stabil és exacerbációban lévő COPD-s betegek köpetében. Kimutattuk, hogy a  $PGE_2$  stabil állapotú betegekben csak nagyon alacsony szinten termelődik, viszont szintje exacerbáció esetében egyértelműen emelkedik, majd az exacerbáció-kezelés következményeként csökken. Szintén emelkedik exacerbációban a köpet  $LTB_4$  és 8-izoprosztán szintje, ami az oxidatív stressz súlyosbodásával, illetve a gyulladásos sejtinfiltráció fokozódásával hozható összefüggésbe. Végül igazoltuk, hogy cisz-LT-ek csoportja is detektálható a köpetben, azonban szintjük exacerbációban számottevően nem változik, így feltételezhetően nem játszanak fontos szerepet az exacerbációval összefüggő gyulladásos folyamatokban és légzésfunkciós romlásban.**

## 7. A DOKTORI ÉRTEKEZÉS LEGFONTOSABB ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSAI

1. Tüdőtranszplantált betegek légúti infekciója során a FENO koncentráció megemelkedik, amely segítheti az infekció diagnózisának felállítását. Az infekciókkal ellentétben a BOS kialakulása nem okoz szignifikáns FENO koncentráció emelkedést, így e szövődmény diagnosztikájában a FENO-mérés szerepe nem jelentős.
2. Akut exacerbáció miatt hospitalizált COPD-s betegekben a FENO szint szoros, pozitív korrelációt mutat az exacerbáció kezelése során elért FEV<sub>1</sub>-növekedés mértékével, és 26.8 ppb-s optimális FENO határérték mellett a terápiára reagáló és nem reagáló (FEV<sub>1</sub>-növekedés szempontjából) alcsoportok jó szenzitivitással és specificitással elkülöníthetők egymástól.
3. Az exacerbációban lévő és köpet eosinophiliát mutató COPD-s betegek funkcionális válaszkészsége nagyobb a köpet eosinophiliát nem mutató, azaz kizárólag neutrophil légúti gyulladással jellemzett betegekhez képest.
4. A FENO jó prediktív értékű biomarkere a köpet eosinophiliának az akut exacerbációban lévő COPD-s betegekben.
5. Az exacerbációban lévő és kórházi ellátásra szoruló asztmás betegek EBC mintái savasabbak az egészségesekhez képest, míg az EBC pH-ja COPD-ben, CF-ben, rosszindulatú tüdődaganatban vagy a BOS szövődményében szenvedő betegekben nem tér el az egészségesekben mért értéktől.
6. A tüdődaganatos, valamint a BOS szövődményében szenvedő betegek kondenzátumának citokin mintázata eltér a rosszindulatú daganatban nem szenvedő kontroll személyek, illetve a BOS-mentes tüdőtranszplantált betegek kondenzátumának citokin mintázatától.
7. A köpet MDA koncentrációja jól reprodukálhatóan mérhető HPLC technika segítségével, és e mérések alapján a légutakban zajló oxidatív stressz-hatás mértéke jól nyomon követhető (monitorozható) a stabil és az exacerbációban lévő COPD-s betegekben.
8. A köpetben kimutatható eikozanoidok közül a LTB<sub>4</sub>, a 8-izoprosztán és a PGE<sub>2</sub> koncentrációja egyaránt megemelkedik COPD akut exacerbációjában, azonban e mediátorok közül egyedül a PGE<sub>2</sub> koncentrációja csökken az exacerbáció-kezelés következményeként, ami felveti a PGE<sub>2</sub>-nek légúti biomarkerként való alkalmazásának lehetőségét.

## 8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Akadémiai doktori munkámhoz kapcsolódóan mindenekelőtt köszönetemet fejezem ki *Strausz János* professzor úrnak, az Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézet korábbi, és *Kovács Gábornak*, az Intézet jelenlegi főigazgató főorvosának, akik lehetővé tették, hogy a gyógyító munkám mellett tudományos kutatómunkát is végezhettem az Intézetben.

Hálás vagyok *Barta Imre* biológus kollégámnak, akinek a tanácsai és kritikai észrevételei nagyban segítettek az értekezésben leírt vizsgálatok megvalósulását. Köszönöm a sok együttgondolkodást, a sok segítséget a pályázatok megírásában és az angol nyelvű közös közlemények nyelvi kontrollálását is.

*Hárnási Gabriella* biológus az MDA mérések, *Mikoss Mária*, *Hernádi Jánosné* és *Csoszor Jánosné* asszisztensek a minták gyűjtésében, valamint a FENO és a pH mérések elvégzésében voltak segítségemre. Köszönöm *Kelemen Krisztina* orvos kollégámnak a CF-es betegek toborzásában nyújtott segítségét. A pH méréstechnika kidolgozása *Kullmann Tamás*, korábbi doktorandusz kollégánk nevéhez fűződik.

Köszönet illeti *Czebe Krisztina* és *Fillinger János* korábbi, valamint *Sótér Szabolcs*, *Drozdovszky Orsolya* jelenlegi PhD hallgatóimat, akik a kutatómunkába bekapcsolódva segítők is voltak a vizsgálatok megvalósulásának. Köszönöm *Pap Dalma* és *Juhász Ágnes* tudományos diákköri hallgatóim lelkesedését is, mellyel az osztályon folyó kutatómunka felé fordultak. A hallgatók toborzásában *Zsembery Ákos* egyetemi docens (Semmelweis Egyetem, Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet) volt segítségemre.

Köszönetet mondok *Kalász Huba* professzor emeritusnak (Semmelweis Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet) a HPLC vizsgálatokhoz nyújtott értékes tanácsaiért, valamint *Kardos Zsuzsannának*, a kémiai tudományos kandidátusának az eikozanoidok irodalmának feldolgozása során nyújtott értékes útmutatásaiért. A HPLC metodikai beállításában *Szepesi Ildikó* (ABL&E-Jasco Magyarország Kft.) is segítette kutatócsoportunkat.

Köszönettel tartozom *Csiszér Eszter* nyugalmazott osztályvezető főorvosasszonynak is, akinek szakmai iránymutatása és segítsége mellett gyakorló tüdőgyógyásszá válhattam, és aki szintén támogatta, hogy a gyógyító-orvosi munkám mellett aktív kutatómunkát is végezhessek.

Kutatói pályafutásom elindításában nagy szerepe volt *Horváth Ildikó* professzorasszonynak, akinek a vezetése mellett a tudományos kutatómunkát az Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézetben megismertem és megszerettem, és akinek a

tanácsaira a későbbiekben is számos alkalommal támaszkodhattam. PhD hallgatóként sokat tanultam *Rosivall László* professzor úr Nephrológiai Kutatólaboratóriumában is (Semmelweis Egyetem, Kóréletani Intézet), és az itt szerzett alapokat és tapasztalatokat a későbbiekben a pulmonológiai kutatómunkámban is felhasználtam.

Köszönöm a Magyar Tudományos Akadémiának, hogy két alkalommal is odaítélte számomra a Bolyai János Kutatási Ösztöndíjat. Az értekezésben leírt vizsgálatok megvalósulásához – a kutatási ösztöndíj mellett – a Magyar Pulmonológiai Alapítvány, az ETT 94/2003 sz. pályázata, valamint az OTKA F046526 és K83338 sz. pályázatai nyújtottak támogatást.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni *Szüleimnek* is, hogy figyelmemet már korábban a kísérletes tudományok felé fordították, és a tudományos munka megbecsülésére és szeretetére neveltek. Hálás vagyok *Feleségem* türelméért és támogatásáért is, amit a kutatómunkám során mindvégig tőle kaptam.

## 9. A DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÁRGYKÖRÉBEN MEGJELENT SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

(ΣIF=67.44)

### 9.1. A PhD értekezést megelőzően megjelent közlemények

1. **Antus B**, Horváth I. A nitrogén-monoxid szerepe a pulmonalis rendszerben.  
*Med Thor* 1996; 42: 162-167.

### 9.2. A PhD értekezést követően megjelent angol nyelvű közlemények

1. **Antus B**, Csiszer E, Czebe K, Horvath I. Pulmonary infections increase exhaled nitric oxide in lung transplant recipients: a longitudinal study.  
*Clin Transplant* 2005; 19: 377-382. **IF:1.887**
2. Czebe K, **Antus B**, Csiszer E, Horvath I. Pulmonary infections in lung transplant recipients.  
*Eur Respir Dis* 2006; 1: 69-71. **IF: –**
3. **Antus B**, Fillinger J, Sebe A, Jeney C, Soltesz I, Horvath I. No gender difference in development of obliterative airway disease in rat tracheal allografts.  
*Exp Mol Pathol* 2006; 81: 235-238. **IF: 1.377**
4. **Antus B**, Sebe A, Fillinger J, Jeney C, Horvath I. Effects of blockade of the renin-angiotensin and endothelin systems on experimental bronchiolitis obliterans.  
*J Heart Lung Transplant* 2006; 25: 1324-1329. **IF: 2.830**
5. **Antus B**, Horvath I. Exhaled nitric oxide and carbon monoxide in respiratory diseases.  
*J Breath Res* 2007; 1: e024002. **IF: –**
6. Czebe K, Kullmann T, Csiszér E, Barat E, Horváth I, **Antus B**. Variability of exhaled breath condensate pH in lung transplant recipients.  
*Respiration* 2008; 75: 322-327. **IF: 1.985**
7. Kullmann T, Barta I, **Antus B**, Horváth I. Drinking influences exhaled breath condensate acidity.  
*Lung* 2008; 186: 263-268. **IF: 1.495**
8. Kullmann T, Barta I, Csiszér E, **Antus B**, Horváth I. Differential cytokine pattern in the exhaled breath of patients with lung cancer.  
*Pathol Oncol Res* 2008; 14: 481-483. **IF: 1.260**
9. Czebe K, Barta I, **Antus B**, Valyon M, Horváth I, Kullmann T. Influence of condensing equipment and temperature on exhaled breath condensate pH, total protein and leukotriene concentrations.  
*Respir Med* 2008; 102: 720-725. **IF: 2.338**
10. Lázár Z, Huszár E, Kullmann T, Barta I, **Antus B**, Bikov A, Kollai M, Horváth I. Adenosine triphosphate in exhaled breath condensate of healthy subjects and patients with chronic obstructive pulmonary disease.  
*Inflamm Res* 2008; 57: 367-373. **IF: 1.457**
11. **Antus B**, Fillinger J, Sebe A, Jeney C, Horvath I. Late treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitors plus endothelin receptor antagonists ameliorates rat tracheal allograft rejection.  
*Transpl Int* 2008; 21: 801-807. **IF: 3.115**
12. Kullmann T, Barta I, **Antus B**, Valyon M, Horváth I. Environmental temperature and relative humidity influence exhaled breath condensate pH.  
*Eur Respir J* 2008; 31: 474-475. **IF: 5.545**
13. **Antus B**, Barta I, Czebe K, Horvath I, Csiszer E. Analysis of cytokine pattern in exhaled breath condensate of lung transplant recipients with bronchiolitis obliterans syndrome.  
*Inflamm Res* 2010; 59: 83-86. **IF: 2.004**
14. Barta I, Kullmann T, Csiszer E, **Antus B**. Analysis of cytokine pattern in exhaled breath condensate of patients with squamous cell lung carcinoma.  
*Int J Biol Markers* 2010; 25: 52-56. **IF: 1.260**



15. **Antus B**, Barta I, Horvath I, Csiszer E. Relationship between exhaled nitric oxide and treatment response in COPD patients with exacerbation.  
*Respirology* 2010; 15: 472-477. **IF: 1.865**
16. **Antus B**, Horvath I, Barta I. Assessment of exhaled nitric oxide by a new hand-held device.  
*Respir Med* 2010; 104: 1377-1380. **IF: 2.525**
17. Bikov A, Gajdócsi R, Huszár E, Szili B, Lázár Z, **Antus B**, Losonczy G, Horvath I. Exercise increases exhaled breath condensate cysteinyl leukotriene concentration in asthmatic patients.  
*J Asthma* 2010; 47: 1057-1062. **IF: 1.341**
18. **Antus B**, Barta I, Kullmann T, Lazar Z, Valyon M, Horvath I, Csiszer E. Assessment of exhaled breath condensate pH in exacerbations of asthma and COPD: a longitudinal study.  
*Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182: 1492-1497. **IF: 10.191**
19. Fillinger J, **Antus B**. Low molecular weight heparins do not modify obliterative airway disease in rat tracheal allografts.  
*Exp Lung Res* 2010; 36: 625-631. **IF: 1.069**
20. Soter S, Kelemen K, Barta I, Valyon M, Csiszer E, **Antus B**. Exhaled breath condensate pH in lung transplant recipients with bronchiolitis obliterans syndrome.  
*Transplantation* 2011; 91: 793-797. **IF: 4.003**
21. Gajdócsi R, Bikov A, **Antus B**, Horvath I, Barnes PJ, Kharitonov SA. Assessment of reproducibility of exhaled hydrogen peroxide concentration and the effect of breathing pattern in healthy subjects.  
*J Aerosol Med Pulm Drug Deliv* 2011; 24: 271-275. **IF: 2.200**
22. Bikov A, Lazar Z, Schandl K, **Antus B**, Losonczy G, Horvath I. Exercise changes volatiles in exhaled breath assessed by an electronic nose.  
*Acta Physiol Hung* 2011; 98: 321-328. **IF: 0.821**
23. **Antus B**, Barta I. Exhaled breath condensate pH in patients with lung cancer.  
*Lung Cancer* 2012; 75: 178-180. **IF: 3.392**
24. **Antus B**, Barta I, Csiszer E, Kelemen K. Exhaled breath condensate pH in patients with cystic fibrosis.  
*Inflamm Res* 2012; 61: 1141-1147. **IF: 1.964**
25. **Antus B**. Pharmacotherapy of chronic obstructive pulmonary disease: a clinical review.  
*ISRN Pulmonology* 2013; e582807. **IF: –**
26. Soter S, Barta I, **Antus B**. Predicting sputum eosinophilia in exacerbations of COPD using exhaled nitric oxide.  
*Inflammation* 2013; 36: 1178-1185. **IF: 2.457**
27. **Antus B**, Barta I. Relationship between exhaled nitric oxide and the frequency of severe acute exacerbation of COPD: 3-year follow-up.  
*Acta Physiol Hung* 2013; 100: 469-477. **IF: 0.882**
28. **Antus B**, Harnasi G, Drozdovszky O, Barta I. Monitoring oxidative stress during chronic obstructive pulmonary disease exacerbations using malondialdehyde.  
*Respirology* 2014; 19: 74-79. **IF: 2.781**
29. Bikov A, Galffy G, Tamasi L, Bartusek D, **Antus B**, Losonczy G, Horvath I. Exhaled breath condensate pH decreases during exercise-induced bronchoconstriction.  
*Respirology* 2014 Feb 25. doi: 10.1111/resp.12248. **IF: 2.781**
30. Drozdovszky O, Barta I, **Antus B**. Sputum eicosanoid profiling in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease.  
*Respiration* 2014 Apr 4. doi: 10.1159/000358099. **IF: 2.615**

### 9.3. A PhD értekezést követően megjelent magyar nyelvű közlemények

1. **Antus B**, Fillinger J, Soltész I, Horváth I. A bronchiolitis obliterans modellezése patkányokban.  
*Med Thor* 2005; 58: 8-13.
2. **Antus B**, Fillinger J, Csiszer E, Czebe K, Horváth I. A bronchiolitis obliterans szindróma a tüdőtranszplantáción átesett betegekben.  
*Orv Hetil* 2005; 146: 9-14.

