

**Légúti és szisztémás gyulladás jeleinek vizsgálata asztmával
szövődött terhességben**

Doktori értekezés

Dr. Eszes Noémi

Semmelweis Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető:

Dr. Tamási Lilla, Ph.D., habilitált egyetemi docens

Hivatalos bírálók:

Dr. Vizi Éva, Ph.D., osztályvezető főorvos

Dr. Krasznai Magdolna, Ph.D., egyetemi adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Igaz Péter, D.Sc., habilitált egyetemi docens

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Mészáros Ágnes, Ph.D., habilitált egyetemi docens

Dr. Bogos Krisztina, Ph.D., osztályvezető főorvos

Budapest

2016

TARTALOMJEGYZÉK

| | |
|--|----|
| 1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE | 4 |
| 2. BEVEZETÉS ÉS IRODALMI HÁTTÉR | 7 |
| 2.1. AZ ASTHMA BRONCHIALE KLINIKUMA | 7 |
| 2.1.1. Diagnózis és asztma kontroll | 8 |
| 2.1.2. A légúti gyulladás monitorizálása | 10 |
| 2.1.2.1. A FE _{NO} mérése | 11 |
| 2.1.2.2. Kilégzett levegő kondenzátum | 13 |
| 2.1.2.2.1. Kilélegzett levegő kondenzátum pH | 14 |
| 2.2. ASTHMA BRONCHIALE TERHESSÉGBEN | 16 |
| 2.2.1. Asztma hatása a terhességre | 16 |
| 2.2.2. Terhesség hatása az asztmára | 17 |
| 2.2.3. Hormonális változások szerepe asztmában és asztmás terhességben | 19 |
| 2.2.4. Asztmás várandósok gondozása | 21 |
| 2.2.4.1. Légzésfunkciós változások terhességben | 21 |
| 2.2.4.2. Végázparaméterek terhességben | 22 |
| 2.2.4.3. Neminvazív vizsgálómódszerek asztmás terhességben | 22 |
| 2.2.4.4. Asthma bronchiale kezelése terhesség során | 23 |
| 2.3. AZ ASTHMA BRONCHIALE IMMUNOLÓGIÁJA | 26 |
| 2.3.1. A Th1/Th2 paradigma | 26 |
| 2.3.2. A Th17 sejtek | 28 |
| 2.3.3. Regulatórikus T sejtek | 30 |
| 2.3.4. A T helper sejtprofil | 31 |
| 2.3.5. Egyéb sejtek asztmában | 32 |
| 2.4. A FIZIOLÓGIÁS TERHESSÉG IMMUNOLÓGIÁJA | 33 |
| 2.4.1. A Th1, Th2 és a regulatórikus T sejtek szerepe | 33 |
| 2.4.2. Egyéb sejtek szerepe fiziológiás terhességben | 35 |

| | |
|---|----|
| 2.5. AZ ASZTMÁS TERHESSÉG IMMUNOLÓGIÁJA..... | 36 |
| 3. CÉLKITŰZÉSEK..... | 38 |
| 4. MÓDSZEREK..... | 39 |
| 4.1. Légzésfunkciós mérés..... | 39 |
| 4.2. EBC pH mérés | 40 |
| 4.3. A kilégzett levegő nitrogén-monoxid frakciójának (FENO) mérése..... | 41 |
| 4.4. Asztma kontroll teszt | 42 |
| 4.5. Vérgáz vizsgálat..... | 44 |
| 4.6. A perifériás Th1/Th2/Th17/Treg limfocita szubpopulációk és természetes ölüsejtek meghatározása asztmás gravidáknál áramlási citometriával..... | 44 |
| 4.7. A terhességre és újszülöttre vonatkozó adatok begyűjtése..... | 46 |
| 4.8. Statisztikai analízis..... | 46 |
| 5. EREDMÉNYEK..... | 48 |
| 5.1. A kilégzett levegő kondenzátum pH változásai egészséges és asztmás terhes nőkben | 48 |
| 5.1.1. Klinikai adatok | 48 |
| 5.1.2. Kilégzett levegő kondenzátum pH összehasonlítása a csoportok között | 50 |
| 5.1.3. Összefüggés az EBC pH és a klinikai paraméterek között | 50 |
| 5.2. A perifériás Th1/Th2/Th17/Treg sejtarány asztmás terhességben | 52 |
| 5.2.1. Klinikai adatok | 52 |
| 5.2.2. A vizsgált sejttípusok előfordulási gyakorisága..... | 54 |
| 5.2.2.1. Th1 és Th2 sejtek prevalenciája..... | 56 |
| 5.2.2.2. Th17 és Treg sejt prevalencia..... | 57 |
| 5.2.2.3. Tc1, Tc2 , Tc17 és NK sejtek prevalenciája | 58 |
| 5.3. A perifériás T sejt profil összefüggése a légúti gyulladással és az asztma kontrollal asztmával szövődött terhességben..... | 60 |
| 5.3.1. Klinikai adatok | 60 |
| 5.3.2. T sejt altípusok és NK sejtek prevalenciája és a klinikai paraméterek kapcsolata asztmás terhességben | 61 |

| | |
|---|-----|
| 6. MEGBESZÉLÉS | 65 |
| 7. KÖVETKEZTETÉSEK | 72 |
| 7.1. A kilégzett levegő kondenzátum pH változásai egészséges és asztmás terhes nőkben | 72 |
| 7.2. A perifériás Th1/Th2/Th17/Treg sejtarány asztmás terhességben | 72 |
| 7.3. A perifériás T sejt profil összefüggése a légúti gyulladással és az asztma kontrollal asztmával szövődött terhességben..... | 73 |
| 8. ÖSSZEFOGLALÁS | 74 |
| 9. SUMMARY | 76 |
| 10. IRODALOMJEGYZÉK | 78 |
| 11. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE | 99 |
| 12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS | 103 |

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

| | |
|------------------|---|
| ACT | Asthma Control Test |
| APC | allo-fikocianin |
| ANT | asztmás nem terhes |
| AT | asztmás terhes |
| ATS | American Thoracic Society, Amerikai Tüdőgyógyász Társaság |
| BFA | brefeldin A |
| BMI | body mass index, testtömeg index |
| CD | cluster of differentiation, differenciálódási marker |
| CO ₂ | szén-dioxid |
| DC | dendritic cell, dendritikus sejt |
| EBC | exhaled breath condensate, kilégzett levegő kondenzátum |
| ERS | European Respiratory Society (Európai Tüdőgyógyász Társaság) |
| ENT | egészséges nem terhes |
| ET | egészséges terhes |
| FACS | fluorescence activated cell sorter |
| FDA | Food and Drug Administration (Amerikai Élelmezési és Gyógyszerügyi Hatóság) |
| FE _{NO} | fractional exhaled nitric oxide, frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid |
| FEV ₁ | forced expiratory volume in one second, kilégzési másodperctérfogat |
| FRC | funkcionális reziduális kapacitás |
| FVC | forced vital capacity, erőltetett vitálkapacitás |
| FITC | fluoreszcein izo-tiocianát |
| FoxP3 | forkhead box P3 |
| GINA | Global Initiative for Asthma |
| GR | glucocorticoid receptor |
| HCO ₃ | bikarbonát |
| ICS | inhaled corticosteroid, inhalációs kortikoszteroid |

| | |
|------------------------------|---|
| IFN- γ | interferon-gamma |
| Ig | immunglobulin |
| IL | interleukin |
| LABA | long acting β_2 -agonist, hosszú hatású β_2 -agonista |
| LTRA | leukotrién receptor antagonist |
| NH ₃ | ammónia |
| NH ₄ ⁺ | ammóniumion |
| NK | natural killer sejt, természetes ölósejt |
| NO | nitrogén-monoxid |
| NOS | nitrogén-monoxid szintáz |
| PBMC | peripheral blood mononuclear cell, perifériás mononukleáris sejt |
| PBS | phosphate-buffered saline, foszfát puffer oldat |
| PE | fikoeritrin |
| Pe-Cy7 | fikoeritrin-cianin7 |
| PMA | forbol-mirisztát-acetát |
| pCO ₂ | parciális szén-dioxid tenzió |
| PEF | peak expiratory flow, kilégzési csúcsáramlás |
| PerCP | peridinin-klorofil-protein complex |
| PlGF | placental growth factor |
| pO ₂ | parciális oxigéntenzió |
| ppb | részecske per billió |
| R _{aw} | airway resistance, légúti áramlási ellenállás |
| ROR γ | RAR-related orphan receptor gamma |
| RSV | respiratory syntitial vírus |
| RV | reziduális tüdővolumen |
| SD | standard deviáció |
| SO ₂ | oxigén szaturáció |
| TCR | T cell receptor |

| | |
|---------------|------------------------------------|
| TGF- β | transforming growth factor beta |
| Th | T helper sejt |
| TNF- α | tumor nekrosis faktor alfa |
| Treg | regulátorikus T sejt |
| uNK | uterinalis natural killer sejt |
| VEGF | vascular endothelial growth factor |

2. BEVEZETÉS ÉS IRODALMI HÁTTÉR

Az asztma a légutak krónikus gyulladással járó megbetegedése, mely több mint 300 millió embert érintve, súlyos egészségügyi problémát jelent világszerte. Az asztma prevalenciája számos országban nő, hazánkban is egyre magasabb a regisztrált megbetegedések száma. Míg 2000-ben Magyarországon 128809 beteget tartottak nyilván, 2014-re ennek több mint kétszerese, 290201 volt a regisztrált asztmások száma [1]. Ez 2,94 %-os prevalenciának felel meg, míg az európai átlag 5-7% (a különbség oka a betegség aluldiagnosztizáltsága hazánkban).

Az asztma előfordulási gyakorisága a várandósok körében is hasonló, így ez a terhesség során fennálló egyik leggyakoribb krónikus megbetegedés. Becsült adatok alapján Európában a terhes asszonyok legalább 4%-a [2], míg az Egyesült Államokban 3,7-8,4 %-a [3] szenved asztmában.

Az asztma és terhesség kölcsönösen hatnak egymásra. Az asztma - számos anyai és magzati szövődmény rizikófaktoraként - befolyásolhatja a terhesség kimenetelét, és a terhesség is hatással van az asztma lefolyására: az asztmás tünetek az esetek egyharmadában javulhatnak, az esetek harmadában változatlanok, de ugyanilyen arányban romolhatnak is [4, 5]. A terhesség alatt a tünetekben bekövetkező változások iránya az egyes várandósok esetében napjainkban még megjósolhatatlan. A változások variabilitására a két állapot közötti kölcsönhatás hátterében álló sokrétű, jelenleg is élénk kutatás tárgyát képező mechanizmusok részletesebb megismerése adhat magyarázatot.

Asztmás terhességgel foglalkozó munkacsoportunk már több mint egy évtizede keresi a választ arra, hogy milyen immunológiai tényezők állnak az asztma terhesség alatt ismert bekövetkező állapotváltozásainak hátterében és kutat esetleges prediktív faktorok után.

2.1. AZ ASTHMA BRONCHIALE KLINIKUMA

Az asztma heterogén betegség, melyet változatos tünetek (mint a sípolás, nehézlégzés, mellkasi szorítás, köhögés) valamint változó kilégzési áramlási korlátozottság jellemez. Az áramláskorlátozottság és a tünetek időben és intenzitásukban is változhatnak, általában reverzibilisek, spontán vagy gyógyszer hatására megszűnhetnek. Triggerként

kiváltásukban számos faktor szerepet játszhat, így a fizikai munka, allergének, irritatív anyagok, vírusinfekciók vagy akár az időjárásváltozás [6].

Az asztma változatos klinikai megjelenési formái, fenotípusai többféleképpen osztályozhatók, így az indukált köpetben detektálható gyulladós sejtek típusa, valamint az asztma súlyossága szerint is történhet besorolás, míg az etiológiát, ezen belül is az atópia asztma kialakulásban játszott szerepét figyelembe véve, két fő csoportot különíthetünk el:

1. Az allergiás asztma a legkönnyebben diagnosztizálható és leggyakrabban előforduló fenotípus, mely esetében a beteg vagy családja anamnézisében valamilyen allergiás megbetegedés (ekzema, allergiás rhinitis, étel-, vagy gyógyszerallergia) igazolható. Az ilyen betegek indukált köpetében gyakran mutatható ki eozinofília, mely az eozinofilsejtes légúti gyulladásra utal. Ez a betegcsoport általában jól reagál inhalációs szteroidkezelésre.
2. A nem-allergiás asztma általában nem köthető allergiás megbetegedéshez. Az indukált köpetvizsgálat során sokszor neutrophilia, eozinofília vagy csak néhány gyulladós sejt észlelhető. Ezek a betegek kevésbé jól reagálnak az inhalációs szteroidokra [6].

2.1.1. Diagnózis és asztma kontroll

A diagnózis a tünetek és a légzésfunkciós vizsgálattal kimutatott reverzibilis légúti obstrukció alapján állítható fel. A reverzibilitás kimutatása farmakospirometriával történik, melynek lényege, hogy bronchodilatator (gyors hatású béta-2-agonista; salbutamol) adása után az erőltetett kilégzési másodperctérfogat (forced expiratory volume in one second, FEV1) értéke legalább 12%-kal és 200 ml-rel javul. Tünetmentesség esetén a kilégzési csúcsáramlás (peak expiratory flow, PEF) mérésével igazolható, naponta 20%-ot meghaladó légúti kaliber ingadozás vagy a légúti hyperreaktivitás provokációs tesztekkel történő bizonyítása erősítheti az asztma diagnózisát.

Az asztma adekvát kezeléséhez hatékony gyógyszerek állnak rendelkezésünkre. A nemzetközi guideline és a hazai irányelv alapján a terápia célja, alapja ma az asztma kontroll fenntartása, mely magában foglalja a tünetek kontrolláltságát és a jelentős

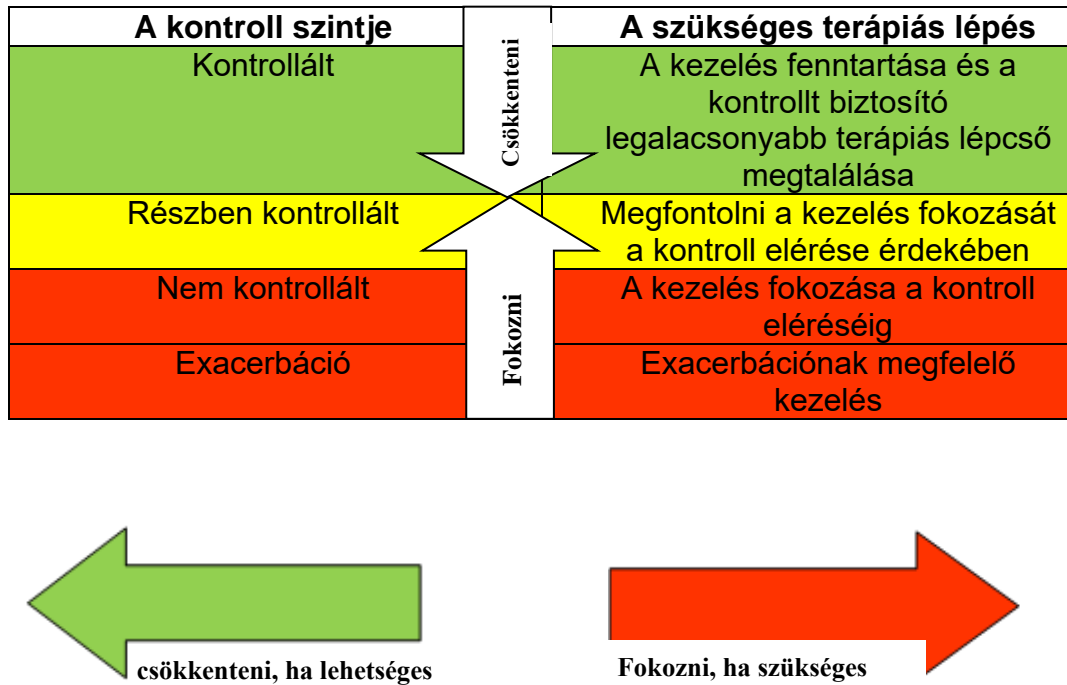
egészségügyi költségekkel járó akut állapotromlások, az exacerbációk megelőzését. Ebből adódóan a kontrolláltság felmérésekor alapvetően két szempontot kell figyelembe venni: a tüneti kontrollt és a jövőbeni esetleges nemkívánatos események (exacerbációk, fix légúti áramlási korlátozottság, gyógyszer mellékhatások) kockázatát (1.táblázat) [6].

