

# Keringő biomarkerek vizsgálata asztmával szövődött terhességben

Doktori értekezés

**Dr. Ivancsó István**

Semmelweis Egyetem  
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető:

Dr. Tamási Lilla PhD, habilitált egyetemi docens

Hivatalos bírálók:

Dr. Joó József Gábor PhD, egyetemi adjunktus

Dr. Brugós László PhD, osztályvezető főorvos

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Farkas Henriette DSc, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Holub Marianna Csilla PhD, egyetemi adjunktus

Dr. Böcskei Csaba PhD, osztályvezető főorvos

Budapest  
2015

## TARTALOMJEGYZÉK

<b>I. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....</b>	<b>3</b>
<b>II. BEVEZETÉS ÉS IRODALMI HÁTTÉR .....</b>	<b>5</b>
II. 1. AZ ASZTMA KLINIKAI JELLEMZŐI .....	5
II. 2. ASZTMA TERHESSÉGBEN.....	11
II. 2. 1. Klinikai összefüggések az asztma és várandósság között .....	11
II. 2. 2. Az asztma diagnosztikai és gondozási nehézségei terhességben .....	13
II. 2. 3. Az asztma kezelése várandósságban .....	16
II. 2. 4. Biomarker-keresés asztmával szövődött terhességben.....	17
II. 2. 5. Hsp70 asztmával szövődött terhességben.....	19
II. 3. LEHETSÉGES ÚJ BIOMARKEREK ASZTMÁVAL SZÖVŐDÖTT TERHESSÉGBEN.....	23
II. 3. 1. Vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF) .....	23
II. 3. 2. Szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor (suPAR) .....	26
II. 3. 3. Hialuronsav.....	29
<b>III. CÉLKITŰZÉSEK.....</b>	<b>32</b>
<b>IV. MÓDSZEREK.....</b>	<b>34</b>
IV. 1. Vizsgálati elrendezés .....	34
IV. 2. A vizsgálatokban résztvevő alanyok .....	34
IV. 3. Etikai engedély .....	36
IV. 4. Mintagyűjtés és laboratóriumi mérések.....	36
IV. 5. A légzésfunkció és a kilégzett nitrogén-monoxid szint mérése, illetve az asztma kontroll meghatározása .....	37
IV. 6. A szülészeti adatok rögzítése.....	37
IV. 7. Statisztikai elemzés.....	37
<b>V. EREDMÉNYEK .....</b>	<b>39</b>
V. 1. VEGF és sFlt1 .....	39
V. 1. 1. Klinikai adatok .....	39
V. 1. 2. Az sFlt1 befolyása a VEGF mérésre .....	41
V. 1. 3. A VEGF perifériás szintje .....	41
V. 1. 4. A keringő szabad VEGF és az asztma klinikai jellemzői közötti összefüggések.....	44

V. 1. 5. Az sFlt1 perifériás szintje.....	44
V. 1. 6. A keringő sFlt1 és az asztma klinikai jellemzői közti összefüggések.....	45
V. 1. 7. A plazma szabad VEGF és sFlt1 szintek és a születési súly közötti összefüggés.....	45
V. 2. suPAR .....	46
V. 2. 1. Klinikai adatok .....	46
V. 2. 2. A vizsgált gyulladásos markerek (suPAR, CRP, IL-6) perifériás szintje ..	47
V. 2. 3. A vizsgált gyulladásos markerek (suPAR, CRP, IL-6) és az asztma klinikai jellemzői közti összefüggések .....	49
V. 2. 4. A vizsgált gyulladásos markerek (suPAR, CRP, IL-6) és a születési súly közötti összefüggés .....	53
V. 3. Hialuronsav .....	54
V. 3. 1. Klinikai adatok .....	54
V. 3. 2. A hialuronsav perifériás szintje.....	55
V. 3. 3. A hialuronsav és az asztma klinikai jellemzői közti összefüggések .....	56
V. 3. 4. A keringő hialuronsav szintek és a születési súly közötti összefüggés .....	61
<b>VI. MEGBESZÉLÉS.....</b>	<b>62</b>
VI. 1. VEGF és sFlt1 .....	62
VI. 2. suPAR, IL-6 és CRP.....	65
VI. 3. Hialuronsav.....	70
<b>VII. KÖVETKEZTETÉSEK.....</b>	<b>74</b>
<b>VIII. ÖSSZEFOGLALÁS.....</b>	<b>76</b>
<b>IX. SUMMARY .....</b>	<b>77</b>
<b>X. IRODALOMJEGYZÉK .....</b>	<b>78</b>
<b>XI. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE .....</b>	<b>92</b>
XI. 1. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények .....	92
XI. 2. Az értekezéshez nem kapcsolódó közlemények.....	93
<b>XII. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....</b>	<b>94</b>

**I. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE**

ACQ	Asztma Kontroll Kérdőív
ACT	Asztma Kontroll Teszt
AUC	görbe alatti terület
BAL	bronchoalveoláris lavázs
BMI	testtömegindex
CRP	C-reaktív protein
ECM	extracelluláris mátrix
FE <sub>NO</sub>	kilégzett levegő nitrogén-monoxid szint
FEV <sub>1</sub>	kilégzési másodperctérfogat
FVC	erőltetett vitálkapacitás
GERD	gastro-oesophagealis reflux betegség
HSP	hősokkfehérje
ICS	inhalációs kortikoszteroid
Ig	immunglobulin
IL	interleukin
IUGR	intrauterin növekedési retardáció
OCS	orális kortikoszteroid
PEF	kilégzési csúcsáramlás
R <sub>aw</sub>	légúti áramlási ellenállás
ROC	Receiver Operating Characteristics
SABA	rövidhatású $\beta_2$ -agonista
SGA	small for gestational age
SPT	bőr prick teszt
suPAR	szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor
TGF	transzformáló növekedési faktor
Th	T helper
TLR	toll-like receptor
TNF	tumor nekrozis faktor
uPA	urokináz plazminogén aktivátor
uPAR	urokináz plazminogén aktivátor receptor

VEGF .....vaszkuláris endoteliális növekedési faktor

## II. BEVEZETÉS ÉS IRODALMI HÁTTÉR

### II. 1. AZ ASZTMA KLINIKAI JELLEMZŐI

Az asztma krónikus légúti gyulladással jellemzett heterogén betegség. Visszatérő és változó súlyosságú légzőszervi tünetek határozzák meg, zihálás, légszomj, mellkasi feszülés és köhögés, melyeket variabilis kilégzési nehezítettség, áramláskorlátozottság okoz (Global Initiative for Asthma 2015, Tamási és mtsai 2012). A légúti szűkület hátterében a légutak direkt vagy indirekt stimulusokra kialakuló hiperreaktív reakciója és a krónikus gyulladás állnak. Ezek a kóros eltérések tünetmentes állapotban és aktuálisan normális légzésfunkció mellett is tartósan fennállnak, de a kezelés hatására megszűnhetnek. A tünetek változékonyságát külső tényezők is befolyásolják, mint például allergéneknek vagy irritánsoknak való kitettség, sportolás, nevetés, időjárás-változás, vagy légúti vírusinfekciók. A betegek gyakran tapasztalnak állapotromlást éjszaka vagy hajnalban. A tünetek spontán vagy gyógyszer hatására megszűnnek (akár hetekig-hónapokig tartó folyamatos tünetmentesség is lehetséges), ugyanakkor súlyos, akár életveszélyes állapotromlás (akut exacerbáció) is előfordulhat.

Az asztma az utóbbi évtizedekben a „nyugati életmód” terjedésével az egyik leggyakoribb krónikus betegséggé vált, a különböző országokban 1-18% közötti a prevalenciája, és évről évre növekszik. Jelenleg legalább 300 millió beteg él a világon, de valószínűleg kevésbé konzervatív diagnosztikus kritériumok alkalmazásával ez a szám jelentősen nagyobb lenne. Hazánkban 2014-ben a tüdőgondozókban regisztrált felnőtt asztmások száma 290201, ami 2,9 %-os prevalenciának felel meg; közülük 177761 nőbeteg, legnagyobb gyakorisággal a fogamzóképes korosztályban (Korányi Bulletin 2015). Az asztma gazdasági jelentősége is nagy, mind a közvetlen költségeket illetően (gyógyszerek, kórházi ellátás), mind a közvetett tényezők miatt (munkából kieső napok száma, korai halálozás). Az asztmás betegek kis hányadát kitevő, ugyanakkor a legjelentősebb társadalmi összköltséget jelentő súlyos asztma előfordulási gyakorisága 5-10% (Korányi Bulletin 2015).

Az asztma heterogén betegség, szerteágazó kóros gyulladós folyamatokkal a háttérben. A különböző sajátosságok alapján különböző fenotípusok különíthetők el, melyek közül a leggyakoribbak az allergiás, a nem allergiás, a késői fellépésű, a fixált

légúti obstrukcióval járó, és az obezitáshoz társuló asztma (Global Initiative for Asthma 2015). Mégis, egyelőre még nem sikerült egyértelműen feltárni a kapcsolatokat egyes patológiás történések és a klinikai megjelenés, illetve a kezelési módokra adott válasz között, de ez ma intenzív kutatások tárgya.

A diagnózis az időben és súlyosságban változó tünetek alapján légzésfunkciós vizsgálattal állítható fel (Global Initiative for Asthma 2015, Tamási és mtsai 2012). A légzésfunkciós paraméterek közül szükséges igazolni, hogy a kilégzési másodperctérfogat( $FEV_1$ )/erőltetett vitálkapacitás(FVC)  $< 0,75-0,8$  és a  $FEV_1$  értékében legalább 12% és 200 ml javulás alakul ki bronchodilatátor szer hatására, vagy igazolni kell a 10%-ot elérő napi változékonyságot a kilégzési csúcsáramlás (PEF) értékében. Kétséges esetben a gyulladásgátló szerrel 4 hétig tartó kezelés hatására javuló légzésfunkció ( $FEV_1$  és PEF) is alátámasztja a diagnózist. Továbbá aktuálisan normális légzésfunkció esetén a diagnózis felállításához provokációs tesztekkel is kiváltható a légúti hiperreaktivitást jelző légzésfunkció-rosszabbodás. Leggyakrabban metakolint alkalmaznak, de hisztamin, terheléses teszt, eukapnikus akaratlagos hiperventilláció és mannitol is használható. A bőr prick teszttel (SPT) vagy specifikus immunglobuli(Ig)E mérésével megállapított atópia az allergiás asztma valószínűségét növeli.

Az asztmás betegek gondozása magába foglalja az asztma kontroll felmérését, a megfelelő kezelést (különös tekintettel a helyes eszközhasználatra és az adherencia ellenőrzésére), valamint az asztmát befolyásoló és az életminőséget rontó társbetegségek (pl. rhinitis, rhinosinusitis, gastro-oesophagealis reflux betegség /GERD/, obezitás, obstruktív alvási apnoe, depresszió) felderítését és kezelését is.

Az „asztma kontroll” kifejezés két tényezőt takar, benne foglaltatik egyrészt a tünetek kontrolláltságának mértéke, másrészt a kedvezőtlen kimenetel jövőbeni rizikója. A tünetek kontrollját az elmúlt 4 hetes időszakra szükséges meghatározni. Számszerűsíteni validált kérdőívek segítségével lehet, amilyen az Asztma Kontroll Kérdőív (ACQ) és az Asztma Kontroll Teszt (ACT). Az ACQ hét kérdést tartalmaz, melyek közül öt a tünetekre vonatkozik az elmúlt héten, egy a rohamoldó használatra, és egy maga a  $FEV_1$  érték. Minden kérdésre 0-6 közötti pontszám adható (a nagyobb érték rosszabb), és az ACQ pontszám ezek átlagát jelenti. Jól kontrollált asztma a 0-0,75 közötti ACQ pontszám, határzóna a 0,75-1,5 közötti, és rosszul kontrollált az 1,5 fölötti érték. Magyarországon inkább az ACT terjedt el. Ez a következő öt dologra kérdez rá:

1. korlátozottság a feladatok elvégzésében; 2. nehézlégzés; 3. asztma miatti felébredés; 4. rohamoldó használat; 5. összességében az asztma állapotának szubjektív megítélése. A kérdésekre adott 1-5 pont alapján 5-25 pont érhető el: 20-25 között beszélünk jól kontrollált asztmáról, 16-20 között nem jól kontrolláltról és 5-15 között nagyon rosszul kontrollált asztmáról. A rosszul kontrollált asztma a légzésfunkció nagyobb változékonyságával is jár a jól kontrollált asztmához képest, és jelentősen emeli az akut exacerbáció kialakulásának valószínűségét (Global Initiative for Asthma 2015).

Kedvezőtlen kimenetel alatt elsősorban az akut exacerbáció fellépését, a fixált légúti obstrukció kialakulását és a kezelés mellékhatásait értjük. Ezek ismert rizikófaktorai az 1. táblázatban láthatók.

**1. táblázat. A kedvezőtlen asztmás kimenetel ismert rizikófaktorai.**

SABA, rövidhatású  $\beta_2$ -agonista; ICS, inhalációs kortikoszteroid; FEV<sub>1</sub>, kilégzési másodperctérfogat; PEF, kilégzési csúcsáramlás, OCS, orális kortikoszteroid.

Exacerbáció	Asztmás tünetek kontrollátlansága
	Nagy dózisú SABA használat
	Elégtelen ICS kezelés, rossz adherencia/eszközhasználat
	Alacsony FEV <sub>1</sub> érték (főleg, ha < 60%)
	A PEF érték nagyfokú változékonysága
	Jelentősebb pszichológiai vagy szociális-gazdasági problémák
	Dohányzás
	Szenzitizáltság esetén allergéneknek kitettség
	Társbetegségek: obezitás, rhinosinusitis, táplálékallergia
	Köpet vagy vér eozinofília
	<i>Terhesség</i>
	Asztma miatti intubáció vagy intenzív osztályos kezelés a kórelőzményben
	≥ 1 súlyos exacerbáció az elmúlt 12 hónapban



Fixált légúti obstrukció	ICS kezelés hiánya
	Dohányzás, ártalmatlan kemikáliák, foglalkoztatási ártalmak
	Alacsony kiindulási FEV <sub>1</sub>
	Krónikus nyáktúltermelés
	Köpet vagy vér eozinofília
Kezelés mellékhatások	Szisztémás: gyakori OCS használat; hosszú távú, nagy dózisú és/vagy potens ICS használat; citokróm P450 gátlószer együttes alkalmazása
	Lokális: nagy dózisú és/vagy potens ICS használat; rossz inhalációs technika
Asztma miatti halál	Intubációt és lélegeztetést igénylő közel-fatális asztma a kórelőzményben
	Asztma miatti hospitalizáció vagy sürgősségi ellátás az elmúlt 12 hónapban
	Aktuálisan használt, vagy nemrég abbahagyott OCS szedés
	ICS kezelés hiánya
	SABA túlhasználat, főleg ha > 200 adag / hónap
	Pszichiátriai betegség
	Rossz adherencia
	Táplálékallergia

A tünetek kontrollálatlansága – bár erős prediktora az exacerbáció rizikónak –, önmagában mégsem elég a rizikóbecslésre, mivel egyrészt a hörgőtágító szerek elfedhetik a tüneteket, de a háttérben zajló krónikus gyulladást nem gyógyítják, másrészt a tünetesség nem mindig függ össze a légzésfunkcióval. Asztmás betegekben idővel kialakulhat nem teljesen reverzibilis, azaz fixált légúti áramláskorlátozottság, ami gyakran perzisztáló nehézlégzéssel jár. A normálisnak tartott 15-20 ml-nél asztmásokban gyorsabb ütemű a FEV<sub>1</sub> éves csökkenése is. A kezelés mellékhatásainak esélye nő a nagyobb dózisok alkalmazásával. A hosszú távú, nagy dózisú inhalációs kortikoszteroid (ICS) kezelés fokozza a véráláfutások, csontritkulás, szürkehályog, glaucoma és mellékvese szuppresszió rizikóját, míg a lokális mellékhatások közé

tartozik a szájpenész és a diszfónia (Global Initiative for Asthma 2015, Tamási és mtsai 2012).

Exacerbáció alatt a tüneteknek és a légzésfunkciónak olyan fokú progresszív romlását értjük, ami szükségessé teszi a beteg szokásos gyógyszerelésének a megváltoztatását (Global Initiative for Asthma 2015). Az exacerbáció fellépésének érzékenyebb jelzője a tünetek gyakoriságának fokozódása, viszont a súlyosságát az akut ellátásban a légzésfunkciós paraméterek eltérései a tüneteknél jobban jelzik. A betegek egy kis része a tüneteket alig érzékeli, még jelentős légzésfunkció romlás ellenére is; az ilyen betegek kórelőzményében gyakran szerepel közel-fatális asztma. Súlyos exacerbáció enyhe, illetve jól kontrollált asztmásokban is felléphet, vagy akár az asztma első manifesztálódása is lehet. Általában valamilyen külső ágens (pl. vírusos felső légúti fertőzés, pollen, légszennyezettség) vagy a rossz ICS adherencia a kiváltó oka, de a betegek egy részénél nem deríthető fel semmilyen külső hatás. A súlyos exacerbáció potenciálisan életet veszélyeztető állapot, szoros monitorozást és megfelelő kórházi kezelést igényel.

Az exacerbációk elkerülése miatt elengedhetetlen az ismert rizikók csökkentése. Ugyanakkor nem minden esetben mutatható ki a kiváltó ok, tehát egyelőre ismeretlen tényezők is közrejátszanak az exacerbációk kialakulásában. Emiatt hasznosak lennének olyan validált, nem invazív módon nyerhető biomarkerek az asztmás betegek gondozásában, amik képesek lennének előre jelezni a jövőbeni nagyobb rizikót, a várható állapotrosszabbodást. Így az asztma kontroll megítélése és a kezelés irányítása nem csak a szubjektív tünetekre és légzésfunkcióra támaszkodna. Az asztma biomarkerek keresése jelenleg is nagy erővel zajlik a nemzetközi kutatásban (Muñoz és mtsai 2015). A perifériás vérben számos gyulladáshoz kapcsolódó marker mérhető, melyek közül néhánynak a jövőben a klinikumban is szerepe lehet, például az eozinofil gyulladást jelző periostin már jelenleg is használatos a Th2 citokinek, mint az interleukin(IL)-13 és IL-5 gátló, vagy az IgE gátló kezelés várható hasznának megítélésére (Arron és mtsai 2013). Az indukált köpet, abban is elsősorban az eozinofil sejtek arányának vizsgálata hasznos lehet, bár a klinikai alkalmazása egyelőre nehézségekbe ütközik, és félig invazív módszernek számít, a betegek egy részében bronchospazmust okozhat, emiatt például terhességben ellenjavallt alkalmazása. A légúti eozinofil gyulladásra utaló kilégzett levegő nitrogén-monoxid szint (FE<sub>NO</sub>) az egyik legígéretesebb módszer,

összefüggést mutathat a tünetekkel, légzésfunkcióval, köpet eozinofíliával és a légúti hiperreaktivitással, de még az exacerbáció éves előfordulásával is; egyes vizsgálatok szerint az ez alapján vezérelt kezelés fenntarthatja vagy javíthatja az asztma kontrollt az ICS dózisének csökkentése mellett (Jones és mtsai 2001, Smith és mtsai 2005), sőt az exacerbációk előfordulását is csökkentheti (Malerba és mtsai 2008). A kilégzett levegő kondenzátum gyűjtése szintén nem invazív metodika, ebben is számos citokin, kemokin, prosztanoid és oxidatív stressz marker mérhető, vagy akár a pH és hőmérséklet is információt nyújthat a légutakról. Még újabb és szintén ígéretes módszer az illékony szerves összetevők vizsgálata. Mindezek a vizsgálatok még kutatási fázisban vannak, de remélhetőleg a jövőben lesznek olyan biomarkerek, melyek a klinikumban is jól használhatónak bizonyulnak.

## II. 2. ASZTMA TERHESSÉGBEN

### II. 2. 1. Klinikai összefüggések az asztma és várandósság között

Az asztma az egyik leggyakoribb terhességgel szövődő krónikus betegség, bizonyos fejlett országokban a legfrissebb adatok szerint már a kismamák 8,3-13,9%-a asztmás (Charlton és mtsai 2013). A két állapot között kétirányú kölcsönhatás áll fenn: egyrészt az asztma befolyásolhatja a terhesség kimenetelét, másrészt a terhesség során végbemenő számos élettani és mechanikai változás miatt maga a várandósság is hatással lehet az asztma tünetességére, súlyosságára (Murphy és mtsai 2006). Tizennégy 1990 előtt megjelent vizsgálat metaanalízise szerint nagyjából az asztmás kismamák egyharmadánál történik javulás az asztmás tünetekben a terhesség során, másik egyharmadnál ellenben rosszabbodás lép fel, a maradék egyharmadnál pedig nem változik a súlyosság. Az esetleges exacerbációk leginkább a második és harmadik trimeszterben fordulnak elő, a gyakoriság csúcsa a 6. hónapban van (Schatz 1999), és nagyjából a terhességek 6%-ában következik be exacerbáció (Charlton és mtsai 2013, Ali és Ulrik 2013). Ugyanakkor a terhesség utolsó négy hetében általában javulás lép fel, és a vajúadás és szülés közben csak a betegek 10-20%-ában jelentkeznek asztmás tünetek (Gluck és Gluck 2006). A terhesség során bekövetkező változás gyakran visszaalakul a terhesség előtti szintre a szülés után három hónapon belül. Egy adott beteg egymást követő terhességei során az asztma hasonló lefolyása várható (Gluck és Gluck 2006).

Ugyanakkor a nem jól kontrollált anyai asztma hatására emelkedhet számos súlyos anyai és magzati szövődmények rizikója, amely ismeret gyakran okoz félelmet és jelent gátlást az asztmás asszonyok gyermekvállalásában. Asztmás várandósságban nagyobb az esélye az asztma exacerbáció kialakulásának, az orális kortikoszteroid-kezelés szükségességének, az asztma miatti hospitalizációnak, a preeclampsziának, terhességi hipertóniának, gesztációs diabétesznek, chorioamnionitisnek, placenta praeviának, koraszülésnek, császármetszésnek, alacsony születési súlynak, intrauterin növekedési retardációnak (IUGR), vetélésnek, perinatális mortalitásnak és hosszabb kórházi tartózkodásnak (Demissie és mtsai 1998, Kállén és mtsai 2000, Liu és mtsai 2001,

Hendler és mtsai 2006, Schatz és mtsai 2006, Breton és mtsai 2009, Schatz 2009, Murphy és mtsai 2011). Újabb adatok szerint hasonló arányban várható exacerbáció terhesség alatt, mint nem terhes állapotban (Charlton és mtsai 2013). A perinatális mortalitás szempontjából az asztma 35%-os rizikóemelkedést jelent, aminek háttérében részben a gyakoribb koraszülés és alacsony születési súly áll (Breton és mtsai 2009). Az anyai asztma az ideg-, a légző- és az emésztőrendszer kongenitális malformációjának rizikóját is fokozhatja (Blais és mtsai 2010).

Azonban az asztma és a terhesség közötti klinikai kölcsönhatások háttérében álló pontos immunológiai mechanizmusok még nincsenek feltérképezve, és nem ismert, mi vezet az esetleges állapotrosszabbodáshoz terhesség alatt. Így jelenleg még nem határozható meg előre nagy biztonsággal, mely asztmás kismamák veszélyeztetettek a terhesség során a szülészeti szövődmények szempontjából, így ez a betegcsoport különleges kihívást jelent a tüdőgyógyászok számára. Az asztma terhesség alatti menedzselése mindig gondos mérlegelést igényel, amihez szükséges az orvosok kellő felkészültsége, valamint a beteg és kezelőorvosa közti gyakori és megfelelő, a beteg számára jól érthető konzultáció is. Az asztma terhesség alatt történő rendszeres állapotkövetése, az adekvát kezelés, és ezáltal az optimális asztma kontroll, a tünetmentes állapot fenntartása terhesség során azért kulcsfontosságú, mivel ez csökkenti az anyai és magzati szövődményrizikót egyaránt (Murphy és mtsai 2011, Bakhireva és mtsai 2008a, Firoozi és mtsai 2010, Tamási és mtsai 2011, Namazy és mtsai 2013). Egy 719 asztmás nő terhességét követő vizsgálatban például gyakoribb volt a koraszülés azoknál a kismamáknál, akik terhességének első felében nem volt megfelelő az asztma kontroll azokhoz képest, akiknél megfelelő volt, illetve azoknál, akiknek asztma miatti hospitalizációra volt szükség azokhoz képest, akiknek nem volt szüksége hospitalizációra (Bakhireva és mtsai 2008a). Egy másik, 13007 asztmás terhességet elemző kohorsz vizsgálat szerint mind a súlyos, mind a mérsékelten súlyos asztma növeli a méhen belüli növekedési elmaradás (small for gestational age – SGA) esélyét az enyhe asztmával szövődtött terhességhez képest (Firoozi és mtsai 2010). Ugyanezt egy még újabb metaanalízis is megerősítette, melynek eredményei szerint az anyai mérsékelten súlyos-súlyos asztma fokozta a méhen belüli növekedési elmaradás és az alacsony születési súly rizikóját, ezenkívül az exacerbáció és az orális kortikoszteroid-használat emelkedettebb koraszülés- és alacsony születési súly-rizikóval

járt (Namazy és mtsai 2013). Egy friss tanulmány szerint a kongenitális malformációk rizikója magasabb az első trimeszterben súlyos exacerbációt elszenvedő asztmás kismamák körében, azokhoz képest, akiknél mérsékelten súlyos exacerbáció lépett fel, vagy nem történt exacerbáció (Blais és mtsai 2015).

Az anyai asztmának hosszú távú következményei is lehetnek a gyermek egészségére nézve. Gyakoribbak lehetnek a gyermekkor során a fertőző betegségek, az idegrendszer, a fül, a légzőrendszer és a bőr megbetegedései, ezenkívül valószínűleg az endokrin és metabolikus eltérések, emésztőrendszeri betegségek és a malformációk is (Tegethoff és mtsai 2013).

## **II. 2. 2. Az asztma diagnosztikai és gondozási nehézségei terhességben**

A kontrollált állapot fenntartásához és a kezelés megfelelő szintű beállításához alapvető követelmény az asztmás kismama körültekintő állapotfelmérése, és rendszeres monitorizálása a gondozás során. Igen fontos lenne időben felismerni a fenyegető állapotrosszabbodást, kontrollvesztést – a veszélyeztetett kismamák korai kiszűrésével –, azonban ez nehézségekbe ütközik. Ugyanis a légzésfunkciós vizsgálat eredményeit maga a terhesség is befolyásolja (Grindheim és mtsai 2012), emiatt óvatosan szabad csak megítélni ennek eredményei alapján a kismama aktuális légzésfunkcióját. Egy követéses vizsgálat szerint mind az FVC és FVC%, mind a PEF és PEF% nőtt a 14-16. terhességi hét után, így ez a fiziológiás emelkedés asztmások esetében akár elfedhet egy rosszabbodó légzésfunkciót, és így a rutin légzésfunkciós vizsgálat egyedüli alkalmazása a terhesség során az állapotromlás korai jeleinek fel nem ismeréséhez vezethet. A megváltozott légzésfunkció szülés után is emelkedett marad, így a már szült nők FVC% értékei szignifikánsan magasabbak, mint a még sosem szült nőké (Grindheim és mtsai 2012). Emellett a légzésfunkciós vizsgálat során szükséges erőltetett kilégzési manővert a terhesség előrehaladtával egyre nehezebben végzik el a betegek. A terhességi fiziológiás hiperventilláció miatt az artériás parciális oxigénnyomás valamivel magasabb ( $pO_2$  100–105 Hgmm), míg a széndioxid-nyomás valamivel alacsonyabb ( $pCO_2$  32–34 Hgmm) várandósokban, mint nem terheseekben; emiatt akár már az enyhe anyai hipoxémia hátterében is sérült gázcsere-funkció állhat asztmás kismamákban. Legalább 95%-os artériás oxigénszaturáció fenntartása ajánlott a

megfelelő anyai és magzati oxigenizáció eléréséhez (Tamási és mtsai 2011). Az indukált köpet vizsgálata terhességben nem végezhető, hasonlóan a bronchiális hiperreaktivitás teszteléséhez, mivel ezek biztonságosságára nincs adat terhességben; ezen kívül az allergiás bőrpróba is kontraindikált a szisztémás reakció veszélye miatt. Mindezek a tényezők nagyban csökkentik a diagnosztikai és betegség-monitorozási lehetőségeket asztmás terhességben (Tamási és mtsai 2011). A légúti gyulladásra utaló kilégzett nitrogén-monoxid koncentráció ( $FE_{NO}$ ) mérése viszont – munkacsoportunk adatai alapján - asztmás várandósságban is alkalmazható, nem-invazív módszer (Tamási és mtsai 2009). A  $FE_{NO}$  terhesség alatti monitorozása alapján titrált kezelés képes volt csökkenteni az exacerbációk előfordulását a hagyományos módon gondozott várandós betegekhez képest, emellett az életminőség is javult, és a neonatális hospitalizáció csökkent (Powell és mtsai 2011). Ugyanakkor egy újabb követéses vizsgálat szerint nagy az egyéni belüli variabilitás asztmás várandósokban, az asztma kontroll fokától függetlenül (Nittner-Marszalska és mtsai 2013).

