

Élettani változások neminvazívan lélegeztetett
krónikus obstruktív tüdőbetegekben és a dohányfüst
sejtszintű hatásai

Doktori értekezés

Dr. Lukácsovits József

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Müller Veronika egyetemi docens, Ph.D

Hivatalos bírálók: Dr. Vizi Éva oszt. vez. főorvos, Ph.D.

Dr. Sziksz Erna tudományos munkatárs, Ph.D

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Cserhádi Endre emeritus egyetemi tanár, az
MTA doktora

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Somfay Attila egyetemi tanár, Ph.D

Dr. Varga János oszt. vez. főorvos, Ph.D

Dr. Orosz Zsuzsanna egyetemi adjunktus, Ph.D

Budapest
2013

TARTALOMJEGYZÉK

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	4
2. BEVEZETÉS.....	6
2.1 A dohányzás	6
2.2 A hősokkfehérjék	8
2.2.1 A glucocorticoidok hatásmechanizmusa és a HSP72-vel való kapcsolata.....	10
2.3 A dohányzás egészségkárosító hatásai	10
2.3.1. A COPD.....	12
2.3.2. A glukocorticoidok és dohányfüst kapcsolata	14
2.3.3. COPD és a globális légzési elégtelenség	15
2.4. Neminvazív gépi lélegeztetés globális légzési elégtelen COPD-s betegekben	18
2.5. Szív-tüdő interakciók spontán légzés és pozitív nyomású gépi lélegeztetés alatt ...	20
2.5.1. Szív-tüdő kölcsönhatások spontán légzés alatt.....	21
2.5.1.1. Az intratorakális nyomás változásából adódó hatások	21
2.5.1.2. Tüdőtérfogat változásából származó hatások	22
2.5.2. Szív-tüdő kölcsönhatások pozitív nyomású gépi lélegeztetés mellett.....	24
2.5.2.1. Az intrathorakális nyomás változásából adódó hatások	24
2.5.2.2. Tüdőtérfogat változásából származó hatások	25
3. CÉLKITŰZÉSEK.....	27
4. MÓDSZEREK.....	28
4.1. Élettani változások globális légzési elégtelen COPD-s betegek neminvazív lélegeztetése során	28
4.1.1. Betegek és vizsgálati módszer	28
4.1.2. Vizsgálati protokoll	30
4.1.3. Li-NPPV	31
4.1.4. Hi-NPPV	32
4.1.5. Légzésmechanikai mérések és vérgázértékek.....	32
4.1.6. Cardiovascularis paraméterek mérése	34
4.1.7. Diszpnoe pontszám.....	35
4.1.8. Statisztikai analízis	35
4.2. Tüdő alveoláris sejtek vizsgálata	36
4.2.1. Dohányfüst extraktum előállítása	36
4.2.1.1. A dohányzó gép	36

4.2.1.2. Dohányfüst kivonat előállítása	39
4.2.2. In vitro sejttenyésztés	39
4.2.3 Kezelési csoportok	40
4.2.4. A sejtszám, sejtkárosodás, valamint az intracelluláris HSP72 szint meghatározása	41
4.2.5. Valós idejű (RT)-PCR vizsgálatok	41
4.2.6. HSP72 csendesítő transzfekció	42
4.2.7. Statisztikai analízis	42
5. EREDMÉNYDEK	43
5.1. Élettani változások globális légzési elégtelen COPD -s betegek neminvazív lélegeztetése során	43
5.1.1. Légzési mintázat	43
5.1.2. Légzésmechanikai paraméterek	46
5.1.3. Artériás vérgáz értékek	50
5.1.4. Diszpnoe pontszám	52
5.1.5. Kardiovaszkuláris paraméterek és oxigénszállítás	53
5.2. Tüdő alveoláris sejtek vizsgálata	57
5.2.1. Sejtszám	57
5.2.2. Apoptózis	58
5.2.3. A HSP72 mRNS expresszió	59
5.2.4. HSP72 fehérje expresszió	61
5.2.5. „Csendesítő” transzfekciót követő eredményeink	63
6. MEGBESZÉLÉS	67
6.1. Élettani változások globális légzési elégtelen COPD-s betegek neminvazív lélegeztetése során	67
6.2. Tüdő alveoláris sejtek vizsgálata	70
7. KÖVETKEZTETÉSEK	74
7.1. Élettani változások globális légzési elégtelen COPD-s betegek neminvazív lélegeztetése során	74
7.2. Tüdő alveoláris sejtek vizsgálata	74
8. ÖSSZEFOGLALÁS	75
9. SUMMARY	77
10. IRODALOMJEGYZÉK	78

11. SAJÁT KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA	90
11.1. A disszertációhoz felhasznált közlemények.....	90
11.2. Egyéb közlemények.....	90
12. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS	92

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

A549	immortalizált alveoláris epithel sejtvonal
AB	antibiotikum
ARDS	felnettkori respirációs dystress syndroma
BE	bázis többlet
BMI	testtömeg index
CD4+	CD4 receptor pozitív T lymphocyta
CD8+	CD8 receptor pozitív T lymphocyta
cDNS	konvertált dezoxi-ribonukleinsav
CL	tüdő compliance
Cldyn	dinamikus tüdőcompliance
CO ₂	széndioxid
COPD	krónikus obstruktív tüdőbetegség
CO	keringési perctérfogat
CRP	C reaktív protein
Ct	mellkas compliance
DAP	diasztolés artériás vérnyomás
DEX	dexamethasone
DFK	dohányfüst kivonat
DMEM	médium (Dubecco's modified Eagle's medium)
DO ₂	oxigénszállítási kapacitás
dPaw	légúti nyomás változása
dPpl	pleurális nyomás változása
EDV	végdiasztolés térfogat
F	férfi
FACS	áramlás cytometria
FBS	fötális borjú szérum
FEV ₁	kilégzési másodperc térfogat
Flow	áramlás (légúti áramlás)
FRC	funkcionális reziduális kapacitás
GAPDH	glicerín-aldehid-3-foszfát-dehidrogenáz
GOLD	global initiative for chronic obstructive pulmonary disease
GR	glucocorticoid receptor
GST	glutation-s-transzferáz
HCO ₃ ⁻	standard bikarbonát
HDAC	hiszton deacetiláz
Hi-NPPV	magas intenzitású pozitív nyomású neminvasív gépi lélegeztetés
HR	szívfrekvencia
HSE	heat shock element
HSF	heat shock faktor
HSP	hősokk fehérje
HSP70	70 kDa-os hősokk fehérje
HSP90	90 kDa-os hősokk fehérje
IE	ineffektív belégzési erőfeszítés (ineffective efforts)
IL-6	interleukin-6
IL-8	interleukin-8

IPAP	belégzési nyomás
ITP	intrathoracalis nyomás
Li-NPPV	alacsony intenzitású pozitív nyomású neminvaszív gépi lélegeztetés
LVEDV	bal kamrai végdiasztolés térfogat
LVEDP	bal kamrai végdiasztolés nyomás
MAP	artériás középnyomás
N	nő
N.E.	nem elérhető
NPPV	nem-invaszív pozitív nyomású lélegeztetés
NS	nem szignifikáns
O ₂	oxigén
PaCO ₂	artériás széndioxid parciális nyomás
PaO ₂	artériás oxigén parciális nyomás
Paw	légúti nyomás
PCR	polimerase láncreakció
Pdi	transzdiafragmatikus nyomás
PEEP	pozitív kilégzési végnyomás
PEEPi	intrinszik pozitív kilégzés végi nyomás
PEEPi,dyn	dinamikus intrinszik PEEP
P _{gast}	gasztrikus nyomás
pH	hidrogénion-kitevő (pondus Hidrogenii)
PI	propidium-jodid
Ppl	pleurális nyomás
PPV	pozitív nyomású lélegeztetés
PS	phosphatidil - szerin
P _{tm}	transzmurális nyomás
PTPdi	diafragmatikus nyomás-idő szorzat
PVR	pulmonális vaszkuláris rezisztencia
RI	tüdő ellenállás
Rnase	RNS bontó enzim
RNS	ribonukleinsav
RT-PCR	valós idejű polimerase láncreakció
RVEDV	jobb kamrai végdiasztolés térfogat
SAP	szisztolés artériás vérnyomás
scrRNS	ál csendesítő ribonukleinsav
SD	standard deviáció (stat.)
siRNS	csendesítő ribonukleinsav
SL	spontán légzés
SO ₂	oxigén telítettség (vér)
SV	pulzustérfogat
Tc	cytotoxikus T lymphocyt
TGF-β	transforming growth factor - β
Th	helper T lymphocyt
TLR	toll like receptor
TNF-α	tumor nekrosis faktor - α
VOC	volatile organic compound (illékony organikus anyag keverék)
V _r	relaxációs tüdőtérfogat
WHO	egészségügyi világszervezet
β ₂ -AR	béta ₂ adrenoreceptor

2. BEVEZETÉS

2.1 A dohányzás

A dohányzás számos halálos betegség hátterében kóroki tényezőként szerepel, évente kb. 5 millió ember hal meg a dohányzás miatt kialakuló betegségek következtében. A dohányosok átlagosan több mint 10 évet veszítenek életükből és ezen megrövidült életidejük utolsó éveiben a nem dohányzó populációnál jelentősen rosszabb az életminőségük. A XX. században megközelítőleg 100 millió ember halálát okozta a dohányzás, jelenleg a felnőtt lakosság kb. harmada dohányzik. Hazánkban a dohányosok száma enyhe emelkedést vagy inkább stagnálást mutat a férfiak körében, viszont a dohányzó nők aránya egyértelműen emelkedik döntően a fiatal (30 év alatti) korosztályban [1].

Történelmi adatok szerint a dohányzás évezredek óta jelen van az emberi kultúrában. Távolkeleti leletek között több ezer éves pipázásra alkalmas régészeti maradványokat találtak, melyekben nem feltétlenül dohányt, hanem nagy valószínűséggel más növényeket égettek, feltehetően élvezeti, tudatmódosító, esetleg rituális célzattal. Az amerikai indiánok élvezeti szerként és rituális célra használták a dohányfüstöt. A dohány Európába kerülésekor ezen kultikus szerepét fokozatosan elvesztette, gyógyszerként, majd élvezeti szerként egyre többen jutottak hozzá. A cigaretta megjelenésével széles rétegek számára vált elérhetővé a dohányzás élménye, a szegényebb társadalmi osztályoknak azt a hamis illúziót adván, hogy ők is egyenrangú tagjai a gazdagok körének, hiszen a korábban csak a kiváltságos csoportok részesülhettek a fogyasztásában [2].

A napjainkban használt cigaretták füstjében kb. 4700 kémiai alkotórészt sikerült izolálni, melyből 400-at igazoltan egészségre károsító hatásúnak találtak [3, 4]. A cigarettafüst alkotóelemeinek aránya számos tényezőtől függ. A dohányfüstöt 3 nagy csoportra oszthatjuk. Főfüstnek a dohányzó által beszívott füstöt nevezzük, mellékfüst pedig az égő cigarettavég által kibocsátott füst. A kifújt füst és a mellékfüst keveréke a környezeti dohányfüst. A dohányfüst gáz- és a részecske frakcióból áll, ezek aránya elsősorban a hőmérséklet függvénye és folyamatosan változik. A főfüst, ami nagy koncentrációban bejut a légutakba, összetétele jelentősen függ a dohánykeverék összetételétől és az égés hőfokától, mely arányos a szippantás sebességével. A cigaretta

szívásakor létrejövő kb. 900 °C hőmérséklet a mögöttes zóna tökéletlen égését indukálja, tulajdonképpen a cigaretta tartalom „száraz lepárlását” eredményezi. A folyamat során jelentős mennyiségű (kb. 4700 kémiai alkotórész), de változó arányú kémiai anyag keletkezik. A mellékfüst a kb. 600 C fokos parázs általi tökéletlen égés során jön létre, minőségileg gyakorlatilag ugyanazon alkotóelemeket tartalmazva, viszont mennyiségileg más arányban. A hőmérséklet csökkenésével az egyes alkotóelemek szublimálódnak, ezáltal kialakul a részecskefázis, mely részecskéken a további hűlés alatt újabb komponensek kondenzálódnak. A hőmérséklet változásával az egyes alkotóelemek kémiai összetétele is megváltozik. A fentiekből nyilvánvaló, hogy a 4 fő füst típus összetétele nem lehet azonos még ugyanazon dohánytermék esetében sem. A füst összetétele nagyban függ a cigarettatöltet összetételétől, ami az évek során jelentős változásokat mutatott [5]. Az évtizedekkel korábban gyártott cigarettákhoz képest napjainkban több aroma és adalékanyag kerül a dohány mellé a töltetbe. A dohánynövény nemesítésével a termelők célja az volt, hogy alacsonyabb nikotin és kátránytartalmat érjenek el. A gyártók általi, különböző légáteresztő cigarettapapírok és filterek kifejlesztésével is a cigarettafüst káros anyag tartalmának csökkentése volt a cél. Az úgynevezett ventillációs filter a főfüstöt levegővel keverni hivatott, ezáltal csökkentve annak koncentrációját. A cigarettagyártók törekvései azt eredményezték, hogy megváltozott a dohányosok dohányzási mintázata. A csökkentett nikotintartalom miatt a fogyasztó gyakrabban veszi szájába a cigarettát és nagyobb intenzitással szívja annak érdekében, hogy az igényelt mennyiségű nikotinhoz hozzájusson. Ezen túlmenően több szál cigarettát is fogyaszt, mint a hagyományos, nagyobb nikotintartalmú változatokból. A cigarettagyártók törekvései ezáltal az összes káros anyag bevitelt nem csökkentették, sőt egyes vélemények szerint inkább növelték azt.

Kísérletes körülmények között a dohányfüst káros hatásainak kutatásása az úgynevezett „dohányzó géppel” nyert füstöt vizsgálják [6]. Ezzel a szerkezettel a dohányzást lehet szimulálni, mely a korábbi adatok szerint átlagosan percenként mintegy 2 másodpercig tartó, kb. 35 ml-es szippantásokból áll. Napjainkban kapható alacsony nikotintartalmú cigaretták esetében viszont ez módosult, a csökkent nikotintartalom miatt percenként 2-4 szippantással és szippantásonként 55 ml-el kell számolni [5]. Mivel az egy szippantáskor létrejött füst minősége jelentősen függ a szippantás intenzitásától, nem beszélve a cigaretta típusától, nyilvánvaló, hogy gyakorlatilag lehetetlen tökéletes dohányzó gépet létrehozni, mely tökéletesen

modellezi a dohányzást és amely által előállított füst azonos azzal amely a dohányzó egyén légútaiba jut. A fent leírtakban már említésre került, hogy a dohányfüst minőségi összetétele gyakorlatilag azonosnak tekinthető, az említett kb. 4700 vegyület mindig jelen van, viszont az alkotóelemek aránya az, ami jelentős különbségeket mutat. Kísérleti szempontból cél egy olyan dohányzó gép létrehozása, mellyel azonos cigarettából kiindulva megismételhetően stabil összetételű dohányfüst előállítása lehetséges.

2.2 A hősokkfehérjék

A hősokk fehérjék (HSP, stresszfehérjék), fontos szerepet töltenek be a sejtek működésében [7]. A stresszfehérjék különböző stresszhatásokra (hő, nehézfémek, toxinok, oxidánsok, infectio, stb.) indukálódnak, expressziójuk és mennyiségük, fokozódik. Védőfunkciót töltenek be a sejtekben, melynek révén a sérülésnek kitett sejtek túlélésében játszanak vezető szerepet, de részt vesznek a sejtciklus, sejt differenciálódás, embrionális fejlődés, fehérje háztartás, valamint a sejtnövekedés szabályozásában is. Fontos szerepük van a sejtfehérjék szerkezetének megővésében illetve a sérült fehérjék helyreállításában. A stresszfehérjéknek fontos szerepe van a jelentős mértékben sérült sejtek apoptózisában, valamint egyes enzimek illetve receptorok (pl. glukokortikoid receptor) segítői.

A HSP-eket molekulatömegük alapján osztályozzák, legismertebbek a 110, 90, 70 és 60 kDa molekulásúlyú családok. Az egyes HSP családoknak több izoformáját különböztetik meg, subcelluláris lokalizációjuk alapján. Az egyes stresszfehérjéknek indukálható illetve konstitutívan kifejeződő variánsa létezik. A HSP-k szintézisét úgynevezett heat-shock faktorok (HSF) szabályozzák, melyek stressz hatására történő foszforiláció után a sejtmagba vándorolnak és indukálják az adott HSP gén transzkripcióját, ezáltal megindul az adott HSP szintézise. A HSP-k legtöbbször tanulmányozott és legismertebb képviselője a HSP70 melynek indukálható variánsa a HSP72. Ez utóbbi a legfontosabb stresszre termelődő protektív fehérje, intracelluláris és extracelluláris funkciókkal. A HSP-70 ATP kötő doménből, szubsztrátkötő doménből,

valamint C-terminális doménből áll, mely utóbbi a szubsztrátkötő domén „fedőjeként” funkcionál.

A HSP70 családnak számos funkciója ismert [8], biokémiai hatásaikat ATP hasítása révén fejtik ki. Alapvető sejtfolymatokban és azok szabályozásában vesznek részt, megőrzik, vagy ha kell, helyreállítják a sérült fehérjéket, a menthetetlenül károsodott fehérjék lebomlását pedig elősegítik. A programozott sejthalál folyamatát [9, 10], úgy mitokondriális mint pre- és posztmitokondriális szinten gátolják. A HSP70 fehérjék extracelluláris-, illetve sejt felszíni molekulaként, részt vesznek az immunválasz szabályozásában és a különböző jelátviteli folyamatokban. Az indukálható forma (HSP72) intracelluláris szintjének emelkedésekor a molekula megjelenik a sejt felszínen és a keringésben is [11]. A keringésben megjelenő HSP72 antigén prezentáló sejtekhez kötődően stimulálja a proinflammatorikus ciktokin szintézist [12], valamint a kemokin és reaktív oxigén gyök felszabadulást [13,14]. A HSP72 a toll-like receptorok, és más mintázat felismerő receptorok ligandja [15], Az antigénprezentáló sejtek TLR2 és TLR4 receptoraihoz kötődően stimulálja a veleszületett immunválaszt [16, 17, 18]. Kutatási eredmények igazolják, hogy a HSP-k szerepet játszhatnak egyes rosszindulatú daganatok prognózisában [19] és a gyógyszerekre adott terápiás válasz meghatározásában, ezenkívül mint lehetséges terápiás célpontok intenzív kutatások tárgyát képezik [20]. Élettani körülmények között az extracelluláris HSP72 az immunrendszer működését segíti, kóros esetekben viszont hozzájárulhat bizonyos gyulladásos betegségek exacerbációjához (pl. atherosclerosis, gyulladásos bélbetegségek stb.) [21]. Ez utóbbi feltételezés viszont további vizsgálatokat igényel, mivel a körülményektől függően az extracelluláris HSP72 anti-inflammatorikus citokineket is stimulálhat [22, 23]. A HSP72 kulcsszerepet játszik a glucocortikoidok fehérjeexpressziót kiváltó hatásában [24]. A fő szerep a HSP90-é, viszont HSP72 hiányában az interakció nem jöhet létre. A GR működéséhez nélkülözhetetlen a HSP90/HSP70 heterokomplex létrejötte. A glukocortikoid receptor (GR) HSP70-el való kezdeti kapcsolódása elengedhetetlen a HSP90-es heterokomplex későbbi működéséhez, melynek során megnyílik a GR szteroid kötő hasadéka [25]. Egyes HSP-k, elsősorban a HSP70 és a HSP60 jelentős mennyiségben mutathatók ki a keringésben, szabályozott szekréciós utat viszont még egyik sejt esetében sem sikerült egyértelműen igazolni. Kutatások folynak arra vonatkozóan, hogyan kerülnek ezek a HSP-k a

keringésbe, hogyan kötődnek vissza a sejtekhez illetve mi lehet ennek a következménye [26, 27].

2.2.1 A glucocorticoidok hatásmechanizmusa és a HSP72-vel való kapcsolata

A glucocorticoidok egyes tüdőbetegségek (asthma, tüdőfibrosis, krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD)) és más gyulladásos betegségek kezelésében gyakran alkalmazott gyógyszerek. A glucocorticoidoknak a tüdő epitheliumra ható gyulladáscsökkentő mechanizmusa nem teljesen tisztázott. Míg a legtöbb asztmás beteg jó terápiás választ ad a szteroid kezelésre, a dohányzó asztmások és a COPD-s betegek döntő része gyengén reagál szteroidterápiára. A közelmúltban megjelent közlemények szerint COPD-ben alkalmazott inhalációs corticosteroidok protektív hatásúak tüdőrák kialakulásával szemben [28, 29, 30]. A szteroidok pontos, molekuláris szintű hatását illetően jelenleg is intenzív kutatások folynak. A glukokortikoidok a légutakban csökkentik nyákszekréciót, és a gyulladást, mely hatás leginkább a GR által közvetített [31]. A GR egy α és egy β alegységből áll. A GR- α tulajdonképpen egy hormon szenzitív transzkripciós faktor. A GR- α mikor szteroidot köt, bejut a magba és a célgének promoter régiójába kötődik, megindítván ezáltal a transzkripciót. A GR- β a GR- α negatív szabályozójaként működik, döntően gyulladásos sejtekben mutatható ki, de légúti epitelsejtekben is megtalálható. A GR működéséhez nélkülözhetetlen a HSP90/HSP72-heterokomplex, mely megnyitja az inaktivált receptor ligand kötő hasadékát, ezáltal előkészítve azt a szteroid molekula fogadására. Ezt követően történhet meg a dimerizáció, majd a komplexum a DNS molekula megfelelő helyére kötődve, aktiválja a géntranscriptiot [19, Hiba! A könyvjelző nem létezik., Hiba! A könyvjelző nem létezik., 32]. A β 2-agonisták, β 2-adrenoreceptorokon (β 2-AR) keresztül, a GR foszforilációja útján befolyásolják annak a sejtmagba történő transzlokációját, viszont a glukokortikoidok is módosíthatják a β 2-AR-ok működését [33].

2.3. A dohányzás egészségkárosító hatásai

A dohányfüst egészség károsító hatásaiért számos komponens felelős, melyek szerepet játszanak daganatos és nem daganatos betegségek kialakulásában. A legtöbb anyag

magában is carcinogén hatású, de egyes komponensek a szervezetbe jutva, oxidálódva, más, ugyancsak carcinogén vegyületté alakulnak. A dohányfüst kóroki szerepe bizonyított a tüdő-, nyelőcső-, gyomor-, pancreas-, hólyag-, gége- és szájüregi rák pathogenesisében [34].

A dohányzás kóroki szerepe számos nem daganatos betegség kialakulásában is bizonyított, mint például a szisztémás gyulladás syndroma, kardiovaszkuláris betegségek, osteoporosis, diabetes mellitus és COPD.

A gyulladás a szervezeti homeosztázist helyreállító válaszreakció, mely szövetkárosító hatások (pl. káros noxa, szöveti trauma, infekció stb.) idézhetnek elő. A szisztémás gyulladás syndromát COPD-ben szenvedő betegekben is észlelték [35, 36, 37], melyet az egész szervezetet érintő „alacsony intenzitású gyulladás” jellemzi. Következménye általános izompuasztulás, diabetes mellitus, atherosclerosis, osteoporosis és peptikus fekély formájában manifesztálódik. A szisztémás gyulladás szindróma mechanizmusára két elmélet létezik. Az egyik elmélet szerint a COPD fennállásakor a tüdőben fennálló gyulladás következtében folyamatosan felszabaduló gyulladásos mediátoroknak a keringő vérben létrejövő magas koncentrációja indukálja más szervrendszerekben létrejövő gyulladást, következményes szervi manifesztációkkal. A másik elmélet szerint a szervezet egészét érintő gyulladásról van szó, különböző szervi manifesztációkkal, melyek egyike a tüdőt érintő gyulladás. A COPD-s betegek, döntően a súlyos formájban, vagy éppen akut fellángolásban szenvedők véréből kimutatható gyulladásos sejtek és gyulladásos proteinek alapján szisztémás gyulladásra utaló eltérésekre lehet következtetni, mely a „szisztémás gyulladás” szindróma elméletét erősíti. Ezen állapot legfontosabb gyulladásos mediátora az interleukin (IL-6), melynek hatására indukálódik a CRP termelés a májban. A TNF- α szintje emelkedett COPD-ben, különösen a cachexiával és hypoxaemiával járó formában [38]. Az IL-8-nak a neutrofil és makrofág toborzásban tulajdonítanak szerepet. A CRP kórosan magas COPD-ben, különösen akut exacerbatio idején. Klinikai vizsgálatok szerint szérumszintje korrelációt mutat a légzésfunkciós értékekkel, fizikai terhelhetőséggel és a betegség prognózisával [39]. A serum amyloid a gyulladásos szövetekben termelődő akut fázis fehérje és a toll-like receptor aktivátoraként gyulladásgátló hatást fejt ki. A II. típusú pneumocyták által termelt surfactant protein emelkedett szintje arányban van a COPD súlyosságával. A szisztémás gyulladás syndroma része a fokozott csontvelő aktivitás kapcsán kialakuló leukocytosis, mely egyes vizsgálatok szerint a halálozás egyik prediktora a

dohányzástól függetlenül. A COPD-ben tapasztalt vázizomzat gyengeség és izomrost pusztulás mechanizmusa jelenleg is bizonytalan, létrejöttében az inaktivitás tűnik fontos tényezőnek [37].

A kardiovaszkuláris betegségek és COPD közös kockázati tényezői a dohányzás [37, 40], idős kor és inaktivitás, a légúti obstrukció viszont minden egyéb kockázati tényezőtől függetlenül növeli a szívinfarktus okozta halálozás kockázatát. Legelterjedtebb hipotézis az, hogy a COPD és az atherosclerosis talaján kialakult cardiovascularis betegségek közötti kapcsolat a szisztémás gyulladásos szindróma, mely elméletet erősíteni látszik az a tény, hogy az atherosclerotikus plakkok gyulladásos képe hasonló a perifériás tudóterületek szövettani képéhez COPD-ben. Ezekben a betegekben a kisvérköri erekben hasonló szöveti átépülés zajlik, mint a hörgőrendszerben. COPD talaján kialakult pulmonalis hypertonia megjelenésében első lépésként a dohányfüst okozta endotheliális dysfunkciót feltételezik, melyet később fokoz a betegség súlyosbodásával kialakuló hypoxaemia okozta ér remodelling.

Nagyszámú COPD-s betegen végzett klinikai vizsgálat során azt találták, hogy a betegek kb. fele valamilyen fokú osteoporosisban szenved, más források ennél még nagyobb mértékű előfordulásról tesznek említést. Az osteoporosira hajlamosító tényezők ebben a betegcsoportban az idős kor, az inaktivitás, nem megfelelő táplálkozás, corticosteroid hatás és a dohányzás [37].

Klinikai adatok szerint krónikus obstruktív tüdőbetegségben szenvedő betegekben a nem inzulin dependens diabetes mellitus előfordulása 1,5-1,8-szor magasabb, mint a kontroll csoportban, melyet a betegekben a gyakori szteroidkezelés mellett a magas IL-6 és TNF- α inzulinrezisztenciát fokozó hatásával magyaráznak [37].

2.3.1. A COPD

A dohányzás, tünetmentes dohányosokban is funkcionális, immunológiai és szövettani elváltozásokat okoz, melyek mértéke rendkívül széles tartományban változik [41]. Krónikus dohányzás következtében a megnő az abnormális szerkezetű csillószőrök száma, ezen túlmenően a dohányfüst a légúti csillószőrök mozgását bénítja, koordinált mozgásuk inkoordinálttá válik. A sérült a mucociliaris clearance miatt romlik a légutak egyik legfontosabb tisztító mechanizmusa. Azokban a betegekben, akikben későbbiekben COPD alakul ki, az alveoláris fal és a légutak limfocita infiltrációja

dominál. A dohányfüstnek kitett légutakban kóros immunológiai reakció indul meg. Nem tisztázott, hogy ezen kóros reakcióban az antigén szerepét a dohányfüst valamely alkotóeleme, vagy pedig a dohányfüst hatására a légutakban valamely módosult alkotórész tölti be. Ezen kóros immunológiai reakció egyik fontos mozzanata a légutak falának hízósejtes infiltrációja. Egyes kutatások szerint a hízósejtek száma összefüggést mutat az egyén tüdőkapacitásával és funkcionális reziduális kapacitásával (FRC). A dohányzás oxidatív stresszt okoz a légutakban ennek következtében változások lépnek fel számos antioxidáns enzimrendszer működésében is. A dohányfüst oxidatív stresszt okozó hatása egyrészt a dohányfüst bizonyos alkotó elemeinek direkt oxigén szabadgyök képzése, másrészt az aktiválódott gyulladásosejtek termelte szabadgyökök útján jön létre. A dohányfüst expozíció megváltoztatja a légúti nitrogén-monoxid koncentrációját is. A képződött oxigén szabadgyökök kettős hatást gyakorolnak az antioxidáns rendszerre, egyrészt az antioxidáns anyagokat felhasználva csökkentik azok koncentrációját, másrészt fokozzák az indukálható antioxidáns enzimrendszerek expresszióját. Részben az oxidatív stressz részjelenségeként, dohányosok kilégzett levegő mintáiban megváltozik az VOC (volatile organic compound) összetétele. Dohányosok tüdejében számos más elváltozás is jelentkezik, mint például a légutak falának fokozott permeabilitása, illetve a szenzoros idegvégződések működésének megváltozása. A tartós dohányzás nem tisztázott mechanizmussal lokális immunszuppressziót okoz a légutakban, melynek szerepe lehet a bakteriális kolonizációban. Több munkacsoport is különbséget írt le a nem, rasz és bőrszín szerint a dohányfüst légző rendszerre gyakorolt hatásainak tekintetében [42].