3. Czebe K, Csiszer E, **Antus B**, Lang G, Jaksch P, Klepetko W. Tüdőtranszplantált magyar betegek bronchoscopos vizsgálatainak elemzése.  
*Med Thor* 2006; 58: 165-170.
4. **Antus B**, Horvath I. Kilégzett nitrogén monoxid a légúti betegségek diagnosztikájában és követésében.  
*Orv Hetil* 2007; 148: 1251-1257.
5. **Antus B**, Sebe A, Jeney C, Fillinger J, Horvath I. A renin-angiotenzin és az endothelin rendszer szerepe patkány trachea allograftok kilökődésében.  
*Med Thor* 2007; 60: 150-155.
6. Czebe K, **Antus B**, Varga M, Csiszer E. Tüdőtranszplantált betegek pulmonalis infekciói.  
*Orv Hetil* 2008; 149: 99-109.
7. **Antus B**, Barta I. Sztteroidérzékenység COPD-ben: köpet-eosinophilia és kilégzett nitrogén-monoxid.  
*Med Thor* 2010; 63: 284-289.
8. **Antus B**. A kilégzett nitrogén-monoxid szerepe a krónikus obstruktív tüdőbetegség sztteroidérzékenységének meghatározásában.  
*Orv Hetil* 2010; 151: 2083-2088.
9. Csiszer E, Baráth Z, Kelemen K, **Antus B**, Füzesi K, Petro J, Czebe K, Lang G, Klepetko W. Cystás fibrózis felnőttek tüdőátültetésének tapasztalatai.  
*Med Thor* 2010; 63: 351-357.
10. **Antus B**, Barta I, Kullmann T, Lazar Z, Valyon M, Horvath I, Csiszer E. Kilégzett levegő kondenzátum pH-változása asztma és COPD akut exacerbációjában.  
*Med Thor* 2011; 64: 42-47.
11. Csoma Z, **Antus B**, Barta I, Szalai C, Strausz J, Kovács G, Herjavec I. A súlyos asztma hazai előfordulása és klinikai fenotipizálása.  
*Med Thor* 2011; 64: 299-311.
12. **Antus B**, Barta I, Csiszer E. Kilégzett NO-mérés a bronchiolitis obliterans szindróma diagnosztikájában tüdőtranszplantált betegekben.  
*Med Thor* 2012; 65: 26-30.
13. **Antus B**. Légúti gyulladás vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegségben: biomarkerek a kilégzett levegő kondenzátumában.  
*Orv Hetil* 2012; 153: 848-851.
14. **Antus B**. Indukált és spontán köpet klinikai felhasználása asztmában és krónikus obstruktív tüdőbetegségben.  
*Orv Hetil* 2012; 153: 1847-1854.
15. Drozdovszky O, **Antus B**. Lipid mediátorok krónikus obstruktív tüdőbetegségben.  
*Med Thor* 2012; 65: 347-356.
16. **Antus B**. Oxidatív stressz monitorozása COPD-ben: malondialdehid mérés.  
*Med Thor* 2013; 66: 246-53.
17. Csoma Z, **Antus B**, Barta I, Szalai C, Herjavec I. A súlyos refrakter asztma fenotípusai a hazai adatbázis alapján.  
*Med Thor* 2013; 66: 246-262.

#### 9.4. A doktori értekezés tárgyköréhez kapcsolódó saját könyvfejezetek

1. Bikov A, **Antus B**, Losonczy G, Horvath I. Exhaled breath condensate pH. *In: Horvath I, de Jongste JC (szerk), Exhaled biomarkers. European Respiratory Monograph. ERS, Sheffield, UK, 49; 173-182, 2010.*

#### 9.5. A doktori értekezés tárgyköréhez kapcsolódó lektorált szerkesztői levelek és hozzászólások

1. **Antus B**, Barta I, Csiszer E. Exhaled nitric oxide in diagnosis of bronchiolitis obliterans syndrome in lung transplant recipients: possible limitations.  
*Am J Transplant* 2011; 11: 2774-2775.

2. **Antus B**, Kullmann T, Barta I. Assessment of exhaled breath condensate pH. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183: 952-953.

#### 9.6. A doktori értekezés tárgyköréhez kapcsolódó előadáskivonatok

1. **Antus B**, Csiszer E, Czebe K, Horvath I. Infections increase exhaled nitric oxide, but not carbon monoxide levels in lung transplant recipients. *Eur Respir J* 2003; 22: S329.
2. **Antus B**, Csiszér E, Czebe K, Horváth I. A kilégzett levegő nitrogén-monoxid szintjének vizsgálata tüdőtranszplantált betegekben. Magyar Transzplantációs Társaság V. Kongresszusa, 2003, Visegrád.
3. **Antus B**, Csiszer E, Horvath I. Antibiotic treatment decreases exhaled nitric oxide levels in cystic fibrosis. *Eur Respir* 2004; J 24: S384.
4. Barat E, Huszar E, **Antus B**, Csiszer E, Horvath I. Adenosine concentration in exhaled breath condensate in the follow-up of lung transplant recipients. *Eur Respir J* 2004; 24: S42.
5. Czebe K, Jakab A, Huszar E, **Antus B**, Jaksch P, Klepetko W, Horvath I. Interleukin-1 beta in exhaled breath condensate of lung transplant recipients. *Eur Respir J* 2004; 24: S680.
6. Barat E, Huszar E, **Antus B**, Csiszer E, Horvath I. Adenozin koncentráció mérése kilégzett levegő kondenzátumában tüdőtranszplantált betegekben. *Med Thor* 2004; 57: S50.
7. Csiszér E, Füzesi K, Petró J, **Antus B**, Lang G, Czebe K, Jaksch P. Tüdőtranszplantáltak gondozása Magyarországon. *Med Thor* 2004; 57: S76.
8. **Antus B**, Csiszér E, Czebe K, Horváth I. A kilégzett levegő nitrogén-monoxid koncentrációjának mérése tüdőtranszplantált betegekben. *Med Thor* 2004; 57: S94.
9. **Antus B**, Csiszer E, Czebe K, Horvath I. Pulmonary infections increase exhaled nitric oxide levels in lung transplant recipients. 6<sup>th</sup> Fenno-Ugric Conference on Pulmonology, Hanasaari, Helsinki, Finland, 2004.
10. Czebe K, Jakab A, Huszar E, **Antus B**, Jaksch P, Klepetko W, Horvath I. Interleukin-1 beta in exhaled breath condensate of patients after lung transplantation. 6<sup>th</sup> Fenno-Ugric Conference on Pulmonology, Hanasaari, Helsinki, Finland, 2004.
11. **Antus B**, Fillinger J, Soltész I, Horváth I. Az endothelin receptor blokkoló bosentan hatása az obliteratív légúti betegség kialakulására patkány trachea allograftokban. Magyar Transzplantációs Társaság VI. Kongresszusa, Szeged, 2004.
12. **Antus B**, Barat E, Csiszer E, Valyon M, Horvath I. Exhaled breath condensate pH in lung transplant recipients. *Eur Respir J* 2005; 26: S176.
13. **Antus B**, Fillinger J, Soltesz I, Horvath I. No gender difference in the development of obliterative airway disease in rat tracheal allografts. *Eur Respir J* 2005; 26: S176.
14. **Antus B**, Fillinger J, Soltesz I, Horvath I. A nem szerepe az obliteratív légúti betegség kialakulásában patkány trachea allograftokban. Magyar Transzplantációs Társaság VII. Kongresszusa, Eger, 2005.
15. Czebe K, **Antus B**, Csiszér E. Krónikus graftkárosodás tüdőtranszplantált betegekben. *Med Thor* 2006; 58: 68S.
16. **Antus B**, Fillinger J, Sebe A, Soltész I, Jeney C, Horváth I. Befolyásolja-e a donor vagy a recipiens neme patkány trachea allograftok kilökődését? *Med Thor* 2006; 58: S45.
17. **Antus B**, Fillinger J, Sebe A, Jeney C, Horvath I. Role of ischemia in development of obliterative airway disease in rat tracheal allografts. 5<sup>th</sup> ERS Lung Science Conference, Taormina, Italy, 2007.
18. Imre B, Kullmann T, Horvath I, **Antus B**. Differential cytokine expression in non-small cell lung carcinomas. *Eur Respir J* 2007; 30: S512.
19. **Antus B**, Fillinger J, Sebe A, Jeney C, Horvath I. Effect of blockade of the renin-angiotensin and endothelin systems on rat tracheal allograft rejection. *Eur Respir J* 2007; 30: S518.
20. Kelemen K, Czebe K, **Antus B**, Csiszér E. Lung transplantation for cystic fibrosis - ten years experience in Hungary. *Eur Respir J* 2007; 30: S386.
21. Kelemen K, Czebe K, **Antus B**, Csiszer E. Lung transplantation for cystic fibrosis - ten years experience in Hungary. European Cystic Fibrosis Conference, Belek, Turkey, 2007.
22. **Antus B**, Fillinger J, Sebe A, Jeney C, Horváth I. A renin-angiotenzin és az endothelin rendszer szerepe patkány trachea allograftok kilökődésében. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 55. Nagygyűlése, Balatonfüred, 2008.

23. **Antus B**, Barta I, Csiszer E, Horvath I. Kilégzett nitrogén-monoxid szerepe a terápiára való válaszkészség megjósolásában COPD exacerbációban. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 55. Nagygyűlése, Balatonfüred, 2008.
24. Barta I, Kullmann T, Horváth I, **Antus B**. Tüdödaganatok kilégzett biomarker mintázata. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 55. Nagygyűlése, Balatonfüred, 2008.
25. Bikov A, Szili B, **Antus B**, Horváth I. A fizikai terhelés hatása a kilégzett levegő kondenzátum pH-jára. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 55. Nagygyűlése, Balatonfüred, 2008.
26. Kullmann T, Barta I, **Antus B**, Valyon M, Horváth I. Meteorológiai tényezők befolyásolják a leheletpára kémhatását. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 55. Nagygyűlése, Balatonfüred, 2008.
27. Szili B, Bikov A, Zsembery Á, **Antus B**, Horváth I. Egy bikarbonátban gazdag gyógyvíz inhalációja a légutak pH-jának tartós emelkedését okozza. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 55. Nagygyűlése, Balatonfüred, 2008.
28. Szili B, Bikov A, **Antus B**, Zsembery Á, Kollai M, Horváth I. Alkaline mineral water inhalation causes permanent alkalization of exhaled breath condensate. *Eur Respir J* 2008; 32: S187.
29. Bikov A, Szili B, **Antus B**, Kollai M, Horváth I. Effect of exercise on exhaled breath condensate pH in young healthy subjects. *Eur Respir J* 2008; 32: S257.
30. Barta I, Kullmann T, Horvath I, **Antus B**. Cytokine pattern in exhaled breath of patients with planocellular lung carcinomas. *Eur Respir J* 2008; 32: S628.
31. **Antus B**, Barta I, Csiszer E, Horvath I. Exhaled nitric oxide predicts response to treatment in COPD patients with exacerbation. *Eur Respir J* 2008; 32: S770.
32. **Antus B**, Fillinger J, Sebe A, Jeney C, Horváth I. A renin-angiotenzin és az endothelin rendszer szerepe patkány trachea allograftok kilökődésében. Magyar Transzplantációs Társaság X. Kongresszusa, Gyula, 2008.
33. **Antus B**, Barta I, Horváth I, Csiszer E. Kilégzett nitrogén-monoxid és a terápiás válasz kapcsolatának elemzése COPD exacerbációban. Magyar Tüdőgyógyász Társaság Allergológiai és Légzéspatológiai Szekciójának Kongresszusa, Hajdúszoboszló, 2009.
34. Bikov A, Szili B, **Antus B**, Losonczy G, Horvath I. Increase in EBC pH after exercise is associated with changes in exhaled breath voc pattern. *Eur Respir J* 2009; 34: S705.
35. Barta I, Kullmann T, Horvath I, **Antus B**. Influence of condensing equipment parameters on EBC biomarkers. *Eur Respir J* 2009; 34: S705.
36. Barta I, Kullmann T, Csiszer E, **Antus B**. Changes in EBC cytokine pattern during treatment of COPD exacerbation. *Eur Respir J* 2009; 34: S502.
37. Fillinger J, Horvath I, **Antus B**. Effect of low molecular weight heparins on the development of obliterative airway disease in the rat tracheal transplant model. *Eur Respir J* 2009; 34: S387.
38. **Antus B**, Barta I, Horváth I, Csiszer E. Kilégzett biomarkerek analízise COPD akut exacerbációjában. Magyar Élettani Társaság LXXXIII. Nagygyűlése, Budapest, 2009.
39. **Antus B**. Management of COPD. 2<sup>nd</sup> Hungarian-Romanian Pulmonary Conference, Szeged, 2009.
40. **Antus B**, Barta I, Czebe K, Horváth I, Csiszer E. A kilégzett levegő citokin mintázata bronchiolitis obliterans szindrómában. Magyar Transzplantációs Társaság XI. Kongresszusa, Galyatető, 2009.
41. Csiszer E, **Antus B**, Füzesi K, Czebe K. Műtéti beavatkozások tüdőtranszplantált betegeken. Magyar Transzplantációs Társaság XI. Kongresszusa, Galyatető, 2009.
42. Fillinger J, Horváth I, **Antus B**. Alacsony molekulásúlyú heparinok (LMWH) hatása a kislégúti obstrukció kifejlődésére patkány trachea transzplantációs modellben. Magyar Transzplantációs Társaság XI. Kongresszusa, Galyatető, 2009.
43. Barta I, **Antus B**. Sputum biomarkerek. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 56. Nagygyűlése, Sopron, 2010.
44. Csoma Z, Herjavec I, **Antus B**, Barta I, Kovács G, Strausz J. A súlyos asztma epidemiológiája. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 56. Nagygyűlése, Sopron, 2010.
45. Csiszer E, Baráth Z, Kelemen K, **Antus B**, Füzesi K, Czebe K. Cystás fibrózisos felnőttek tüdőátültetésének tapasztalatai. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 56. Nagygyűlése, Sopron, 2010.
46. Fillinger J, **Antus B**. Alacsony molekulásúlyú heparinok (LMWH) hatása a kislégúti obstrukció kifejlődésére patkány trachea transzplantációs modellben. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 56. Nagygyűlése, Sopron, 2010.