Asztmával szövődött terhesség esetén a fentiek miatt különösen hasznosak lennének a klinikumban használható olyan nem invazív biomarkerek, amik előre jeleznék az asztma terhesség alatti várható lefolyását, illetve a terhesség valószínű kimenetelét. Azonban a nemzetközi szakirodalom mai állása szerint – a  $FE_{NO}$ -n kívül – egyelőre nem ismert az asztma terhesség alatti súlyosbodásával, tünetessé válásával korrelációt mutató biomarker, amely a fokozott rizikóval rendelkező asztmás terhes asszonyok korai kiemelését segítené elő a mindennapi klinikai betegellátás gyakorlatában. Ismert viszont néhány olyan klinikai „gyanújel”, ami felhívhatja a kezelőorvos figyelmét a várható állapotrosszabbodásra. Ezek részben magával az asztmával, részben társbetegségekkel kapcsolatosak. Egyes vizsgálatok szerint a súlyosabb asztmás betegek, illetve a magasabb terápiás lépcsőt igénylők nagyobb eséllyel exacerbálnak terhesség során, mint az enyhe asztmások, amellett, hogy a tüneteik is súlyosabbak (Gluck és Gluck 2006, Charlton és mtsai 2013, Ali és Ulrik 2013). Azoknál a várandósoknál is nagyobb eséllyel alakul ki állapotromlás, akiknél az előző év azonos évszakában, nem terhes állapotban exacerbáció lépett fel (Charlton és mtsai 2013). A terhesség elejét jellemző asztma-specifikus életminőség is kapcsolatban áll a későbbi terhesség alatti asztma morbiditással, mint tünetesség vagy exacerbáció (Schatz és mtsai 2010), valamint a megelőző terhességek során fellépő asztma romlás is fokozott rizikót jelenthet (Global

Initiative for Asthma 2015). Az asztmás tünetek terhesség alatti rosszabbodására hajlamosítanak bizonyos társbetegségek, mint a fertőzések, gastro-oesophagealis reflux betegség (GERD), dohányzás és obezitás (Gluck és Gluck 2006, Hender és mtsai 2006, Ali és Ulrik 2013). Egy újabb követéses vizsgálat is megerősítette, hogy az asztmás kismamák gyakrabban betegsznek meg közöséges náthában, mint az egészséges kismamák, és a tüneteik is súlyosabbak. Ez azért is fontos, mert a laboratóriumban igazolt vírusinfekció fokozta az exacerbáció előfordulását: az infekciók nem kevesebb, mint 60%-a járt kontrollálatlan asztmával (Murphy és mtsai 2013). Emiatt a legújabb GINA irányelvbe bekerült egy új ajánlás, miszerint az asztmás kismamákat légúti infekciók irányában is vizsgálni kell (Global Initiative for Asthma 2015). Az asztmás kismamák harmada dohányzik, és a dohányzás nem csak az exacerbációk előfordulását, de a súlyosságát is fokozza asztmás várandósokban (Murphy és mtsai 2010), ezenkívül a neonatális asztma rizikóját is növeli (Newman és mtsai 2010). Továbbá a koraszülés és a húgyúti fertőzések előfordulása nagyobb mértékben nő a dohányzás és az asztma együttes fennállásakor, mint a két betegség hatására külön-külön (Hodyl és mtsai 2014). A terhességi fiziológiás immuntolerancia elhízott kismamákból kevésbé működik (Bohács és mtsai 2010), és az anyai obezitás mind a pulmonológiai (mint például asztma exacerbáció), mind a nem pulmonológiai szövődmények (preeclampsia, gesztációs diabétesz, terhességi hipertónia) rizikóját fokozza asztmás várandósokban (Hender és mtsai 2006, Ali és Ulrik 2013). Egyes vizsgálatok szerint a magzat neme is befolyásolhatja az asztma súlyosságát, amennyiben a lány magzattal várandós nők esetében gyakoribb volt az állapotrosszabbodás (Bakhireva és mtsai 2008b, Bohács és mtsai 2010), illetve a lány magzatok nagyobb eséllyel maradtak el a növekedésben (Murphy és mtsai 2003, Bohács és mtsai 2010). Ugyanakkor más vizsgálatok nem igazoltak nemek közti különbségeket (Ali és Ulrik 2013). Mindezek mellett a megfelelő gyógyszerelés csökkentése is – akár a kezelőorvos, akár önkényesen a beteg által – fokozza a rizikót; az alulkezelés, illetve a rossz adherencia továbbra is általános probléma terhesség során (Gluck és Gluck 2006, Ali és Ulrik 2013).



### II. 2. 3. Az asztma kezelése várandósságban

Az asztmás kismamák kezelésének célja – a fentiek fényében érthető módon – az optimális asztma kontroll elérése és fenntartása. A kismamákban általában bármilyen gyógyszerelés ellenérzést vált ki, azonban az asztma kezelésének előnyei határozottan felülmúlják a használt szerekkel járó rizikót. Az ICS,  $\beta_2$ -agonista, motelukast és theophyllin nem okoz magzati abnormalitást, viszont az ICS használat szüneteltetése fokozza az exacerbáció rizikóját terhesség során (Global Initiative for Asthma 2015). A fent bemutatott diagnosztikai nehézségek miatt a terhesség során újonnan fellépő, a klinikai kép alapján valószínűsíthető, de légzésfunkciós vizsgálattal nem bizonyítható betegséget szintén asztmaként kell kezelni terhesség alatt (Tamási és mtsai 2011). Az asztmás nők egy része, amikor megtudja, hogy terhes, önkényesen abbahagyja a gyógyszerek használatát, míg más kismamák adherenciája javul (Charlton és mtsai 2013). Fontos ezért a kismamák kellő tájékoztatása a kontroll fenntartásának, és így az adekvát kezelésnek a szükségességéről. Szoros, havi rendszerességű követés szükséges a betegség terhesség alatti változékonysága miatt. A jól kontrollált kismamáknak a kezelés folytatása javasolt, és bár nem terhes állapotban 3 hónap után megfontolandó egy lépcsővel lejjebb lépés a terápiában, terhesség alatt ez nem javasolt a kontrollvesztés veszélye miatt (Tamási és mtsai 2011). A nem jól kontrollált kismamáknál egy terápiás lépcsővel feljebb lépés szükséges, míg a nagyon rosszul kontrolláltak számára két lépcsővel feljebb lépés és/vagy orális kortikoszteroid adása ajánlott (Tamási és mtsai 2011). A rendelkezésre álló biztonságossági adatok alapján az albuterol/salbutamol az elsőként választandó rohamoldó szer, míg a budesonid a preferált inhalációs kortikoszteroid hatóanyag. A hosszú hatású inhalációs béta-agonisták, a formoterol és salmeterol is adhatók terhességben, amennyiben a fenntartó ICS terápia ellenére tünetek állnak fenn. A leukotrién-receptor antagonistáknak a montelukast és a zafirlukast is biztonságosnak tűnik terhességben, bár még elég kevés a humán adat (Tamási és mtsai 2011). Fontos a légúti infekciók adekvát kezelése is terhesség alatt. Az exacerbációk elkerülése azért is fontos, mert a szisztémás kortikoszteroidok kedvezőtlenül befolyásolhatják a terhesség kimenetelét, használatuk a terhességi hipertónia, praeclampsia, koraszülés, alacsonyabb születési súly és kongenitális malformációk gyakoribb előfordulásával jár (Park-Wyllie és mtsai 2000). A magzati

hipoxia elkerülése miatt elengedhetetlen az akut exacerbációk agresszív kezelése SABA, oxigén és szisztémás kortikoszteroid korai adásával (Global Initiative for Asthma 2015).

A nem jól kontrollált betegek szülészeti ellátásában kívánatos a gyakoribb ultrahangvizsgálat a méhen belüli növekedési elmaradásának lehetősége miatt, és a 32. terhességi héttől a non-stressz teszt vizsgálat. Vajúdás és szülés közben folytatni kell a beteg szokásos asztma medikációját. Bár szülés közben ritkán lép fel exacerbáció, de a hiperventilláció miatt bizonyos fokú hörgőszűkület előállhat, amit SABA adagolásával kell kezelni. Szisztémás kortikoszteroidot szedő, vagy a terhesség során többször szisztémás kortikoszteroid kezelésben részesülő kismamáknak intravénás kortikoszteroid adása javasolt szülés közben és 24 óráig szülés után (Tamási és mtsai 2011). A legújabb GINA ajánlásban újdonság, hogy – főleg koraszülött babákban – a neonatális hipoglikémia lehetősége miatt az újszülött vércukorszintjét az első 24 órában monitorozni kell, amennyiben a kismama a szülést megelőző 48 órában nagy dózisban használt SABA rohamoldó szert (Global Initiative for Asthma 2015).

## **II. 2. 4. Biomarker-keresés asztmával szövődött terhességben**

A nem jól kontrollált asztma, illetve az asztma akut romlásának korai felismerése tehát kulcsfontosságú asztmával szövődött terhességben. A diagnosztika és monitorozás terhesség alatti nehézségei miatt ebben nagy segítséget jelenthetnének nem invazív módon detektálható biomarkerek. Az immunrendszer fokozott aktivitását asztmában – és így talán asztmás terhességben is – a periférián keringő gyulladásoz fehérjék és egyéb gyulladásoz markerek szintjének emelkedése is jelezheti. Asztmában több proinflammatorikus citokin, gyulladásoz marker szisztémás emelkedését kimutatták, mint például az IL-6 (Yokoyama és mtsai 1995), tumor nekrozis faktor(TNF)- $\alpha$  (Silvestri és mtsai 2006), C-reaktív protein (CRP) (Takemura és mtsai 2006), fibrinogén és szérum amiloid-A (Jousilahti és mtsai 2002), amelyek azonban nem elég érzékenyek és specifikusak az asztmás kontrollvesztés előrejelzése, az exacerbáció rizikóbecslése szempontjából.

A CRP-t számos alkalommal vizsgálták asztmában, de még nem eldöntött kérdés, mennyire függ össze a súlyossággal és a kontrolláltsággal, illetve mely asztma

fenotípusokkal mutat kapcsolatot. Több vizsgálat megerősítette, hogy korrelálhat rosszabb légzésfunkcióval, súlyosabb betegséggel, rosszabb kontrollal, köpet eozinofiliával és légúti hiperreaktivitás előfordulásával (Kony és mtsai 2004, Fujita és mtsai 2007, Allam és mtsai 2009, Kilic és mtsai 2012). Ugyanakkor más vizsgálatok szerint csak szteroid-naiv betegekben emelkedett a szintje, és csak ebben a betegcsoportban korrelált rosszabb légzésfunkcióval és a köpet eozinofil számmal (Takemura és mtsai 2006), szteroid-kezelt betegekben nem; más vizsgálatok szerint pedig vagy csak nem allergiás asztmával függött össze, allergiás asztmával nem (Olafsdottir és mtsai 2005), vagy egyáltalán nem korrelált az asztma kontrollal és a légzésfunkcióval asztmásokban (Sigari és Ghasri 2013).

Az IL-6 is gyulladásozó citokin, akut fázis fehérje, ami tovább fokozza más akut fázis fehérjék, így a CRP termelését is. Valószínűleg – a korábbi nézettel szemben – nem csak a gyulladásozó folyamatok „mellékterméke” asztmában, hanem hasonlóan más citokinekhez, ez is aktív résztvevő a betegség patogenezisében, méghozzá már a korai fázisban, a légúti epitélisejtekből felszabadulva (Rincon és Irvin 2012). Enyhémérsékelt súlyos allergiás asztmások indukált köpetében magasabb szintet mértek egészséges kontrollokhoz képest (Neveu és mtsai 2010), míg bronchoalveoláris lavázs (BAL) mosófolyadékban mérve „intrinsic” asztmásokban magasabb szintet írtak le allergiás asztmásokhoz képest (Virchow és mtsai 1996). Érdekes, hogy mivel a zsírsavak is termelik egyéb gyulladásozó molekulákkal együtt, az obezitáshoz társuló asztma fenotípusban különösen fontos lehet (Canöz és mtsai 2008). Perifériás vérben az IL-6 szintjét még kevés alkalommal vizsgálták asztmában. Egészséges kontrollokhoz képest két vizsgálatban is emelkedett szintet mértek stabil állapotú asztmásokban (Yokoyama és mtsai 1995, Higashimoto és mtsai 2008), ami tovább emelkedett asztmás roham során, illetve allergén inhaláció hatására (Yokoyama és mtsai 1995). Egy másik vizsgálatban csak enyhe és súlyos asztmás betegek IL-6 szintjét hasonlították össze (egészséges kontrollcsoport nélkül), és köztük nem találtak különbséget (Ghaffari és mtsai 2011).

Különböző gyulladásozó markerek perifériás vér-, illetve légúti szintjeinek, és a tünetekkel, illetve egyéb klinikai és gyulladásozó jellemzőkkel való összefüggéseinek vizsgálata tehát jelenleg is zajlik az asztma kutatásban, de a mindennapi klinikai gyakorlatban még nem áll rendelkezésre jól használható, megbízható, perifériás vérben

mérhető biomarker. Másrészt, egyáltalán nem biztos, hogy egy nem terhes állapotban validált biomarker várandós állapotban is használható lehet, illetve ugyanazok a normálértékek érvényesek, hiszen a fiziológiás terhességre jellemző immunológiai, hormonális és fizikai változások a gyulladási markerek szintjét is befolyásolhatják, mint ahogy kimutatták korábban a D-dimer, fibrinogén (Réger és mtsai 2013), vörösvértest süllyedés (van den Broe és Letsky 2001), fehérvérsejt szám (Valdimarsson és mtsai 1983), és CRP (Watts és mtsai 1991) esetében is. Emiatt egy esetleg asztmában már jól bevált biomarkert mindenképpen meg kell vizsgálni asztmával szövődött terhességben is, mielőtt a nem terhes állapotban validált szerepének megfelelően terhes állapotban is biomarkerként alkalmaznánk.

## **II. 2. 5. Hsp70 asztmával szövődött terhességben**

Munkacsoportunk korábban már megvizsgált egy potenciális biomarkert, a hősokkfehérje (HSP)-70-et asztmával szövődött terhességben (Tamási és mtsai 2010). A hősokkfehérjék a sejtekben molekuláris chaperon funkcióval bíró filogenetikailag konzervált, sejtvédő molekulák, azonban a sejtek stressz esetén exocitózissal kiválasztják, illetve az elpusztult sejtekből felszabadul, így a vérkeringésben is detektálhatók, és stresszmarkerként szolgálnak. A Hsp70 perifériás szintje egészséges terhességben alacsonyabb, mint nem terhes állapotban, valószínűleg a terhességi immutolerancia következtében (Molvarec és mtsai 2007). Ugyanakkor a terhesség előrehaladtával nőhet a koncentrációja a vérben (Molvarec és mtsai 2007), bár az erre vonatkozó adatok nem egyértelműek (Fukushima és mtsai 2005). Mindenesetre az emelkedett szint szülészeti szövődményekkel járhat, mint preeclampsia vagy koraszülés (Fukushima és mtsai 2005). A Hsp70-nek asztmában is szerepe lehet, hiszen mindinkább ismert, hogy az asztmára jellemző gyulladási folyamatokat nem specifikus veszélyszignál is beindíthatja, melyben az antigénprezentáló dendritikus sejtek kóros működése a döntő (Willart és Lambrecht 2009). A Hsp70 közreműködik az antigén feldolgozásban és bemutatásban, illetve az antigénprezentáló sejtek aktivitását növelve, és a tolerogén dendritikus sejtek immunogénekké való konverzióját okozva az asztmás immunválasz beindításában, majd Th2 környezetben ennek fenntartásában is. Stimulálja gyulladási citokinek (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  és IL-6) és kemokinek termelését,

valamint az NK sejtek és  $\gamma/\delta$  T sejtek citolitikus aktivitását. Később – már munkacsoportunk vizsgálatát követően – kimutatták, hogy mind az eozinofil, mind a nem eozinofil fenotípusú asztmások köpetében és plazmájában magasabb a szintje, és a súlyossággal korrelál, így a szerzők szerint biomarkerként is használható lehetne (Hou és mtsai 2011).

Célszerűnek tűnt megvizsgálni lehetséges alkalmazhatóságát asztmás várandósságban is. A vizsgálatban 40 egészséges és 40 asztmás várandós vett részt, az életkor (medián: 30 év) és a gesztációs kor (medián: 23,5 vs. 24 hét) is egyezett a két csoportban (2. táblázat). Azonban a betegek egy részében nem megfelelően kontrollált asztma eredményeképpen az újszülöttek születési súlya alacsonyabb volt az asztmás csoportban, mint az egészséges terhes csoportban (medián: 3230 gramm /2690–3550/ vs. 3550 gramm /3450–3775/,  $p < 0,05$ ), azonos terhességi kor mellett. A parciális artériás oxigéntenzió mediánja 92,2 Hgmm volt az asztmás kismamák körében, ami elmarad a fiziológiás terhességben várhatóhoz képest. Az asztma kontroll foka nagyrészt kielégítő volt,  $20,66 \pm 2,24$  átlagos ACT összpontszámmal. A medián FEV<sub>1</sub> 89,5%, a medián PEF 74% volt (Tamási és mtsai 2010).

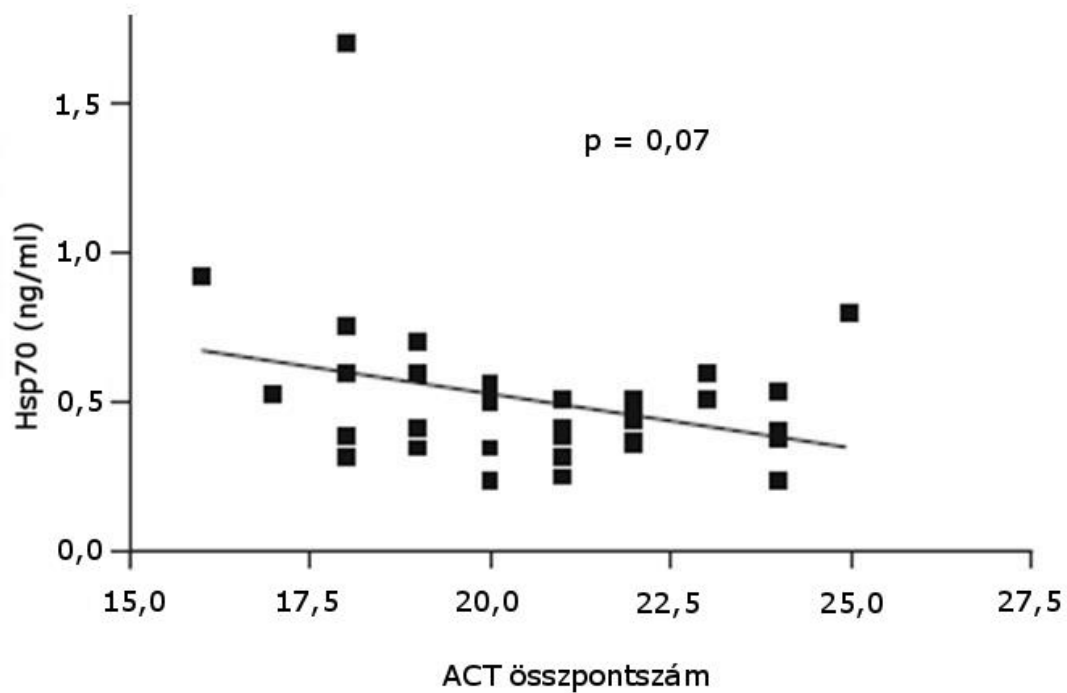
**2. táblázat. Klinikai jellemzők és szérumban Hsp70 szintek a két vizsgált csoportban.**

Medián [interkvartilis tartomány], átlag  $\pm$  SD. ET, egészséges terhes; AT, asztmás terhes; FVC, erőltetett vitálkapacitás; FEV<sub>1</sub>, erőltetett kilégzési másodperctérfogat; PEF, kilégzési csúcsáramlás; R<sub>aw</sub>, légúti áramlási ellenállás; ACT, Asztma Kontroll Teszt; pO<sub>2</sub>, parciális artériás oxigénnyomás; pCO<sub>2</sub>, parciális artériás széndioxidnyomás; <sup>a</sup> p < 0,05.

	ET (n = 40)	AT (n = 40)
Életkor (év)	30 (28–32)	30 (29–33)
Terhességi kor mintavételkor (hét)	23,5 (12,5–31)	24 (12–32,5)
Terhességi kor szüléskor (hét)	39 (39–40)	38 (37–40)
Születési súly (gramm)	3550 (3450–3775)	3230 (2690–3550) <sup>a</sup>
Magzati növekedési elmaradás	0 (0%)	2 (5,0%)
FVC (a várható %-a)	-	98,0 (90,0–106,0)
FEV <sub>1</sub> (a várható %-a)	-	89,5 (84,0–99,0)
PEF (a várható %-a)	-	74,0 (68,0–85,0)
R <sub>aw</sub> (a várható %-a)	-	124,0 (95,0–140,0)
ACT összpontszám	-	20,66 $\pm$ 2,24
pO <sub>2</sub> (Hgmm)	-	92,2 (86,0–96,9)
pCO <sub>2</sub> (Hgmm)	-	27,3 (25,6–28,2)
Oxigén szaturáció (%)	-	97,8 (97,3–98,3)
Hsp70 (ng/ml)	0,21 (0–0,27)	0,44 (0,36–0,53) <sup>a</sup>

A szérumban Hsp70 koncentráció szignifikánsan magasabb volt az asztmás terhes csoportban, olyannyira, hogy meghaladta az egészséges terhesekben mért medián érték kétszeresét (0,44 /0,36–0,53/ vs. 0,21 /0–0,27/ ng/ml, p < 0,001). Továbbá ROC analízissel meghatározható volt a Hsp70 koncentráció olyan értéke (0,30 ng/ml), amely az asztmás és egészséges terheseket 90%-os szenzitivitással és 85%-os specificitással képes volt elkülöníteni. Az e fölötti Hsp70 értékek többszörös logisztikus regresszió analízissel a terhességi korra és anyai életkorra való korrekció után is szignifikánsan összefüggtek az anyai asztmával; a korrekcióra azért volt szükség, mert a Hsp70 szint az

egészséges terhes csoportban – a korábbiakban már ismert adatokhoz hasonlóan – korrelált a gesztációs korrall és fordítottan korrelált az anyai életkorrall. A fokozott gyulladásos állapot és a tünetesség összefüggését jelezte asztmás terhességben az ACT összpontszám és a Hsp70 szint közötti fordított korreláció trendje ( $r^2 = 0,9669$ ;  $p = 0,07$ ; 1. ábra) (Tamási és mtsai 2010).



**1. ábra. A Hsp70 szint és az ACT összpontszám kapcsolata asztmás terhesekben**  
ACT – Asztma Kontroll Teszt.

A Hsp70 mérése tehát a jövőben segítheti a terhesség alatt újonnan fellépő asztma diagnosztikáját, illetve a már ismert asztmás kismamák esetében hozzájárulhatna a kontrolláltság fokának objektív értékeléséhez, azonban ehhez nagyobb esetszámú vizsgálatban történő validálás szükséges. Az eddigi adatok alapján a Hsp70-nek összekötő szerepe lehet az asztmás gyulladás és a szülészeti/perinatális szövődmények kialakulása között: az asztma miatt nagyobb mennyiségben a keringésbe kerülő extracelluláris Hsp70 által kiváltott proinflammatorikus immunreakciók terhességi szövődményekhez és a magzat elmaradott fejlődéséhez vezethetnek (Tamási és mtsai 2010).

A fent ismertetett, már megkezdett biomarker-kutatásnak a folytatásaként munkacsoportunk további olyan potenciális molekulákat keresett, amelyek használhatók lehetnének a klinikumban az asztmás kismamák állapotának objektív megítélésére és a terhesség alatti várható kockázat felmérésére. Három szóba jövő molekula elemzésére került sor: a vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF), a szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor (suPAR) és a hialuronsav.

## **II. 3. LEHETSÉGES ÚJ BIOMARKEREK ASZTMÁVAL SZÖVŐDÖTT TERHESSÉGBEN**

### **II. 3. 1. Vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF)**

A vaszkuláris endoteliális növekedési faktor az angiogenezis egyik fő mediátora, a makrofágok, T sejtek, epitel-, simaizom- és fibroblasztsejtek, citotrofoblaszt és tumorsejtek által termelt citokin. Az érújdonképződést több fronton hatva váltja ki: igen jelentősen megnöveli a vaszkuláris permeabilitást, elősegíti az endotélsejtek és prekursoraik migrációját és proliferációját, míg apoptózisukat gátolja; emellett a nitrogén-monoxid szintézis szabályozásában is fontos szerepe van. De az eozinofilekre, hízósejtekre és makrofágokra is hat, stimulálja ezen gyulladásozó sejtek kemotaktikus migrációját. A vaszkuláris simaizomsejtek migrációját pedig a mátrix metalloproteináz termelésüket fokozva serkenti. A T sejtek elsődleges aktiválásában („priming”) is szerepe lehet (Meyer és Akdis 2013).

A hatos kromoszómán elhelyezkedő génje nyolc exont tartalmaz, melyek egy több altípusból álló proteincsaládot kódolnak: PlGF (placenta growth factor – placenta növekedési faktor), VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C és VEGF-D, melyek közül a VEGF-A a domináns forma (Yamazaki és Morita 2006, Jardim és mtsai 2015, Pałgan és Bartuzi 2015). A VEGF-nek a sejtekben tirozin-kináz aktivitással bíró receptorai vannak. A VEGF-A, VEGF-B és PlGF a VEGFR-1 (vagy más néven fms-like tyrosine kinase 1; Flt1) receptorhoz kötődnek, míg a VEGFR-2 (vagy KDR-growth factor receptor, vagy Flk1) receptorhoz csak a VEGF-A kötődik. Bár az Flt1-hez nagyobb az



affinitása a VEGF-nek, mégis a KDR receptor az angiogenezis és az éráteresztés fő mediátora (Jardim és mtsai 2015). Az Flt1-nek szolubilis formája is van, az sFlt1, amit monociták és endotélsejtek termelnek alternatív splicing útján, és a VEGF fiziológiás szabályozására szolgál. A jól szabályozott, állandó VEGF szint ugyanis igen fontos, hiszen ez elengedhetetlen az endotélsejtek túléléséhez és proliferációjához. Az sFlt1 a VEGF és PlGF antagonistájaként hat, mivel a plazmában hozzájuk kötődve megakadályozza a biológiai hatással bíró receptorukhoz való kötődésüket, és így a sejten belüli biológiai hatásuk kiváltását. Ez a szolubilis receptor ugyanis nem fejt ki tirozin-kináz aktivitást. Így végső soron endotélsejt diszfunkciót és vazokonstriktiót okozhat (Levine és mtsai 2004, Maynard és mtsai 2003). Emellett a kereskedelmi forgalomban lévő ELISA kiték VEGF mérését is befolyásolja, blokkolva a VEGF-antitest kötőhelyet (Jelkmann 2001). Így tehát a mért szintek valójában „szabad” VEGF szinteket jelentenek, nem pedig „összes” VEGF szinteket.

A VEGF terhesség során a normális embrionális és placentális angiogenezisben kritikus szerepet játszik (Espinoza és mtsai 2010). A terhesség 21. napjától egészen a 26. hétig tartó folyamat során a trofoblasztsejtek, deciduasejtek és makrofágok termelik lokálisan az ezt elősegítő angiogén faktorokat, többek között a VEGF-et. Ugyanakkor a szinciciotrofoblaszt terhességben több sFlt1-et is termel, jellemző időbeli szérumszint változásokkal. A fogantatás után eleinte megnő a szintje, majd a 30. hétig állandó marad. Végül az utolsó két hónapban gyorsan tovább emelkedik, és terminuskor tetőzik (Levine és mtsai 2004, Palm és mtsai 2011). Azonban a nem megfelelő placentációval és placentális erezettséggel járó preeclampsziában már a 30. hétnél korábban és jelentősebb mértékben megemelkedik az sFlt1 keringő szintje, a szabad VEGF (és PlGF) pedig csökken, így az angiogén-angiosztatikus faktorok aránya romlik (Levine és mtsai 2004, Maynard és mtsai 2003, Park és mtsai 2005, Espinoza és mtsai 2010, Molvarec és mtsai 2010). Az sFlt1 és más keringő angiosztatikus faktorok megemelkedő szintje okozhatja az anyában az endoteliális diszfunkciót, hipertenziót és proteinuriát. Mivel már a betegség manifesztálódása előtt 5 héttel megemelkedett az sFlt1 szint, így ennek mérése a korai diagnózist is segítheti. Egyébként hasonló tünetek, hipertenzió és proteinuria daganatos betegek VEGF-gátlóval való kezelése során is megfigyelhető volt (Jardim és mtsai 2015).

Asztmában a krónikus gyulladás következtében kialakuló, minden szövettani réteget érintő légúti átépülés egyik legkorábbi eleme a légutak erezettségének jelentős megnövekedése (Pałgan és Bartuzi 2015). Ez csökkenti a légúti átmérőt, a légúti hiperreaktivitást viszont fokozhatja (Hoshino és mtsai 2001). A neovaszkularizáció a bronchiális endotélium destrukciójával és VEGF felszabadulással kezdődik (Pałgan és Bartuzi 2015). A légúti VEGF fő forrása az alveoláris és bronchiális epitélisejtek, a simaizomsejtek, a fibroblasztok és az alveoláris makrofágok, de az IgE-aktivált bazofilek, hízósejtek és eozinofilek is szecernálják (Meyer és Akdis 2013). Asztmás betegekből származó bronchiális epitélisejtekről és simaizomsejtekről is kimutatták, hogy nagyobb mennyiségben képesek termelni VEGF-et, mint egészségesekből származó sejtek, melynek hátterében epigenetikai módosulásokat írtak le (Pałgan és Bartuzi 2015, Meyer és Akdis 2013). A bronchiális epitélisejtek VEGF termelését a Th2 jellegzetes citokinjei (IL-4, IL-5, IL-13) és a Th17 sejtek növelik, a Th1 sejtek ellenben elnyomják (Meyer és Akdis 2013). A VEGF fokozott termelése korrelált az erek számával, a bazális membrán vastagságával és a hízósejtek számával a bronchiális mucosában, enyhe vagy közép súlyos asztmásokban (Meyer és Akdis 2013).

A fentieknek megfelelően asztmás betegekben magasabb légúti VEGF koncentrációkat mértek mind indukált köpet, mind bronchiális biopszia mintákban, mind BAL folyadékban detektálva (Hoshino és mtsai 2001, Asai és mtsai 2003). Ráadásul szignifikáns korrelációt írtak le a légúti VEGF szintek és a bronchiális obstrukció, valamint a vaszkuláris permeabilitás súlyossága között, emellett a VEGF az eozinofil gyulladás mértékével is korrelált; az ICS kezelés viszont csökkentette a légúti VEGF szinteket (Hoshino és mtsai 2001, Asai és mtsai 2003). Rhinovírus infekció gyakran áll asztma exacerbáció hátterében, és ismert, hogy a rhinovírus fertőzés serkenti a bronchiális epitélisejtek VEGF termelését, így az sem meglepő, hogy rhinovírus okozta asztma exacerbációban magasabb a VEGF szintje (Meyer és Akdis 2013).

A VEGF tehát mind egészséges terhességben, mind asztmában jelentőséggel bír, azonban ezen ismeretek ellenére perifériásan keringő mennyiségéről sem asztmában, sem asztmás terhességben nem volt még adat.