COPD-ben egyidőben három fő patológiai elváltozás van jelen, az obstruktív bronchitis, az emphysema, illetve az obstruktív bronchiolitis, melyek változó arányban vesznek részt a pathofiziológiai folyamatokban.

COPD kialakulásában kulcsfontosságú faktor a gyulladás. Egészséges dohányosokban is kimutathatók neutrophil- és makrophag-mediálta gyulladásosejtes reakciók, de ezek közül a későbbiekben nem mindegyikben alakult ki a betegség. COPD-s dohányosokban a gyulladásosejtes válasz viszont fokozottabb a nem beteg dohányosokhoz képest, mely alapján felmerül virális infekciók, genetikai faktorok, és egyéb még ismeretlen okok lehetséges szerepe a betegség kialakulásában.

Egyre több bizonyíték szól amellett, hogy a programozott sejthalálnak, fontos szerepe lehet a COPD patogenezisében [43]. Az egészséges dohányzó személyek

tüdőszövetében, illetve légutaiban nagyobb számú apoptotikus sejt található, mint az egészséges nem dohányosokban. Felmerül, hogy COPD-s betegekben az alveolaris fal roncsolódás és az emphysema kialakulása összefügghet a megnövekedett apoptózissal. A dohányfüst által indukált apoptózis részletesebb tanulmányozásával vélhetően közelebb kerülhetünk a COPD patogenezisének jobb megértéséhez.

Nem tisztázott, hogy a dohányfüst, illetve más inhalált részecskék pontosan milyen közvetlen folyamatok útján károsítják a tüdőt. A jelenleg ismert főbb mechanizmusok a következők:

- a dohányfüstben levő szabadgyökök által indukált oxidatív folyamatok károsítják a tüdőszövetet.
- a dohányfüst, valamint az oxigén szabadgyökök a proteáz-antiproteáz egyensúlyt a proteáz irányába tolják el és az így kialakult fokozott proteolitikus aktivitás pedig a tüdőszövet károsodását okozza.
- dohányfüst expozíció növeli a mucosalis permeabilitást és krónikus mucus-hiperszekréciót okoz.
- a dohányfüstben levő, antigén természetű részecskék fokozott citokin termelést indukálnak, miáltal krónikus gyulladást tartanak fenn a légútakban [44].

COPD-ben a légúti gyulladás legfontosabb effektorai a neutrophil granulocyták és a makrofágok. Egyre több adat szól amellett, hogy inkább a citotoxikus (CD8+), és kisebb mértékben a helper (CD4+) T-sejtek aktiválódnak dohányfüst hatására. A T-sejtek citokin szintézisben megnyilvánuló irányultsága (Tc1/Tc2 és Th1/Th2) döntő jelentőségű lehet abban, hogy krónikus dohányfüst expozíció hatására a dohányosok közül kiben alakul ki a betegség.

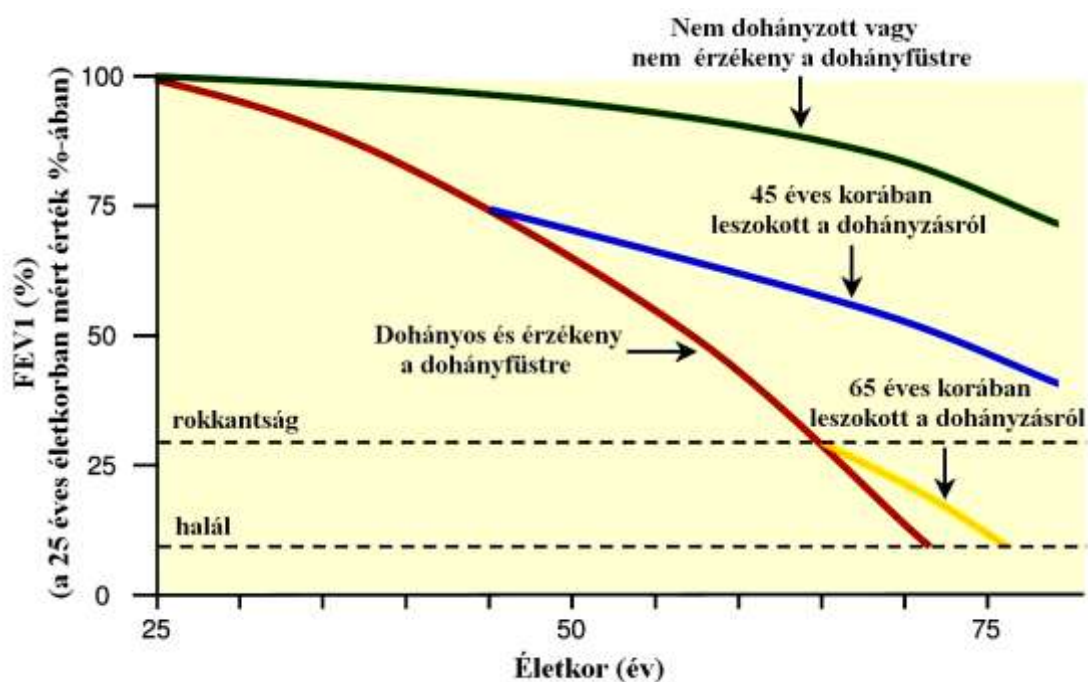
2.3.2. A glükocorticoidok és dohányfüst kapcsolata

A klinikumban gyakran találkozunk glucocorticoid kezelésre nem reagáló COPD-s illetve asthmás betegekkel. Több vizsgálat is azt mutatta ki, hogy ennek hátterében a dohányzás állhat [45, 46]. Dohányfüst hatására fokozódó mucus szekréció miatt csökken a terápiásan alkalmazott szteroid légúti penetrációja. Tüdő epitelsejteken (A549) és bronchiális sejteken (BEAS-2B) végzett vizsgálat kimutatta, hogy glucocorticoid és hosszú hatású β -2 adrenoreceptor agonista kezelés együttes alkalmazása hatásos lehet a COPD-ben ismert szteroid-rezisztencia mérséklésében [47].

Ennek magyarázata az lehet, hogy a béta-2 agonista kezelés mellett nő a GR nukleáris transzlokációja, ezáltal a gyulladásos citokinek transzkripciójának gátlása fokozódik. A dohányzás hatására aktiválódott citotoxikus CD8+ T-sejtek TGF- β termelődése fokozódik, ezáltal csökken a β -2 adrenoreceptorok denzitása a lymphocytákon. A felsorolt folyamatok, valamint a dohányfüstben jelen levő citotoxikus reaktív oxigéngyökök hatására a GR ligandkötő képessége csökken. A dohányfüst a hiszton-deacetiláz (HDAC) aktivitásának csökkentése révén fokozza a hiszton acetilációt, ezáltal akadályozza a GR kötődését a DNS-hez [46]. Összességében, dohányzás hatására nő a gyulladásos gének aktivációja és a gyulladásos válasz, emellett csökken a glucocorticoidok antiinflammatorikus hatása.

2.3.3. COPD és a globális légzési elégtelenség

A krónikus obstruktív tüdőbetegségnek több definíciója is létezik. A Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease (GOLD) szerint a COPD olyan kórállapot melyet nem teljesen reverzibilis áramlás korlátozottság jellemez, mely általában progresszív és a tüdő kóros gyulladásos reakciójával kapcsolatos, melyet toxikus részecskék vagy gázok krónikus inhalációja vált ki [48]. A WHO meghatározás szerint a COPD olyan kórállapot melyet köhögés és köpetürítés jellemez, ami legalább 2 egymást követő évben, évente legalább három hónapon át folyamatosan fennáll, vagy kisebb megszakításokkal áll fenn és nem szív eredetű vagy nem más tüdőbetegség következménye [49]. A COPD egzakt definiálása nehéz, mert nem egységes betegség entitást takar. Az alsó légutakat, tüdő parenchymát és a pulmonalis vasculaturát érintő gyulladásos és degeneratív elváltozásokat foglalja magába, mely a progresszív légúti funkciózavar fő okát képezi. Egészséges nem dohányzóknál a kilégzési másodperc térfogat (FEV1) az életkorral a 3-ik évtizedtől kezdve átlagban 30 ml-el csökken, míg a dohányfüsttel szemben fokozott érzékenységet mutató populációban ez a változás évi 60-150 ml-re tehető. Dohányosok mindössze 10-20 %-ában alakul ki COPD, míg a COPD-s betegek kb. 80%-a dohányos vagy volt dohányos, ami a dohányfüst kóroktani szerepét bizonyítja. A FEV1 és dohányzás közötti összefüggés vizsgálatban nagy jelentősége van Fletcher és Peto munkájának, akik kimutatták, hogy a légzésfunkcióvesztés jelentősen lelassul a dohányzás abbahagyását követően és az egészséges tüdő öregedésével hasonló tempóban zajlik tovább (1. ábra).



1. ábra. Légzésfunkció vesztes a dohányzás hatására (Flecher és Peto nyomán). A légzésfunkció-vesztés jelentősen lelassul a dohányzás abbahagyását követően és az egészséges tüdő öregedésével hasonló tempóban zajlik tovább

Mivel a dohányosok csak kisebb részében alakul ki COPD, egyes kutatók felvetették a környezet-genetikai interakciók szerepét is a betegség pathogenezisében. Régóta ismert az α 1-antitripszin hiány szerepe a COPD-re való hajlam fennállásában. A glutation-S-transzferáz (GST) enzimsalád a dohányfüst számos komponensének lebontásában játszik szerepet, így közvetett módon védelmet nyújt az oxidatív stresszel szemben is. Bizonyítást nyert, hogy a GST egyes genotípusai változó mértékű védelmet nyújtanak a dohányzás okozta oxidatív stresszel szemben [50]. A kevésbé effektív genotípusokban a FEV1 éves romlásának értékét magasabbnak találták a hatékonyabb genotípusokkal szemben. A COPD pathogeneziséből kialakult az úgynevezett „veszély hipotézis” mely szerint ez a betegség az autoimmun betegségek közé sorolható. Ezen hipotézis szerint a patogének felismerésére szolgáló Toll-like receptorok a szöveti stressz során keletkező úgynevezett „veszélyjeleket” is felismerik, ezen szignálok közé a dohányfüst egyes alkotóelemei, valamint hatásukra kialakuló szöveti elváltozások során felszabaduló

anyagok is beletartoznak. Dohányosokban a légúti epithelsejtek felelősek ezen vészjelek leadásáért és folyamatos fenntartásáért [51, 52].

A COPD egyik fő jellemzője a nyákképződés megváltozása, a nyák összetételének módosulása és mennyiségének fokozódása. Ennek háttérében álló krónikus dohányfüst okozta mirigyhám metaplázia pontos pathomechanizmusa máig sem tisztázott. Kimutatták, hogy COPD-s dohányosokban a nikotin függőség mértéke, ezáltal a naponta elszívott cigaretták száma nagyobb, mint a nem COPD-s dohányosokban, melyre magyarázatként a nikotin receptor polimorfizmus szerepét említik.

Továbbra sem tisztázott melyek azok a mechanizmusok melyek fenntartják a COPD progresszióját azokban a betegekben is akik abbahagyják a dohányzást. A legutóbbi longitudinális vizsgálatok szerint a dohányosok egy részénél korán jelentkező, meredek légzésfunkció vesztéssel kell számolni, ami később lelassul, de ezen szakasz után a funkcióromlás mértéke a dohányzás abbahagyása után sem módosul számottevő mértékben [51].

A COPD, GOLD szerinti súlyossági besorolása a beteg légzésfunkciós értékein és a beteg klinikai tüneteinek alapul. A GOLD 2011-ig alkalmazott klasszifikációja 4 súlyossági fokozatot határozott meg (I-IV) a FEV1 érték alapján. A nagyon súlyos (GOLD IV) stádiumban a betegek jelentős részénél előfordul a parciális vagy globális légzési elégtelenség. [53] A légzési elégtelen betegcsoport nagy része otthoni oxigénterápiára szorul, melynek az életkilátásokra gyakorolt pozitív hatását számos, nagy számú betegen végzett tanulmány egyértelműen bizonyította [54]. COPD-s betegek ezen csoportjánál a tüdőállomány jelentős hányadának pusztulása következtében a csökkent gázcsere mellett a tüdő mechanikai tulajdonságai is jelentős mértékben megváltoznak. Dinamikus hyperinfláció és intrinsic pozitív kilégzési végnomás (PEEP) alakul ki, rosszul ventillált területekkel, melyek ventilláció perfúzió aránytalanságot okoznak. A tágult tüdő miatt a betegek rekeszizma előnytelen pozícióba kerül, ezáltal működése inaktívvá válik, a beteg a ventilláció fenntartásához a légzési segédizmait is kénytelen használni. Ebben a klinikai állapotban levő betegek a normálhoz képest gyakran, két- háromszoros légzőizom munkával, gyakorlatilag teljesítményük közel maximumával képesek biztosítani a minimálisan szükséges alveoláris ventillációt [55].

A betegek egy részénél, az elégtelen alveoláris ventilláció miatt a légzőrendszer gyakorlatilag képtelen a fiziológiás PaCO₂ fenntartására, és egy új egyensúlyi állapot

alakul ki egy magasabb PaCO₂ értéken. Ez az állapot általában lassan, hónapok vagy akár évek alatt jön létre, így van idő arra, hogy a szervezetben beinduljon a metabolikus kompenzáció, megakadályozván a pH elcsúszását acidózis irányába. Nyilvánvaló, hogy ez egy rendkívül instabil állapotot, melyet a beteg homeostasisában bekövetkező kisebb változás is könnyen kibillenthet. Ilyen például a hosszabb-rövid ideig tartó izommunka kapcsán felszabaduló széndioxid és tejsav, mely olyan mértékben megemelheti a beteg artériás és vénás parciális széndioxid tenzióját és lecsökkentheti pH-ját. A megnövekedett PaCO₂-t a beteg a ventiláció fokozásával nem képes már kompenzálni, mivel az már a maximumon, vagy ahhoz közeli szinten van. Ez az állapot az esetek többségében a felmerülő „extra” izommunka befejezéséig tart, melyet követően a beteg vérgáz paraméterei bizonyos idő elteltével rendeződhetnek. Más a helyzet viszont, olyan heveny kórállapotokban mikor, viszonylag gyorsan csökken a légzőfelület (pl. pneumoniában), nő a szervezet oxigén felhasználása ill. széndioxid kibocsátása, melyet esetenként még tovább ronthat egy metabolikus acidózis. Ilyen állapot állhat elő például pneumonia talaján kialakult szepszis során. Ebben a helyzetben a beteg a megnövekedett ventilációs igényt nem tudja teljesíteni. A beteg acidózisa tovább súlyosbodik, emiatt tovább romlik az amúgy is elégtelen légzőizom erő, ezáltal egy önrontó kör alakul ki, melynek végeredménye a hypercapniás encephalopathia és súlyos respiratorikus- vagy kevert acidózis. Ilyen esetben a betegen már csak a gépi lélegeztetés segíthet.

2.4. Neminvazív gépi lélegeztetés globális légzési elégtelen COPD-s betegekben

A gépi lélegeztetés korábban endotrachealis intubáció útján, tehát invazív úton történt. Az elmúlt 2 évtizedben, köszönhetően a nem-invazív lélegeztetőgépek jelenetős technikai fejlődésének, egyre inkább elterjedté vált ez az eljárás akut globális légzési elégtelen COPD-s betegek kezelésében is. A nem-invazív pozitív nyomású gépi lélegeztetés (NPPV) alkalmazásával a betegek jelentős hányadában megelőzhető az endotrachealis intubáció, így elkerülhetők az ezzel járó komplikációk és szövődmények, mint a nosokomiális infekciók és a ventilátor asszociált pneumonia, mely az esetek többségében egy nehezen uralható és magas mortalitású betegség [56]. Az elmúlt évtizedben a NPPV akut kórházi betegellátásban betöltött szerepe mellett, egyre szélesebb körben az otthoni betegellátásban is teret nyert. Az obsztuktív alvási apnoe és

a neuromuszkuláris betegekben vitathatatlan jótékony hatása van az életkilátásokra. Az utóbbi időben egyre szélesebb körben került alkalmazásra krónikus globális légzési elégtelenségben szenvedő COPD-s betegekben is [57, 58]. Az NPPV-t ebben a betegcsoportban általában éjjel használják, illetve nappal is ha a beteg állapota igényli. Alkalmazása következtében javulnak a beteg vérgáz paraméterei, túlterhelt izomzata megpihen, így a gépi lélegeztetés leállítása után is még bizonyos ideig saját légző munkával a korábbihoz képest jobb artériás vérgáz értékeket tud biztosítani. NPPV otthoni alkalmazása összességében javítja a beteg komfortérzetét, életminőségét és csökkenti a hospitalizációk gyakoriságát. COPD-ben a NPPV mortalitásra gyakorolt hatása még vitatott, egyelőre nem létezik olyan nagy betegcsoportot felölelő klinikai vizsgálat mely szerint alkalmazása pozitívan befolyásolná ezen betegek életkilátásait. Szerteágazó klinikai kutatások folynak arra vonatkozóan, hogy melyek azon a lélegeztetési módok, amelyek pozitívan befolyásolják a krónikus globális légzési elégtelen COPD-s betegek hosszú távú túlélését [59].

Az eddigi átfogó eredmények szerint a NPPV hypercapniás COPD-s betegekben javította a dinamikus hyperinflációt, a gázcserét és a légzési munkát, viszont a hosszú távú túlélésre gyakorolt pozitív hatás nem volt kimutatható randomizált, kontrollált klinikai vizsgálatok során [57, 58]. Korábbi vizsgálatokban nem találtak egyértelmű összefüggést az alkalmazott lélegeztetési paraméterek (pl. belégzési és kilégzési nyomások), valamint a NPPV hatékonysága között [59]. A megfelelő gépi beállítást úgy próbálták elérni, hogy a beteg toleranciáját és a vérgáz paramétereiben való változást vették figyelembe [60]. Az említett klinikai vizsgálatokban átlagosan 15 H₂Ocm körüli inspiratorikus nyomást alkalmaztak.

Az utóbbi időben magasabb inspiratorikus nyomásértékek (28 H₂Ocm) kerültek kipróbálásra hyperkapniás COPD-s betegek lélegeztetésében, a maximális artériás pCO₂ csökkenés elérése érdekében, a beteg által még tolerálható légúti nyomások alkalmazása mellett [61, 62, 63]. Ezen lélegeztetési módot feltaláló német kutatók magas intenzitású (Hi)-NPPV-nek („high-intensity noninvasive ventilation”, a továbbiakban Hi-NPPV) nevezték el. Azt tapasztalták, hogy éjszakai alkalmazást követően, napközben, a spontán légzés alatti (3 órával a NPPV leállítása után) vérgáz paraméterek szignifikánsan jobbak voltak, mint hagyományos alacsony intenzitású (Li-NPPV) éjszakai gépi beállítások alkalmazása esetén [64]. A Hi-NPPV elsődleges céljaként

meghatározott hypercapnia csökkentés, életkikátásokra gyakorolt hatása bizonytalan, mivel a hypercapniának életkilátásokat befolyásoló hatása még ma is vitatott [65].

A Hi-NPPV-vel hosszú távú, randomizált klinikai vizsgálat eddig nem történt. Nincs elérhető adat arra vonatkozóan sem, hogy ez a rendhagyó gépi beállítás hogyan befolyásolja a rekeszizom aktivitást, a dinamikus hyperinflációt, illetve annak számszerű mutatóját az intrinsic PEEP-et (PEEPi). Feltevődik a kérdés továbbá, hogy az intrathoracalis nyomás fokozása következtében a Hi-NPPV milyen mértékben befolyásolja a keringési perctérfogatot [66, 67]. A későbbiekben részletezett randomizált cross-over vizsgálatunkban tanulmányoztuk a Hi-NPPV során fellépő rövid távú fiziológiai változásokat, összehasonlításban spontán légzés és Li-NPPV alatt mért értékekkel [68]. A Hi-NPPV hosszú távú túlélésre gyakorolt hatásának bizonyítására viszont további, hosszú távú, randomizált klinikai vizsgálatok elvégzése van szükség.

2.5. Szív-tüdő interakciók spontán légzés és pozitív nyomású gépi lélegeztetés alatt

A szív működésben és a keringésben a légzési fázisokhoz kapcsolódó periodikus változások jönnek létre egészségesekben és betegekben egyaránt.

A kardiopulmonáris interakciók első észlelése Stephen Hales nevéhez fűződik, aki 1733-ban, egészséges emberek belégzés alatti vérnyomás csökkenését írta le [69]. Kussmaul írta le a klinikai gyakorlatban ma is használt pulsus paradoxust, mely a belégzés alatti szisztolés vérnyomás 10 Hgmm-nél nagyobb esését és ezzel párhuzamosan a radiális pulzus tapinthatatlanságát jelenti [66]. A légzés főként a tüdőtérfogat és az intrathoracalis nyomás változtatásán keresztül befolyásolja a szív teljesítményét meghatározó tényezőket: a szívfrekvenciát, a preloadot, az afterloadot és kontraktilitást. Ezen túlmenően a két kamra szintén hatással van egymás működésére [67].

A légzés a következő mechanizmusok útján van hatással a keringésre:

-Az intrathorakális nyomás változása útján.

-hatások a vénás visszaáramlásra és a jobb kamrára

-hatások a bal kamrára

-Tüdőtérfogat változása útján:

- autonóm tónus [70, 71]

- pulmonális vaszkuláris rezisztenciára (PVR) [72] és a jobb kamrai afterloadra való hatás
- a mediastinum pericardiumra kifejtett közvetlen nyomás [73, 74]
- kamrák egymásra hatásának befolyásolása [75, 76]
- hasúri nyomás növelése [77, 78]

A légzés alatti intrathoracalis nyomásváltozások hatással vannak a jobb szívfél teljesítményére. A légzés a bal szívfél teljesítményére is hatással van, a bal pitvarba való vénás visszaáramlás befolyásolásával, valamint a kamrák egymásrautaltságán keresztül.

Pozitív nyomású gépi lélegeztetés során jelentősen nő az intrathoracalis nyomás, mely hatással van a keringési paraméterekre.

2.5.1. Szív-tüdő kölcsönhatások spontán légzés alatt

2.5.1.1. Az intratorakális nyomás változásából adódó hatások

Spontán belégzés alatt negatív intrathoracalis nyomás jön létre, mely áttevődik a jobb szívfélre, ezáltal a jobb pitvarba való vénás visszaáramlás és a jobb kamrai végdiasztolés térfogat (RVEDV) megnő. A jobb pitvar és az intrathoracalis vénák az intrathoracalis nyomás hatásainak vannak kitéve. Az abdominális nyomást a rekesz mozgása befolyásolja, így belégzéskor a rekesz lefelé mozdulása miatt az abdominális nyomás nő. A nagyvérköri vénás nyomás a légköri nyomással van kapcsolatban, így ez a légzés során állandó. A szisztémás vénás visszaáramlás mértéke attól függ, mekkora a nyomásgrádiens az extrathoracalis vénák és a jobb pitvar között. Mivel spontán belégzés során az intrathoracalis nyomás (ITP) csökkenti a jobb pitvari nyomást, a vénás visszaáramlás és a pulzustérfogat (SV) nőni fog [79, 80, 81].

A mellkasi aorta elhelyezkedéséből adódóan ki van téve a pleurális nyomás ingadozásainak. Az aorta thoracica transmuralis nyomása (P_{tm}) a szisztémás vérnyomás és a pleurális nyomás (P_{pl}) különbségével egyenlő. ($P_{tm} = \text{szisztolés nyomás} - P_{pl}$) Spontán belégzés alatt mind a P_{pl} , mind az aortán belüli nyomás csökken, de a P_{pl} csökkenése meghaladja az aortanyomás csökkenését. A bal kamra szisztolés alatti kontrakcióját megnehezíti a belégzés közben csökkenő, ellentétes irányban ható ITP [82]. A negatív intrathoracalis nyomás a bal kamra afterloadjának növekedését és a

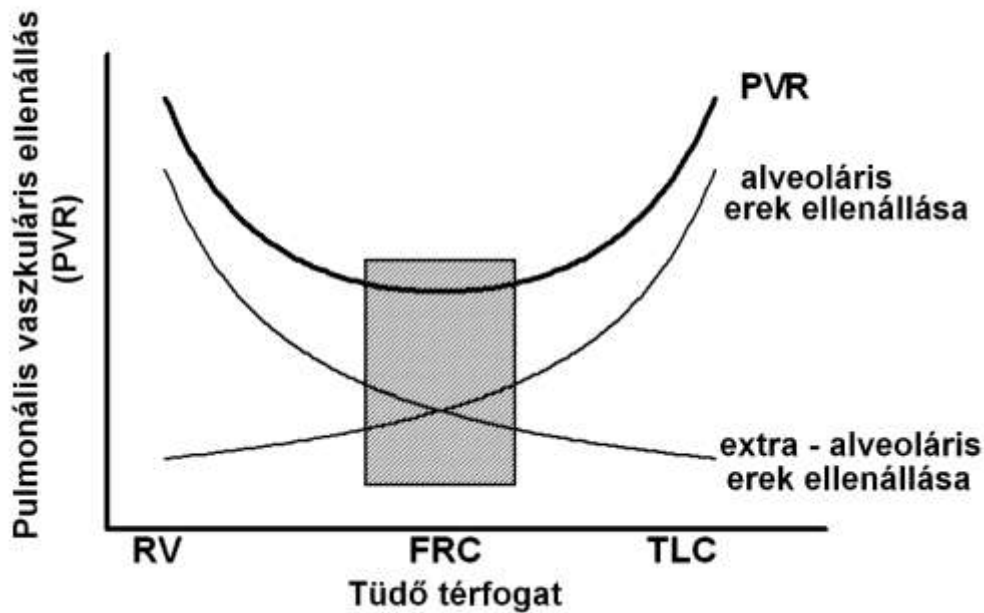
pulzustérfogat csökkenését eredményezi. A spontán légzés a bal kamra afterloadjára elenyésző hatású egészséges, normál myocardialis funkcióval rendelkező emberekben, itt elsősorban a jobbszívfél-hatások dominálnak. Nagyon alacsony ITP a preload és az afterload egyidejű növekedése által akut pulmonális ödémát okozhat [83]. Jelentős ITP csökkenéshez vezető kórfolyamatok például a restriktív tüdőbetegség, az akut asztma bronchiale, COPD exacerbatio, illetve az obstruktív alvási apnoe. Ezekben az esetekben a pulsus paradoxus jelenségével is találkozhatunk [84].

A megnövekedett jobb kamrai telődés az interventricularis septum bal kamra irányába való elmozdulását okozhatja, különösen, ha a PVR szokatlanul magas. A jobb kamra tágulása, a bal kamra diasztolés compliance csökkenését okozza, ezáltal csökkentve a bal kamrai végdiasztolés térfogatot (LVEDV) viszont a bal kamrai végdiasztolés nyomás (LVEDP) változatlan marad [85]. Spontán légzés alatt a kamrai septum eltolódása csak átmeneti, hacsak nem emelkedett a PVR.

2.5.1.2. Tüdőtérfogat változásából származó hatások

Normál belégzés alatti vagus tónus csökkenés miatt a szívritmus (HR) növekszik, ennek tulajdonítható a légzési-arrhythmia jelensége. A 15 ml/ttkg-nál nagyobb légzési térfogatok, illetve a hiperinfláció a vagus tónus növekedését, ezáltal szívfrekvencia csökkenését és reflexes arteriola tágulatot okoznak [86].

A PVR az alveoláris kapillárisok és az extraalveoláris nagyobb erek ellenállásának az összegéből adódik. Mindkét típusú ér ellenállása jelentős mértékben függ a tüdővolumentól. Nagy tüdőtérfogatok esetén a kapilláris hálózat megnyúlik, ezáltal össz átmérője csökken, ami nagyobb érellenállást eredményez. Az extraalveoláris erek normál tüdővolumenek esetén kacsringós lefutásúak, nagyobb tüdővolumenek mellett pedig kiegyenesednek, így csökken az ellenállásuk. Kisebb tüdővolumenek felé haladva az alveoláris kapilláris hálózat ellenállása csökken, az extraalveoláris erek, pedig összeesnek és még kacsringósabbá válnak, ezáltal ellenállásuk nő. Mivel sorba kapcsolt rendszerről van szó, az össz ellenállás az alveoláris és extraalveoláris érellenállások összegéből adódik (2. ábra). Végeredményként az össz érellenállás úgy a magas, mint az alacsony tüdővolumenek felé haladva nő. A PVR görbe minimum értéke az FRC körüli tartományában található [66, 67].



2. ábra: A pulmonális vaszkuláris rezisztencia változása a tüdőtérfogat függvényében (vázlatos ábrázolás).