47. **Antus B**, Barta I, Lázár Z, Valyon M, Horváth I, Csiszér E. Kilégzett levegő kondenzátum pH értékének változása asztma és COPD akut exacerbációja során. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 56. Nagygyűlése, Sopron, 2010.
48. Fujsz E, Bártfai Z, Bráz P, Dakhlaoui A, Pesky J, Lanczky É, Kardos J, **Antus B**, Csiszér E, Csekeő A, Fónay K. Tüdőtranszplantáció meglepetésekkel. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 56. Nagygyűlése, Sopron, 2010.
49. **Antus B**, Barta I, Horváth I. Kilégzett nitrogén-monoxid mérése egy új, hordozható mérőkészülékkel. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 56. Nagygyűlése, Sopron, 2010.
50. **Antus B**, Barta I, Czebe K, Horváth I, Csiszér E. Változik-e a kilégzett levegő kondenzátumának citokinmintázata bronchiolitis obliterans szindrómában? Magyar Tüdőgyógyász Társaság 56. Nagygyűlése, Sopron, 2010.
51. Barta I, Kullmann T, Valyon M, **Antus B**. Dohányzás hatása a kilégzett levegő kondenzátum pH-ra. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 56. Nagygyűlése, Sopron, 2010.
52. Csiszér E, **Antus B**, Füzesi K, Czebe K. Műtéti beavatkozások tüdőtranszplantált betegeken. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 56. Nagygyűlése, Sopron, 2010.
53. **Antus B**, Barta I, Czebe K, Horvath I, Csiszer E. Analysis of exhaled breath condensate cytokine pattern in lung transplant recipients with and without BOS. Eur Respir J 2010; 36: P1681.
54. **Antus B**, Barta I, Kullmann T, Lazar Z, Valyon M, Horvath I, Csiszer E. Assessment of exhaled breath condensate pH in asthma and COPD patients with exacerbation. Eur Respir J 2010; 36: P1329.
55. **Antus B**, Barta I, Horvath I. Assessment of FENO with a new, portable device. Eur Respir J 2010; 36: P4603.
56. **Antus B**, Sótér S, Barta I. COPD exacerbációk gyakorisága és a kilégzett nitrogén monoxid szint közötti kapcsolatok elemzése. Magyar Tüdőgyógyász Társaság Allergológiai és Légzéspatológiai Szekciójának Kongresszusa, Eger, 2011.
57. Csoma Z, **Antus B**, Barta I, Kovács G, Strausz J, Herjavec I. Súlyos asztma hazai epidemiológia a tüdőgondozói hálózat és az országos súlyos asztma adatbázis adatai alapján. Magyar Tüdőgyógyász Társaság Allergológiai és Légzéspatológiai Szekciójának Kongresszusa, Eger, 2011.
58. Gajdócsi R, Bikov A, **Antus B**, Horváth I, Barnes PJ, Kharitonov SA. A légzési mintázat befolyásolja a kilégzett levegő kondenzátumában mérhető hidrogén-peroxid szintet. Magyar Tüdőgyógyász Társaság Allergológiai és Légzéspatológiai Szekciójának Kongresszusa, Eger, 2011.
59. Herjavec I, Csoma Z, **Antus B**, Barta I, Kovács G, Strausz J. A súlyos asztma fenotípusai. A hazai súlyos asztma adatbázis kezdeti felmérése. Magyar Tüdőgyógyász Társaság Allergológiai és Légzéspatológiai Szekciójának Kongresszusa, Eger, 2011.
60. Sótér S, Barta I, **Antus B**. Köpet biomarkerek vizsgálata COPD exacerbációban. Magyar Tüdőgyógyász Társaság Allergológiai és Légzéspatológiai Szekciójának Kongresszusa, Eger, 2011.
61. **Antus B**, Barta I. Kilégzett nitrogén monoxid a légúti allergológiában: egy új mérőkészülék validálása. Magyar Allergológiai és Klinikai Immunológiai Társaság XXXIX. Kongresszusa, Balatonalmádi, 2011.
62. **Antus B**, Soter S, Barta I. Relationship between exhaled nitric oxide and exacerbation frequency in COPD patients: A longitudinal study. Eur Respir J 2011; 38: S38.
63. Barta I, **Antus B**. Sputum biomarkers in stable COPD. Eur Respir J 2011; 38: S114.
64. Soter S, Barta I, **Antus B**. Sputum biomarkers in COPD exacerbations. Eur Respir J 2011; 38: S157.
65. Bikov A, Gajdócsi R, Huszar E, Lazar Z, **Antus B**, Losonczy G, Horvath I. Increased exhaled breath condensate cysteinyl leukotriene concentration in exercise-induced bronchoconstriction. Eur Respir J 2011; 38: S228.
66. Kelemen K, Csiszér E, Barta I, **Antus B**. Pseudomonas-ellenes antitestek vizsgálata cisztás fibrózisos betegek köpetében. Magyar Gyermekorvosok Társasága és a Magyar Tüdőgyógyász Társaság Gyermektüdőgyógyász Szekciójának Kongresszusa, Gyula, 2011.

67. **Antus B**, Hárnási G, Drozdovszky O, Barta I. Oxidatív stressz markerek COPD-s betegek köpetében: malondialdehid és 8-izoprosztán. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 57. Nagygyűlése, Budapest, 2012.
68. Csoma Z, **Antus B**, Barta I, Szalai C, Semsei Á, Berta A, Herjavec I. A súlyos asztma klinikai fenotipizálása hazai adatok alapján. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 57. Nagygyűlése, Budapest, 2012.
69. Kelemen K, Csiszér E, Barta I, **Antus B**. Pseudomonas ellenes antitestek vizsgálata cisztás fibrózisos betegek köpetében. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 57. Nagygyűlése, Budapest, 2012.
70. Sótér S, Barta I, **Antus B**. Köpet eosinophilia vizsgálata COPD exacerbációban. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 57. Nagygyűlése, Budapest, 2012.
71. **Antus B**, Kelemen K, Csiszér E. Segít-e a kilégzett NO-mérés a BOS diagnosztikájában tüdőtranszplantált betegekben? Magyar Tüdőgyógyász Társaság 57. Nagygyűlése, Budapest, 2012.
72. Barta I, **Antus B**. Köpet biomarker profil stabil COPD-ben. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 57. Nagygyűlése, Budapest, 2012.
73. Drozdovszky O, Barta I, **Antus B**. Prostaglandin E2 és ciszteinil-leukotriének szerepe COPD-ben. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 57. Nagygyűlése, Budapest, 2012.
74. Barta I, **Antus B**. Biomarker profile in sputum of patients with stable COPD. Am J Respir Crit Care Med 2012; 185: A1298.
75. **Antus B**, Soter S, Barta I. Sputum eosinophilia and exhaled nitric oxide: predictors for Response to treatment In COPD patients with exacerbations. Am J Respir Crit Care Med 2012; 185: A5754.
76. Csoma Z, **Antus B**, Barta I, Szalai C, Semsei Á, Berta A, Herjavec I. A súlyos asztma klinikai fenotipizálása hazai adatok alapján. Magyar Allergológiai és Klinikai Immunológiai Társaság 40. Kongresszusa, Balatonalmádi, 2012.
77. Kelemen K, Csiszér E, Barta I, **Antus B**. Detection of antibodies against Pseudomonas aeruginosa in the sputum of cystic fibrosis patients: a pilot study. Eur Respir J 2012; 40: S261.
78. Csoma Z, **Antus B**, Barta I, Szalai C, Semsei Á, Herjavec I. Severe asthma database in Hungary: initial steps. International Severe Asthma Forum (ISAF), Göteborg, Svédország, 2012.
79. **Antus B**. Assessment of FENO by a new portable device. Orosz Tüdőgyógyász Társaság 22. Kongresszusa, Moszkva, Oroszország, 2012.
80. **Antus B**, Drozdovszky O, Barta I. Prostaglandinok és leukotriének vizsgálata COPD exacerbációban. Magyar Tüdőgyógyász Társaság Allergológiai és Légzéspatológiai Szekciójának Kongresszusa, Debrecen, 2013.
81. Drozdovszky O, Barta I, **Antus B**. Köpet, lavage és kilégzett levegő kondenzátum eikozanoid szintjének vizsgálata stabil COPD-ben. Magyar Tüdőgyógyász Társaság Allergológiai és Légzéspatológiai Szekciójának Kongresszusa, Debrecen, 2013.
82. Csoma Z, **Antus B**, Barta I, Szalai C, Herjavec I. A súlyos asztma fenotipizálása a légúti gyulladás mintázata alapján. Magyar Allergológiai és Klinikai Immunológiai Társaság 41. Kongresszusa, Balatonalmádi, 2013.
83. **Antus B**, Drozdovszky O, Barta I. Assessment of malondialdehyde in the airways during treatment of COPD exacerbations. Eur Respir J 2013; 42: S731.
84. Barta I, Drozdovszky O, **Antus B**. Monitoring oxidative stress in the lung: changes in superoxide dismutase (SOD) activity during the course of acute exacerbation of COPD. Eur Respir J 2013; 42: S149.
85. Drozdovszky O, Barta I, **Antus B**. Assessment of sputum prostaglandins and leukotrienes in COPD exacerbations. Eur Respir J 2013; 42: S165.

## 10. A DOKTORI ÉRTEKEZÉSBEN NEM SZEREPLŐ, A PhD ÉRTEKEZÉST KÖVETŐEN MEGJELENT SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

(ΣIF=26.404)

### 10.1. Angol nyelvű közlemények

1. Song E, **Antus B**, Yao Y, Lutz J, Heemann U. Sequential activation patterns of macrophages in chronic allograft nephropathy.  
*Graft* 2002; 5: 141-144. **IF: –**
2. **Antus B**, Yao Y, Song E, Liu S, Lutz J, Heemann U. Opposite effects of testosterone and estrogens on chronic allograft nephropathy.  
*Transpl Int* 2002; 15: 494-501. **IF: 2.520**
3. Song E, Hequn Z, Yao Y, Proudfoot A, **Antus B**, Liu S, Lutz J, Heemann U. Early application of met-RANTES ameliorates chronic allograft nephropathy.  
*Kidney Int* 2002; 61: 676-685. **IF: 5.016**
4. Lutz J, Zou H, Liu S, **Antus B**, Heemann U. Apoptosis and treatment of chronic allograft nephropathy with everolimus.  
*Transplantation* 2003; 76: 508-515. **IF: 3.608**
5. **Antus B**, Hamar P, Kokeny G, Szollosi Z, Mucsi I, Nemes Z, Rosivall L. Estradiol is nephroprotective in the rat remnant kidney.  
*Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 54-61. **IF: 2.607**
6. Bagi Z, Hamar P, **Antus B**, Rosivall L, Koller A. Chronic renal failure leads to reduced flow-dependent dilation in isolated rat skeletal muscle arterioles due to lack of NO mediation.  
*Kidney Blood Press Res* 2003; 26: 19-26. **IF: 1.025**
7. **Antus B**, Liu S, Yao Y, Zou H, Song E, Lutz J, Heemann U. Effects of progesterone and selective oestrogen receptor modulators on chronic allograft nephropathy in rats.  
*Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 329-335. **IF: 2.976**
8. Lutz J, Yao Y, Song E, **Antus B**, Hamar P, Liu S, Heemann U. Inhibition of matrix metalloproteinases during chronic allograft nephropathy in rats.  
*Transplantation* 2005; 79: 655-661. **IF: 3.879**
9. Lutz J, Risch K, Liu S, **Antus B**, Schmaderer C, Roos M, Ouyang N, Lehmann M, Heemann U. Angiotensin type 1 and type 2 receptor blockade in chronic allograft nephropathy.  
*Kidney Int* 2006; 70: 1080-1088. **IF: 4.773**

### 10.2. Magyar nyelvű közlemények

1. **Antus B**, Baráth Z, Csizsér E. Tüdőfibrozis egy ritka autoimmun betegségben.  
*Med Thor* 2003; 56: 74-79.
2. **Antus B**, Kelemen K, Csizsér E, Kerényi AM. Interferon-indukálta interstitialis pneumonitis.  
*Med Thor* 2006; 59: 184-188.
3. Csizsér E, **Antus B**, Himber G, Hertel K, Fillinger J. Új diagnosztikus módszer pulmonalis carcinoidban.  
*Magy Onkol* 2007; 51: 225-228.
4. Csizsér E, **Antus B**, Himber G, Hertel K, Fillinger J, Rácz K. Tumormarker lehetőség pulmonalis carcinoidban.  
*Med Thor* 2007; 60: 231-234.