### II. 3. 2. Szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor (suPAR)

Az utóbbi évek kutatási eredményei alapján a szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor (suPAR) az immunrendszer általános aktiváltsági állapotának értékes indikátorává lépett elő. Az urokináz-típusú plazminogén aktivátor receptor (uPAR) egy membrán glikoprotein; számos sejt expresszálja felszínén, így különféle immun-, simaizom-, endotél- és daganatsejteken is megjelenik (Thunø és mtsai 2009). Az expresszióját egyes növekedési faktorok és citokinek (pl. IL-1 $\beta$  és TNF- $\alpha$ ) fokozzák. A fő ligandja, az uPA kötődésének hatására a plazminogént plazminná konvertálja, ami az extracelluláris mátrix degradálásához vezet, ami pedig elősegíti akár a gyulladós sejtek migrációját, akár például a daganatsejtek invázióját. De az uPAR-hoz nem csak az uPA, hanem más ligandok is kötődhetnek, mint például vitronectin és integrinek. Ennek megfelelően az uPAR nem csak a proteolízist szabályozza, hanem számos intracelluláris jelátviteli utat is aktiválhat, amik tovább serkentik a sejtek motilitását, invázióját, de proliferációját és túlélését is, más transzmembrán receptorokkal is kölcsönhatásba lépve (Peng és mtsai 2015). Ezenkívül, az uPAR az immunsejtek adhéziójára, és főleg a neutrofilek besorozására is jelentős hatással van, és a fagocitózist is serkenti (Wrotek és Jackowska 2015). Így az uPAR/uPA rendszer a gyulladásban kétségkívül fontos szerepet játszik. Gyulladós stimulus közben az uPAR proteázok hatására leválik a sejtfelszínről, így jön létre a szolubilis formája, a suPAR, melyet 1991-ben fedeztek fel (Stephens és mtsai 1997). Egészséges felnőttek medián suPAR szintjét 1,5 ng/ml-nek vagy 2,6 ng/ml-nek határozták meg a különböző vizsgálatok (Donadello és mtsai 2012).

A suPAR alacsony, de konstans koncentrációban kimutatható egészséges személyek plazmájában és egyéb testfolyadékaiban (Stephens és mtsai 1997). A CRP-vel ellentétben a suPAR szintjét nem befolyásolja napszaki változás vagy a prandiális állapot (Sier és mtsai 1999). A suPAR a plazmaminták ismételt fagyasztására – felolvasztására sem érzékeny (Riisbro és mtsai 2001), így a nagyfokú stabilitásnak köszönhetően ideális klinikai biomarker lehet. A gyulladós válasz magasabb suPAR szinthez vezet számos gyulladós betegségben, ráadásul rosszabb prognózist is előre jelezhet (Sier és mtsai 1999, Ostrowski és mtsai 2005, Ostergaard és mtsai 2004, Sier és mtsai 1998, Eugen-Olsen és mtsai 2002). A suPAR szintje más gyulladós

markerekkel – például CRP, fibrinogén – is korrelál (Gumus és mtsai 2015). Mivel etiológiától független a koncentrációjának emelkedése, a gyulladás, az immunrendszer általános aktiváltsági állapotának és nem utolsó sorban a betegek állapotának univerzális markere lehet. Az átlagnépességben a CRP-hez hasonlóan a krónikus gyulladás jelzője; a dohányzás, morbid elhízás, alkoholfogyasztás, egészségtelen táplálkozás, alacsony HDL szint és korábban elszenvedett szívizom infarktus magasabb szinttel jár. A népességben az emelkedett szintje összefügg a szív-érrendszeri betegségek, 2-es típusú diabétesz, rák és korai halálozás rizikójával, a CRP-től függetlenül is (Haupt és mtsai 2014).

Az ideálisnak tűnő tulajdonságai miatt számos állapotban vizsgálták már biomarkerként, de asztmában korábban még nem. A normálisnál magasabb suPAR szintet mértek különféle fertőző (Ostrowski és mtsai 2005, Ostergaard és mtsai 2004), autoimmun (Balabanov és mtsai 2001, Toldi és mtsai 2013) és daganatos betegségekben (Sier és mtsai 1998). COPD-ben stabil állapotban (leginkább GINA III és IV stádiumban) (Can és mtsai 2014) és akut exacerbációban (Gumus és mtsai 2015) is emelkedett a szintje; utóbbi betegekben egy hét kezelés után csökkent. A suPAR – a fibrinogénhez hasonlóan – erős prediktora volt a COPD exacerbációnak, és a FEV<sub>1</sub>-gyel fordítottan korrelált (Gumus és mtsai 2015). A COPD-n kívül más betegségekben is leírták, hogy a megemelkedő suPAR koncentráció a kezelés illetve a klinikai javulás során körülbelül egy hét után mutat újra csökkenést (Wrotek és Jackowska 2015, Donadello és mtsai 2012). A sikeres kezelés hatására fertőző és daganatos betegségekben is csökkent, és teljes gyógyulás után normalizálódott a szintje (Eugen-Olsen és mtsai 2002, Ostrowski és mtsai 2005). A koronária betegséget, a mikrovaszkuláris funkciót, a koronária kalcifikációt és ezek súlyosságát is jelezte, sőt képes volt előrejelezni a szívizom infarktus és a szíveredetű halálozás rizikóját (Eapen és mtsai 2014, Sørensen és mtsai 2014, Mekonnen és mtsai 2015). Az érlemezés folyamatában a makrofágok közvetítette gyulladásban, az endotélsejtek diszfunkciójában és az immunrendszer kóros szabályozásában vesz részt (Mekonnen és mtsai 2015). Vesebetegségekben a podocita funkcióval és proteinuriával mutatott összefüggést (Peng és mtsai 2015). Kritikus állapotú betegekben fontos prognosztikus marker. Elsősorban szepszisben vizsgálták, ahol a bacteriaemiát legérzékenyebben a procalcitoninnal (PCT) és IL-6-tal együtt detektálta, de a többi gyulladásos markernél

jobban jelezte előre a mortalitást (Donadello és mtsai 2012, Wrotek és Jackowska 2015). Súlyos betegekben a suPAR vérszintje a szervkárosodás mértékét jelző markerekkel is összefüggést mutatott, mint pl. kreatinin, urea, cystatin C, bilirubin és albumin. Traumás agysérülésben a súlyossági fokkal együtt emelkedett és prediktálta a mortalitást (Yu és mtsai 2014). Krónikus májbetegekben a progresszív májfibrózis súlyosságát jelezte a rosszabb prognózissal együtt, szisztémás lupusz erythematosusban pedig a szervkárosodás mértékét és a betegség súlyosságát tükrözte (Sjöwall és mtsai 2015).

A suPAR-t terhességben korábban már vizsgálták. A trofoblaszt sejtek is expresszálják az uPAR-t, amely mátrixdegradáló képessége ezen sejtek invázióját segítheti. A placenta a terhesség elején relatíve hipoxiás területnek számít, és a hipoxia is aktiválja az uPA/uPAR rendszert; elképzelhető, hogy ez is közrejátszik abban, hogy a trofoblaszt sejtek ekkor, a terhesség elején a leginvazívabbak. Terhesség hatására a suPAR perifériás szintje magasabb lehet, ami tehát a trofoblaszt sejtek aktivitására, emellett az immunrendszer fiziológiásan aktivált állapotára utalhat (Odden és mtsai 2012). A suPAR perifériás szintje korábbi adatok alapján nem függött össze a kismama testtömegindexével (BMI), életkorával, a minták tárolási idejével, sem a szülészeti adatokkal, mint születési súly, születési hossz, placenta súlya, a szülés módja vagy az újszülött neme (Odden és mtsai 2012). Aktív maláriás beteg anyák suPAR szintje – a gesztációs hét mellett – független prediktora volt az alacsonyabb születési súlynak (Ostrowski és mtsai 2007). Praeclampsziában az élettani terhességben mértnél magasabb koncentrációt írtak le (Toldi és mtsai 2011), azonban úgy tűnik, a betegség klinikai manifesztálódása előtt, első vagy második trimeszterben mérve a suPAR nem használható korai biomarkerként, nem jelezte előre a később diagnosztizált praeclampsziát (Odden és mtsai 2012, Haedersdal és mtsai 2013).

A gyulladásszerű állapotokban és patológiás terhességben eddig feltárt szerepei ellenére a suPAR-t korábban asztmában még nem vizsgálták, így perifériásan mérhető koncentrációjáról, tünetfüggéséről sem asztmában, sem pedig asztmás terhességben nem volt adat.

### II. 3. 3. Hialuronsav

A hialuronsav egy glukozaminoglikán, az extracelluláris mátrix (ECM) egyik fő alkotója, számos egészséges szövet strukturális molekulája. Fiziológias körülmények között nagy molekulású polimer, viszkózus és elasztikus tulajdonságai miatt térkitöltő, vízmennyiség- és fehérjemegoszlás-szabályozó, szűrő funkciókkal bír. Újabban már felismerték, hogy az ECM-ot felépítő molekuláknak, így a hialuronsavnak egyéb, szabályozó szerepei is vannak. Az ECM folyamatos dinamikus átalakulásban van, például az emberi tüdőben a becsült napi turnover 10-15% (Cheng és mtsai 2011). A hialuronsav szövetsérüléssel (Jiang és mtsai 2007) és gyulladással (Grootveld és mtsai 1991) járó állapotokban hialuronidáz enzimek és reaktív oxigénradikálok hatására kisebb molekulású fragmentumokká degradálódhat, melyeknek szabályozó szerepük van. Ugyanis ezek a fragmentumok tovább stimulálják különféle kemokinek, citokinek, adhéziós molekulák termelését, transzkripciós és növekedési faktorok expresszióját, aktiválják a fibroblasztokat, epitel- és gyulladásosejteket, így szerteágazó gyulladásserkentő és érújdonképző hatásokat fejtenek ki (Stern és mtsai 2006). Ezeknek a töredékeknek az eltakarítása tehát elengedhetetlen a gyulladás oldódásához és a szöveti integritás helyreállításához. Ehhez a fő hialuronsavkötő molekula, a CD44 expressziójára van szükség a hemopoetikus sejtek felszínén (Liang és mtsai 2011, Lennon és Singleton 2011).

A hialuronsav szérumszintje egészséges személyekben 10-100 µg/l között van, a keringésbe kerülve a máj gyorsan eliminálja, a féléletideje 2-5 perc (Laurent 1987). Azonban perifériás szintje szisztémás gyulladással járó betegségekben megemelkedhet, mint például szepszisben, rheumatoid arthritisben, máj- és tüdőfibrozisban, ateroszklerózisban, diabéteszben, különféle daganatokban, vagy COPD-ben (Jiang és mtsai 2011).

Az asztma patogenezisében is fontos szerepet játszik, hozzájárulva a két fő patológiai történéshez, a légúti gyulladáshoz és a légúti átépüléshez. A tüdőben a hialuronsav fontos forrása a fibroblaszt sejtek, melyek hialuronsav termelését különböző citokinek serkentik, mint pl. IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  és transzformáló növekedési faktor (TGF) $\beta$  (Lennon és Singleton 2011). Asztmások fibroblasztjai az egészségesekéhez képest szignifikánsan több hialuronsavat termelnek, ráadásul a leginkább hiperreaktív légutakkal bíró betegek

sejtjei a kevésbé hiperreaktív betegekből származó sejteknél is jelentősen többet termeltek (Liang és mtsai 2011, Westergren-Thorsson és mtsai 2002). Az asztmás légutak submucosájában és a simaizomsejtek körül több hialuronsav rakódik le, ami a tüdő biomechanikai tulajdonságait is befolyásolja (Cheng és mtsai 2011). A T sejteken hatva a CD44-hialuronsav kötésnek fontos szerepe lehet a légutak Th2 sejt infiltrációjában (Katoh és mtsai 2007). Asztmában a bronchiális simaizomzat fokozottan expresszálja a CD44-et, míg ennek antitesttel való kísérletes blokkolása csökkentette a hízósejtek és simaizomsejtek közti adhéziót (Girodet és mtsai 2010). Az alacsony molekulásúlyú hialuronsav fragmentumok a CD44-en kívül toll-like receptorokon (TLR) is hatnak, ezeknek pedig egyre inkább ismert a szerepük asztmában, mind a veleszületett immunitás terén, mind a Th2 válaszban (Liang és mtsai 2011, Lennon és Singleton 2011). In vitro vizsgálatban kimutatták, hogy asztmásokból származó makrofágok CD44 expressziója csökkent mértékű, míg a TLR2 és TLR4 expressziója megnövekedett. Ennek megfelelően ezek a makrofágok érzékenyebben reagáltak az alacsony molekulásúlyú hialuronsavra, azaz több IL-8-at termeltek hialuronsav-stimuláció hatására, ugyanakkor az alacsonyabb CD44 expresszió csökkent hialuronsav eltakarítást okozhat asztmában, ami perzisztáló gyulladáshoz vezet (Liang és mtsai 2011). A hialuronsav az eozinofil sejtek aktivációját és túlélését is serkenti dózisfüggő módon (Ohkawara és mtsai 2000). Glukokortikoid és hosszú hatású  $\beta_2$ -agonista hatóanyagok légúti simaizomzatra kifejtett hatását in vitro vizsgálva azt találták, hogy ezek a szerek befolyásolták a simaizomsejtek hialuronsav-metabolizmusát: bár a teljes glikozaminoglikán szekréciójukat csökkentették, mégis ezen belül a nagy molekulásúlyú hialuronsav szekrécióját és depozícióját növelték, de a hialuronsavat kis molekulásúlyú fragmentumokká hasító hialuronidáz enzim termelődését gátolták, míg a CD44 expressziójukat fokozták; így a kezelés csökkentette a légúti simaizomzat proinflammatorikus potenciálját (Papakonstantinou és mtsai 2012). A fluticason pedig maga a tüdő fibroblasztok hialuronsav termelését is gátolta (Jiang és mtsai 2011).

A hialuronsav szerepét asztmában a klinikumhoz közelebb álló kutatásokban kevés alkalommal vizsgálták. Asztmások BAL mosófolyadékában magasabb szintet mértek, amely korrelált a súlyossággal (Bousquet és mtsai 1991). A köpetben is emelkedett a szintje, amit mepolizumab (anti-IL-5 monoklonális antitest) kezelés csökkenteni tudott,

ez a légzésfunkció és asztma kontroll javulásával, és a köpet eozinofília csökkenésével járt. A szerzők szerint így a köpet hialuronsav az asztma kontroll neminvazív biomarkere lehet (Ayars és mtsai 2013).

A hialuronsav nélkülözhetetlen az embrió beágyazódásához, a decidualizációhoz és az egészséges terhesség fenntartásához (Zhu és mtsai 2013, Cordo-Russo és mtsai 2009). A korai terhességben a normális extravillózus trofoblaszt invázióhoz lokálisan szükség van rá. Ezek a sejtek is expresszálják a CD44-et, aminek a kifejeződése a sejteken jelentősen elősegíti az inváziót, hialuronsav-függő módon (Takahashi és mtsai 2014). A hialuronsav a decidua spirális artériái körül fokozottan feldúsul (Takahashi és mtsai 2014). A deciduális sztrómasejtek is expresszálják CD44-et, és a nagy molekulású hialuronsav serkenti a proliferációjukat és gátolja az apoptózisukat, emellett a terhességi hormonok fokozzák a hialuronsav termelésüket (Zhu és mtsai 2013). Azonban ismeretlen okú vetélésben ezen sejtekben mind a hialuronsav tartalom, mind a molekulásúlya, mind a CD44 expresszió alacsonyabb volt (Zhu és mtsai 2013). Egy állatkísérletben viszont épp ellenkezőleg, spontán vetélés során a deciduában magasabb hialuronsav szintet mértek, ugyanakkor a metabolizmusa, és így a molekulamérete is változott, ami a szerzők szerint a magasabb mért koncentráció hátterében állhatott (Cordo-Russo és mtsai 2009). Terhességben a hialuronsav szérumszintje is emelkedik, még hozzá progresszíven a terhességi kor előrehaladtával, majd szüléskor éri el csúcát, vélhetően a méhnyak érése következtében (Kobayashi és mtsai 1999). Azonban praeclampsziában a normálisnál még magasabb szérumszintet írtak le, hasonlóan a placentában és köldökzsinórvérben mért magasabb szinthez (Berg és mtsai 2001, Uzun és mtsai 2010, Romão és mtsai 2014). A perifériás keringésben megemelkedő hialuronsav szint praeclampsziában az ECM destrukciójára, és így a nagy molekulású hialuronsav degradációjára utalhat.

A hialuronsav asztmában és egészséges terhességben is egyre inkább felismert fontos szerepei ellenére a keringő hialuronsav szintről és az asztma kontrollal való lehetséges kapcsolatáról – mint szisztémás gyulladási marker – nagyon kevés adat állt rendelkezésre asztmában, asztmával szövődött terhességben pedig még nem vizsgálták.



### III. CÉLKITŰZÉSEK

A kutatásaink legfontosabb kitűzött célja az asztma terhesség alatti súlyosbodásával összefüggést mutató olyan biomarker kimutatása volt, amely nem-invazív módon meghatározható, és így a fokozott rizikóval rendelkező asztmás terhes asszonyok korai kiemelését segítheti elő a mindennapi klinikai betegellátás gyakorlatában.

Tekintettel a tünetes, nem jól kontrollált asztma hatására gyakrabban jelentkező számos szövődményre, az asztma terhesség alatti súlyosbodását jelző, nem invazív módon gyűjthető marker találása lehetővé tenné a nagyobb rizikójú várandós betegek kiemelését, szoros követését és intenzív kezelését, ezzel elősegítve a perinatális anyai és magzati szövődmények megelőzését, illetve a szövődmények kialakulásával szükségképpen együtt járó nagyobb egészségügyi erőforrás-felhasználás elkerülését.

A bemutatott három molekula ígéretesnek tűnt további vizsgálódásra asztmában és asztmával szövődött terhességben, hiszen mindháromról kiderült a korábbi évek vizsgálatai alapján, hogy szerepük lehet mind az asztma patogenezisében, mind az egészséges terhesség fenntartásában. Mégis, asztmával szövődött terhességben korábban még nem vizsgálták ezeket, sem asztmában potenciális perifériás biomarkerként nem volt még adat a keringő szintjükről és esetleges tünetfüggésükről, asztma kontrollal való kapcsolatukról.

Így kutatásaink célkitűzése ezen molekulák perifériás vérben mérhető biomarkerként való vizsgálata volt asztmában és asztmával szövődött terhességben. Meg kívántuk mérni perifériás szintjüket, és elemezni szerettük volna az asztma klinikai mutatóival, funkcionális paramétereivel való esetleges kapcsolataikat, hogy megtudjuk, hozzájárulhatnak-e ezek a molekulák a klinikumban akár asztmában, akár asztmával szövődött terhességben a betegek állapotának precízebb objektív megítéléséhez, alkalmasak lennének-e akár szűrőműszerként való használatra is a jövőben. Mivel az asztma hátrányosan befolyásolhatja a terhesség kimenetelét, de egyelőre még nincs bevált, ismert módszer annak meghatározására, mely asztmás kismamákban várható nagyobb eséllyel terhességi szövődmény fellépése, így azt is vizsgáltuk, ezek a molekulák segíthetnének-e előre jelezni a nagyobb szövődményrizikót asztmás terhesség során, illetve mutatnak-e összefüggést a magzat jól-létével, egészséges

fejlődésével. Továbbá arra is kíváncsiak voltunk, a kismamák kezelése befolyásolja-e a vizsgált potenciális biomarkerek szintjét.

Mivel a perifériás keringésben a VEGF szabad szintjét, és így funkcióját a reguláló szolubilis receptora, az sFlt1 szabályozza, így a VEGF esetében megvizsgáltuk azt is, hogy a szabad VEGF plazmaszintjének esetleges eltérései háttérében a VEGF-kötő kapacitás, azaz az sFlt1 perifériás szintjének változása áll-e akár asztmában, akár asztmás terhességben; továbbá megvizsgáltuk, hogy az sFlt1 koncentrációja magára a VEGF mérésre is hatással van-e. Hogy még komplexebb képet kapjunk az immunrendszer szisztémás aktiválódásáról és ennek asztmára, illetve asztmás terhességre gyakorolt hatásáról, a CRP és IL-6 keringő szintjeit is mértük, és ezek asztma mutatókkal vagy szülészeti kimenetellel való összefüggéseit is elemeztük.

A következő kérdésekre kerestük a választ:

- A) A VEGF [1] és suPAR [2] perifériás szintje eltér-e kezelt asztmás, nem terhes betegekben egészséges, nem terhes személyekhez képest?
- B) A VEGF [1], suPAR [2], hialuronsav [3] perifériás szintje mutat-e összefüggést asztmás, nem terhes betegekben az asztma klinikai mutatóival?
- C) Alkalmas-e a VEGF [1], suPAR [2] vagy hialuronsav [3] a nem megfelelő asztma kontroll kiszűrésére?
- D) A VEGF [1] és suPAR [2] perifériás szintje eltér-e asztmás terhességben egészséges terhességhez képest?
- E) A VEGF [1], suPAR [2], hialuronsav [3] perifériás szintje eltér-e asztmás terhességben asztmás, nem terhes betegekhez képest?
- F) A VEGF [1], suPAR [2], hialuronsav [3] perifériás szintje mutat-e összefüggést asztmás terhesekben az asztma klinikai mutatóival?
- G) Alkalmas-e a VEGF [1], suPAR [2] vagy hialuronsav [3] a nem megfelelő asztma kontroll kiszűrésére terhesség alatt?

## **IV. MÓDSZEREK**

### **IV. 1. Vizsgálati elrendezés**

Keresztmetszeti, eset-kontroll vizsgálatot végeztünk mindhárom kutatás esetében.

### **IV. 2. A vizsgálatokban résztvevő alanyok**

Kutatásainkban négy vizsgálati csoport szerepelt: asztmás terhes csoport (AT), asztmás, nem terhes betegek (ANT), egészséges terhesek (ET) és egészséges, nem terhes kontrollszemélyek (ENT). A hialuronsav vizsgálatban csak AT és ANT csoportok kerültek bevonásra, ET és ENT kontrollcsoportjaink ebben a vizsgálatban nem voltak.

A VEGF vizsgálatunkban 31 AT, 29 ANT, 28 ET és 22 ENT résztvevő volt. Ugyanebben a vizsgálatban a VEGF/sFlt1 perifériás vérben tapasztalható egyensúlyának megítélésére az sFlt1 mérést is elvégeztük 85 plazmamintán (21 AT, 23 ANT, 21 ET és 20 ENT). Ezt a molekulát a két terhes csoportban csak második trimeszteres kismamák mintáiban mértük, a szakirodalomból ismert jellemző terhességi változása miatt (Palm és mtsai 2011).

A suPAR mérésekben 15 AT kismama, 38 ANT beteg, 58 ET kismama és 29 ENT kontrollszemély vett részt. Mivel a suPAR-t korábban még nem vizsgálták asztmában, ebben a vizsgálatban a két nem terhes kontrollcsoportba férfi betegeket, illetve kontroll személyeket is bevontunk: az ANT csoportban 11, az ENT csoportban 10 férfi szerepelt annak érdekében, hogy általánosságban az asztmára vonatkozó következtetések is levonhatók legyenek.

A hialuronsav vizsgálatba 16 AT kismamát és 36 ANT nőbeteget válogattunk be.

Az asztmás betegek (terhesek és nem terhesek egyaránt) minden vizsgálatunkba a Semmelweis Egyetem Pulmonológiai Klinika ambulanciáján való megjelenésük során kerültek bevonásra. A Pulmonológiai Klinikán az országban egyedülálló módon asztmás terhes szakambulancia működik, ahova az egész országból érkeznek asztmás

kismamák konzultációra, hogy várandósságuk alatti kezelésüket az ezen a téren nagy tapasztalattal rendelkező asztmás terhes munkacsoport orvosai vezessék. Az egészséges terhes kismamákat a Semmelweis Egyetem I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán toboroztuk, amikor tervezett vizsgálaton jelentek meg terhességük során. Az egészséges, nem terhes kontrollszemélyek negatív anamnézissel, státusszal és laboratóriumi lelettel rendelkező önkéntesek voltak, akiket részben a Pulmonológiai Klinika dolgozói közül, részben egyetemisták közül toboroztunk.

Az AT és ANT csoport résztvevőinél az asztma diagnózisát a Global Initiative for Asthma ajánlása alapján (Global Initiative for Asthma 2015) állítottuk fel legalább 6 hónappal a vizsgálatba bevonás előtt. A betegek perzisztáló asztmások, általában részlegesen kontrollált vagy jól kontrollált állapotúak voltak. A kezelésük is a GINA irányelv szerint történt. Az ET és ENT csoportokban az asztma diagnózisa kizárásra került.

Mind a négy vizsgálati csoportban, mindhárom vizsgálatunkban kizárási kritériumok voltak az egyéb krónikus és akut megbetegedések (kivéve a szénanáthát), mint például hipertónia, diabétesz, kardiovaszkuláris betegség, máj- vagy vesebetegség, autoimmun betegség, légúti fertőzés a vizsgálatot megelőző négy héten, egyéb anyai vagy magzati fertőzés, a magzat kongenitális anomáliája. Továbbá kizárási ok volt az aktuális dohányzás, vagy exdohányosok esetében legalább 5 csomagév dohányzási anamnézis. Ezenfelül, a két várandós csoportban résztvevő kismamák számára a bevonáskor kizárási kritérium volt bármilyen ismert terhességi szövődmény fennállása is, illetve az ikerterhesség, hogy a kettő vagy több magzat ne befolyásolhassa az eredményeket. A két asztmás csoportban az allergiás rhinitis egyidejű fennállása megengedett volt. A VEGF vizsgálatban azok az asztmás betegek (terhesek vagy nem terhesek) is kizárásra kerültek, akiknek az előző egy évben akut asztma exacerbációjuk előfordult. A suPAR és hialuronsav vizsgálatokban ez nem volt kizárási kritérium.

Az asztmás betegeket arra kértük, a vizsgálatot megelőzően legalább 12 órával gyógyszereiket már ne használják.

### **IV. 3. Etikai engedély**

A Semmelweis Egyetem etikai bizottsága (Regionális, Intézményi Tudományos és Kutatásetikai Bizottság – TUKEB) elbírálta és engedélyezte kutatási tervünket. A betegek a megfelelő tájékoztatás után írásos beleegyezésüket adták a vizsgálatokban való részvételhez. Kutatásainkban a Helsink Deklaráció legfrissebb kiadásának elveihez ragaszkodtunk.

### **IV. 4. Mintagyűjtés és laboratóriumi mérések**

A perifériás vénából nyert vért EDTA-val antikoagulált vérvételi csövekbe gyűjtöttük. A plazmát centrifugálással elszeparáltuk, és a mérésekig  $-80^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. Mindegyik vizsgált molekulát kereskedelmi forgalomban kapható ELISA kitékkel mértük, a gyártóik utasításai szerint. A VEGF mérés a DVE00, az sFlt1 mérés a DVR100B kódú kitékkel történt (R&D Systems, Abingdon, Egyesült Királyság). A detektálási küszöb a plazma VEGF esetében 9 pg/ml, az sFlt1 esetében 2,5 pg/ml volt. Mivel az sFlt1 a VEGF ELISA kit mérését befolyásolhatta, ezért a VEGF standard görbét (0-500 pg/ml közötti tartomány) különböző mennyiségű sFlt1 (4000, 2000, 1000, 500 és 250 pg/ml) jelenlétében is felvettük. A suPAR plazmakoncentrációját suPARnostic Flex ELISA assay-vel mértük (ViroGates A/S, Birkerød, Dánia). A hialuronsav mérés is ELISA kitékkel történt (Corgenix, Inc., Broomfield, Co, USA). A CRP és IL-6 meghatározása is kereskedelmi forgalomban kapható diagnosztikus tesztekkel történt (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Németország). A mérések részben a Pulmonológiai Klinikán, részben a Semmelweis Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetben történtek.

#### **IV. 5. A légzésfunkció és a kilégzett nitrogén-monoxid szint mérése, illetve az asztma kontroll meghatározása**

A két asztmás csoportban az anamnézis és a kezelés feljegyzésén kívül légzésfunkciós vizsgálatot végeztünk, és felmértük az asztma kontroll fokát. A VEGF vizsgálatban a betegek kilégzett nitrogén-monoxid szintjét ( $FE_{NO}$ ) is megmértük.

A légzésfunkciós vizsgálat elektronikus spirométerrel történt (PDD-301/s, Piston, Budapest, Magyarország), az aktuális ajánlások szerint (Miller és mtsai 2005). Három technikailag elfogadható manővert végeztettünk a betegekkel, és a legjobb eredményt rögzítettük. Mértük az erőltetett kilégzés másodperctérfogatot ( $FEV_1$ ), az erőltetett vitálkapacitást (FVC), a kilégzési csúcsáramlást (PEF) és a légúti áramlási ellenállást ( $R_{aw}$ ). Az asztma kontrolláltságát az Asztma Kontroll Teszt (ACT) kitöltésével mértük föl, ahogy a GINA ajánlja (Global Initiative for Asthma 2015). A  $FE_{NO}$ -t NIOX MINO elektrokémiai analizátorral mértük (Aerocrine; Solna, Svédország) 50 ml/s kilégzési áramlás mellett, az ajánlás szerint.

#### **IV. 6. A szülészeti adatok rögzítése**

A két várandós csoportban feljegyeztük a szülészeti kimenetelt jellemző adatokat, mint születési súly, gesztációs hét a szüléskor, az újszülött neme, Apgar pontszámok, anyai vagy magzati szövődmény fellépése.

#### **IV. 7. Statisztikai elemzés**

A VEGF vizsgálatban a Graphpad Prism 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA), a suPAR vizsgálatban az SPSS 20.0 (SPSS, Inc. Chicago, IL, USA), a hialuronsav vizsgálatban a Graphpad Prism 5.0 és az SPSS 21.0 szoftvereket használtuk a statisztikai számítások elvégzéséhez. Az összes elemzés esetében a  $p < 0,05$  eredményeket tekintettük szignifikánsnak.

Az adatok eloszlásának normalitását Kolmogorov–Smirnov teszttel és D’Agostino-Pearson teszttel elemeztük. A normál eloszlású változókat átlag ( $\pm$ SD) formában, míg a nem normál eloszlású változókat medián [interkvartilis tartomány] formában adtuk meg.

A VEGF, az sFlt1 és a suPAR esetében a négy csoport közti összehasonlításokat – az adatok nem normál eloszlása miatt – Kruskal–Wallis teszttel és Dunn’s *post hoc* teszttel végeztük. A hialuronsav vizsgálatban az életkor normál eloszlást követett, így ennek a paraméternek a két asztmás csoport közti összehasonlítását párosítatlan Student-féle t-próbával végeztük, míg a többi klinikai jellemző és a hialuronsav két csoport közti összehasonlítását a nem normál eloszlás miatt Mann–Whitney *U* teszttel vizsgáltuk. A csoportok közti különbségek életkorra való korrekciója Quade’s rank kovariancia analízissel történt, illetve a hialuronsav és  $R_{aw}$ , valamint hialuronsav és ACT közti korrelációk életkorra való korrekcióját parciális rangkorrelációval végeztük. A terhességi kor befolyását a plazma VEGF szintjére Mann–Whitney *U*, Wilcoxon és Spearman tesztekkel vizsgáltuk. Az összes vizsgált molekula esetleges összefüggéseit a klinikai és szülészeti adatokkal Spearman teszttel elemeztük az adatok nem normál eloszlása miatt.