1. táblázat A tünetkontroll és az asztma jövőbeni kockázatát meghatározó tényezők a 2015-ös Global Initiative for Asthma (GINA) ajánlás és a hazánkban érvényben lévő irányelv alapján

| A. Az asztma klinikai kontrolljának meghatározása (lehetőség szerint 4 hetes periódusra vonatkoztatva) | | | |
|---|--|--|---|
| JELLEMZŐK | KONTROLLÁLT (mindegyik igaz) | RÉSZLEGESEN KONTROLLÁLT (bármelyik jellemző jelenléte bármely héten) | NEM KONTROLLÁLT |
| Nappali tünetek | nincs (≤ 2 alkalom/hét) | gyakrabban, mint heti 2x | Bármely héten a részlegesen kontrollált asztma legalább három jellemzője fennáll*** |
| Fizikai aktivitás korlátozottsága | nincs | van | |
| Éjszakai tünetek, ébredések | nincs | van | |
| Rohamoldó gyógyszer iránti szükséglet | nincs (≤ 2 alkalom/hét) | gyakrabban, mint heti 2x | |
| Légzésfunkció (PEF vagy FEV ₁)* | normális | < a kívánt érték vagy személyes maximum 80%-a | |
| Az asztma exacerbációja kimeríti a nem kontrollált asztma fogalmát, és a fenntartó kezelés megfelelő voltának újraértékelését indokolja.** | | | |
| B. Az asztma jövőbeli romlásának kockázatát növelő tényezők felmérése: | | | |
| <ul style="list-style-type: none"> - az exacerbáció rizikója; - labilis asztma; - gyógyszer-mellékhatások; - gyors légzésfunkció-vesztés. | | | |

A tüneti kontroll megítélésére a nemzetközileg elfogadott 5 kérdésből álló asztma kontroll tesztet (ACT) is használják számos egyéb validált kérdőív mellett. A megfelelő

kezelés megkezdése illetve a már beállított terápia módosítása a kontrolláltságnak megfelelően történik (1. ábra) [7].



1. ábra Az asztma kezelésének alapja az asztma kontroll foka szerint

A nem megfelelő asztma kontrollra tehát az asztmás tünetek klinikai megnyilvánulása utal, melynek alapja az asztma patogenezisében központi szerepet játszó légúti gyulladás nem megfelelő kontrollja.

2.1.2. A légúti gyulladás monitorizálása

A napi gyakorlatban az asztma diagnózisának felállítása, a kontroll követése, a betegség súlyosságának meghatározása nagyrészt a fent említett légzésfunkciós vizsgálat, fizikális vizsgálat és anamnézis felvétel alapján történik. Az asztma kialakulásában kulcsszerepet játszó, a tünetektől függetlenül is folyamatosan fennálló légúti gyulladás mértékének és minőségének megítélése - melyre az előbb említett vizsgálati módszerek nem alkalmasak - nem a tüdőgyógyászati vizsgálat része, ugyanis nem áll még rendelkezésre biztonságos és a rutin klinikai gyakorlatban nagy betegszámon is jól használható eljárás az asztmás légúti gyulladás meghatározására és monitorozására. Megfelelő markerek ismeretében

lehetővé válna a betegség aktivitásának celluláris szintű ismerete, a terápia hatékonyságának optimalizálása, éppen ezért az elmúlt több mint három évtizedben számos vizsgálat kereste a légúti gyulladás kimutatására alkalmas vagy azokkal korreláló lehetséges biomarkereket. A légúti gyulladás eddig ismert invazív vizsgálati módszerei (pl. bronchoalveolaris lavage) mellett a neminvazív metodikák (kilélegzett levegő kondenzátum, kilélegzett szén-monoxid, kilélegzett nitrogén-monoxid, indukált köpet, perifériás vér biomarkerek) szerepe egyre nő. Jelentőségüket az adja, hogy a jövőben esetleg elvégzett validálási vizsgálatok sikeressége esetén alkalmasak lehetnek a mindennapi klinikai gyakorlatban való használatra, lehetővé téve ezáltal az asztmás gyulladás egy-egy szegmensének monitorozását.

2.1.2.1. A FE_{NO} mérése

A vizsgált molekulák közül a frakcionált kilélegzett nitrogén-monoxid (fractional exhaled nitric oxide, FE_{NO}) koncentrációjának mérése a legismertebb, validált biomarker, mely az eozinofilsejtes légúti gyulladás mutatójaként szolgál. A humán centrális-, és perifériás légutakban termelődő és a kilélegzett levegőben is megjelenő nitrogén-monoxid (NO) vazodilatátorként, bronchodilatátorként, neurotranszmitterként és gyulladásos markerként is jelentős szerepet tölt be [8]. A nitrogén-monoxidot a centrális és perifériás légutakban a nitrogén--monoxid szintáz (NOS) enzim három izoenzimje termeli.

Asztmás betegeknél emelkedett FE_{NO} szintet, ezzel párhuzamosan pedig az indukálható nitrogén-monoxid szintáz (iNOS/NOS₂) fokozott expresszióját mutatták ki a légúti epithelsejtekben, mely felvetette a nitrogén-monoxid szerepének jelentőségét az asztma patomechanizmusában [9-11]. Az emelkedett FE_{NO} szint a gyulladáscsökkentő szteroidkezelést követően csökkent [12]. Korábbi kutatások eredményei alapján a frakcionált kilélegzett nitrogén-monoxid szint korrelált az indukált köpet és a transzbronchiális biopszia eozinofil sejtszámával [13]. Mindemellett a FE_{NO}-val jellemezhető asztmás légúti gyulladás a T sejtek által meghatározott immunfenotípussal is összefügg. Shirai és munkatársai a keringő CD4⁺ T sejtek aránya és a kilélegzett NO valamint az indukált köpet eozinofil sejtszám között szignifikáns pozitív összefüggést mutattak ki [14]. Az eddigi vizsgálatok alapján a légutakban termelődő nitrogén-monoxid funkciója az asztmás gyulladás folyamatában kétoldalú. Egyrészt proinflammatorikus

markerént hozzájárul a légúti hyperreaktivitás kialakulásához [15, 16], másrészt viszont protektív szerepét is leírták: atópiás asztmás egyéneknél az antigén expozíciót követő korai asztmás válasz során termelődő reaktív oxigéngyökökkel a nitrogén-monoxid reakcióba lép, amely a kiindulási reakcióban résztvevő szuperoxid-anionhoz képest jóval kevésbé reaktív és toxikus oxidációs termékek (peroxynitrit) képződéséhez, végül pedig az ártalmatlan nitrát (NO_3^-) molekula felhalmozódásához vezet [16].

A FE_{NO} standardizált mérési módszerét az American Thoracic Society (Amerikai Tüdőgyógyász Társaság, ATS) és a European Respiratory Society (Európai Tüdőgyógyász Társaság, ERS) közös ajánlása foglalja magába [17]. A kemolumineszcens és az emellett újabban alkalmazott elektrokémiai módszeren alapuló mérés egyszerű, neminvaszív, biztonságos és a légúti gyulladással kapcsolatos információkat adva kiegészítő vizsgálati eszközként szolgálhat a légúti megbetegedésekben, így az asztmában szenvedők állapotának felmérésében. A mért eredmények értékelésére, klinikumban történő használatára azóta szintén hivatalos irányelv áll a tüdőgyógyászok rendelkezésére [18], mely alapján a hagyományos vizsgálati módszereket a FE_{NO} méréssel kiegészítve a következőkről szerezhetünk bővebb információt:

1. Az eozinofilsejtes gyulladás jelenléte
2. A légúti gyulladás monitorizálásával a megfelelő kontrollhoz szükséges szteroidigény meghatározása
3. A szteroid kezelésre adott válaszkészség előrejelzése
4. Nem megfelelő adherencia a szteroidkezeléssel kapcsolatban

A FE_{NO} mérés előnyeihez tartozik, hogy neminvaszív módszer lévén segítségünkre lehet olyan betegcsoportokban, ahol a hagyományos mérési módszerek nehezen kivitelezhetők, pl. súlyos légúti obstrukció fennállásakor. Differenciáldiagnosztikai szerepe szintén jelentős lehet asztmaszerű tüneteket okozó vagy az asztmát súlyosbító társbetegségek esetén (gastrooesophagealis reflux, obesitas) [19]. Mindezek ellenére a mérés mindennapi gyakorlatba való bekerülését korlátozza a vizsgálati eszköz beszerzési és fenntartási költsége.

2.1.2.2. Kilégzett levegő kondenzátum

A kilégzett levegő a nitrogén-monoxid mellett még számos molekulát tartalmaz, melyek egy része mediátora, biomarkere lehet az asztmát is jellemző légúti gyulladással kapcsolatos folyamatnak. A kondenzálás módszerének lényege, hogy a kilégzett levegő az eljárás során alkalmazott, lehűtött kondenzálócsőn áthaladva a hideg hatására cseppfolyóssá válik, ezzel lehetővé téve a lecsapódott pára, vagyis a kilégzett levegő kondenzátum (exhaled breath condensate, EBC) további vizsgálatát. A kondenzátum összetételét tekintve nagyrészt víz, körülbelül 1%-a azonban a légúti folyadékfilmből származik, így ennek összetételéről, a légúti gyulladás nem-illékony markereiről is adhat információt [20]. Feltételezhető, hogy a légúti folyadékból származó porlasztott cseppecskék a levegő kiáramlása során keltett turbulencia következtében sodródhatnak le a légutak faláról, vagy a belégzés alatt a légutak és alveolusok hirtelen megnyílása során keletkező energia is elegendő lehet a felületi feszültség leküzdéséhez [21].

Maga a kondenzálás neminvaszív, egyszerűen és gyorsan kivitelezhető módszer, azonban a vizsgálati eredményeket számos tényező befolyásolhatja; többek között a kondenzátor anyaga [22, 23], a minta higulása [20], a hűtési hőmérséklet [24, 25], az orrcsipesz használata [26], a vizsgálat előtti fizikai aktivitás, étel-italfogyasztás, dohányzás [27], a környezet szennyezettsége, páratartalma, hőmérséklete [28], vagy a tárolás ideje. Az Amerikai és Európai Tüdőgyógyász Társaságok EBC metodikájával kapcsolatos közös ajánlása 2005-ben megjelent ugyan [26], de az előbb említett tényezőkből adódó mérési variabilitás miatt a mérési technika további standardizálása szükséges. A megválaszolatlan kérdések ellenére az utóbbi évtizedekben az EBC-ben megtalálható biomarkerek egész sorát vizsgálták, a kutatásokkal kapcsolatosan több száz közlemény jelent meg. A leginkább vizsgált markerekhez tartozik a légúti gyulladást jellemző megnövekedett oxidatív stresszt jelző hidrogén-peroxid [29], az arachidonsav származékai [30-32], az adenozin-trifoszfát és metabolitjai [33], az ammónia [34], a NO-ból keletkező termékek [35], citokinek és egyéb proteinek [36] valamint a legtöbbször vizsgált és leginkább validált biomarker, az EBC pH.

2.1.2.2.1. Kilélegzett levegő kondenzátum pH

Az EBC pH mérésével a légutakat borító folyadékfilm aktuális kémhatásáról, sav-bázis egyensúlyáról nyerhetünk információt. Egészségesekben az EBC pH enyhén lúgos vegyhatású [37]. Mérésének jelentőségét az adja, hogy számos légúti gyulladással járó kórképben (úgy mint asztma [38], COPD [39], cisztás fibrózis [40], ARDS [41]) a légúti pH savas irányban változik. A savtermelés fokozódása a szervezet védekezőképességének részeként az immunrendszer aktiválásában játszhat szerepet: a dendritikus sejtek érését stimulálva segíti a Th1 típusú adaptív immunválasz kialakulását [42]. A mikroorganizmusok elpusztításához az alacsony pH szintén hozzájárulhat [43,44, 45], kimutatták, hogy a Th1 sejtek által termelt citokinek ($\text{TNF}\alpha$, $\text{IF}\gamma$) a NOS enzim aktiválásán keresztül a pH csökkenését okozva megakadályozhatják az asztma exacerbáció egyik fő triggerének tartott rhinovírus fertőzést, a vírus replikációjának gátlásán keresztül [46]. A kórokozókkal szembeni védekezésben szintén jelentőséggel bíró légúti folyadékfilmben megtalálható antibakteriális peptidekkel kapcsolatban a savasabb vegyhatás gátló és stimuláló hatását egyaránt leírták [47, 48, 49]. A fenti folyamatok mellett élettani hatásait tekintve ugyanakkor a „savasodás” összefüggésbe hozható az oxidatív stressz fokozódásával, az epithelsejtek károsodásával, a ciliáris motilitás csökkenésével, a gyulladós sejtek funkciójának megváltozásával, valamint a bronchospasmus kiváltásával [50, 51]. Az inhalációs gyógyszerek felszívódását, farmakológiai hatását a pH csökkenése szintén befolyásolja [52].

A kilélegzett leheletpárában megtalálható illékony és nem-illékony molekulákról, pufferrendszerekről számos adat áll rendelkezésünkre, azonban ezek feladata, a pH kialakításában játszott pontos szerepe továbbra sem ismert teljesen. A pH meghatározásában az $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ (ammóniumion/ammónia) és $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ (széndioxid/bikarbonát) rendszerek jelentősége ismert, a légutak kémhatásának alakításában betöltött funkciójuk az elmúlt években számos kérdést vetett fel, élénk viták tárgyát képezve. Effrosék munkacsoportja szerint a pH-t jelentősen befolyásoló volatilis bázis, az ammónia fő forrása nem a légúti folyadék, hanem a szájüreg, ahol a molekula az urea bakteriális lebontásának termékeként keletkezik [53]. Más kutatócsoportok eredményei alapján viszont a szájüregből származó ammónia nem játszik szerepet a légúti pH alakításában [34], mindemellett a felső légutak és a szájüreg volatilis molekulái

befolyásolhatják azt. A szén-dioxid az EBC másik fontos illékony eleme; a kondenzátum kémhatása egyrészt függ a kilégzésvégi parciális CO₂ nyomástól, másrészt a friss mintából a környezetbe (a nyomáskülönbség miatt) folyamatosan kilépő CO₂ mennyiségétől. A mintavételt követően ez utóbbi miatt szükség van a pH stabilizálására, melyre a szén-dioxid hatásának kiküszöbölése a megoldás. Az erre alkalmazott egyik módszer a környezeti hőmérsékleten és atmoszférikus nyomáson reakcióba nem lépő, úgynevezett inert gázzal végzett gázstandardizáció. Az eljárás során a mintán CO₂ mentes inert gázt (argon, hélium) áramoltatnak át 10 percig, mely a CO₂ kiszorítására szolgál, a buborékoltatás hatására a pH folyamatosan nő, majd stabilizálódik. A teljes CO₂ mennyiség azonban így sem távolítható el, a visszamaradó, pH-t még befolyásoló mennyiségről azonban nem kapunk információt. Másik módszer a minták CO₂-al való töltése, és egyes CO₂ koncentrációknál a pH mérése. A CO₂-pH közötti összefüggés logaritmikus, az értékpárokat jelző pontokra regressziós görbe vehető fel, melynek segítségével az egészségesekben állandó nyugalmi alveoláris parciális szén-dioxid nyomáshoz tartozó pH meghatározható. Ez a metodika a korábbihoz képest még reprodukálhatóbbnak bizonyult [54], használatához azonban olyan vérgázgépre van szükség, mely a pH-t az 5,5-6,5 tartományban is mérni képes. A gyakorlatban használt módszerekben a mai napig nincs egységes konszenzus, a legelterjedtebb az inert gázzal történő buborékoltatás, melyet az akkori adatok alapján a még 2005-ben született ERS/ATS irányelv ajánl [26]. A pH mérése pH elektróddal, vérgáz analizátorral vagy egyszerű pH papírral történhet.

Hunt munkacsoportja volt az első, aki asztmában a légúti kémhatás csökkenését igazolta, mely corticosteroid terápiára reverzibilisnek bizonyult [38]. Később ezt más gázstandardizációval végzett vizsgálatok is alátámasztották [55]. A kémhatás megváltozásának patomechanizmusában többek között a légúti epithelsejtek glutamináz enzimje által termelt ammónia exkréciójának gátlása játszhat szerepet [56]. További kutatások az asztmás betegcsoportban a pH és a FEV1 érték valamint a pH és köpet eozinofil sejtszám negatív korrelációját írták le [39], más vizsgálatokban viszont nem találtak összefüggést a pH és a spirometriai paraméterek vagy egyéb, gyulladásoz markerek között [57]. Egy néhány éve megjelent tanulmány szerint a lehelet pára alacsony (<7.2) pH-jának pozitív prediktív értéke a nem-kontrollált asztma kimutatására

80% feletti [58], további longitudinális vizsgálatok segíthetnek tisztázni az EBC kémhatásának jelentőségét az asztma kontroll pontosabb megítélésében.