**11. TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK**

(MTMT adatbázis alapján, 2014.04.15)

**Tudományos és oktatási közlemények****I. Folyóiratcikkek száma:**

Nemzetközi szakfolyóiratban: 41

Hazai kiadású szakfolyóiratban idegen nyelven: 3

Hazai kiadású szakfolyóiratban magyar nyelven: 24

Rövid közlemények száma: 4

**II. Könyvek száma:** 0**III. Könyvrészletek száma:** 2**IV. Konferenciaközlemények száma:** 0**Összes tudományos és oktatási közlemények száma:** **74****További tudományos művek száma:** **4****Összesített impakt faktor:** **118.2****Idézettség**

Független idézetek száma: 812

Függő idézetek száma: 171

**Összes idézetek száma:** **983****Hirsch index:** **18**



## 12. IRODALOMJEGYZÉK

- <sup>1</sup> Tuder RM, Petrache I. Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Invest* 2012; 122: 2749-2755.
- <sup>2</sup> Mannino DM, Buist AS. Global burden of COPD: risk factors, prevalence, and future trends. *Lancet* 2007; 370: 765-773.
- <sup>3</sup> Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med* 2006; 3: e442.
- <sup>4</sup> Strausz J, Kovács G, Böszörményi Nagy G. *Korányi Bulletin* 2010; 2: 13-16.
- <sup>5</sup> Fischer BM, Pavlisko E, Voynow JA. Pathogenic triad in COPD: oxidative stress, protease-antiprotease imbalance, and inflammation. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2011; 6: 413-421.
- <sup>6</sup> Cosio MG, Saetta M, Agusti A. Immunologic aspects of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2009; 360: 2445-2454.
- <sup>7</sup> van der Strate BW, Postma DS, Brandsma CA, Melgert BN, Luinge MA, Geerlings M, Hylkema MN, van den Berg A, Timens W, Kerstjens HA. Cigarette smoke-induced emphysema: a role for the B-cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 751-758.
- <sup>8</sup> Barnes PJ. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 515-548.
- <sup>9</sup> Roche N, Marthan R, Berger P, Chambellan A, Chanez P, Aguilaniu B, Brillet PY, Burgel PR, Chaouat A, Devillier P, Escamilla R, Louis R, Mal H, Muir JF, Pérez T, Similowski T, Wallaert B, Aubier M. Beyond corticosteroids: future prospects in the management of inflammation in COPD. *Eur Respir Rev* 2011; 20: 175-182.
- <sup>10</sup> Celli BR. Chronic obstructive pulmonary disease phenotypes and their clinical relevance. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3: 461-465.
- <sup>11</sup> Han MK, Agusti A, Calverley PM, Celli BR, Criner G, Curtis JL, Fabbri LM, Goldin JG, Jones PW, Macnee W, Make BJ, Rabe KF, Rennard SI, Sciurba FC, Silverman EK, Vestbo J, Washko GR, Wouters EF, Martinez FJ. Chronic obstructive pulmonary disease phenotypes: the future of COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182: 598-604.
- <sup>12</sup> Agusti A, Edwards LD, Rennard SI, MacNee W, Tal-Singer R, Miller BE, Vestbo J, Lomas DA, Calverley PM, Wouters E, Crim C, Yates JC, Silverman EK, Coxson HO, Bakke P, Mayer RJ, Celli B. Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Predictive Surrogate Endpoints (ECLIPSE) Investigators. Persistent systemic inflammation is associated with poor clinical outcomes in COPD: a novel phenotype. *PLoS One* 2012; 7: e37483.
- <sup>13</sup> Anzueto A, Sethi S, Martinez FJ. Exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* 2007; 4: 554-564.
- <sup>14</sup> Bathoorn E, Liesker JJ, Postma DS, Koëter GH, van der Toorn M, van der Heide S, Ross HA, van Oosterhout AJ, Kerstjens HA. Change in inflammation in out-patient COPD patients from stable phase to a subsequent exacerbation. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2009; 4: 101-109.
- <sup>15</sup> Fujimoto K, Yasuo M, Urushibata K, Hanaoka M, Koizumi T, Kubo K. Airway inflammation during stable and acutely exacerbated chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2005; 25: 640-646.
- <sup>16</sup> Bathoorn E, Kerstjens H, Postma D, Timens W, MacNee W. Airways inflammation and treatment during acute exacerbations of COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2008; 3: 217-229.
- <sup>17</sup> Antus B. Pharmacotherapy of chronic obstructive pulmonary disease: a clinical review. *ISRN Pulmonology* 2013; e582807.
- <sup>18</sup> Bafadhel M, McKenna S, Terry S, Mistry V, Reid C, Haldar P, McCormick M, Haldar K, Keadze T, Duvoix A, Lindblad K, Patel H, Rugman P, Dodson P, Jenkins M, Saunders M, Newbold P, Green RH, Venge P, Lomas DA, Barer MR, Johnston SL, Pavord ID, Brightling CE. Acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: identification of biologic clusters and their biomarkers. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 184: 662-671.
- <sup>19</sup> [www.ginasthma.org](http://www.ginasthma.org)
- <sup>20</sup> Tamási L, Balikó Z, Bálint B, Bártfai Z, Bauknecht É, Böszörményi Nagy G, Gálffy G, Herjavec I, Horváth I, Losonczy G, Márk Z, Müller V, Somfay A, Szilasi M. Az asztma diagnosztikájának, kezelésének és gondozásának alapelvei felnőttkorban. *Med Thor* 2012; 65: 307-328.

- <sup>21</sup> Csoma Z, Antus B, Barta I, Szalai C, Strausz J, Kovács G, Herjavec I. A súlyos asztma hazai előfordulása és klinikai fenotipizálása. *Med Thor* 2011; 64: 299-311.
- <sup>22</sup> Bhakta NR, Woodruff PG. Human asthma phenotypes: from the clinic, to cytokines, and back again. *Immunol Rev* 2011; 242: 220-232.
- <sup>23</sup> Barnes PJ. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 183-192.
- <sup>24</sup> Brightling CE, Bradding P, Symon FA, Holgate ST, Wardlaw AJ, Pavord ID. Mast-cell infiltration of airway smooth muscle in asthma. *N Engl J Med* 2002; 346: 1699-1705.
- <sup>25</sup> Cohen TS, Prince A. Cystic fibrosis: a mucosal immunodeficiency syndrome. *Nat Med* 2012; 18: 509-519.
- <sup>26</sup> Elizur A, Cannon CL, Ferkol TW. Airway inflammation in cystic fibrosis. *Chest* 2008; 133: 489-495.
- <sup>27</sup> Williams HD, Davies JC. Basic science for the chest physician: *Pseudomonas aeruginosa* and the cystic fibrosis airway. *Thorax* 2012; 67: 465-467.
- <sup>28</sup> Czebe K, Antus B, Csiszer E, Horvath I. Pulmonary infections in lung transplant recipients. *Eur Respir Dis* 2006; 1: 69-71.
- <sup>29</sup> Czebe K, Antus B, Varga M, Csiszér E. Tüdőtranszplantált betegek pulmonalis infekciói. *Orv Hetil* 2008; 149: 99-109.
- <sup>30</sup> Antus B, Fillinger J, Csiszér E, Czebe K, Horváth I. A bronchiolitis obliterans szindróma a tüdőtranszplantáción átesett betegekben. *Orv Hetil* 2005; 146: 9-14.
- <sup>31</sup> Boehler A, Estenne M. Post-transplant bronchiolitis obliterans. *Eur Respir J* 2003; 22: 1007-1018.
- <sup>32</sup> Antus B, Fillinger J, Soltész I, Horváth I. A bronchiolitis obliterans modellezése patkányokban. *Med Thor* 2005; 58: 8-13.
- <sup>33</sup> Tiroke AH, Bewig B, Haverich A. Bronchoalveolar lavage in lung transplantation. State of the art. *Clin Transplant* 1999; 13: 131-157.
- <sup>34</sup> Elssner A, Vogelmeier C. The role of neutrophils in the pathogenesis of obliterative bronchiolitis after lung transplantation. *Transpl Infect Dis* 2001; 3: 168-176.
- <sup>35</sup> Antus B, Fillinger J, Sebe A, Jeney C, Soltesz I, Horvath I. No gender difference in development of obliterative airway disease in rat tracheal allografts. *Exp Mol Pathol* 2006; 81: 235-238.
- <sup>36</sup> Fillinger J, Antus B. Low molecular weight heparins do not modify obliterative airway disease in rat tracheal allografts. *Exp Lung Res* 2010; 36: 625-631.
- <sup>37</sup> Estenne M, Maurer JR, Boehler A, Egan JJ, Frost A, Hertz M, Mallory GB, Snell GI, Yousem S. Bronchiolitis obliterans syndrome 2001: an update of the diagnostic criteria. *J Heart Lung Transplant* 2002; 21: 297-310.
- <sup>38</sup> Antus B, Sebe A, Fillinger J, Jeney C, Horvath I. Effects of blockade of the renin-angiotensin and endothelin systems on experimental bronchiolitis obliterans. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25: 1324-1329.
- <sup>39</sup> Antus B, Fillinger J, Sebe A, Jeney C, Horvath I. Late treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitors plus endothelin receptor antagonists ameliorates rat tracheal allograft rejection. *Transpl Int* 2008; 21: 801-807.
- <sup>40</sup> Lang G, Czebe K, Geiszer B, Rényi-Vámos F. Tüdőtranszplantáció magyar betegek számára. *Orv Hetil* 2013; 154: 868-871.
- <sup>41</sup> Rahman I, Adcock IM. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD. *Eur Respir J* 2006; 28: 219-242.
- <sup>42</sup> Kirkham PA, Barnes PJ. Oxidative stress in COPD. *Chest* 2013; 144: 266-273.
- <sup>43</sup> Kehrer JP. The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* 2000; 149: 43-50.
- <sup>44</sup> Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med* 2000; 109: 33-44.
- <sup>45</sup> Pryor WA, Prier DG, Church DF. Electron-spin resonance study of mainstream and sidestream cigarette smoke: nature of the free radicals in gas-phase smoke and in cigarette tar. *Environ Health Perspect* 1983; 47: 345-55.
- <sup>46</sup> Gaut JP, Byun J, Tran HD, Lauber WM, Carroll JA, Hotchkiss RS, Belaouaj A, Heinecke JW. Myeloperoxidase produces nitrating oxidants in vivo. *J Clin Invest* 2002; 109: 1311-1319.
- <sup>47</sup> Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol* 1996; 271: 1424-1437.

- <sup>48</sup> Haddad JJ. Redox and oxidant-mediated regulation of apoptosis signaling pathways: immunopharmacoredox conception of oxidative siege versus cell death commitment. *Int Immunopharmacol* 2004; 4: 475-493.
- <sup>49</sup> Adler KB, Holden-Stauffer WJ, Repine JE. Oxygen metabolites stimulate release of high-molecular-weight glycoconjugates by cell and organ cultures of rodent respiratory epithelium via an arachidonic acid-dependent mechanism. *J Clin Invest* 1990; 85: 75-85.
- <sup>50</sup> Lei YH, Barnes PJ, Rogers DF. Involvement of hydroxyl radicals in neurogenic airway plasma exudation and bronchoconstriction in guinea-pigs in vivo. *Br J Pharmacol* 1996; 117: 449-454.
- <sup>51</sup> Ohru T, Sekizawa K, Yamauchi K, Ohkawara Y, Nakazawa H, Aikawa T, Sasaki H, Takishima T. Chemical oxidant potentiates electrically and acetylcholine-induced contraction in rat trachea: possible involvement of cholinesterase inhibition. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 259: 371-376.
- <sup>52</sup> Takeyama K, Dabbagh K, Jeong Shim J, Dao-Pick T, Ueki IF, Nadel JA. Oxidative stress causes mucin synthesis via transactivation of epidermal growth factor receptor: role of neutrophils. *J Immunol* 2000; 164: 1546-1552.
- <sup>53</sup> Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 1997; 336: 1066-1071.
- <sup>54</sup> Janssen-Heininger YM, Poynter ME, Baeuerle PA. Recent advances towards understanding redox mechanisms in the activation of nuclear factor kappaB. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 1317-1327.
- <sup>55</sup> Ogura M, Kitamura M. Oxidant stress incites spreading of macrophages via extracellular signal-regulated kinases and p38 mitogen-activated protein kinase. *J Immunol* 1998; 161: 3569-3574.
- <sup>56</sup> Forman HJ, Torres M. Reactive oxygen species and cell signaling: respiratory burst in macrophage signaling. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: S4-S8.
- <sup>57</sup> Zani ML, Tanga A, Saidi A, Serrano H, Dallet-Choisy S, Baranger K, Moreau T. SLPI and trappin-2 as therapeutic agents to target airway serine proteases in inflammatory lung diseases: current and future directions. *Biochem Soc Trans* 2011; 39: 1441-1446.
- <sup>58</sup> Barnes PJ. Corticosteroid resistance in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131: 636-645.
- <sup>59</sup> Barnes PJ, Chowdhury B, Kharitonov SA, Magnussen H, Page CP, Postma D, Saetta M. Pulmonary biomarkers in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174: 6-14.
- <sup>60</sup> Borrill ZL, Roy K, Singh D. Exhaled breath condensate biomarkers in COPD. *Eur Respir J* 2008; 32: 472-486.
- <sup>61</sup> Exhaled biomarkers. In: *European Respiratory Monograph*. Ed: Horvath I, de Jongste JC. European Respiratory Society, Sheffield, UK, 2010.
- <sup>62</sup> Horvath I, Hunt J, Barnes PJ. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J* 2005; 26: 523-548.
- <sup>63</sup> Vass G, Huszár E, Barát E, Horváth I. A kilégzett levegő kondenzálása és a kondenzátum elemző vizsgálata. Új módszer a tüdőgyógyászatban. *Orv Hetil* 2003; 144: 2517-2524.
- <sup>64</sup> Pavord ID, Pizzichini MM, Pizzichini E, Hargreave FE. The use of induced sputum to investigate airway inflammation. *Thorax* 1997; 52: 498-501.
- <sup>65</sup> Pizzichini E, Pizzichini MM, Leigh R, Djukanović R, Sterk PJ. Safety of sputum induction. *Eur Respir J* 2002; 37: S9-S18.
- <sup>66</sup> Wark PA, Simpson JL, Hensley MJ, Gibson PG. Safety of sputum induction with isotonic saline in adults with acute severe asthma. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 1745-1753.
- <sup>67</sup> Bathoorn E, Liesker J, Postma D, Koëter G, van Oosterhout AJ, Kerstjens HA. Safety of sputum induction during exacerbations of COPD. *Chest* 2007; 131: 432-438.
- <sup>68</sup> Djukanović R, Sterk PJ, Fahy JV, Hargreave FE. Standardised methodology of sputum induction and processing. *Eur Respir J* 2002; 37: S1-S2.
- <sup>69</sup> Out TA, Jansen HM, Lutter R. Methodological aspects in the analysis of spontaneously produced sputum. *Monaldi Arch Chest Dis* 2001; 56: 493-499.
- <sup>70</sup> Holz O, Seiler T, Karmeier A, Fraedrich J, Leiner H, Magnussen H, Jörres RA, Welker L. Assessing airway inflammation in clinical practice - experience with spontaneous sputum analysis. *BMC Pulm Med* 2008; 28: e5.