A ROC analízis (Receiver Operating Characteristics) görbe alatti terület (AUC) értékeit standard módszerrel számítottuk és az adatokat AUC ROC (95% CI) formában adtuk meg.

A VEGF vizsgálatban a szükséges mintaszámot úgy kalkuláltuk, hogy a plazma VEGF négy csoport közti esetleges különbségének kimutatásában a hatásnagyság 0,40 és a vizsgálat ereje  $\beta = 0,90$  legyen, feltételezve az adatok nem normál eloszlását.

A kimutathatósági küszöb (1 mg/l) alatti CRP értékeket 1 mg/l-nek tekintettük, míg a kimutathatósági küszöb (1,5 pg/mL) alatti IL-6 értékeket 1,5 pg/ml-nek vettük.

## V. EREDMÉNYEK

### V. 1. VEGF és sFlt1

#### V. 1. 1. Klinikai adatok

A vizsgálatban résztvevők klinikai jellemzői és a keringő szabad VEGF valamint sFlt1 szintjeik a 3. táblázatban láthatók.

#### 3. táblázat. A vizsgálatban résztvevők klinikai adatai és a plazma szabad VEGF és sFlt1 koncentrációk a négy csoportban.

Átlag  $\pm$  SD; medián [interkvartilis tartomány]. ENT, egészséges, nem terhes; ET, egészséges terhes; ANT, asztmás, nem terhes; AT, asztmás terhes; FEV<sub>1</sub>, erőltetett kilégzési másodperctérfogat; FVC, erőltetett vitálkapacitás; FE<sub>NO</sub>, kilégzett nitrogén-monoxid; ICS, inhalációs kortikoszteroid; BDP, beclomethasone dipropionate. <sup>1</sup> VEGF esetében; <sup>2</sup> sFlt1 esetében; <sup>a</sup> p < 0,001 vs. ENT, <sup>b</sup> p < 0,001 vs. ANT.

	ENT (n <sup>1</sup> = 22, n <sup>2</sup> = 20)	ET (n <sup>1</sup> = 28, n <sup>2</sup> = 21)	ANT (n <sup>1</sup> = 29, n <sup>2</sup> = 23)	AT (n <sup>1</sup> = 31, n <sup>2</sup> = 21)
Életkor (év)	31 $\pm$ 5	31 $\pm$ 5	32 $\pm$ 8	31 $\pm$ 5
Terhességi kor mintavételkor (hét)	-	23 $\pm$ 4	-	23 $\pm$ 8
2. / 3. trimeszter	-	28 / 0	-	24 / 7
Terhességi kor szüléskor (hét)	-	39 $\pm$ 1	-	39 $\pm$ 2
Születési súly (gramm)	-	3373 $\pm$ 326	-	3493 $\pm$ 664
Apgar pontszám, 0. perc	-	9,1 $\pm$ 0,5	-	8,9 $\pm$ 0,8



Apgar pontszám, 5. perc	-	9,9 ± 0,2	-	9,9 ± 0,3
FEV <sub>1</sub> , l (a várható %-a)	-	-	2,9 ± 0,6 (89 ± 17)	2,8 ± 0,4 (88 ± 11)
FVC, l (a várható %-a)	-	-	3,7 ± 0,7 (101 ± 15)	3,6 ± ,5 (97 ± 12)
FEV <sub>1</sub> /FVC	-	-	0,77 ± 0,09	0,79 ± 0,08
FE <sub>NO</sub> (ppb)	-	-	16 [5–82]	20 [9–115]
ICS napi adag (BDP ekvivalens, µg)	-	-	410 ± 295	310 ± 445
ICS-kezelt / ICS-naiv	-	-	22 / 7	16 / 15
VEGF (pg/ml)	77 [0–458]	0 [0–184] <sup>a</sup>	81 [21–826]	14 [0–161] <sup>b</sup>
sFlt1 (pg/ml)	36 [10–98]	1508 [764–4192] <sup>a</sup>	44 [19–83]	1544 [840–3484] <sup>b</sup>

Az életkor hasonló volt a négy csoportban (AT, 31 ± 5 év; ANT, 32 ± 8 év; ET, 31 ± 5 év; ENT, 31 ± 5 év). Az AT csoportban 24 kismama a vizsgálatkor a második trimeszterben (20 ± 5 terhességi hét) és hét kismama a harmadik trimeszterben (36 ± 3 terhességi hét) volt. Továbbá kilenc második trimeszteres asztmás nőt a harmadik trimeszterben is visszahívtunk vérvételre, hogy a trimeszterek során bekövetkező esetleges változásokat is elemezhesük. Tizenhat AT beteg használt ICS szert, míg tizenöt kismama szteroid-naiv volt, ők csak rövid hatású β<sub>2</sub>-agonistát használtak szükség esetén. Huszonkét ANT nőnek volt felírva ICS kezelés, míg ebben a csoportban heten voltak szteroid-naivok. Az ET kismamák mindannyian a második trimeszterben voltak a vizsgálat idején (23 ± 4 terhességi hét).

A két asztmás csoport között nem volt különbség a vizsgált légzésfunkciós értékekben, azaz a FEV<sub>1</sub> (2,8 ± 0,4 l vs. 2,9 ± 0,6 l; AT vs. ANT) és FVC (3,6 ± 0,5 l vs. 3,7 ± 0,7 l; AT vs. ANT) értékeiben (p > 0,05). Hasonlóképp a FE<sub>NO</sub> szintekben sem találtunk különbséget (20 [9–115] ppb vs. 16 [5–82] ppb; AT vs. ANT; p > 0,05). A

felírt ICS dózisa is hasonló volt a két betegcsoportban ( $310 \pm 445 \mu\text{g}$  vs.  $410 \pm 295 \mu\text{g}$ , beclomethasone dipropionate ekvivalens,  $p = 0,16$ ; AT vs. ANT).

Mindkét várandós csoportban szövődmenymentes volt a terhesség és a szülés, és hasonló és fiziológiás volt az újszülöttek születési súlya ( $3493 \pm 664 \text{ g}$  vs.  $3373 \pm 326 \text{ g}$ ,  $p = 0,37$ ; AT vs. ET), illetve a terhesség kora a szüléskor ( $39 \pm 2$  hét vs.  $39 \pm 1$  hét,  $p = 0,80$ ; AT vs. ET). Nem különbözött az Apgar pontszám sem a születéskor ( $8,9 \pm 0,8$  vs.  $9,1 \pm 0,5$ ,  $p = 0,34$ ; AT vs. ET), sem 5 perccel később ( $9,9 \pm 0,3$  vs.  $9,9 \pm 0,2$ ,  $p = 0,64$ ; AT vs. ET).

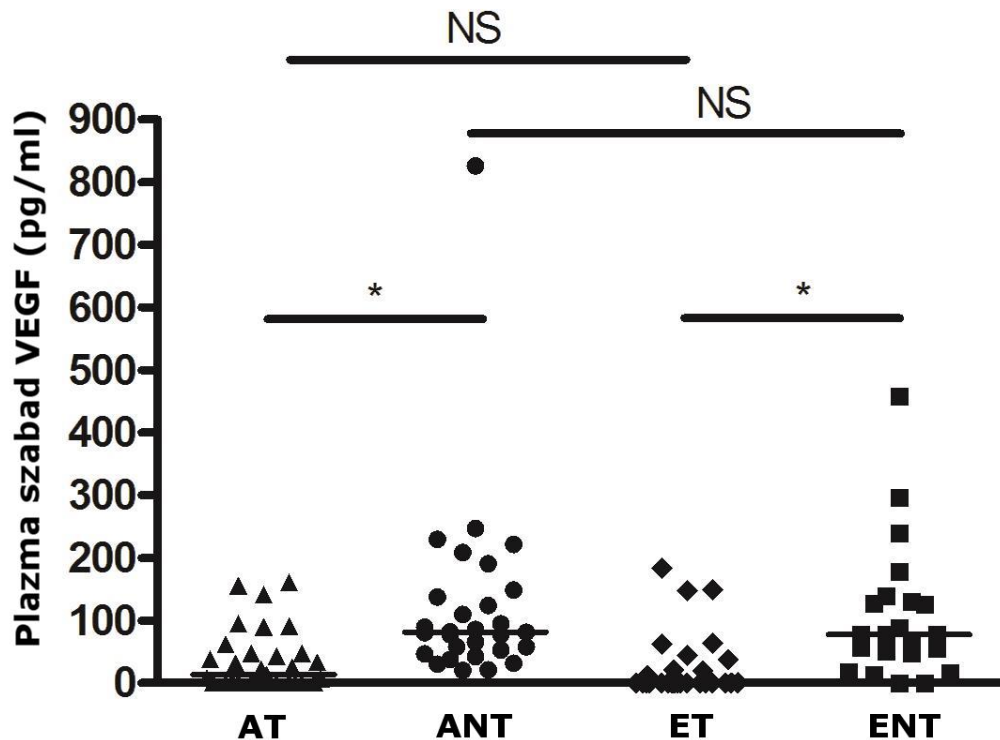
### **V. 1. 2. Az sFlt1 befolyása a VEGF mérésre**

Az sFlt1 nélkül felvett VEGF standard görbéhez képest már a legkisebb koncentrációban hozzáadott, 250 pg/ml-es koncentrációjú sFlt1 csökkentette a VEGF szinteket az általunk használt mérési rendszerben. A legkisebb kimutatható VEGF koncentráció 62,5 pg/ml volt 250 pg/ml sFlt1 jelenlétében. Mivel az ELISA kit csak a nem megkötött VEGF-et detektálja, így az eredményeink nem az összes, hanem csak a szabad VEGF koncentrációit jelentik.

### **V. 1. 3. A VEGF perifériás szintje**

A szabad VEGF 78 plazmamintában (a minták 71%-ában) volt kimutatható, ugyanis a két terhes csoport egy részében a kimutathatósági küszöb alatt volt. Míg az ANT csoport mind a 29 mintájában (100%) és az ENT csoport 20 mintájában (91%) detektálható volt, addig az AT csoportban csak valamivel több, mint a minták felében, 18 mintában (58%) volt mérhető, az ET csoportban mindössze 10 mintában, az esetek kicsit több, mind harmadában (36%) volt detektálható. A csoportok között szignifikáns különbséget találtunk a szabad VEGF koncentrációkban (AT, 14 [0–161] pg/ml; ANT, 81 [21–826] pg/ml; ET, 0 [0–184] pg/ml; ENT, 77 [0–458] pg/ml;  $p < 0,001$ ; 3. táblázat, 2. ábra). Szignifikáns különbség mutatkozott az AT és ANT csoportok között ( $p < 0,001$ ), illetve az ET és ENT csoportok között ( $p < 0,001$ ), ugyanis mindkét terhes csoportban (tehát az asztma jelenlététől függetlenül) alacsonyabb volt a szabad VEGF koncentráció a plazmában, mint nem terhes állapotban. Ugyanakkor sem a két terhes csoportot (AT vs. ET), sem a két nem terhes csoportot (ANT vs. ENT) egymással

összehasonlítva, nem találtunk különbséget ( $p > 0,05$ ), tehát az asztma hatására nem változott a plazma szabad VEGF koncentráció.

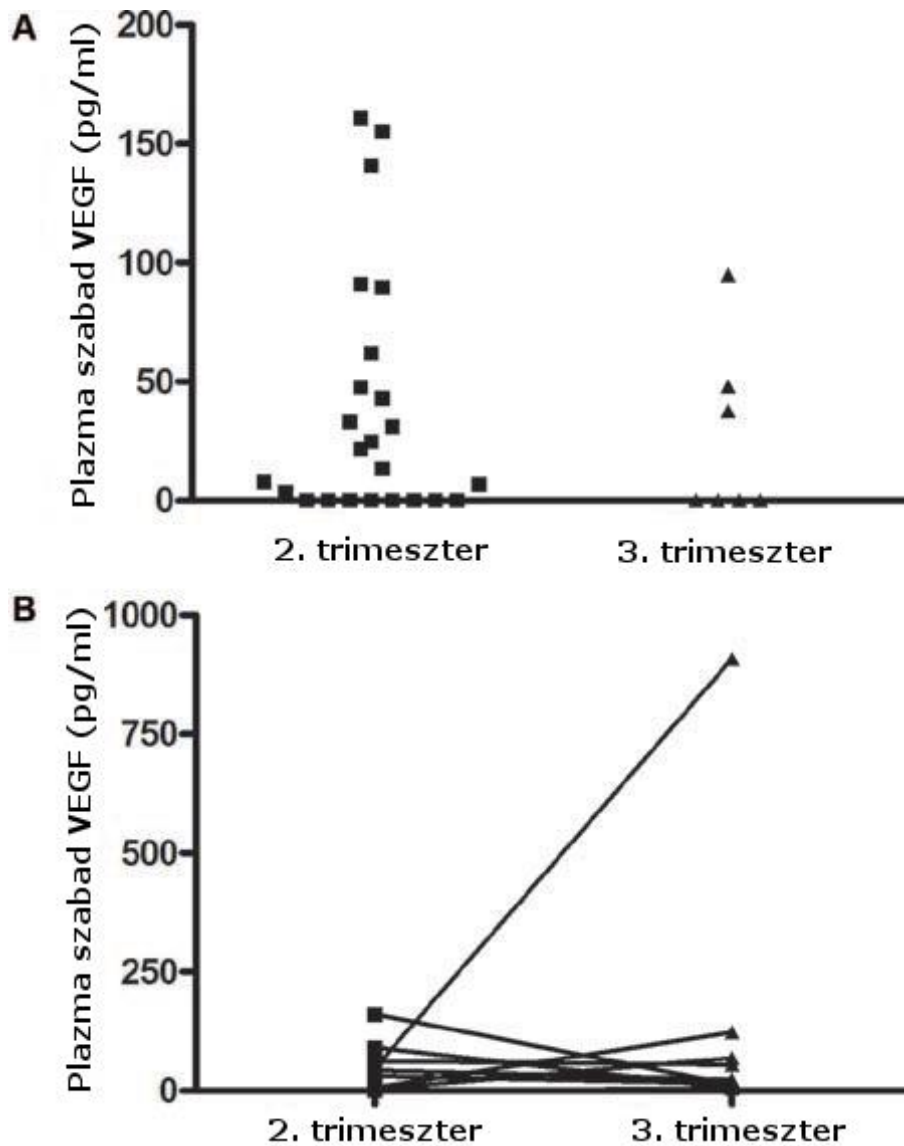


**2. ábra. A plazma szabad VEGF koncentrációk a négy vizsgálati csoportban**

AT, asztmás terhes; ANT, asztmás, nem terhes; ET, egészséges terhes; ENT, egészséges, nem terhes; NS, nem szignifikáns. \*  $p < 0,05$ .

Ha csak a szteroid-naiv betegeket vettük figyelembe, és a szteroiddal kezelt betegeket nem vontuk be a vizsgálatba, így összehasonlítva sem kaptunk különbséget sem a szteroid-naiv AT nők versus ET nők között ( $p = 0,51$ ), sem a szteroid-naiv ANT nők versus ENT nők között ( $p = 0,80$ ). Továbbá a két terhes csoport között (AT vs. ET) abban az esetben sem mutatkozott szignifikáns különbség ( $p = 0,11$ ), ha az AT csoportban is csak a második trimeszteres kismamákat vontuk be a vizsgálatba – hiszen az ET csoportban is csak második trimeszteres kismamák szerepeltek –, és a harmadik trimesztereseiket kizártuk.

Az AT csoporton belül a szabad VEGF koncentráció hasonló volt a második és harmadik trimeszteres kismamák mintáiban (18 [0–161] vs. 0 [0–95] pg/ml,  $p = 0,54$ , 3. A ábra)



**3. ábra. A plazma szabad VEGF koncentrációk összehasonlítása második és harmadik trimeszteres asztmás kismamákban**

Nem mutattunk ki időbeli változást a szabad VEGF szintekben a terhesség trimeszterei során: a második, majd a harmadik trimeszterben vett mintákban a VEGF szintek között szignifikáns különbség nem volt, azonban a szórás nagyon magasnak mutatkozott (45 [0–161] vs. 20 [0–909] pg/l,  $p = 0,67$ ; 3. B ábra).

Végül, nem találtunk összefüggést a plazma szabad VEGF szintje és a terhességi kor között sem az AT csoportban ( $p = 0,70$ ), sem az ET csoportban ( $p = 0,89$ ).

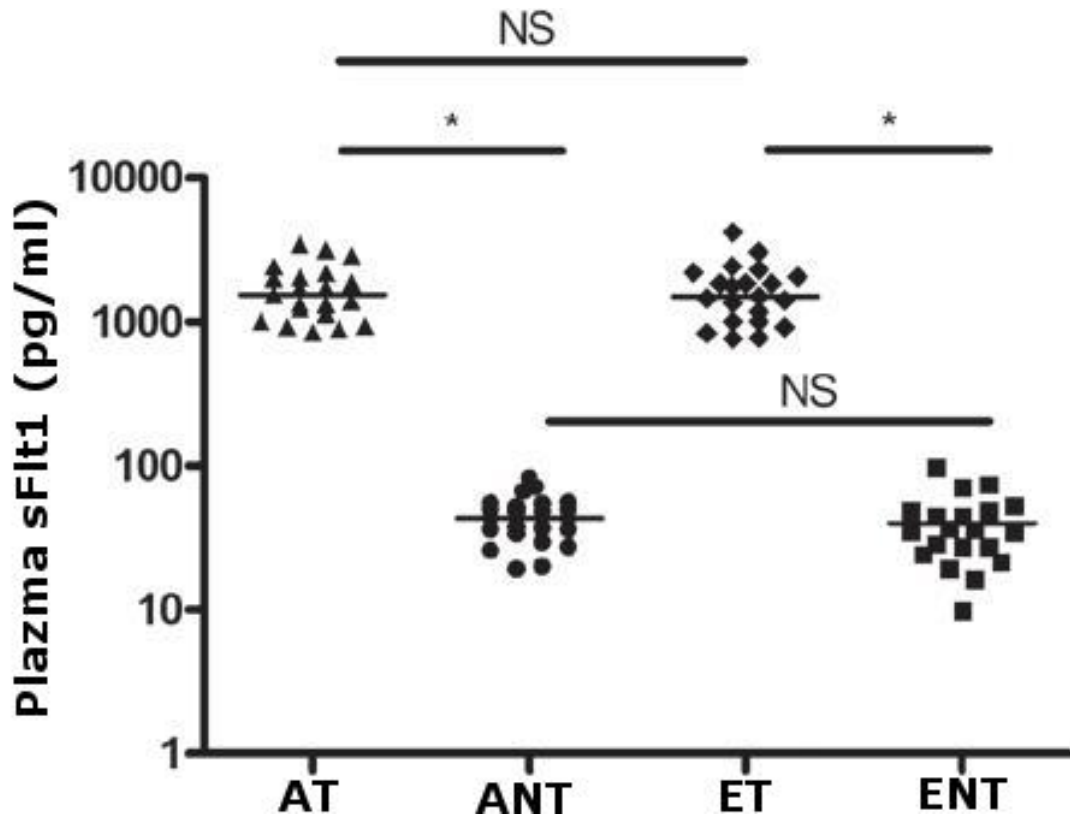
#### **V. 1. 4. A keringő szabad VEGF és az asztma klinikai jellemzői közti összefüggések**

Az AT csoportban szignifikáns fordított összefüggést detektáltunk a plazma szabad VEGF koncentrációk és a légúti gyulladást jelző FE<sub>NO</sub> szintek között ( $p = 0,01$ ,  $r = -0,51$ ), de ezen kívül egyéb klinikai paraméterrel nem mutatott összefüggést a szabad VEGF szint. Azonban az ICS dózisára való korrekció után a szabad VEGF és a FE<sub>NO</sub> közti összefüggés megszűnt ( $p = 0,22$ ), jelezve az ismert tényt, hogy a FE<sub>NO</sub>-t befolyásolhatja az inhalációs kortikoszteroid kezelés. A szabad VEGF szint hasonló volt a szteroid-kezelt és szteroid-naiv AT betegekben (33 [0–161] vs. 7 [0–141] pg/ml,  $p = 0,19$ ), és nem találtunk szignifikáns kapcsolatot a plazma szabad VEGF koncentrációk és az ICS dózisa között az AT csoportban ( $p = 0,27$ ).

Az ANT csoporton belül a plazma szabad VEGF szint nem korrelált egyik vizsgált klinikai paraméterrel sem ( $p > 0,05$ ), és az AT csoporthoz hasonlóan az ANT csoporton belül sem volt különbség a szteroid-kezelt és szteroid-naiv ANT betegek szabad VEGF értékeiben ( $p = 0,87$ ).

#### **V. 1. 5. Az sFlt1 perifériás szintje**

A négy vizsgált csoportban szignifikánsan eltért a plazma sFlt1 szintje ( $p < 0,001$ ; 2. táblázat, 4. ábra), az sFlt1 koncentráció 1544 [840–3484] pg/ml volt az AT, 44 [19–83] pg/ml az ANT, 1508 [764–4192] pg/ml az ET és 36 [10–98] pg/ml az ENT csoportban. Az sFlt1 szint emelkedett volt tehát az AT és ET csoportokban az ANT és ENT csoportokhoz képest ( $p < 0,001$ ), de az AT vs. ET, illetőleg az ANT vs. ENT csoportok között nem volt különbség ( $p > 0,05$ ). Következésképp az asztma az sFlt1 szintet sem befolyásolta.



4. ábra. A plazma sFlt1 koncentrációk a négy vizsgálati csoportban

AT, asztmás terhes; ANT, asztmás, nem terhes; ET, egészséges terhes; ENT, egészséges, nem terhes; NS, nem szignifikáns. \*  $p < 0,05$ .

#### V. 1. 6. A keringő sFlt1 és az asztma klinikai jellemzői közti összefüggések

Nem találtunk összefüggést a plazma sFlt1 szintek és egyetlen klinikai paraméter között sem, akár az AT, akár az ANT csoporton belül végeztünk elemzést.

#### V. 1. 7. A plazma szabad VEGF és sFlt1 szintek és a születési súly közötti összefüggés

Egyik várandós csoportban sem korrelált a születési súllyal sem a plazma szabad VEGF szint (AT csoport esetében  $p = 0,70$ ; ET csoport esetében  $p = 0,28$ ), sem a plazma sFlt1 szint (AT csoport esetében  $p = 0,71$ ; ET csoport esetében  $p = 0,47$ ).

## V. 2. suPAR

### V. 2. 1. Klinikai adatok

A vizsgálatban résztvevők klinikai adatai és a gyulladásos markerek koncentrációi a 4. táblázatban láthatók.

#### 4. táblázat. A vizsgálatban résztvevők klinikai adatai és a keringő gyulladásos markerek koncentrációi a négy csoportban.

Medián [interkvartilis tartomány]. ENT, egészséges, nem terhes; ET, egészséges terhes; ANT, asztmás, nem terhes; AT, asztmás terhes; FEV<sub>1</sub>, erőltetett kilégzési másodperctérfogat; PEF, kilégzési csúcsáramlás; R<sub>aw</sub>, légúti áramlási ellenállás; ACT, Asztma Kontroll Teszt; ICS, inhalációs kortikoszteroid; BDP, beclomethasone dipropionate. <sup>a</sup> p < 0,05 vs. ENT, <sup>b</sup> p < 0,05 vs. ET, <sup>c</sup> p < 0,05 vs. ANT.

	ENT (n = 29)	ET (n = 58)	ANT (n = 38)	AT (n = 15)
Nő/férfi	19 / 10	-	27 / 11	-
Életkor (év)	36 [30-52]	31 [28-35]	39 [32-58] <sup>b</sup>	29,5 [26-32] <sup>c</sup>
Terhességi kor mintavételkor (hét)	-	36 [34-38]	-	27,5 [24-33,5] <sup>b</sup>
Terhességi kor szüléskor (hét)	-	39 [38-40]	-	38 [38-39]
Születési súly (gramm)	-	3255 [3090-3745]	-	3320 [3000-4000]
FEV <sub>1</sub> (a várható %-a)	-	-	89,0 [83,5-98,0]	96,0 [82,0-108,0]
PEF (a várható %-a)	-	-	90,5 [77,5-100,0]	89,0 [75,0-107,0]
R <sub>aw</sub> (a várható %-a)	-	-	150 [92-179]	105 [84-127]
ACT összpontszám	-	-	21,5 [17,5-24,0]	22,0 [18,5-25,0]

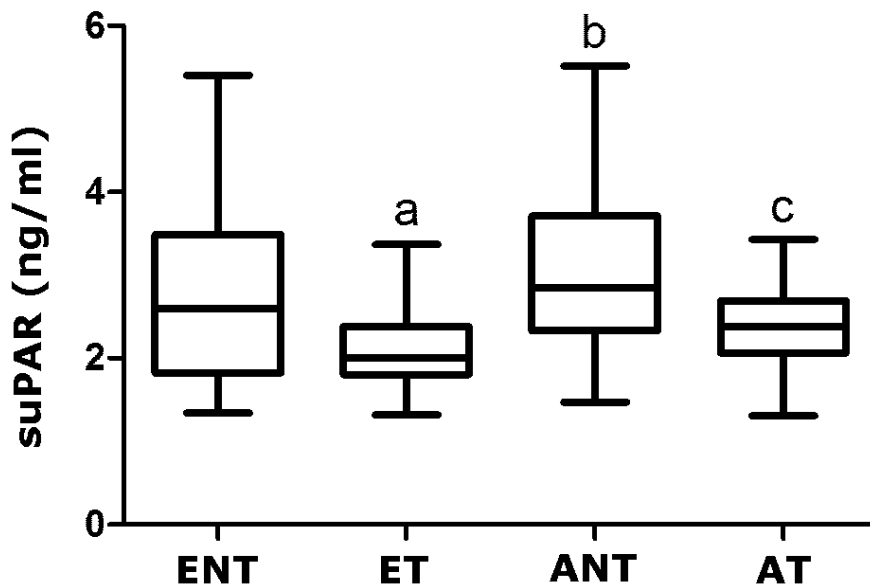
ICS napi adag (BDP ekvivalens, µg)	-	-	1000 [800-1000]	1000 [375-1000]
suPAR (ng/ml)	2,60 [1,82–3,49]	2,01 [1,81–2,38] <sup>a</sup>	2,84 [2,33–3,72] <sup>b</sup>	2,39 [2,07–2,69] <sup>c</sup>
CRP (mg/l)	2,50 [1,00–3,90]	3,85 [2,08–6,53]	3,00 [3,00–5,00]	7,00 [3,00–9,00] <sup>a</sup>
IL-6 (pg/ml)	1,50 [1,50–1,70]	1,50 [1,50–2,18]	1,64 [1,50–3,36]	1,82 [1,50–3,43]

Az életkor magasabb volt az ANT csoportban, mint az ET és AT csoportokban (39 [32–58] vs. 31 [28]–[35] és 29.5 [26]–[32] év,  $p = 0,0001$ ). A mintagyűjtés mindkét terhes csoportban, az összes várandós résztvevőnél a 2. vagy 3. trimeszterben történt, azonban mégis az AT csoportban a gesztációs kor alacsonyabb volt a vérvételkor, mint az ET csoportban (27,5 [24–33,5] vs. 36 [34]–[38] hét,  $p = 0,0002$ ). A szülés gesztációs ideje és a születési súly nem különbözött a két terhes csoport között. Az ANT és AT csoportok között nem találtunk különbséget az asztma súlyosságát vagy kontrolláltságát jelző paraméterek ( $FEV_1$ , PEF,  $R_{aw}$ , ACT összpontszám), vagy a napi inhalációs kortikoszteroid (ICS) dózis értékeiben (4. táblázat).

### V. 2. 2. A vizsgált gyulladási markerek (suPAR, CRP, IL-6) perifériás szintje

A kezelt, jól kontrollált asztma önmagában nem befolyásolta a perifériás suPAR szintet, ugyanis az ANT és ENT csoportokban hasonló értéket mértünk, és az AT csoportban sem mutattunk ki különbséget az ET csoporthoz képest ( $p > 0,05$ ; 5. ábra). Azonban a terhesség hatására változott a suPAR perifériás koncentrációja, hiszen az ET csoportban alacsonyabb volt, mint az ENT kontrollcsoportban (2,01 [1,81–2,38] vs. 2,60 [1,82–3,49] ng/ml), továbbá az AT csoportban szintén alacsonyabb volt, mint az ANT csoportban (2,39 [2,07–2,69] vs. 2,84 [2,33–3,72] ng/ml;  $p = 0,0001$ ; 5. ábra).

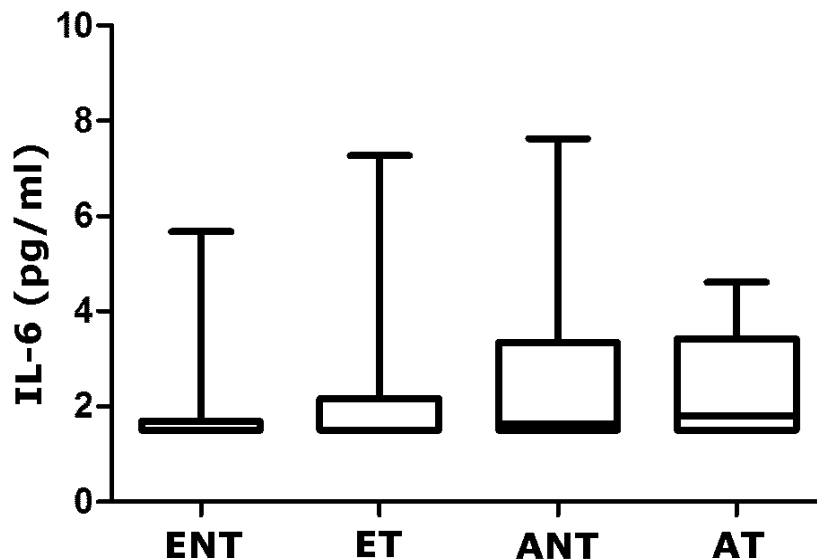




**5. ábra. A suPAR plazmakoncentrációi a négy vizsgálati csoportban.**

ENT, egészséges, nem terhes; ET, egészséges terhes; ANT, asztmás, nem terhes; AT, asztmás terhes; <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs. ENT, <sup>b</sup>  $p < 0,05$  vs. ET, <sup>c</sup>  $p < 0,05$  vs. ANT.