A jobb kamrai afterloadot legnagyobb mértékben a PVR határozza meg, a PVR-t pedig a tüdő térfogata befolyásolja. A jobb kamrai afterload az RVEDV és a szisztolés jobb kamrai nyomás eredménye. A PVR növekedése a transmuralis nyomás emelésével növeli az afterloadot [67]. A transmuralis nyomás emelkedése a jobb kamrai ejekció csökkenését eredményezi [87]. Inkomplett jobb kamrai ejekció a RVEDV növekedését okozza, emiatt jobb pitvari nyomásemelkedés jön létre, ami a vénás visszaáramlás csökkenését eredményezi.

A tüdőtérfogat növekedésekor a mellkasfal és a rekesz elmozdulnak, de a szív helyzete rögzített, így a tüdők nyomhatják azt. Spontán légzés során, normál légzési térfogatok mellett ez a hatás csak átmeneti, jelentős következménye nincs [66, 88].

A szív működés során az egyik kamra kontrakciós és térfogat paraméterei hatással vannak a másik kamra működésére. A két szívfél sorba kapcsolt működése miatt csak a jobb kamra által továbbított vérmennyiség juthat el a bal kamráig, viszont fordítva ez nem teljesen egyértelmű a nagyvérkör jelentős rezervoár kapacitása miatt. Az intrathoracalis nyomás és a tüdő térfogatváltozásai a bal pitvarba jutó vérmennyiség

befolyásolásán túlmenően, a jobb kamrában indukált folyamatokon keresztül is módosíthatják a bal kamra működését, mely annak tulajdonítható, hogy mindkét kamra a pericardiumban helyezkedik el és közös izomrostok építik fel őket. A szív teljesítményét jelentős mértékben a diasztolés kamrai térfogatok határozzák meg, ezért a kamrai kölcsönhatásoknak diasztole alatt legnagyobb a jelentősége. A jobb kamrai töltőtérfogatban bekövetkező jelentősebb növekedés, megváltoztatja a bal kamrai nyomás-térfogat közti kapcsolatot, miáltal a bal kamrai compliance csökkenése fog bekövetkezni (merevebbé válik). A pericardium kóros állapotaiban (tamponád, konstrikatív pericarditis) kihangsúlyozottabbá válnak a kamrák egymásra való hatásai. A kamrák közti interakciókkal lehet részben magyarázni a jobb kamrai infarktusz, mitralis stenosis vagy tüdőembólia során fellépő hemodinamikai változásokat, valamint pericardialis tamponád idején tapasztalható pulsus paradoxus jelenségét [89, 90].

A belégzés során a hasüreg felé mozuló rekesz megnöveli a hasúri nyomást és az intrahepatikus vaszkuláris rezisztenciát [91].

2.5.2. Szív-tüdő kölcsönhatások pozitív nyomású gépi lélegeztetés mellett

Pozitív nyomású belégzés során csökken a szisztolés nyomás és a keringési perctérfogat. Ez a folyamat a jobb és bal kamrai preload csökkenés az emelkedett pulmonalis vaszkuláris rezisztencia és jobb kamra impedancia valamint a kamrai kölcsönhatások útján jön létre [92].

2.5.2.1. Az intrathorakális nyomás változásából adódó hatások

A pozitív nyomású lélegeztetés során az intrathoracalis nyomás, ezáltal a jobb pitvari nyomás nő, ami a vénás visszaáramlás csökkenését eredményezi [92].

Cournand és munkatársai kimutatták, hogy a jobb kamrai telődés fordított kapcsolatban van az intrathoracalis nyomással, ezáltal az ITP emelkedése csökkenést okoz a keringési perctérfogatban [93]. Egészséges egyéneknél a szívteljesítmény elsősorban a preloadtól függ, szívelégtelenségben viszont az afterload a döntő. Ebben a betegcsoportban a pozitív nyomású gépi lélegeztetés mellett a bal kamrai preload csökkentése által javul a myocardialis kontraktilitás, mely a szívteljesítmény és perctérfogat javulásához vezet [82]. A pozitív nyomású gépi lélegeztetés (PPV) során létrejövő vénás visszaáramlás

csökkenés fokozottabbá válik hypovolémiás és systemás vazodilatációval járó állapotokban (sokk, szepszis stb.) PPV során a vénás visszaáramlást volumenpótlással, vasoaktív gyógyszerek adásával, illetve alacsonyabb nyomásokkal történő lélegeztetéssel javíthatjuk.

PPV során fellépő tüdőterefogat változások és intrathoracalis nyomásváltozások a bal kamrai praeloadot, a bal szívfélbe áramló vérmennyiség és a bal kamrai compliance módosítása útján változtatják. A bal szívfélbe történő pulmonalis vénás visszaáramlás csökkenésének leggyakoribb oka a jobb kamrai teljesítmény csökkenése. Olyan kórállapotokban mikor a jobb kamrai afterload eleve emelkedett (pl. ARDS-ben), PPV alkalmazásakor a kamrai a septum eltolódik, ezáltal romlik a bal kamrai compliance, mely tovább csökkenti a bal szívfélbe történő vénás visszaáramlást, ami alacsonyabb perctérfogatot eredményez és szisztémás hipotenzióhoz vezet. A pozitív intrathoracalis nyomás a pericardiumra terjedve ugyancsak csökkenti a bal kamrai compliancet, mely szintén hozzájárul a bal kamrai preload csökkenéséhez [67]. A légúti nyomás pleurális térbe való transzmissziójának mértéke a tüdő és a mellkasfal compliance-től függ ($dP_{pl}/dP_{aw} = CL/(CL + C_t)$, Ppl: pleurális nyomás, Paw: légúti nyomás, CL: tüdő compliance, C_t mellkasfal compliance). Könnyű belátni, hogy különböző arányú tüdő és mellkasfali compliance-k esetén különböző mértékű lesz a légúti nyomás pleurális térbe való terjedése [67]. Például egy emphysemás betegnél a nagy compliance-ű tüdő és rigid mellkasfal miatt a légúti nyomás sokkal nagyobb mértékben tevődik át a pleurális térbe, mint egy interstitialis tüdőfolyamatban szenvedő, jó mellkasi compliance-ű beteg esetében, ennél fogva a pozitív nyomású gépi lélegeztetés más-más mértékben fogja befolyásolni ezen betegek cardiovascularis paramétereit.

2.5.2.2. Tüdőterefogat változásából származó hatások

PPV során az autonóm tónus változásának hemodinamikai hatásai klinikailag nem jelentősek. A gépi lélegeztetés döntően a tüdőterefogat és az alveolaris oxigéntenzió változtatásával módosítja a PVR-t, kisebb részben pedig a pH és $PaCO_2$ változásain keresztül [94]. Akut hipoxémiás légzési elégtelenségben az alveoláris hipoxia eredményeként pulmonalis vasoconstrictio és PVR emelkedés jön létre, emiatt csökken a jobb kamrai ejektio [94]. Az alveoláris hipoxia lokalizált területein infiltrátum, ödéma, bronchoconstrictio és alveolaris collapsus jöhet létre. Ha pozitív légúti nyomás kinyitja

az összesett alveolusokat, csökkenti ezáltal a hypoxia okozta pulmonaris vasokonstriktiót és a PVR-t, ami a jobb kamrai ejektio javulásához vezet. Másrésről a pozitív légúti nyomás miatt tágul a tüdő, ami emeli a PVR-t, a pulmonaris kapillárisok átmérőjének csökkentése által. Amikor a tüdőtérfogat csökken, az interstitialis feszülés csökkenése miatt csökkenni fog az extraalveolaris erek belső átmérője, tehát alacsony tüdőtérfogatnál a PVR megintcsak nőni fog, melyhez hozzájárul a hypoxiás pulmonaris vasoconstrictio is.

A pozitív légúti nyomás miatt kitágult tüdő közvetlen nyomó hatást gyakorol a pericardiumra illetve a szívizomra. Pozitív nyomású lélegeztetés esetén nagy légzési térfogatok mellett a tüdő jelentős nyomó hatása miatt szívtamponádhoz hasonló klinikai kép is kialakulhat. Ha a szívet körülvevő nyomás extrém mértékben nő, a coronariák perfusiojának csökkenése következhet be, ami myocardialis ischaemiához vezethet. [95].

Kontrollált, PPV alatt a rekesz mozgása passzívan történik. A rekesz lefelé való mozgása az intraabdominális nyomás növekedését okozza, mely a májat is komprimálja. A máj összenyomtatása az intrahepatikus vaszkuláris rezisztencia emelkedését, és a portális keringés romlását okozza, melyet a tovább ront a vena cava inferior megnövekedett nyomása a jobb pitvarba való vénás visszaáramlás gátoltsága miatt. A vena cava inferior ilyenfajta nyomásnövekedése a hasúri szervek és a vesék perfúzió csökkenését vonhatja maga után, emiatt, a magas nyomással lélegeztetett betegekben bélparalysis és romló veseműködés alakulhat ki [96].

3. CÉLKITŰZÉSEK

1. A Hi-NPPV légzési mintázatra gyakorolt rövidtávú hatásainak vizsgálata.
2. A Hi-NPPV légzőizom mechanikára gyakorolt rövid távú hatásainak a meghatározása.
3. A Hi-NPPV vérgáz paraméterekre és beteg toleranciára gyakorolt rövidtávú hatásainak vizsgálata
4. A Hi-NPPV haemodinamikára gyakorolt rövid távú hatásainak a tisztázása.

**

5. Stabil minőségű dohányfüst extraktum (DFK) előállítása.
6. DFK alveoláris epithelsejtekre gyakorolt hatásának vizsgálata.
7. DFK és glükocorticoid alveoláris epithelsejtekre gyakorolt együttes hatásának vizsgálata.
8. A HSP72 szerepének vizsgálata a DFK és dexamethasone (DEX) alveoláris epithelsejtekre gyakorolt együttes hatás során.

4. MÓDSZEREK

4.1. Élettani változások globális légzési elégtelen COPD-s betegek neminvaszív lélegeztetése során

4.1.1. Betegek és vizsgálati módszer

Tizenöt légzési rehabilitációra felvett beteget vizsgáltunk, akik valamennyien COPD talaján kialakult krónikus, hypercapniás légzési elégtelenségben szenvedtek. A vizsgálat időpontjában minden beteg klinikai, légzési és haemodinamikai szempontból stabil állapotban volt. Az egyes betegek fontosabb paramétereit az 1. táblázat tartalmazza, beleértve az alapvető légzésfunkciós értékeket és vérgáz paramétereiket is. A fő beválasztási kritérium COPD talaján kialakult hypercapniás légzési elégtelenség fennállása volt ($\text{pH} > 7.35$, $\text{PaCO}_2 > 50$ Hgmm), míg a malignus, neuro-muszkuláris, illetve súlyos cardiovascularis betegségben (bal kamrai EF < 40%) is szenvedő betegeket kizártuk a vizsgálatból. A vizsgálatot a helyi etikai bizottság engedélyezte és minden beteg írásos beleegyező nyilatkozatot adott a vizsgálatban való részvételi szándékáról.

1. Táblázat: A betegek antropológiai, vérgáz- és spirometriai adatai.

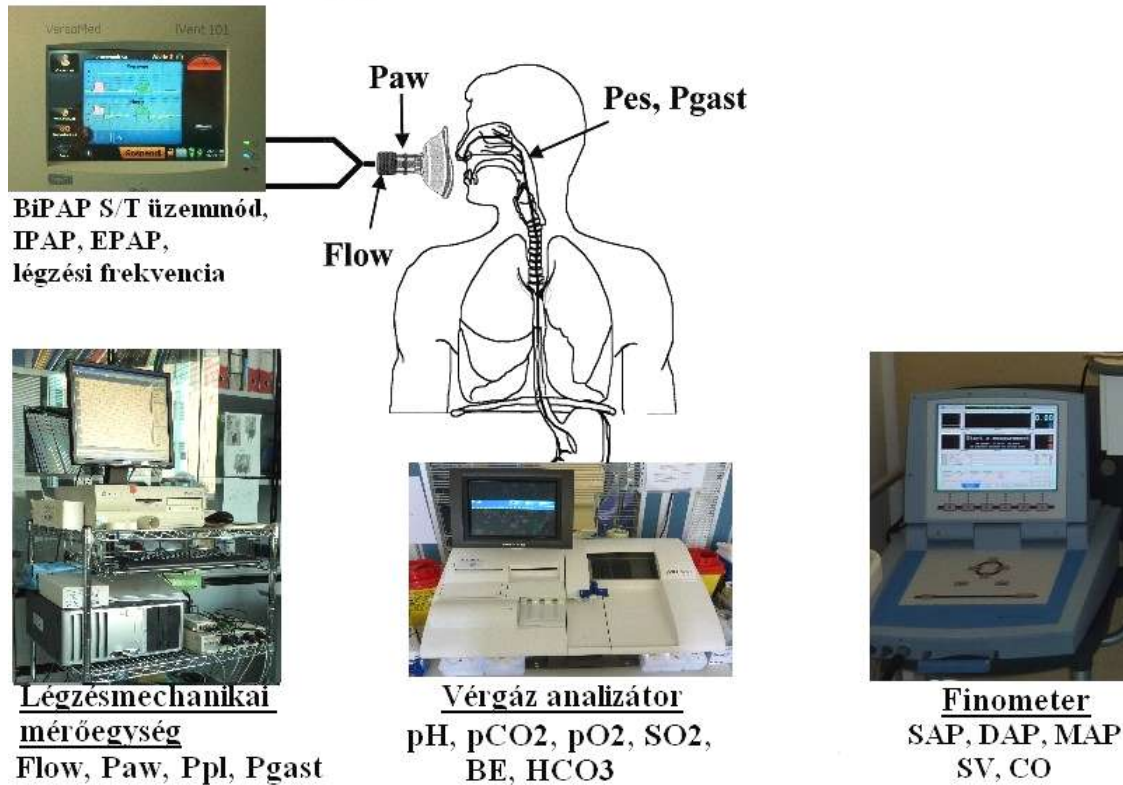
Beteg n	Kor (év)	Nem (F/N)	BMI (kg/m ²)	pH	pCO ₂ (Hgmm)	pO ₂ (Hgmm)	FEV1 (l) %	FVC (l) %	FEV1/FVC (%)
1.	80	F	20.6	7.45	50.10	69.80	0.52 23%	1.07 35%	49
2.	76	F	21.8	7.35	69.80	58.90	0.43 20%	1.99 70%	22
3.	54	F	23.7	7.41	51.00	61.00	N.A.	N.A.	N.E.
4.	66	F	22.1	7.36	57.30	62.40	0.64 22%	2.84 76%	23
5.	77	F	33.7	7.39	50.40	59.20	0.89 46%	1.65 64%	54
6.	64	F	16.6	7.36	56.80	68.80	0.47 20%	2.34 80%	20
7.	78	F	22.0	7.37	56.50	80.60	0.51 22%	1.52 48%	34
8.	71	F	25.8	7.41	57.90	58.70	0.52 20%	1.85 54%	28
9.	60	F	29.4	7.35	59.10	74.70	0.59 18%	2.18 53%	59
10.	71	N	33.2	7.36	65.00	63.80	N.A.	N.A.	N.E.
11.	69	F	30.2	7.35	62.80	67.50	0.48 15%	1.96 46%	24
12.	81	F	24.5	7.41	54.20	71.90	0.63 29%	1.17 40%	54
13.	76	F	24.5	7.35	77.30	67.10	0.65 23%	1.47 39%	44
14.	76	F	13.1	7.43	64.30	79.00	0.49 17%	1.7 45%	29
15.	78	F	26.1	7.35	56.90	73.00	0.89 32%	1.83 49%	49
Átlag	71.8	----	24.5	7.38	59.3	67.8	0.61 23.6%	1.68 53.8%	44.7
SD	± 7.8	----	± 5.7	±0.03	± 7.5	± 7.1	±0.15 ±8.11%	±0.56 ±4.5%	± 23.13

F: férfi; N: nő; SD: standard deviáció; N.E.: nem elérhető; BMI: body mass index (testtömeg index)

4.1.2. Vizsgálati protokoll

A kísérleti elrendezés, vázlatosan, a 3. ábrán látható.

Neminvazív lélegeztetőgép



3. ábra: Kísérleti elrendezés

Minden vizsgálat előtt legalább 1 órával az éjszakai NPPV leállításra került. A betegeket fél-ülő helyzetben vizsgáltuk, oxigén szupplementáció mellett. A gépi lélegeztetés alkalmazása előtt, néhány percnyi spontán légzés alatt megmértük a beteg kiindulási értékeit (ld. később). Ezt követően a beteget véletlenszerű sorrendben a két különböző gépi beállítással legalább 30 percig lélegeztettük, melynek utolsó 5 percében végeztük a méréseket. A két gépi beállítás között legalább 10 perc spontán légzési szünetet hagytunk. A randomizációt egy erre készült számítógépes programmal végeztük, mely a két szekvencia egyenletes eloszlását is biztosította. A betegeket egy “NIV platform” [97] ajánlású (Harmony Philips, VIVO-50 Breas, V60 Philips) nem invazív lélegeztetőgéppel és minden beteg arcához egyénileg választott orr-száj maszkkal lélegeztettük, melynek tökéletes felhelyezését minden vizsgálat előtt ellenőriztük. Az áramlási veszteségek lehetőségek szerinti minimalizálásáról erre a

feladatra speciálisan kiképzett gyógytornászok gondoskodtak. A lélegeztetőgépből belégtetett levegő oxigén koncentrációját Thys és munkatársai által közölt publikáció ajánlásai alapján számoltuk ki [98]. A kísérleti elrendezés az egyik vizsgált betegen a 4. ábrán látható.



4. ábra: Kísérleti elrendezés egy valós COPD-s betegen.

4.1.3. Li-NPPV

A vizsgálatba bevont összes alany hypercapniás COPD-ben szenvedő beteg volt, akiket otthoni NPPV elindítása (illetve beállítása) céljából vettünk fel a légzési rehabilitációs osztályra. Ezen betegek mindegyike a vizsgálat előtt néhány nappal került kapcsolatba a nem invazív lélegeztetéssel. A lélegeztető gépek beállítása egy korábbi ajánlásának megfelelően [59] kidolgozott belső protokoll szerint történt. Célunk az volt, hogy az alkalmazott NPPV mellett az artériás $p\text{CO}_2$ -t több mint 10%-al csökkentsük, a 6-8 ml/ttkg kilégzési térfogatot elérjük, valamint a transzdiaphragmatikus nyomást (Pdi) legalább 50%-al csökkentsük a spontán légzés alatt mért értékekhez képest. A vizsgált betegek spontán légzés alatti kiindulási $p\text{CO}_2$ értéke 62.3 ± 8.2 Hgmm volt a kórházi

felvétel napján, míg a gépi lélegeztetési program elkezdése után ezt az értéket 59.3 ± 7.5 Hgmm-nek találtuk. A kiindulási gépi paramétereket a betegek kezelőorvosai állították be, függetlenül a mi vizsgálati protokollunktól. A vizsgált betegcsoportban az átlagos inspiratorikus nyomás 17.7 ± 1.6 H₂Ocm volt (15-20 H₂Ocm értéktartományban). A kilégzésvégi nyomásérték (PEEP) egységesen 4 H₂Ocm-re, a minimális légzési frekvenciát (back-up) pedig 12/perc-re állítottuk.

4.1.4. Hi-NPPV

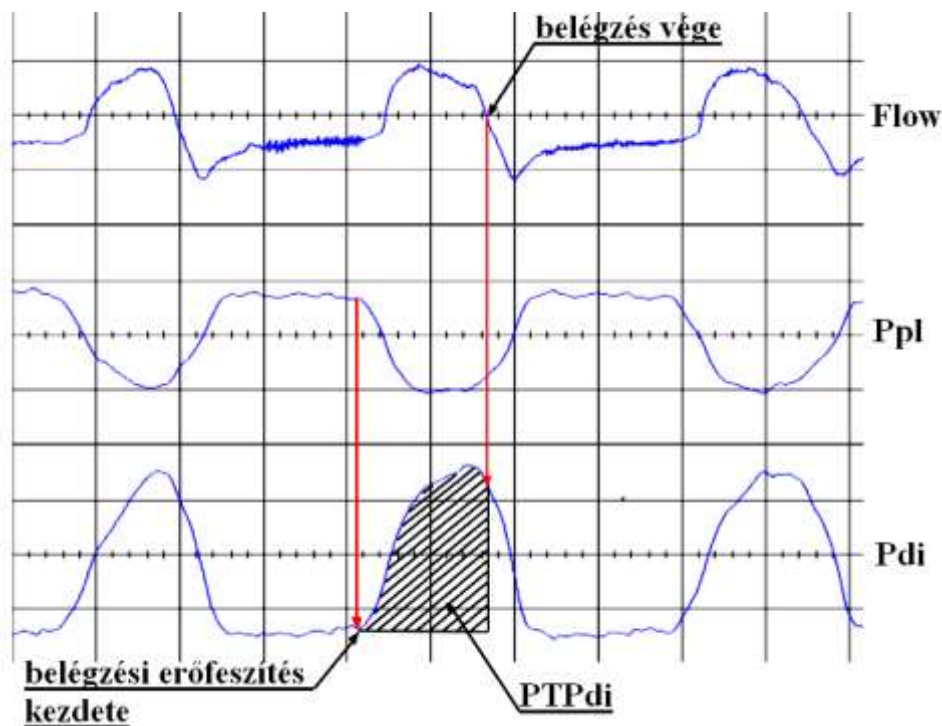
A Hi-NPPV (magas intenzitású nem invazív gépi lélegeztetés) alkalmazása során a beteg által még tolerált azon legmagasabb légúti nyomás elérése volt a cél, mely legalább 50%-kal meghaladja a korábban tárgyalt Li-NPPV során alkalmazott értéket. Ezt úgy értük el, hogy a Li-NPPV beállításról indulva 0,5 H₂Ocm/perc sebességgel fokozatosan növeltük a belégzési nyomást (IPAP). Ezzel a beállítással sikerült elérnünk a Windsch és kollégái által közöltekhez [61, 62, 63] nagyon hasonló belégzési nyomás értékeket (IPAP átlag : $27.6 \pm 2,1$ H₂Ocm). A Li-NPPV beállításhoz hasonlóan a PEEP értéket egységesen 4 H₂O cm-re állítottuk. A légzési frekvenciát a spontán légzési frekvenciával kívántuk összehangolni, amit méréseink során 20-22/perc közötti minimális légzési frekvenciával értünk el. A felsorolt beállításokkal egy kontrollált lélegeztetéshez közeli állapotot értünk el.

4.1.5. Légzésmechanikai mérések és vérgázértékek

A légúti áramlás mérése fűtött pneumotachográfal (Hans-Rudolf 3700, Kansas, USA) összekapcsolt differenciál nyomásszenzorral (Honeywell ± 300 cmH₂O; Freeport IL, USA) történt. A légúti áramlásérzékelőt a légzőkör Y elágazója és a lélegeztető maszk közé helyeztük el. A légzési térfogat (V_t) a légúti áramlás integrálásával került meghatározásra. A légzési mintázat vizsgálata a légúti áramlási görbe alapján történt. A statisztikai elemzéshez a kilégzési térfogatot (V_{texp}) használtuk fel. A levegőszivárgás mértéke a belégzési és kilégzési térfogat különbségéből (V_{ti}-V_{texp}) lett meghatározva. A légúti nyomást az áramlásérzékelő és a maszk között kialakított oldalcsatlakozón keresztül mértük a nyomásszenzorral (Honeywell ± 300 cmH₂O; Freeport IL, USA).

Az oesophageális és gastricus nyomás meghatározásához két ballonkatétert vezetünk le, az egyiket a beteg gyomrába, a másikat az oesophagus alsó harmadába. A

gyomorballont 1 ml, az oesophageális ballont 0,5 ml levegővel fújtuk fel és mindkettőt egy-egy nyomá szenzorhoz csatlakoztattuk (Honeywell \pm 300 cmH₂O; Freeport IL, USA). A ballonkatéterek helyes pozíciójának meghatározásához okklúziós tesztet végeztünk [99]. A transzdiaphragmatikus nyomást (Pdi) a gasztrikus (Pga) és az oesophageális nyomás (Pes) különbségéből számoltuk ki. A transzdiaphragmatikus nyomásgörbe idő szerinti integrálásával határoztuk meg a transzdiaphragmatikus “nyomás-idő szorzat” (PTPdi) egy légvételre (PTPdi/légvétel), illetve egy percre vonatkoztatott (PTPdi/perc) értékét (5. ábra).

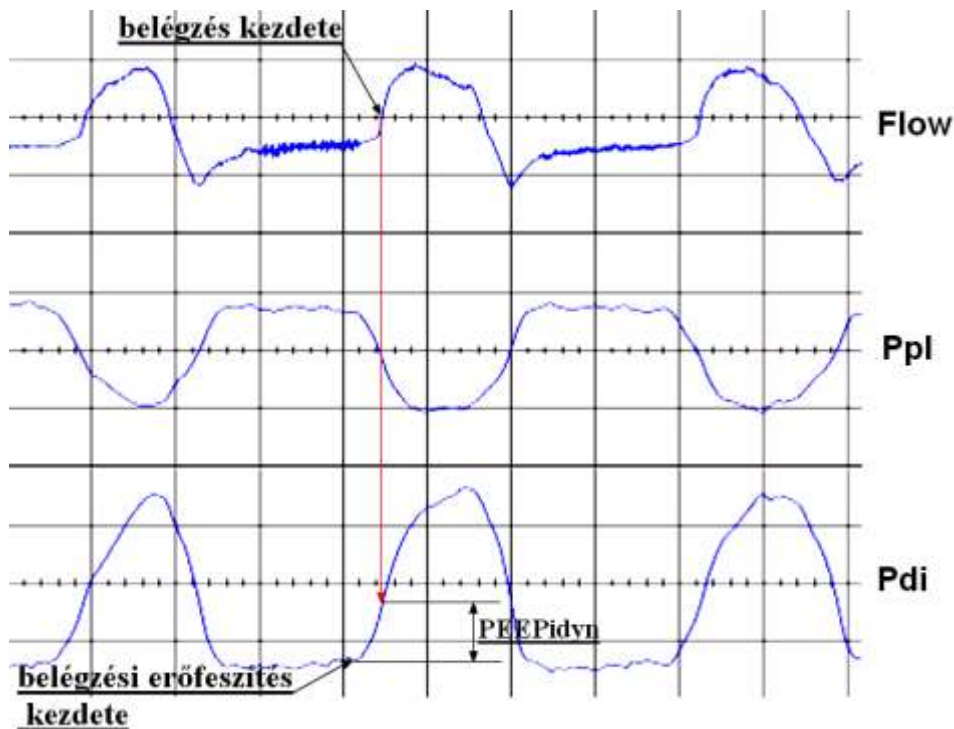


5. ábra: a PTPdi egy légvételre történő kiszámítása

Egészséges egyéneknél nyugalmi légzés során a végkilégzési térfogat megfelel a légzőrendszer elasztikus egyensúlyi térfogatával vagy relaxációs tüdőtérfogattal (V_r). Amennyiben a kilégzési idő nem elég hosszú és a belégzés megindul még mielőtt a légzőrendszer visszatért volna a V_r -re, a végkilégzési térfogat magasabb lesz a V_r -nél. Ezt az állapotot nevezik dinamikus hyperinflációnak melynek mérőszáma az „intrinsic” PEEP (PEEPPi) vagy autoPEEP. Spontán légző betegekben PEEPPi akkor jelenik meg, mikor csökken a levegő ürülése a tüdőből, légúti ellenállás növekedése vagy áramlási

akadály miatt. Magasabb PEEP_i mérhető jellemzően a COPD-s betegekben, akiknél a kilégzés nehezített [100].

A dinamikus intrinsic PEEP-et (PEEP_{i,dyn}) a transzdiaphragmatikus nyomásgörbéből határoztuk meg, a légzési erőfeszítés kezdetén és a zero áramlási pontban mért P_{di} érték különbségeként [101, 102] (6. ábra).



6. ábra: a PEEP_{i,dyn} kiszámítása

Az artériás vérgáz értékeket radialis artériából nyert vérből határoztuk meg spontán légzés és mindkét beállítású NPPV alatt (ABL800 FLEX vérgáz analizátor; Radiometer Medical Dánia)

4.1.6. Cardiovascularis paraméterek mérése

Méréseink során egy neminvaszív eszközzel (Finometer pro, Finapres Medical System BV, Netherlands; www.finapres.com) [103] meghatároztuk a betegek néhány cardiovascularis paraméterét spontán légzés, valamint mindkét beállítású NPPV alatt. Irodalmi adatok szerint az általunk vizsgált, súlyos szívbetegekben nem szenvedő

betegcsoportban, a “Finométer pro” kellően megbízhatónak minősül ($\pm 15\%$ hibával az abszolút értékeket [104], illetve $\pm 8\%$ hibával a változásokat illetően) a standardnak számító termofilúciós technikához viszonyítva [105]. A “Finometer pro” ujjmandzsettája felhelyezésre került a beteg 3. vagy 4. ujjára, a karmandzsetta pedig az azonos oldali felkarra. Az eszközzel a következő paramétereket mértük folyamatosan: systoles artériás nyomás (SAP, Hgmm), diastoles artériás nyomás (DAP, Hgmm) és szívfrekvencia (HR, 1/perc). A mért adatokból és a vérnyomás hullámból az eszköz kiszámolta a pulzustérfogatot (SV, ml) és a keringési pertérfogatot (CO, l/min).