2.2. ASTHMA BRONCHIALE TERHESSÉGBEN

2.2.1. Asztma hatása a terhességre

Az asztma morbiditási és mortalitási rátája a terhes nők körében megegyezik az átlagpopulációéval. A terhességet kísérő leggyakoribb krónikus megbetegedések egyikeként számos terhességi szövődmény rizikóját növeli, mely mind az anyát, mind a magzatot/újszülöttet érintheti (preeclampsia, gesztációs hypertonia, spontán abortusz, koraszülés, császármetszés, alacsony születési súly, perinatális halálozás) [59, 60]. A preeclampsia gyakoriságának hátterében a két betegség patogenezisének közös tényezője állhat: a simaizom hízósejtek általi infiltrációját a légutakban és a myometriumban is leírták, emellett a preeclampsia és a légúti hiperreaktivitás kapcsolatát is igazolták [61]. A vaszkuláris hiperreaktivitás szintén egy közös mechanizmus lehet, amit mind közepesen súlyos és súlyos asztmában [62], mind preeclampszában [63] megfigyeltek. Egy másik fontos anyai szövődményt, a terhességi hypertoniát a szisztémás (orális) szteroidterápiával hozták összefüggésbe [64].

A magzati komplikációkat tekintve egy 13100 asztmás terhes nőt vizsgáló tanulmányban a perinatális mortalitás 35%-al nagyobbak bizonyult a kontroll várandós csoporthoz képest, melynek legfőbb okaként a szignifikánsan gyakoribb koraszülés és alacsony születési súly igazolódott [65]. A fenti adatokhoz az eddigi ismeretek alapján részben a dohányzás és az obesitas [66], részben a nem megfelelő asztma kontroll is hozzájárulhatott [67]. Az elégtelen inhalációs kortikoszteroid (ICS) használat és az exacerbációk egyértelmű összefüggést mutatnak az alacsony születési súllyal [68, 69]. Ennek hátterében a krónikus anyai hypoxia és fennálló gyulladás szerepe feltételezhető, mely a csökkent magzati oxigenizáció által közvetlenül befolyásolja a magzati növekedést.

A magzat méhen belüli növekedésére a magzat neme is hatással lehet. Murphy és munkatársai a lánygyermekkel várandós inhalációs szteroidot nem használó asszonyoknál az intrauterin növekedésbeli elmaradás magasabb rizikóját mutatták ki [70]. Ennek magyarázata a lánymagzatoknál megfigyelhető placentáris 11 β -hidroxi-szteroid-

dehidrogenáz-2 enzim csökkent szintje, illetve a köldökzsinórvér emelkedett antimitotikus hatású kortizolszintje, melyeknek háttérében az anyai asztma-mediálta gyulladáshoz vezető folyamatok túlműködése állhat [70]. A szteroiddal nem kezelt asztmás anyák lánymagzatai érzékenyebbnak bizonyultak a placentáris kortizol metabolizmus változásaira. A fenti vizsgálatban az asztmás gyulladást kontrolláló inhalációs szteroidok használata a magzati növekedés szempontjából protektív hatásúnak bizonyult. Kutatócsoportunk a fentiekkel korrelálva lánymagzatok esetében a csökkent asztma kontroll és az alacsony magzati súly fokozottabb rizikóját írta le a korábbiakban [71]. A növekedésbeli elmaradásnál megfigyelt rizikófaktorok (elégtelen asztma kontroll, terhesség alatti hospitalizáció [67]) a koraszülöttség előfordulási gyakoriságával szintén korrelálnak. A gyakoribb koraszülés egyik lehetséges oka asztmás terhességben ismét egy közös patogenetikai tényező, a hörgők és a myometrium simaizmjának hiperraktivitása lehet [72,73]. A terhességi komplikációk kialakulásában a fentiek mellett a nem megfelelő gondozás [74], és az asztma súlyosságának jelentőségét [5] is kimutatták. Mindezek alapján igazolt, hogy az asztma adekvát gondozása és az optimális asztma kontroll fenntartása a várandósság alatt alapvető fontosságú, mivel csökkenti az anyai és magzati szövődmények előfordulását.

2.2.2. Terhesség hatása az asztmára

A 80'-as években az Egyesült Államokban 330 asztmás várandós asszony körében végeztek felmérést, melynek során az asztma terhesség alatti változásával kapcsolatban az „egyharmados szabály” igazolódott: a vizsgált populációt három részre osztva az esetek harmadában romlás, harmadában javulás volt megfigyelhető, míg a nők egyharmadában nem észleltek változást az asztma lefolyásában. Ugyanebben a vizsgálatban írták le azt is, hogy amennyiben az asztma romlik, a tünetek fokozódása leginkább a harmadik trimeszterre tehető [75].

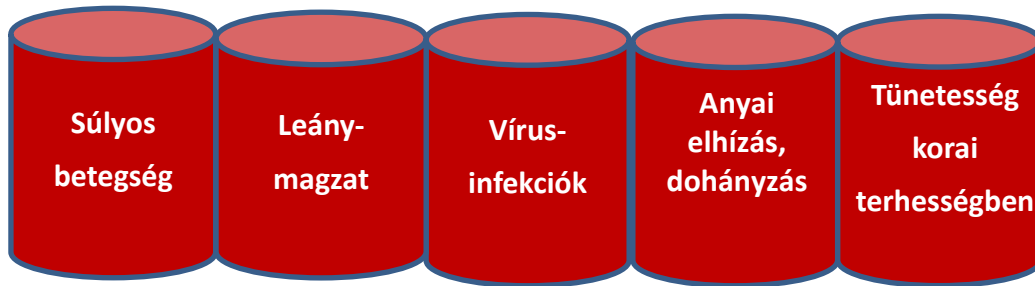
Az asztma romlását jelző klinikai prediktív faktorok közül csak néhányat ismerünk, szisztémás biomarker erre vonatkozóan még nem került azonosításra. Az asztma az esetek 2/3-ában az első várandósság során megfigyelt irányban változik a későbbi terhességek alatt is [5]. Amennyiben az első terhesség alatt az asztmás tünetek romlottak, akkor nagyobb a valószínűsége annak, hogy a későbbi terhességeknél is súlyosbodik a

betegség. Kutatások azt mutatják, hogy a terhességet megelőzően fennálló súlyos asztma [76], illetve a rossz asztma-specifikus életminőség a korai terhesség idején [77] növelik a várandósság alatt az asztmás tünetek romlásának rizikóját. A tünetek súlyosságát befolyásolhatja még a magzat neme: 719 asztmás várandóst vizsgálva a lánymagzatok esetén nagyobb volt a hospitalizációk száma [78], más vizsgálatokban a lánygyermekkel várandós anyáknál súlyosbodtak az asztmás tünetek [79] és ebben a csoportban nagyobb volt a gyógyszerigény is (szteroid, béta2-agonista) [80]. Ugyanakkor a magzat nemének hatását vizsgáló legnagyobb esetszámú kanadai vizsgálatban nem találtak a magzat nemétől függő különbséget az akut exacerbációk gyakoriságában és a gyógyszerhasználatban (inhalációs szteroid, hosszú hatású β_2 -agonista (LABA)) [81].

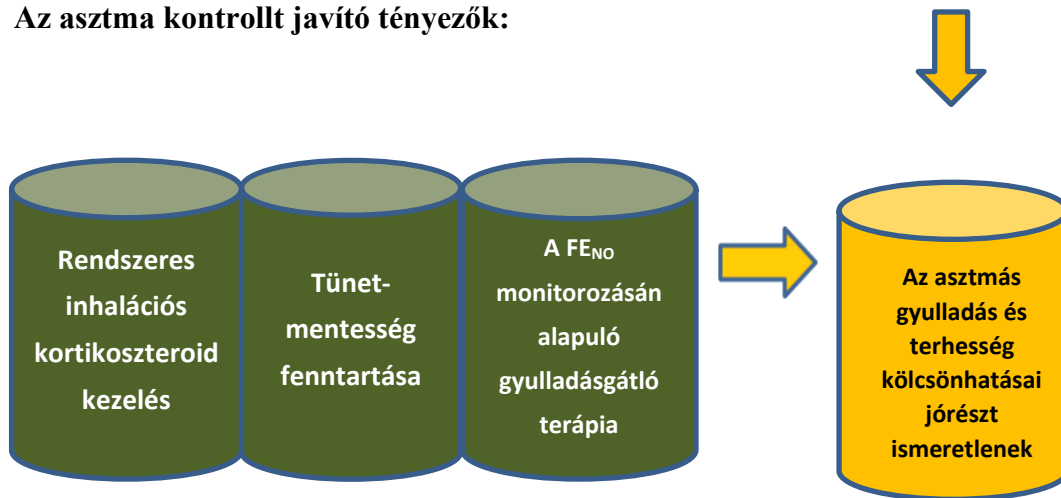
A betegség fellángolása, az asztmás exacerbációk a várandósság folyamán bármikor megjelenhetnek, ezek gyakorisága a második trimeszter végén és a súlyos asztmások körében gyakoribb [82, 83, 84]. Az elégtelen inhalációs szteroidterápia [85], a vírusinfekciók [86], a nem megfelelő terhesgondozás [87] és az elhízás [88] az akut állapotromlás rizikófaktorai közé tartoznak. A túlsúly egyrészt a légzésmechanika restriktív változásával, a tüdővolumen és a compliance csökkenésével, másrészt a zsírszövet felszaporodásával megjelenő szisztémás proinflammatorikus citokinmintázattal járul hozzá az asztma kialakulásához és az állapotromláshoz [89]. Mitöbb, terhességben az obesitas egyéb, nem a tüdővel kapcsolatos szövődmények rizikóját is emeli (preeclampsia, terhességi hipertónia) [88].

Az eddigi kutatási eredmények mellett az asztma terhesség alatti lefolyását befolyásoló mechanizmusok jórésze még ismeretlen. Az elmúlt években számos kutatás irányult a lehetséges hormonális és immunológiai változások megismerésére, melyekről a későbbiekben lesz szó. Az asztma romlásához hozzájáruló, fentiekben említett lehetséges tényezőket a 2. ábra [60] mutatja.

A tünetesség, a kontrollvesztés rizikóját emeli:



Az asztma kontrollt javító tényezők:



2. ábra A kontrollvesztéshez hozzájáruló és az asztma kontrollt javító tényezők

2.2.3. Hormonális változások szerepe asztmában és asztmás terhességben

Az asztmás betegség incidenciájában és prevalenciájában a nemek közötti különbségek régóta ismertek: epidemiológiai adatok alapján a pubertáskor előtt a megbetegedés kétszer annyi fiút érint, mint lányt, a pubertáskor után kezdődő betegség viszont a lányoknál/nőknél gyakoribb. A nemek közötti különbségek más tüdőbetegségek esetében is megfigyelhetők, ami arra enged következtetni, hogy a nemi hormonok a tüdőben zajló fiziológias szabályzó folyamatokban is szerepet játszanak.

Jól ismert, hogy az asztmában szenvedő nők 30-40%-ánál a betegség tünetei a premenstruációs és a menstruáció alatti időszakban fokozódnak, az exacerbációk gyakoribbak, mely miatt a „perimenstruációs asztma” egyfajta szindrómaként, mint külön entitás került be az irodalomba [90]. A perimenstruációs asztmában szenvedő nőket

vizsgáló tanulmányok nagy részében a PEF értékek csökkenését is leírták a menstruáció körüli időszakban. Az asztma romlásának hátterében legnagyobb valószínűséggel a menstruáció alatti hormonális változások állnak. A menstruáció előtt és alatt, a menstruációs ciklus follicularis fázisában a progeszteron-, és ösztrogénszint csökken, mely a tünetek fokozódásával összefüggésbe hozható.

Az ösztrogén és progeszteron asztma patomechanizmusában játszott szerepét sokan vizsgálták, a hormonok által szabályzott sokrétű mechanizmusoknak azonban ma is csak egy része ismert. A simazomfunkcióra mindkét hormon hatással van. In vitro körülmények között a progeszteron és a 17β -estradiol is potenciózza a β -agonista izoprenalin relaxáns hatását bronchiális simazomzaton [91], emellett a progeszteron különböző ágensek (pl hisztamin) által kiváltott légúti simazom kontrakciót gátló hatását is kimutatták [92]. Az ösztrogén ugyanakkor a β_2 adrenoreceptorok denzitását növelte nyulakban végzett kísérlet során. Humán vizsgálatokban Lipworthék a vártak megfelelően a luteális fázisban a limfocita felszíni β_2 adrenoreceptorok denzitásának növekedését, míg follicularis fázisban ennek csökkenését írták le asztmában nem szenvedő nők körében. A fenti változások azonban inkább a progeszteronnak voltak köszönhetőek, míg az ösztrogén vélhetően nincs jelentősebb hatással a humán β_2 adrenoreceptorok denzitására és funkciójára [93, 94]. A várakozásokkal ellentétben asztmás nők körében az adrenerg receptorokat érintő ciklikus változás viszont nem volt tapasztalható, mitöbb exogén progeszteron stimulusra a receptorok downregulációja volt megfigyelhető [95, 96]. Ez alapján asztmások körében a luteális fázisban növekvő progeszteron szint mellett a β_2 receptorok csökkenésével az endogén és exogén ketakolaminokra adott válasz is csökken, mely a perimenstruációs időszakban az asztmás tünetek romlásához vezethet.

A simazomzatra gyakorolt hatás mellett az ösztrogén és progeszteron a gyulladáshoz vezető folyamatokban részt vevő sejtekre és citokinekre is hatással van. A progeszteron az IL-4, IL-5 [97], az ösztrogén pedig többek között az interferon-gamma (IFN- γ) termelését fokozza [98]. A luteális fázisban a két hormon szintjének emelkedése együtt jár a Th1/Th2 immunológiai egyensúly Th2 irányú eltolódásával, bár az immunegyensúly megváltozása és a hormonszintek közötti összefüggés nem egyértelműen bizonyított [99]. Terhesség során az ösztrogén és progeszteron koncentráció szignifikánsan emelkedik. Asztmával szövődött terhességben az asztmás tünetek javulásához a progeszteron periventilációt fokozó ismert hatása [100] és a simazom relaxációban betöltött szerepe is

hozzájárulhat. A tünetek romlása mögött ugyanakkor a progeszteron által indukált IL-5 termelés és az ennek következtében kialakult fokozott eozinofilsejtes légúti gyulladás valamint a $\beta 2$ adrenoreceptorok asztmásoknál megfigyelt, progeszteron által indukált downregulációja is állhat.

A perimenstruális asztma fennállása és a terhesség alatti asztmás tünetek romlása között nem találtak összefüggést [87, 101].

2.2.4. Asztmás várandósok gondozása

2.2.4.1. Légzésfunkciós változások terhességben

Az asztma gondozásának legfontosabb lépése a légzésfunkciós vizsgálat. A teljes testpletizmográfiával vagy spirometriával mért FEV1 illetve PEF érték monitorizálása ugyanúgy elfogadott a várandós, mint a nem várandós populációban. A vizsgálat értékelésénél azonban figyelembe kell venni a terhesség alatt bekövetkező légzésmechanikai változásokat, melyek a légzésfunkciós paramétereket befolyásolhatják. A változások hátterében a terhesség alatti hormonális változások és a has-, valamint a mellkaskörfogat jelentős növekedése játszik szerepet.

Míg korábbi adatok azt igazolták, hogy a FEV1 a terhesség alatt nem változik jelentősen, a tidal volumen és a percventiláció növekszik, a reziduális volumen (RV) és a funkcionális reziduális kapacitás (FRC) értéke a megnövekedett uterus következtében magasabb állású rekeszizom miatt csökken [102-104]. Az erőltetett vitálkapacitás (forced expiratory capacity, FVC) és PEF értéke számos korábbi vizsgálat alapján nem változott [102, 103], más vizsgálatban viszont a PEF értékének gesztációs korról való csökkenését és az anya helyzetétől való függését (fekvő helyzetben nagyobb mértékű csökkenését) írták le [104, 105]. Grindheimék ugyanakkor száz egészséges várandóst vizsgáló friss longitudinális tanulmányukban változatlan FEV1 értékek mellett az FVC és PEF értékének terhességi korról összefüggő progresszív növekedését igazolták a 14-16 gesztációs héttől [106]. Az FVC értéke a többször szült nőknél magasabbnak bizonyult, azt sugallva, hogy a terhesség alatti változások állandósulnak. A fenti vizsgálat alapján a terhességi kor befolyásolhatja a légzésfunkciót, így a várandóság alatt a légzésfunkciós értékek értelmezése nehézségbe ütközhet. Emellett az asztmás terhesek gondozását

nehezíti az a tény, hogy egyes esetekben a légzésfunkciós vizsgálat kivitelezése során végzett erőltetett kilégzési manőver veszélyes lehet, vagy nem kivitelezhető.