- <sup>71</sup> Gustafsson LE, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 181: 852-857.
- <sup>72</sup> Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J* 1993; 6: 1368-1370.
- <sup>73</sup> Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan-Sinclair R, Shinebourne EA, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994; 343: 133-135.
- <sup>74</sup> Antus B, Horvath I. Exhaled nitric oxide and carbon monoxide in respiratory diseases. *J Breath Res* 2007; 1: e024002.
- <sup>75</sup> Antus B, Horváth I. A nitrogén-monoxid szerepe a pulmonalis rendszerven. *Med Thor* 1996; 48: 162-166.
- <sup>76</sup> Horváth I. Nitrogén-monoxid a pulmonológiai diagnosztikában és terápiában. *Med Thor* 1997; 50: 51-59.
- <sup>77</sup> Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, Irvin CG, Leigh MW, Lundberg JO, Olin AC, Plummer AL, Taylor DR. American Thoracic Society committee on interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 184: 602-615.
- <sup>78</sup> Kharitonov SA, Gonio F, Kelly C, Meah S, Barnes PJ. Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *Eur Respir J* 2003; 21: 433-438.
- <sup>79</sup> Antus B, Horvath I, Barta I. Assessment of exhaled nitric oxide by a new hand-held device. *Respir Med* 2010; 104: 1377-1380.
- <sup>80</sup> Alving K, Janson C, Nordvall L. Performance of a new hand-held device for exhaled nitric oxide measurement in adults and children. *Respir Res* 2006; 7: e67.
- <sup>81</sup> Khalili B, Boggs PB, Bahna SL. Reliability of a new hand-held device for the measurement of exhaled nitric oxide. *Allergy* 2007; 62: 1171-1174.
- <sup>82</sup> Antus B, Barta I, Kullmann T, Lazar Z, Valyon M, Horvath I, Csiszer E. Assessment of exhaled breath condensate pH in exacerbations of asthma and COPD: a longitudinal study. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182: 1492-1497.
- <sup>83</sup> Barnes PJ, Dweik RA, Gelb AF, Gibson PG, George SC, Grasemann H, Pavord ID, Ratjen F, Silkoff PE, Taylor DR, Zamel N. Exhaled nitric oxide in pulmonary diseases: a comprehensive review. *Chest* 2010; 138: 682-692.
- <sup>84</sup> Taylor DR, Pijnenburg MW, Smith AD, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation. *Thorax* 2006; 61: 817-827.
- <sup>85</sup> Gratziau C, Lignos M, Dassiou M, Roussos C. Influence of atopy on exhaled nitric oxide in patients with stable asthma and rhinitis. *Eur Respir J* 1999; 14: 897-901.
- <sup>86</sup> Busse WW, Vrtis RF, Dick EC. The role of viral infections in intrinsic asthma: activation of neutrophil inflammation. *Agents Actions Suppl* 1989; 28: 41-56.
- <sup>87</sup> Horvath I, Barnes PJ. Exhaled monoxides in asymptomatic atopic subjects. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 1276-1280.
- <sup>88</sup> Green RH, Brightling CE, McKenna S, Hargadon B, Neale N, Parker D, Ruse C, Hall IP, Pavord ID. Comparison of asthma treatment given in addition to inhaled corticosteroids on airway inflammation and responsiveness. *Eur Respir J* 2006; 27: 1144-1151.
- <sup>89</sup> Pijnenburg MW, Hofhuis W, Hop WC, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide predicts asthma relapse in children with clinical asthma remission. *Thorax* 2005; 60: 215-218.
- <sup>90</sup> Little SA, Chalmers GW, MacLeod KJ, McSharry C, Thomson NC. Non-invasive markers of airway inflammation as predictors of oral steroid responsiveness in asthma. *Thorax* 2000; 55: 232-234.
- <sup>91</sup> Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, Filsell S, McLachlan C, Monti-Sheehan G, Peter Herbison G, Robin Taylor D. Exhaled nitric oxide: a predictor of steroid response. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 453-459.
- <sup>92</sup> Szeffler SJ, Phillips BR, Martinez FD, Chinchilli VM, Lemanske RF, Strunk RC, Zeiger RS, Larsen G, Spahn JD, Bacharier LB, Bloomberg GR, Guilbert TW, Heldt G, Morgan WJ, Moss MH, Sorkness CA, Taussig LM. Characterization of within-subject responses to fluticasone and montelukast in childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 233-242.

- <sup>93</sup> Katsara M, Donnelly D, Iqbal S, Elliott T, Everard ML. Relationship between exhaled nitric oxide levels and compliance with inhaled corticosteroids in asthmatic children. *Respir Med* 2006; 100: 1512-1517.
- <sup>94</sup> Rutgers SR, Meijer RJ, Kerstjens HA, van der Mark TW, Koëter GH, Postma DS. Nitric oxide measured with single-breath and tidal-breathing methods in asthma and COPD. *Eur Respir J* 1998; 12: 816-819.
- <sup>95</sup> Delen FM, Sippel JM, Osborne ML, Law S, Thukkani N, Holden WE. Increased exhaled nitric oxide in chronic bronchitis: comparison with asthma and COPD. *Chest* 2000; 117: 695-701.
- <sup>96</sup> Montuschi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled carbon monoxide and nitric oxide in COPD. *Chest* 2001; 120: 496-501.
- <sup>97</sup> Corradi M, Majori M, Cacciani GC, Consigli GF, de'Munari E, Pesci A. Increased exhaled nitric oxide in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999; 54: 572-575.
- <sup>98</sup> Narang I, Ersu R, Wilson NM, Bush A. Nitric oxide in chronic airway inflammation in children: diagnostic use and pathophysiological significance. *Thorax* 2002; 57: 586-589.
- <sup>99</sup> Bhowmik A, Seemungal TA, Donaldson GC, Wedzicha JA. Effects of exacerbations and seasonality on exhaled nitric oxide in COPD. *Eur Respir J* 2005; 26: 1009-1015.
- <sup>100</sup> Clini E, Bianchi L, Pagani M, Ambrosino N. Endogenous nitric oxide in patients with stable COPD: correlates with severity of disease. *Thorax* 1998; 53: 881-883.
- <sup>101</sup> Maziak W, Loukides S, Culpitt S, Sullivan P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 998-1002.
- <sup>102</sup> Ferreira IM, Hazari MS, Gutierrez C, Zamel N, Chapman KR. Exhaled nitric oxide and hydrogen peroxide in patients with chronic obstructive pulmonary disease: effects of inhaled beclomethasone. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1012-1025.
- <sup>103</sup> Zietkowski Z, Kucharewicz I, Bodzenta-Lukaszyk A. The influence of inhaled corticosteroids on exhaled nitric oxide in stable chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2005; 99: 816-824.
- <sup>104</sup> Papi A, Romagnoli M, Baraldo S, Braccioni F, Guzzinati I, Saetta M, Ciaccia A, Fabbri LM. Partial reversibility of airflow limitation and increased exhaled NO and sputum eosinophilia in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1773-1777.
- <sup>105</sup> Kunisaki KM, Rice KL, Janoff EN, Rector TS, Niewoehner DE. Exhaled nitric oxide, systemic inflammation, and the spirometric response to inhaled fluticasone propionate in severe chronic obstructive pulmonary disease: a prospective study. *Thorax* 2008; 2: 55-64.
- <sup>106</sup> Dummer JF, Epton MJ, Cowan JO, Cook JM, Condliffe R, Landhuis CE, Smith AD, Taylor DR. Predicting Corticosteroid Response in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Using Exhaled Nitric Oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180: 846-852.
- <sup>107</sup> Antus B, Barta I. Sztteroidérzékenység COPD-ben: köpet-eosinophilia és kilégzett nitrogen-monoxid. *Med Thor* 2010; 63: 284-289.
- <sup>108</sup> Antus B. A kilégzett nitrogen-monoxid szerepe a krónikus obstruktív tüdőbetegség szteroidérzékenységének meghatározásában. *Orv Hetil* 2010; 151: 2083-2088.
- <sup>109</sup> Agusti AG, Villaverde JM, Togores B, Bosch M. Serial measurements of exhaled nitric oxide during exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1999; 14: 523-528.
- <sup>110</sup> Kharitonov SA, Yates D, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of normal human subjects with upper respiratory tract infections. *Eur Respir J* 1995; 8: 295-297.
- <sup>111</sup> Ho LP, Innes JA, Greening AP. Nitrite levels in breath condensate of patients with cystic fibrosis is elevated in contrast to exhaled nitric oxide. *Thorax* 1998; 53: 680-684.
- <sup>112</sup> Thomas SR, Kharitonov SA, Scott SF, Hodson ME, Barnes PJ. Nasal and exhaled nitric oxide is reduced in adult patients with cystic fibrosis and does not correlate with cystic fibrosis genotype. *Chest* 2000; 117: 1085-1089.
- <sup>113</sup> Antus B, Csiszer E, Horvath I. Antibiotic treatment decreases exhaled nitric oxide levels in cystic fibrosis patients. *Eur Respir J* 2004; 24: S382.
- <sup>114</sup> Balint B, Kharitonov SA, Hanazawa T, Donnelly LE, Shah PL, Hodson ME, Barnes PJ. Increased nitrotyrosine in exhaled breath condensate in cystic fibrosis. *Eur Respir J* 2001; 17: 1201-1207.
- <sup>115</sup> Meng QH, Springall DR, Bishop AE, Morgan K, Evans TJ, Habib S, Gruenert DC, Gyi KM, Hodson ME, Yacoub MH, Polak JM. Lack of inducible nitric oxide synthase in bronchial epithelium: a possible mechanism of susceptibility to infection in cystic fibrosis. *J Pathol* 1998; 184: 323-331.

- <sup>116</sup> Antus B, Horváth I. Kilégzett nitrogén monoxid a légúti betegségek diagnosztikájában és követésében. *Orv Hetil* 2007; 148: 1251-1257.
- <sup>117</sup> Horvath I, Loukides S, Wodehouse T, Csiszer E, Cole PJ, Kharitonov SA, Barnes PJ. Comparison of exhaled and nasal nitric oxide and exhaled carbon monoxide levels in bronchiectatic patients with and without primary ciliary dyskinesia. *Thorax* 2003; 58: 68-72.
- <sup>118</sup> Fisher AJ, Gabbay E, Small T, Doig S, Dark JH, Corris PA. Cross sectional study of exhaled nitric oxide levels following lung transplantation. *Thorax* 1998; 53: 454-458.
- <sup>119</sup> Gabbay E, Walters EH, Orsida B, Whitford H, Ward C, Kotsimbos TC, Snell GI, Williams TJ. Post-lung transplant bronchiolitis obliterans syndrome (BOS) is characterized by increased exhaled nitric oxide levels and epithelial inducible nitric oxide synthase. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 2182-2187.
- <sup>120</sup> Verleden GM, Dupont LJ, Delcroix M, Van Raemdonck D, Vanhaecke J, Lerut T, Demedts M. Exhaled nitric oxide after lung transplantation: impact of the native lung. *Eur Respir J* 2003; 21: 429-432.
- <sup>121</sup> Verleden GM, Dupont LJ, Van Raemdonck DE, Vanhaecke J. Leuven Lung Transplant Group. Accuracy of exhaled nitric oxide measurements for the diagnosis of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *Transplantation* 2004; 78: 730-733.
- <sup>122</sup> Neurohr C, Huppmann P, Leuschner S, von Wulffen W, Meis T, Leuchte H, Ihle F, Zimmermann G, Baezner C, Hatz R, Winter H, Frey L, Ueberfuhr P, Bittmann I, Behr J. Munich Lung Transplant Group. Usefulness of exhaled nitric oxide to guide risk stratification for bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *Am J Transplant* 2011; 11: 129-137.
- <sup>123</sup> Brugière O, Thabut G, Mal H, Marceau A, Dauriat G, Marrash-Chahla R, Castier Y, Lesèche G, Colombat M, Fournier M. Exhaled NO may predict the decline in lung function in bronchiolitis obliterans syndrome. *Eur Respir J* 2005; 25: 813-819.
- <sup>124</sup> Van Muylem A, Knoop C, Estenne M. Early detection of chronic pulmonary allograft dysfunction by exhaled biomarkers. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 731-736.
- <sup>125</sup> Silkoff PE, Caramori M, Tremblay L, McClean P, Chaparro C, Kesten S, Hutcheon M, Slutsky AS, Zamel N, Keshavjee S. Exhaled nitric oxide in human lung transplantation. A noninvasive marker of acute rejection. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 1822-1828.
- <sup>126</sup> Antus B. Indukált és spontán köpet klinikai felhasználása asztmában és krónikus obstruktív tüdőbetegségben. *Orv Hetil* 2012; 153: 1847-1854.
- <sup>127</sup> Green RH, Brightling CE, Woltmann G, Parker D, Wardlaw AJ, Pavord ID. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids. *Thorax* 2002; 57: 875-879.
- <sup>128</sup> Szeffler SJ, Wenzel S, Brown R, Erzurum SC, Fahy JV, Hamilton RG, Hunt JF, Kita H, Liu AH, Panettieri RA Jr, Schleimer RP, Minnicozzi M. Asthma outcomes: biomarkers. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: S9-S23.
- <sup>129</sup> Hunter CJ, Brightling CE, Woltmann G, Wardlaw AJ, Pavord ID. A comparison of the validity of different diagnostic tests in adults with asthma. *Chest* 2002; 121: 1051-1057.
- <sup>130</sup> Green RH, Brightling CE, McKenna S, Hargadon B, Parker D, Bradding P, Wardlaw AJ, Pavord ID. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 1715-1721.
- <sup>131</sup> Brightling CE. Clinical applications of induced sputum. *Chest* 2006; 129: 1344-1348.
- <sup>132</sup> Leuppi JD, Salome CM, Jenkins CR, Anderson SD, Xuan W, Marks GB, Koskela H, Brannan JD, Freed R, Andersson M, Chan HK, Woolcock AJ. Predictive markers of asthma exacerbation during stepwise dose reduction of inhaled corticosteroids. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 406-412.
- <sup>133</sup> Leigh R, Pizzichini MM, Morris MM, Maltais F, Hargreave FE, Pizzichini E. Stable COPD: predicting benefit from high-dose inhaled corticosteroid treatment. *Eur Respir J* 2006; 27: 964-971.
- <sup>134</sup> Pizzichini E, Pizzichini MM, Gibson P, Parameswaran K, Gleich GJ, Berman L, Dolovich J, Hargreave FE. Sputum eosinophilia predicts benefit from prednisone in smokers with chronic obstructive bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1511-1517.
- <sup>135</sup> Antus B, Soter S, Barta I. Sputum eosinophilia and exhaled nitric oxide: predictors for response to treatment in COPD patients with exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 185: A5754.