4.1.7. Diszpnoe pontszám

A betegek diszpnoe érzetét a Borg-skála alkalmazásával határoztuk meg, spontán légzés, valamint mindkét típusú NPPV alatt. Gépi lélegeztetés idején a betegek az ujjakkal jelezték az általuk gondolt Borg-skála értéket (0-10, ahol a 10 a legsúlyosabb diszpnóét jelöli) a “hogyan ítéli meg a légzését ezen gépi lélegeztetési mód alatt” kérdésre [106].

4.1.8. Statisztikai analízis

A légzésmechanikai adatokat egy analóg-digitális átalakítóval ellátott számítógéppel rögzítettük 100 Hz mintavételi frekvenciával. A cardiovascularis paraméterek a “Finometer pro” memóriájában kerültek rögzítésre, majd onnan letöltésre a gyártó által szolgáltatott számítógépes program segítségével. Az adatok átlag \pm SE (standard error) formátumban kerültek feltüntetésre. A mért változókat ANOVA teszttel, majd ezt követő Newman-Keuls post hoc teszttel hasonlítottuk össze. Az esetlegesen fennálló “carry-over” effektus kizárására Gizzle és Hills ajánlásai szerinti tesztet hajtottuk végre [107, 108]. Minden egyes adatsort normalitás vizsgálatnak vetettünk alá Kolmogorov-Smirnov teszttel, amennyiben a normalitási feltételek nem álltak fenn, akkor Friedmann tesztet alkalmaztunk az egyes változók összehasonlítására. A statisztikai analízishez a Graph pad Prism és a Medcalc számítógépes programokat használtuk. Mindegyik teszt kétutas volt, a $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikánsnak.

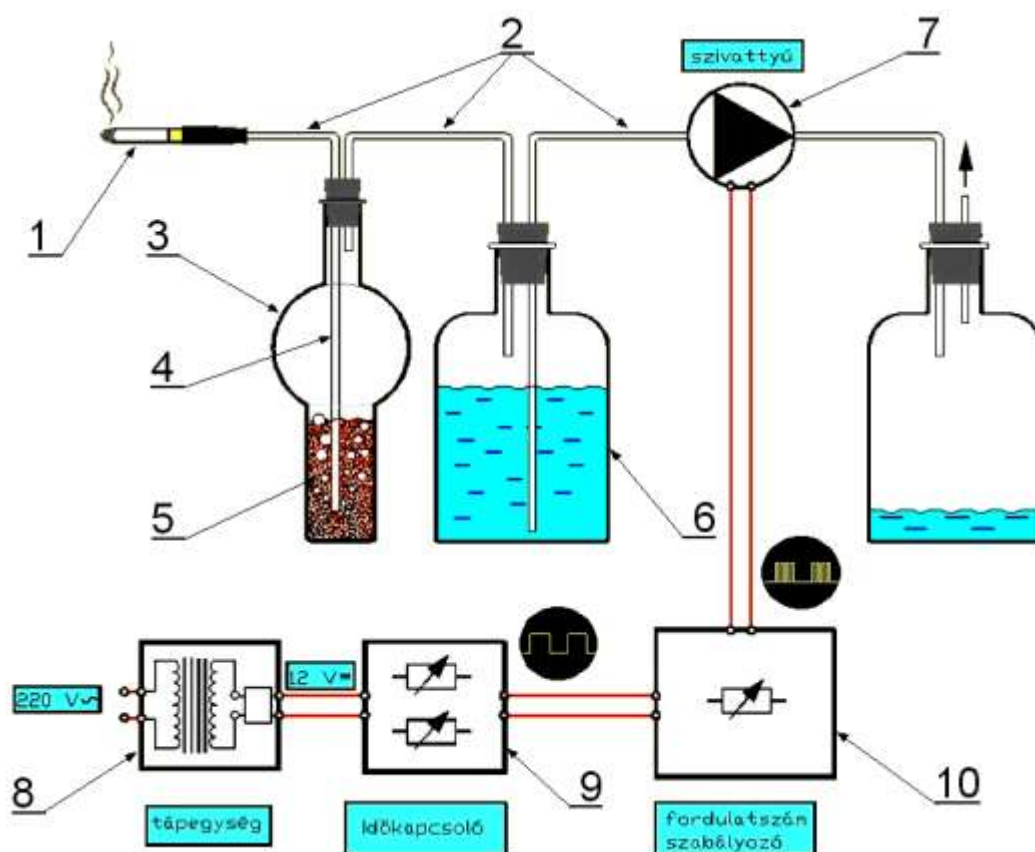
4.2. Tüdő alveoláris sejtek vizsgálata

4.2.1. Dohányfüst extraktum előállítása

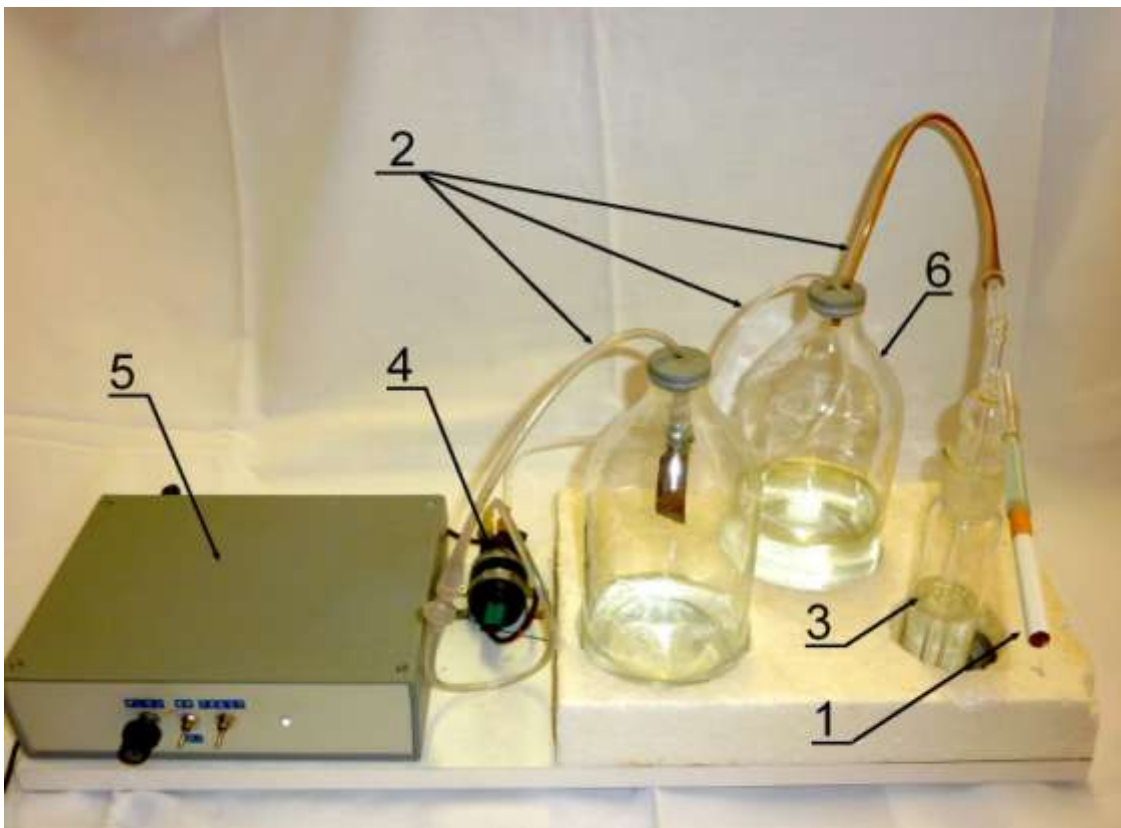
4.2.1.1. A dohányzó gép

A dohányfüst sejtkárosító hatásának vizsgálatához szükség van egy oldott állapotú, a dohányfüstben lévő anyagokat, stabilan reprezentáló anyagra, mellyel a sejt kultúrákat kezelve vizsgálhatjuk arra kifejtett hatásait. A dohányfüst kivonatot úgynevezett dohányzó géppel állítjuk elő korábbi közlemények mintájára [6]. Ez a szerkezet a dohányzási mintázatot utánozva, a „főfüstöt” állítja elő és ebből vizes oldatot készít. A dohányzási mintázat az évszázadok során változott, sőt a múlt század közepe óta is változáson ment át a cigaretták nikotin, kátrányanyag és aromaanyag tartalmának változása következtében. Míg korábban a nagy nikotin tartalmú töltelékkel ellátott cigarettákból a dohányosok percnként átlagosan 1 alkalommal kb. 30 ml füstöt szippantottak, napjainkban az alacsony nikotin tartalmú cigarettákból ez percnként 2-4 szippantásra, szippantásonként 50-70 ml-re módosult [5]. Ez azzal magyarázható, hogy a nikotinfüggőség miatt a dohányzó egyén nagyobb mennyiségű füstöt kell, hogy bejuttasson a saját szervezetébe, ahhoz hogy hozzájusson a szükséges nikotin mennyiséghez. A dohányzó gépet úgy terveztük meg, hogy fél percnként, 2 másodpercig tartó, 35 ml-es szippantásokat hajtson végre, így módon kb. 5 perc alatt szívjon el egy átlagos cigarettát. Törekedtünk arra, hogy az eszköz pontosan működjön, ezáltal reprodukálhatóan állítson elő egy stabil összetételű dohányfüst kivonatot. A pontos szippantási térfogatot, illetve áramlást úgy tudtuk elérni, hogy egy kis teljesítményű víz szivattyúval 2 sec alatt pontosan 35 ml vizet szivattyúzunk ki egy vízzel telt zárt palackból. A palackban így módon keletkezett vákuum szívja meg az égő cigarettát, 2 s ideig 35 ml-es szippantási térfogattal. A cigarettafüst mielőtt beáramlana a hiányzó folyadék keltette ürbe, átbuborékoltatásra kerül a 37 °C-on tartott médiumon (lásd a következő alfejezetben), melyben a füst oldható komponensei feloldódnak. A dohányzó gép sematikus rajzát és működését a 7. ábra szemlélteti, a működésre kész szerkezet pedig a 8. ábrán látható. Az eszköz kulcsfontosságú része a szivattyúmotor vezérlés, mely két fő elemet tartalmaz. Az egyik, az impulzusszélesség

módosításával működő fordulatszám szabályozó (CONRAD 190219: H-Tronic Egyenáramú fordulatszáam szabályzó 5A; http://www.produktinfo.conrad.com/datenblaetter/175000-199999/190219-CE-01-en-5A_DREHZAHLSTELLER_BAUSTEIN.pdf) a másik fő alkotóelem a többfunkciós digitális időkapcsoló. (CONRAD191299: Precíziós-intervallum-kapcsoló; 200ms-100s; http://www.produktinfo.conrad.com/datenblaetter/175000-199999/191299-an-01-hu-Precizios_intervallum.pdf). Az időkapcsolóval beállításra került, hogy a szivattyúmotor fél percenként pontosan 2 sec időre kerüljön bekapcsolásra (szünet idő/aktív idő). A fordulatszám szabályzót sorozatos mérésekkel úgy állítottuk be, hogy a szivattyú ezen 2 sec időtartam alatt pontosan az általunk előre meghatározott 35 ml folyadékot szívja ki az palackból. Az általunk előállított dohányfüst kivonat nyilvánvalóan nem ugyanaz, mint ami a légutakban keletkezik, mert döntően csak a víz oldékony komponenseket tartalmazza. Ebben a dohányfüst kivonatban minden bizonnyal a dohányfüst valamennyi komponense jelen van, vélhetően valamelyest más arányban, mint az ami az élő szervezetben képződik, viszont az általunk megtervezett kísérlethez alkalmas.



7. ábra: a dohányzó gép vázlatos felépítése és működése: A DFK készítéséhez két kereskedelemben kapható filteres cigarettát (1) (Marlboro; Philip Morris Products, Hungary, EU; nicotine 0.8 mg, tar 10 mg) használtunk. Mikor az időzítő (9) bekapcsol, a vízszivattyú (7) elindul és meghatározott mennyiségű vizet szív ki a vizespalackból (6), melyben ezáltal vákuum keletkezik. Az így keletkezett szívóerő a cigaretta füstjét egy kémiai inert csövön (2) és Pasteur pipettán (4) át, átszívta a sterilizált üvegedényben lévő (3), 16 ml 37 °C-on tartott, szérummentes médiumon (5). 1. cigaretta; 2 kémiai inert összekötőcsövek; 3. sterilizált üvegedény; 4. Pasteur pipetta; 5. szérummentes médium; 6. 1 l-es vizes palack; 7. kis teljesítményű vízszivattyú; 8. Tápegység (220V AC/12V DC); 9. időköz kapcsoló (30sec/2sec); 10. Fordulatszám szabályzó (teljesítmény szabályozás).



8. ábra: Dohányzó gép a valóságban. 1. cigaretta; 2. kémiai inert összekötőcsövek; 3. sterilizált üvegedény Pasteur pipettával és szérummentes médiummal; 4. kis teljesítményű vízszivattyú; 5. Vezérlőegység (időköz kapcsoló + fordulatszám szabályzó) 6. 1 l-es vizes palack;

4.2.1.2. Dohányfüst kivonat előállítása

A DFK-t mindig frissen készítettük az egyes kísérletekhez, a fent leírt dohányzó gép segítségével. A dohányzó géppel két db. kereskedelemben kapható filteres cigaretta (Marlboro; Philip Morris Products, Hungary, EU; nicotine 0.8 mg, tar 10 mg) füstjét áramoltattuk át 16 ml, 37 °C-os, szérumentes médiumon, melyhez a végén 10% főtális borjú szérumot adtunk. Az így elkészült DFK-t 30 percen belül felhasználtuk. A kontroll vizsgálatokhoz használt médiumot hasonló körülmények között tároltuk, csak cigarettafüstöt nem áramoltattunk át rajta. A leírt módszerrel elkészített dohányfüst kivonatok kromatográfiás tömegspektrométerrel (HPLC-MS/MS) meghatározott nikotin és kotinin koncentrációit az átlaghoz képest 10%-os hibahatáron belül találtuk.

4.2.2. In vitro sejtenyésztés

In vitro vizsgálatainkat A549 immortalizált II. típusú alveoláris epitelsejtvonalon (ECACC No: 86012804) végeztük a Sejtkultúrák Európai Gyűjteményéből (Sigma-Aldrich Co., Budapest, Magyarország). A sejteket letapadó sejtkultúrákban, tartottuk fenn, DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) médiumban, melyhez 10 % (v/v) főtális borjúszérumot (FBS; Biochrome AG, Berlin, Németország), 2 mmol/L L-glutamint (Biochrome AG, Berlin, Németország) és 1% antibiotikum/antimikotikum oldatot (AB; Sigma-Aldrich Co., Budapest) adagoltunk. A sejtenyészeteket, 5% CO₂ + 95 % levegő tartalmú párasított atmoszférában, 37°C-on inkubáltuk. A kezelésekhöz az alveoláris epithelsejteket 6 lyukú plate-en (Sarstedt, Németország) a fent részletezett médiumban és atmoszférában, 24 órán keresztül inkubáltuk.

A kezeléseknél, a sejtkultúrákat 0.1; 1.0; 10 µM koncentrációjú dexamethasonnal (DEX; Oradexon 5mg/1ml ampulla, gyártó: Gichter Gedeon Zrt. Budapest Hungary) kezeltük DFK (dohányfüst kivonat) hozzáadásával, illetve anélkül. A kontroll csoportot kezelés nélkül hagytuk. DFK-val történt kezelés során frissen elkészített, 10% borjúszérummal hígított DFK-t adagoltunk a sejtkultúrákhoz, majd a megfelelő csoportokhoz (lásd később a kezelési csoportok alfejezetben) hozzáadtuk a DEX-et is. 24 óra inkubációt követően valós idejű PCR-t (RT-PCR) és áramlási citometriás (FACS) vizsgálatot végeztünk a nekrozis, apoptózis, valamint az intracelluláris HSP72 szint meghatározása érdekében.

4.2.3 Kezelési csoportok

A kezelés előtt a sejt kultúrákat a fent részletezett médiumban és atmoszférában inkubáltuk 24 órán keresztül. Kezelésként DFK-t, dexamethasone-t és ezen kettőnek a kombinációját alkalmaztuk. Mindegyik esetben az előző fejezetben leírt médiumhoz adtuk hozzá a vizsgálni kívánt anyagot vagy kombinációt (DFK vagy DEX ill. DFK+DEX). Minden kezelés mellett kontrollként semmilyen kezelést, csak médiumot tartalmazó párhuzamos sejtenyészeteket is létrehoztunk. A DEX hatását 3 különböző koncentrációkban (0.1 μM , 1.0 μM és 10 μM) vizsgáltuk. DFK kezeléseket mindig ugyanabban a koncentrációban alkalmaztuk. Transzfekciós kísérleteink során (lásd a megfelelő alfejezet) a kontroll csoporthoz, csak DFK-val és DFK + DEX (10) kombinációval kezelt csoportokhoz csendesítő (siRNS) ill. ál csendesítő (scr-RNS) HSP72 mRNS-t adtunk hozzá. A leírtak alapján összesen 10 kezelési csoportot vizsgáltunk, melyek összefoglalva a 2. táblázatban láthatók.

2. Táblázat: Kezelési csoportok

Csop. szám	elnevezés	Kezelés részletezése
1.	K	DMEM + 10% FBS + 1% AB
2.	K + DEX(0.1)	DMEM + 10% FBS + 1% AB + 0.1 μM dexametazon
3.	K + DEX(1)	DMEM + 10% FBS + 1% AB + 1 μM dexametazon
4.	K + DEX(10)	DMEM + 10% FBS + 1% AB + 10 μM dexametazon
5.	DFK	Dohányfüst-kivonat + 10% FBS + 1% AB
6.	DFK+DEX(0.1)	Dohányfüst-kivonat + 10%FBS + 1% AB + 0.1 μM dexametazon
7.	DFK+DEX(1)	Dohányfüst-kivonat + 10%FBS + 1% AB + 1 μM dexametazon
8.	DFK+DEX(10)	Dohányfüst-kivonat + 10%FBS + 1% AB + 10 μM dexametazon
9.	scr-RNS	DMEM + 10% FBS + 1% AB + „ál csendesítő” RNS-sel transzfektálva (mint negatív transzfekciós kontroll)
10.	siRNS	DMEM + 10% FBS + 1% AB + HSP72 “csendesítő” RNS-sel transzfektálva

K: kontroll; DEX:dexamethasone tartalmú; DFK: dohányfüst kivonat; scr-RNV: ál csendesítő RNS; siRNS: csendesítő RNS; DMEM: Dulbecco's modified Eagle's medium; FSB: főtális borjú szérum; AB: antibiotikum/antimikotikum oldat

4.2.4. A sejtszám, sejtkárosodás, valamint az intracelluláris HSP72 szint meghatározása

A sejtszámot Cell-Dyn 3200 automatával (Abbott Laboratories Ltd, Budapest, Hungary) határoztuk meg a flaska aljáról leválasztott sejt szuszpenzióból.

A sejtkárosodás mértékét a sejt apoptózis illetve sejtnekrózis arány meghatározásával számszerűsítettük. Egészséges sejtekben a foszfatidil szerin (PS) a plazmamembrán belső felszínén foglal helyet, apoptózis folyamata során ez a külső felszínre transzlokálódik. A fluoreszcensen jelölt Annexin-V kötődik a PS-hez, ezáltal az apoptózisban lévő sejtek a zöld színtartományban megjelölésre kerülnek. A már elpusztult, sejtek propidium-jodiddal (PI) a vörös színtartományban festhetők. Amennyiben a sejteket mindkét festésnek alávetjük, akkor el tudjuk különíteni a csak zölden festődő apoptotikus sejteket a már elpusztultaktól melyek kettős festődésűek. A különböző kezelésnek alávetett sejt kultúrákban az apoptotikus és nekrotikus sejtek százalékos arányát áramlási citométer (BD FACSAria, San Jose, CA, USA) segítségével határoztuk meg, Annexin V-FITC apoptózis detektáló kit (eBioscience, Inc. San Diego, CA92121USA) protokollja szerint.

Az intracelluláris HSP72 szint meghatározása végett, a megfelelően előkezelt sejtsuszpenziót specifikus primer antitesttel (rabbit anti-human HSP72 IgG) hoztuk össze, majd másodlagos antitestként Cy5 - konjugált IgG ellenanyagot használtunk (Jackson ImmunoResearch Laboratories Inc, Izinta Kft., Budapest, Magyarország).

Mindegyik kezelési csoportból az apoptózis/necrosis meghatározására 10.000, az intracelluláris HSP72 szint meghatározására pedig 30.000 sejt leszámolása történt.

4.2.5. Valós idejű (RT)-PCR vizsgálatok

A lecentrifugált epithelsejtekből az RNS izolálása Qiagen protokollja alapján történt, RNeasyTM Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Németország) felhasználásával. A cDNS-t reverz transcriptio útján állítottuk elő a korábban izolált RNS-ből, reverz transzkriptáz, RNase inhibitor és a megfelelő primer alkalmazásával. Az így előállított cDNS-t t real-time PCR-el amplifikáltuk. Megfelelő primerek használatával a HSP72 és kontrollként glicerin-aldehid-3-foszfát-dehidrogenáz (GAPDH) cDNS sokszorozása történt, Light Cycler (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) PCR automatával.

4.2.6. HSP72 csendesítő transzfekció

HSP72-csenedesítő transfectiot végeztünk annak kimutatására, hogy kísérleteink során tapasztalt HSP72 változások mennyiben felelősek az észlelt sejtkárosodások kivédésében. NeoFx transzfekciós szettel (Ambion, AM4511; Applied Biosystems, Hungary) végezett transzfekció során „csendesítő” RNS (siRNS) szakaszt jutattunk a sejtbe, mely megakadályozta a HSP72 szintézist. Negatív transzfekciós kontrollként „scrambled” RNS-t (scrRNS, „ál csendesítő” RNS) használtunk. A HSP72 csendesítő transfectiot, a kontroll, a DFK-tal kezelt, valamint DFK + 10 μ M DEX csoportoknál alkalmaztunk.

4.2.7. Statisztikai analízis

Az adatok átlag \pm SE (standard error) formátumban kerültek feltüntetésre. A mért adsorokat normalitási vizsgálatnak vetettük alá Shapiro-Wilk's tesztel. Normalitás fennállása esetén az egyes adatpárok összehasonlítása t-próbával, ellenkező esetben pedig Mann-Whitney tesztel történt. A $p < 0,05$ fennállása esetén terítettük a különbségeket szignifikánsnak. A számítások elvégzéséhez Statistica 7.0 programot használtunk.

5. EREDMÉNYEK

5.1. Élettani változások globális légzési elégtelen COPD-s betegek neminvaszív lélegeztetése során

Minden vizsgált beteg jól tolerálta a teljes kísérleti protokollt. Nyolc betegben spontán légzést követően elsőként Li-NPPV-t alkalmaztunk (1-es sorrend). A fennmaradó 7 alany a 2-es kísérleti sorrendben vett részt, melyben a Hi-NPPV-vel indítottunk.

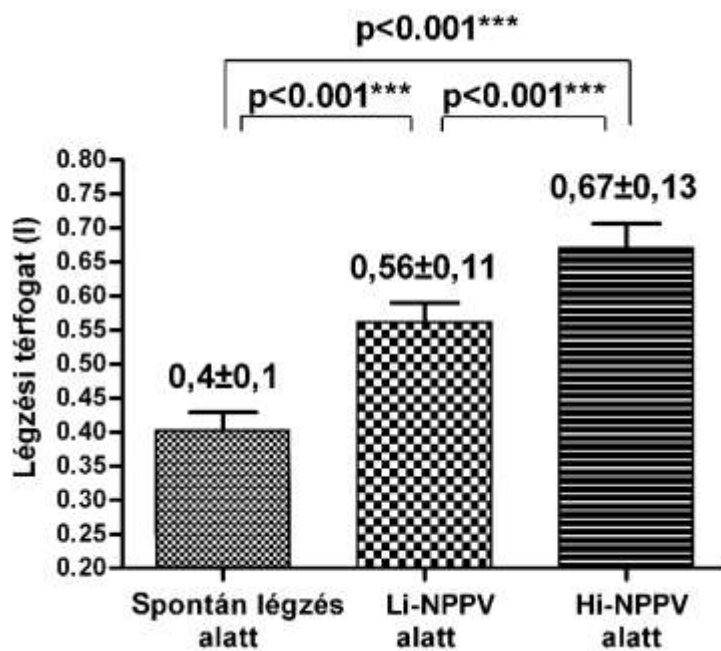
5.1.1. Légzési mintázat

A légzési mintázatra vonatkozó eredményeket a 3. táblázat tartalmazza. A légzési térfogat és a percventiláció szignifikáns növekedését találtuk (9; 10 ábra) NPPV alatt spontán légzéshez viszonyítva, de ez a változás szignifikánsan magasabb volt a Hi-NPPV alkalmazása során. A résveszteség mértéke szignifikánsan alacsonyabb volt Li-NPPV gépi beállítás alatt. Az átlagos belégzési áramlás (V_t/T_i) ugyancsak magasabb (11. ábra), a belégzési idő/teljes ciklusidő aránya (T_i/T_{tot} „duty cycle”) alacsonyabb volt Hi-NPPV alkalmazásakor (12. ábra), viszont nem találtunk szignifikáns különbséget a légzési frekvenciában.

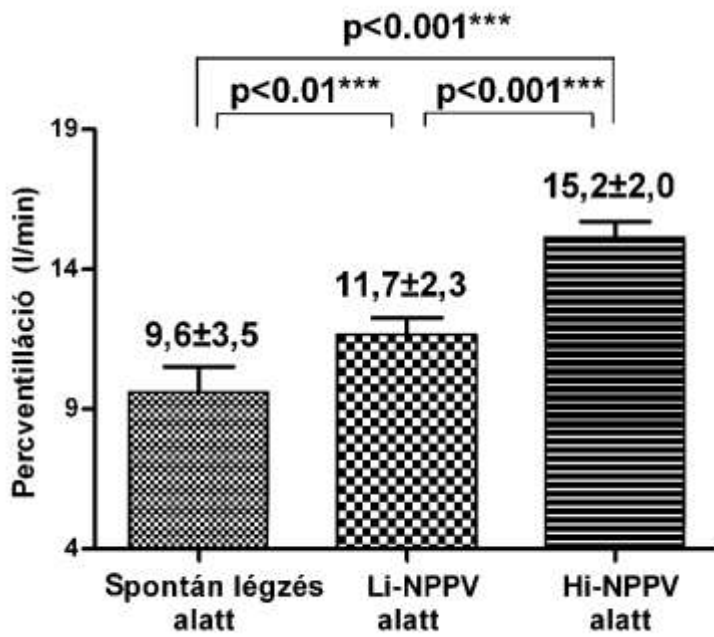
3. Táblázat: Légzési mintázat jellemzői COPD-s betegekben a két NPPV és spontán légzés mellett.

Para- méter	Sponlán légzés (SL)	Li-NPPV	Hi-NPPV	p érték		
				SL vs. Li-NPPV	SL vs. Hi- NPPV	Li-NPPV vs. Hi-NPPV
LF (1/perc)	24.8 ± 8.4	21.3 ± 6.3	22.9 ± 3.3	NS	NS	NS
Ti (s)	1.25 ± 0.3	1.1 ± 0.19	0.74 ± 0.1	NS	<0.05	<0.001
Te (s)	1.46 ± 0.75	1.98 ± 0.77	1.93 ± 0.34	NS	NS	NS
Ti/Ttot	0.48 ± 0.09	0.37 ± 0.08	0.27 ± 0.05	<0.001	<0.001	<0.001
VT (l)	0.4 ± 0.1	0.56 ± 0.11	0.67 ± 0.13	<0.001	<0.001	<0.001

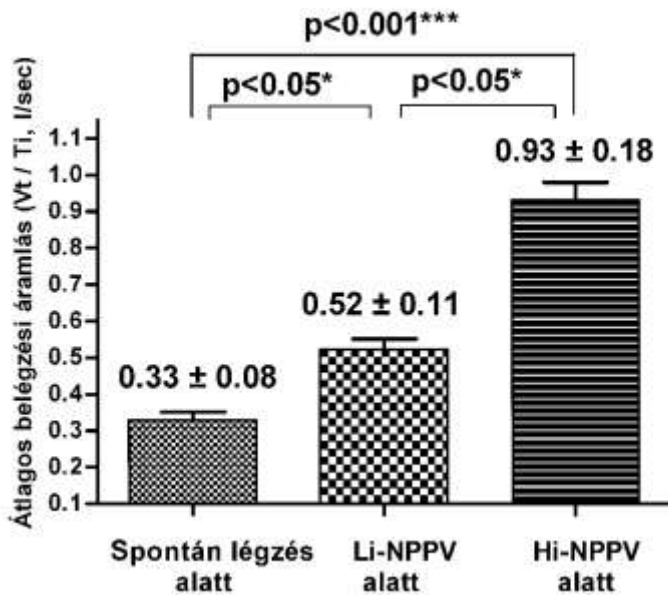
VT/Ti (l/s)	0.33 ± 0.08	0.52 ± 0.11	0.93 ± 0.18	<0.05	<0.001	<0.05
Ve (l/min)	9.6 ± 3.5	11.7 ± 2.3	15.2 ± 2.0	<0.01	<0.001	<0.001
Résle- vegő (l/min)		10.62±5.27	16.11±7.88	-	-	<0.05
LF:légzési frekvencia, Ti: belégzési idő; Ti/Ttot: duty cycle, VT: kilégzési tidal volumen; VT/Ti: átlagos belégzési áramlás; Ve: percventiláció; SE: spontán légzés; NS: nem szignifikáns						



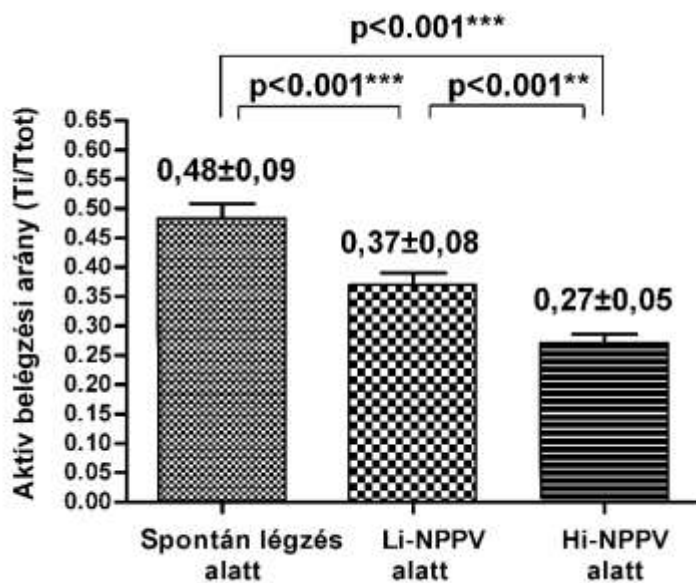
9. ábra. A légzési térfogat (Vt) spontán légzéshez viszonyított változása két különböző beállítású NPPV során.