2.2.4.2. Vérgázparaméterek terhességben

Az asztmás várandósok légzési státuszának felmérésében és az oxigenizáció megítélésében a vérgázparaméterek jelentős segítséget nyújtanak. Fiziológias terhesség során a percreventiláció növekedése vélhetően az emelkedett progeszteron szintnek köszönhető. A megnövekedett anyagcsereigénynek megfelelően növekvő percreventiláció miatt csökken az alveoláris és artériás parciális szén-dioxid nyomás (pCO₂) az alveoláris és artériás oxigéntenzió (pO₂) egyidejű növekedésével. A következményes alveoláris alkalózis szekunder kompenzációs mechanizmust generál a vesén keresztül történő bikarbonát fokozott kiválasztásával. Így fiziológias terhességben a normál terhességhez képest enyhén alkalotikus pH mellett emelkedett pO₂ (100-106 Hgmm) és csökkent pCO₂ (28-30 Hgmm) értékeket mérhetünk a nem várandósokhoz viszonyítva. Egy esetleges exacerbáció, állapotromlás esetén ezeket a fiziológias változásokat is figyelembe kell vennünk. Így asztmás várandósok esetén 35 Hgmm-nél nagyobb pCO₂ és 70 Hgmm-nél kevesebb pO₂ értékeknél már komolyabb veszélyekkel számolhatunk, mint a nem várandós populációban.

2.2.4.3. Neminvazív vizsgálmódszerek asztmás terhességben

Az asztma neminvazív vizsgálmódszerei terhességben kiemelkedő jelentőségűek. A kilélegzett nitrogén-monoxid asztmás terhességben is a légúti gyulladás monitorizálásának fontos eszköze. Korábbi vizsgálatainkban kimutattuk, hogy bár a placentális nitrogén-monoxid termelés terhesség során fokozódik, a FE_{NO} nem emelkedik, így a terhesség nem befolyásolja a kilélegzett NO szintet sem asztmában, sem egészséges kontrolloknál. Ugyanakkor asztmás terhességben a FE_{NO} szint az asztma kontroll mértékével összefüggésben áll [107].

A FE_{NO} mérés lehetséges szerepe az asztma terápia optimalizálásában is felmerült. Asztmás, nem várandós populációban a hagyományos vizsgálati módszerek mellett vagy azok helyett alkalmazott FE_{NO} mérésen alapuló terápia hatékonyságával kapcsolatban ellentmondásos eredmények születtek [108-111]. Ennek háttérében az egyes kutatások

vizsgálati tervével kapcsolatos dilemmák, az eltérő kontrolláltsági és kezelési algoritmusokból származó különbségek állhatnak, melyek nehezítik az összehasonlítást és a konklúziók levonását. A mai ajánlások szerint ezért a FE_{NO} alapú terápia nem az elfogadott kezelési protokoll része. Ugyanakkor Powellék asztmás terhesek körében végzett vizsgálata során a FE_{NO} alapú kezelési algoritmus egyértelműen csökkentette az exacerbációk számát [112]. A kilélegzett NO terápiás döntésekben játszott szerepének vizsgálatára további hosszútávú, longitudinális vizsgálatok szükségesek.

A szemi-invazív vizsgálati módszerek közé tartozik az indukált köpet vizsgálata, amely szövődményeképpen akut asztmás roham alakulhat ki, ezért terhességben nem alkalmazható. Ismert, hogy nem terhes asztmásokban az EBC pH összefüggést mutat az asztma kontrollszintjével [58], azonban a terhesség okozta vérgázváltozások és a szisztémás alkalózis befolyásolhatják az EBC pH mérés alkalmazhatóságát asztmás terhességben. EBC mintából történt vizsgálatokra a korábbiakban nem került még sor sem egészséges, sem asztmás terhességben.

A legbiztonságosabb a perifériás vérből mérhető szisztémás biomarkerek mérése lenne asztmában és asztmás terhességben egyaránt; az asztma kontrollal összefüggést mutató szisztémás biomarker leírása segíthetne az asztmás betegek gondozásában, azonban jelenleg még ilyen marker nem ismert. Munkacsoportunk az elmúlt évek során több lehetséges biomarker szerepét is vizsgálta asztmában és asztmás terhességben azzal a céllal, hogy az asztma kontroll szintjével vagy a légzésfunkcióval összefüggést mutató markert találjon [113-116].

2.2.4.4. Asthma bronchiale kezelése terhesség során

Asztmás várandósok esetében a terápia célja az optimális asztma kontroll elérése és fenntartása, mely alapvető fontosságú az anya egészségének megőrzéséhez, valamint a magzat megfelelő fejlődéséhez szükséges oxigenizáció és gyulladásmertesség biztosításához. A kontrolláltság mértékének meghatározásánál figyelembe kell venni az asztma kontroll két fő elemét: a tünetek kontrolláltságát és a jövőbeni esetleges állapotromlás kockázatát a nemzetközi GINA irányelvnek megfelelően [6].

A várandósok teljeskörű felvilágosítása betegségükről, ennek terhesség alatt várható változásáról, a szükséges kezeléssel, az inhalációs technikák alkalmazásáról a terápia

szerves része (2. táblázat) [117]. Fontos az egyéb, asztmás tüneteket provokálható kórállapotok (rhinitis, GERD, sinusitis) megfelelő kontrollja is. A dohányfüst a magzatra gyakorolt káros hatások mellett a neonatális asztma rizikóját is növeli, ezért a dohányzás elhagyása szintén kiemelt jelentőségű a hatékony kezelés szempontjából [118].

2. táblázat. A betegoktatás fő szempontjai 5 pontban a terhesség során.

| Legfontosabb témakörök | Leírás |
|---|---|
| 1. Tájékoztató az asztma jellemzőiről | Alapvető információk az asztmáról és terhességre való hatásairól. Tények az anyai és magzati esetleges szövődményekről. |
| 2. Inhalációs eszközök helyes alkalmazása | A felírt készítmények helyes alkalmazásának módja, demonstrációval. |
| 3. A megfelelő beteg-együttműködés és asztma kontroll jelentősége | A fenntartó asztma ellenes kezelés szükségességének fontossága. |
| 4. Állapotromláshoz vezető környezeti tényezők és irritánsok | Allergén-kerülés, a dohányzás mellőzése. |
| 5. Önkezelési akcióterv | Írásos terv, amely tartalmazza a fenntartó kezelésre és rohamoldó gyógyszerelésre vonatkozó utasítást. Az asztmás állapotromlás jeleinek, tüneteinek ismertetése. Oktatás arra vonatkozóan, hogy kit kereshet asztmája romlása esetén, és a fenntartó kezelését hogyan módosítsa ilyen esetben. |

Az asztma terhesség alatti kezelési alapelvei megegyeznek a nem várandós asztmások kezelésével. Várandósok esetében a cél a lehető legkisebb, de még hatékony asztma kontrollt biztosító dózis alkalmazása. A gyógyszerek biztonságosságának megítélése az Amerikai Élelmezési és Gyógyszerügyi Hatóság (Food and Drug Administration, FDA) besorolása alapján történik (FDA A, B, C, D kategória). Bár a gyógyszerek többségének biztonságosságával kapcsolatban csak megfigyeléses vizsgálatok állnak rendelkezésre, ezek eredményei megnyugtatóak. E vizsgálatok alapján az inhalációs béta-agonisták és az inhalációs kortikoszteroidok nem növelték a perinatális szövődmények rizikóját [119-121].

A veleszületett fejlődési rendellenességeket vizsgálva viszont korábbi tanulmányokban a hasfali defektusok (gastroschisis) és archasadékok fokozott rizikója összefüggést mutatott

az anya hörgtágító-használatával [122, 123], ugyanakkor ez az összefüggés nem teljesen egyértelmű, a malformációk hátterében a nem megfelelően kontrollált asztma is állhatott. Az említett vizsgálatok korrelálnak egy frissen végzett európai tanulmány eredményeivel, melynek során 13, több mint 70000 kongenitális anomáliát rögzítő regiszter adatainak felhasználásával a farkastorok, a gastroschisis és az első trimeszterbeli béta-2 agonista expozíció között igazoltak kapcsolatot [124], bár megemlítendő, hogy az egyes terhességekre jutó kockázat mértéke mindemellett is nagyon alacsonynak bizonyult. Itt az inhalációs szteroidok, így a szteroiddal kezelt asztma szerepe is kizárható volt a rendellenességek hátterében. Az inhalációs kortikoszteroidok és a veleszületett malformációk között korábbi vizsgálatok sem mutattak ki szignifikáns összefüggést. Asztmás terhességben a budesonid az egyetlen FDA B kategóriájú inhalációs szteroidkészítmény, mely a fenntartó terápia alapját képezi, de a többi inhalációs szteroidról sem jelent meg olyan eredmény, ami ezek alkalmazását nem tartaná biztonságosnak asztmás terhességben [117].

Az esetleges mellékhatások és a kevés humán adat miatti FDA C besorolás ellenére a β 2-agonisták használata szintén javasolt középsúlyos illetve súlyos asztmában szenvedő terhesekben, hiszen a hosszú hatású béta-2 agonistákról (formoterol, salmeterol) ismert, hogy a fenntartó ICS kezelés kiegészítéseként a leukotrién receptor antagonistáknál és teofillinnél nagyobb hatékonyságúak [125]. A rövid hatású, rohamoldóként használt szerek közül az albuterol/salbutamol az elsőként választandó szer, ennek biztonságosságát vizsgálták leginkább.

A leukotrién receptor antagonistá zafirukast és montelukast alkalmazása szintén biztonságosnak tűnik terhesség során, de ezekkel kapcsolatosan is csak limitált adat áll rendelkezésre [125]. Egy néhány évvel ezelőtt végzett vizsgálatban 180 asztmás várandós montelukast kezelése alatt a főbb kongenitális rendellenességek rizikója nem emelkedett [126].

Az asztma terhesség alatti lépcsőzetes kezelése a nem várandós populációéhoz hasonló, azzal a különbséggel, hogy asztmás terhességben a 3. lépcsőn a közepes dózisú ICS kezelés alkalmazandó a kis dózisú ICS+LABA terápiával szemben, tekintettel arra, hogy a LABA terhesség alatti alkalmazása kevésbé biztonságos (FDA C kategória) az ICS-hez (FDA B kategória) képest (3. táblázat) [117].

3. táblázat Az asztma lépcsőzetes kezelése a terhesség során

| Lépcső | Választandó fenntartó kezelés | Alternatív fenntartó kezelés |
|--------|--|--|
| 1 | Nincs | - |
| 2 | Kisdózisú ICS | leukotrién receptor antagonist (LTRA), theophyllin |
| 3 | Közepes dózisú ICS | Kisdózisú ICS + LABA vagy LTRA vagy theophyllin |
| 4 | Közepes dózisú ICS + LABA | Közepes dózisú ICS + LTRA vagy theophyllin |
| 5 | Nagy dózisú ICS + LABA | - |
| 6 | Nagy dózisú ICS + LABA + p.o. szteroid | - |

Amennyiben a megfelelő asztma kontrollhoz fenntartó kezelés szükséges, úgy az asztmás várandósok havonkénti kontrollvizsgálata lenne optimális, tünetesség esetén a magzat fejlődését ellenőrző ultrahangos vizsgálattal együtt. Amennyiben az asztma kontroll a fenntartó kezelés mellett nem megfelelő, annak ellenére, hogy a várandós a betegoktatás során hangsúlyozott tényezőket figyelembe veszi (inhalációs eszközhasználat, megfelelő adherencia, allergének kerülése stb), a terápiás lépcsőn feljebb lépés javasolt. A nem várandós populációban legalább 3 hónapig fennálló megfelelő asztma kontroll esetén a fenntartó kezelés dózisének csökkentése (step down) szóba jöhet, a meglévő kezelés folytatása azonban terhesség alatt biztonságosabb [118]. A nem megfelelő kezelés esetén fellépő állapotromlásból adódó anyai és magzati szövődmények ugyanis veszélyesebbek, mint az asztma kezelésből adódó kockázatok. Terhességben a kontrollált állapot eléréséhez két lépcsőnyi terápia emelés is megengedett.

2.3. AZ ASTHMA BRONCHIALE IMMUNOLÓGIÁJA

2.3.1. A Th1/Th2 paradigma

Az extrinsic asthma bronchialet jellemző allergiás légúti gyulladásban a veleszületett és szerzett immunrendszer sejtjei és az általuk termelt citokinek között bonyolult

kölcsönhatások játszódnak le, melyben az allergén által aktivált T limfociták központi szerepet játszanak. A Th1/Th2 paradigma több mint 20 éve ismert, amely szerint az allergiás megbetegedések, így az extrinsic asthma bronchiale alapja is a Thelper limfocita 1/T helper limfocita 2 (Th1/Th2) egyensúly Th2 irányba történő eltolódása.

Az extrinsic asztma kialakulása a légutak aeroallergénekre (poratka, pollen, gombák) történő szenzitizálódásával kezdődik, melynek során a légúti epitheliumban és mucosában elhelyezkedő veleszületett immunrendszerhez tartozó receptorokat expresszáló antigénprezentáló dendritikus sejtek (DC) az antigént felveszik, majd a fő hisztokompatibilitási komplexeken (MHC I és II) keresztül peptidekre lebontva a T sejt receptoroknak (TCR) expresszálják [127]. A DC sejtek és az allergénspecifikus naiv T sejtek kostimulátor molekuláinak kölcsönhatása következtében beindul a Th sejtválasz, majd interleukin (IL)-4 jelenlétében a GATA3 transzkripciós faktor foszforilálódásával a T sejtek Th2 irányba differenciálódnak. A Th2 által termelt citokinek kulcsszerepet játszanak az allergiás gyulladós folyamatokban. Az IL-4 és IL-13 termelődés elősegíti a B sejtek immunglobulin (Ig) osztályváltását, az allergénspecifikus immunglobulin IgE termelését [128]. Az IL-13 emellett a myofibroblast differenciációban és a légúti hyperreaktivitás kialakulásában, az IL-3 és IL-5 az eozinofil sejtek érésében [129], az IL-9 pedig többek között a hízósejtek differenciálódásában és érésében játszik szerepet [130].

A Th1 sejtek IFN- γ , IL-2, tumor necrosis faktor alpha (TNF- α) és limfotoxin termelésével gátolják a Th2 irányú differenciálódást, míg emellett a makrofágok antimikrobiális aktivitását is fokozzák [131, 132]. Az IFN- γ termelő Th1 sejteket asztmás betegek légútjaiban és szérumában is kimutatták, ezek jelentősége, asztma patomechanizmusában betöltött szerepe azonban nem egyértelmű. A Th1 polarizációjáért és IFN- γ termelésért felelős T-bet transzkripciós faktor expressziója ugyanakkor alacsonyabbnak bizonyult az asztmás betegekben, mely egyfajta regulációs szerepet feltételez [133]. Kutatások igazolták a Th1 citokinek allergiás légúti gyulladásban betöltött inhibitoros szerepét, amely a Th2 válasz gátlásán keresztül valósul meg [134, 135].

Az elmúlt évek kutatásai a gyulladós kaszkád alakulásában a Th1/Th2 sejteken kívül más sejtek szerepét is igazolták, mely a korábbi paradigma kibővüléséhez vezetett.

2.3.2. A Th17 sejtek

Az asztmás fenotípusok vizsgálata során a klinikai, patológiai és fiziológiai paraméterek csoport analízise [136], illetve a súlyos asztmásokból vett szövettani minták vizsgálata [137] az asztma patogenezisében az eozinofilsejtes gyulladás mellett nem eosinophil sejtek szerepét is felvetette. Súlyos asztmában szenvedő betegek hörgőmosó folyadékában és hörgőbiopsziás mintáiban neutrophil sejtek dominanciáját mutatták ki [137], melyek recruitmentjéért és aktivációjáért az utóbbi években felfedezett Th17 limfociták felelősek. A naiv T sejtek a transzformáló növekedési faktor (TGF)- β és IL-6 hatására ROR γ transzkripciós faktort expresszálva differenciálódnak Th17 sejtekké. A Th17 irányba elkötelezett sejtek fennmaradásához, szelektív expansziójához, citokintermeléséhez az aktivált 1-es típusú makrofágok és dendritikus sejtek által termelt IL-23 szerepe is szükséges [138]. A Th1 sejtekből származó IFN-gamma és a Th2 sejtekből származó IL-4 ugyanakkor gátolja a sejtvonul kialakulását.

A Th17 sejtek fő funkciójaként az általuk termelt molekulák (IL-17A és IL-17F) fokozzák a proinflammatorikus citokinek, kemokinek (IL-6, GM-CSF, CXCL8), mátrix metalloproteinázok és antimikrobiális peptidek termelését receptorukhoz kötődve, mely a légúti epithelsejtek mellett az endothelsejteken, fibroblastokon, eozinofi sejteken is megtalálható. Ezzel elősegítik a neutrophil sejtek és makrofágok toborzását, a szöveti gyulladás kialakulását [139].