- <sup>136</sup> Soter S, Barta I, Antus B. Predicting sputum eosinophilia in exacerbations of COPD using exhaled nitric oxide. *Inflammation* 2013; 36: 1178-1184.
- <sup>137</sup> Fujimoto K, Kubo K, Yamamoto H, Yamaguchi S, Matsuzawa Y. Eosinophilic inflammation in the airway is related to glucocorticoid reversibility in patients with pulmonary emphysema. *Chest* 1999; 115: 697-702.
- <sup>138</sup> Brightling CE, Monteiro W, Ward R, Parker D, Morgan MD, Wardlaw AJ, Pavord ID. Sputum eosinophilia and short-term response to prednisolone in chronic obstructive pulmonary disease: a randomised controlled trial. *Lancet* 2000; 356: 1480-1485.
- <sup>139</sup> Siva R, Green RH, Brightling CE, Shelley M, Hargadon B, McKenna S, Monteiro W, Berry M, Parker D, Wardlaw AJ, Pavord ID. Eosinophilic airway inflammation and exacerbations of COPD: a randomised controlled trial. *Eur Respir J* 2007; 29: 906-913.
- <sup>140</sup> Ricciardolo FL, Rado V, Fabbri LM, Sterk PJ, Di Maria GU, Geppetti P. Bronchoconstriction induced by citric acid inhalation in guinea pigs: role of tachykinins, bradykinin, and nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 557-562.
- <sup>141</sup> Clary-Meinesz C, Mouroux J, Cosson J, Huitorel P, Blaive B. Influence of external pH on ciliary beat frequency in human bronchi and bronchioles. *Eur Respir J* 1998; 11: 330-333.
- <sup>142</sup> Holma B, Hegg PO. pH- and protein-dependent buffer capacity and viscosity of respiratory mucus. Their interrelationships and influence on health. *Sci Total Environ* 1989; 84: 71-82.
- <sup>143</sup> Holma B, Lindegren M, Andersen JM. pH effects on ciliomotility and morphology of respiratory mucosa. *Arch Environ Health*. 1977; 32: 216-226.
- <sup>144</sup> Effros RM, Casaburi R, Su J, Dunning M, Torday J, Biller J, Shaker R. The effects of volatile salivary acids and bases on exhaled breath condensate pH. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 386-392.
- <sup>145</sup> Wells K, Vaughan J, Pajewski TN, Hom S, Ngamtrakulpanit L, Smith A, Nguyen A, Turner R, Hunt J. Exhaled breath condensate pH assays are not influenced by oral ammonia. *Thorax* 2005; 60: 27-31.
- <sup>146</sup> Antus B, Kullmann T, Barta I. Assessment of exhaled breath condensate pH. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183: 952-953.
- <sup>147</sup> Rolla G, Bruno M, Bommarito L, Heffler E, Ferrero N, Petrarulo M, Bagnis C, Bugiani M, Guida G. Breath analysis in patients with end-stage renal disease: effect of haemodialysis. *Eur J Clin Invest* 2008; 38: 728-733.
- <sup>148</sup> Kullmann T, Barta I, Lázár Z, Szili B, Barát E, Valyon M, Kollai M, Horváth I. Exhaled breath condensate pH standardised for CO<sub>2</sub> partial pressure. *Eur Respir J* 2007; 29: 496-501.
- <sup>149</sup> Hunt JF, Fang K, Malik R, Snyder A, Malbotra N, Platta-Mills TA, Gaston B. Endogenous airway acidification. Implications for asthma pathophysiology. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 694-699.
- <sup>150</sup> Niimi A, Nguyen LT, Usmani O, Mann B, Chung KF. Reduced pH and chloride levels in exhaled breath condensate of patients with chronic cough. *Thorax* 2004; 59: 608-612.
- <sup>151</sup> Brunetti L, Francavilla R, Tesse R, Strippoli A, Polimeno L, Loforese A, Miniello VL, Armenio L. Exhaled breath condensate pH measurement in children with asthma, allergic rhinitis and atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2006; 17: 422-427.
- <sup>152</sup> Kostikas K, Papatheodorou G, Ganas K, Psathakis K, Panagou P, Loukides S. pH in expired breath condensate of patients with inflammatory airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 1364-1370.
- <sup>153</sup> Borrill Z, Starkey C, Vestbo J, Singh D. Reproducibility of exhaled breath condensate pH in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2005; 25: 269-274.
- <sup>154</sup> Tate S, MacGregor G, Davis M, Innes JA, Greening AP. Airways in cystic fibrosis are acidified: detection by exhaled breath condensate. *Thorax* 2002; 57: 926-929.
- <sup>155</sup> Carpagnano GE, Barnes PJ, Francis J, Wilson N, Bush A, Kharitonov SA. Breath condensate pH in children with cystic fibrosis and asthma: a new noninvasive marker of airway inflammation? *Chest* 2004; 125: 2005-2010.
- <sup>156</sup> Chan HP, Tran V, Lewis C, Thomas PS. Elevated levels of oxidative stress markers in exhaled breath condensate. *J Thorac Oncol* 2009; 4: 172-178.

- <sup>157</sup> Dupont LJ, Dewandeleer Y, Vanaudenaerde BM, Van Raemdonck DE, Verleden GM. The pH of exhaled breath condensate of patients with allograft rejection after lung transplantation. *Am J Transplant* 2006; 6: 1486-1492.
- <sup>158</sup> Bodini A, D'Orazio C, Peroni DG, Corradi M, Zerman L, Folesani G, Assael BM, Boner AL, Piacentini GL. IL-8 and pH values in exhaled condensate after antibiotics in cystic fibrosis children. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2007; 20: 467-472.
- <sup>159</sup> MacGregor G, Ellis S, Andrews J, Imrie M, Innes A, Greening AP, Cunningham S. Breath condensate ammonium is lower in children with chronic asthma. *Eur Respir J* 2005; 26: 271-276.
- <sup>160</sup> Koczulla R, Dragonieri S, Schot R, Bals R, Gauw SA, Vogelmeier C, Rabe KF, Sterk PJ, Hiemstra PS. Comparison of exhaled breath condensate pH using two commercially available devices in healthy controls, asthma and COPD patients. *Respir Res* 2009; 10: e78.
- <sup>161</sup> Nicolaou NC, Lowe LA, Murray CS, Woodcock A, Simpson A, Custovic A. Exhaled breath condensate pH and childhood asthma: unselected birth cohort study. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174: 254-259.
- <sup>162</sup> Vaughan J, Ngamtrakulpanit L, Pajewski TN, Turner R, Nguyen TA, Smith A, Urban P, Hom S, Gaston B, Hunt J. Exhaled breath condensate pH is a robust and reproducible assay of airway acidity. *Eur Respir J* 2003; 22: 889-894.
- <sup>163</sup> Czebe K, Barta I, Antus B, Valyon M, Horvath I, Kullmann T. Influence of condensing equipment and temperature on exhaled breath condensate pH, total protein and leukotriene concentrations. *Respir Med* 2008; 102: 720-725.
- <sup>164</sup> Kullmann T, Barta I, Antus B, Horvath I. Drinking influences exhaled breath condensate acidity. *Lung* 2008; 186: 263-268.
- <sup>165</sup> Kullmann T, Barta I, Antus B, Valyon M, Horvath I. Environmental temperature and relative humidity influence exhaled breath condensate pH. *Eur Respir J* 2008; 31: 474-475.
- <sup>166</sup> Antus B, Barta I, Csiszer E, Kelemen K. Exhaled breath condensate pH in patients with cystic fibrosis. *Inflamm Res* 2012; 61: 1141-1147.
- <sup>167</sup> Antus B, Barta I. Exhaled breath condensate pH in patients with lung cancer. *Lung Cancer* 2012; 75: 178-180.
- <sup>168</sup> Soter S, Kelemen K, Barta I, Valyon M, Csiszer E, Antus B. Exhaled breath condensate pH in lung transplant recipients with bronchiolitis obliterans syndrome. *Transplantation* 2011; 91: 793-797.
- <sup>169</sup> Czebe K, Kullmann T, Csiszer E, Barat E, Horvath I, Antus B. Variability of exhaled breath condensate pH in lung transplant recipients. *Respiration* 2008; 75: 322-327.
- <sup>170</sup> Antus B. Légúti gyulladás vizsgálata krónikus obstruktív tüdőbetegségben: biomarkerek a kilégzett levegő kondenzátumában. *Orv Hetil* 2012; 153: 848-851.
- <sup>171</sup> Carpagnano GE, Foschino-Barbaro MP, Cagnazzo M, Di Gioia G, Giliberti T, Di Matteo C, Resta O. Use of exhaled breath condensate in the study of airway inflammation after hypertonic saline solution challenge. *Chest* 2005; 128: 3159-3166.
- <sup>172</sup> Carpagnano GE, Kharitonov SA, Foschino-Barbaro MP, Resta O, Gramiccioni E, Barnes PJ. Increased inflammatory markers in the exhaled breath condensate of cigarette smokers. *Eur Respir J* 2003; 21: 589-593.
- <sup>173</sup> Garey KW, Neuhauser MM, Robbins RA, Danziger LH, Rubinstein I. Markers of inflammation in exhaled breath condensate of young healthy smokers. *Chest* 2004; 125: 22-26.
- <sup>174</sup> Matsunaga K, Yanagisawa S, Ichikawa T, Ueshima K, Akamatsu K, Hirano T, Nakanishi M, Yamagata T, Minakata Y, Ichinose M. Airway cytokine expression measured by means of protein array in exhaled breath condensate: correlation with physiologic properties in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 84-90.
- <sup>175</sup> Gessner C, Scheibe R, Wötzel M, Hammerschmidt S, Kuhn H, Engelmann L, Hoheisel G, Gillissen A, Sack U, Wirtz H. Exhaled breath condensate cytokine patterns in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2005; 99: 1229-1240.
- <sup>176</sup> Westhoff M, Litterst P, Freitag L, Urfer W, Bader S, Baumbach JI. Ion mobility spectrometry for the detection of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer: results of a pilot study. *Thorax* 2009; 64: 744-748.



- <sup>177</sup> Phillips M, Gleeson K, Hughes JM, Greenberg J, Cataneo RN, Baker L, McVay WP. Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-sectional study. *Lancet* 1999; 353: 1930-1933.
- <sup>178</sup> Machado RF, Laskowski D, Deffenderfer O, Burch T, Zheng S, Mazzone PJ, Mekhail T, Jennings C, Stoller JK, Pyle J, Duncan J, Dweik RA, Erzurum SC. Detection of lung cancer by sensor array analyses of exhaled breath. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 1286-1291.
- <sup>179</sup> Barta I, Kullmann T, Csiszer E, Antus B. Analysis of cytokine pattern in exhaled breath condensate of patients with squamous cell lung carcinoma. *Int J Biol Markers* 2010; 25: 52-56.
- <sup>180</sup> Vizi E, Huszár E, Csoma Z, Böszörményi Nagy G, Barát E, Horváth I, Herjavec I, Kollai M. Plasma adenosine concentration increases during exercise: a possible contributing factor in exercise-induced bronchoconstriction in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 446-448.
- <sup>181</sup> Huszár E, Vass G, Vizi E, Csoma Z, Barát E, Molnár Világos G, Herjavec I, Horváth I. Adenosine in exhaled breath condensate in healthy volunteers and in patients with asthma. *Eur Respir J* 2002; 20: 1393-1398.
- <sup>182</sup> Lázár Z, Huszár E, Kullmann T, Barta I, Antus B, Bikov A, Kollai M, Horváth I. Adenosine triphosphate in exhaled breath condensate of healthy subjects and patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Inflamm Res* 2008; 57: 367-373.
- <sup>183</sup> Lázár Z, Cervenak L, Orosz M, Gálffy G, Komlósi ZI, Bikov A, Losonczy G, Horváth I. Adenosine triphosphate concentration of exhaled breath condensate in asthma. *Chest* 2010; 138: 536-542.
- <sup>184</sup> Herjavec I. (szerk) *Légúti allergológia: Asthma és Társbetegségei*. Melania, Budapest, 2004.
- <sup>185</sup> Drozdovszky O, Antus B. Lipid mediátorok krónikus obstruktív tüdőbetegségben. *Med Thor* 2012; 65: 347-356.
- <sup>186</sup> Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Reboul P, Pelletier JP. Therapeutic role of dual inhibitors of 5-LOX and COX, selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 501-509.
- <sup>187</sup> Hardy CC, Robinson C, Tattersfield AE, Holgate ST. The bronchoconstrictor effect of inhaled prostaglandin D2 in normal and asthmatic men. *N Engl J Med* 1984; 311: 209-213.
- <sup>188</sup> Hutás I, Hadházy P, Debreczeni L, Vizi ES. Relaxation of human isolated bronchial smooth muscle. Role of prostacyclin and prostaglandin F2 alpha in muscle tone. *Lung* 1981; 159: 153-161.
- <sup>189</sup> Pierzchalska M, Szabó Z, Sanak M, Soja J, Szczeklik A. Deficient prostaglandin E2 production by bronchial fibroblasts of asthmatic patients, with special reference to aspirin-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 1041-1048.
- <sup>190</sup> Szczeklik A, Mastalerz L, Nizankowska E, Cmiel A. Protective and bronchodilator effects of prostaglandin E and salbutamol in aspirin-induced asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 567-571.
- <sup>191</sup> Antczak A, Ciebiada M, Pietras T, Piotrowski WJ, Kurmanowska Z, Górski P. Exhaled eicosanoids and biomarkers of oxidative stress in exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Arch Med Sci* 2012; 8: 277-285.
- <sup>192</sup> Montuschi P, Kharitonov SA, Ciabattini G, Barnes PJ. Exhaled leukotrienes and prostaglandins in COPD. *Thorax* 2003; 58: 585-588.
- <sup>193</sup> Fritscher LG, Post M, Rodrigues MT, Silverman F, Balter M, Chapman KR, Zamel N. Profile of eicosanoids in breath condensate in asthma and COPD. *J Breath Res* 2012; 6: e026001.
- <sup>194</sup> Profita M, Sala A, Bonanno A, Riccobono L, Ferraro M, La Grutta S, Albano GD, Montalbano AM, Gjomarkaj M. Chronic obstructive pulmonary disease and neutrophil infiltration: role of cigarette smoke and cyclooxygenase products. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2010; 298: 261-269.
- <sup>195</sup> Sastre B, Fernández-Nieto M, Mollá R, López E, Lahoz C, Sastre J, del Pozo V, Quirce S. Increased prostaglandin E2 levels in the airway of patients with eosinophilic bronchitis. *Allergy* 2008; 63: 58-66.
- <sup>196</sup> Birring SS, Parker D, Brightling CE, Bradding P, Wardlaw AJ, Pavord ID. Induced sputum inflammatory mediator concentrations in chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169: 15-19.
- <sup>197</sup> Brightling CE, Ward R, Woltmann G, Bradding P, Sheller JR, Dworski R, Pavord ID. Induced sputum inflammatory mediator concentrations in eosinophilic bronchitis and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 878-882.