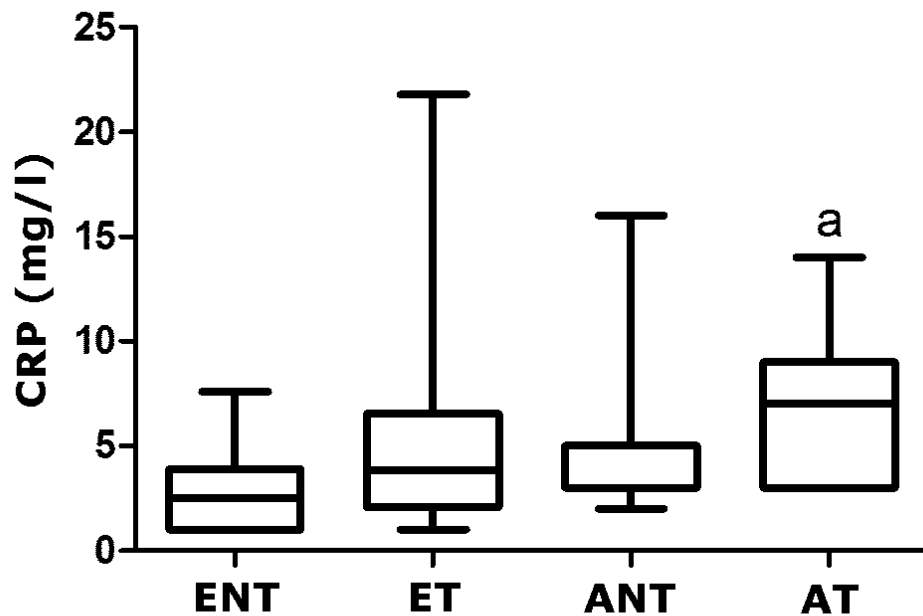
Az IL-6 perifériás vérben mért koncentrációja mind a négy vizsgált csoportban hasonló volt (ENT, 1,50 [1,50–1,70]; ET, 1,50 [1,50–2,18]; ANT, 1,64 [1,50–3,36]; AT, 1,82 [1,50–3,43] pg/ml;  $p > 0,05$ ; 6.ábra).



**6. ábra. Az IL-6 plazmakoncentrációi a négy vizsgálati csoportban.**

ENT, egészséges, nem terhes; ET, egészséges terhes; ANT, asztmás, nem terhes; AT, asztmás terhes.

A CRP értékek hasonlóak voltak az ENT, ANT és ET csoportokban, míg az AT kismamák körében magasabb szinteket mértünk, mint az ENT kontrollcsoportban (7,00 [3,00–9,00] vs. 2,50 [1,00–3,90] mg/l,  $p = 0,005$ ). Azonban az AT csoport CRP értékei nem mutattak eltérést sem az ET kismamákéhoz képest (3,85 [2,08–6,53],  $p > 0,05$ ), sem az ANT csoportéhoz képest (3,00 [3,00–5,00],  $p > 0,05$ ; 7. ábra).



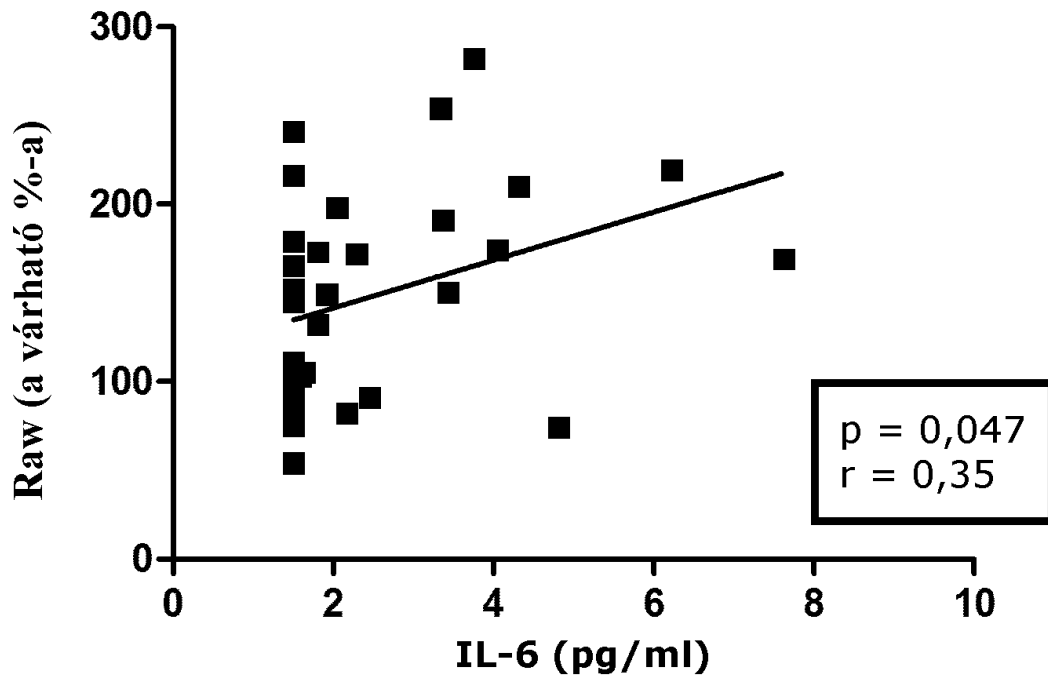
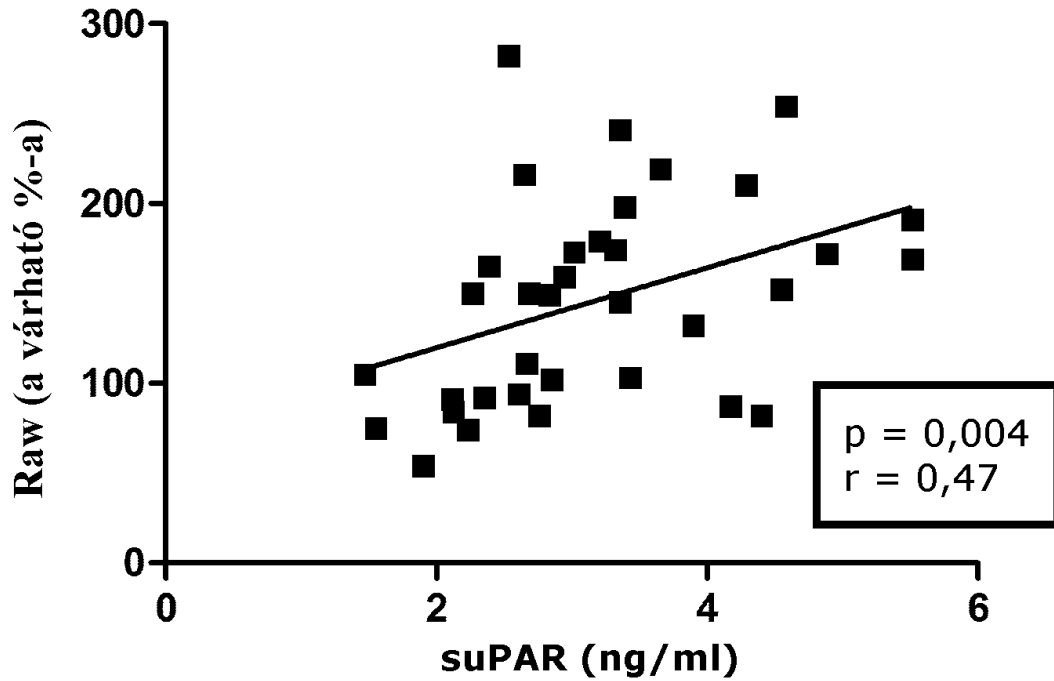
**7. ábra. A CRP plazmakoncentrációi a négy vizsgálati csoportban.**

ENT, egészséges, nem terhes; ET, egészséges terhes; ANT, asztmás, nem terhes; AT, asztmás terhes; <sup>a</sup>  $p < 0,05$  vs. ENT.

### V. 2. 3. A vizsgált gyulladási markerek (suPAR, CRP, IL-6) és az asztma klinikai jellemzői közti összefüggések

Megvizsgáltuk, mutat-e összefüggést a suPAR, a CRP vagy az IL-6 a két asztmás csoportban (AT és ANT) az asztma funkcionális jellemzőivel, azaz a légzésfunkciós értékekkel ( $FEV_1$ , PEF,  $R_{aw}$ ) vagy az ACT összpontszámmal. Az ANT csoportban szignifikáns korrelációt találtunk mind a  $R_{aw}$  és suPAR értékek között ( $p = 0,004$ ,  $r = 0,47$ ), mind a  $R_{aw}$  és IL-6 értékek között ( $p = 0,047$ ,  $r = 0,35$ ; 8. ábra). Az AT csoportban nem voltak ezek az összefüggések kimutathatók, a CRP pedig egyik asztmás

csoportban sem függött össze az asztma egyik klinikai paraméterével sem. Az ICS felírt napi adagja nem befolyásolta a keringő suPAR szinteket egyik asztmás csoportban sem.

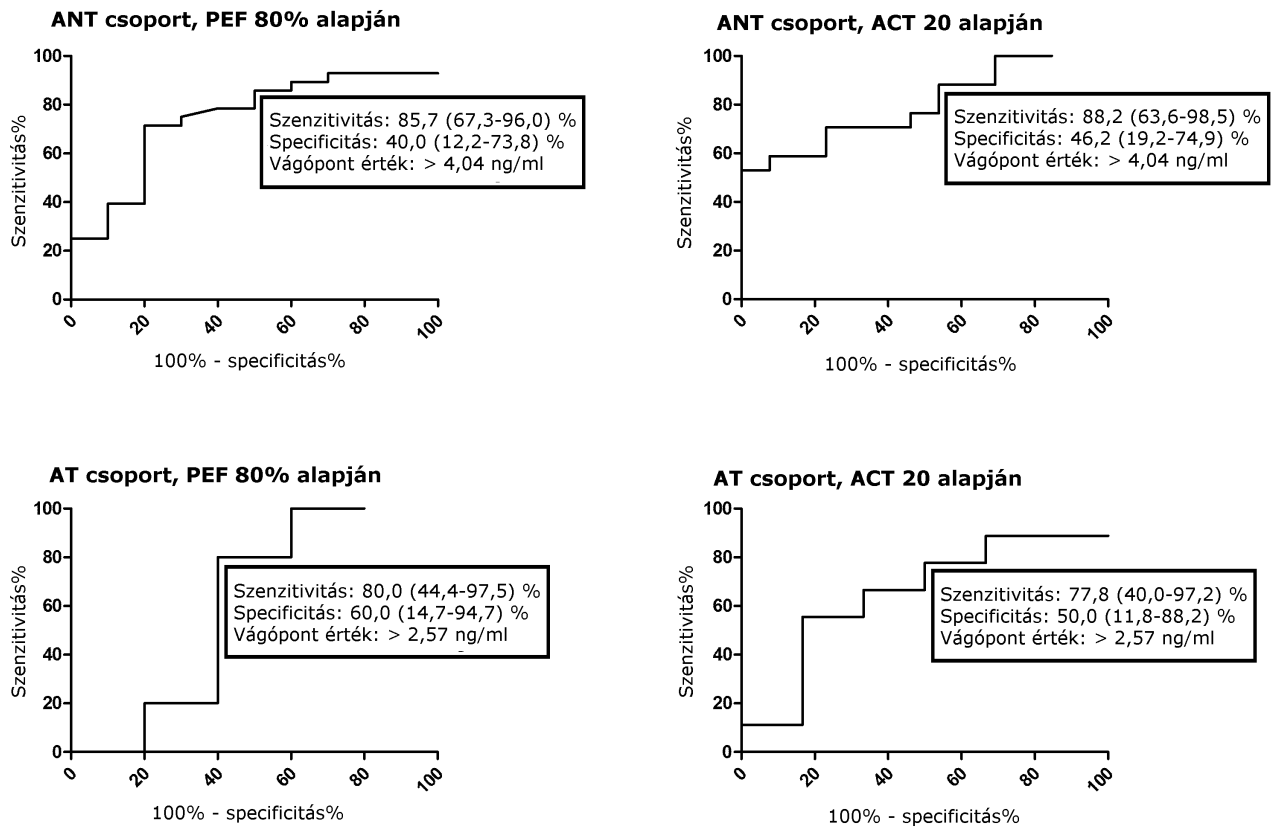


8. ábra. A légúti áramlási ellenállás és a perifériás suPAR, illetve IL-6 koncentráció közötti korrelációk az asztmás, nem terhes csoportban.

$R_{aw}$  – légúti áramlási ellenállás.

Mivel a jelenlegi ajánlások szerint a  $PEF \geq 80\%$  és az ACT összpontszám  $\geq 20$  értékek tekinthetők a jól kontrollált asztma mutatóinak, elvégeztük a három gyulladásozó molekula ROC analízisét az AT és ANT csoportokban a  $PEF 80\%$  fölötti és alatti értékekkel bíró, illetve az ACT összpontszám 20 fölötti és alatti értékekkel bíró betegek alcsoportjaival. Az ANT és AT betegek különböző alcsoportjain elvégzett ROC analízis csak a suPAR esetében, az ANT csoportban járt szignifikáns eredménnyel. A suPAR értékek ROC analízise a  $PEF 80\%$  fölötti vagy alatti értékekkel bíró ANT betegeket elkülönítve 0,75 AUC értéket eredményezett (95% CI: 0,57–0,92;  $p = 0,023$ ; 9. ábra). A  $PEF 80\%$  fölötti vagy alatti értékekkel bíró ANT betegeket szignifikánsan elkülönítő suPAR vágópont 4,04 ng/ml volt (szenzitivitás% (95% CI): 85,7 (67,3–96,0), specificitás% (95% CI): 40,0 (12,2–73,8); 9. ábra, 5. táblázat). Az ACT összpontszám 20 fölötti vagy alatti értékekkel bíró ANT betegeket elemezve az AUC 0,80 volt (95% CI: 0,64–0,95;  $p = 0,006$ ; 9. ábra). Az ACT összpontszám 20 fölötti vagy alatti értékekkel bíró ANT betegeket megkülönböztető suPAR vágópont is 4,04 ng/ml volt (szenzitivitás% (95% CI): 88,2 (63,6–98,5), specificitás% (95% CI): 46,2 (19,2–74,9); 9. ábra, 5. táblázat).

Az ANT csoportban az IL-6 és CRP esetében nem kaptunk szignifikáns eredményt, míg az AT csoportban a ROC analízis egyik vizsgált gyulladásozó molekula esetében sem járt szignifikáns eredménnyel. Ebben a csoportban a suPAR a kontrollált és nem kontrollált betegek elkülönítésében kisebb szenzitivitással bírt: a  $PEF$  értékek alapján a szenzitivitás% (95% CI): 80,0 (44,4–97,5) volt, míg az ACT összpontszám alapján a szenzitivitás% (95% CI): 77,8 (40,0–97,2) volt ( $p > 0,05$ ; 9. ábra, 5. táblázat).



**9. ábra. A keringő suPAR értékek ROC analízise az asztmás, nem terhes és asztmás terhes csoportokban, PEF  $\geq$  80% és ACT összpontszám  $\geq$  20 alapján.**

ANT, asztmás, nem terhes; AT, asztmás terhes; PEF, kilégzési csúcsáramlás; ACT, Asztma Kontroll Teszt.

**5. táblázat. A vizsgált gyulladási markerek (suPAR, CRP, IL-6) vágópont értékei az asztmás, nem terhes és asztmás terhes csoportokban.**

ANT, asztmás, nem terhes; AT, asztmás terhes; PEF, kilégzési csúcsáramlás; ACT, Asztma Kontroll Teszt; \*  $p < 0,05$ .

	Szenzitivitás	Specifititás	Vágópont érték
ANT, PEF alapján, CRP	74,1 (53,7-88,9) %	30,0 (6,7-65,3) %	> 4,50 mg/l
ANT, PEF alapján, suPAR	85,7 (67,3-96,0) %	40,0 (12,2-73,8) %	> 4,04 ng/ml*
ANT, PEF alapján, IL-6	78,3 (56,3-92,5) %	40,0 (12,2-73,8) %	> 2,90 pg/ml
ANT, ACT alapján, CRP	31,3 (11,0-58,7) %	76,9 (46,2-95,0) %	> 4,50 mg/l
ANT, ACT alapján, suPAR	88,2 (63,6-98,5) %	46,2 (19,2-74,9) %	> 4,04 ng/ml*
ANT, ACT alapján, IL-6	81,8 (59,7-94,8) %	45,5 (16,8-76,6) %	> 2,90 pg/ml
AT, PEF alapján, CRP	60,0 (26,2-87,8) %	66,7 (9,4-99,2) %	> 7,50 mg/l
AT, PEF alapján, suPAR	80,0 (44,4-97,5) %	60,0 (14,7-94,7) %	> 2,57 ng/ml
AT, PEF alapján, IL-6	70,0 (34,8-93,3) %	50,0 (6,8-93,2) %	> 2,48 pg/ml
AT, ACT alapján, CRP	62,5 (24,5-91,5) %	60,0 (14,7-94,7) %	> 7,50 mg/l
AT, ACT alapján, suPAR	77,8 (40,0-97,2) %	50,0 (11,8-88,2) %	> 2,57 ng/ml
AT, ACT alapján, IL-6	75,0 (34,9-96,8) %	50,0 (11,8-88,2) %	> 2,48 pg/ml

**V. 2. 4. A vizsgált gyulladási markerek (suPAR, CRP, IL-6) és a születési súly közötti összefüggés**

Egyik várandós csoportban sem korrelált a születési súllyal sem a suPAR, sem a CRP, sem az IL-6 perifériás vérben mért koncentrációja.

### V. 3. Hialuronsav

#### V. 3. 1. Klinikai adatok

A vizsgálatban résztvevő két asztmás csoport (terhes és nem terhes) klinikai adatai és hialuronsav koncentrációi az 6. táblázatban láthatók.

#### 6. táblázat. A vizsgálatban résztvevők klinikai adatai és a keringő hialuronsav koncentrációk a két csoportban.

ANT – asztmás, nem terhes; AT – asztmás terhes; FEV<sub>1</sub> – erőltetett kilégzési másodperc-térfogat; PEF – kilégzési csúcsáramlás; R<sub>aw</sub> – légúti áramlási ellenállás; ACT – Asztma Kontroll Teszt; ICS – inhalációs kortikoszteroid; BDP, beclomethasone dipropionate. \* p < 0,01.

	ANT (n = 36)	AT (n = 16)
Életkor (év)	41,28 (± 14,3)	31,13 (± 5,123)*
Terhességi kor mintavételkor (hét)	-	23,5[17-32,5]
Terhességi kor szüléskor (hét)	-	38 [38-39] <sup>n=11</sup>
Születési súly (gramm)	-	3320 [3000-4000] <sup>n=11</sup>
FEV <sub>1</sub> (a várható %-a)	90,5 [82,5-101,5]	94 [82,75-107]
PEF (a várható %-a)	94,5 [76,75-100]	87,5 [71,25-96,75]
R <sub>aw</sub> (a várható %-a)	147 [102,3-168]	111 [98-129] <sup>n=15</sup>
ACT összpontszám	21,5 [18-24] <sup>n=34</sup>	21 [19-25] <sup>n=15</sup>
ICS napi adag (BDP ekvivalens, µg)	500 [0-500]	225 [0-500]
ICS-kezelt / ICS-naiv	27 / 9	12 / 4
Hialuronsav (ng/ml)	37,4 [30,1-66,55]	27 [24,7-31,55]*

A két csoport összes asztmás betegét együtt megvizsgálva ( $n = 52$ ), a medián életkor 35 [29–43,75] év volt, a légzésfunkciós értékek a következőképpen alakultak: FEV<sub>1</sub> (a várható %-a) 92 [82,5–102], PEF (a várható %-a) 90 [75.25–100] és R<sub>aw</sub> (a várható %-a) 127 [102–165] volt. Az ACT összpontszám 21 [18–24] volt, jelezve a betegek elfogadható kontrolláltságát, amit a napi 450 [0–500] µg ICS (beclomethasone dipropionate ekvivalens) eredményezett.

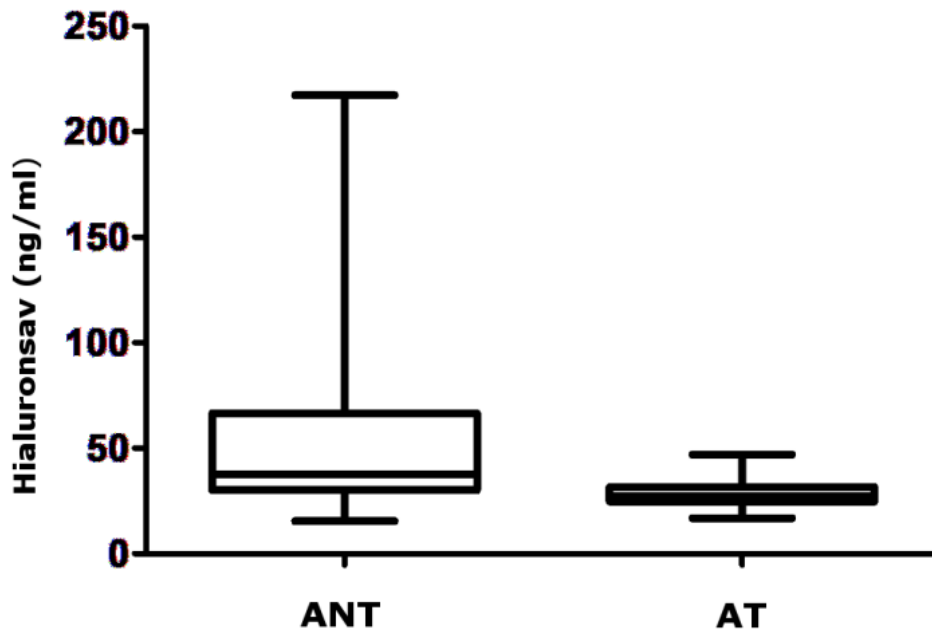
Huszonhét nem terhes és tizenkét terhes asztmás beteg használt ICS tartalmú gyógyszert, míg kilenc nem terhes illetve négy terhes beteg szteroid-naiv volt. Az ANT csoportban magasabb volt az átlagéletkor, mint az AT csoportban (41,28 (±14,3) vs. 31,13 (±5,123) év,  $p = 0,0005$ ). A vizsgálatba kizárólag második és harmadik trimeszteres asztmás kismamákat vontunk be. A szülészeti kimenetelben nem volt jelentősebb magzati vagy anyai szövődmény, (a szülészeti adatok öt AT kismama esetében nem voltak elérhetőek). A két asztmás csoport között nem volt különbség sem az asztma súlyosságát és kontrolláltságát jellemző paraméterekben, sem a felírt ICS napi adagjában (6. táblázat).

### V. 3. 2. A hialuronsav perifériás szintje

A két csoport összes asztmás betegében ( $n = 52$ ) együttesen vizsgálva a keringő hialuronsav koncentrációk mediánja 34,8 [25,6–46,48] ng/ml volt, és a koncentrációértékek korreláltak a résztvevők életkorával ( $p = 0,0064$ ;  $r = 0,37$ ). Az ANT csoporton belül is összefüggött a hialuronsav szint az életkorral ( $p = 0,019$ ;  $r = 0,39$ ). A hialuronsav értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak az AT csoportban, mint az ANT csoportban (27 [24,7–31,55] vs. 37,4 [30,1–66,55] ng/ml,  $p = 0,006$ ; 10. ábra). A két csoport közötti életkorbeli különbség miatt a hialuronsav értékeket korrigáltuk az életkorra; a korrekció után a két csoport között a hialuronsav koncentrációban tapasztalt különbség szignifikanciája trend szintjére csökkent ( $p = 0,056$ ).

Az AT csoporton belül a második és harmadik trimeszterben lévő kismamák perifériás hialuronsav koncentrációi között nem találtunk különbséget ( $p = 0,27$ ).



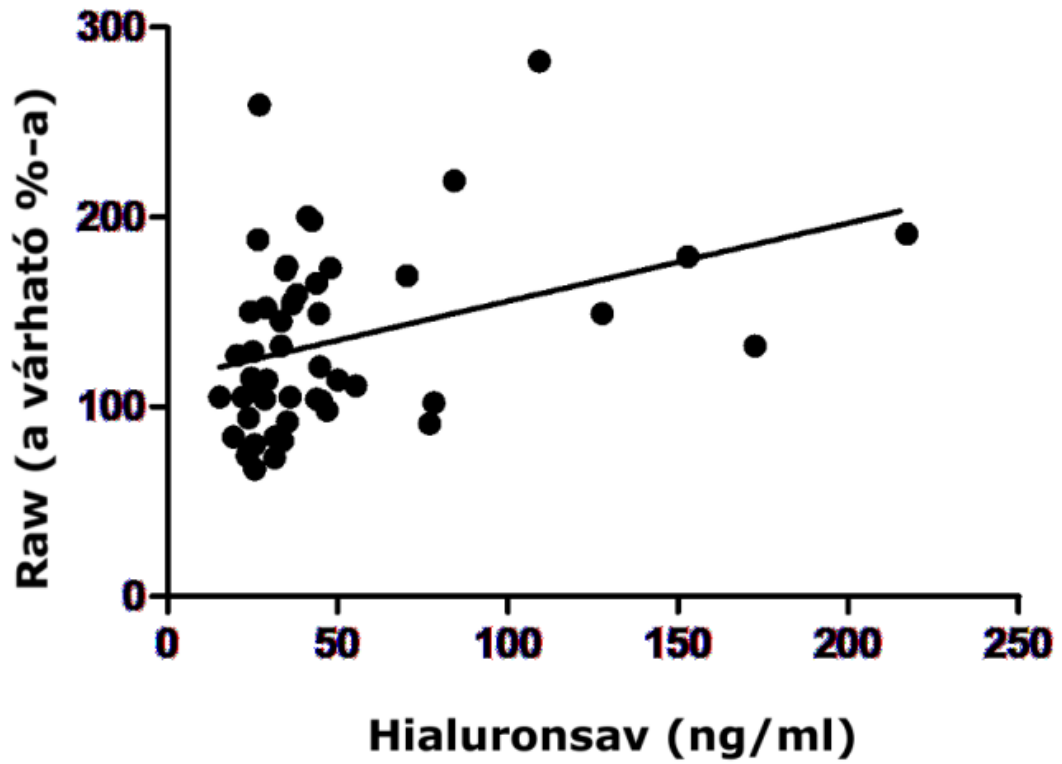


**10. ábra. Perifériás hialuronsav koncentráció a két vizsgálati csoportban\*.**

ANT – asztmás, nem terhes; AT – asztmás terhes;  $p = 0.006$ ; \*az adatok nincsenek az életkorra korrigálva.

### V. 3. 3. A hialuronsav és az asztma klinikai jellemzői közti összefüggések

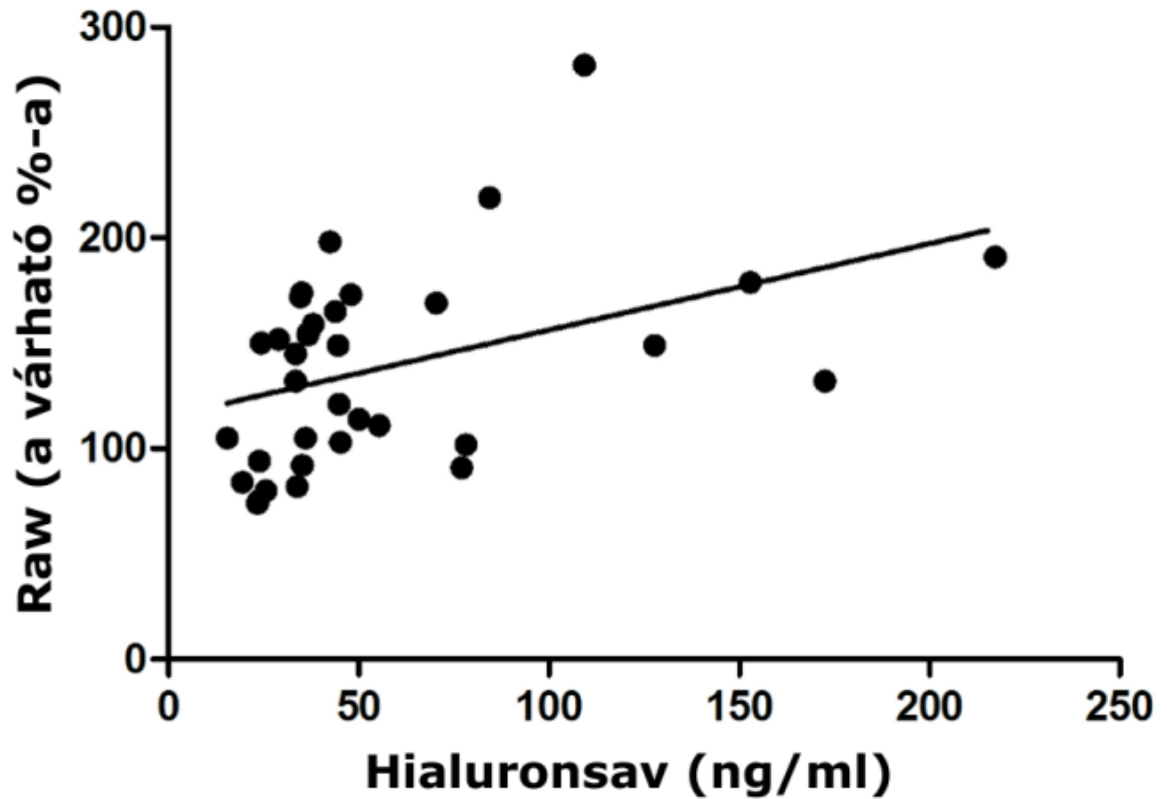
Szignifikáns korrelációt találtunk a hialuronsav perifériásan mért szintje és a légúti áramlási ellenállás között a teljes asztmás betegpopulációban ( $p = 0,0055$ ;  $r = 0,38$ ; 11. ábra), és ez az összefüggés az életkorra való korrekció után is szignifikáns maradt ( $p = 0,021$ ;  $r = 0,326$ ). A többi paraméterrel, azaz a  $FEV_1$ -gyel vagy PEF-fel, illetve az ACT összpontszámmal nem mutatott összefüggést a hialuronsav koncentráció. Az ICS tartalmú gyógyszerek napi dózisa sem befolyásolta a perifériás hialuronsav szinteket egyik csoportban sem.



11. ábra. A hialuronsav és a légúti áramlási ellenállás közti korreláció a teljes asztmás betegcsoportban.

$R_{aw}$  – légúti áramlási ellenállás.