A Th17 sejtek az extracelluláris mikróbák elleni védekezés mellett az autoimmun megbetegedésekre jellemző krónikus gyulladós folyamatok fenntartásában is kulcsfontosságúak. Ezekben a kórképekben az IL-17 családba tartozó citokineken kívül a szintén e sejtek által termelt IL-22 szintjének növekedését is leírták [140, 141]. A későbbiekben a Th17 mellett a CD8 és természetes ölüsejtekről (natural killer, NK) is kimutatták, hogy képesek az IL-17 citokin termelésére [142, 143] és növekvő számú evidencia bizonyítja, hogy ezek a limfocita szubpopulációk is részt vesznek olyan gyulladós folyamatokban, melyek többek között a terhességgel kapcsolatos bizonyos betegségeken is megfigyelhetők [144].

A Th17 sejtek asztma patomechanizmusában betöltött szerepét a közelmúltban igazolták. Több rágcsálókön végzett kutatás eredménye igazolta, hogy részt vesznek a súlyos asztmában megfigyelhető antigén-indukálta neutrophil toborzás kiváltásában [145], ezáltal szerepet játszanak a neutrophil infiltrációval jellemzett súlyos asztma

patogenezisében. Súlyos allergiás asztmások légútjaiban, plazmájában emelkedett Th17 citokin szinteket (IL-17, IL-22) igazoltak [146, 147, 148]; az IL-17A expresszió az asztma súlyosságával [149, 150] és a neutrophil leukocyta számmal [147] is korrelált. Kutatási eredmények igazolták azt is, hogy a súlyos asztmát jellemző neutrophil légúti gyulladás szteroidrezisztens [151]. A szteroidrezisztencia kialakulásában a Th17 sejteknek szintén szerepe lehet, miután a neutrophil granulocytákban és IL-17 jelenlétében in vitro körülmények között a légúti epithelsejtekben is a glükokortikoid receptor-béta (GR- β) nagyobb expresszióját mutatták ki, mely akadályozza a GR- α mediálta anti-inflammatórikus géntranszkripciót, a genom glükokortikoidokra válaszoló helyeinek (GRE) kompetitív gátlásával [152]. Mindezen eredmények azt sugallják, hogy a Th17 sejtvonalnak meghatározó szerepe lehet a főleg súlyos asztmában megfigyelhető neutrophil légúti gyulladás kialakulásában.

A Th17 és az általa termelt citokinek szerepét eozinofilsejtes gyulladásban is vizsgálták. Kimutatták, hogy az eozinofil sejtek endotoxin stimulációja az IL-17 termelését növeli, mely az asztmás gyulladás kialakulásában is szerepet játszó eozinofil mediált citolitikus aktivitást fokozza [153]. Ovalbuminnal allergizált egerek szérumában antigén inhalációját követően az IL-22 expressziójának emelkedését igazolták, míg IL-22 hiányos egérben az eozinofil besorozás, a Th2 citokintermelés, a nyáktermelés és a légúti hyperreaktivitás is jelentősen csökkent, mely a citokin jelentőségét mutatja az allergiás asztma kialakulásában. A már kialakult asztmás gyulladásban viszont az IL-22 Th2 citokineket gátló, negatív szabályzó szerepét mutatták ki [154].

Ismert, hogy az IL-17 a légúti simaizomsejteket eotaxin kiválasztására készíti, mely az eozinofil sejtek toborzásában kulcsfontosságú [155]. Antigén-specifikus Th17 sejtek átvitele nem-szenzitizált egérbe ugyanakkor önmagában nem váltja ki az antigén-indukált eozinofil sejt-toborzást, ehhez az antigén specifikus Th2 sejtek jelenléte is szükséges [156], vagyis úgy tűnik, a Th17 sejtek a Th2 sejtek által indukált folyamatokat is erősítik. Ennek egyik lehetséges magyarázata, hogy a Th2 és a Th17 sejtek együttes aktivációja az eotaxin fokozott expressziójához vezet a légúti fibroblastokban és epithelsejtekben [156].

2.3.3. Regulatórikus T sejtek

A korábban szuppresszor T sejteknek is nevezett, széles körben kutatott T sejt szubpopuláció fő feladata az immunrendszer egyik legfontosabb szabályzójaként a saját antigénnel szembeni tolerancia megőrzése, az immun-homeosztázis fenntartása. A sejtpopuláció detektálása a sejt felszínen nagy mennyiségben jelenlévő marker, az IL-2 alfa lánc (CD25) és az intracelluláris elhelyezkedésű regulatórikus T (Treg) sejtekre specifikus transzkripciós faktor, a forkhead box P3 (FoxP3) molekula alapján történik [157].

Az immuntolerancia fenntartása révén a Treg sejtek szerepet játszanak az allergiás megbetegedések hátterében álló és a patogén mikróbák által kiváltott patofiziológiai folyamatok szabályzásában, a transzplantációs kilökődés megelőzésében, az orális (gastrointestinális) tolerancia és a feto-maternális tolerancia fenntartásában valamint a daganatos betegségek kialakulásában [139].

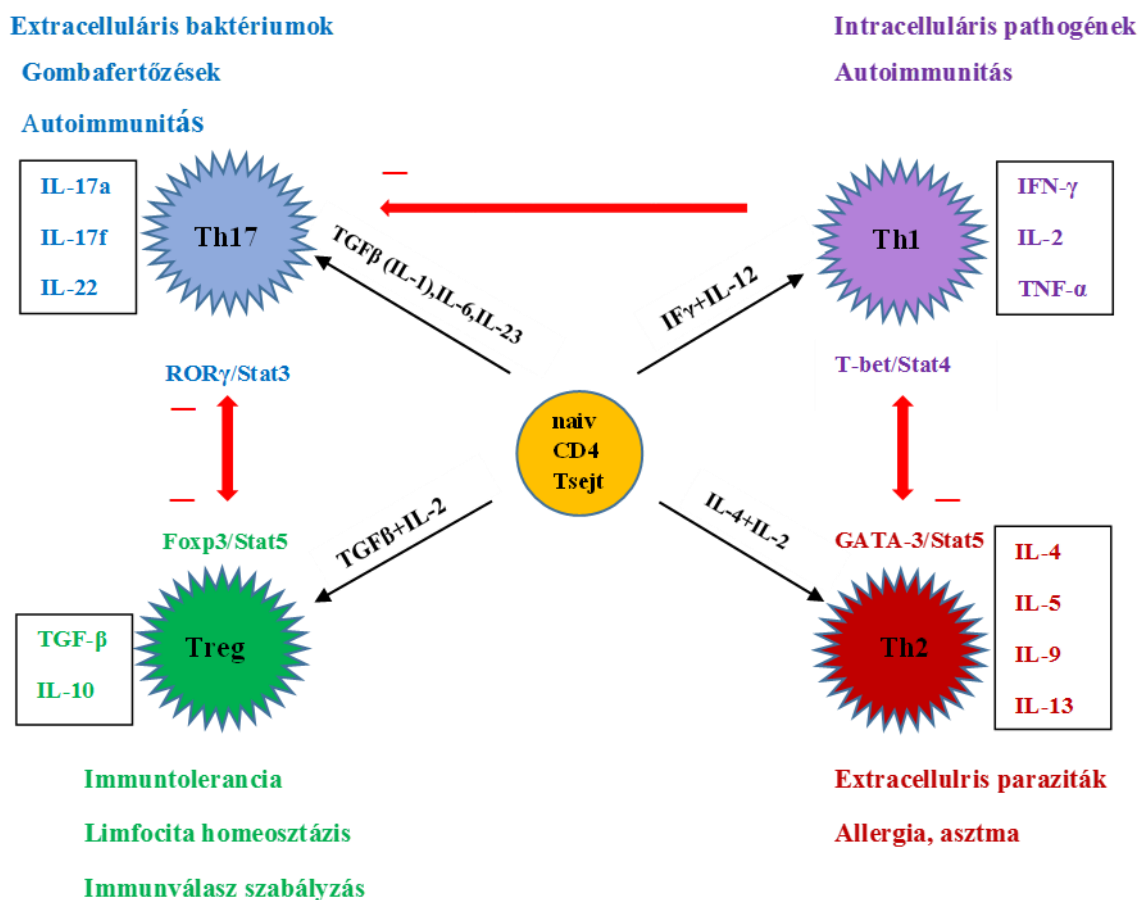
A Treg sejtek aktivációja antigén specifikus módon, az MHC II osztályba tartozó antigének felismerése révén, TCR receptorokon keresztül történik. Az aktivációt követően azonban az effektor T sejt válaszokat antigéntől függetlenül gátolják feltételezhetően sejt-kontaktus-dependens úton [158]. A Treg sejtek két fő mediátorának, a TGF- β és az IL-10 termelésének a természetes regulatórikus T sejtek szuppresszor funkciójában játszott szerepe vitatott [159]. Míg *in vitro*, neutralizáló antitestekkel valamint TGF- β és IL-10 termelésre nem képes regulatórikus T sejtekkel végzett kísérletek alapján megkérdőjelezhető ezen citokinek szükségessége az immunszuppresszív folyamatokban [158, 160], addig *in vivo* vizsgálatokban nagy koncentrációjú anti-TGF- β monoklonális antitest adása megszüntette a Treg sejtek által kiváltott szuppressziót [161]. Más vizsgálatok szerint a Tregok a közvetlen sejt-kapcsolaton és szolubilis mediátorokon kívül szuppresszor hatásuk egy részét intermediereken – NK T sejteken [162] és hízósejteken [163] – keresztül fejtik ki, képesek egyes sejtek sejt-ciklusát leállítani az IL-2 jelátviteli út szétkapcsolásával [164]. Célsejtjeik közé tartoznak a CD4⁺ és CD8⁺ T limfociták, de az NK sejtek citotoxikus aktivitását, a DC sejtek érését és a B limfociták immunglobulin-termelését is gátolják [165].

Házi poratkára allergiás asztmás gyerekek perifériás vérében csökkent CD4⁺CD25⁺ T sejt-számot észleltek nem-atópiás kontrollokkal összehasonlítva [166], ugyanígy az IL-10

és TGF- β szintekben is csökkenést írtak le mérsékeltén súlyos vagy súlyos asztmásokban [167]. Egy másik vizsgálatban asztmás gyermekek bronchusmosó folyadékában is alacsonyabbnak bizonyult a Treg arány, mint az egészséges, vagy a kortikoszteroiddal kezelt gyermekek esetében [168]. A fenti vizsgálatok a Treg sejtek asztma patofiziológiájában játszott szerepét támasztják alá.

2.3.4. A T helper sejtprofil

A kutatási eredmények nyilvánvalóvá tették, hogy a Th1 és Th2 sejtek mellett a Treg és Th17 sejttípusok is aktívan részt vesznek az asztmás gyulladás folyamatának szabályzásában, így a Th1/Th2 paradigma helyett ma egy komplexebb, kölcsönösen egymásra ható rendszerről beszélhetünk, mely a Th1, Th2, Th17 és Treg sejtekből áll. A naiv CD4⁺ T helper sejtek differenciálódási irányát a lokális citokin milió határozza meg, de az immunválasz típusát az egyes sejtek által termelt, egymásra ható citokinek és egyéb szolubilis faktorok is alakítják (3. ábra) [169, 170]. Asztmában a Th2 vagy Th17 dominancia a betegség hátterében zajló gyulladás eozinofil vagy neutrophil jellegét határozhatja meg, a legtöbb esetben azonban tisztán Th2 domináns betegség csak gyermekkorban detektálható, a későbbiekben kevert Th profil a jellemző [171].



3. ábra A CD4⁺ limfocita fejlődési irányok és a sejtek közötti keresztreguláció

2.3.5. Egyéb sejtek asztmában

A tüdőben előforduló természetes ölősejtek (CD3-CD56⁺CD16⁺ -natural killer- NK sejtek) többi szervhez viszonyított viszonylag magas aránya azt sugallja, hogy ez a sejttípus kiemelt jelentőségű a légúti immunológiában. Ezen sejtek a veleszületett immunitás egyik kulcsszereplőjeként részt vesznek a celluláris toxicitásban, valamint az általuk termelt citokineken és kemokineken keresztül a vírusok, baktériumok, paraziták és a daganatos megetegedések elleni védelemben. Bár a vírusfertőzések és az asztma közötti ok-okozati összefüggés nem egyértelmű, a rhinovírusfertőzések jelentősége az asztma exacerbációk kiváltásában bizonyított és az is ismert, hogy a rhinovírusfertőzés

által kisgyermekkorban kiváltott sípoló-ziháló légzés fontos rizikófaktora az asztma későbbi kialakulásának a genetikailag arra hajlamos egyéneknél [172]. Az NK sejtek vírusok elleni védekezésben való részvétele tehát valószínűsíti szerepüket az asztma patomechanizmusában is. Ezt támasztja alá az a megfigyelés is, miszerint asztmában és allergiás rhinitisben csökken az NK sejtek száma és IFN γ termelő képessége [173], valamint az, hogy NK deficiencia esetén a respiratory syncytial vírus (RSV) infekció az IFN- γ termelés csökkenését eredményezve RSV specifikus Th2-es immunválasz kialakulásához és a későbbiekben allergiás tüdőbetegség kialakulásához vezet [174].

A CD4 antigént expresszáló NKT sejtek felszínén egyaránt megtalálhatóak az NK sejtek markerei és a T sejt receptor. Az invariáns T sejt receptort hordozó iNKT sejtek aktiválódásuk után gyorsan és nagymennyiségben tudnak sokféle citokint termelni (úgy mint IL-4, IL-13, IFN- γ), ami által fokozzák a dendritikus és NK sejtek, B sejtek valamint a hagyományos CD4+ és CD8+ T sejtek funkcióját, így teremtve kapcsolatot a veleszületett és szerzett immunválasz között. Az elmúlt évek során bebizonyosodott, hogy az iNKT sejteknek részük van a Th2 típusú, allergén-indukálta légúti hiperreaktivitás kialakulásában [175]. Asztmás betegek hörgőmosó folyadékában jóval nagyobb arányban mutattak ki iNKT sejteket egészséges kontrollokhoz képest [176], melyek az asztma súlyosságától függően citotoxikus hatást gyakorolnak a regulatórikus T sejtekre [177]. Ezek alapján az asztmás gyulladás kialakulásához az iNKT sejtek részvétele is hozzájárul.

2.4. A FIZIOLÓGIÁS TERHESSÉG IMMUNOLÓGIÁJA

2.4.1. A Th1, Th2 és a regulatórikus T sejtek szerepe

50 évvel ezelőtt merült fel annak a lehetséges magyarázata, hogy az apai antigéneket is hordozó, az anyai szervezet számára semiallograft magzat hogyan kerülhet ki az anyai immunrendszer felügyelete alól, és kerülheti el a kilökődést. Az elmúlt évtizedek alatt egyre egyértelműbbé vált, hogy ehhez a fetoplacentáris és az anyai immunrendszer együttműködése szükséges, melynek következtében immuntolerancia jön létre a magzat védelmében. Számos korábbi tanulmány az anyai immunrendszer egyensúlyának Th2 irányú eltolódását igazolta terhesség alatt, mely állapot kedvező voltát az antiinflammatorikus környezettel, a sejtes, Th1 típusú immunválasz gyengülésével

magyarázták [178]. E mechanizmus fontosságának ellentmond azonban, hogy Th2 túlsúlyú immunválasz esetén is leírtak visszatérő vetélést valamint, hogy Th2 citokin hiányos (IL-4, IL-5, IL-9 és IL-13 génkiütött) egerekben is szövődmény nélkül zajlott a terhesség, amely a Th2 dominancia jelentőségét megkérdőjelezi. Emellett bebizonyosodott, hogy -bár nagymennyiségű Th1 citokin egerekben vetélést indukál- az IF γ fontos szerepet játszik a vascularis remodelingben a rágcsálók terhességének korai szakában. A Th1/Th2 paradigma tehát önmagában elégtelennek bizonyult a magzati antigenitással szembeni tolerancia kialakulásának magyarázatára. Sem a Th1, sem a túlzott Th2 túlsúly nem megfelelő a magzat számára, úgy tűnik, hogy a két sejt pontos arányának baállítódása, a Th1 sejtek teljes elnyomása helyett, ezek megfelelő kontrollja biztosíthatja az optimális környezetet az egészséges terhesség lefolyásához. Ehhez azonban más sejtek közreműködése is szükséges. Az effektor T sejtek szabályzásában, a terhességi tolerancia kialakulásában a regulatórikus T sejteké a főszerep. Ezen sejtek szisztémás expanzióját már a terhesség korai időszakában megfigyelték [179], arányuk a második trimeszterben a legmagasabb, majd a harmadik trimeszterben csökken. Vizsgálati eredmények igazolták, hogy a Treg sejtek az apai eredetű sejtekre specifikusak, ami a regulatórikus T sejtek paternális eredetű sejteket védő szerepére utal az anyai immunrendszerrel szemben [180]. Protektív szerepüket megerősíti, hogy számos vizsgálatban összefüggést lehetett kimutatni a sejtek alacsony korrelációja és az ismétlődő spontán vetélések [181, 182], az infertilitás és a preeclampsia között [183]. A sejtek prevalenciája a fiziológiás magzati fejlődéssel is összefügg; pozitív korreláció mutatható ki előfordulási gyakoriságuk és az újszülött születési súlya között [71]. Az intenzív kutatások elenére a regulatórikus T sejtek terhesség alatti emelkedésének háttere egyelőre tisztázatlan, a tolerancia kialakulásának mechanizmusa vélhetően többértű. Tekintettel arra, hogy az apai antigének az inszeminációt követően rögtön megjelennek, a sejtexpanszió hátterében alloantigén eredet valószínűsíthető [184], de antigén-independens faktorként a terhességi hormonok szerepe is felmerült [185].