10. ábra. A percventilláció (V_e) spontán légzéshez viszonyított változása két különböző beállítású gépi lélegeztetés során.



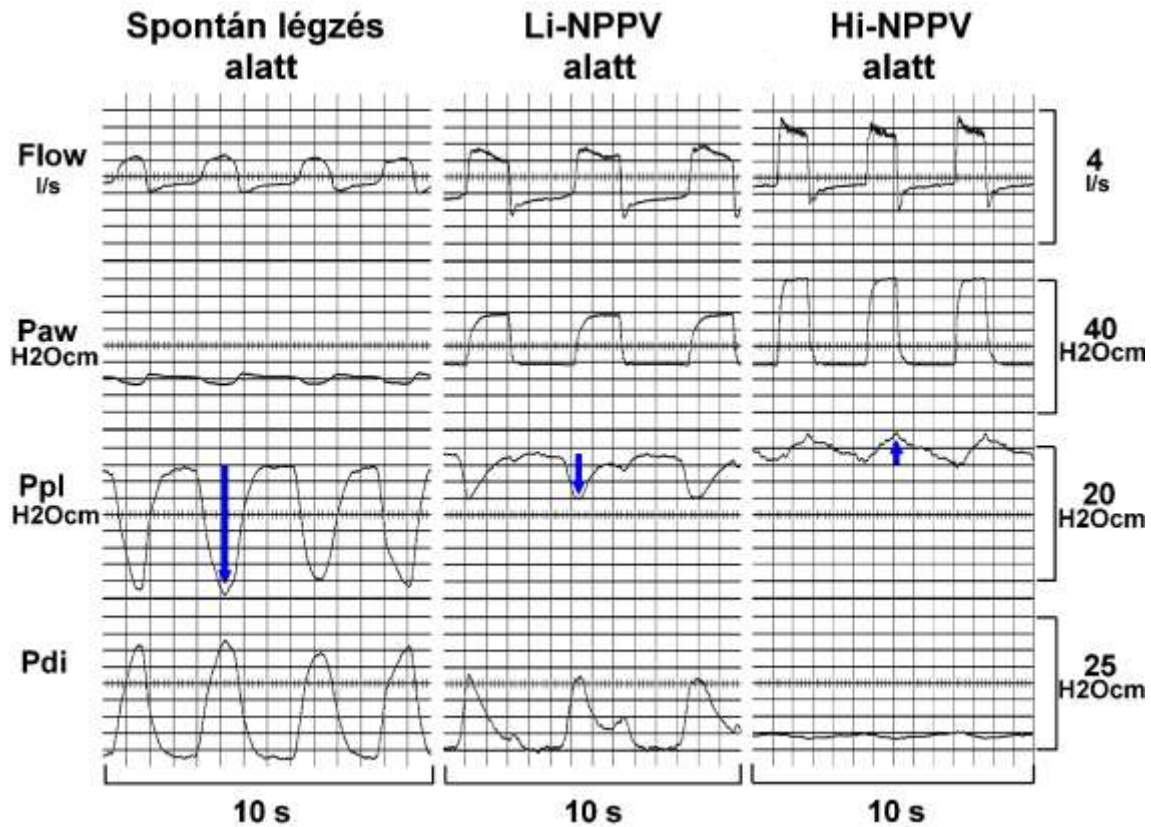
11. ábra. Átlagos belégzési áramlás (V_t/T_i) spontán légzéshez viszonyított változása két különböző beállítású NPPV során.



12. ábra. Az aktív belégzési arány (Ti/Ttot; “duty cycle”) spontán légzéshez viszonyított változása két különböző beállítású NPPV során.

5.1.2. Légzésmechanikai paraméterek

A 13. ábrán az egyik beteg jellegzetes légzésmechanikai paramétereit lehet látni spontán légzés és a két különböző módozatú NPPV alkalmazása során. Látható, hogy a belégzési nyomás emelkedésével a pleurális és transdiafragmatikus nyomások amplitúdója csökkent. Hi-NPPV alatt az esetek többségében a Pdi gyakorlatilag elsimult a Ppl pedig pozitív amplitúdójúvá vált (az ábrán nyilakkal jelölve), kontrollált gépi lélegeztetést sejtettvén ezáltal.



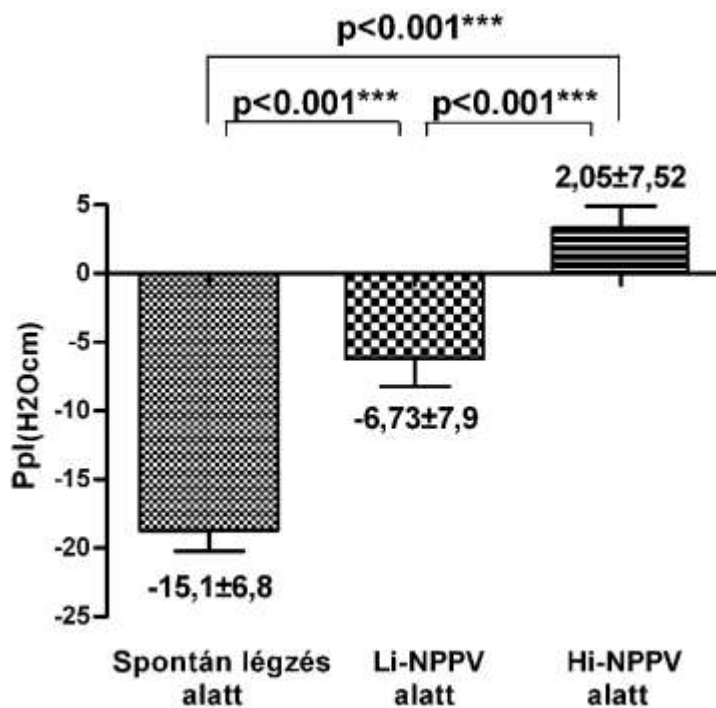
13. ábra. Légzésmechanikai paraméterek spontán légzés, Li-NPPV és Hi-NPPV alatt egy típusos betegben.

A légzésmechanikai paraméterek átlagértékeit a 4. táblázat mutatja. A pleurális (Ppl) és transzdiafragmatikus (Pdi) nyomás amplitúdója valamint a diaphragmatikus nyomás-idő szorzat egy légvételre (PTPdi/légvétel) illetve egy percre (PTPdi/perc) vonatkoztatott értékei csökkenést mutattak a spontán légzéshez viszonyítva mindkét lélegeztetési módban és ez a változás szignifikánsan magasabbnak bizonyult Hi-NPPV alkalmazása esetén (14; 15; 16; 17 ábrák). Ezen lélegeztetési beállítás alatt a 15 alanyból 9-nél a Pdi görbe gyakorlatilag elsimult, a pleurális nyomás pedig pozitívvá vált, kontrollált lélegeztetésnek megfelelő légzésmechanikai változásokat kialakítva ezáltal, amint ez a 13. ábrán látható. A Pdi görbe elsimulása miatt a PEEP_{i,dyn} nem volt kiszámítható. A fennmaradó 6 beteg közül, akiknél a Pdi görbe értékelhető volt, összesen 2 beteg esetében találtunk ineffektív légzési erő kifejtést, úgy a Li-NPPV (8.0±5.5%) mint a Hi-NPPV (1.2±2.8%) beállításban. NPPV alatt a tüdőellenállás csökkenését tapasztaltuk, viszont szignifikáns különbség nélkül a két lélegeztetési mód között.

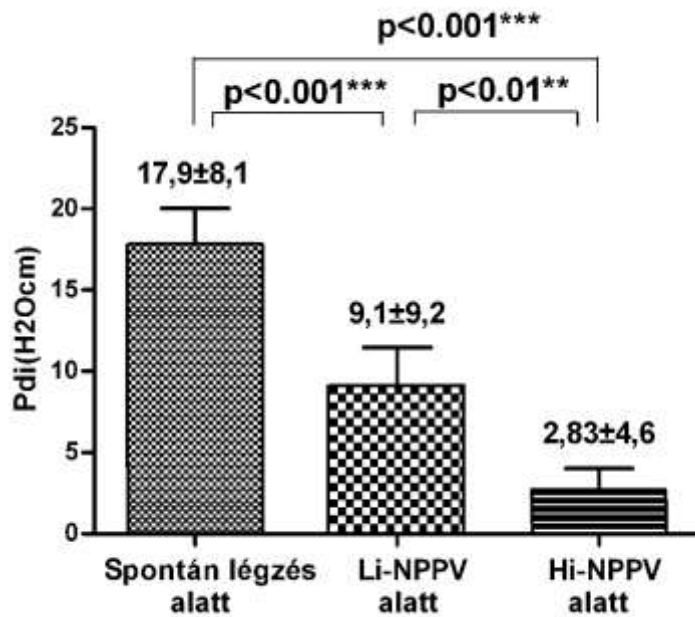
4. Táblázat Légzésmechanikai paraméterek COPD-s betegekben a két NPPV és spontán légzés mellett.

Para- méter	SL	Li- NPPV	Hi- NPPV	p érték		
				SL vs. Li-NPPV	SL vs. Hi-NPPV	Li-NPPV vs. Hi-NPPV
Ppl (H ₂ Ocm)	-15.1 ± 6.8	-6.73 ± 7.9	2.05 ± 7.52	<0.001	<0.001	<0.001
Pdi (H ₂ Ocm)	17.9 ± 8.1	9.09 ± 2.4	2.83 ± 4.6	<0.001	<0.001	<0.01
PTPdi (H ₂ Ocm*s)	14.9 ± 7.5	6.3 ± 5.9	1.6 ± 2.6	<0.001	<0.001	<0.01
PTPdi /min (H ₂ Ocm*s/perc)	323 ± 149	132 ± 139	40 ± 69	<0.001	<0.001	<0.01
Cldyn (l/H ₂ Ocm)	0.02 ± 0.014	0.03 ± 0.007	0.03 ± 0.009	NS	NS	NS
RL (H ₂ Ocm*s/l)	22.3 ± 14.6	11.0 ± 8.4	11.9 ± 9.7	<0.01	<0.05	NS

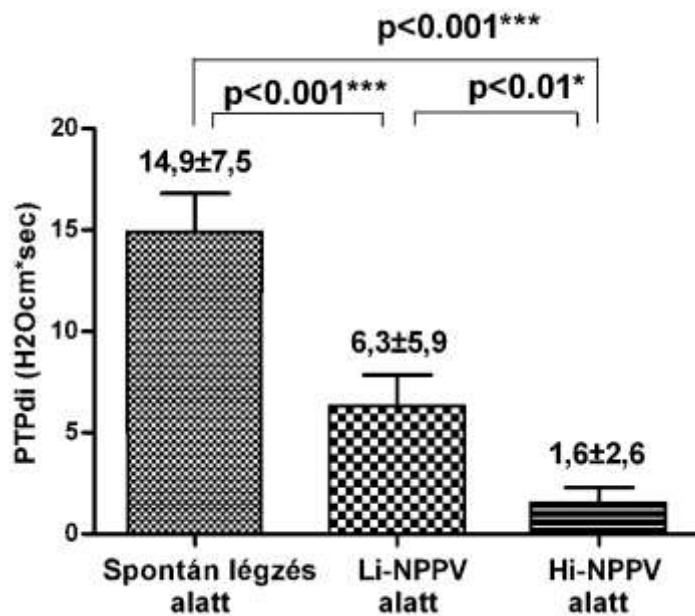
Ppl: pleurális nyomás; Pdi: tanszdiaphragmatikus nyomás; PTPdi: diaphragmatikus nyomás-idő szorzat; Cldyn: dinamikus compliance; RL: tüdő resistance; SL: spontán légzés; NS: nem szignifikáns.



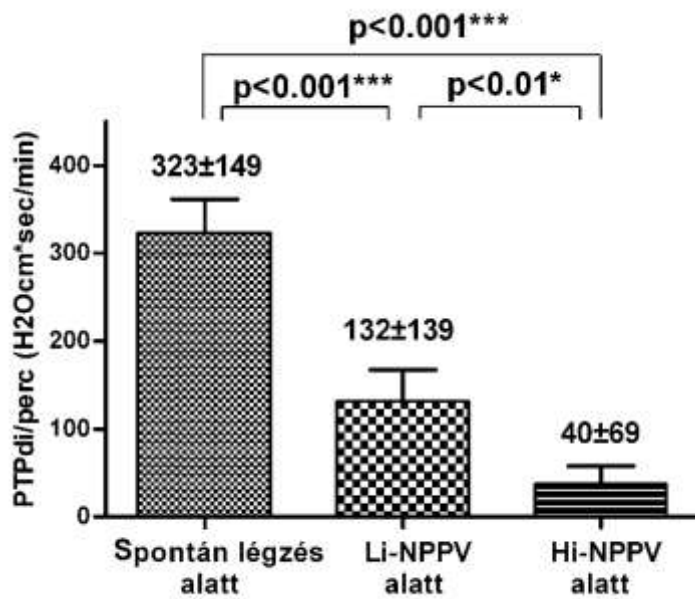
14. ábra. A pleurális nyomás (Ppl) spontán légzéshez viszonyított változása két különböző beállítású gépi lélegeztetés során.



15. ábra. A transzdiafragmatikus nyomás (Pdi) spontán légzéshez viszonyított változása két különböző beállítású NPPV során.



16. ábra. A diafragmatikus nyomás-idő szorzat (PTPdi/légzési ciklus) spontán légzéshez viszonyított változása két különböző beállítású NPPV során.



17. ábra. A diafragmatikus nyomás-idő szorzat (PTPdi/perc) spontán légzéshez viszonyított változása két különböző beállítású gépi lélegeztetés során.

5.1.3. Artériás vérgáz értékek

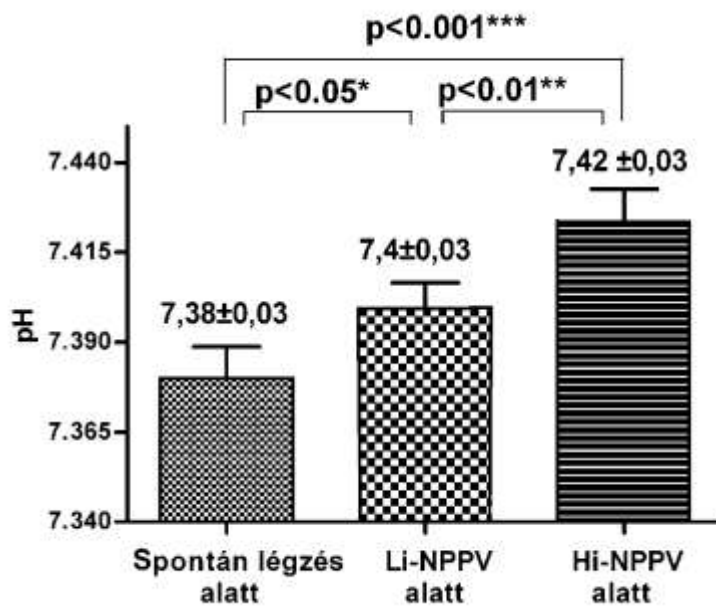
Az artériás vérgázparaméterek átlagértékeit az 5. táblázat mutatja. Mindkét gépi lélegeztetési beállításban az artériás pH és a PaCO₂ javulását figyeltük meg a spontán légzés alatti értékekhez viszonyítva (18; 19 ábra), viszont ez a különbség szignifikánsan magasabb volt Hi-NPPV beállítás alkalmazásakor.

5. Táblázat: Artériás vérgáz paraméterek COPD-s betegekben a két NPPV és spontán légzés mellett.

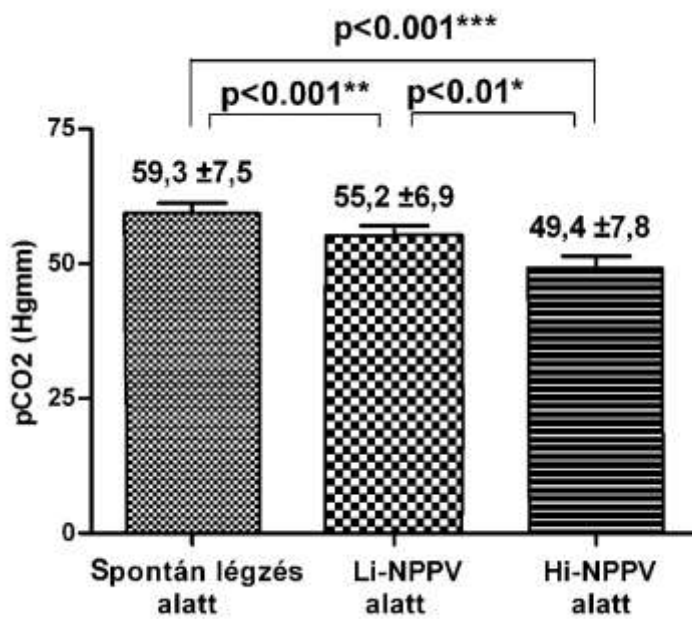
Para- méter	SL	Li-NPPV	Hi-NPPV	p érték		
				SL vs. Li-NPPV	SL vs. Hi-NPPV	Li-NPPV vs. Hi-NPPV
pH	7.38± 0.03	7.4 ± 0.03	7.42 ±0.03	<0.05	<0.001	<0.01

PaCO₂ (Hgmm)	59.3 ± 7.5	55.2 ± 6.9	49.4 ± 7.8	<0.001	<0.001	<0.01
PaO₂ (Hgmm)	67.8 ± 7.1	65.8±11.9	71.6±19.1	NS	NS	NS
HCO₃ (mmol/l)	30.8 ± 2.9	30.7 ± 2.2	30.7 ± 2.4	NS	NS	NS
BE (mmol/l)	8.3 ± 3.1	8.0 ± 2.7	7.6 ± 2.9	NS	NS	NS
FiO₂ (%)	24.2 ± 2.5	24.3±2.6	24.3±2.7	NS	NS	NS

SL: spontán légzés; NS: nem szignifikáns



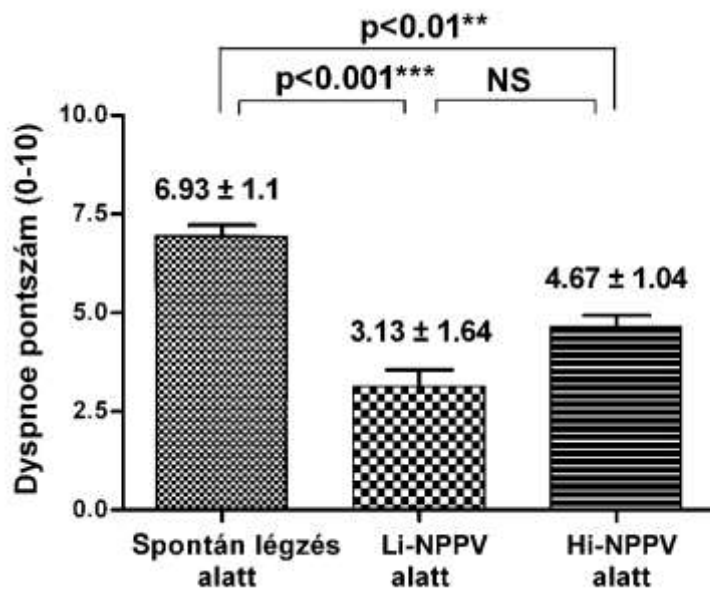
18 ábra. Az artériás pH spontán légzéshez viszonyított változása két különböző beállítású gépi lélegeztetés során.



19. ábra. Az artériás pCO₂ spontán légzéshez viszonyított változása két különböző beállítású gépi lélegeztetés során.

5.1.4. Diszpnoe pontszám

A dyspnoe pontszám tekintetében szignifikáns javulást találtunk gépi lélegeztetés alatt spontán légzéshez viszonyítva, de jelentős különbség nélkül a két gépi lélegeztetési mód összehasonlításában (6.93 ± 1.1 SL-ben; 3.13 ± 1.64 Li-NPPV-ben $p < 0.001$; 4.67 ± 1.04 Hi-NPPV-ben $p < 0.01$; 20. ábra).



20. ábra. Dyspnoe pontszám

5.1.5. Kardiovaszkuláris paraméterek és oxigénszállítás

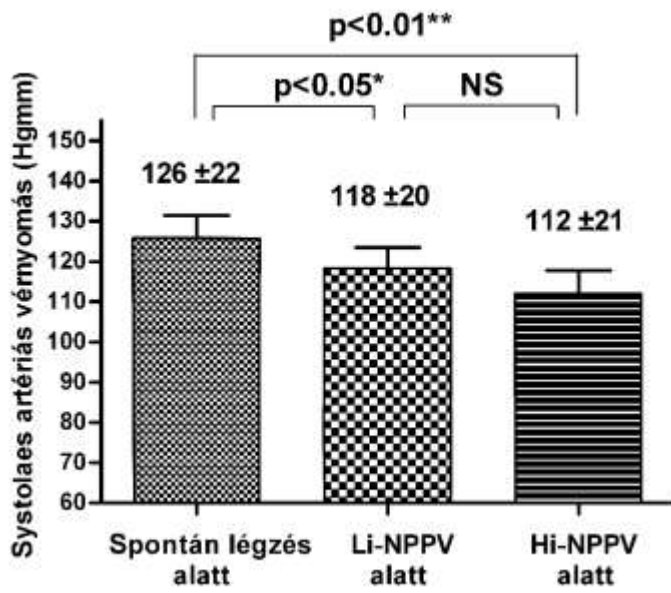
A mért kardiovaszkuláris paraméterek és oxigénszállítás átlagértékeit a 6. táblázat összegzi. A gépi lélegeztetés szignifikánsan csökkentette a systoles artériás vérnyomást (21. ábra), jelentős különbség nélkül a Hi-NPPV és Li-NPPV lélegeztetés módok között.

A NPPV során csökkenést észleltünk a pulzustérfogatban (22. ábra) a keringési perctérfogatban (23. ábra) valamint ennek a testfelületre vetített értékében. Mindezen változásokat szignifikánsan kifejezettebbnek találtuk a Hi-NPPV alatt a Li-NPPV-hez viszonyítva. Csökkenést tapasztaltunk továbbá az artériás oxigén szaturációból és perctérfogatból számított oxigénszállításban (DO_2) (24. ábra) és ennek a testfelületre vetített értékében (DO_2/m^2). Szignifikáns korrelációt találtunk a perctérfogat nyugalmi értékhez viszonyított %-os változása ($\Delta CO\% = 100 * (CO_{Hi-NPPV} - CO_{SL}) / CO_{SL}$ %) valamint a pleurális nyomás nyugalmi értékhez képest mért abszolút változása ($\Delta Ppl = Ppl_{Hi-NPPV} - Ppl_{SL}$) között Hi-NPPV lélegeztetés alatt spontán légzéshez viszonyítva ($r = -0.68$, $p < 0.01$). Nem találtunk összefüggést a bal kamrai ejekciós frakció és a CO nyugalmi értékhez viszonyított változása között.

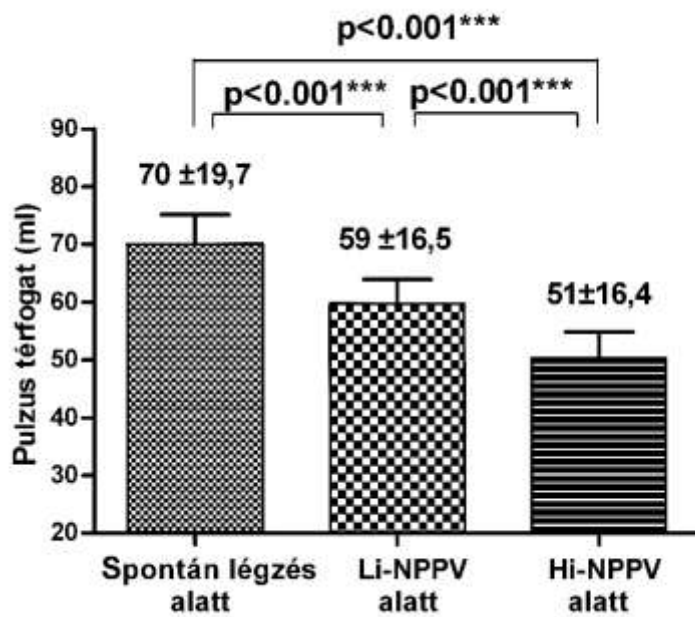
6. Táblázat. Kardiovaszkuláris paraméterek és oxigén transzport COPD-s betegekben a két NPPV és spontán légzés mellett.

Para- méter	SL	Li-NPPV	Hi- NPPV	Szignifikancia szint		
				SL vs. Li- NPPV	SL vs. Hi- NPPV	Li-NPPV vs. Hi-NPPV
SAP (Hgmm)	126 ± 22	118 ± 20	112 ± 21	p<0.05	p<0.01	NS
DAP (Hgmm)	71 ± 7.7	69 ± 7.8	70 ± 8.2	NS	NS	NS
MAP (Hgmm)	91 ± 11	87 ± 12	85 ± 12	NS	p<0.05	NS
HR (1/perc)	82 ± 15	81 ± 15	82 ± 14	NS	NS	NS
SV (ml)	70 ± 19.7	59 ± 16.5	51 ± 16.4	p<0.001	p<0.001	p<0.001
CO (l/perc)	5.5 ± 1.14	4.7 ± 0.98	4.0 ± 0.96	p<0.001	p<0.001	p<0.001
CO %	100 ± 0.0	84.4 ± 6.5	72.5 ± 7.6	p<0.001	p<0.001	p<0.001
CI (l/perc/m ²)	3.23±0.7	2.74 ± 0.6	2.33 ± 0.56	p<0.001	p<0.001	p<0.001
SO₂ %	92.6± 1.9	91.7 ± 4.5	93.4 ± 4.5	NS	NS	NS
DO₂ (ml/perc)	894±176	740 ± 150	656 ± 166	p<0.001	p<0.001	p<0.01
DO₂/ m² (ml/perc/m ²)	577±110	462 ± 93	409 ± 104	p<0.001	p<0.001	p<0.01

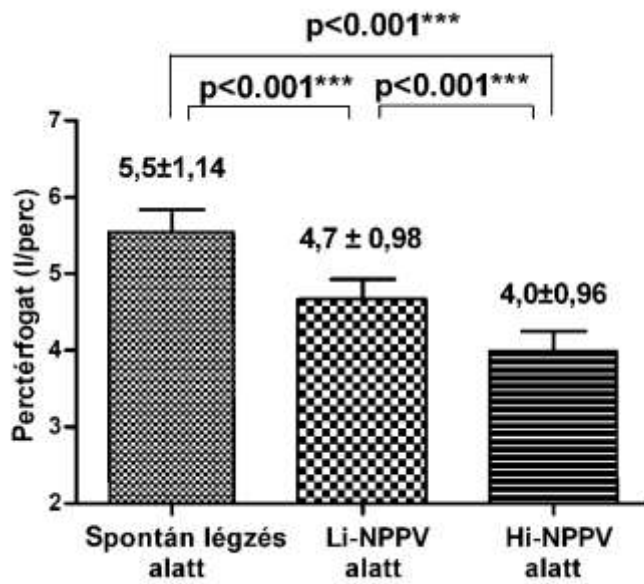
SAP: systolae artériás vérnyomás; DAP:diastolae artériás vérnyomás; MAP:átlagos artériás vérnyomás; HR: szív frekvencia; SV: stroke volume (pulzustérfogat); CO: cardiac output (keringési perc térfogat); CO% = CO*100/CObaseline; CI: cardiac index (=CO/testfelület m²); DO₂ : oxigén transzport; SL: spontán légzés; NS: nem szignifikáns.