- <sup>198</sup> Chen Y, Chen P, Hanaoka M, Droma Y, Kubo K. Enhanced levels of prostaglandin E2 and matrix metalloproteinase-2 correlate with the severity of airflow limitation in stable COPD. *Respirology* 2008; 13: 1014-1021.
- <sup>199</sup> Borchers MT, Carty MP, Leikauf GD. Regulation of human airway mucins by acrolein and inflammatory mediators. *Am J Physiol* 1998; 276: 549-555.
- <sup>200</sup> Tamaoki J, Chiyotani A, Kobayashi K, Sakai N, Kanemura T, Takizawa T. Effect of indomethacin on bronchorrhea in patients with chronic bronchitis, diffuse panbronchiolitis, or bronchiectasis. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 548-552.
- <sup>201</sup> Maher SA, Birrell MA, Belvisi MG. Prostaglandin E2 mediates cough via the EP3 receptor: implications for future disease therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180: 923-928.
- <sup>202</sup> Bikov A, Gajdócsi R, Huszár E, Szili B, Lázár Z, Antus B, Losonczy G, Horvath I. Exercise increases exhaled breath condensate cysteinyl leukotriene concentration in asthmatic patients. *J Asthma* 2010; 47: 1057-1062.
- <sup>203</sup> Drakatos P, Lykouras D, Sampsonas F, Karkoulas K, Spiropoulos K. Targeting leukotrienes for the treatment of COPD? *Inflamm Allergy Drug Targets* 2009; 8: 297-306.
- <sup>204</sup> Chappell GP, Xiao X, Pica-Mendez A, Varnell T, Green S, Tanaka WK, Laterza O. Quantitative measurement of cysteinyl leukotrienes and leukotriene B<sub>4</sub> in human sputum using ultra high pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2011; 879: 277-284.
- <sup>205</sup> Zhu J, Bandi V, Qiu S, Figueroa DJ, Evans JF, Barnes N, Guntupalli KK, Jeffery PK. Cysteinyl Leukotriene 1 Receptor Expression Associated With Bronchial Inflammation in Severe Exacerbations of COPD. *Chest* 2012; 142: 347-357.
- <sup>206</sup> Kostikas K, Gaga M, Papatheodorou G, Karamanis T, Orphanidou D, Loukides S. Leukotriene B<sub>4</sub> in exhaled breath condensate and sputum supernatant in patients with COPD and asthma. *Chest* 2005; 127: 1553-1559.
- <sup>207</sup> Biernacki WA, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased leukotriene B<sub>4</sub> and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of patients with exacerbations of COPD. *Thorax* 2003; 58: 294-298.
- <sup>208</sup> Borrill ZL, Starkey RC, Singh SD. Variability of exhaled breath condensate leukotriene B<sub>4</sub> and 8-isoprostane in COPD patients. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2007; 2: 71-76.
- <sup>209</sup> Profita M, Giorgi RD, Sala A, Bonanno A, Riccobono L, Mirabella F, Gjomarkaj M, Bonsignore G, Bousquet J, Vignola AM. Muscarinic receptors, leukotriene B<sub>4</sub> production and neutrophilic inflammation in COPD patients. *Allergy* 2005; 60: 1361-1369.
- <sup>210</sup> Woolhouse IS, Bayley DL, Stockley RA. Sputum chemotactic activity in chronic obstructive pulmonary disease: effect of alpha(1)-antitrypsin deficiency and the role of leukotriene B(4) and interleukin 8. *Thorax* 2002; 57: 709-714.
- <sup>211</sup> Corhay JL, Henket M, Nguyen D, Duysinx B, Sele J, Louis R. Leukotriene B<sub>4</sub> contributes to exhaled breath condensate and sputum neutrophil chemotaxis in COPD. *Chest* 2009; 136: 1047-1054.
- <sup>212</sup> Drozdovszky O, Barta I, Antus B. Sputum eicosanoid profiling in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration* 2014 Apr 4. doi:10.1159/000358099.
- <sup>213</sup> Carpagnano GE, Kharitonov SA, Foschino-Barbaro MP, Resta O, Gramiccioni E, Barnes PJ. Increased inflammatory markers in the exhaled breath condensate of cigarette smokers. *Eur Respir J* 2003; 21: 589-593.
- <sup>214</sup> Hoffmeyer F, Harth V, Bunger J, Bruning T, Raulf-Heimsoth M. Leukotriene B<sub>4</sub>, 8-isoprostaglandin F<sub>2</sub> alpha, and pH in exhaled breath condensate from asymptomatic smokers. *J Physiol Pharmacol* 2009; 60: 57-60.
- <sup>215</sup> Miller M, Cho JY, Pham A, Friedman PJ, Ramsdell J, Broide DH. Persistent airway inflammation and emphysema progression on CT scan in ex-smokers observed for 4 years. *Chest* 2011; 139: 1380-1387.
- <sup>216</sup> Wolff DG. The formation of carbon monoxide during peroxidation of microsomal lipids. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 73: 850-857.
- <sup>217</sup> Horvath I, Donnelly LE, Kiss A, Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Raised levels of eCO are associated with an increased expression of heme-oxygenase-1 in airway macrophags of asthma: a new marker of oxidative stress. *Thorax* 1998; 53: 668-672.

- <sup>218</sup> Montuschi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled carbon monoxide and nitric oxide in COPD. *Chest* 2001; 120: 496-501.
- <sup>219</sup> Paredi P, Kharitonov SA, Leak D, Ward S, Cramer D, Barnes PJ. Exhaled ethane, a marker of lipid peroxidation, is elevated in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 369-373.
- <sup>220</sup> Horvath I, Loukides S, Wodehouse T, Kharitonov SA, Cole PJ, Barnes PJ. Increased levels of carbon monoxide in bronchiectasis: a new marker of oxidative stress. *Thorax* 1998; 53: 867-870.
- <sup>221</sup> Biernacki WA, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled carbon monoxide in patients with lower respiratory tract infection. *Respir Med* 2001; 93: 1003-1005.
- <sup>222</sup> Zetterquist W, Marteus H, Johannesson M, Nordval SL, Ihre E, Lundberg JO, Alving K. Exhaled carbon monoxide is not elevated in patients with asthma or cystic fibrosis. *Eur Respir J* 2002; 20: 92-99.
- <sup>223</sup> Carpagnano GE, Kharitonov SA, Foschino-Barbaro MP, Resta O, Gramiccioni E, Barnes PJ. Increased inflammatory markers in the exhaled breath condensate of cigarette smokers. *Eur Respir J* 2003; 21: 589-593.
- <sup>224</sup> Deveci SE, Deveci F, Açık Y, Ozan AT. The measurement of exhaled carbon monoxide in healthy smokers and non-smokers. *Respir Med* 2004; 98: 551-556.
- <sup>225</sup> Yasuda H, Yamaya M, Nakayama K, Ebihara S, Sasaki T, Okinaga S, Inoue D, Asada M, Nemoto M, Sasaki H. Increased arterial carboxyhemoglobin concentrations in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 1246-1251.
- <sup>226</sup> Montuschi P, Barnes PJ, Roberts LJ 2nd. Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. *FASEB J* 2004; 18: 1791-1800.
- <sup>227</sup> Kinnula VL, Ilumets H, Myllärniemi M, Sovijärvi A, Ryttilä P. 8-Isoprostane as a marker of oxidative stress in nonsymptomatic cigarette smokers and COPD. *Eur Respir J* 2007; 29: 51-55.
- <sup>228</sup> Montuschi P, Collins JV, Ciabattini G, Lazzeri N, Corradi M, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled 8-isoprostane as an in vivo biomarker of lung oxidative stress in patients with COPD and healthy smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1175-1177.
- <sup>229</sup> Inonu H, Doruk S, Sahin S, Erkorkmaz U, Celik D, Celikel S, Seyfikli Z. Oxidative stress levels in exhaled breath condensate associated with COPD and smoking. *Respir Care* 2012; 57: 413-419.
- <sup>230</sup> Makris D, Paraskakis E, Korakas P, Karagiannakis E, Sourvinos G, Siafakas NM, Tzanakis N. Exhaled breath condensate 8-isoprostane, clinical parameters, radiological indices and airway inflammation in COPD. *Respiration* 2008; 75: 138-144.
- <sup>231</sup> Dekhuijzen PN, Aben KK, Dekker I, Aarts LP, Wielders PL, van Herwaarden CL, Bast A. Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 813-816.
- <sup>232</sup> Nowak D, Kasielski M, Antczak A, Pietras T, Bialasiewicz P. Increased content of thiobarbituric acid-reactive substances and hydrogen peroxide in the expired breath condensate of patients with stable chronic obstructive pulmonary disease: no significant effect of cigarette smoking. *Respir Med* 1999; 93: 389-396.
- <sup>233</sup> Gerritsen WB, Asin J, Zanen P, van den Bosch JM, Haas FJ. Markers of inflammation and oxidative stress in exacerbated chronic obstructive pulmonary disease patients. *Respir Med* 2005; 99: 84-90.
- <sup>234</sup> Kasielski M, Nowak D. Long-term administration of N-acetylcysteine decreases hydrogen peroxide exhalation in subjects with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2001; 95: 448-456.
- <sup>235</sup> van Beurden WJ, Harff GA, Dekhuijzen PN, van der Poel-Smet SM, Smeenk FW. Effects of inhaled corticosteroids with different lung deposition on exhaled hydrogen peroxide in stable COPD patients. *Respiration* 2003; 70: 242-248.
- <sup>236</sup> Ferreira IM, Hazari MS, Gutierrez C, Zamel N, Chapman KR. Exhaled nitric oxide and hydrogen peroxide in patients with chronic obstructive pulmonary disease: effects of inhaled beclomethasone. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1012-1015.
- <sup>237</sup> Kostikas K, Papatheodorou G, Psathakis K, Panagou P, Loukides S. Oxidative stress in expired breath condensate of patients with COPD. *Chest* 2003; 124: 1373-1380.

- <sup>238</sup> Gajdocsi R, Bikov A, Antus B, Horvath I, Barnes PJ, Kharitonov SA. Assessment of reproducibility of exhaled hydrogen peroxide concentration and the effect of breathing pattern in healthy subjects. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv* 2011; 24: 271-275.
- <sup>239</sup> Corradi M, Montuschi P, Donnelly LE, Pesci A, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased nitrosothiols in exhaled breath condensate in inflammatory airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 854-858.
- <sup>240</sup> Corradi M, Pesci A, Casana R, Alinovi R, Goldoni M, Vettori MV, Cuomo A. Nitrate in exhaled breath condensate of patients with different airway diseases. *Nitric Oxide* 2003; 8: 26-30.
- <sup>241</sup> Sugiura H, Ichinose M, Tomaki M, Ogawa H, Koarai A, Kitamuro T, Komaki Y, Akita T, Nishino H, Okamoto S, Akaike T, Hattori T. Quantitative assessment of protein-bound tyrosine nitration in airway secretions from patients with inflammatory airway disease. *Free Radic Res* 2004; 38: 49-57.
- <sup>242</sup> Andreoli R, Manini P, Corradi M, Mutti A, Niessen WM. Determination of patterns of biologically relevant aldehydes in exhaled breath condensate of healthy subjects by liquid chromatography/atmospheric chemical ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2003; 17: 637-645.
- <sup>243</sup> Corradi M, Pignatti P, Manini P, Andreoli R, Goldoni M, Poppa M, Moscato G, Balbi B, Mutti A. Comparison between exhaled and sputum oxidative stress biomarkers in chronic airway inflammation. *Eur Respir J* 2004; 24: 1011-1017.
- <sup>244</sup> Corradi M, Rubinstein I, Andreoli R, Manini P, Caglieri A, Poli D, Alinovi R, Mutti A. Aldehydes in exhaled breath condensate of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 1380-1386.
- <sup>245</sup> Lärstad M, Ljungkvist G, Olin AC, Torén K. Determination of malondialdehyde in breath condensate by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2002; 766: 107-114.
- <sup>246</sup> Pryor WA, Stanley JP. A suggested mechanism for the production of malonaldehyde during the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. Nonenzymatic production of prostaglandin endoperoxides during autoxidation. *J Org Chem* 1975; 40: 3615-3617.
- <sup>247</sup> Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991; 11: 81-128.
- <sup>248</sup> Hecker M, Ullrich V. On the mechanism of prostacyclin and thromboxane A<sub>2</sub> biosynthesis. *J Biol Chem* 1989; 264: 141-150.
- <sup>249</sup> Bartoli ML, Novelli F, Costa F, Malagrino L, Melosini L, Bacci E, Cianchetti S, Dente FL, Di Franco A, Vagaggini B, Paggiaro PL. Malondialdehyde in exhaled breath condensate as a marker of oxidative stress in different pulmonary diseases. *Mediators Inflamm* 2011; 2011: e891752.
- <sup>250</sup> Yousem SA, Berry GJ, Cagle PT, Chamberlain D, Husain AN, Hruban RH, Marchevsky A, Otori NP, Ritter J, Stewart S, Tazelaar HD. Revision of the 1990 working formulation for the classification of pulmonary allograft rejection: Lung Rejection Study Group. *J Heart Lung Transplant* 1996; 15: 1-15.
- <sup>251</sup> Standardization of spirometry, 1994 Update. American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1107-1136.
- <sup>252</sup> Vass G, Huszár E, Barát E, Vályon M, Kiss D, Péntes I, Augusztinovicz M, Horváth I. Comparison of nasal and oral inhalation during exhaled breath condensate collection. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 850-855.
- <sup>253</sup> ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 912-930.
- <sup>254</sup> [www.goldcopd.org](http://www.goldcopd.org)
- <sup>255</sup> Hanley JA, McNeil BJ. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology* 1982; 143: 29-36.
- <sup>256</sup> Fabbri LM, Romagnoli M, Corbetta L, Casoni G, Busljetic K, Turato G, Ligabue G, Ciaccia A, Saetta M, Papi A. Differences in airway inflammation in patients with fixed airflow obstruction due to asthma or chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 418-424.
- <sup>257</sup> Antus B, Barta I, Horvath I, Csiszer E. Relationship between exhaled nitric oxide and treatment response in COPD patients with exacerbations. *Respirology* 2010; 15: 472-477.