2.4.2. Egyéb sejtek szerepe fiziológias terhességben

A természetes ölősejtek (natural killer, NK-sejtek) egy aktivált alcsoportja szintén részt vesz az embrió zavartalan fejlődésében. Az ún. uterinális natural killer sejtek (uNK) a méh átalakult nyálkahártyájában találhatóak, a terhesség első trimeszterében ez a speciális NK-sejtcsalád teszi ki az NK sejtek jelentős részét. E sejtek a perifériás NK sejtekből származnak, méhbe történő migrációjukért, citotoxikus aktivitásuk csökkenéséért hormonális szabályzás a felelős. Az uNK sejtek trophoblastsejtekkel történő interakciójuk következményeként nagymennyiségű Th2 típusú citokint kezdenek termelni, mely az egészséges terhesség feltétele. Emellett a placentális növekedési faktor (PIGF), vaszkuláris endotheliális növekedési faktor (VEGF), valamint TGF- β és IL-10 termelésén keresztül járulnak hozzá a placentáris vaszkulatura kialakulásához és az immunmodulációhoz [186].

A CD4⁺ sejtek között a Th17 sejtek aránya egészségesekben nagyon alacsony (0,64–1,4%) [187, 188]. Nakashimáék vizsgálata alapján ehhez viszonyítva egészséges terhességben a sejtek gyakorisága nem változik [188], Santner-Nanan és munkacsoportja ugyanakkor a sejtek harmadik trimeszterbeli gyakoriságát szignifikánsan alacsonyabbnak mérték [189]. Nem várt módon viszont a Th17 gyakoriság a deciduában szignifikánsan magasabb volt a perifériás vérhez képest, melynek oka a Th17 sejteknek az extracelluláris mikrobák elleni védekezésben betöltött szerepe lehet, mivel a méh ürege nem teljesen steril. A Th17 sejtekről ismert, hogy részt vesznek a gyulladásos-, valamint az autoimmun és kilökődési folyamatokban és felmerült, hogy bizonyos terhességgel összefüggő patológiás állapotok kialakulásához is hozzájárulhatnak, így az ismétlődő spontán vetéléshez [189], valamint a preeclampsiahoz [190].

Mindemellett az IL-17 növeli egy bizonyos humán choriocarcinoma sejtvonal progeszteron szekrécióját valamint fokozza e sejtek invazivitását [191], mely azt sugallja, hogy az IL-17 hasznos is lehet terhességben. Ezek alapján valószínűleg a Th17 sejteknél sem a sejtek teljes elnyomása a cél, hanem a szoros kontrollal megteremthető érzékeny egyensúly beállítása, mely biztosítja a fiziológias terhesség fenntartását.

2.5. AZ ASZTMÁS TERHESSÉG IMMUNOLÓGIÁJA

Az asztmás nők terhessége során bekövetkező immunológiai változások jórészt még ismeretlenek. Munkacsoportunk korábbi vizsgálataiban nem kontrollált asztmás terhesekben mind a Th1, mind pedig a Th2 prevalencia nőtt, és az immunológiai aktiváció összefüggést mutatott a magzat növekedésével, az újszülöttkori születési súllyal. A többnyire nem jól kontrollált asztmás várandós nők körében nagy számban lehetett perifériás IFN- γ és IL-4 termelő sejteket kimutatni, mely sejtek száma és a várandósok PEF értékei között negatív összefüggés mutatkozott [192]. Ez alapján, az asztmás várandós nők asztma kontroll szintje kapcsolatban állhat a perifériás T sejt-mediált gyulladással. Az IFN- γ vagy az IL-4 pozitív sejtek száma és az újszülött születési súlya között negatív korreláció volt megfigyelhető, ami arra utal, hogy a magzat méhen belüli fejlődésének elmaradása az aktív, asztma-asszociált anyai immunreakció következménye lehet. Ezt támasztja alá az a saját megfigyelés is, miszerint a regulatórikus T sejtek egészséges terhességben megfigyelt növekedése asztmás terhességben elmaradt [71], s míg egészséges terhességben pozitív korrelációt detektáltunk a Tregok száma és a születési súly között, addig asztmás várandósok között ilyen összefüggés nem volt kimutatható. Azokban az asztmás terhesekben, akik megfelelő inhalációs kortikoszteroid kezelést kaptak, magasabb Treg prevalencia irányába mutató trend volt megfigyelhető azokkal szemben, akik az ICS kezelést nem tartották be megfelelően. Kontrollált asztmával szövődött várandósságban viszont az allergiás válaszreakciók terhesség indukálta csökkenését figyeltük meg; nem terhes asztmásokban és egészséges terhesekben ugyan magasabb volt az aktivált CD4+ és CD8+ T sejtek valamint az NK T sejtek aránya egészséges nem terhes kontrollokhoz hasonlítva, de a beteg várandósokban további limfocita aktiváció már nem volt megfigyelhető [193]. Emellett asztmás terhesekben a naiv CD4 sejtek aránya magasabbnak, míg az effektor/memória CD4+ és NK sejteké alacsonyabbnak bizonyult nem terhes asztmás betegekhez képest [71]. Az utóbbi eredmények a szövődménymentes terhesség limfocitaaktivációt gátló immunszuppresszív hatására utalhatnak kontrollált asztmában. Mitöbb, a fokozott T sejt apoptózis jeleként egészséges terhességben a CD95+T sejtek nagyobb arányban voltak kimutathatók az egészséges nem terhes kontrollcsoporthoz képest, és e sejtek aránya pozitív korrelációt mutatott az egészséges várandósok újszülöttjeinek születési súlyával, ez a korreláció asztmás terhességben nem volt igazolható [192].

Az asztmában zajló immunológiai folyamatok és a megzavart intrauterin növekedés közötti kapcsolat lehetőségét erősítette másik korábbi megfigyelésünk is, melynek során asztmás várandósokban egy, a gyulladásos válaszban résztvevő citokin, a hősokk protein 70 magasabb keringő szintjét igazoltuk az újszülöttek alacsonyabb születési súlya mellett az egészséges kontrollokhöz viszonyítva [101].

Az asztma és terhesség által indukált lokális és szisztémás immunológiai változások és ezek kölcsönhatásainak pontosabb megismerése további kutatásokat igényel. Nem ismert az asztmás terhesség során észlelhető Th sejtprofil és ennek klinikai paraméterekkel vagy a légúti gyulladás markereivel való esetleges összefüggése sem, illetve az asztmás terhességben fennálló légúti gyulladást jellemző paraméterek is feltárásra várnak.

3. CÉLKITŰZÉSEK

A lokális gyulladás neminvaszív monitorozására alkalmas markerek és a T sejt immunegyensúly megismerése asztmás terhességben elősegítheti a szövődmények patomechanizmusának jobb megértését, míg a jó asztma kontroll magzati növekedésre gyakorolt kedvező hatása csökkentheti a szövődmények rizikóját. Asztmás nem terhes betegekben a kilélegzett levegő pH változása összefügg a kontroll szinttel, asztmás terhességre vonatkozó ilyen vizsgálat még nem történt. Mindemellett maga a terhesség okozta alkalosis is hatással lehet az EBC pH-ra. Első vizsgálatunk célja az EBC pH változásainak vizsgálata volt asztmás és egészséges terhes nőkben választ adva a következő kérdésekre:

1. Befolyásolja-e a terhesség önmagában az EBC pH értékét egészséges asszonyoknál, és ha igen, a terhesség indukálta változások asztmás terhességben megfigyelhetők-e?
2. Az EBC pH összefüggést mutat-e az asztma klinikai jellemzőivel és a magzati növekedéssel asztmás várandósokban?

Tekintettel arra, hogy korábbi vizsgálatainkban a perifériás Th1 és Th2 sejtek aránya összefüggést mutatott az anyai asztma kontrollal és a magzati fejlődéssel, a második vizsgálatunk célja az immunválasz fő meghatározójaként számon tartott Th1/Th2/Th17/Treg limfocita egyensúly asztmás terhességben történő megfigyelése volt. Legfontosabb célkitűzéseink itt az alábbiak voltak:

3. Az ismert, fiziológiás terhességre jellemző Treg proliferáció jelenlétének igazolása vagy elvetése asztmás terhességben.
4. A Th1/Th2/Th17/Treg immunegyensúlyban bekövetkező változások leírása asztmás terhességben, illetve az adatok összehasonlítása az egészséges terhességben mért adatokkal.

Ismert, hogy asztmás nem terhes betegek esetén a légúti gyulladást jellemző perifériás T sejtprofil és a frakcionált kilélegzett NO koncentráció egymással összefüggést mutat, a magasabb Th2 sejtarány erőteljesebb légúti gyulladással jár együtt. Harmadik vizsgálatunk során ezért asztmás terhességben vizsgáltuk a kapcsolatot a T sejt immunválasz és a légúti gyulladásra jellemző FE_{NO} között. Kerestük a választ a következő kérdésre:

5. Van-e összefüggés a perifériás Th sejtprofil, a légúti gyulladás, illetve az asztma tüneti kontrollja között asztmás terhességben?

4. MÓDSZEREK

Vizsgálatainkban asztmás terhes asszonyok (AT) mellett asztmás nem terhes (ANT), egészséges terhes (ET) és egészséges nem terhes nők (ENT) vettek részt. A csoportok között életkorban és gesztációs korban nem volt eltérés. Valamennyi vizsgálatban részt vevő beteg enyhe vagy közepes súlyos perzisztáló allergiás asztmás volt. A diagnózist legalább fél évvel a terhesség előtt állapítottuk meg az aktuális GINA ajánlás szerint) [6], és mindenkinek volt korábbi pozitív allergiás bőrpróba eredménye, ami igazolta a betegség allergiás eredetét. Kizárási kritériumok voltak a dohányzás vagy legalább 5 csomagév dohányzási anamnézis, ismert anyai vagy magzati terhességi szövődmény (pl. fenyegető vetélés, preeclampsia), bármely egyéb krónikus betegség (az allergiás rhinitis kivételével), akut asztma-exacerbáció vagy akut fertőzés 3 héten belül, vagy 6 héten belüli szisztémás kortikoszteroid kezelés. A betegek fenntartó asztma ellenes kezelése alapvetően inhalációs kortikoszteroid volt. Asztmás várandós betegeinket az I.sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán való tervezett vizitjük során válogattuk be kutatásunkba, és a Pulmonológiai Klinika ambulanciáján vizsgáltuk őket. A kutatást a Semmelweis Egyetem etikai bizottsága (TUKEB) engedélyezte, a résztvevők írásos beleegyezésüket adták. A betegeket arra kértük, gyógyszereiket 12 órával a vizsgálat előtt ne használják. Az asztmás nők kontrolláltságát, légzésfunkciós eredményeit, gyógyszerelését és klinikai tüneteit a kezelőorvos jegyezte fel, vérgázértékeket is mértünk. Ambulanciánkon részletes anamnézist vettünk fel, különös tekintettel az asztmára (az asztma kezdetének idejét, súlyosságát, inhalatív allergénekkal szembeni meglévő prick teszt eredményét, a használt antiasztmatikumokat). Fizikális vizsgálat minden egyes alkalommal történt. Az egészséges kontrollokat az egyetem dolgozói és hallgatói alkották.

4.1. Légzésfunkciós mérés

A betegek a légzésfunkciós vizsgálat során három elfogadható erőltetett kilégzési manővert illetve rezisztenciavizsgálatot teljesítettek, melyek közül a legjobbat értékeltük. Az erőltetett kilégzési másodperc-térfogat (FEV1), az erőltetett vitálkapacitás (FVC) és a légúti áramlási ellenállás (Raw) értékeit elektronikus spirométerrel és pletizmográfal

mértük meg (PDD-301/s; Piston, Budapest) az American Thoracic Society ajánlása szerint [194].

4.2. EBC pH mérés

Kilégzett levegő kondenzátumot vizsgáló tanulmányunkban kilégzett levegőt minden résztvevőtől gyűjtöttünk. Minden vizsgálati személy nyugodtan, egyenletes frekvenciával és mélységgel lélegzett.

Az EBC mintákat 10 percig gyűjtöttük orrcsipesz viselése nélkül -80°C -ra hűtött hordozható mintavételi csőbe (RTube, Charlottesville, VI, USA) (4/a,b,c ábra), a mintákat -80°C -on tároltuk legfeljebb 4 hétig. Az EBC pH-t szobahőmérsékleten ($22-25^{\circ}\text{C}$) mértük 10 perc argongázzal való légtelenítés után (SevenEasy S20, Mettler Toledo, Schwerzenbach, Svájc)



4.a ábra Hordozható Rtube kondenzáló eszköz /RTubeTM/:
Polipropilén kondenzáló cső
szájrésszel (egyenirányító billentyű
segíti a kilégzés hatékonyságát)



4.b. ábra A műanyag csövet
körbevevő lehűtött alumínium
fémköpeny és védőköpeny a cső
hidegen tartására valamint a
fagyási sérülések elkerülésére



4.c ábra Az eszköz asztmás várandós betegünk kezében
A képet betegünk beleegyezésével készítettük.

4.3. A kilégzett levegő nitrogén-monoxid frakciójának (FE_{NO}) mérése

A FE_{NO} mérése az Európai Unió és az FDA által befogadott elektrokémiai módszert alkalmazó NIOX MINO® légúti gyulladás monitorral (NIOX MINO®; Aerocrine AB, Solna, Svédország) történt az ERS/ATS ajánlásoknak megfelelően [17]. A vizsgálati személy NO-mentes levegőt lélegzett be maximális belégzéssel, majd 10 másodpercen keresztül 10 H₂Ocm ellenállással szemben 50 mL/s áramlással lélegzett ki, 12–18 H₂Ocm között tartva a nyomást. A nyomás fenntartásában audiovizuális visszajelzés segített (a készülék kijelzőjén egy felhő képe jelenik meg, melyet a kifújás erősségével szabályozva egy sötét zónán belül kell tartani, miközben a vizsgált személy a kijelzőt egy tükörből látja). Ha a kilégzési áramlási sebesség nem megfelelő, azt a készülék által adott konstans hang magasságának megváltozása is jelzi). A szenzor -a nazális NO kiküszöbölése miatt- a kilégzés megkezdését követő 2-3 másodpercben indítja a mérést, majd az adatok feldolgozása 1 perc 45 másodpercet vesz igénybe, ezután látható az eredmény a készülék kijelzőjén.



5. ábra Asztmás terhes betegünk kilélegzett nitrogén-monoxid mérés közben
A kép a betegünk beleegyezésével készült.

4.4. Asztma kontroll teszt

A tüdőgyógyászati vizsgálat során a tüneti asztma kontroll mérésére a nemzetközileg elfogadott, 12 év feletti asztmában szenvedő betegek számára készült asztma kontroll teszt™ -et (ACT) alkalmaztuk, mely a betegek számára magyar nyelven is elérhető (6. ábra) [195, 196]. Az aktuális állapot megítélése a kérdésekre adott válaszok pontszámának összegzése alapján történt az alábbi felosztás szerint:

25 pont- kontrollált asztma

20-24 pont-részlegesen kontrollált asztma

20 pont alatt- nem kontrollált asztma

Ismerje meg asztma pontszámát! –
Törekedjen a legjobbra!



Összpontszám: 25 – Gratulálunk!

Asztmája **TELJES KONTROLL** alatt van. Ön tünetmentes és nem kell betegsége miatt semmiről lemondania. Ha ebben változás lépne fel, feltétlenül keresse fel orvosát!

Összpontszám: 20-24 – Jó úton a cél felé!

Válaszai alapján Ön **JÓL** van, de nem **TELJESEN** tünetmentes. Orvosa segítségével tovább javíthatja állapotát, és akár a **TELJES** tünetmentességet, tehát a **TELJES KONTROLLT** is elérheti.

Összpontszám: 20 alatt – Távol a céltől!

Válaszai alapján Ön rosszul érzi magát, asztmája **NEM KONTROLLÁLT**. Orvosa tanácsait követve javíthat betegsége kontrollszintjén.

Asztma Kontroll Teszt™



Az alábbi teszt segítségével felmérhető a 12 év feletti asztmás betegek esetében, milyen mértékben kontrollált a betegségük.