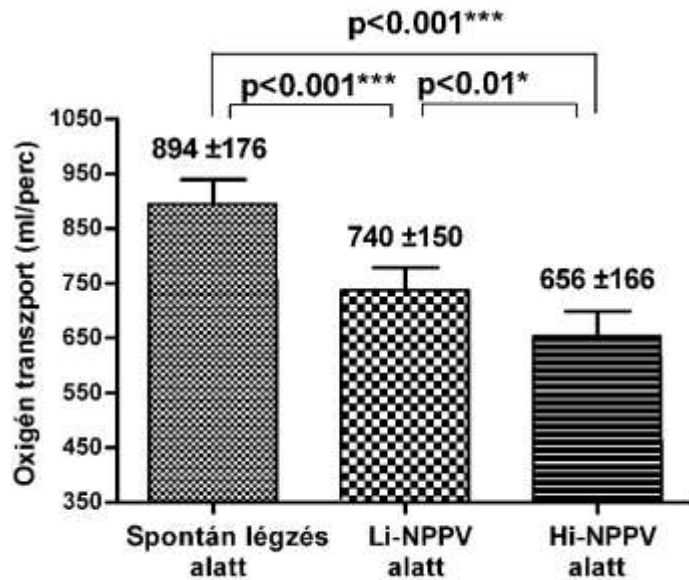
21. ábra. A systoles artériás vérnyomás spontán légzéshez viszonyított változása két különböző beállítású NPPV során.



22. ábra. A pulzustérfogat spontán légzéshez viszonyított változása két különböző beállítású NPPV során.



23. ábra. A perctérfogat spontán légzéshez viszonyított változása két különböző beállítású NPPV során.



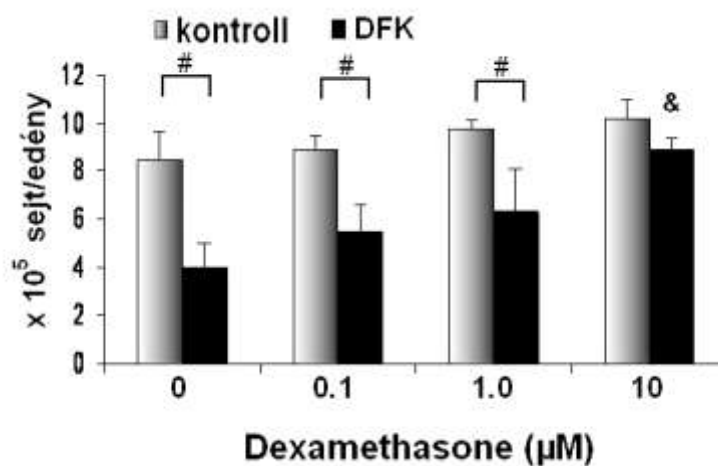
24. ábra. Az oxigén transzport spontán légzéshez viszonyított változása két különböző beállítású NPPV során.

5.2. Tüdő alveoláris sejtek vizsgálata

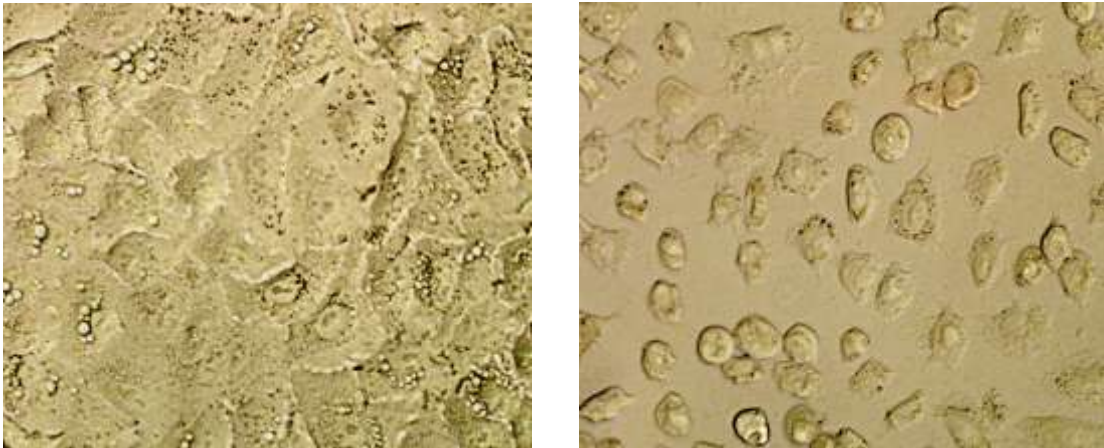
5.2.1. Sejtszám

A konfluens sejtenyészetekben átlagosan 3.0×10^5 sejt / ml volt a kiindulási sejtsűrűség. A kontroll csoportokban a 24 órás inkubációt követően a sejtszám $8.55 \pm 1.1 \times 10^5$ sejt/ml-re emelkedett. A különböző dózisú (0.1; 1.0; 10.0 μM) dexamethasonnal kezelt csoportokban, mérsékelt sejtszám növekedést tapasztaltunk a kontrollhoz képest.

A csak DFK-val kezelt csoportokban 24 órás inkubálást követően a sejtszám szignifikánsan csökkenését észleltük. Azokban a csoportokban, amelyekben DFK mellett különböző dózisú steroidot alkalmaztunk, a DEX koncentráció emelkedésével a sejtszámok szignifikáns emelkedését tapasztaltuk a csak DFK-val kezelt csoporthoz képest (25. ábra). A 26. ábrán a vizsgált alveoláris epithelsejtek fénymikroszkópos képe látható, kezelés nélkül (a.) és DFK kezeléssel (b.), 24 óra inkubáció után.



25. ábra: alveoláris epithelsejt tenyészetek 24 órás inkubációt követően mért sejtszámai, kezelés nélkül (0 μM DEX), növekvő dózisú dexamethason (0.1-1.0-10 μM DEX) alkalmazásakor, valamint dohányfüst kivonat és növekvő dózisú dexamethason (0.1-1.0-10 μM DEX) kombinációjának alkalmazása esetén. (& $p < 0.05$ vs. 0 μM DEX, # $p < 0.05$ vs. kontroll)



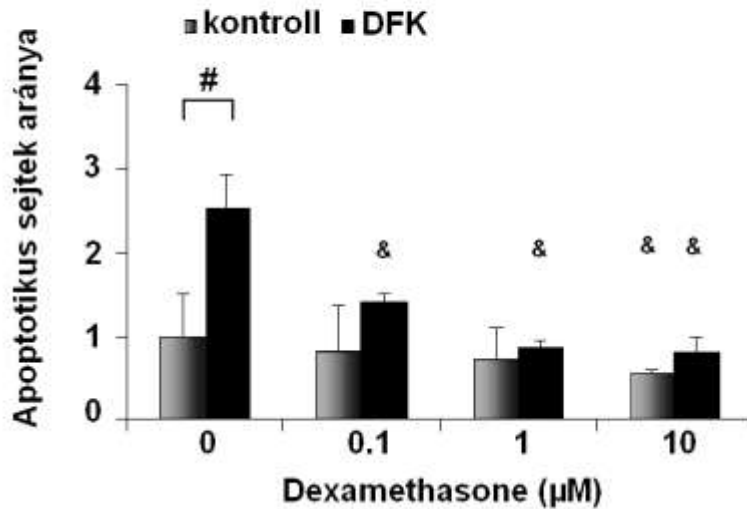
a.

b.

26. ábra A vizsgált alveoláris epithelsejtek 40-szeres nagyítássú fénymikroszkópos képei; a. kontroll sejtvonall; b. DFK kezelt sejtvonall. Látható, hogy a DFK-val kezelt sejt kultúra jelentősen sejt szegényebb.

5.2.2. Apoptózis

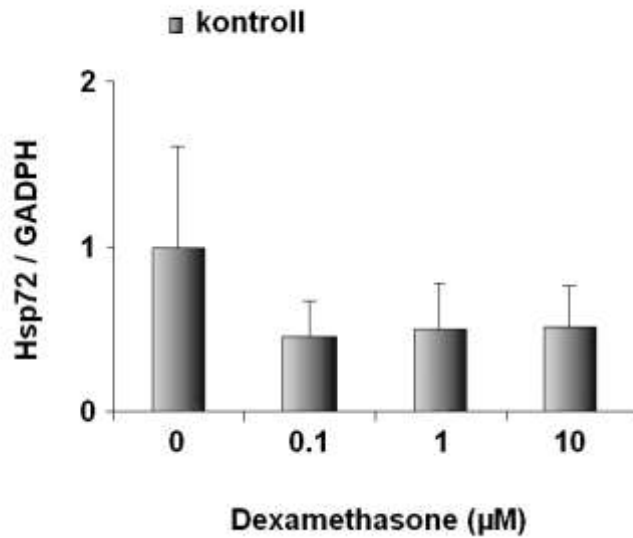
Glucocorticoid kezelés az apoptotikus sejtek arányát mérsékelten csökkentette, mely csökkenés csak a legnagyobb koncentráció (10 μ M DEX) alkalmazásakor volt szignifikáns a kontrollhoz képest. A csak DFK kezelt csoportban szignifikánsan emelkedett - közel háromszoros - apoptosiss arányt találtunk a kontroll csoporthoz képest. A DFK okozta jelentős mértékű apoptosiss arányt a DEX szignifikánsan csökkentette mely hatás az alkalmazott DEX koncentráció emelésével egyre kifejezettebbé vált (27. ábra).



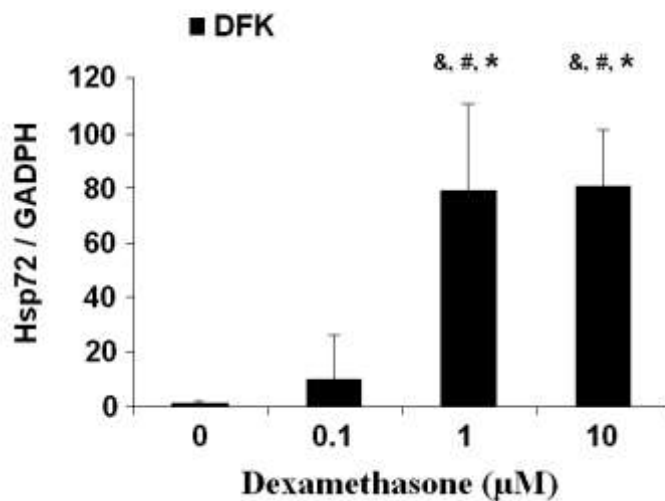
27. ábra. A kontroll csoportban mért apoptosist 1-nek véve, a többi csoportban mért értékeket a kontrollban mért érték arányában tüntettük fel. A 10 µmol/µl koncentrációjú DEX alkalmazásánál az apoptózis szignifikáns csökkenését tapasztaltuk. A DFK okozta markáns apoptosissal az emelkedést a hozzáadott DEX dóziszfüggő módon csökkentette. (& p <0.01 vs 0 µmol/µl DEX, # p <0.05 vs kontroll)

5.2.3. A HSP72 mRNS expresszió

A DEX kezelések önmagukban nem váltottak ki szignifikáns változást a Hsp 72 mRNS expresszióban (28. ábra). Az önmagában DFK kezelt csoportban a kontrollcsoporthoz hasonló alacsony Hsp72 mRNS koncentrációt mértünk. Ezzel ellentétben a DEX + DFK csoportokban, már 0,1 µM koncentráció alkalmazásakor a Hsp72 mRNS szint szignifikáns emelkedése volt tapasztalható. Ezen hatás maximumát az 1.0 µM DEX koncentráció mellett érte el, a DEX további emelése további mRNS emelkedéssel nem párosult (29. ábra).



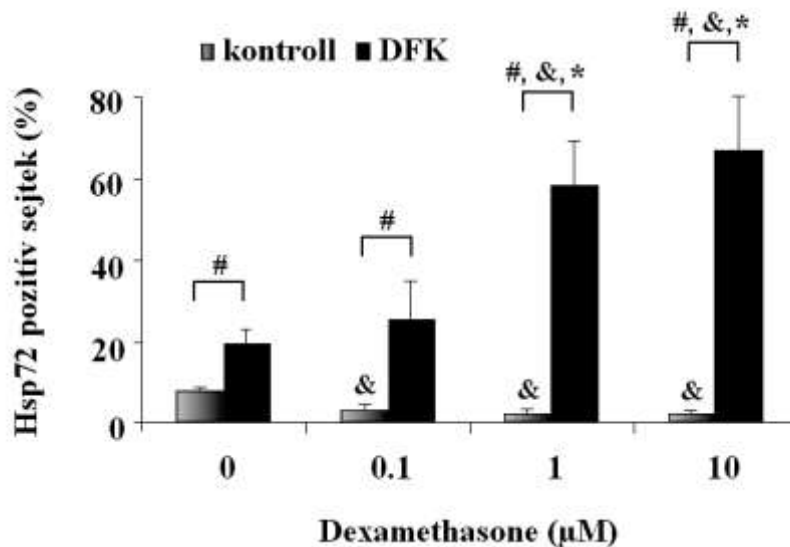
28. ábra. Alveoláris epithelsejtek Hsp72 mRNA expressziója kezelés nélkül és növekvő dózisú DEX kezelés hatására. A Hsp72 mRNA optikai denzitást párhuzamosan mért GAPDH mRNA érték alapján korigáltuk.



29. ábra. Hsp72 mRNA expresszió önmagában alkalmazott DFK, illetve DFK + növekvő koncentrációjú DEX kezelési kombinációk mellett. A steroiddal is kezelt csoportokban a Hsp72 mRNA expresszió szignifikáns emelkedése volt tapasztalható. (&p<0.01 vs 0 µmol/µl DEX; #p<0.05 vs kontroll; *p<0.01 vs 0.1 µmol/µl DEX)

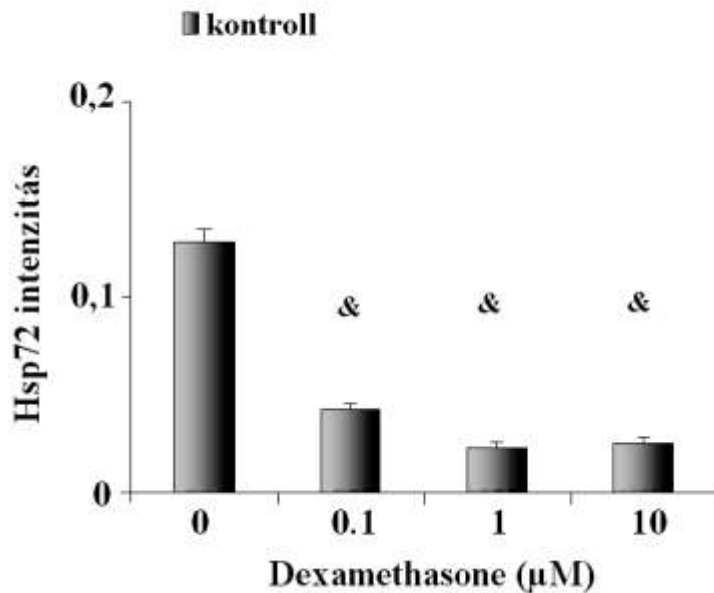
5.2.4. HSP72 fehérje expresszió

A Hsp72 fehérje expressziót a Hsp72 pozitív sejtek számával és ezen sejteken belüli Hsp72 tartalommal (intenzitással) jellemeztük. A kontroll csoportban a Hsp72 pozitív sejtek számát és a Hsp72 fehérje sejteken belüli intenzitását egyaránt alacsonynak találtuk (30, 31 ábra). DEX kezelés mellett úgy a Hsp72 pozitív sejtszám, mint azokon belüli Hsp72 fehérje tartalom szignifikáns dózisfüggő csökkenését tapasztaltuk a kontroll értékhez (0 DEX) viszonyítva (30, 31 ábra).



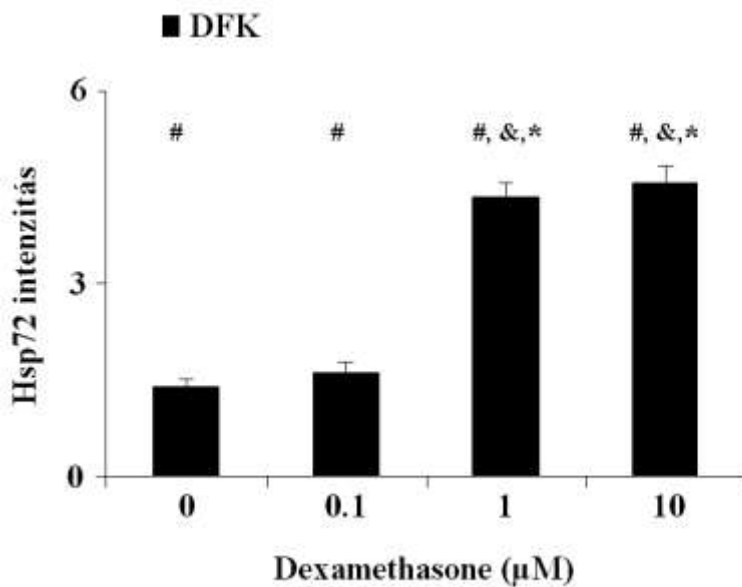
30. ábra: Hsp72 fehérjét expresszáló sejtek %-os aránya kontroll körülmények között, növekvő dózisú dexamethason kezelés- valamint DFK ill. DFK + növekvő dózisú DEX kezelés mellett. (&p< 0.01 vs 0 µMDEX; #p<0.01 vs kontroll; *p<0.01 vs 0.1 µM DEX)

A DFK kezelt csoportban úgy a Hsp72 pozitív sejtszám, mint pedig a pozitív sejteken belüli fehérje tartalom szignifikáns emelkedését tapasztaltuk a kontrollhoz viszonyítva (30; 32 ábra).



31. ábra. A Hsp72 pozitív sejtek Hsp72 fehérje tartalma kontroll csoportban (0 DEX) és 0.1; 1.0 valamint 10 µM koncentrációjú DEX kezelt csoportban. A Hsp72 fehérje tartalom intenzitás egységben vannak kifejezve. (&p< 0.01 vs 0 µmol/µl DEX; #p<0.01 vs kontroll; *p<0.01 vs 0.1 µMDEX)

DFK + steroid alkalmazása mellett a Hsp72 pozitív sejtszám további dóziszfüggő emelkedését tapasztaltuk, a 10 µM koncentrációjú DEX kezelt csoportban a Hsp72 pozitív sejtek száma elérte a 80%-ot (30. ábra). A DFK + DEX kezelt csoportokban a Hsp72 pozitív sejtek átlagos Hsp72 fehérje tartalma ugyancsak szignifikáns emelkedést mutatott az 1.0 µM és 10.0 µM alkalmazott DEX koncentrációkban a csak DFK-val kezelt csoporthoz viszonyítva (32. ábra).



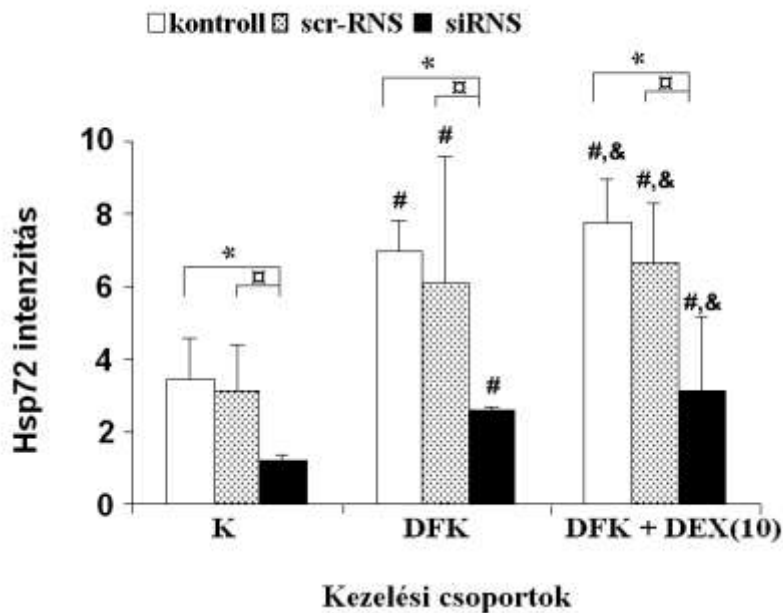
32. ábra: A Hsp72 pozitív sejtek Hsp72 fehérje tartalma DFK kezelt, valamint DFK + különböző koncentrációjú DEX kezelt csoportokban. A Hsp72 fehérje tartalom intenzitás egységben van kifejezve. (&p< 0.01 vs 0 µM DEX; #p<0.01 vs kontroll; *p<0.01 vs 0.1 µM DEX)

5.2.5. „Csendesítő” transzfekciót követő eredményeink

Transzfekciós kísérleteink célja az volt, hogy igazoljuk a különböző kezelések során észlelt HSP72 változások és sejt apoptózis közötti összefüggést.

Csendesítő mRNS transzfekciós kísérletet végeztünk szteroid mentes kontroll, csak DFK-val kezelt, valamint DFK + 10µM koncentrációjú DEX kezelt csoportokban. A legmagasabb dózisú DEX csoportot azért választottuk, mert a megelőző kísérleteink során ebben a csoportban találtuk a legkifejezettebb Hsp72 fehérje expressziót. Csendesítő transzfekciós kísérleteink során vizsgáltuk, a HSP72 fehérjét expresszáló sejtek arányát, ezen sejteken belüli HSP72 fehérje intenzitást valamint az apoptózis arányt.

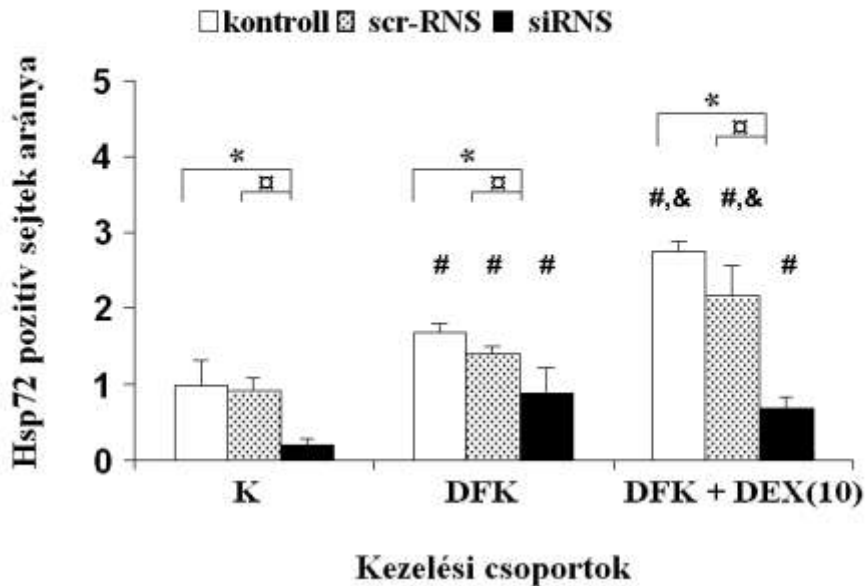
Míg az „ál csendesítő” RNS (scr-RNS) transfectio nem volt hatással a sejten belüli Hsp72 fehérje expresszióra, addig a „csendesítő” RNS (siRNS) transfectio szignifikáns csökkenést okozott a Hsp72 intracelluláris expressziójában (33. ábra).



33. ábra: A Hsp72 fehérje intracelluláris expressioja „csendesítő” mRNS és „álcsendesítő” mRNS transfectiót követően. (& $p < 0.01$ vs DFK-tal kezelt csoportok, # $p < 0.05$ vs szteroid-mentes kontroll csoportok, * $p < 0.01$ vs. kontroll és □ $p < 0.01$ vs. scr csoportok)

Ehhez hasonlóan az scrRNS mellett nem találtunk változást a Hsp72 pozitivitást mutató sejtek arányában, míg siRNS alkalmazása mellett a Hsp72 pozitív sejtszám szignifikáns, csökkenését tapasztaltuk a vizsgált csoportokban (34. ábra).

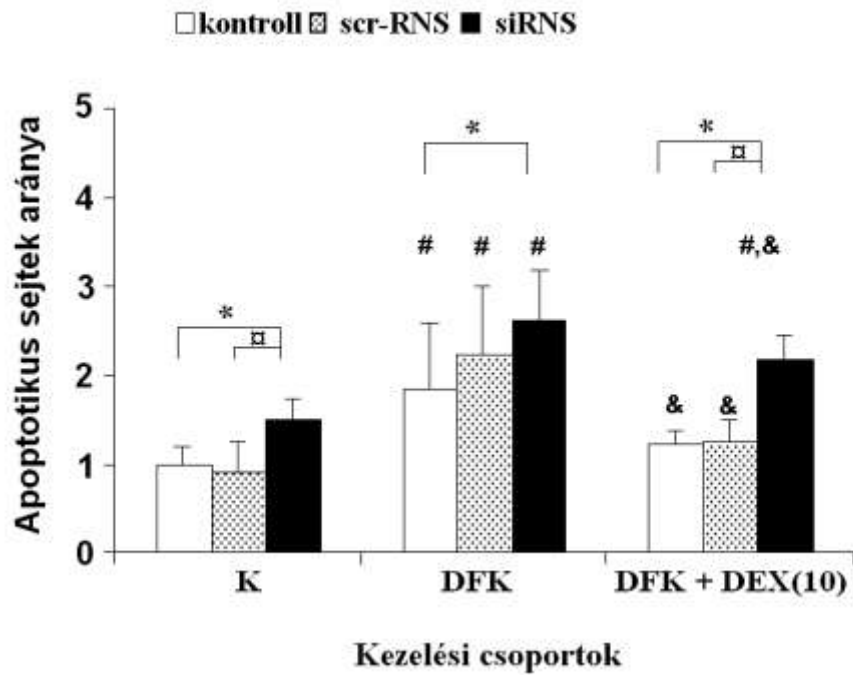
Az siRNS-t transfectiót követő, kontrollhoz viszonyított legmarkánsabb csökkenés a Hsp72 pozitív sejtek arányában, illetve a pozitív sejtek intracelluláris Hsp72 fehérje tartalmában, a DFK + 10 μ M DEX kombinációval kezelt csoportban volt tapasztalható.



34. ábra: A Hsp72 pozitívítást mutató sejtek aránya simRNS és scr-mRNS transfectiot követően. (& $p < 0.01$ vs. DFK-tal kezelt csoport, # $p < 0.05$ vs. kontroll csoport, * $p < 0.01$ vs. kontroll és □ $p < 0.01$ vs. scr csoportok)

Az siRNS-el történt transfectio kapcsán kialakult csökkent Hsp72 fehérje expresszióval párhuzamosan, az apoptotikus sejtek arányának szignifikáns emelkedését tapasztaltuk minden csoportban (35. ábra).

Transfekciós kísérleteinkkel bizonyítottuk a direkt összefüggést az intracelluláris Hsp72 szint és a programozott sejthalál között.



35. ábra. Az apoptotikus sejtek arányának változása simRNS és scr-mRNS transfectiot követően. (& p < 0.01 vs. DFK kezelt csoport, # p < 0.05 vs. kontroll csoport, * p < 0.01 vs. kontroll, és □ p < 0.01 vs. scr-mRNS csoport)

6. MEGBESZÉLÉS

6.1. Élettani változások globális légzési elégtelen COPD-s betegek neminvaszív lélegeztetése során

A NPPV-t változó sikerrel alkalmazták krónikus hyperkapniás COPD-ben szenvedő betegek lélegeztetésére [58]. Ennek okaként egyes kutatók azt feltételezték, hogy az alkalmazott nyomásértékek túl alacsonyak a megfelelő percventiláció eléréséhez. Ezen hipotézisből kiindulva németországi kutatók kidolgoztak egy úgynevezett magas intenzitású neminvaszív gépi lélegeztetési (Hi-NPPV) technikát, melynek elsődleges célja az artériás PCO_2 maximális redukciója és a klinikai állapot javítása volt [61, 62, 63]. Korábbi klinikai vizsgálatok igazolták, hogy ezen lélegeztetési mód a gázcserre javításán túl más klinikai paraméterekre is pozitív hatással van, mint pl. a fizikai aktivitás során fellépő dyspnoea, a légzési funkcióra és az életminőségre [62, 63].

Jelen vizsgálatban kiértékeljük, hogy milyen akut élettani változásokat indukál a Hi-NPPV és igazoltuk, hogy hatékonyabban javítja az artériás PCO_2 szintet, mint a hagyományos lélegeztetési mód a nagyobb légzési térfogatnak és percventilációnak köszönhetően. Hi-NPPV alkalmazása mellett a PTPdi markáns csökkenését tapasztaltuk, mely a rekeszizom oxigén felhasználásának mutatója. Csökkenést tapasztaltuk viszont a pulzustérfogatban és a keringési perctérfogatban Hi-NPPV lélegeztetés alatt, mely korlátozhatja ezen gépi lélegeztetési mód alkalmazását bizonyos szívbetegségek egyidejű fennállása esetén.