- <sup>258</sup> Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, Barnes PJ, Buist SA, Calverley P, Fukuchi Y, Jenkins C, Rodriguez-Roisin R, van Weel C, Zielinski J. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD Executive Summary. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 532-555.
- <sup>259</sup> Gaber F, Acevedo F, Delin I, Sundblad BM, Palmberg L, Larsson K, Kumlin M, Dahlén SE. Saliva is one likely source of leukotriene B4 in exhaled breath condensate. *Eur Respir J* 2006; 28: 1229-1235.
- <sup>260</sup> Henig NR, Tonelli MR, Pier MV, Burns JL, Aitken ML. Sputum induction as a research tool for sampling the airways of subjects with cystic fibrosis. *Thorax* 2001; 56: 306-311.
- <sup>261</sup> Rami-Porta R, Crowley JJ, Goldstraw P. The revised TNM staging system for lung cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2009; 15: 4-9.
- <sup>262</sup> Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1: 307-310.
- <sup>263</sup> Yates DH, Krishnan A, Chow S, Thomas PS. Non-invasive assessment of exhaled biomarkers in lung transplantation. *J Breath Res* 2011; 5: e024001.
- <sup>264</sup> Gabbay E, Walters EH, Orsida B, Whitford H, Ward C, Kotsimbos TC, Snell GI, Williams TJ. Post-lung transplant bronchiolitis obliterans syndrome (BOS) is characterized by increased exhaled nitric oxide levels and epithelial inducible nitric oxide synthase. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 2182-2187.
- <sup>265</sup> Sanders SP, Siekierski ES, Richards SM, Porter JD, Imani F, Proud D. Rhinovirus infection induces expression of type 2 nitric oxide synthase in human respiratory epithelial cells in vitro and in vivo. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 235-243.
- <sup>266</sup> Wheeler MA, Smith SD, Garcia-Cardena G, Nathan CF, Weiss RM, Sessa WC. Bacterial infection induces nitric oxide synthase in human neutrophils. *J Clin Invest* 1997; 99: 110-116.
- <sup>267</sup> Ochoa JB, Udekwu AO, Billiar TR, Curran RD, Cerra FB, Simmons RL, Peitzman AB. Nitrogen oxide levels in patients after trauma and during sepsis. *Ann Surg* 1991; 214: 621-626.
- <sup>268</sup> de Gouw HW, Grunberg K, Schot R, Kroes AC, Dick EC, Sterk PJ. Relationship between exhaled nitric oxide and airway hyperresponsiveness following experimental rhinovirus infection in asthmatic subjects. *Eur Respir J* 1998; 11: 126-132.
- <sup>269</sup> Adrie C, Monchi M, Dinh-Xuan AT, Dall'Ava-Santucci J, Dhainaut JF, Pinsky MR. Exhaled and nasal nitric oxide as a marker of pneumonia in ventilated patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1143-1149.
- <sup>270</sup> Soccia PM, Jani A, Chang S, Leonard CT, Pavlakakis M, Doyle RL. Inducible nitric oxide synthase transcription in human lung transplantation. *Transplantation* 2000; 70: 384-385.
- <sup>271</sup> Croen KD. Evidence of antiviral effect of nitric oxide: inhibition of herpes simplex type I replication. *J Clin Invest* 1993; 91: 2446-2452.
- <sup>272</sup> Noda S, Tanaka K, Sawamura S, Sasaki M, Matsumoto T, Mikami K, Aiba Y, Hasegawa H, Kawabe N, Koga Y. Role of nitric oxide synthase type 2 in acute infection with murine cytomegalovirus. *J Immunol* 2001; 166: 3533-3541.
- <sup>273</sup> Akaike T, Noguchi Y, Ijiri S, Setoguchi K, Suga M, Zheng YM, Dietzschold B, Maeda H. Pathogenesis of virus-induced pneumonia: involvement of both nitric oxide and oxygen radicals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 2448-2453.
- <sup>274</sup> Worrall NK, Boasquevisque CH, Botney MD, Misko TP, Sullivan PM, Ritter JH, Ferguson TB Jr, Patterson GA. Inhibition of inducible nitric oxide synthase ameliorates functional and histological changes of acute lung allograft rejection. *Transplantation* 1997; 63: 1095-1101.
- <sup>275</sup> McDermott CD, Gavita SM, Shennib H, Giaid A. Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase and the oxidant peroxynitrite in lung transplant recipients with obliterative bronchiolitis. *Transplantation* 1997; 64: 270-274.
- <sup>276</sup> De Soya A, Fisher AJ, Small T, Corris PA. Inhaled corticosteroids and the treatment of lymphocytic bronchiolitis following lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1209-1212.
- <sup>277</sup> Antus B, Barta I, Csiszér E. Kilegzett NO-mérés a bronchiolitis obliterans szindróma diagnosztikájában tüdőtranszplantált betegekben. *Med Thor* 2012; 65: 26-30.

- <sup>278</sup> Verleden GM, Dupont LJ, Van Raemdonck D, Vanhaecke J. Effect of switching from cyclosporine to tacrolimus on exhaled nitric oxide and pulmonary function in patients with chronic rejection after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2003; 22: 908-913.
- <sup>279</sup> Antus B, Csiszer E, Czebe K, Horvath I. Pulmonary infections increase exhaled nitric oxide in lung transplant recipients: a longitudinal study. *Clin Transplant* 2005; 19: 377-382.
- <sup>280</sup> Antus B, Barta I, Csiszer E. Exhaled nitric oxide in diagnosis of bronchiolitis obliterans syndrome in lung transplant recipients: possible limitations. *Am J Transplant* 2011; 11: 2774-2775.
- <sup>281</sup> Maskey-Warzechowska M, Przybyłowski T, Hildebrand K, Kumor M, Górska K, Fangrat A, Kucińska J, Kościuch J, Chazan R. The effect of asthma and COPD exacerbation on exhaled nitric oxide (FENO). *Pneumonol Alergol Pol* 2004; 72: 181-186.
- <sup>282</sup> Ferreira IM, Hazari MS, Gutierrez C, Zamel N, Chapman KR. Exhaled nitric oxide and hydrogen peroxide in patients with chronic obstructive pulmonary disease: effects of inhaled beclomethasone. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1012-1025.
- <sup>283</sup> Zietkowski Z, Kucharewicz I, Bodzenta-Lukaszyk A. The influence of inhaled corticosteroids on exhaled nitric oxide in stable chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2005; 99: 816-824.
- <sup>284</sup> Shim C, Stover DE, Williams MH Jr. Response to corticosteroids in chronic bronchitis. *J Allergy Clin Immunol* 1978; 62: 363-367.
- <sup>285</sup> Liu J, Sandrini A, Thurston MC, Yates DH, Thomas PS. Nitric oxide and exhaled breath nitrite/nitrates in chronic obstructive pulmonary disease patients. *Respiration* 2007; 74: 617-623.
- <sup>286</sup> Fabbri LM, Romagnoli M, Corbetta L, Casoni G, Busljetic K, Turato G, Ligabue G, Ciaccia A, Saetta M, Papi A. Differences in airway inflammation in patients with fixed airflow obstruction due to asthma or chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 418-424.
- <sup>287</sup> Cosio BG, Iglesias A, Rios A, Noguera A, Sala E, Ito K, Barnes PJ, Agusti A. Low-dose theophylline enhances the anti-inflammatory effects of steroids during exacerbations of COPD. *Thorax* 2009; 64: 424-429.
- <sup>288</sup> Lim S, Tomita K, Caramori G, Jatakanon A, Oliver B, Keller A, Adcock I, Chung KF, Barnes PJ. Low-dose theophylline reduces eosinophilic inflammation but not exhaled nitric oxide in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 273-276.
- <sup>289</sup> Shim C, Stover DE, Williams MH Jr. Response to corticosteroids in chronic bronchitis. *J Allergy Clin Immunol* 1978; 62: 363-367.
- <sup>290</sup> Silkoff PE, Wakita S, Chatkin J, Ansarin K, Gutierrez C, Caramori M, McClean P, Slutsky AS, Zamel N, Chapman KR. Exhaled nitric oxide after beta2-agonist inhalation and spirometry in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 940-944.
- <sup>291</sup> Jaffé A, Slade G, Rae J, Lavery A. Exhaled nitric oxide increases following admission for intravenous antibiotics in children with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2003; 2: 143-147.
- <sup>292</sup> Ho LP, Wood FT, Robson A, Innes JA, Greening AP. The current single exhalation method of measuring exhaled nitric oxide is affected by airway calibre. *Eur Respir J* 2000; 15: 1009-1013.
- <sup>293</sup> Oh MJ, Lee JY, Lee BJ, Choi DC. Exhaled nitric oxide measurement is useful for the exclusion of nonasthmatic eosinophilic bronchitis in patients with chronic cough. *Chest* 2008; 134: 990-995.
- <sup>294</sup> Rosias PP, Dompeling E, Dentener MA, Pennings HJ, Hendriks HJ, Van Iersel MP, Jöbsis Q. Childhood asthma: exhaled markers of airway inflammation, asthma control score, and lung function tests. *Pediatr Pulmonol* 2004; 38: 107-114.
- <sup>295</sup> Ojoo JC, Mulrennan SA, Kastelik JA, Morice AH, Redington AE. Exhaled breath condensate pH and exhaled nitric oxide in allergic asthma and in cystic fibrosis. *Thorax* 2005; 60: 22-26.
- <sup>296</sup> Bikov A, Galffy G, Tamasi L, Bartusek D, Antus B, Losonczy G, Horvath I. Exhaled breath condensate pH decreases during exercise-induced bronchoconstriction. *Respirology* 2014 Feb 25. doi: 10.1111/resp.12248.
- <sup>297</sup> Robroeks CM, Rosias PP, van Vliet D, Jöbsis Q, Yntema JB, Brackel HJ, Damoiseaux JG, den Hartog GM, Wodzig WK, Dompeling E. Biomarkers in exhaled breath condensate indicate presence and severity of cystic fibrosis in children. *Pediatr Allergy Immunol* 2008; 19: 652-659.
- <sup>298</sup> Kullmann T, Barta I, Horváth I. Effect of freezing on exhaled breath condensate pH. *Respir Med* 2007; 101: 2566.
- <sup>299</sup> Torrego A, Cimbollek S, Hew M, Chung KF. No effect of omeprazole on pH of exhaled breath condensate in cough associated with gastro-oesophageal reflux. *Cough* 2005; 19: 1-10.

- <sup>300</sup> Hieshima K, Ohtani H, Shibano M, Izawa D, Nakayama T, Kawasaki Y, Shiba F, Shiota M, Katou F, Saito T, Yoshie O. CCL28 has dual roles in mucosal immunity as a chemokine with broad-spectrum antimicrobial activity. *J Immunol* 2003; 170: 1452-1461.
- <sup>301</sup> Dimberg J, Hugander A, Wågsäter D. Protein expression of the chemokine, CCL28, in human colorectal cancer. *Int J Oncol* 2006; 28: 315-319.
- <sup>302</sup> Facciabene A, Peng X, Hagemann IS, Balint K, Barchetti A, Wang LP, Gimotty PA, Gilks CB, Lal P, Zhang L, Coukos G. Tumour hypoxia promotes tolerance and angiogenesis via CCL28 and T(reg) cells. *Nature* 2011; 475: 226-230.
- <sup>303</sup> Lo HM, Shieh JM, Chen CL, Tsou CJ, Wu WB. Vascular Endothelial Growth Factor Induces CXCL1 Chemokine Release via JNK and PI-3K-Dependent Pathways in Human Lung Carcinoma Epithelial Cells. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 10090-10106.
- <sup>304</sup> Divella R, Daniele A, Savino E, Palma F, Bellizzi A, Giotta F, Simone G, Lioce M, Quaranta M, Paradiso A, Mazzocca A. Circulating levels of transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) and chemokine (C-X-C motif) ligand-1 (CXCL1) as predictors of distant seeding of circulating tumor cells in patients with metastatic breastcancer. *Anticancer Res* 2013; 33: 1491-1497.
- <sup>305</sup> Wald O, Izhar U, Amir G, Kirshberg S, Shlomai Z, Zamir G, Peled A, Shapira OM. Interaction between neoplastic cells and cancer-associated fibroblasts through the CXCL12/CXCR4 axis: role in non-small cell lung cancer tumor proliferation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011; 141: 1503-1512.
- <sup>306</sup> Kirshberg S, Izhar U, Amir G, Demma J, Vernea F, Beider K, Shlomai Z, Wald H, Zamir G, Shapira OM, Peled A, Wald O. Involvement of CCR6/CCL20/IL-17 axis in NSCLC disease progression. *PLoS One* 2011; 6: e24856.
- <sup>307</sup> Lama VN, Harada H, Badri LN, Flint A, Hogaboam CM, McKenzie A, Martinez FJ, Toews GB, Moore BB, Pinsky DJ. Obligatory role for interleukin-13 in obstructive lesion development in airway allografts. *Am J Pathol* 2006; 169: 47-60.
- <sup>308</sup> Keane MP, Gomperts BN, Weigt S, Xue YY, Burdick MD, Nakamura H, Zisman DA, Ardehali A, Saggat R, Lynch JP 3rd, Hogaboam C, Kunkel SL, Lukacs NW, Ross DJ, Grusby MJ, Strieter RM, Belperio JA. IL-13 is pivotal in the fibro-obliterative process of bronchiolitis obliterans syndrome. *J Immunol* 2007; 178: 511-519.
- <sup>309</sup> Meyer KC, Cardoni AL, Xiang Z, Cornwell RD, Love RB. Vascular endothelial growth factor in human lung transplantation. *Chest* 2001; 119: 137-143.
- <sup>310</sup> Boehler A, Bai XH, Liu M, Cassivi S, Chamberlain D, Slutsky AS, Keshavjee S. Upregulation of T-helper 1 cytokines and chemokine expression in post-transplant airway obliteration. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1910-1917.
- <sup>311</sup> Meloni F, Solari N, Miserere S, Morosini M, Cascina A, Klersy C, Arbustini E, Pellegrini C, Viganò M, Fietta AM. Chemokine redundancy in BOS pathogenesis. A possible role also for the CC chemokines: MIP3-beta, MIP3-alpha, MDC and their specific receptors. *Transpl Immunol* 2008; 18: 275-280.
- <sup>312</sup> Corradi M, Folesani G, Andreoli R, Manini P, Bordini A, Piacentini G, Carraro S, Zanconato S, Baraldi E. Aldehydes and glutathione in exhaled breath condensate of children with asthma exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 395-399.
- <sup>313</sup> Franklin P, Moeller A, Hall GL, Horak F Jr, Patterson H, Stick SM. Variability of nitric oxide metabolites in exhaled breath condensate. *Respir Med* 2006; 100: 123-129.
- <sup>314</sup> Giera M, Lingeman H, Niessen WM. Recent Advancements in the LC- and GC-Based Analysis of Malondialdehyde (MDA): a brief overview. *Chromatographia* 2012; 75: 433-440.
- <sup>315</sup> Chen Y, Chen P, Hanaoka M, Droma Y, Kubo K. Enhanced levels of prostaglandin E2 and matrix metalloproteinase-2 correlate with the severity of airflow limitation in stable COPD. *Respirology* 2008; 13: 1014-1021.
- <sup>316</sup> Mohan A, Prasad D, Sharma A, Arora S, Guleria R, Sharma SK, Pandey RM. Delayed resolution of inflammatory response compared with clinical recovery in patients with acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Respirology* 2012; 17: 1080-1085.
- <sup>317</sup> Antus B, Harnasi G, Drozdovszky O, Barta I. Monitoring oxidative stress during chronic obstructive pulmonary disease exacerbations using malondialdehyde. *Respirology* 2014; 19: 74-79.