Kérjük, minden kérdésnél karikázza be az Önre leginkább jellemző pontértéket! A teszt összesen ÖT kérdésből áll.

Számolja ki az egyes válaszokért járó pontszámok összeadásával az Ön asztma pontszámát! Kérjük, eredményét beszélje meg orvosával!

A **tuloldalon** található szöveges értékelés segítséget nyújt összpontszáma értelmezéséhez.

Ismerje meg asztma pontszámát! –
Törekedjen a legjobbra!



Ismerje meg asztma pontszámát! –
Törekedjen a legjobbra!

1. lépés: Karikázza be minden kérdésnél az Önre leginkább jellemző válasz pontszámát, és írja be azt a sor végén található négyzetbe. Ne feledje, minél őszintébb válaszaival, annál realisabban tudja orvosa felmérni asztmája állapotát!

1. kérdés:

Az **elmúlt 4 hétben** milyen gyakran korlátozta asztmája a munkahelyi, iskolai vagy otthoni feladatai elvégzésében?

| | | | | | | | | | | |
|--------------|---|---------|---|------|---|--------|---|------|---|-----------|
| Folyamatosan | 1 | Gyakran | 2 | Néha | 3 | Ritkán | 4 | Soha | 5 | PONT-SZÁM |
|--------------|---|---------|---|------|---|--------|---|------|---|-----------|

2. kérdés:

Az **elmúlt 4 hétben** milyen gyakran érzett asztmája miatt nehézséget levegővételekor?

| | | | | | | | | | | |
|------------------|---|-----------------|---|---------------------|---|---------------------|---|-------------|---|-----------|
| Naponta többször | 1 | Naponta egyszer | 2 | Heti 3-6 alkalommal | 3 | Heti 1-2 alkalommal | 4 | Egyszer sem | 5 | PONT-SZÁM |
|------------------|---|-----------------|---|---------------------|---|---------------------|---|-------------|---|-----------|

3. kérdés:

Az **elmúlt 4 hétben** hány alkalommal ébredt fel éjszaka vagy szokásos reggeli ébredési időpontjánál korábban asztmás tünetei miatt (sípolás, köhögés, nehéz légzés, szorító érzés vagy fájdalom a mellkasban)?

| | | | | | | | | | | |
|------------------------------|---|---------------------|---|---------------------|---|----------------|---|-------------|---|-----------|
| Hetente legfeljebb 4 éjszaka | 1 | Hetente 2-3 éjszaka | 2 | Heti egy alkalommal | 3 | 1-2 alkalommal | 4 | Egyszer sem | 5 | PONT-SZÁM |
|------------------------------|---|---------------------|---|---------------------|---|----------------|---|-------------|---|-----------|

4. kérdés:

Az **elmúlt 4 hétben** milyen gyakran használta rohamoldó hörgőtágító gyógyszerét (pl. szürke pipa)?

| | | | | | | | | | | |
|---------------------------------|---|---------------------|---|---------------------|---|----------------------------------|---|-------------|---|-----------|
| Naponta legfeljebb 3 alkalommal | 1 | Napi 1-2 alkalommal | 2 | Heti 1-3 alkalommal | 3 | Heti 1 alkalommal vagy ritkábban | 4 | Egyszer sem | 5 | PONT-SZÁM |
|---------------------------------|---|---------------------|---|---------------------|---|----------------------------------|---|-------------|---|-----------|

5. kérdés:

Összességében hogyan értékeli asztmás állapotát az **elmúlt 4 hétben**?

| | | | | | | | | | | |
|---------------------------|---|---------------------|---|--------------------|---|-----------------|---|-------------------------|---|-----------|
| Egáltalán nem kontrollált | 1 | Rosszul kontrollált | 2 | Ritkán kontrollált | 3 | Jól kontrollált | 4 | Tökéletesen kontrollált | 5 | PONT-SZÁM |
|---------------------------|---|---------------------|---|--------------------|---|-----------------|---|-------------------------|---|-----------|

2. lépés: Számolja ki összpontszámát pontszámai összeadásával!

3. lépés: A **tuloldalon** található szöveges értékelés segítségével értelmezze összpontszáma jelentését!

ÖSSZPONTSZÁM

6. ábra Asztma Kontroll Teszt-5 kérdésből álló rövid kérdőív, mellyel a betegek ellenőrizhetik az asztma kontroll szintjét.

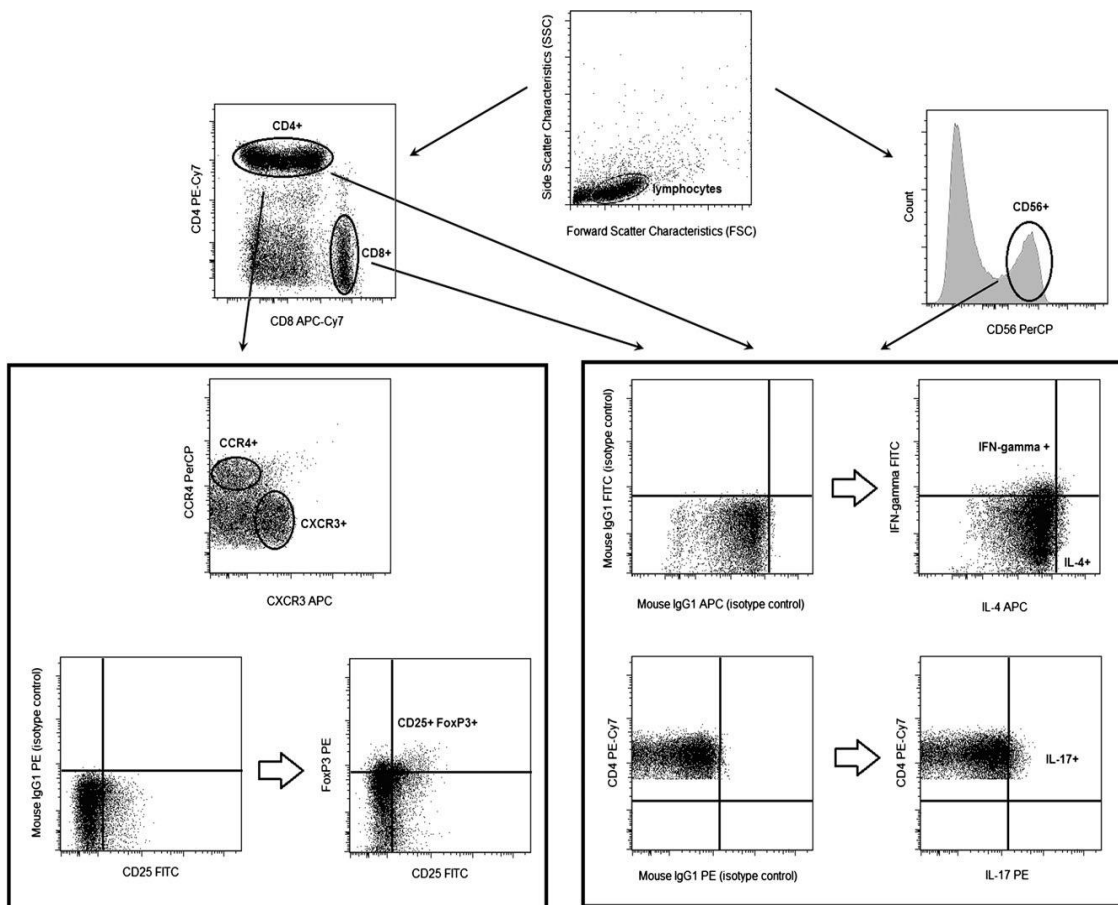
4.5. Vérgáz vizsgálat

A vérgáz paraméterek meghatározása (parciális oxigén nyomás (pO₂), parciális széndioxid nyomás (pCO₂), oxigén szaturáció (SO₂), pH) arterializált kapilláris vérből (fülcimpából vett vérmintából) vérgáz analizátorral (Stat Profile pHox Basic, Nova Biomedical, Austria) történt.

4.6. A perifériás Th1/Th2/Th17/Treg limfocita szubpopulációk és természetes ölösejtek meghatározása asztmás gravidáknál áramlási citometriával

A lítium-heparinos vérvételi csövekbe (BD Vacutainer; BD Biosciences, San Jose, CA, USA) gyűjtött perifériás vérmintákból sűrűség-grádiens centrifugálás segítségével izoláltuk a perifériás mononukleáris sejteket (PBMC) (Ficoll Paque, Amersham Biosciences AB, Uppsala, Sweden, 27 min, 400 x g, 22 °C). Az így nyert sejtsuszpenziót kétszer mostuk PBS-ben (Phosphate Buffer Saline, foszfát puffer oldat). Ezután a sejteket RPMI 1640 médiumban szuszpendáltuk (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). A sejtsuszpenziót két részre osztottuk. A sejtek egy részét 30 percen keresztül, szobahőmérsékleten az alábbi sejtfelszíni monoklonális antitestekkel jelöltük: fikoeritrin-cianin7 (PE-Cy7)-konjugált CD4, APC-Cy7-konjugált CD8 (PharMingen, San Diego, CA, USA), valamint peridin-klorofil-protein (PerCP)-konjugált CD56 (BioLegend, San Diego, CA, USA). Mosást követően FACS Lysing Solution-t adtunk a sejtekhez (BD Biosciences), majd ennek eltávolítása után FACS Permeabilizing Solution-nel (BD Biosciences) kezeltük a sejtsuszpenziót 10 percen keresztül, szobahőmérsékleten. A sejtek másik részét 30 percen keresztül 4 °C-on PE-Cy7-konjugált CD4, fluorescein-izotiocianát (FITC)-konjugált CD25, APC-konjugált CXCR3 (PharMingen), valamint PerCP-konjugált CCR4 (BioLegend) monoklonális antitestekkel jelöltük. Mosás után a sejteket Fixation/Permeabilization oldattal fixáltuk és permeabilizáló pufferrel kezeltük, a gyártó utasításainak megfelelően (eBioscience, San Diego, CA, USA). Az intracelluláris citokinek kimutatásához a sejtek első csoportját a festési eljárás előtt 10 ng/ml koncentrációjú forbol-misztrát-acetáttal (PMA; Sigma-Aldrich), 1 µg/ml koncentrációjú ionomycinnel (Sigma-Aldrich) és 10 µg/ml koncentrációjú brefeldin A-val (BFA; Sigma-Aldrich) stimuláltuk 4 órán keresztül, 37 °C-os hőmérsékleten, 5% CO₂ mellett. Majd a sejt felszíni festési eljárás után 30 percen keresztül, szobahő-

konjugált IL-17A, APC-konjugált IL-4 (eBioscience), valamint FITC-konjugált IFN- γ (BioLegend) intracelluláris monoklonális antitestekkel inkubáltuk a mintákat. A Treg sejtek kimutatásához a második sejtesoportot fikoeritrin (PE)-konjugált FoxP3 intracelluláris monoklonális antitesttel 30 percen keresztül 4 °C-on inkubáltuk (eBioscience). Mosást követően a mintákat BD FACS Aria áramlási citométeren mértük (BD Biosciences), 200.000 sejtet rögzítettünk. A különböző sejttípusok elkülönítéséhez először az áramlási citométerrel lemerített mintában található összes sejtet ábrázoló ún. dot-ploton a Forward Scatter és Side Scatter karakterisztika alapján elkülönítettük a limfocitákat a PBMC közül. Második lépésként kijelöltük a CD4+, CD8+ vagy CD56+ limfocitákat, és ezeken a populációkon belül vizsgáltuk tovább a sejteket, a CXCR3, CCR4, CD25, FoxP3, IFN- γ , IL-4 és IL-17 markerekkel való festődés alapján elkülönítve az egyes sejttípusokat. Izotípus kontrollként PE-, APC valamint FITC-konjugált egér IgG1 antitesteket használtunk (eBioscience és BioLegend). Az áramlási citometria a Semmelweis Egyetem I. Gyermekgyógyászati Klinikájának kutató laboratóriumában történt.



7. ábra Kapuzási stratégia a vizsgált limfocita populációk kiválasztására.

APC, allo-fikocianin; PerCP, peridinin-klorofil-protein

4.7. A terhességre és újszülöttre vonatkozó adatok begyűjtése

A gesztációval kapcsolatos adatokat (terhességi kor, esetleges szövődmények, alapterbetegségek), illetve a szüléssel és a magzattal kapcsolatos információkat (szülés ideje, módja, magzat neme, újszülött súlya) terhesgondozási adatlapokból, születési zárójelentésből valamint telefonos megkérdezés útján a várandós asszonyoktól nyertük.

4.8. Statisztikai analízis

Az adatok eloszlását vizsgálatunkban a Kolmogorov-Smirnoff teszt segítségével elemeztük és minden esetben a 0,05-nél kisebb p értéket tekintettük szignifikánsnak.

Az EBC pH-t vizsgáló tanulmányunkban a FE_{NO}, ACT és inhalációs szteroid (ICS) dózis értékek nem normális eloszlást követtek. Az EBC pH csoportok közötti összehasonlítást variancia-analízissel, majd Newman–Keuls post-hoc teszttel végeztük. Párosítatlan t-próbát és Mann–Whitney tesztet használtunk a légzésfunkciós, FE_{NO} és ACT értékek asztmás csoportok közötti összehasonlítására. Az EBC pH kapcsolatát a FE_{NO} szinttel, ACT pontszámmal és ICS dózissal Spearman teszttel értékeltük, míg a légzésfunkciós értékekkel és születési tömeggel való kapcsolatát Pearson teszttel vizsgáltuk (GRAPHPAD PRISM 4.0; GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Az adatokat átlag ± standard deviáció (SD) formájában adtuk meg, kivéve a FE_{NO}, ACT és ICS dózis értékeket, amik medián (interkvartilis tartomány) formában szerepeltek. A vizsgálatot úgy terveztük, hogy az EBC pH csoportok közötti esetleges eltéréseit a következő paraméterekkel detektálhassuk: 85%-os erő, 0.40 hatásnagyság és $\alpha = 0.05$.

A perifériás helper és regulációs T sejtek egyensúlyát vizsgáló tanulmányunkban az adatokat medián és kvartilisek formátumban adtuk meg. A csoportok közötti összehasonlításokatt Kruskal- Wallis teszt és Mann-Whitney U teszt segítségével végeztük, mivel a Kolmogorov-Smirnoff teszt elvégzésekor úgy találtuk, hogy az adatok nem követik a normál eloszlást. A korrelációk elemzésére Spearman tesztet alkalmaztunk. A 0,05-nél kisebb p értékeket tekintettük szignifikánsnak. A mintaszámot úgy kalkuláltuk, hogy a vizsgálat ereje elérjen 80%-ot és a hatásnagyság értéke pedig 0.45 legyen a T sejt alcsoportok eltéréseinek kimutatásában. A statisztikai számításokat az R szoftverrel végeztük (R Development Core Team; R Foundation for Statistical Computing, Bécs, Ausztria).

A perifériás T sejtek kapcsolatát a légúti gyulladással és asztma kontrollal vizsgáló tanulmányunkban a vizsgálati alanyok számát úgy kalkuláltuk, hogy vizsgálatunk 75%-os erőt érjen el a keringő T sejt számok és a FE_{NO} kapcsolatának kimutatásában olyan hatásnagysággal, ami a korábbi, perifériás Th2 citokin termelés és a légúti gyulladás közötti kapcsolatot nem terhes asztmásokban kimutató kutatás adatai alapján várható volt [14]. A statisztikai számításokat GraphPad Prism programmal végeztük (4. verzió, Los Angeles, CA, USA). Az adatok medián és kvartilisek formában szerepeltek, kivéve ahol másképp jeleztük. Spearman korrelációt alkalmaztunk a különböző limfocita populációk és a FE_{NO} szintek, valamint a FE_{NO} és az asztma klinikai jellemzői (FEV₁, Raw, ACT összpontszám) közötti kapcsolatok elemzésére.