A Hi-NPPV legfontosabb célja a kórosan magas PaCO_2 -nek a lehető leghatékonyabb csökkentése. A tudomány jelen állása szerint nem világos viszont az, hogy a hyperkapnia önmagában mennyiben befolyásolja, vagy befolyásolja-e egyáltalán ezen betegek túlélését [64, 65].

A betegek nagy részében a Pdi görbe elsimulását, tehát a rekeszizom inaktivitását tapasztaltuk, mely alapján felmerül az inaktivitás indukálta rekeszizom atrófia lehetősége [109], mint a Hi-NPPV-nek egy lehetséges mellékhatása. Ennek a rizikóját viszont minimálisnak gondoljuk, egyrészt, mert a súlyos COPD-s betegekben megfigyelt izomrost átalakulás (II. típusú I. típusúvá) miatt a légzőizomrostok

feltételezhetően kevésbé fáradékonyak, mint a normál személyekben [110], másrészt pedig mert Hi-NPPV alatt a betegnek megmaradhat valamennyi légzőizom aktivitása, mely minimalizálja az esetleges atrófiát [111].

Egy másik kedvezőtlen hatása a Hi-NPPV-nek a tüdők dinamikus hyperinflációjának további romlása lehet. A Hi-NPPV lélegeztetés során az esetek döntő többségében a belégző izmok teljes leállása következtében a PEEP_{dyn} kiszámolása lehetetlenné vált a P_{di} görbéből. Mindemellett a magas légzési térfogatok és a COPD-s betegek megnövekedett kilégzési időkonstans értékei alapján nagyobb mértékű dinamikus hyperinfláció valószínűsíthető, mint spontán légzés vagy Li-NPPV lélegeztetés alatt. A megnövekedett dinamikus hyperinfláció hozzájárulhat a megnövekedett barotrauma rizikóhoz, ezentúl lehetnek kardiovaszkuláris mellékhatásai is.

COPD-s betegekben a globális légzési elégtelenség kialakulása elsősorban az alveoláris hypoventilációval függ össze, melyet számszerűleg a holtér (V_d) és a légzési térfogat (V_t) arányának jelentős emelkedésével lehet kifejezni. Ezen betegcsoportban a légzési térfogat csökken, a holtér pedig növekszik. Az elfáradt légzőizomzatú betegnél egy gyors és felszínes légzési mintázat vezet a V_t csökkenéséhez, míg a megnövekedett V_d döntően a súlyos ventiláció-perfúzió aránytalanság (V_a/Q) következménye [112]. A NPPV során az alkalmazott pozitív légúti nyomás növeli a V_t-t és csökkenti a V_a/Q aránytalanságot, így hozzájárul az előzőekben vázolt káros folyamat megfordításához. Neumann és munkatársai [113] egy állatkísérletben a V_a/Q inhomogenitás javulását tapasztalták CPAP lélegeztetés során. Lorx és munkatársai [114] alacsony frekvenciás forszírozott oszcillációs technikával vizsgálták a légúti és a szöveti mechanikát gépi lélegeztetett betegeken, melynek során azt találták, hogy a magasabb PEEP értékek alkalmazásával javult a perifériás légutak áramlásának homogenitása. A Hi-NPPV során alkalmazott magasabb nyomásnak és következményesen magasabb V_t-nek (és percventilációnak) tulajdonítható az alveoláris hypoventiláció nagyobb mértékű javulása, még a megnövelt nyomás miatti magasabb résveszteség mellett is.

A dyspnoe pontszám szignifikánsan csökkent a nyugalmi légzéshez viszonyítva, mindkét lélegeztetési mód alkalmazása idején, sőt az IE (ineffective efforts) - a gép-beteg aszinkronitás indexe - is hasonlóan alacsony mértékű volt mindkét gépi beállítás során. Mindamellett 3 beteg a 15-ből nem tolerálta a 25 H₂Ocm-nél magasabb belégzési nyomást, emiatt a fokozatos nyomásemelést meg kellett állítanunk ezen az értéken. Megfigyeléseinkkel ellentétben Windisch és munkatársai azt találták, hogy a Hi-NPPV

beállítást a betegek hosszú távon jobban tolerálták [62]. Vizsgálatunk tapasztalatai viszont azt sugallják, hogy a lélegeztetés során beállított nyomásértékeket körültekintően és egyénre szabottan, hosszabb idő alatt fokozatosan kell beállítani a betegek compliance-e alapján, tehát “fix recepteket” nem lehet alkalmazni.

A Hi-NPPV legfontosabb célja a beteg spontán légzése feletti teljes kontroll elérése, viszont ennek elérését eddig még soha nem vizsgálták. Vizsgálatunkban drámai csökkenést mutattunk ki a PTPdi-ben Hi-NPPV során. Átlagban 90%-os csökkenés volt a spontán légzés és 70%-os csökkenés a Li-NPPV során mért értékhez viszonyítva. A vizsgált 15 betegből 9 esetben a rekeszizom teljes inaktivitását tapasztaltuk. A légzőizmok nyugalmi helyzetbe kerülésének mechanizmusa nem kizárólag a magas inspiratorikus nyomástámogatásnak köszönhető, ezen folyamatban közrejátszott a csökkent aktív belégzési isó arány (Ti/T_{tot} „duty cycle”) és a magasabb inspiratorikus áramlás is, melyet a Hi-NPPV során tapasztaltunk. Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy a COPD-s betegekben a Ti (inspirációs idő) csökkentése valamint a belégzési áramlás növelése, a légzőizomzat erőkifejtés csökkenéséhez vezet [115].

Vizsgálatunk során szignifikáns különbségeket találtunk a cardiovascularis paraméterekben a két lélegeztetési mód során. Mint várható volt, mindkét típusú lélegeztetés fokozta az intrathoracalis és pleuralis nyomást, valamint a tüdőterefogatot a spontán légzés során mért értékekhez viszonyítva. Ezen változások egymástól függetlenül befolyásolták egyrészt a jobb pitvari telődést, ezen keresztül a jobb kamrai preloadot valamint a kisvérköri ellenállást (a jobb kamrai afterloadot), melyek a cardiovascularis teljesítmény kulcsfontosságú paraméterei. A spontán légzés és a Li-NPPV során negatív pleurális nyomást tapasztaltunk, ellentétben a Hi-NPPV során tapasztaltakkal, amikor a Ppl-en pozitív kilengés jelentkezett belégzés idején, mely feltehetően csökkent vénás visszaáramlást és ezáltal csökkent jobb szívfél preloadot eredményezett. Ezen túlmenően a Hi-NPPV során tapasztalt megnövekedett tüdővolumen kisvérköri vascularis rezisztencia emelkedést is okozhatott, ezáltal megnövelvén a jobb szívfél utóterhelését. Az általunk alkalmazott neminvaszív technikával mért cardiovascularis változások összhangban vannak a Marangoni és munkatársai [116] valamint Ambrosino és munkatársai [117] által korábban mértekkel. Mindkét korábbi vizsgálatban keringési perctérfogat csökkenést találtak NPPV során, főleg mikor PEEP-et is alkalmaztak. Megjegyzendő azonban, hogy ezen korábbi vizsgálatokban nem történtek mérések magas IPAP értékkel történő (mint pl. a Hi-

NPPV) gépi lélegeztetés cardiovascularis hatásainak megítélésére. Fontos megjegyezni azt, hogy a szöveti perfúziós indexek hiányában az általunk mért perctérfogat csökkenés klinikai konzekvenciái nem ismertek és nem feltétlenül károsak. A szívfrekvencia nem változott, a systolais vérnyomás csökkenésének klinikai jelentősége pedig bizonytalan. Elképzelhető, hogy a csökkent perctérfogat részben a nyugalomba helyezett légzőizomzat miatt várható csökkent metabolikus igényt tükrözi.

Vizsgálatunkban kimutattuk, hogy COPD-s betegekben alkalmazott Hi-NPPV lélegeztetési mód hatékonyabb mint a Li-NPPV a gázcsere javítása és a beteg légzési erőfeszítésének csökkentése tekintetében. A Hi-NPPV sok esetben úgy működik mit egy kontrollált lélegeztetési mód, emiatt belégzésben pozitív kilengést okoz a pleurális nyomásban, csökkentvén ezáltal a keringési perctérfogatot. A szívteljesítmény ezen változásának a klinikai jelentősége további hosszú távú vizsgálatokat igényel, különösen azon betegekben, akik a COPD-n kívül valamilyen cardiovascularis betegségben is szenvednek. Eredményeink a Hi-NPPV akut fiziológiai hatásaira vonatkoznak, ezért az alvási struktúrára, légzésmechanikára, gázcserére valamint a szívteljesítményre gyakorolt hosszú távú hatás további vizsgálatokat igényel.

6.2. Tüdő alveoláris sejtek vizsgálata

Dolgozatom második felében a COPD kialakulásához vezető elsődleges oknak, a dohányfüstnek, tüdősejtekre gyakorolt hatását tárgyalom.

A dohányfüst alveoláris epithelsejtekre gyakorolt károsító hatása fontos mozzanat az emphysema ill. COPD kialakulásában [118]. A dohányfüst expozíció indukálta programozott sejthalál szerepet játszhat a tüdősejtek és tüdőszövet pusztulásában, habár ennek szerepe a COPD pathogenezisében még nem tisztázott [119]. COPD-s tüdőszövet vizsgálata során emelkedett apoptotikus sejtszám volt kimutatható, ellentétben a nem dohányzó vagy dohányzó de nem COPD-s tüdőszövettel szemben [120]. Korábbi vizsgálatok igazolták, hogy a DFK magas koncentrációban alveoláris sejtek pusztulását okozza reaktív oxigéngyökök ill. apoptosis indukciója útján [121]. A sejttoxicitás okozta necrosis ugyancsak hozzájárulhat a DFK okozta sejtpusztuláshoz [122]. A DFK proinflammatorikus cytokineket aktivál, melyek által kiváltott gyulladási válasz is hozzájárulhat az alveoláris sejtek károsodásához [123].

Kísérleteinkben az aleolusokban jelen lévő legfontosabb sejttípus immortalizált változatát (A549) használtuk. Ezt a sejtvonalat használják az alveoláris II. típusú epithelsejtre (AT II.) vonatkozó korábbi sejttélettani kutatásokban is [124]. Ez a sejttípus adja az alveoláris epithelsejtek kb. 60%-át, 15%-ban vesz részt a tüdőparenchymát alkotó sejtek között, noha a tüdő alveoláris felületének csak kevesebb mint 5%-át borítja. Ezek a sejtek többfunkciós szerepet játszanak az alveoláris homeostasis fenntartásában, alveoláris barriert képezvén, surfactant termelése révén valamint AT I. sejtekké való differenciálódás révén vesznek részt a javító folyamatokban [125].

A legtöbb COPD-s beteg dohányos vagy korábbi dohányos. Egyre több bizonyíték van arra vonatkozóan, hogy a dohányzás indukálta tüdőbetegségek kialakulásában vagy az azzal szembeni rezisztenciában a genetikai hajlam döntő fontosságú [126]. Az asztmától eltérően a COPD-t döntően szteroid rezisztens gyulladásos betegségnek tekintjük, habár súlyos esetekben szteroidok alkalmazása javasolt ebben a betegcsoportban is [48]. A cigarettafüst és szteroid közötti kölcsönhatás nem teljesen tisztázott. COPD-ben a szteroid kezelés sikertelensége a glucocorticoid receptorhoz való csökkent kötődéssel, csökkent glucocorticoid receptor expresszióval, illetve a gyulladásos utak fokozott aktiválódásával magyarázható [45, 46].

Kísérleti eredményeink azt igazolták, hogy a szteroid kezelés kizárólag a DFK kezelt alveoláris sejtekben javította a túlélést és fokozta a proliferációt. Kevés klinikai adat van arra vonatkozóan, hogy milyen hosszútávú hatásuk van a glucocorticoidoknak COPD-s, illetve tüdőtumoros betegekben. Shaker és munkatársai igazolták, hogy hosszútávú inhalációs szteroid (budesonid) használata mellett csökkent az emphysema progressioja, dohányzó COPD-s betegekben [29]. Kiri és munkatársai kimutatták, hogy az inhalációs corticosteroidokkal kezelt, dohányzást abbahagyó COPD-s betegekben csökken a tüdőtumor kialakulásának incidenciája, ami azt sugallja, hogy az alveoláris apoptózis és azt követő gyulladás gátlásával késleltethetjük a daganat kialakulásának valószínűségét [28].

Ellentmondásos adatok vannak arra vonatkozóan, hogy a szteroidok miként fejtik ki hatásukat az emberi sejtekre. A glucocorticoidoknak pro-apoptotikus hatásuk van a gyulladásos sejtekre, viszont az epitheliális sejtekre feltételezhetően anti-apoptotikus hatást gyakorolnak [127, 128]. Dorscheid és munkatársai igazolták, hogy a corticosteroidoknak apoptotikus hatásuk van légúti hám tenyészeteken [129], másrészt Wen és munkatársai kimutatták, hogy a dexamethason alveoláris epitheliumra anti-

apoptotikus hatást fejt ki [130]. Kísérleteink során, kontroll körülmények között a szteroid kezelés nem befolyásolta az alveoláris epithelsejtek apoptosist, necrosist illetve a sejten belüli Hsp72 mRNS és fehérje expressziót. Ezzel szemben a DEX kezelés dóziszfüggő módon, az apoptózis csökkentése révén szignifikánsan javította a sejtek túlélését és sejtproliferációt a DFK kezelt sejtvonalakon.

Kísérleteink során megvizsgáltuk, hogy a Hsp72 hőszokk fehérjének milyen szerepe van a DFK által sejtekre gyakorolt stresszhatásban illetve a glucocorticoidok DFK okozta sejtpusztulást csökkentő hatásában. Korábbi kutatási eredmények szerint a Hsp72 sejtvédő hatású, úgy az apoptosissal mint a sejtnecrosissal szemben [131, 132]. Kísérleteink során elsőként bizonyítottuk, hogy alveoláris epithel sejtekben DFK hatására az intracelluláris Hsp72 fehérje szint emelkedik. DFK kezelés hatására a Hsp72 mRNS szintjének változása nélkül, a sejten belüli Hsp72 fehérje szint emelkedését és a Hsp72 + sejtek arányának növekedését tapasztaltuk. Ennek a jelenségnek egyik valószínű magyarázata lehet, hogy a dohányfüst kivonat vagy egyéb káros noxák hatására aktiválódnak a sejtek védelmi mechanizmusai, melynek részét képezi a Hsp72 csökkent degradációja.

Kísérleteinkben a DFK-nak kitett sejtkultúrákban alkalmazott és DEX kezelés csökkentette az apoptosist és ezzel párhuzamosan nőtt a Hsp72+ sejtek száma illetve ezen sejtekben a Hsp72 fehérje expresszió intenzitása. Felmerült a kérdés, hogy a szteroidhatással párhuzamosan emelkedő Hsp72 szintnek van-e szerepe a szteroid okozta sejtvédő mechanizmusban DFK-nak kitett alveoláris epithelsejtekben. A DFK + DEX - el kezelt sejtkultúrákban, Hsp72 csendesítő mRNS transfectio után a Hsp72 mRNS és Hsp72 fehérje expressziójának a leállítását tapasztaltuk, mellyel párhuzamosan nőtt az apoptotikus sejtek aránya. Ezen eredményeink megerősítették a Hsp72 dohányfüst kivonat hatására történő sejtbeli indukcióját, és rámutattak a Hsp72 kulcsfontosságú szerepére a DFK okozta celluláris stresszre adott válaszban. A magas intracelluláris Hsp72 szint stresszválaszként ismert jelenség. Különböző stresszhatások mellett a citoplazmatikus hőszokk faktor-1 (HSF-1) aktiválódik, a sejtmagba transzlokálódik és megindítja a Hsp gén transzkripcióját. Ezzel párhuzamosan az intracelluláris Hsp kifejti sejtprotektív hatását a sejt anti-apoptotikus mechanizmusainak indukciója útján.

A Hsp72 elnyomja bizonyos gének expresszióját, megváltoztatja a sejtciklus menetét és anti-inflamatorikus hatást is kifejti [14, 15, 15, 133]. Másrészt a Hsp-k szekretálódhatnak a sejtől az extracelluláris térbe, vészjelző molekulaként fontos

szerepet játszván az immunrendszer stressz idején történő aktivációjában. Az extracelluláris Hsp-k stimulálják a proinflammatorikus cytokin szintézist, valamint támogatják az immunrendszer tumorellenes aktivitását [18, 134].

Kísérleteink alapján, dohányfüst kivonat expozíció után a Hsp70 indukálható formájának (Hsp72) jelenléte nélkülözhetetlennek bizonyult a szteroid hatás létrejöttéhez, viszont további vizsgálatok szükségesek annak kiderítésére, hogy a DFK milyen változásokat indukál a glucocorticoid receptor működésében.

Kísérleteink során megerősítést nyert a DFK alveolaris epithelsejt vonalon indukált apoptotikus és necrotikus hatása. A dohányfüst kivonattal párhuzamosan alkalmazott dexamethasone az apoptosis csökkentése révén mérsékelte a DFK okozta celluláris károsodást. Ki kell emelnünk, hogy ez az első közlemény, mely bemutatja, hogy a DEX-DFK kombináció alveoláris epithelsejtekkel való interakciója során a Hsp72-nek kulcsfontosságú szerepe van a sejtek túlélésében. A csendesítő Hsp72 mRNS-el történt kísérleteink megerősítették, hogy a magas intracelluláris Hsp72 szint elengedhetetlen a DEX dohányfüst expozíciót követően kifejtett antiapoptotikus hatásában. A Hsp72 egy új kulcsmolekula és potenciális terápiás célpont lehet a dohányfüst hatásnak kitett tüdősejtek kezelésében. Mivel sok millió dohányos beteg áll glucocorticoid kezelés alatt, emiatt további adatok lehetnek szükségesek a glucocorticoidok és a dohányfüst kölcsönhatásairól. A témakörben végzett további vizsgálatok szükségesek annak eldöntésére, hogy milyen szerepe lehet a Hsp72 fehérjének a dohányos és nem dohányos egyéneknél a COPD pathogenesisében, különösen az alveolus falak destrukciójában.

7. KÖVETKEZTETÉSEK

7.1. Élettani változások globális légzési elégtelen COPD-s betegek neminvaszív lélegeztetése során

Hi-NPPV alatt:

1. Szignifikánsan nőtt a V_t és a percventilláció, valamint szignifikánsan csökkent az inspirációs idő és az aktív belégzési arány („duty cycle”).
2. Szignifikánsan nőtt a P_{di} amplitúdó és drámaian csökkent a PTP_{di} .
3. Szignifikánsan javult az artériás pH és csökkent a $PaCO_2$, a dyspnoe pontszám szignifikáns csökkenésével.
4. Szignifikáns csökkenés következett be a keringési perctérfogatban és oxigén transzportban.

7.2. Tüdő alveoláris sejtek vizsgálata

5. „Dohányzó géppel” stabil minőségű DFK-t sikerült előállítanunk.
6. A DFK, alveoláris epithelsejt tenyészetben szignifikánsan növelte a sejtpusztulást.
7. DFK és glucocorticoid együttes alkalmazásakor az apoptózis mértéke a DEX dóziséval arányosan csökkent és ezzel párhuzamosan nőtt a sejtek HSP72 tartalma.
8. Transfectios kísérleteinkkel igazoltuk, hogy a DEX ezen sejtvédő hatásában kulcsszerepet játszik a HSP72.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

A dohányzás számos halálos betegség hátterében kóroki tényezőként szerepel. Az egyik leggyakoribb, dohányzás okozta a tüdőt érintő megbetegedés a krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD), melynek előrehaladott stádiumában globális légzési elégtelenség alakulhat ki. Ebben a kórállapotban tartós nem-invazív gépi lélegeztetés (NPPV) válhat szükségessé, melynek a hosszú távú túlélésre gyakorolt hatása nincs egyértelmű bizonyíték. A különböző lélegeztetési módok során fellépő fiziológiai változások felderítése intenzív kutatások tárgyát képezi napjainkban, mivel szerepük lehet a hosszú távú túlélésben. Vizsgálatunkban kimutattuk, hogy COPD-s betegcsoportban alkalmazott magas intenzitású NPPV (Hi-NPPV) hatékonyabb, mint a hagyományos beállítás (Li-NPPV) a gázcsere javítása és a beteg légzési erőfeszítésének csökkentése tekintetében. A Hi-NPPV sok esetben úgy működik mint egy kontrollált lélegeztetési mód, emiatt belégzésben a pleurális nyomás pozitívvá válik, csökkentvén ezáltal a keringési perctérfogatot és az oxigénszállítási kapacitást. A szívteljesítmény ezen változásának a klinikai jelentősége további hosszú távú vizsgálatokat igényel, különösen azon betegekben, akik a COPD-n kívül valamilyen cardiovascularis betegségben is szenvednek. Eredményeink a Hi-NPPV akut fiziológiai hatásaira vonatkoznak, ezért az alvási struktúrára, légzésmechanikára, gázcserére valamint a szívteljesítményre gyakorolt hosszú távú hatás további vizsgálatokat igényel.

A dohányfüst tüdőszövetet károsító sejtszintű mechanizmusai nem teljesen tisztázottak. Az emphysema, illetve a COPD kialakulásában, a dohányfüst által indukált sejt apoptózis és necrosis valamint a glucocorticoidok (DEX), valamint a sejtek hősokk fehérje (HSP) rendszerének szerepe ezen folyamatokban intenzív kutatások tárgyát képezik napjainkban. Alveoláris epithelsejt vonalakon végzett kísérleteink során bizonyítottuk, hogy a dohányfüst kivonat (DFK) apoptosist és necrosist indukál alveoláris epithelsejtekben. DEX párhuzamos adása csökkentette a DFK sejtkárosító hatását, az apoptotikus sejtek arányának csökkentése útján. Ez az első olyan vizsgálat, mely bizonyította a Hsp72 fehérje sejttúlélésben betöltött kulcsfontosságú szerepét a DFK-val és DEX-el történt együttes kezelés során. A csendesítő Hsp72 mRNS-el történt transzfekciós kísérleteinkkel bebizonyítottuk, hogy a HSP72-nek kulcsszerepe van a steroid antiapoptotikus hatásában, DFK-val kezelt sejtekben. Ennek alapján a Hsp72 egy potenciális célmolekula lehet a dohányzó

betegek kezelésében. További sejtélettani és klinikai vizsgálatok szükségesek viszont annak eldöntésére, hogy milyen szerepe van a Hsp72-nek a dohányos és nem dohányos betegekben kialakuló COPD pathogenezisében.

9. SUMMARY

Smoking plays central role in the development of many illnesses. One of the most important smoking related pulmonary diseases is chronic obstructive pulmonary disease (COPD). In the advanced stage of COPD the reduced alveolar surface and ventilation/perfusion heterogeneity leads to hypercapnic respiratory failure, where long term noninvasive positive pressure ventilation (NPPV) may be needed. The effect of NPPV on long term survival of COPD patients is uncertain, for this reason many current investigations aim the better determination of physiological changes during different NPPV settings. On the basis of our respiratory mechanical measurements, we have concluded that high intensity (Hi)-NPPV in stable COPD patients is more effective than conventional (Li)-NPPV at acutely improving gas exchange and reducing the patient's respiratory effort. Since it acts in most instances as a true controlled ventilation, it induces a positive pleural swing during inspiration, lowering cardiac output and other indices of cardiac performance. The clinical significance of this effect needs further evaluation, especially in patients with pre-existing cardiovascular disease. Also, our observations are relevant only to acute physiological effects of Hi-NPPV and the long-term effects on sleep structure, respiratory mechanics, gas exchange and cardiac performance require further investigations.

The lung tissue damaging mechanisms of cigarette smoke is not totally elucidated. Intensive current researches investigate the role of cigarette smoke induced apoptosis or necrosis in the development of COPD and emphysema and the role of glucocorticoids and heat- shock proteins (HSP) in this pathological process. On the basis of our experiment on lung epithelial cells, we demonstrated that cigarette smoke extract (CSE) induces apoptosis and necrosis in alveolar epithelial cells. DEX reduces CSE-induced cellular damage, by decreasing apoptosis. This is the first evidence of DEX-CSE interaction showing a key role of Hsp72 in alveolar epithelial cell survival. Our siRNA experiments confirmed that elevated Hsp72 is essential in the observed anti-apoptotic and protective effects of DEX following CSE exposure. Hsp72 might represent a new key molecule and a potential therapeutic target in smoke exposed lung cells. Future experiments are necessary to evaluate the role of Hsp72 in smoker and non-smoker COPD patients, especially assessing the effects on alveolar destruction.

10. IRODALOMJEGYZÉK

- ¹ Kovács G. Előszó. In: Kovács G (szerk.), Dohányzás és leszokás. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2010: 7-8.
- ² Balázs P. A dohányzás kultúrtörténete. In: Kovács G (szerk.), Dohányzás és leszokás. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2010: 10-29.
- ³ Borgerding M, Klus H. (2005) Analysis of complex mixtures – Cigarette smoke. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 57: 43-73.
- ⁴ Rodgman A, Smith CJ, Perfetti TA. (2000) The composition of cigarette smoke: A retrospective, with emphasis on polycyclic components. *Hum Exp Toxicol*, 19: 573-595.
- ⁵ Hoffmann D, Hoffman I. (2001) The Changing Cigarette: Chemical Studies and Bioassays. *Smoking and Tobacco Control Monograph*, 13: 159-192.
- ⁶ Bernhard D, Huck CW, Jakschitz T, Pfister G, Henderson B, Bonn GK, Wick G. (2004) Development and evaluation of an in vitro model for the analysis of cigarette smoke effects on cultured cells and tissues. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 50: 45–51.
- ⁷ Hartl FU. (1996) Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature*, 381: 571-579.
- ⁸ Kovács Zs, Gál K, Tamási L, Müller V. (2010) A 72 kDa súlyú indukálható hő sokkfehérje (HSP72) szerepe és lehetséges terápiás felhasználhatósága pulmonológiai kórképekben. *Med Thor*, 63: 258-263.
- ⁹ Xanthoudakis S, Nicholson DW. (2000) Heat-shock proteins as death determinants. *Nat Cell Biol*, 9:163-165.
- ¹⁰ Powers MV, Clarke PA, Workman P. (2009) Death by chaperone: HSP90, HSP70 or both? *Cell Cycle*, 8: 518-526.
- ¹¹ Asea A, Jean-Pierre C, Kaur P, Rao P, Linhares IM, Skupski D, Witkin SS. (2008) Heat shock protein-containing exosomes in mid-trimester amniotic fluids. *J Reprod Immunol*, 79: 12-17.
- ¹² Asea A. (2005) Stress proteins and initiation of immune response: chaperokine activity of HSP72. *Exerc Immunol Rev*, 11: 34-45.
- ¹³ Lehner T, Bergmeier LA, Wang Y, Tao L, Sing M, Spallek R, van der Zee R. (2000) Heat shock proteins generate beta-chemokines which function as innate adjuvants enhancing adaptive immunity. *Eur J Immunol*, 30: 594-603.

- ¹⁴ Panjwani NN, Popova L, Srivastava PK. (2002) Heat shock proteins gp96 and HSP70 activate the release of nitric oxide by APCs. *J Immunol*, 168: 2997-3003.
- ¹⁵ Asea A. (2008) Heat shock proteins and toll-like receptors. *Handb Exp Pharmacol*, 183: 111-127.
- ¹⁶ Wheeler DS, Chase MA, Senft AP, Poynter SE, Wong HR, Page K. (2009) Extracellular HSP72, an endogenous DAMP, is released by virally infected airway epithelial cells and activates neutrophils via Toll-like receptor (TLR)-4. *Respir Res*, 10: 31.
- ¹⁷ Vabulas RM, Ahmad-Nejad P, Ghose S, Kirschning CJ, Issels R, Wagner H. (2002) HSP70 as endogenous stimulus of the Toll/interleukin-1 receptor signal pathway. *J Biol Chem*, 277: 15107-15112.
- ¹⁸ Asea A, Rehli M, Kabingu E, Boch JA, Bare O, Auron PE, Stevenson MA, Calderwood SK. (2002) Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: role of Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. *J Biol Chem*, 277: 15028–15034.
- ¹⁹ Szondy K, Rusai K, Szabó AJ, Nagy A, Gal K, Fekete A, Kovats Zs, Losonczy G, Lukacsovits J, Müller V. (2012) Tumor cell expression of heat shock protein (HSP) 72 is influenced by HSP72 (HSPA1B A(1267)G) polymorphism and predicts survival in small cell lung cancer (SCLC) patients. *Cancer Invest*, 30: 317-322.
- ²⁰ Almeida MB, do Nascimento JL, Herculano AM, Crespo-López ME. (2011) Molecular chaperones: toward new therapeutic tools. *Biomed Pharmacother*, 65: 239-243.
- ²¹ Pockley AG. (2002) Heat shock proteins, inflammation, and cardiovascular disease. *Circulation*, 105: 1012-1017.
- ²² Pockley AG. (2003) Heat shock proteins as regulators of the immune response. *Lancet*, 362: 469-476.
- ²³ van Eden W, van der Zee R, Prakken B. (2005) Heat-shock proteins induce T-cell regulation of chronic inflammation. *Nat Rev Immunol*, 5: 318-330.
- ²⁴ Pratt WB, Morishima Y, Murphy M, Harrell M. (2006) Chaperoning of glucocorticoid receptors. *Handb Exp Pharmacol*, 172: 111-138.
- ²⁵ Pratt WB, Toft DO. (2003) Regulation of signaling protein function and trafficking by the HSP90/HSP70-based chaperone machinery. *Exp Biol Med (Maywood)*, 228: 111-133.