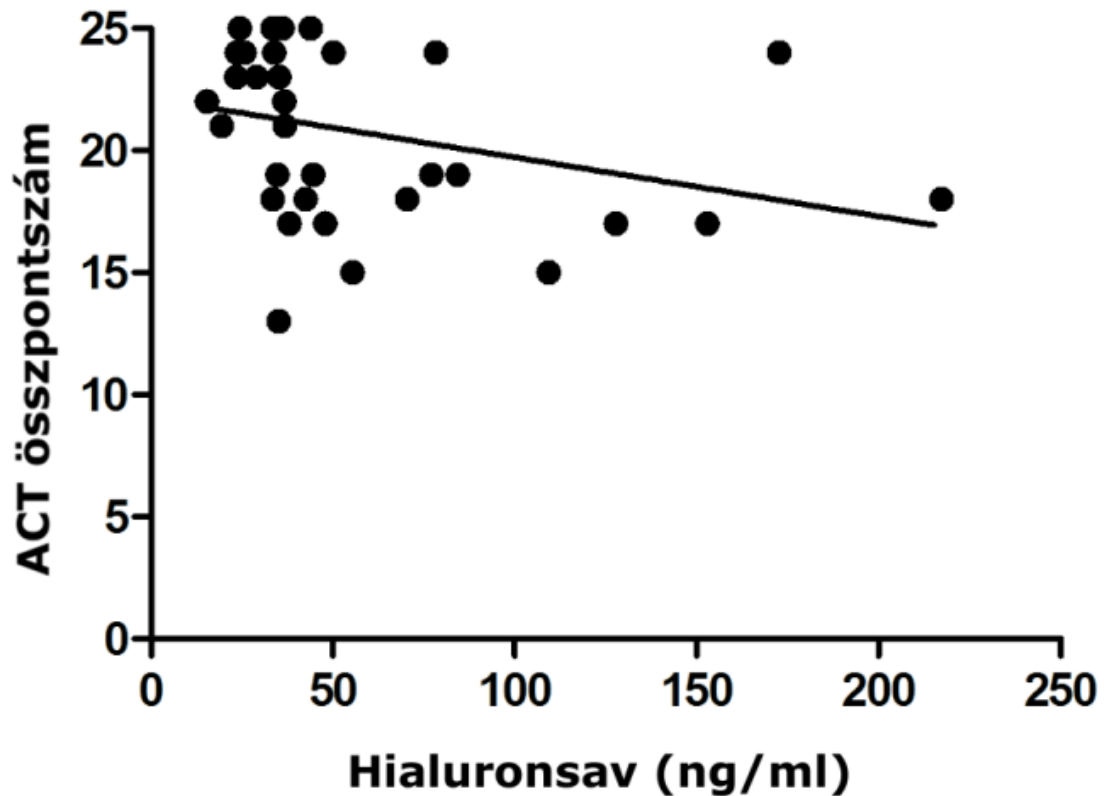
Az ANT betegcsoportban a hialuronsav szintén korrelált a  $R_{aw}$  értékekkel ( $p = 0,004$ ,  $r = 0,467$ ; 12. ábra).



**12. ábra.** A hialuronsav és a légúti áramlási ellenállás közti korreláció az asztmás, nem terhes csoportban.

Raw – légúti áramlási ellenállás.

Ugyanebben a nem terhes betegcsoportban inverz korrelációt állapítottunk meg a hialuronsav szintek és az ACT összpontszám között ( $p = 0,01$ ;  $r = -0,437$ ; 13. ábra). Az életkorra való korrekció után mindkét összefüggés, a hialuronsav és a  $R_{aw}$  közötti ( $p = 0,014$ ;  $r = 0,412$ ) és a hialuronsav és ACT közötti kapcsolat is ( $p = 0,04$ ,  $r = -0,36$ ) szignifikáns maradt.



**13. ábra. A hialuronsav és az ACT összpontszám közti inverz korreláció az asztmás, nem terhes csoportban.**

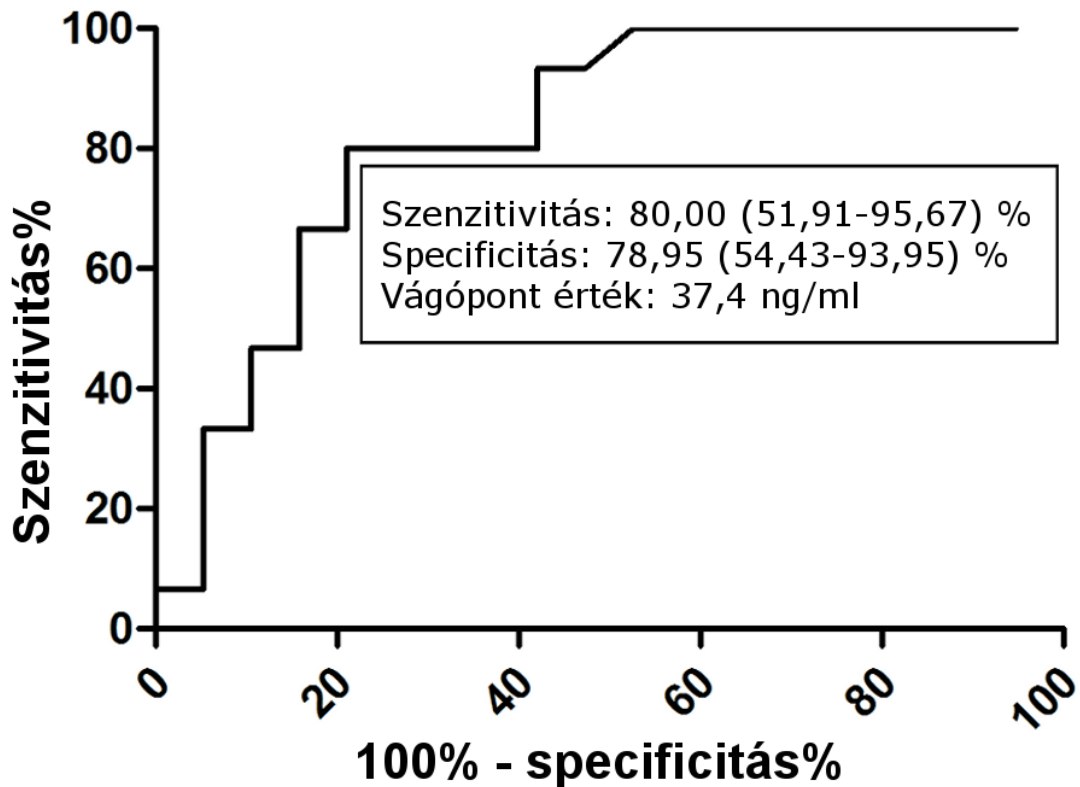
ACT – Asztma Kontroll Teszt.

Az AT csoportban nem találtunk összefüggéseket a keringő hialuronsav és az asztma funkcionális paraméterei között.

ROC analízissel megvizsgáltuk, az asztma kontroll megítélésében segítségünkre lehet-e a perifériás vér hialuronsav koncentrációjának mérése. Teszteltük, hogy a hialuronsav képes-e megfelelő szenzitivitással és specificitással elkülöníteni egymástól az ACT összpontszám  $\geq 20$  vagy  $< 20$  értékekkel bíró betegeket, azaz a kontrollált betegeket a nem kontrollált betegektől. A ROC analízist elvégeztük mind az AT, mind az ANT csoportokban, és az összes beteggel együttesen is. Az analízis az ANT csoportban szignifikáns eredményt adott, ugyanígy az összes beteget együtt vizsgálva is, az AT csoportban nem kaptunk szignifikáns eredményt.

Az ACT összpontszám 20 fölötti vagy alatti értékekkel bíró ANT betegeket elkülönítve az AUC 0,826 volt (95% CI: 0,686–0,966;  $p = 0,006$ ; 14. ábra). Az ACT összpontszám 20 fölötti vagy alatti értékekkel bíró ANT betegeket megkülönböztető

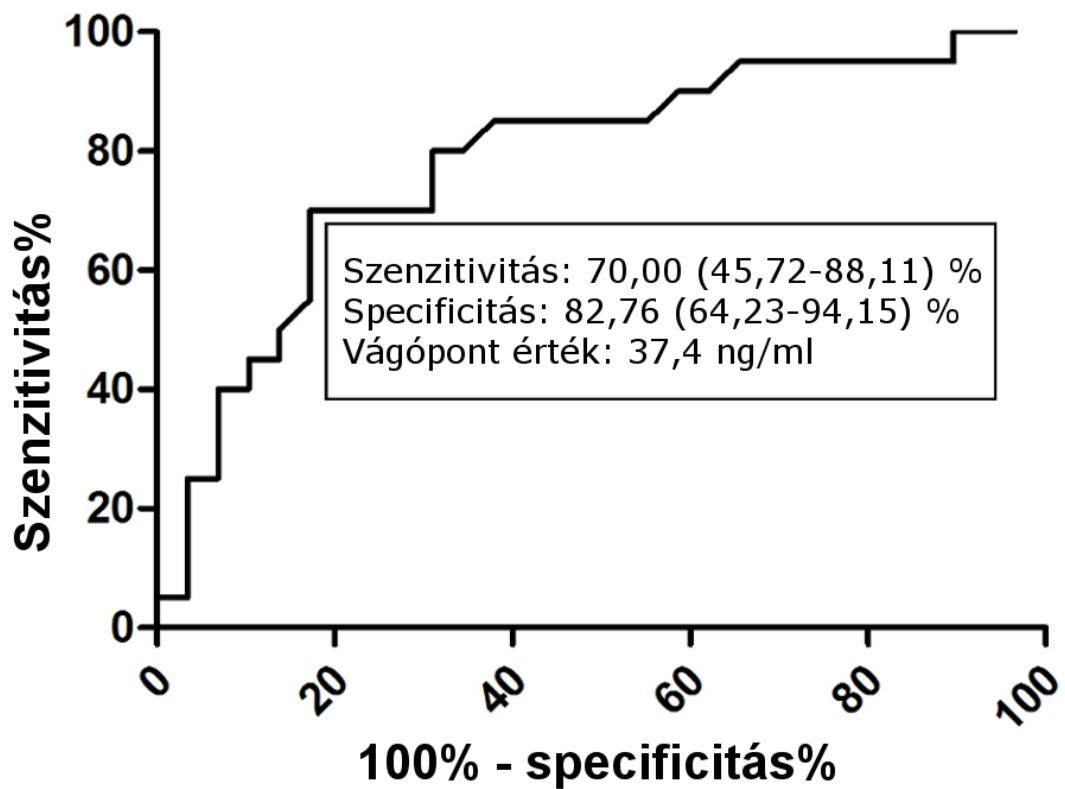
hialuronsav vágópont 37,4 ng/ml volt (szenszitivitás% (95% CI): 80,0 (51,91–95,67), specificitás% (95% CI):78,95 (54,43–93,95); p = 0,0019; 14. ábra).



**14. ábra.** A hialuronsav értékek ROC analízise az asztmás, nem terhes csoportban, az ACT összpontszám alapján kontrollált ( $\geq 20$ ) vagy nem kontrollált ( $< 20$ ) betegek elkülönítésével.

ACT – Asztma Kontroll Teszt.

A hialuronsav értékek ROC analízise az összes asztmás betegünk kohorszában a 20 fölötti és alatti ACT összpontszámmal bíró betegek elkülönítésével 0,78 (95% CI: 0,65–0,92) AUC értéket eredményezett, a kontrollált és nem kontrollált betegeket elkülönítő hialuronsav vágópont 37,4 ng/ml volt (szenszitivitás% (95% CI): 70,00 (45,72–88,11), specificitás% (95% CI): 82,76 (64,23–94,15); p = 0,0009; 15. ábra)



15. ábra. A hialuronsav értékek ROC analízise a teljes asztmás betegcsoportban, az ACT összpontszám alapján kontrollált ( $\geq 20$ ) vagy nem kontrollált ( $< 20$ ) betegek elkülönítésével.

ACT – Asztma Kontroll Teszt.

#### V. 3. 4. A keringő hialuronsav szintek és a születési súly közötti összefüggés

Az AT csoportban nem korrelált az újszülöttek születési súlyával a hialuronsav perifériásan mért koncentrációja.

## VI. MEGBESZÉLÉS

Három keresztmetszeti vizsgálatot végeztünk asztmás és asztmás terhes betegek bevonásával, három molekula, a VEGF, a suPAR és a hialuronsav potenciális biomarkerként való használhatóságát szeretnénk volna feltérképezni asztmában és asztmás terhességben. Eredményeink szerint a suPAR és a hialuronsav asztma biomarkerek lehetnek a jövőben, azonban úgy tűnik, klinikai hasznuk elsősorban a nem terhes asztmás csoportban várható.

### VI. 1. VEGF és sFlt1

A VEGF korábbi vizsgálatok szerint szerepet játszik az asztma patogenezisében, és azon túl, hogy terhességben elengedhetetlen fiziológiás szerepe van, terhességi szövődeményekkel is (mint például praeclampsia) kapcsolatban állhat, sőt akár diagnosztikus szerepe is lehet ezekben az állapotokban (Levine és mtsai 2004). Mindezek miatt asztmában és asztmával szövődött terhességben is felmerült perifériás vérben mérhető, nem invazív biomarkerként való használatának lehetősége. A vizsgálatunk eredményeiből kiderült, hogy az asztma önmagában nem befolyásolja a plazma szabad VEGF (illetve az sFlt1) szintet nem terhes asztmás nőkben, ugyanis hasonló koncentrációkat mértünk az ANT és ENT csoportokban. Terhességben viszont – a konkomittáló asztmától függetlenül – a szabad VEGF olyannyira lecsökken, hogy alig mérhető, vélhetően az sFlt1 megemelkedő koncentrációja miatt, hiszen mind az AT, mind az ET csoportokban a plazmaminták jelentős részében nem volt kimutatható, az sFlt1 ellenben markáns emelkedést mutatott mindkét várandós csoportban. A nem terhes állapothoz hasonlóan a VEGF (illetve az sFlt1) terhes állapotban sem változott az asztma hatására, hasonló értékeket mértünk az AT és ET csoportokban. A vizsgált klinikai és szülészeti paraméterek közül a VEGF egyedül a  $FE_{NO}$  értékével mutatott fordított összefüggést az AT csoportban, míg az sFlt1 egyik paraméterrel sem függött össze.

Bár a VEGF érújdonképzést serkentő hatása lokálisan nélkülözhetetlen az egészséges magzati és placentális angiogenezishez, mégis, élettani terhességben a biológiailag aktív szabad VEGF keringő szintje alacsony, és nehezen mérhető a plazmában. Emiatt a

keringő sFlt1 mérése is fontos lehet a VEGF méréssel párhuzamosan, hiszen a VEGF-fel ellentétben ennek a molekulának a koncentrációja terhesség során jelentősen meghaladja a kimutathatósági küszöböt. Az sFlt1 a VEGF receptor1, vagy más néven Flt1 szolubilis formája, amely nem mutat tirozin-kináz aktivitást. Így, miután megkötötte a keringő VEGF molekulát, az nem fejtheti ki hatásait, tehát az sFlt1 gátló módon szabályozza a VEGF fiziológiás hatásait (Maynard és mtsai 2003). Korábban leírták, hogy míg a VEGF teljes mennyisége nem változik meg a perifériás vérben terhesség során, addig az sFlt1 koncentrációja jellemző időbeli változást mutat várandósságban. Ugyanis ennek a szolubilis receptornak a koncentrációja a terhesség legelején, a fogamzás után megemelkedik, de aztán változatlan marad a 30. terhességi hét környékéig, amikor is meredek emelkedésbe kezd, és a terminuskor tetőzik (Levine és mtsai 2004, Palm és mtsai 2011). Azonban azt is kimutatták, hogy az sFlt1 30. gesztációs hétnél korábbi emelkedése – a szabad VEGF csökkenésével párhuzamosan – praeclampsziával áll kapcsolatban. Az érújdonképző hatású VEGF és az angiostatikus hatású sFlt1 arányának felborulása praeclampsziában nem meglepő, hiszen a VEGF-nek nélkülözhetetlen szerepe van a magzati és placentális angiogenezisben, és jól ismert, hogy praeclampsziában kóros a placenta erezettsége.

A praeclampsziához hasonlóan asztmában is kóros erezettség figyelhető meg, csak a betegség jellegéből eredően más elhelyezkedéssel, a légutakban. Asztmában a krónikus gyulladáshoz vezető folyamatok és a gyakori exacerbációk a légutak átépüléséhez vezetnek, mely során a bronchusok és bronchiolusok fala megvastagszik, és ez fokozódó hiperreaktivitáshoz és a betegség progresszív lefolyásához vezet (Boulet és mtsai 1995). A strukturális elváltozások a légutak minden rétegét érintik, azaz az epitéliumot, bazális membránt, simaizomzatot és az ereket. Asztmásokból származó bronchiális biopszia mintákban 30%-kal nagyobb számú eret mutattak ki, de súlyos asztmásokban akár 46%-kal is megnövekedhet a submucosában a kapillárisok száma (Pałgan és Bartuzi 2015). Számos vizsgálat igazolta, hogy a hörgők falának vérbősége hozzájárul a betegség patogeneziséhez. Egyrészt a megnövekedett érátmérő, a bronchiális erek nagyobb száma és az erek nagyobb felülete, és az ezekből következő ödéma fizikailag komprimálhatja a légutakat. Másrészt a plazma szivárgása a légutakban fokozza a bronchiális simaizomzat hiperreaktivitását, ami valószínűleg az előzőeknél még fontosabb tényezője a megnövekedett légúti véráramlás légúti szűkületet okozó



hatásának (Van de Graaf és mtsai 1991). Végül a jól fejlett érhálózat a gyulladásos sejtek bronchusfalba vándorlását is elősegítheti (Pałgan és Bartuzi 2015). Azt, hogy az asztmás betegekben kifejlődő érelváltozások háttérben a VEGF-nek szerepe van, jópár vizsgálat alátámasztja (Hoshino és mtsai 2001, Lee és mtsai 2004). Az érújdonképző hatáson túl a VEGF eozinofil kemotaxist is okoz (Asai és mtsai 2003). Érdekes módon az asztmára jellemző Th2-citokinek (IL-4, IL-5 és IL-13) és ciszteinil-leukotriének pedig indukálják a légúti simaizomsejtek VEGF termelését (Corne és mtsai 2000, Poulin és mtsai 2011).

Korábban asztmások légúti mintáiban emelkedett VEGF szinteket mértek, mint például indukált köpetben (Asai és mtsai 2003) és BAL folyadékban (Feltis és mtsai 2006). De tudomásunk szerint előttünk csak egy munkacsoport mérte a VEGF keringő szintjét asztmában (Lee és mtsai 2008), és ők emelkedett plazma VEGF szintet találtak stabil asztmásokban. Abban a vizsgálatban az asztmás alanyok száma a mi vizsgálatunkban szereplőkének csupán harmada volt. Mi a vizsgálatunkban a bevonandó alanyok számát úgy kalkuláltuk, hogy a vizsgálat hatásnagysága és ereje megfelelő legyen a VEGF vizsgálati csoportok közötti esetleges eltéréseinek detektálásában. A korábbi vizsgálattal ellentétben mi nem találtunk szignifikáns eltérést asztmások és egészségesek mintái között, akár terhes, akár nem terhes nőket hasonlítottunk össze. Az ellentmondó eredmények egy lehetséges magyarázata az eltérő esetszám lehet. Megjegyzendő azonban, hogy a mi vizsgálatunkban is volt néhány kiemelkedően magas plazma VEGF érték, ami nem volt magyarázható az aktuális klinikai állapottal. Ez arra utal, hogy lehetnek ismeretlen tényezők is a háttérben, amelyek befolyásolhatják az eredményeket, és így a vizsgálatok közti eltéréseket okozhatják.

Az azonban nem valószínű, hogy vizsgálatunkban az asztmás és egészséges kontrollcsoportokban a plazma VEGF koncentráció hasonlóságát, vagyis asztmában az emelkedés hiányát a kortikoszteroid-kezelés VEGF-csökkentő hatása okozta volna. Ugyanis a szteroid-kezelt és szteroid-naiv asztmás betegek plazma VEGF értékei között nem mutattunk ki eltérést, emellett a plazma VEGF koncentrációk és az ICS dózisa között sem találtunk kapcsolatot. Eredményeink alapján tehát a stabil, részlegesen vagy jól kontrollált asztma önmagában nem befolyásolja a plazma szabad VEGF mérés klinikai használhatóságát terhesség során. Ugyanakkor viszont nem zárhatjuk ki annak a lehetőségét, hogy asztmával szövődött terhességben a VEGF szintje lokálisan, a

légutakban változhat. Így a VEGF asztma patogenezisben betöltött szerepét kutató jövőbeli vizsgálatoknak célszerűbb lenne légúti mintákat használniuk, mivel a szisztémás minták nem kizárólag a légúti folyamatokat tükrözik. Mivel viszont a bronchosopia végzése, így a BAL folyadék gyűjtése, vagy az indukált köpet nyérése invazív vagy félig invazív módszerek és emiatt alkalmazásuk mellékhatásokkal járhat, így ezek a technikák várandós betegekben nem végezhetőek el.

Az AT csoportban nem volt összefüggés a plazma szabad VEGF szint és a terhességi kor között, ami összhangban áll a korábbi, egészséges kismamákkal végzett kutatások eredményeivel (Levine és mtsai 2004, Palm és mtsai 2011). Másrészt viszont, vizsgálatunkban mindkét várandós csoportban alacsonyabb plazma szabad VEGF szinteket mértünk, sőt, összességében kevesebb, mint a terhes minták felében volt csak kimutatható a molekula. Ennek hátterében valószínűleg a megemelkedő sFlt1 koncentráció állhat. Ugyanakkor a szabad VEGF koncentráció jelentős csökkenésén kívül terhesség során a plazma VEGF mérés információtartalmát csökkenti, hogy már 250 pg/ml sFlt1 jelenléte is befolyásolja, 62,5 pg/ml-re emeli a VEGF detektáló ELISA mérőrendszer kimutathatósági tartományának alsó határát. Így terhesség során a VEGF perifériás szintjének értékelése bizonytalan lehet.

Másrészt viszont az sFlt1 koncentrációt minden plazmamintában meg tudtuk határozni. Az sFlt1 és a VEGF ELISA mérőrendszer közötti kölcsönhatás miatt terhesség során az angiogén/angiostatikus egyensúly megítélésére célszerűbb lehet inkább az sFlt1 szintet mérni. Tudomásunk szerint ez volt az első vizsgálat, amely sFlt1 koncentrációt mért asztmában. Eredményeink szerint az asztma nem befolyásolja a keringő sFlt1 szintet sem terhes, sem nem terhes állapotban, viszont a jövőben olyan nagyobb vizsgálatok megtervezése lehet indokolt asztmás terhességben, amelyek az sFlt1 mérés használhatóságát értékelnék a különböző szülészeti szövődmények előrejelzésében, korai diagnózisában.

## **VI. 2. suPAR, IL-6 és CRP**

A keringő suPAR koncentrációt elsőként vizsgáltuk meg asztmában és asztmával szövődött terhességben. Eredményeink szerint, bár a gyulladásgátló szerekkel kezelt és

kontrollált asztma önmagában a suPAR szintet sem változtatta meg az egészséges, nem terhes kontrollszemélyekhez képest, az asztmás, nem terhes betegekben a magasabb suPAR szint rosszabb légzésfunkcióval járt. Ami még fontosabb, meghatározható volt egy olyan suPAR vágópont, ami alkalmasnak bizonyult a kontrollált és nem kontrollált nem terhes asztmás betegek jó szenzitivitással való elkülönítésére. Másrészt a suPAR terhes alanyokban konzisztensen alacsonyabb volt – a kísérő asztmától függetlenül – a megfelelő nem terhes (egészséges és asztmás) kontroll alanyokhoz képest, így terhesség során a nem megfelelő asztma kontroll detektálásában szenzitivitása valamivel alacsonyabbnak bizonyult.

A suPAR – a CRP-hez hasonlóan – általánosságban a krónikus gyulladás fokának jelzője, és a magas suPAR szint a kardiovaszkuláris betegségek, 2-es típusú diabétesz, rák és korai halálozás fokozott rizikójával jár (Haupt és mtsai 2014). Számos vizsgálat kimutatta, hogy a suPAR perifériás vérben és egyéb testfolyadékokban mért koncentrációja aktív immunválasszal jellemezhető betegségekben nem csak megemelkedik, de emelkedett szintje rosszabb prognózist is jelez, mint például rheumathoid arthritisben (Toldi és mtsai 2013), különféle fertőzésekben (Ostergaard és mtsai 2004) és patológiás terhességekben (Toldi és mtsai 2011). Az asztma a légúti gyulladáson túl szisztémás gyulladással is jár, ami összefügghet a légzésfunkcióval és a klinikai tünetekkel is (Global Initiative for Asthma 2015). A terhességre viszont fiziológiás immuntolerancia állapota jellemző, ami általában tompítja a kismama immunválaszait (Tamási és mtsai 2011). Korábbi adatok alapján feltételezhető, hogy nem kontrollált asztmával szövődött terhességben a károsodott anyai tolerancia tehető felelőssé a kedvezőtlen magzati kimenetelért. Munkacsoportunk korábbi vizsgálatában, melyben tünetes asztmás kismamák vettek részt, a magzat növekedési retardációja háttérében az asztma-asszociált anyai immunválasz állhatott (Tamási és mtsai 2005). A magzat jóléte és optimális növekedése tehát az immunválaszok terhesség alatti megfelelő szabályozásától függhet; vizsgálatunkban pedig a terhes csoportokban lecsökkent suPAR szint – függetlenül a nagyrészt kontrollált asztma jelenlététől – a terhesség okozta immuntolerancia jele lehetett. A várandós állapotban mért alacsonyabb suPAR szint ellentmond egy korábbi vizsgálat eredményének (Odden és mtsai 2012), azonban abban a korábbi vizsgálatban csak első trimeszteres kismamák szerepeltek (a medián terhességi hét 10,7 volt), és ismert, hogy a terhesség elején az igen invazív

trofoblaszt sejtek expresszálják az uPAR-t, ami elméletileg a terhesség elején mért magas suPAR szintet okozhatta. Ellenben a mi vizsgálatunkban csak második és harmadik trimeszteres kismamák vettek részt (a medián terhességi hét az egészséges terhes csoportban 36, az asztmás terhes csoportban 27,5 volt), így a mi vizsgálatunkban az előrehaladottabb terhességben mért alacsonyabb suPAR szint inkább a már jórészt kialakult és javában fennálló terhességi immuntolerancia jelzője lehetett. Másrészt a korábbi vizsgálat egyik gyengéje, hogy nem szerepelt nem terhes kontrollcsoport (csak egészséges terhes és praeclampsziás csoport), tehát a szerzők a terhes mintákon mért értékeiket más eredmények alapján várható nem terhes értékekhez hasonlították. Mindenesetre a látszólagos ellentmondást követéses, a terhesség lefolyása során longitudinálisan elvégzett vizsgálat tudná definitíven megválaszolni. Tekintve, hogy terhességi szövődmények esetén magasabb szint várható, mint szövődménymentes terhességben (Toldi és mtsai 2011), a suPAR-t egy esetleges következő vizsgálatban érdemes lehet nem jól kontrollált asztmás kismamákban is vizsgálni, illetve olyan asztmás terheseket is bevonva, akiknél kialakult a várandósságuk során szülészeti szövődmény.

Bár korábbi vizsgálatban emelkedett keringő IL-6 szintet írtak le stabil állapotú allergiás és nem allergiás asztmásokban (Yokoyama és mtsai 1995), mi nem találtunk eltérést egyik vizsgált csoport IL-6 értékeiben sem. Az ellentmondás háttérében az állhat, hogy az előbbi vizsgálatban résztvevő asztmás betegek nem részesültek ICS kezelésben, ellentétben a mi vizsgálatunkban szereplő betegekkel. Ugyanakkor megjegyzendő, hogy a legkimagaslóbb IL-6 értékeket asztmás roham során, illetve allergén provokáció során mérték az említett korábbi vizsgálatban. Mindemellett még kevésszer vizsgálták asztmások perifériás vér IL-6 szintjét, és nem teljesen egyértelmű, mely fenotípusokban hogyan változik, hiszen a légúti minták mérései arra engednek következtetni, hogy különbség lehet például az obezitáshoz társuló asztmában, vagy ún. „intrinsic” asztmában is allergiás asztmához képest (Canöz és mtsai 2008, Virchow és mtsai 1996).

Az jól ismert korábbi vizsgálatokból, hogy asztmában a CRP szintje megemelkedik, és a magas CRP összefüggést mutathat rosszabb légúti funkciókkal, betegségkontrollal és légúti hiperreaktivitással (Kony és mtsai 2004, Fujita és mtsai 2007, Allam és mtsai 2009, Kilic és mtsai 2012]. Más vizsgálatok szerint viszont vagy csak szteroid-naiv

asztmásokban emelkedett a CRP szintje, míg ICS-kezeltekben változatlan volt (Takemura és mtsai 2006), vagy csak nem allergiás asztmásokban emelkedett, de allergiás asztmásokban nem (Olafsdottir és mtsai 2005). A mi kutatásunkban a CRP perifériás koncentrációja a négy vizsgált csoportban hasonló volt, bár az AT csoportban az ENT kontrollszemélyekhez képest magasabb, de klinikai szempontból nem relevánsan emelkedett értékeket mértünk; ez az emelkedés az ET csoporthoz képest nem volt szignifikáns. Mivel a legtöbb beteg ICS kezelésben részesült, így a jelentősebb emelkedés hiánya összhangban állhat korábbi adatokkal. Másrészt az AT csoportban detektált kis emelkedés háttérében az is állhat, hogy az asztmás kismamáknak ismerten rosszabb a terápiához való hűségük a terhesség alatt a szteroidtól való félelmek miatt (Murphy és mtsai 2006). Emiatt a vizsgálatunk egyik gyengéje, hogy nem szerepelt benne ismerten szteroid-naiv betegcsoport, így nem tudtuk megítélni, az ICS kezelés befolyásolta-e a vizsgált gyulladási markereket.

Vizsgálatunkban további zavaró tényező lehetne a nem terhes és terhes asztmás csoport közti életkorbeli különbség, azonban a suPAR szint egyik csoportban sem mutatott összefüggést az életkorral. Korábban más, terhességgel végzett kutatásban is azt írták le, hogy a suPAR szintje nem függött össze a kismamák életkorával, hasonlóan a mi vizsgálatunkban tapasztaltnak (Odden és mtsai 2012). Bár azóta ennek ellentmondó eredmény is napvilágot látott, ami szerint a suPAR szintje az életkorral nő az átlagnépességben (Haupt és mtsai 2014). Ennek ellenére sem tartjuk valószínűnek, hogy a suPAR szint terhességben tapasztalt csökkenésének háttérében az alacsonyabb életkor állna, mivel az egészséges terhes és nem terhes csoportokban nem különbözött az életkor, a terhes mintákban mégis alacsonyabb volt a suPAR szintje a nem terhes mintákban mérthez képest, hasonlóan az asztmás terhes versus asztmás, nem terhes minták mérésekor tapasztaltakhoz.