- ²⁶ Whitham M, Fortes MB. (2008) Heat shock protein 72: release and biological significance during exercise. *Front Biosci*, 13: 1328-1339.
- ²⁷ Odashima M, Otaka M, Jin M, Konishi N, Sato T, Kato S, Matsubishi T, Nakamura C, Watanabe S. (2002) Induction of a 72-kDa heat-shock protein in cultured rat gastric mucosal cells and rat gastric mucosa by zinc L-carnosine. *Dig Dis Sci*, 47:2799-2804.
- ²⁸ Houghton AM, Mouded M, Shapiro SD. (2008) Common origins of lung cancer and COPD. *Nat Med*, 14: 1023-1024.
- ²⁹ Kiri VA, Fabbri LM, Davis KJ, Soriano JB. (2009) Inhaled corticosteroids and risk of lung cancer among COPD patients who quit smoking. *Respir Med*, 103: 85-90.
- ³⁰ Shaker SB, Dirksen A, Ulrik CS, Hestad M, Stavngaard T, Laursen LC, Maltbaek N, Clementsen P, Skjaerbaek N, Nielsen L, Stoel B, Skovgaard LT, Tonnesen P. (2009) The effect of inhaled corticosteroids on the development of emphysema in smokers assessed by annual computed tomography. *COPD*, 6: 104-111.
- ³¹ Pujolsa L, Mullol J, Picado C. (2009) Glucocorticoid receptor in human respiratory epithelial cells. *Neuroimmunomodulation*, 16: 290-299.
- ³² Wu Y, Wan T, Zhou X, Wang B, Yang F, Li N, Chen G, Dai S, Liu S, Zhang M, Cao X. (2005) Hsp70-like protein 1 fusion protein enhances induction of carcinoembryonic antigen-specific CD8+ CTL response by dendritic cell vaccine. *Cancer Res*, 65: 4947-4954.
- ³³ Rider CF, King EM, Holden NS, Giembycz MA, Newton R. (2011) Inflammatory stimuli inhibit glucocorticoid-dependent transactivation in human pulmonary epithelial cells: rescue by long-acting beta2-adrenoceptor agonists. *J Pharmacol Exp Ther*, 338: 860-869.
- ³⁴ Hecht SS. (2006) Cigarette smoking: cancer risks, carcinogens, and mechanisms. *Langenbecks Arch Surg*, 391: 603-613.
- ³⁵ Cosio MG, Saetta M, Agusti A. (2009) Immunologic Aspects of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *N Engl J Med*, 360: 2445-2454.
- ³⁶ Fabbri LM, Rabe KF. (2007) From COPD to chronic systemic inflammatory syndrome? *Lancet*, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17765529> 370: 797-799.
- ³⁷ Barnes PJ, Celli BR. (2009) Systemic manifestations and comorbidities of COPD. *Eur Respir J*, 33: 1165-1185.

- ³⁸ Eagan T, Gabazza E, Gabazza C, Gil-Bernabe P, Aoki S, Hardie J, Bakke P, Wagner P. (2012) TNF- α is associated with loss of lean body mass only in already cachectic COPD patients. *Respir Res*, 13: 48-58.
- ³⁹ Dahl M, Vestbo J, Lange P, Bojesen SE, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. (2007) C-reactive protein as a predictor of prognosis in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17053205> 175: 250-255.
- ⁴⁰ Mannino DM, Thorn D, Swensen A. (2008) Prevalence and outcomes of diabetes, hypertension and cardiovascular disease in COPD. *Eur Respir J*, 32: 962–969.
- ⁴¹ Saetta M, Finkelstein R, Cosio MG. (1994) Morphological and cellular basis for airflow limitation in smokers. *Eur Respir J*, 7: 1505–1515.
- ⁴² Sood A, Stidley CA, Picchi MA. (2008) Difference in airflow obstruction between Hispanic and non-Hispanic White female smokers. *COPD*, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18972275> 5: 274-281.
- ⁴³ Park JW, Ryter SW, Choi AM. (2007) Functional significance of apoptosis in chronic obstructive pulmonary disease. *COPD*, 4: 347-353.
- ⁴⁴ Müller V, Kováts Zs, Tamási L. (2007) A dohányfüst hatásai az immunrendszerre. *Med Thor*, 60: 27-33.
- ⁴⁵ Adcock IM, Barnes PJ. (2008) Molecular mechanisms of corticosteroid resistance. *Chest*, 134: 394-401.
- ⁴⁶ Barnes PJ. (2010) Mechanisms and resistance in glucocorticoid control of inflammation. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 120: 76-85.
- ⁴⁷ Rider CF, King EM, Holden NS, Giembycz MA, Newton R. (2011) Inflammatory stimuli inhibit glucocorticoid-dependent transactivation in human pulmonary epithelial cells: rescue by long-acting beta2-adrenoceptor agonists. *J Pharmacol Exp Ther*, 338: 860-869.
- ⁴⁸ <http://www.goldcopd.org/>
- ⁴⁹ Vastag E, Magyar P. Krónikus obstruktív tüdőbetegség. In: Magyar P, Losonczy G (szerk.), *A Pulmonológia kézikönyve*. Medicina könyvkiadó Zrt, Budapest, 2012: 256-281.

- ⁵⁰ Harju T, Mazur W, Merikallio H, Soini Y, Kinnula VL. (2008) Glutathione-S-transferases in lung and sputum specimens, effects of smoking and COPD severity. *Respir Res*, 9: 80-90.
- ⁵¹ Horváth I. A dohányzás szerepe a nem malignus légzőszervi kórképek pathomechanizmusában. Krónikus obstruktív tüdőbetegség. In: Kovács G (szerk.), *Dohányzás és leszokás*. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2010: 145-148.
- ⁵² Standiford TJ, Kunkel SL, Basha MA, Chensue SW, Lynch JP, Toews GB, Westwick J, Strieter RM. (1990) Interleukin-8 gene expression by a pulmonary epithelial cell line. A model for cytokine networks in the lung. *J Clin Invest*, 86 :1945-1953.
- ⁵³ Magyar P. Légzési elégtelenség. In: Magyar P, Losonczy G (szerk.), *A Pulmonológia kézikönyve*. Medicina könyvkiadó Zrt, Budapest, 2012: 573-581.
- ⁵⁴ Celli BR, MacNee W, Agusti A, Anzueto A, Berg B, Buist AS, Calverley PMA, Chavannes N, Dillard T, Fahy B, Fein A, Heffner J, Lareau S, Meek P, Martinez F, McNicholas W, Muris J, Austegard E, Pauwels R, Rennard S, Rossi A, Siafakas N, Tiej B, Vestbo J, Wouters E, ZuWallack R. (2004) Standards for the diagnosis and treatment of patients with COPD: a summary of the ATS/ERS position paper. *Eur Respir J*, 23: 932–946.
- ⁵⁵ Loring SH, Garcia-Jacques M, Malhotra A. (2009) Pulmonary characteristics in COPD and mechanisms of increased work of breathing. *J Appl Physiol*, 107: 309–314.
- ⁵⁶ Celikel T, Sungur M, Ceyhan B, Karakurt S. (1998) Comparison of noninvasive positive pressure ventilation with standard medical therapy in hypercapnic acute respiratory failure. *Chest*, 114: 1636-1642.
- ⁵⁷ Kolodziej MA, Jensen L, Rowe B, Sin D. (2007) Systematic review of noninvasive positive pressure ventilation in severe stable COPD. *Eur Respir J*, 30: 293–306.
- ⁵⁸ Schönhofer B. (2010) Non-invasive positive pressure ventilation in patients with stable hypercapnic COPD: light at the end of the tunnel? *Thorax*, 65: 765-767.
- ⁵⁹ Vitacca M, Nava S, Confalonieri M, Bianchi L, Porta R, Clini E, Ambrosino N. (2000) The Appropriate Setting of Noninvasive Pressure Support Ventilation in Stable COPD Patients. *Chest*, 118: 1286-1293.
- ⁶⁰ Appendini L. (1999) About the relevance of dynamic intrinsic PEEP (PEEPi, dyn) measurement. *Intensive Care Med*, 25: 252-254.

- ⁶¹ Windisch W, Kostić S, Dreher M, Virchow JC Jr, Sorichter S. (2005) Outcome of Patients With Stable COPD Receiving Controlled Noninvasive Positive Pressure Ventilation Aimed at a Maximal Reduction of PaCO₂. *Chest*, 128: 657-662.
- ⁶² Windisch W, Haenel M, Storre JH, Dreher M. (2009) High-intensity non-invasive positive pressure ventilation for stable hypercapnic COPD. *Int J Med Sci*, 6: 72-76.
- ⁶³ Dreher M, Storre JH, Schmoor C, Windisch W. (2010) High-intensity versus low-intensity noninvasive ventilation in patients with stable hypercapnic COPD: a randomised crossover trial. *Thorax*, 65: 303-308.
- ⁶⁴ Windisch W, Vogel M, Sorichter S, Hennings E, Bremer H, Hamm H, Matthys H, Virchow JC Jr. (2002) Normocapnia during nIPPV in chronic hypercapnic COPD reduces subsequent spontaneous PaCO₂. *Respir Med*, 96: 572-579.
- ⁶⁵ Aida A, Miyamoto K, Nishimura M, Aiba M, Kira S, Kawakami Y. (1998) Prognostic Value of Hypercapnia in Patients with Chronic Respiratory Failure during Long-term Oxygen Therapy. *Am J Respir Crit Care Med*, 158: 188-193.
- ⁶⁶ Shekerdemian L, Bohn D. (1999) Cardiovascular effects of mechanical ventilation. *Arch Dis Child*, 80: 475-480.
- ⁶⁷ Steingrub JS, Tidswell M, Higgins TL. (2003) Hemodynamic Consequences of Heart-Lung Interactions. *J Intensive Care Med*, 18: 92-99.
- ⁶⁸ Lukácsovits J, Carlucci A, Hill N, Ceriana P, Pisani L, Schreiber A, Pierucci P, Losonczy G, Nava S. (2012) Physiological changes during low and high "intensity" noninvasive ventilation. *Eur Respir J*, 39: 869-875.
- ⁶⁹ Hales S. Statical essays: containing haemostatics. In: Willius FA, Keys TE (szerk.), *Cardiac classics*. Mosby, St Louis, 1941:133–137.
- ⁷⁰ Anrep GV, Pascual W, Rossler R. (1936) Respiratory variations of the heart: Part II. The central mechanism of the respiratory arrhythmia and the interrelations between the central and the reflex mechanisms. *Proc R Soc*, 119: 218-230.
- ⁷¹ Coon RL, Zuperku EJ, Kampine JP. (1986) Respiratory arrhythmias and the airway CO₂ lung receptors, and central inspiratory activity. *J Appl Physiol*, 60:1713-1721.
- ⁷² Howell JBL, Permutt S, Proctor DF, Riley R. (1961) Effect of inflation of the lung on different parts of the pulmonary vascular bed. *J Appl Physiol*, 16: 71-76.
- ⁷³ Marini JJ, Culver BN, Butler J. (1981) Mechanical effects of lung distention with positive pressure in cardiac function. *Am Rev Respir Dis*, 124: 382-386.

- ⁷⁴ Butler J. (1983) The heart is in good hands. *Circulation*, 67:1163-1168.
- ⁷⁵ Brinker JA, Weiss JL, Lappé DL, Rabson JL, Summer WR, Permutt S, Weisfeldt ML. (1980) Leftward septal displacement during right ventricular loading in man. *Circulation*, 61: 626-633.
- ⁷⁶ Janicki JS, Weber KT. (1980) The pericardium and ventricular interaction, distensibility and function. *Am J Physiol*, 238: 494-503.
- ⁷⁷ Scharf SM, Ingram RH. (1977) Influence of abdominal pressure and sympathetic vasoconstriction on the cardiovascular response to positive end-expiratory pressure. *Am Rev Respir Dis*, 116: 661-670.
- ⁷⁸ Takata M, Robotham JL. (1992) Effects of inspiratory diaphragmatic descent on inferior vena caval venous return. *J Appl Physiol*, 72: 597-607.
- ⁷⁹ Skaburskis M, Helal R, Zidulka A. (1987) Haemodynamic effects of external continuous negative pressure ventilation compared with those of continuous positive pressure ventilation in dogs with acute lung injury. *Am Rev Respir Dis*, 136: 886-891.
- ⁸⁰ Lockhat D, Langleben D, Zidulka A. (1992) Haemodynamic differences between continual positive and two types of negative pressure ventilation. *Am Rev Respir Dis*, 146: 677-680.
- ⁸¹ Shekerdemian LS, Bush A, Shore DF, Lincoln C, Petros AJ, Redington AN. (1997) Cardiopulmonary interactions in healthy children and children after surgery for simple cardiac defects: a comparison of positive and negative pressure ventilation. *Heart*, 78: 587-593.
- ⁸² Buda AS, Pinsky MR, Ingles NM. (1979) Effect of intrathoracic pressure on left ventricular performance. *N Engl J Med*, 301: 453-459.
- ⁸³ Oswalt CE, Gates GA, Holstrom MG. (1977) Pulmonary edema as a complication of acute airway obstruction. *JAMA*, 238: 1833-1835.
- ⁸⁴ Jardin F, Farcot JC, Boisante L, Prost JF, Gueret P, Bourdarias JP. (1982) Mechanism of paradoxical pulse in bronchial asthma. *Circulation*, 66: 887-894.
- ⁸⁵ Sibbald WJ, Calvin JE, Holliday RL, Driedger AA. (1983) Concepts in the pharmacologic support of cardiovascular function in critically ill surgical patients. *Surg Clin North Am*, 63: 455-482.
- ⁸⁶ Shepherd JT. (1981) The lungs as receptor sites for cardiovascular regulation. *Circulation*, 63: 1-10.

- ⁸⁷ Piene H, Sund T. (1982) Does pulmonary impedance constitute the optimum load for the right ventricle? *Am Physiol*, 242: 154-160.
- ⁸⁸ Lloyd TC Jr. (1982) Mechanical cardiopulmonary interdependence. *J Appl Physiol*, 52: 333–339.
- ⁸⁹ Goldstein JA, Vlahakes GJ, Verrier ED, Schiller NB, Tyberg JV, Ports TA, Parmley WW, Chatterjee K. (1982) The role of right ventricular systolic dysfunction and elevated intrapericardial pressure in the genesis of low output in experimental right ventricular function. *Circulation*, 65: 513-522.
- ⁹⁰ Steingrub JS, Tidswell M, Higgins TL. (2003) Hemodynamic Consequences of Heart-Lung Interactions. *J Intensive Care Med*, 18: 92-99.
- ⁹¹ Adelaida MM, Michael RP. Heart-Lung Interactions. In: Tobin MJ (szerk.), *Principles and Practice of Mechanical Ventilation*. McGraw-Hill, New York, 1994: 647-648.
- ⁹² Pinsky MR. Cardiopulmonary interactions - effects of negative and positive pressure changes in pleural pressure on cardiac output. In: Dantzker D (szerk.), *Cardiopulmonary medicine and critical care*. Saunders, Philadelphia, 1991: 87-120.
- ⁹³ Cournand A, Motley HL, Werko L, Richards DW Jr. (1948) Physiological studies of the effects of intermittent positive pressure breathing on cardiac output in man. *Am J Physiol*, 152: 162-174.
- ⁹⁴ Marshall BE, Marshall C. (1988) A model for hypoxic constriction of the pulmonary circulation. *J Appl Physiol*, 64: 68-77.
- ⁹⁵ Butler J. (1983) The heart is in good hands. *Circulation*, 67:1163-1168.
- ⁹⁶ Singer M, Webb AR. IPPV: complication of ventilation. In: Singer M, Webb AR (szerk.), *Oxford handbook of critical care*. Oxford University Press, Oxford, 2005: 13-15.
- ⁹⁷ Crimi C, Noto A, Princi P, Esquinas A, Nava S. (2010) A European survey of noninvasive ventilation practices. *Eur Respir J*, 36: 362– 369.
- ⁹⁸ Thys F, Liistro G, Dozin O, Marion E, Rodenstein DO. (2002) Determinants of FiO₂ with oxygen supplementation during non-invasive two-level positive pressure ventilation. *Eur Respir J*, 19: 653-657.

- ⁹⁹ Baydur A, Behrakis PK, Zin WA, Jaeger M, Milic-Emili J. (1982) A simple method for assessing the validity of esophageal balloon technique. *Am Rev Respir*, 216: 166-169.
- ¹⁰⁰ Ninane V. (1997) "Intrinsic" PEEP (PEEPi): role of expiratory muscles. *Eur Respir J*, 10: 516–518.
- ¹⁰¹ Tobin MJ. Monitoring respiratory mechanics in spontaneously breathing patients. In: Tobin MJ (szerk.), *Principles and practice of intensive care monitoring*. McGraw-Hill, USA, 1998: 621-628.
- ¹⁰² Iotti GA, Braschi A. Missure della PEEPi. In: Iotti GA, Braschi A (szerk.), *Missure di Meccanica respiratoria durante ventilazione artificiale*. Hamilton Medical AG, Switzerland Rhäzüns, 2001: 54-65.
- ¹⁰³ Bogert LW, van Lieshout JJ. (2005) Non-invasive pulsatile arterial pressure and stroke volume changes from the human finger. *Exp Physiol*, 90: 437–446.
- ¹⁰⁴ Jansen JR, Schreuder JJ, Mulier JP, Smith NT, Settels JJ, Wesseling KH. (2001) A comparison of cardiac output derived from the arterial pressure wave against thermodilution in cardiac surgery patients. *Br J Anaesth*, 87: 212-222.
- ¹⁰⁵ Lu Z, Mukkamala R. (2006) Continuous cardiac output monitoring in humans by invasive and noninvasive peripheral blood pressure waveform analysis. *J Appl Physiol*, 101: 598-608.
- ¹⁰⁶ Wilson RC, Jones PW. (1989) A comparison of the visual analogue scale and modified Borg scale for the measurement of dyspnoea during exercise. *Clin Sci*, 76: 277-282.
- ¹⁰⁷ Grizzle JE. (1965) The two-period change-over design and its use in clinical trials. *Biometrics*, 21: 467-480.
- ¹⁰⁸ Hills M, Armitage P. (1979) The two-period cross-over clinical trial. *Br. J. Clin. Pharmacol*, 8: 7-20.
- ¹⁰⁹ Levine S, Nguyen T, Taylor N, Friscia ME, Budak MT, Rothenberg P, Zhu J, Sachdeva R, Sonnad S, Kaiser LR, Rubinstein NA, Powers SK, Shrager JB. (2008) Rapid disuse atrophy of diaphragm fibers in mechanically ventilated humans. *N. Eng. J. Med*, 358: 1327-1335.
- ¹¹⁰ Levine S, Nguyen T, Kaiser LR. (2003) Human diaphragm remodelling associated with COPD: Clinical implications. *Am J Respir Crit Care Med*, 168: 706-713.

- ¹¹¹ Sassoan CH, Zhu E, Caiozzo VJ. (2004) Assist-Control Mechanical Ventilation Attenuates Ventilator-Induced Diaphragmatic Dysfunction. *Am J Respir Crit Care Med*, 170: 626-632.
- ¹¹² Williams M H. (1986) V/Q inhomogeneity causes increased physiologic dead space. *Chest*, 89: 904-904.
- ¹¹³ Neumenn P, Hedenstierna G. (2001) Ventilatory support by continuous positive airway pressure breathing improves gas exchange as compared with partial ventilatory support with airway pressure release ventilation. *Anest Analg*, 92: 950-958.
- ¹¹⁴ Lorx A, Szabó B, Hercsuth M, Péntzes I, Hantos Z. (2009) Low-frequency assessment of airway and tissue mechanics in ventilated COPD patients. *J Appl Physiol*, 107: 1884-1892.
- ¹¹⁵ Prinianakis G, Delmastro M, Carlucci A, Ceriana P, Nava S. (2004) Effect of varying the pressurisation rate during noninvasive pressure support ventilation. *Eur Respir J*, 23: 314-320.
- ¹¹⁶ Marangoni S, Vitacca M, Quadri A, Schena M, Clini E. (1997) Non-invasive haemodynamic effects of two nasal positive pressure ventilation modalities in stable chronic obstructive lung disease patients. *Respiration*, 64: 138-144.
- ¹¹⁷ Ambrosino N, Nava S, Torbicki A, Riccardi G, Fracchia C, Opasich C, Rampulla C. (1993) Haemodynamic effects of pressure support and PEEP ventilation by nasal route in patients with stable chronic obstructive pulmonary. *Thorax*, 48: 523-528.
- ¹¹⁸ Demedts IK, Demoor T, Bracke KR, Joos GF, Brusselle GG. (2006) Role of apoptosis in the pathogenesis of COPD and pulmonary emphysema. *Respir Res*, 7: 53-63.
- ¹¹⁹ Henson PM, Vandivier RW, Douglas IS. (2006) Cell death, remodeling, and repair in chronic obstructive pulmonary disease? *Proc Am Thorac Soc*, 3: 713-717.
- ¹²⁰ Yokohori N, Aoshiba K, Nagai A. (2004) Respiratory Failure Research Group in Japan. Increased levels of cell death and proliferation in alveolar wall cells in patients with pulmonary emphysema. *Chest*, 125: 626-632.
- ¹²¹ Kaushik G, Kaushik T, Khanduja S, Pathak CM, Khanduja KL. (2008) Cigarette smoke condensate promotes cell proliferation through disturbance in cellular redox homeostasis of transformed lung epithelial type-II cells. *Cancer Lett*, 270: 120-131.

- ¹²² Jiao ZX, Ao QL, Xiong M. (2006) Cigarette smoke extract inhibits the proliferation of alveolar epithelial cells and induces apoptosis. *Sheng Li Xue Bao*, 58: 244-254.
- ¹²³ Liu Y, Gao W, Zhang D. (2010) Effects of cigarette smoke extract on A549 cells and human lung fibroblasts treated with transforming growth factor-beta1 in a coculture system. *Clin Exp Med*, 10: 159-167.
- ¹²⁴ Forbes B, Ehrhardt C. (2005) Human respiratory epithelial cell culture for drug delivery applications. *Eur J Pharm Biopharm*, 60: 193-205.
- ¹²⁵ Magyar P. A légzőrendszer anatómiája és funkciója. A légutak falszerkezete, szövettana, sejttípusok. In: Magyar P, Losonczy G (szerk.), *A Pulmonológia kézikönyve*. Medicina könyvkiadó Zrt, Budapest, 2012: 22-25.
- ¹²⁶ Ammous Z, Hackett NR, Butler MW, Raman T, Dolgalev I, O'Connor TP, Harvey BG, Crystal RG. (2008) Variability in small airway epithelial gene expression among normal smokers. *Chest*, 133: 1344-1353.
- ¹²⁷ Melis M, Siena L, Pace E, Gjemarkaj M, Profita M, Pirazzoli A, Todaro M, Stassi G, Bonsignore G, Vignola AM. (2002) Fluticasone induces apoptosis in peripheral T-lymphocytes: a comparison between asthmatic and normal subjects. *Eur Respir J*, 19: 257-266.
- ¹²⁸ Feng Z, Marti A, Jehn B, Altermatt HJ, Chicaiza G, Jaggi R. (1995) Glucocorticoid and progesterone inhibit involution and programmed cell death in the mouse mammary gland. *J Cell Biol*, 131:1095-1103.
- ¹²⁹ Dorscheid DR, Patchell BJ, Estrada O, Marroquin B, Tse R, White SR. (2006) Effects of corticosteroid-induced apoptosis on airway epithelial wound closure in vitro. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 291: 794-801.
- ¹³⁰ Wen LP, Madani K, Fahrni JA, Duncan SR, Rosen GD. (1997) Dexamethasone inhibits lung epithelial cell apoptosis induced by IFN-gamma and Fas. *Am J Physiol*, 273: 921-929.
- ¹³¹ Fekete A, Vannay A, Vér A, Rusai K, Müller V, Reusz G, Tulassay T, Szabó AJ. (2006) Sex differences in heat shock protein 72 expression and localization in rats following renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol*, 291: 806-811.
- ¹³² McConkey DJ. (1998) Biochemical determinants of apoptosis and necrosis. *Toxicol Lett*, 99: 157-168.

¹³³ Kato K, Yamanaka K, Nakano M, Hasegawa A, Okada S. (2000) 72-kDa stress protein (HSP72) induced by administration of dimethylarsinic acid to mice accumulates in alveolar flat cells of lung, a target organ for arsenic carcinogenesis. *Biol Pharm Bull*, 23: 1212-1215.

¹³⁴ Schmitt E, Gehrmann M, Brunet M, Multhoff G, Garrido C. (2007) Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy. *J Leukoc Biol*, 81: 15-27.

11. SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

11.1. A disszertációhoz felhasznált közlemények

Lukácsovits J, Carlucci A, Hill N, Ceriana P, Pisani L, Schreiber A, Pierucci P, Losonczy G, Nava S. (2012) Physiological changes during low and high "intensity" noninvasive ventilation. *Eur Respir J*, 39: 869-875.

IF: 5,895

Gál K, Cseh A, Szalay B, Rusai K, Vannay A, **Lukácsovits J**, Heemann U, Szabó AJ, Losonczy G, Tamási L, Müller V. (2011) Effect of cigarette smoke and dexamethasone on Hsp72 system of alveolar epithelial cells. *Cell Stress Chaperones*, 16: 369-378.

IF: 3,013

11.2. Egyéb közlemények

Lukácsovits J, Nava S. (2013) Inspiratory pressure during noninvasive ventilation in stable COPD: help the lungs, but do not forget the heart. Correspondence, From the autors. *Eur Respir J*, 41: 765-766.

IF: 5.895

Szondy K, Rusai K, Szabó AJ, Nagy A, Gal K, Fekete A, Kovats Z, Losonczy G, **Lukácsovits J**, Müller V. (2012) Tumor cell expression of heat shock protein (HSP) 72 is influenced by HSP72 [HSPA1B A(1267)G] polymorphism and predicts survival in small Cell lung cancer (SCLC) patients. *Cancer Invest*, 30: 317-322.

IF: 1,847

Máthé C, Bohács A, Duffek L, **Lukácsovits J**, Komlosi ZI, Szondy K, Horváth I, Müller V, Losonczy G. (2011) Cisplatin nephrotoxicity aggravated by cardiovascular disease and diabetes in lung cancer patients. *Eur Respir J*, 37: 888-894.

IF: 5,895

Gál K, Cseh A, Szalay B, Rusai K, Vannay A, **Lukácsovits J**, Uwe H, Szabó AJ, Losonczy G, Tamási L, Kováts Z, Müller V. (2011) Dohányfüst és szteroid hatása tüdő-epithelsejtek hősokkfehérje (HSP) 72-rendszerére. Med Thor, 64: 152-160.

Máthé C, Bohács A, Duffek L, **Lukácsovits J**, Komlosi ZI, Szondy K, Horváth I, Müller V, Losonczy G. (2011) Cardiovascularis betegségben és diabetes mellitusban szenvedő tüdőcarcinomás betegekben fokozódik a cisplatin nephrotoxikus hatása. Med Thor, 64: 33-41.

Lukácsovits J, Komáromi T, Tamási L, Magyar P, Losonczy G. (2009) Kétoldali intersticiális pneumonia miatt gépi lélegeztetett beteg esetismertetése. Med Thor, 52: 137-139.

Dr. Lukácsovits J fordítása. (2009) A Sepsis legutóbbi 100 éve. Med Thor, 62: 266-277.

12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni a Semmelweis egyetem Pulmonológiai Klinika igazgatójának, egyben programvezetőmnek, Dr. Prof Losonczy Györgynek a segítségét és azt, hogy bevezetett, megszeretette velem a tudományos munkát, valamint, hogy hatékony szakmai és emberi segítséget nyújtott abban, hogy külföldi kutatóintézetbe kerülhessek és ott színvonalas kutatómunkát folytathassak az általam preferált témában.

Megköszönöm témavezetőmnek Dr. Müller Veronikának önzetlen munkáját, segítségét és azt, hogy felfedezte bennem a „kutatót”, kihívások elé állított, ezáltal elősegítve tudományos pályám kibontakozását.

Köszönetemet kell kifejezzem Dr. Magyar Pál[†] professzor úrnak, aki a kezdet kezdetén meglátta bennem a „szikrát”, döntése által lettem a S.E. Pulmonológiai Klinika alkalmazottja és pályafutásom kezdetén gondosan egyengette az utamat.

Hálával tartozom Dr. Prof Stefano Nava-nak és további kollegáknak (Dr. Piero Ceriana, Dr. Annalisa Carlucci, Dr. Annia Schreiber, Dr. Nicolas Hill, Dr. Giuseppe Bunetti, Dr. Marco Mancini, Dr. Antonella Balestrino) akik, az Olaszországban töltött egy éves kutatómunkám során hasznos szakmai segítséget nyújtottak és emberileg is támogattak.