Ebben a vizsgálatunkban a nem terhes (egészséges, illetve asztmás) kontrollcsoportokban férfiak is szerepeltek annak érdekében hogy nem csak asztmával szövődött terhességben, hanem általánosságban asztmában is feltérképezzük a suPAR szerepét és jelentőségét biomarkerként (mivel az irodalomban a suPAR molekula asztmában mérhető szintjére vonatkozó adat még nem állt rendelkezésre, sem a perifériás keringésben, sem a légúti mintákban mérve). Ezért, hogy vizsgálatunk relevanciáját növeljük az asztma szempontjából, férfiakat is bevontunk. Vizsgálatunk

tervezésekor nem találtunk arra utaló adatot, hogy a suPAR értéke eltérést mutatna férfiak és nők között. Azonban egy azóta megjelent tanulmány szerint, mely az átlagnépességben vizsgálta a suPAR szintjét és a suPAR egyéb rizikófaktorokkal való összefüggéseit, az átlagnépességben a suPAR perifériás vérben mérhető koncentrációja 0,5 ng/ml-rel magasabbnak mutatkozott nőkben, mint férfiakban (Haupt és mtsai 2014). Ez az eredmény viszont érdekes módon éppen, hogy tovább növeli vizsgálatunk erejét, hiszen így elvileg a két terhes csoportban kellett volna magasabb suPAR szintet mérnünk, mivel ezekben csak nők szerepeltek, míg a vegyes összetételű kontrollcsoportokban a férfiak jelenléte miatt valamivel alacsonyabb suPAR szint lett volna várható. Mi azonban épp ellentétes eredményt kaptunk, a két terhes csoportban mértünk alacsonyabb suPAR szinteket, ami a várandósságra jellemző immunológiai eltérések következménye lehet.

Az asztmás légúti átépülés, ezen belül is a mucosális ödémát okozó megnövekedett nyáktermelés és a légúti simaizomzat hipertrófiája háttérben álló pontos gyulladós folyamatok még nincsenek teljesen feltérképezve. Mindenesetre ezek az elváltozások megnövelik a légúti ellenállást és az asztma súlyosságát. További kutatásokat igényel, vajon a suPAR és az IL-6 részt vesznek-e ezeknek a kóros folyamatoknak a szabályozásában. A suPAR molekulát korábban még nem vizsgálták asztmában, az IL-6-ról azonban mindinkább ismert, hogy fontos szerepe lehet az asztma patogenezisében, és nem csak a gyulladós történésekben úgymond járulékosan felszabaduló gyulladós molekula (Rincon és Irvin 2012). Nem csak gyulladós sejtek termelik, hanem a tüdő epitélsejtjei is különböző behatásokra, mint például allergének, vírusok, toxikus részecskék és fizikai terhelés. Valószínűleg már az asztmás gyulladás korai fázisában szerepe van, még mielőtt a gyulladós sejtek a tüdőbe vándorolnak. Asztmások epitélsejtjei túlexpresszálják, és a T sejtek fejlődésére hatva a T helper (Th)1 / Th2 / Th17 / regulatorikus T sejt arányt is nagyban befolyásolja. Azt is kimutatták, hogy a nyáktermelésre is hatással van (Rincon és Irvin 2012). Vizsgálatunkban mind a suPAR, mind az IL-6 korrelált a légúti áramlási ellenállással nem terhes asztmásokban, ami arra utalhat, hogy valóban szerepük lehet ezeknek a gyulladós molekuláknak az asztmás légúti szűkület és a megnövekedett áramlási ellenállás kialakulásában.

A suPAR, CRP és IL-6 esetleges használhatóságát az asztma kontroll megítélésében ROC analízissel teszteltük. Mivel az asztma irányelvek szerint a legalább 80%-ot elérő

PEF és a legalább 20 összpontszámú ACT a kontrollált asztma fő mutatói, a ROC analízist PEF 80% fölötti és alatti értékekkel bíró, illetve ACT összepontszám 20 fölötti és alatti értékekkel bíró betegek alcsoportjaival végeztük el mind az ANT, mind az AT csoportban. Az ANT csoportban 4,04 ng/ml-es vágóponttal a suPAR szignifikánsan el tudta különíteni a kontrollált betegeket a nem kontrolláltaktól, az AUC érték 0,75 volt. Az ACT összpontszám alapján megkülönböztetve a betegeket még jobban teljesített a suPAR, ugyanis így az AUC értéke 0,8 volt 4,04 ng/ml-es vágópont mellett. Ez talán azzal lehet magyarázható, hogy az ACT kérdőív szerteágazó tünetekre kérdez rá (nappali tünetek gyakorisága, rohamoldó használat, éjjeli felébredés asztmás tünetek miatt, a normális tevékenységek korlátozottsága), így a PEF méréssel szemben nem csak a légzés egy paraméteréről nyújt információt. Asztmával szövődött terhességben a suPAR diagnosztikus értéke a nem megfelelő kontroll tekintetében valamivel csekélyebb volt. A megfelelő szenzitivitás alacsony specificitással társult mindkét csoportban, ami nem jelent komoly problémát, hiszen asztmában a nem megfelelő asztmakontroll észlelése a fontos, az esetleges álpozitivitás a kiemelt betegeknél légzésfunkció elvégezésével kiküszöbölhető lehet. Mindazonáltal a mi adataink megerősítik a korábbi szemléletet, miszerint a suPAR használatának leginkább más biomarkerekkel együttesen lehet jelentősége (Donadello és mtsai 2012).

### **VI. 3. Hialuronsav**

A hialuronsav vizsgálatunkkal is a biomarker keresést folytattuk asztmában és asztmás terhességben. Megmértük a perifériás koncentrációit, és elemeztük a kapcsolatát az asztma kontroll mutatóival és az asztma funkcionális paramétereivel mindkét vizsgálati csoportban, hiszen perifériás vérben mérhető biomarkerként korábban még nem vizsgálták a hialuronsavat asztmával szövődött várandósságban, és asztmában is nagyon kevés információ állt rendelkezésre. Eredményeink alapján a hialuronsav perifériás vér szintje asztmás terhesekben alacsonyabb, mint nem terhes asztmásokban. Nem terhes asztmásokban a hialuronsav magasabb szintje összefügg rosszabb légzésfunkcióval és betegségkontrollal, és képes elkülöníteni a kontrollált betegeket a nem kontrolláltaktól. Szakirodalmi adatok szerint a perifériás vér normális hialuronsav koncentrációja 10-100 µg/l között mérhető (Laurent 1987), és az életkorral

korrelál; középkorú emberekben az átlagos koncentráció 30–40 µg/l (Lindqvist és Laurent 1992). Eredményeink ezzel összhangban voltak, ugyanis a gyulladásgátlóval kezelt, nagyrészt kontrollált asztmás betegekben (nem terheseket és terheseket együttvéve) a medián szint 34,8 µg/l volt, és az életkorral – az irodalmi adatokhoz hasonlóan – asztmás betegekben is összefüggést mutatott. Emiatt vizsgálatunk egyik gyengéje, hogy a két csoport átlagéletkora eltérő volt. Mindenesetre a két csoport közötti különbség, azaz a várandósokban alacsonyabb hialuronsav koncentráció az életkorra történt korrekció után trend szintjén megmaradt.

A hialuronsav morfogenezisben betöltött jól ismert szerepe ellenére a terhességben mért hialuronsav szérumszintek korábbi adatai nem teljesen egybehangzóak. Humán várandósság harmadik trimeszterében emelkedett szérumszintet figyeltek meg, különösen a terminus közelében, ami a vajúadás és szülés folyamata során tovább emelkedett, valószínűleg a méhnyak érése következtében (Kobayashi és mtsai 1999). Praeclampsziában viszont egészséges kismamákhöz képest is magasabb hialuronsav szintet írtak le, ami talán részben a károsodott májfunkció, részben az extracelluláris mátrix fokozottabb destrukciójának következménye lehetett (Uzun és mtsai 2010, Berg és mtsai 2001). Ezért vizsgálatunk gyengéje, hogy egészséges terhes kontrollcsoportot ebben a vizsgálatban nem vontunk be. Asztmában szisztémás és lokális gyulladás is áll fenn, ugyanakkor az egészséges terhességre az immunválaszok csillapodását eredményező immuntolerancia jellemző (Tamási és mtsai 2011), aminek elmaradása lehet felelős kontrollálatlan asztma esetén a magzati szövődményekért (Tamási és mtsai 2005). Az immuntolerancia helyreállítása segíthet a terhesség szövődménymentes lefolyásában. Így vizsgálatunkban elméletileg az alacsonyabb hialuronsav szint – a kezelt, többnyire jól kontrollált asztma ellenére – ebben a szövődménymentes várandós asztmás populációban legalább részben a terhességi immuntolerancia következménye lehetett. Az alacsonyabb hialuronsav szint másik feltételezett oka a terhességi hemodilúció lehet (Blackburn és Loper 1992).

Szöveti sérülés, gyulladás, regenerálódás vagy fibrózis során a hialuronsav szintje megemelkedhet mind a szöveti folyadékokban, mind a szérumban (Jiang és mtsai 2007). Asztmában főleg *in vitro* vizsgálatok és állatkísérletek eredményei állnak rendelkezésre, melyek összegzése alapján a következő hipotézist írták le a hialuronsav szerepével kapcsolatban (Cheng és mtsai 2011). A kezdeti antigén expozícióra a légúti



epitélsejtek reagálhatnak elsőként, különféle citokinek és kemokinek felszabadításával. A tüdő strukturális sejtjei ezekre a szignálokra válaszul hialuronsav termelésbe kezdenek a hialuronsav-szintáz enzim felszabályozásával, már 2 óra elteltével; emellett a hialuronidáz enzim működését leszabályozzák, hogy a hialuronsav degradációt csökkentsék. Az eozinofil sejtek nagyon korán a tüdőbe vándorolnak. Hialuronsav mátrix rakódik le, ami rezervoárként is szolgál, így a kemokinek ebben a gélszerű anyagban elkezdenek feldúsulni; kemotaktikus grádiens jön létre, amit a gyulladós sejtek követnek. Így érthető, hogy az eozinofileket a hialuronsavval együttes lokalizációban mutatták ki. Majd az eozinofilek és a hialuronsav kölcsönhatása a TGF- $\beta$  és granulocita-makrofág kolónia stimuláló faktor (GM-CSF) fokozott termelését és/vagy felszabadulását váltja ki ezekből a sejtekből, és megkezdődik a kollagén depozíció és légúti átépülés folyamata (Ohkawara és mtsai 2000). A hialuronsav mátrix a kollagén lerakódáshoz alapot nyújt, ami magyarázza a hialuronsav és kollagén kolokalizációját. Miután a kollagén lerakódott, a hialuronsav már eltakarítható a tüdőből, amire hetekkel később kerül sor (Cheng és mtsai 2011).

Az asztmában betöltött, mindinkább megismert szerepei ellenére a hialuronsavat lehetséges asztma biomarkerként korábban alig vizsgálták. Két kutatás ismert, amelyekben légúti mintákban, azaz BAL folyadékban (Bousquet és mtsai 1991) és köpetben (Ayars és mtsai 2013) mérték szintjét, ami emelkedettnek bizonyult és a súlyossággal is összefüggött. A perifériás hialuronsav koncentrációt csak egy vizsgálatban elemezték asztmásokban. Egy japán kutatásban a légszennyezettség és a passzív dohányzás hatását vizsgálták gyermekek perifériás hialuronsav szintjére, és ebben a vizsgálatban nem találtak különbséget az asztmás, a ziháló és az ilyen tüneteket nem mutató gyermekek keringő hialuronsav szintje között, amit a szerzők a beteg gyerekek stabil állapotával magyaráztak (Fuji és mtsai 2002). Azonban ezen kívül a keringő hialuronsav értékekről asztmában nem találtunk fellelhető adatokat. Bár az egészséges kontrollcsoportok hiánya korlátozhatja vizsgálatunk értékét, ugyanakkor az egészséges, nem terhes népesség normális keringő hialuronsav szintje ismert (Laurent 1987, Lindqvist és Laurent 1992), és a vizsgálatunkban mért szintek hasonlóak voltak az azonos életkorú egészséges személyekben várhatóhoz. Így tehát eredményeink összhangban állnak a korábbi vizsgálatokkal, melyben asztmások szérumban hialuronsav szintje az egészségesekéhez hasonló volt.

Annak ellenére viszont, hogy a medián hialuronsav érték a normál tartományban volt, az egyes betegek értékei korreláltak a légúti áramlási ellenállással, és fordítottan korreláltak a betegség kontrolláltságát megítélő Asztma Kontroll Teszt összpontszámmal. A hialuronsav számos módon részt vesz az asztmás gyulladás és a légúti átépülés kialakulásában. Utóbbira a légúti simaizomzat hiperpláziája, a nyáktermelés megnövekedése és subepitheliális fibrózis jellemző, amik együttesen a légutak falának megvastagodásához és a légúti kaliber beszűküléséhez vezetnek (Boulet és mtsai 1995). A légúti áramlási ellenállás mérése fontos diagnosztikus eszköz mind az asztma kórismézésében, mind a betegek követésében, ugyanis ez a paraméter amellet, hogy a légúti hiperreaktivitás jelzője, a légúti átépülés folyamatát is tükrözheti. Mindezek alapján a most leírt keringő hialuronsav és  $R_{aw}$  értékek közti kapcsolat felveti a lehetőségét, hogy a szérum hialuronsav mérése asztmában segíthet talán a légúti átépülés megítélésében is.

A hialuronsav lehetséges értékét az asztma kontroll megítélésében ROC analízissel vizsgáltuk, az Asztma Kontroll Teszt összpontszám alapján elkülönítve a kontrollált és nem kontrollált betegeket. Eredményeink szerint a 37,4 ng/ml-es hialuronsav vágópont alkalmas megfelelő szenzitivitással és specificitással a kontrollált és nem kontrollált nem terhes asztmás betegek elkülönítésére, így ez a molekula is segíthet a nem megfelelően kontrollált betegség felismerésében. Azonban várandós betegekben – talán a lecsökkent hialuronsav szint miatt – ez a molekula nem mutatkozott a nem megfelelő asztmakontroll markerének.

## VII. KÖVETKEZTETÉSEK

Az elvégzett vizsgálat sorozat eredményei alapján a célkitűzésben feltett kérdésekre a következő válaszok igazolására került sor:

A) Sem a VEGF [1], sem a suPAR [2] perifériás szintje nem tér el kezelt asztmás, nem terhes betegekben az egészséges, nem terhes személyek értékeihez képest.

B) Nem terhes asztmásokban a VEGF [1] perifériás szintje nem mutat összefüggést az asztma klinikai mutatóival.

A suPAR [2] perifériás szintje azonban szignifikánsan korrelál a légúti áramlási ellenállással.

A hialuronsav [3] perifériás szintje szintén korrelál a légúti áramlási ellenállással és fordítottan korrelál az ACT összpontszámmal. Tehát mind a suPAR [2], mind a hialuronsav [3] összefüggenek az asztma klinikai mutatóival.

C) A suPAR [2] hatékonyan detektálja a nem kontrollált asztmát. Igazolható olyan vágópontja, amely el tudja különíteni a kontrollált betegeket a nem kontrolláltaktól mind az irányelvek alapján javasolt PEF, mind pedig az ACT összpontszám alapján.

A perifériás hialuronsav [3] szint esetében szintén van olyan vágópont, amely el tudja különíteni a kontrollált betegeket a nem kontrolláltaktól az ACT összpontszám alapján. Tehát mind a keringő suPAR [2] szint, mind a hialuronsav [3] szint mérése alkalmas a nem kontrollált asztma elkülönítésére nem terhes betegekben.

D) A VEGF [1] és a suPAR [2] perifériás szintje nem tér el kezelt asztmás terhességben az egészséges terhességben mérhető értékhez képest.

E) Mind a VEGF [1], mind a suPAR [2], mind a hialuronsav [3] perifériás szintje alacsonyabb asztmás terhességben az asztmás, nem terhes betegek értékeihez képest, tehát a terhesség okozta immunszuppresszió és hemodilúció feltehetően érezteti hatását a keringő gyulladási markerek szintjében is.

F) Asztmás terhességben a VEGF [1] fordítottan korrelál a FE<sub>NO</sub>-val.

A suPAR [2] és a hialuronsav [3] perifériás szintje nem mutat szignifikáns összefüggést az asztma egyes klinikai mutatóival asztmás terhességben.

- G) A vizsgált keringő biomarkerek a nem megfelelő asztma kontroll kiszűrésére – a terhesség következtében csökkenő perifériás szintjük miatt – terhesség alatt kevésbé vagy nem alkalmasak.

Az előzetesen feltett kérdéseinkre kapott fenti válaszokon túl a következő új eredményeket mutattuk ki:

- H) Az sFlt1 [1], az IL-6 [2] vagy a CRP [2] perifériás szintje nem tér el asztmás terhességben az egészséges terhességben mérhető értékhez képest. Az IL-6 [2] vagy a CRP [2] perifériás szintje nem tér el asztmás terhességben asztmás, nem terhes betegekhez képest.
- I) Az sFlt1 [1] perifériás szintje viszont jelentősen magasabb asztmás terhességben asztmás, nem terhes betegekhez képest.
- J) Az IL-6 [2] perifériás szintje asztmás, nem terhes betegekben az asztma klinikai mutatói közül korrelál a légúti áramlási ellenállással.

Összefoglalva, a suPAR és a hialuronsav molekulák perifériás szintjének mérése alkalmas lehet nem terhes asztmásokban a nem megfelelő asztmakontroll kiszűrésére, és összefüggést mutatnak az asztma klinikai mutatóival.

## VIII. ÖSSZEFOGLALÁS

A nem jól kontrollált anyai asztma számos szülészeti szövődmény rizikóját emeli. Azonban az asztma súlyossága terhesség során előre nem megjósolható módon változik. Mivel még nincs validált módszer terhesség alatt az asztma kontrollvesztésének előrejelzésére, hasznos lenne egyszerűen hozzáférhető, asztmával szövődött terhességben használható markereket találni.

A kutatásaink célja az asztma terhesség alatti súlyosbodásával összefüggést mutató olyan nem-invazív módon meghatározható marker kimutatása volt, amely a fokozott rizikóval rendelkező asztmás terhes nők korai kiemelését segítheti elő. A VEGF, suPAR és hialuronsav molekulák koncentrációit mértük asztmás terhes és nem terhes, valamint egészséges terhes és nem terhes személyek perifériás vérében. Elemeztük az asztma klinikai mutatóival való esetleges kapcsolataikat, és megvizsgáltuk, segíthetnének-e előre jelezni a kontrollvesztést asztmás terhesség során.

Eredményeink alapján a részlegesen vagy jól kontrollált, stabil asztma nem befolyásolja a keringő szabad VEGF szintet sem nem terhes, sem pedig terhes állapotban, azonban szintje összefügg a FE<sub>NO</sub>-val asztmás terhességben. A VEGF szabad receptora, az sFlt1 ellenkezőleg, markánsan emelkedik terhesség során, a konkomittáló asztmától függetlenül. A perifériás suPAR szint korrelál a légúti áramlási ellenállással, és jó szenzitivitással felismeri a nem megfelelő asztma kontrollt nem terhes asztmásokban. A terhességben tapasztalt csökkenése miatt azonban asztmás terhességben a klinikai mutatókkal való összefüggése gyengébb. A hialuronsav szint nem terhes asztmásokban korrelál a légúti áramlási ellenállással és fordítottan korrelál az ACT összpontszámmal, és mérése magas szenzitivitás mellett alkalmas a nem kontrollált asztma elkülönítésére nem terhes asztmás betegekben. Asztmás várandósokban alacsonyabb szérumszint mellett nem mutat összefüggést az asztma vagy terhesség jellemzőivel.

Kutatásaink eredményei alapján mind a suPAR, mind pedig a hialuronsav keringő koncentrációjának mérése magas szenzitivitás mellett alkalmas a nem kontrollált asztma elkülönítésére nem terhes asztmás betegekben. A szenzitivitást a konkomittáló terhesség okozta immunszuppresszió és hemodilúció által eredményezett alacsonyabb szérumszintek mérséklék.

## IX. SUMMARY

Asthma often complicates pregnancy and represents risks for both maternal and fetal complications if the disease is not well-controlled. The severity of the disease may change unpredictably during pregnancy. There is no validated method yet for the prediction of loss of control during pregnancy, hence it would be useful to find simply accessible markers that can be used in asthmatic pregnancy.

The aim of our research was to find non-invasively measurable markers that may correlate with the worsening of asthma symptoms during pregnancy and could help to detect asthmatic pregnant women with greater risk of uncontrolled disease. We measured peripheral blood concentrations of VEGF, suPAR and hyaluronic acid in asthmatic pregnant and non-pregnant, such as in healthy pregnant and non-pregnant subjects. We evaluated their possible correlations with the clinical parameters of asthma, and investigated whether they could help to predict the risk of complications during asthmatic pregnancy.

According to our research, the partially or well-controlled, stable asthma does not influence the circulating free VEGF levels either in non-pregnant or in pregnant state; however its levels correlate with FE<sub>NO</sub> in asthmatic pregnancy. Contrarily, the VEGF-receptor sFlt1 elevates markedly during pregnancy independently of concomitant asthma. Peripheral suPAR levels correlate with airway resistance and can detect non-well controlled disease in non-pregnant asthmatic patients with good sensitivity; however its correlation with clinical parameters in asthmatic pregnancy is weaker. Hyaluronic acid levels correlate with airway resistance and inversely correlate with ACT total scores in non-pregnant asthmatic patients, and its measurement is suitable to discriminate between well controlled and non-well controlled non-pregnant asthmatic patients with good sensitivity. In asthmatic pregnancy its peripheral levels are lower and do not show any correlation with the parameters of the asthma or the pregnancy.

In conclusion, measurement of the circulating concentrations of both the suPAR and hyaluronic acid is suitable to detect non-well controlled asthma with good sensitivity in non-pregnant asthmatic patients. Due to pregnancy-induced immune tolerance and hemodilution, during pregnancy their sensitivity in the detection of control loss may be decreased.

## X. IRODALOMJEGYZÉK

- Ali Z, Ulrik CS. (2013) Incidence and risk factors for exacerbations of asthma during pregnancy. *J Asthma Allergy*, 6: 53-60.
- Allam MH, Said AF, El Samie Omran AA, Abd El-Reheim DM, Kasem AH. (2009) High sensitivity C-reactive protein: its correlation with sputum cell counts in bronchial asthma. *Respir Med*, 103(12): 1878-1884.
- Arron JR, Choy DF, Scheerens H, Matthews JG. (2013) Noninvasive biomarkers that predict treatment benefit from biologic therapies in asthma. *Ann Am Thorac Soc*, 10 Suppl: S206-213.
- Asai K, Kanazawa H, Kamoi H, Shiraishi S, Hirata K, Yoshikawa J. (2003) Increased levels of vascular endothelial growth factor in induced sputum in asthmatic patients. *Clin Exp Allergy*, 33(5): 595-599.
- Ayars AG, Altman LC, Potter-Perigo S, Radford K, Wight TN, Nair P. (2013) Sputum hyaluronan and versican in severe eosinophilic asthma. *Int Arch Allergy Immunol*, 161(1): 65-73.
- Bakhireva LN, Schatz M, Jones KL, Chambers CD; Organization of Teratology Information Specialists Collaborative Research Group. (2008) Asthma control during pregnancy and the risk of preterm delivery or impaired fetal growth. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 101(2): 137-143.
- Bakhireva LN, Schatz M, Jones KL, Tucker CM, Slymen DJ, Klonoff-Cohen HS, Gresham L, Johnson D, Chambers CD; OTIS Collaborative Research Group. (2008) Fetal sex and maternal asthma control in pregnancy. *J Asthma*, 45(5): 403-407.
- Balabanov R, Lisak D, Beaumont T, Lisak RP, Dore-Duffy P. (2001) Expression of urokinase plasminogen activator receptor on monocytes from patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: effect of glatiramer acetate (copolymer 1). *Clin Diagn Lab Immunol*, 8(6): 1196-1203.
- Berg S, Engman A, Holmgren S, Lundahl T, Laurent TC. (2001) Increased serum hyaluronan in severe preeclampsia and eclampsia. *Scand J Clin Lab Invest*, 61: 131-138.
- Blackburn ST, Loper DL. *Maternal, fetal, and neonatal physiology: A clinical perspective*. Saunders, Philadelphia, 1992: 160-162, 171, 202-203, 222-228.

- Blais L, Kettani FZ, Elftouh N, Forget A. (2010) Effect of maternal asthma on the risk of specific congenital malformations: A population-based cohort study. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 88(4): 216-222.
- Blais L, Kettani FZ, Forget A, Beauchesne MF, Lemièrre C. (2015) Asthma exacerbations during the first trimester of pregnancy and congenital malformations: revisiting the association in a large representative cohort. *Thorax*, 70(7): 647-652.
- Bohács A, Cseh A, Stenczer B, Müller V, Gálffy G, Molvarec A, Rigó J Jr, Losonczy G, Vásárhelyi B, Tamási L. (2010) Effector and regulatory lymphocytes in asthmatic pregnant women. *Am J Reprod Immunol*, 64(6): 393-401.
- Boulet L, Belanger M, Carrier G. (1995) Airway responsiveness and bronchial-wall thickness in asthma with or without fixed airflow obstruction. *Am J Respir Crit Care Med*, 152: 865-871.
- Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Enander I, Venge P, Peterson C, Ahlstedt S, Michel FB, Godard P. (1991) Indirect evidence of bronchial inflammation assessed by titration of inflammatory mediators in BAL fluid of patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 88: 649-660.
- Breton MC, Beauchesne MF, Lemièrre C, Rey E, Forget A, Blais L. (2009) Risk of perinatal mortality associated with asthma during pregnancy. *Thorax*, 64: 101–106.
- Can Ü, Güzelant A, Yerlikaya FH, Yosunkaya Ş. (2014) The role of serum soluble urokinase-type plasminogen activator receptor in stable chronic obstructive pulmonary disease. *J Investig Med*, 62(7): 938-943.
- Canöz M, Erdenen F, Uzun H, Müderrisoglu C, Aydin S. (2008) The relationship of inflammatory cytokines with asthma and obesity. *Clin Invest Med*, 31(6): E373-379.
- Charlton RA, Hutchison A, Davis KJ, de Vries CS. (2013) Asthma management in pregnancy. *PLoS One*, 8(4): e60247.
- Cheng G, Swaidani S, Sharma M, Lauer ME, Hascall VC, Aronica MA. (2011) Hyaluronan deposition and correlation with inflammation in a murine ovalbumin model of asthma. *Matrix Biol*, 30(2): 126-134.
- Cordo-Russo R, Garcia MG, Barrientos G, Orsal AS, Viola M, Moschansky P, Ringel F, Passi A, Alaniz L, Hajos S, Blois SM. (2009) Murine abortion is associated with enhanced hyaluronan expression and abnormal localization at the fetomaternal interface. *Placenta*, 30(1): 88-95.



- Corne J, Chupp G, Lee CG, Homer RJ, Zhu Z, Chen Q, Ma B, Du Y, Roux F, McArdle J, Waxman AB, Elias JA. (2000) IL-13 stimulates vascular endothelial cell growth factor and protects against hyperoxic acute lung injury. *J Clin Invest*, 106(6): 783-791.
- Demissie K, Breckenridge MB, Rhoads GG. (1998) Infant and maternal outcomes in the pregnancies of asthmatic women. *Am J Respir Crit Care Med*, 158: 1091–1095.
- Donadello K, Scolletta S, Covajes C, Vincent JL. (2012) suPAR as a prognostic biomarker in sepsis. *BMC Med*, 10: 2.
- Eapen DJ, Manocha P, Ghasemzedah N, Patel RS, Al Kassem H, Hammadah M, Veledar E, Le NA, Pielak T, Thorball CW, Velegraki A, Kremastinos DT, Lerakis S, Sperling L, Quyyumi AA. (2014) Soluble urokinase plasminogen activator receptor level is an independent predictor of the presence and severity of coronary artery disease and of future adverse events. *J Am Heart Assoc*, 3(5): e001118.
- Espinoza J, Uckele JE, Starr RA, Seubert DE, Espinoza AF, Berry SM. (2010) Angiogenic imbalances: the obstetric perspective. *Am J Obstet Gynecol*, 203(1): 17.e1-8.
- Eugen-Olsen J, Gustafson P, Sidenius N, Fischer TK, Parner J, Aaby P, Gomes VF, Lisse I. (2002) The serum level of soluble urokinase receptor is elevated in tuberculosis patients and predicts mortality during treatment: a community study from Guinea-Bissau. *Int J Tuberc Lung Dis*, 6(8): 686-692.
- Feltis BN, Wignarajah D, Zheng L, Ward C, Reid D, Harding R, Walters EH. (2006) Increased vascular endothelial growth factor and receptors: relationship to angiogenesis in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 173(11): 1201-1207.
- Firoozi F, Lemièrre C, Ducharme FM, Beauchesne MF, Perreault S, Bérard A, Ferreira E, Forget A, Blais L. (2010) Effect of maternal moderate to severe asthma on perinatal outcomes. *Respir Med*, 104(9): 1278-1287.
- Fuji Y, Shima M, Ando M, Adachi M, Tsunetoshi Y. (2002) Effect of air pollution and environmental tobacco smoke on serum hyaluronate concentrations in school children. *Occup Environ Med*, 59(2): 124-128.
- Fujita M, Ueki S, Ito W, Chiba T, Takeda M, Saito N, Kayaba H, Chihara J. (2007) C-reactive protein levels in the serum of asthmatic patients. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 99(1): 48-53.

- Fukushima A, Kawahara H, Isurugi C, Syoji T, Oyama R, Sugiyama T, Horiuchi S. (2005) Changes in serum levels of heat shock protein 70 in preterm delivery and pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol Res*, 31(1): 72-77.
- Ghaffari J, Rafiei AR, Ajami A, Mahdavi M, Hoshiar B. (2011) Serum interleukins 6 and 8 in mild and severe asthmatic patients, is it difference? *Caspian J Intern Med*, 2(2): 226-228.
- Girodet PO, Ozier A, Trian T, Begueret H, Ousova O, Vernejoux JM, Chanez P, Marthan R, Berger P, Tunon de Lara JM. (2010) Mast cell adhesion to bronchial smooth muscle in asthma specifically depends on CD51 and CD44 variant 6. *Allergy*, 65(8): 1004-1012.
- Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma (GINA) 2015. Elérhető: <http://www.ginasthma.org/>.
- Gluck JC, Gluck PA. (2006) The effect of pregnancy on the course of asthma. *Immunol Allergy Clin North Am*, 26(1): 63-80.
- Grindheim G, Toska K, Estensen ME, Rosseland LA. (2012) Changes in pulmonary function during pregnancy: a longitudinal cohort study. *BJOG*, 119(1): 94-101.
- Grootveld MC, Henderson EB, Farrell A, Blake R, Parkes HG, Haycock P. (1991) Oxidative damage to hyaluronate and glucose in synovial fluid during exercise of the inflamed joint: detection of abnormal low molecular weight metabolites by proton nuclear magnetic spectroscopy. *Biochem J*, 273 (pt 2): 459-467.
- Gumus A, Altintas N, Cinarka H, Kirbas A, Hazıroglu M, Karatas M, Sahin U. (2015) Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor is a novel biomarker predicting acute exacerbation in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 10: 357-365.
- Haedersdal S, Salvig JD, Aabye M, Thorball CW, Ruhwald M, Ladelund S, Eugen-Olsen J, Secher NJ. (2013) Inflammatory markers in the second trimester prior to clinical onset of preeclampsia, intrauterine growth restriction, and spontaneous preterm birth. *Inflammation*, 36(4): 907-913.
- Haupt TH, Kallelose T, Ladelund S, Rasmussen LJ, Thorball CW, Andersen O, Pisinger C, Eugen-Olsen J. (2014) Risk factors associated with serum levels of the inflammatory biomarker soluble urokinase plasminogen activator receptor in a general population. *Biomark Insights*, 9: 91-100.

- Hendler I, Schatz M, Momirova V, Wise R, Landon M, Mabie W, Newman RB, Kiley J, Hauth JC, Moawad A, Caritis SN, Spong CY, Leveno KJ, Miodovnik M, Meis P, Wapner RJ, Paul RH, Varner MW, O'sullivan MJ, Thurnau GR, Conway DL; National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. (2006) Association of obesity with pulmonary and nonpulmonary complications of pregnancy in asthmatic women. *Obstet Gynecol*, 108(1): 77-82.
- Higashimoto Y, Yamagata Y, Taya S, Iwata T, Okada M, Ishiguchi T, Sato H, Itoh H. (2008) Systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease and asthma: Similarities and differences. *Respirology*, 13(1): 128-133.
- Hodyl NA, Stark MJ, Scheil W, Grzeskowiak LE, Clifton VL. (2014) Perinatal outcomes following maternal asthma and cigarette smoking during pregnancy. *Eur Respir J*, 43(3): 704-716.
- Hoshino M, Takahashi M, Aoike N. (2001) Expression of vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor, and angiogenin immunoreactivity in asthmatic airways and its relationship to angiogenesis. *J Allergy Clin Immunol*, 107(2): 295-301.
- Hou C, Zhao H, Li W, Liang Z, Zhang D, Liu L, Tong W, Cai SX, Zou F. (2011) Increased heat shock protein 70 levels in induced sputum and plasma correlate with severity of asthma patients. *Cell Stress Chaperones*, 16(6): 663-671.
- Jardim LL, Rios DR, Perucci LO, de Sousa LP, Gomes KB, Dusse LM. (2015) Is the imbalance between pro-angiogenic and anti-angiogenic factors associated with preeclampsia? *Clin Chim Acta*, 447: 34-38.
- Jelkmann W. (2001) Pitfalls in the measurement of circulating vascular endothelial growth factor. *Clin Chem*, 47(4): 617-623.
- Jiang D, Liang J, Noble PW. (2007) Hyaluronan in tissue injury and repair. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 23: 435-461.
- Jiang D, Liang J, Noble PW. (2011) Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. *Physiol Rev*, 91(1): 221-264.
- Jones SL, Kittelson J, Cowan JO, Flannery EM, Hancox RJ, McLachlan CR, Taylor DR. (2001) The predictive value of exhaled nitric oxide measurements in assessing changes in asthma control. *Am J Respir Crit Care Med*, 164(5): 738-743.

- Jousilahti P, Salomaa V, Hakala K, Rasi V, Vahtera E, Palosuo T. (2002) The association of sensitive systemic inflammation markers with bronchial asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 89(4): 381-385.
- Källén B, Rydhstroem H, Aberg A. (2000) Asthma during pregnancy--a population based study. *Eur J Epidemiol*, 16(2): 167-171.
- Katoh S, Ishii N, Nobumoto A, Takeshita K, Dai SY, Shinonaga R, Niki T, Nishi N, Tominaga A, Yamauchi A, Hirashima M. (2007) Galectin-9 inhibits CD44-hyaluronan interaction and suppresses a murine model of allergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 176(1): 27-35.
- Kilic H, Karalezli A, Hasanoglu HC, Erel O, Ates C. (2012) The relationship between hs-CRP and asthma control test in asthmatic patients. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 40(6): 362-367.
- Kobayashi H, Sun GW, Tanaka Y, Kondo T, Terao T. (1999) Serum hyaluronic acid levels during pregnancy and labor. *Obstet Gynecol*, 93(4): 480-484.
- Kony S, Zureik M, Driss F, Neukirch C, Leynaert B, Neukirch F. (2004) Association of bronchial hyperresponsiveness and lung function with C-reactive protein (CRP): a population based study. *Thorax*, 59(10): 892-896.
- Korányi Bulletin 2015. Elérhető: [www.koranyi.hu](http://www.koranyi.hu)
- Laurent TC. (1987) Biochemis try of Hyaluronan. *Acta Otolaryngol Suppl*, 442: 7-24.
- Lee CG, Link H, Baluk P, Homer RJ, Chapoval S, Bhandari V, Kang MJ, Cohn L, Kim YK, McDonald DM, Elias JA. (2004) Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces remodeling and enhances TH2-mediated sensitization and inflammation in the lung. *Nat Med*, 10(10): 1095-1103.
- Lee KY, Lee KS, Park SJ, Kim SR, Min KH, Choe YH, Lee YC. (2008) Clinical significance of plasma and serum vascular endothelial growth factor in asthma. *J Asthma*, 45(9): 735-739.
- Lennon FE, Singleton PA. (2011) Role of hyaluronan and hyaluronan-binding proteins in lung pathobiology. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 301(2): L137-147.
- Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, Karumanchi SA. (2004) Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*, 350(7): 672-683.

- Liang J, Jiang D, Jung Y, Xie T, Ingram J, Church T, Degan S, Leonard M, Kraft M, Noble PW. (2011) Role of hyaluronan and hyaluronan-binding proteins in human asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 128(2): 403-411.e3.
- Lindqvist U, Laurent TC. (1992) Serum hyaluronan and aminoterminal propeptide of type III procollagen. Variation with age. *Scand J Clin Lab Invest*, 52: 613-621.
- Liu S, Wen SW, Demissie K, Marcoux S, Kramer MS. (2001) Maternal asthma and pregnancy outcomes: a retrospective cohort study. *Am J Obstet Gynecol*, 184(2): 90-96.
- Malerba M, Ragnoli B, Radaeli A, Tantucci C. (2008) Usefulness of exhaled nitric oxide and sputum eosinophils in the long-term control of eosinophilic asthma. *Chest*, 134(4): 733-739.
- Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA, Morgan JP, Sellke FW, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP, Karumanchi SA. (2003) Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*, 111(5): 649-658.
- Mekonnen G, Corban MT, Hung OY, Eshtehardi P, Eapen DJ, Al-Kassem H, Rasoul-Arzrumly E, Gogas BD, McDaniel MC, Pielak T, Thorball CW, Sperling L, Quyyumi AA, Samady H. (2015) Plasma soluble urokinase-type plasminogen activator receptor level is independently associated with coronary microvascular function in patients with non-obstructive coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 239(1): 55-60.
- Meyer N, Akdis CA. (2013) Vascular endothelial growth factor as a key inducer of angiogenesis in the asthmatic airways. *Curr Allergy Asthma Rep*, 13(1): 1-9.
- Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Crapo R, Enright P, van der Grinten CP, Gustafsson P, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Navajas D, Pedersen OF, Pellegrino R, Viegi G, Wanger J; ATS/ERS Task Force. (2005) Standardisation of spirometry. *Eur Respir J*, 26: 319-338.
- Molvarec A, Rigó J Jr, Nagy B, Walentin S, Szalay J, Füst G, Karádi I, Prohászka Z. (2007) Serum heat shock protein 70 levels are decreased in normal human pregnancy. *J Reprod Immunol*, 74(1-2): 163-169.
- Molvarec A, Ito M, Shima T, Yoneda S, Toldi G, Stenczer B, Vásárhelyi B, Rigó J Jr, Saito S. (2010) Decreased proportion of peripheral blood vascular endothelial growth

- factor-expressing T and natural killer cells in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 203(6): 567.e1-8.
- Muñoz X, Bustamante V, Lopez-Campos JL, Cruz MJ, Barreiro E. (2015) Usefulness of noninvasive methods for the study of bronchial inflammation in the control of patients with asthma. *Int Arch Allergy Immunol*, 166(1): 1-12.
- Murphy VE, Gibson PG, Giles WB, Zakar T, Smith R, Bisits AM, Kessell CG, Clifton VL. (2003) Maternal asthma is associated with reduced female fetal growth. *Am J Respir Crit Care Med*, 168(11): 1317-1323.
- Murphy VE, Clifton VL, Gibson PG. (2006) Asthma exacerbations during pregnancy: incidence and association with adverse pregnancy outcomes. *Thorax*, 61(2): 169-176.
- Murphy VE, Clifton VL, Gibson PG. (2010) The effect of cigarette smoking on asthma control during exacerbations in pregnant women. *Thorax*, 65(8): 739-744.
- Murphy VE, Namazy JA, Powell H, Schatz M, Chambers C, Attia J, Gibson PG. (2011) A meta-analysis of adverse perinatal outcomes in women with asthma. *BJOG*, 118(11): 1314-1323.
- Murphy VE, Powell H, Wark PA, Gibson PG. (2013) A prospective study of respiratory viral infection in pregnant women with and without asthma. *Chest*, 144(2): 420-427.
- Namazy JA, Murphy VE, Powell H, Gibson PG, Chambers C, Schatz M. (2013) Effects of asthma severity, exacerbations and oral corticosteroids on perinatal outcomes. *Eur Respir J*, 41(5): 1082-1090.
- Neveu WA, Allard JL, Raymond DM, Bourassa LM, Burns SM, Bunn JY, Irvin CG, Kaminsky DA, Rincon M. (2010) Elevation of IL-6 in the allergic asthmatic airway is independent of inflammation but associates with loss of central airway function. *Respir Res*, 11: 28.
- Newman RB, Momirova V, Dombrowski MP, Schatz M, Wise R, Landon M, Rouse DJ, Lindheimer M, Caritis SN, Sheffield J, Miodovnik M, Wapner RJ, Varner MW, O'Sullivan MJ, Conway DL. Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units (MFMU) Network. (2010) The effect of active and passive household cigarette smoke exposure on pregnant women with asthma. *Chest*, 137(3): 601-608.
- Nittner-Marszalska M, Liebhart J, Pawłowicz R, Kazimierczak A, Marszalska H, Kraus-Filarska M, Panaszek B, DorWojnarowska A. (2013) Fractioned exhaled nitric oxide

- (FENO) is not a sufficiently reliable test for monitoring asthma in pregnancy. *Nitric Oxide*, 33: 56-63.
- Odden N, Henriksen T, Mørkrid L. (2012) Serum soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in early pregnancy prior to clinical onset of preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 91(10): 1226-1232.
- Ohkawara Y, Tamura G, Iwasaki T, Tanaka A, Kikuchi T, Shirato K. (2000) Activation and transforming growth factor-beta production in eosinophils by hyaluronan. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 23: 444-451.
- Olafsdottir IS, Gislason T, Thjodleifsson B, Olafsson I, Gislason D, Jögi R, Janson C. (2005) C reactive protein levels are increased in non-allergic but not allergic asthma: a multicentre epidemiological study. *Thorax*, 60(6): 451-454.
- Ostergaard C, Benfield T, Lundgren JD, Eugen-Olsen J. (2004) Soluble urokinase receptor is elevated in cerebrospinal fluid from patients with purulent meningitis and is associated with fatal outcome. *Scand J Infect Dis*, 36(1): 14-19.
- Ostrowski SR, Ullum H, Goka BQ, Høyer-Hansen G, Obeng-Adjei G, Pedersen BK, Akanmori BD, Kurtzhals JA. (2005) Plasma concentrations of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor are increased in patients with malaria and are associated with a poor clinical or a fatal outcome. *J Infect Dis*, 191(8): 1331-1341.
- Ostrowski SR, Shulman CE, Peshu N, Staalsøe T, Høyer-Hansen G, Pedersen BK, Marsh K, Ullum H. (2007) Elevated plasma urokinase receptor predicts low birth weight in maternal malaria. *Parasite Immunol*, 29(1): 37-46.
- Pałgan K, Bartuzi Z. (2015) Angiogenesis in bronchial asthma. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 28(3): 415-420.
- Palm M, Basu S, Larsson A, Wernroth L, Åkerud H, Axelsson O. (2011) A longitudinal study of plasma levels of soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1), placental growth factor (PlGF), sFlt1: PlGF ratio and vascular endothelial growth factor (VEGF-A) in normal pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 90(11): 1244-1251.
- Papakonstantinou E, Klagas I, Karakioulakis G, Hostettler K, S'ng CT, Kotoula V, Savic S, Tamm M, Roth M. (2012) Steroids and  $\beta$ 2-agonists regulate hyaluronan metabolism in asthmatic airway smooth muscle cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 47(6): 759-767.
- Park CW, Park JS, Shim SS, Jun JK, Yoon BH, Romero R. (2005) An elevated maternal plasma, but not amniotic fluid, soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) at the time of

- mid-trimester genetic amniocentesis is a risk factor for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 193(3 Pt 2): 984-989.
- Park-Wyllie L, Mazzotta P, Pastuszak A, Moretti ME, Beique L, Hunnisett L, Friesen MH, Jacobson S, Kasapinovic S, Chang D, Diav-Citrin O, Chitayat D, Nulman I, Einarson TR, Koren G. (2000) Birth defects after maternal exposure to corticosteroids: prospective cohort study and metaanalysis of epidemiological studies. *Teratology*, 62: 385-392.
- Peng Z, Mao J, Chen X, Cai F, Gu W, Fu H, Shen H, Wang J, Jin X, Zhu X, Liu A, Shu Q, Du L. (2015) Serum suPAR levels help differentiate steroid resistance from steroid-sensitive nephrotic syndrome in children. *Pediatr Nephrol*, 30(2): 301-307.
- Poulin S, Thompson C, Thivierge M, Véronneau S, McMahan S, Dubois CM, Stankova J, Rola-Pleszczynski M. (2011) Cysteinyl-leukotrienes induce vascular endothelial growth factor production in human monocytes and bronchial smooth muscle cells. *Clin Exp Allergy*, 41(2): 204-217.
- Powell H, Murphy VE, Taylor DR, Hensley MJ, McCaffery K, Giles W, Clifton VL, Gibson PG. (2011) Management of asthma in pregnancy guided by measurement of fraction of exhaled nitric oxide: a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*, 378(9795): 983-990.
- Réger B, Péterfalvi A, Litter I, Pótó L, Mózes R, Tóth O, Kovács GL, Losonczy H. (2013) Challenges in the evaluation of D-dimer and fibrinogen levels in pregnant women. *Thromb Res*, 131(4): e183-187.
- Riisbro R, Christensen IJ, Høgdall C, Brønner N, Høgdall E. (2001) Soluble urokinase plasminogen activator receptor measurements: influence of sample handling. *Int J Biol Markers*, 16(4): 233-239.
- Rincon M, Irvin CG. (2012) Role of IL-6 in asthma and other inflammatory pulmonary diseases. *Int J Biol Sci*, 8(9): 1281-1290.
- Romão M, Weel IC, Lifshitz SJ, Peraçoli MT. (2014) Elevated hyaluronan and extracellular matrix metalloproteinase inducer levels in women with preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet*, 289(3): 575-579.
- Schatz M. (1999) Asthma and pregnancy. *Lancet*, 353(9160): 1202-1204.
- Schatz M, Dombrowski MP, Wise R, Momirova V, Landon M, Mabie W, Newman RB, Rouse DJ, Lindheimer M, Miodovnik M, Caritis SN, Leveno KJ, Meis P, Wapner RJ,



- Paul RH, O'Sullivan MJ, Varner MW, Thurnau GR, Conway DL; National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network; National Heart, Lung, and Blood Institute. (2006) Spirometry is related to perinatal outcomes in pregnant women with asthma. *Am J Obstet Gynecol*, 194(1):120-126.
- Schatz M. (2009) Is maternal asthma a life or death issue for the baby? *Thorax*, 64(2): 93-95.
- Schatz M, Dombrowski MP, Wise R, Lai Y, Landon M, Newman RB, Rouse DJ, Miodovnik M, O'Sullivan MJ, Caritis SN, Leveno KJ, Wapner RJ, Conway DL; Eunice Kennedy Shriver National Institute Of Child Health And Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network And The National Heart Lung And Blood Institute. (2010) The relationship of asthma-specific quality of life during pregnancy to subsequent asthma and perinatal morbidity. *J Asthma*, 47(1): 46-50.
- Sier CF, Stephens R, Bizik J, Mariani A, Bassan M, Pedersen N, Frigerio L, Ferrari A, Danø K, Brønner N, Blasi F. (1998) The level of urokinase-type plasminogen activator receptor is increased in serum of ovarian cancer patients. *Cancer Res*, 58(9): 1843-1849.
- Sier CF, Sidenius N, Mariani A, Aletti G, Agape V, Ferrari A, Casetta G, Stephens RW, Brønner N, Blasi F. (1999) Presence of urokinase-type plasminogen activator receptor in urine of cancer patients and its possible clinical relevance. *Lab Invest*, 79(6): 717-722.
- Sigari N, Ghasri H. (2013) Correlation between hs-CRP and Asthma Control Indices. *Tanaffos*, 12(3): 44-48.
- Silvestri M, Bontempelli M, Giacomelli M, Malerba M, Rossi GA, Di Stefano A, Rossi A, Ricciardolo FL. (2006) High serum levels of tumour necrosis factor-alpha and interleukin-8 in severe asthma: markers of systemic inflammation? *Clin Exp Allergy*, 36(11): 1373-1381.
- Sjöwall C, Martinsson K, Cardell K, Ekstedt M, Kechagias S. (2015) Soluble urokinase plasminogen activator receptor levels are associated with severity of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Transl Res*, 165(6): 658-666.
- Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, Herbison GP, Taylor DR. (2005) Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N Engl J Med*, 352(21): 2163-2173.

- Sørensen MH, Gerke O, Eugen-Olsen J, Munkholm H, Lambrechtsen J, Sand NP, Mickley H, Rasmussen LM, Olsen MH, Diederichsen A. (2014) Soluble urokinase plasminogen activator receptor is in contrast to high-sensitive C-reactive-protein associated with coronary artery calcifications in healthy middle-aged subjects. *Atherosclerosis*, 237(1): 60-66.
- Stephens RW, Pedersen AN, Nielsen HJ, Hamers MJ, Høyer-Hansen G, Rønne E, Dybkjaer E, Danø K, Brüner N. (1997) ELISA determination of soluble urokinase receptor in blood from healthy donors and cancer patients. *Clin Chem*, 43(10): 1868-1876.
- Stern R, Asari AA, Sugahara KN. (2006) Hyaluronan fragments: an information-rich system. *Eur J Cell Biol*, 85(8): 699-715.
- Takahashi H, Takizawa T, Matsubara S, Ohkuchi A, Kuwata T, Usui R, Matsumoto H, Sato Y, Fujiwara H, Okamoto A, Suzuki M, Takizawa T. (2014) Extravillous trophoblast cell invasion is promoted by the CD44-hyaluronic acid interaction. *Placenta*, 35(3): 163-170.
- Takemura M, Matsumoto H, Niimi A, Ueda T, Matsuoka H, Yamaguchi M, Jinnai M, Muro S, Hirai T, Ito Y, Nakamura T, Mio T, Chin K, Mishima M. (2006) High sensitivity C-reactive protein in asthma. *Eur Respir J*, 27(5): 908–912.
- Tamási L, Bohács A, Pállinger E, Falus A, Rigó J Jr, Müller V, Komlósi Z, Magyar P, Losonczy G. (2005) Increased interferon-gamma- and interleukin-4-synthesizing subsets of circulating T lymphocytes in pregnant asthmatics. *Clin Exp Allergy*, 35: 1197-1203.
- Tamási L, Bohács A, Bikov A, Andorka C, Rigó J Jr, Losonczy G, Horváth I. (2009) Exhaled nitric oxide in pregnant healthy and asthmatic women. *J Asthma*, 46(8): 786-791.
- Tamási L, Bohács A, Tamási V, Stenczer B, Prohászka Z, Rigó J Jr, Losonczy G, Molvarec A. (2010) Increased circulating heat shock protein 70 levels in pregnant asthmatics. *Cell Stress Chaperones*, 15(3): 295-300.
- Tamási L, Horváth I, Bohács A, Müller V, Losonczy G, Schatz M. (2011) Asthma in pregnancy - Immunological changes and clinical management. *Respir Med*, 105(2): 159–164.

- Tamási L, Balikó Z, Bálint B, Bártfai Z, Bauknecht É, Böszörményi Nagy G, Gálffy G, Herjavec I, Horváth I, Losonczy G, Márk Z, Müller V, Somfay A, Szilasi M. (2012) Az asztma diagnosztikájának, kezelésének és gondozásának alapelvei felnőttkorban. *Medicina Thoracalis*, 5: 307-328.
- Tegethoff M, Olsen J, Schaffner E, Meinschmidt G. (2013) Asthma During Pregnancy and Clinical Outcomes in Offspring: A National Cohort Study. *Pediatrics*, 132(3): 483-491.
- Thunø M, Macho B, Eugen-Olsen J. (2009) suPAR: the molecular crystal ball. *Dis Markers*, 27(3): 157-172.
- Toldi G, Bíró E, Szalay B, Stenczer B, Molvarec A, Rigó J, Vásárhelyi B, Bekő G. (2011) Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) levels in healthy pregnancy and preeclampsia. *Clin Chem Lab Med*, 49(11): 1873-1876.
- Toldi G, Bekő G, Kádár G, Mácsai E, Kovács L, Vásárhelyi B, Balog A. (2013) Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in the assessment of inflammatory activity of rheumatoid arthritis patients in remission. *Clin Chem Lab Med*, 51(2): 327-332.
- Uzun H, Konukoglu D, Albayrak M, Benian A, Madazli R, Aydin S, Gelisgen R, Uludag S. (2010) Increased maternal serum and cord blood fibronectin concentrations in preeclampsia are associated with higher placental hyaluronic acid and hydroxyproline content. *Hypertens Pregnancy*, 29(2): 153-162.
- Valdimarsson H, Mulholland C, Fridriksdottir V, Coleman DV. (1983) A longitudinal study of leucocyte blood counts and lymphocyte responses in pregnancy: a marked early increase of monocyte-lymphocyte ratio. *Clin Exp Immunol*, 53(2): 437-443.
- Van de Graaf EA, Out TA, Roos CM, Jansen HM. (1991) Respiratory membrane permeability and bronchial hyperreactivity in patients with stable asthma. Effects of therapy with inhaled steroids. *Am Rev Respir Dis*, 143(2): 362-368.
- van den Broe NR, Letsky EA. (2001) Pregnancy and the erythrocyte sedimentation rate. *BJOG*, 108(11): 1164-1167.
- Virchow JC Jr, Kroegel C, Walker C, Matthys H. (1996) Inflammatory determinants of asthma severity: mediator and cellular changes in bronchoalveolar lavage fluid of patients with severe asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 98(5 Pt 2): S27-33; discussion S33-40.

- Watts DH, Krohn MA, Wener MH, Eschenbach DA. (1991) C-reactive protein in normal pregnancy. *Obstet Gynecol*, 77(2): 176-180.
- Westergren-Thorsson G, Chakir J, Lafrenière-Allard MJ, Boulet LP, Tremblay GM. (2002) Correlation between airway responsiveness and proteoglycan production by bronchial fibroblasts from normal and asthmatic subjects. *Int J Biochem Cell Biol*, 34(10): 1256-1267.
- Willart MA, Lambrecht BN. (2009) The danger within: endogenous danger signals, atopy and asthma. *Clin Exp Allergy*, 39(1): 12-19.
- Wrotek A, Jackowska T. (2015) The role of the soluble urokinase plasminogen activator (suPAR) in children with pneumonia. *Respir Physiol Neurobiol*, 209: 120-123.
- Yamazaki Y, Morita T. (2006) Molecular and functional diversity of vascular endothelial growth factors. *Mol Divers*, 10(4): 515-527.
- Yokoyama A, Kohno N, Fujino S, Hamada H, Inoue Y, Fujioka S, Ishida S, Hiwada K. (1995) Circulating interleukin-6 levels in patients with bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 151(5): 1354–1358.
- Yu L, Wu X, Wang H, Long D, Yang J, Zhang Y. (2014) Diagnostic and prognostic significance of suPAR in traumatic brain injury. *Neurol India*, 62(5): 498-502.
- Zhu R, Wang SC, Sun C, Tao Y, Piao HL, Wang XQ, Du MR, Da-Jin Li. (2013) Hyaluronan-CD44 interaction promotes growth of decidual stromal cells in human first-trimester pregnancy. *PLoS One*, 8(9): e74812.

## XI. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

### XI. 1. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

Összesített impakt faktor: 8,947, első szerzőként: 3,534

#### Nemzetközi közlemények:

1. **Ivancsó I\***, Toldi G\*, Bohács A, Eszes N, Müller V, Rigó J Jr, Vásárhelyi B, Losonczy G, Tamási L. Relationship of circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) levels to disease control in asthma and asthmatic pregnancy. PLoS One. 2013; 8(4): e60697. IF: 3,534
2. Eszes N, Toldi G, Bohács A, **Ivancsó I**, Müller V, Rigó J Jr, Losonczy G, Vásárhelyi B, Tamási L. Relationship of circulating hyaluronic acid levels to disease control in asthma and asthmatic pregnancy. PLoS One. 2014; 9(4): e94678. IF: 3,534
3. Bikov A, Bohacs A, Eszes N, Weiszhar Z, **Ivancso I**, Muller V, Rigo J Jr, Losonczy G, Tamasi L, Horvath I. Circulating and exhaled vascular endothelial growth factor in asthmatic pregnancy. Biomarkers. 2012; 17(7): 648-654. IF: 1,879
4. **Ivancsó I**, Bohács A, Eszes N, Losonczy G, Tamási L. Asthma in pregnancy. EMJ Respir. 2013; 1: 92-100.

#### Magyar közlemények:

1. **Ivancsó I**, Eszes N, Toldi G, Bohács A, Müller V, Rigó J Jr, Losonczy G, Vásárhelyi B, Tamási L. A perifériás hialuronsav és a betegségkontroll kapcsolata asztmában és asztmás terhességben. Medicina Thoracalis. 2015; 1: 40-45.

## **XI. 2. Az értekezéshez nem kapcsolódó közlemények**

Összesített impakt faktor 0,882

### Nemzetközi közlemények:

1. **Ivancsó I**, Böcskei R, Müller V, Tamási L. Extrafine inhaled corticosteroid therapy in the control of asthma. *J Asthma Allergy*. 2013; 6: 69-80.
2. Eszes N, Bohács A, Cseh A, Toldi G, Bikov A, **Ivancsó I**, Müller V, Horváth I, Rigó J Jr, Vásárhelyi B, Losonczy G, Tamási L. Relation of circulating T cell profiles to airway inflammation and asthma control in asthmatic pregnancy. *Acta Physiol Hung*. 2012; 99(3): 302-310. IF: 0,882

### Magyar közlemények:

1. **Ivancsó I**, Böcskei R, Müller V, Tamási L. Extrafinom részecskeméretű inhalációs corticosteroid-terápia az asztma kezelésében. *Medicina Thoracalis*. 2013; 4: 235-238.
2. **Ivancsó I**, Vincze K, Juhász M, Tamási L. Sarcoidosis atípusos mycobacteriosissal. *Medicina Thoracalis*. 2011; 6: 397-401.
3. Tamási L, **Ivancsó I**. Foster NEXThaler®, az extrafinom részecskét kibocsátó új szárazpor-inhalátor. *Medicina Thoracalis*. 2014; 6: 431-438.
4. Tamási L, Böcskei R, **Ivancsó I**. Epidermális növekedési faktor receptor gátló gyógyszerek a nem kissejtes tüdőrák kezelésében. *Onkológia*. 2013; 5: 201-205.

## XII. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Öt évvel ezelőtt, 2010-ben ötödéves medikusként csatlakoztam a Pulmonológiai Klinikán az országban egyedülálló módon működő „Asztmás terhes munkacsoport” kutató tevékenységébe. A tudományos diákkörös munkát 2012-től PhD-hallgatóként folytathattam. Köszönöm Losonczy György professzor úrnak a kutatómunka feltételeinek biztosítását, és személyes támogatását.

Témavezetőm, Tamási Lilla mindvégig mindenben segítségemre volt, bármikor fordulhattam hozzá tanácsért, segítségért, így különösen hálás vagyok neki az önzetlen és időt-energiát nem kímélő, mindig segítőkész hozzáállásáért. Nagyon jó érzékkel vezeti a kutatócsoport munkáját, és így az én tevékenységemet is nagy hozzáértéssel irányította, és „menedzselte” előrejutásomat – a kutatás világába való bevezetéstől kezdve a tudományos közlés megtanításán át a konferenciákra való eljutásig... Mindemellett megfelelően nagy szabadságot is engedett a saját ötletek megvalósításához.

Toldi Gergely barátom „második mentorként” szintén mindig mindenben önzetlenül segített, hálásan köszönöm neki a rámfordított idejét és türelmét. Külön köszönöm az áramlási citometriás metodika megtanítását.

Eszes Noémi PhD-hallgató társamnak köszönöm a sok gyakorlati segítséget, amit a doktori képzés éveit során a nehézségek leküzdésében nyújtott, emellett a lelki támogatást is a közös úton.

Az „Asztmás terhes munkacsoport” többi tagjának is köszönöm a segítségét, támogatását. Bohács Anikó nélkül a minta- és adatgyűjtés nem valósulhatott volna meg. Bikov Andrástól sokat tanulhattam, a tudományos igényességtől kezdve a jó prezentációig...

Vásárhelyi Barna professzor úrnak köszönöm az ötleteit, javaslatait, támogatását. Továbbá a Laboratóriumi Medicina Intézet munkatársai közül köszönöm Bíró Edina és Szalay Balázs munkáját.

Rigó János professzor úrnak köszönöm az I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán való mintagyűjtés lehetőségét.

Köszönöm a Pulmonológiai Klinika szakdolgozóinak segítségét a minta- és adatgyűjtésben.

Végezetül köszönöm a kismamáknak, asztmás betegeknek és egészséges önkénteseknek a vizsgálatainkban való részvételt.