5. EREDMÉNYEK

5.1. A kilégzett levegő kondenzátum pH változásai egészséges és asztmás terhes nőkben

5.1.1. Klinikai adatok

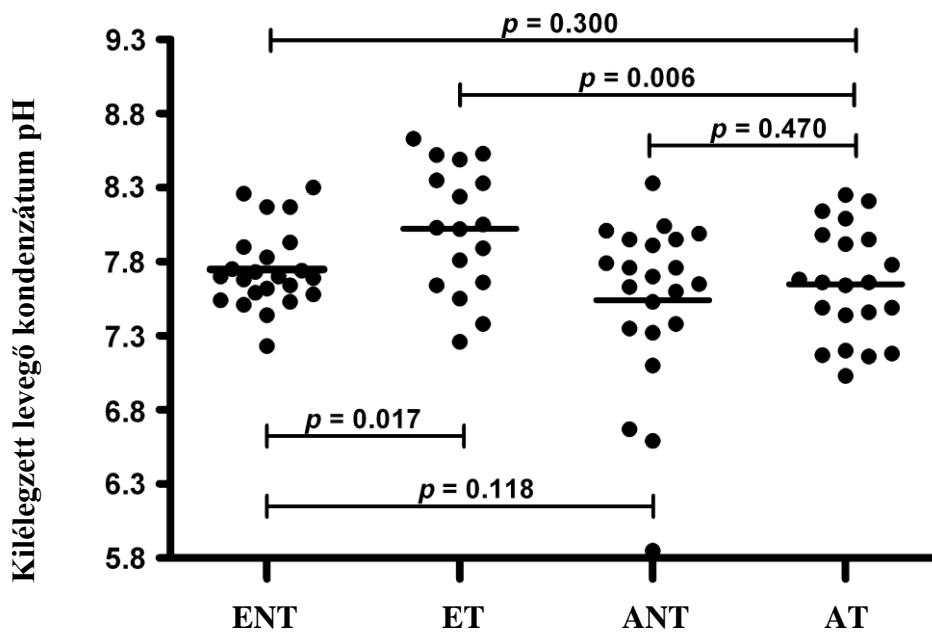
Az életkorban ill. gesztációs korban nem volt különbség a négy csoport között (ENT n=23, ET n=17, ANT n=22, AT n=21). Az újszülöttkori születési súly hasonló volt a várandós csoportokban, minden terhesség szövődménymentesen zajlott, és nem jelentkezett kongenitális rendellenesség vagy neonatális malformáció. Az ANT csoportban az összes, míg az AT csoportban 11 nő használta az előírt ICS-t rendszeresen; a dózis hasonló volt a két csoportban. Hosszú hatású β -agonistát 15 ANT és 9 AT nő használt. Az asztma enyhe vagy mérsékelt perzisztáló volt minden betegben, és a kontroll foka is hasonló volt (részlegesen vagy jól kontrollált), nem volt különbség az ACT összpontszámában, FENO vagy légzésfunkciós értékekben. Az EBC mintagyűjtés biztonságos volt, a 38 vizsgált várandós közül egynél sem lépett fel rövid- vagy hosszútávú mellékhatás vagy panasz. A résztvevők klinikai jellemzői a 4. táblázatban láthatók.

4. táblázat Az adatok átlag \pm SD formájában szerepelnek, kivéve a FENO, ACT és ICS dózis értékeket, amik medián (interkvartilis tartomány) formában láthatók. ENT – egészséges, nem terhes; ET – egészséges terhes; ANT – asztmás, nem terhes; AT – asztmás terhes; ICS – inhalációs kortikoszteroid; BDP – beclomethasone dipropionate; ACT – Asztma Kontroll Teszt; FE_{NO} – frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid; pO₂ – parciális oxigénnyomás; pCO₂ – parciális szén-dioxid nyomás; FVC – erőltetett vitálkapacitás; FEV₁ – erőltetett kilégzési másodperc-térfogat; NA – nem vizsgált.

| | ENT (n = 23) | ET (n = 17) | ANT (n = 22) | AT (n = 21) | p érték |
|--|--------------|----------------------------|---------------------------|-------------------------|---------|
| Kor (évek) | 27,6 \pm 5 | 31,9 \pm 5 | 30,4 \pm 7 | 31,3 \pm 5,5 | 0,06 |
| Terhességi kor a vizsgálatkor (hetekben) | NA | 23 \pm 3 | NA | 23 \pm 10 | 0,74 |
| Születési súly (g) | NA | 3411 \pm 314 (n = 12) | NA | 3482 \pm 776 (n = 17) | 0,74 |
| ICS napi dózisa (BDP equivalens; ug) | NA | NA | 400 (n = 22) /350–800/ | 300 (n = 11) /0–800/ | 0,15 |
| Asthma kontroll teszt összpontszám | NA | NA | 20 (15–22,5) | 17,5 (13,8–21,5) | 0,27 |
| FENO (ppb) | NA | NA | 22 (15-42) | 18 (11-35) | 0,18 |
| pO ₂ (mmHg) | NA | NA | 88,10 \pm 2,14 | 96,66 \pm 1,97 | 0,007 |
| pCO ₂ (mmHg) | NA | NA | 31,1 \pm 0,9 | 27,7 \pm 0,6 | 0,004 |
| vér pH | NA | NA | 7,43 \pm 0,01 | 7,46 \pm 0,01 | 0,01 |
| FVC (L) | NA | NA | 3,72 \pm 0,72 | 3,51 \pm 0,39 | 0,28 |
| FVC (% elvárt) | NA | NA | 100,7 \pm 13,3 | 95,8 \pm 8,8 | 0,16 |
| FEV ₁ (L) | NA | NA | 2,99 \pm 0,61 | 2,80 \pm 0,38 | 0,22 |
| FEV ₁ (% elvárt) | NA | NA | 89,7 \pm 15,3 | 87,5 \pm 12,7 | 0,60 |

5.1.2. Kilégtett levegő kondenzátum pH összehasonlítása a csoportok között

Az EBC pH értékekben különbséget találtunk a csoportok között ($p = 0,007$; 8. ábra). Az ENT kontrollcsoportban $7,75 \pm 0,27$ volt a pH értéke, ET asszonyokban viszont magasabb volt: $8,02 \pm 0,43$ ($p = 0,017$), ami arra utalt, hogy az egészséges terhesség önmagában emeli az EBC pH-t. Az ANT csoport EBC pH értéke viszont nem különbözött az ENT-ekétől ($7,54 \pm 0,57$; $p = 0,118$), ami a légúti gyulladás megfelelő kontrollját jelezte. A hasonlóan kontrollált AT csoportban is ezekhez hasonló eredményt találtunk ($7,65 \pm 0,38$), ami így alacsonyabb volt az ET csoportban megfigyeltnél ($p = 0,006$).

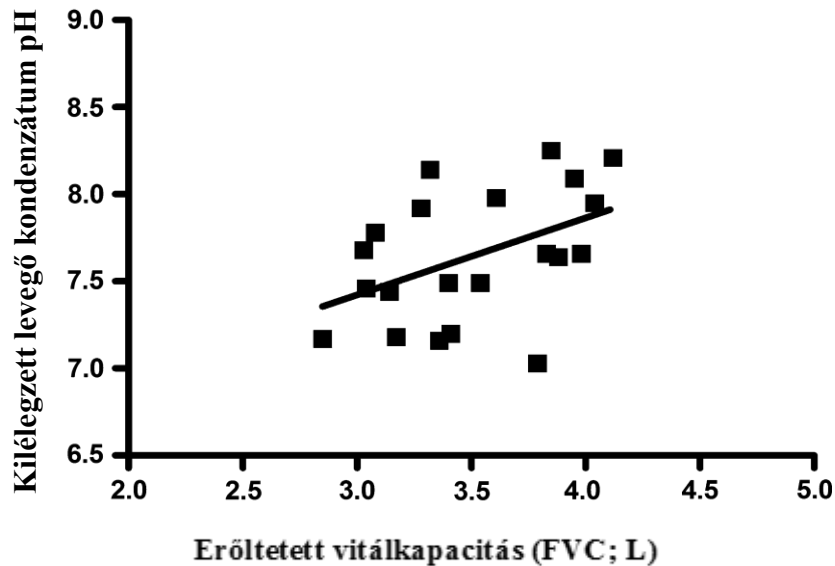


8. ábra A kilégtett levegő kondenzátum pH a vizsgált 4 csoportban.

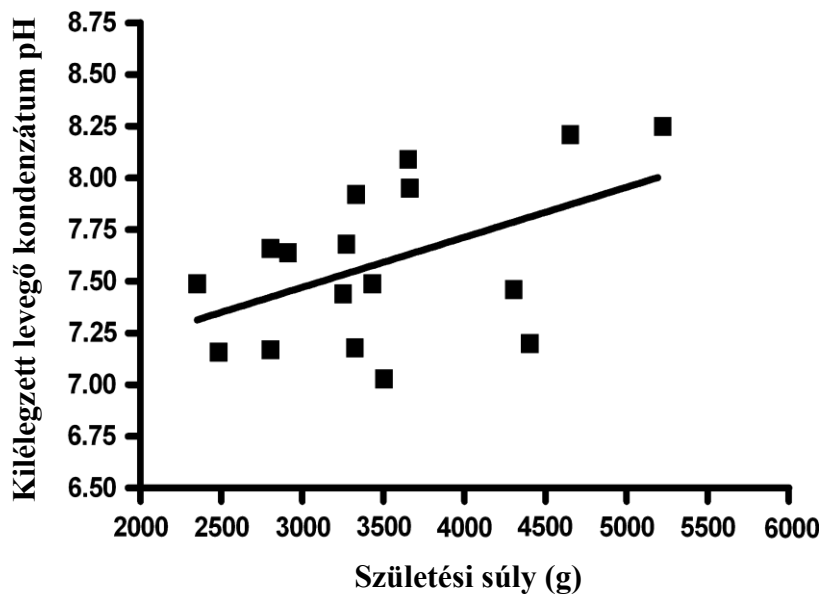
5.1.3. Összefüggés az EBC pH és a klinikai paraméterek között

Az AT csoportban pozitív korrelációt figyeltünk meg az EBC pH és az erőltetett vitálkapacitás (FVC) között ($r = 0,45$, $p = 0,039$, $n = 21$; 9. ábra), és ugyanebben a csoportban a kilégtett levegő pH és az újszülöttek születési súlyának pozitív korrelációját is igazoltuk ($r = 0,49$; $p = 0,047$; $n = 17$; 10. ábra). A FE_{NO} és a születési tömeg indirekt korrelációjának trendje is megfigyelhető volt az asztmás terhes csoportban ($p = 0,092$, $r = 0,45$). Az ACT nem függött össze a születési tömeggel ($r = 0,09$; $p = 0,704$).

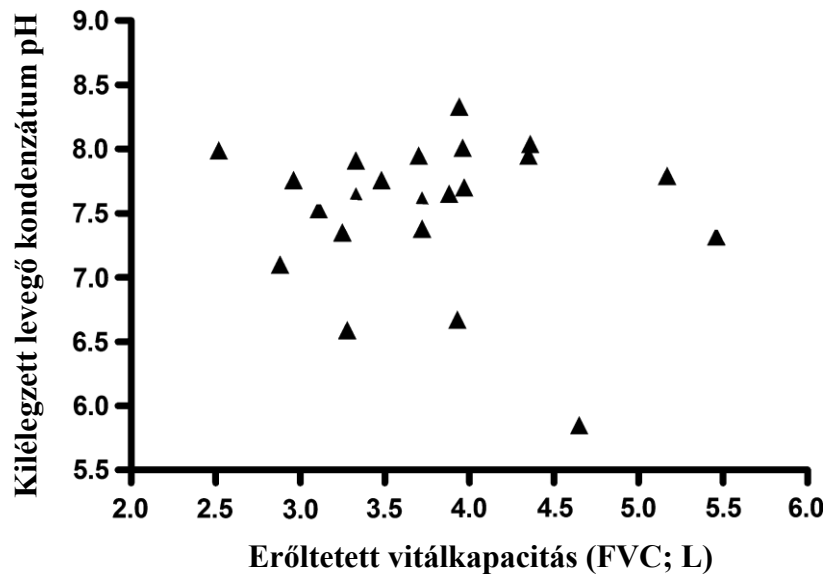
Az ET csoportban nem volt kapcsolat az EBC pH és az újszülöttkori születési súly között ($r = 0,25$; $p = 0,427$; $n = 12$), az ANT csoportban pedig egyik légzésfunkciós paraméterrel sem függött össze az EBC pH ($p > 0,05$; 11. ábra)



9. ábra A kilégzett levegő kondenzátum pH és az erőltetett vitálkapacitás (FVC) kapcsolata asztmás terhes nőkben ($r = 0,45$; $p = 0,039$; $n = 21$)



10. ábra A kilégzett levegő kondenzátum pH és a születési tömeg kapcsolata asztmás terhes nőkben ($r = 0,49$; $p = 0,047$; $n = 17$).



11. ábra Nincs kapcsolat a kilégzett levegő kondenzátum pH és az erőltetett vitálkapacitás (FVC) között asztmás, nem terhes nőkben ($r = 0,11$; $p = 0,637$; $n = 22$).

Nem volt kimutatható összefüggés egyik asztmás csoportban sem az EBC pH és az ACT összpontszám (AT, $r = 0,10$; $p = 0,652$; ANT, $r = 0,03$; $p = 0,875$) valamint az EBC pH és a FE_{NO} szint között (AT: $r = 0,37$; $p = 0,126$; ANT: $r = 0,18$; $p = 0,443$), ugyanígy nem volt kimutatható kapcsolat a kilégzett levegő pH és az ICS dózis között sem az AT sem az ANT csoportban.

A kapilláris vér pH és CO₂ parciális nyomás különbözött az AT és ANT csoportok között ($7,46 \pm 0,01$ vs. $7,43 \pm 0,01$; $p = 0,01$; $27,7 \pm 0,6$ vs. $31,1 \pm 0,9$ mmHg; $p = 0,004$). Azonban az EBC pH egyik csoportban sem függött össze a vér pH-val ($p > 0,05$); és a CO₂ parciális nyomással sem, akár együtt vizsgáltuk a két asztmás csoportot, akár külön-külön ($p > 0,05$).

5.2. A perifériás Th1/Th2/Th17/Treg sejtarány asztmás terhességben

5.2.1. Klinikai adatok

A vizsgálatban 77 hasonló korú fiatal nőt vizsgáltunk a következő megoszlás szerint: 24 egészséges, nem terhes (ENT), 23 egészséges terhes (ET), 15 asztmás, nem terhes (ANT) és 15 asztmás terhes (AT) nő került az egyes csoportokba. A várandósok gesztációs kora

a mintavétel időpontjában és a szülés idejét tekintve is megegyezett, valamennyi asztmás enyhe vagy közép súlyos perzisztáló betegségben szenvedett, asztmájuk nagyrészt jól kontrollált volt. A beteg kezelése a nemzetközi irányelveknek megfelelően történt, terápiaként valamennyiüknek inhalációs kortikoszteroid volt előírva, melyet a terhes és nem terhes csoportokban is a betegek többsége hasonló arányban használt. Az egyes csoportokra vonatkozó klinikai adatokat az 5A és 5B táblázatban összesítettük.

5A táblázat. A vizsgálatba bevont egyének klinikai adatai

Az adatok mediánban vannak megadva. $P > 0,05$ minden összehasonításnál. NA: nem alkalmazható

| | ENT (n=24) | ET (n=23) | ANT (n=15) | AT (n=15) |
|--|------------|------------------|------------|------------------|
| Életkor (évek) | 32 (27–34) | 33 (29–36) | 34 (32–37) | 33 (27–35) |
| Gesztációs kormintavételkor (terhességi hetek) | NA | 31 (21–35) | NA | 29 (20–33) |
| Gesztációs kor szüléskor (terhességi hetek) | NA | 39 (38–40) | NA | 40 (38–40) |
| születési súly | NA | 3220 (2985–3670) | NA | 3285 (2650–3610) |

5B. táblázat. Az asztmás betegek klinikai adatai. Az adatok a folyamatos változóknál mediánban, a kategorikus változóknál számokban (százalékokban) vannak megadva. $P > 0.05$ valamennyi összehasonlításnál. BMI- testtömeg index; FE_{NO}-kilélegzett nitrogén-monoxid frakció; Raw-légúti ellenállás; FEV₁- erőltetett kilégzési másodperc térfogat; ICS-inhalációs kortikoszteroid.

| | ANT (n=15) | AT (n=15) |
|---|--------------------|--------------------|
| BMI kg/m ² | 25,9 (22,7–29,2) | 28,2 (26,7–31,1) |
| FEV ₁ (várt érték százaléká) | 90,0 (84,0–97,5) | 88,0 (83,0–102,0) |
| PEF (várt érték százaléká) | 79,0 (74,5–91,5) | 86,0 (74,0–95,0) |
| Raw (várt érték százaléká) | 121,0 (88,5–135,5) | 102,0 (82,0–130,0) |
| FE _{NO} (ppb) | 29,0 (12,5–47,0) | 18,0 (12,0–39,0) |
| Az előírt ICS-t rendszeresen és jól használók száma | 10 (66%) | 12 (80%) |
| ICS napi dózisa (beclomethason ekvivalens, ug) | 450 (400–800) | 500 (400–800) |
| Asztma kontroll teszt összpontszám | 22,0 (19,5–24,5) | 22,0 (13,0–24,0) |

5.2.2. A vizsgált sejttípusok előfordulási gyakorisága

Az egyes sejttípusok előfordulási gyakoriságát a CD4+, CD8+ és CD56+ sejtpopulációkon belül, valamint a teljes limfocita populáción (ly) belül is értékeltük (6. táblázat).

6. táblázat: A vizsgált limfocita sejttípusok prevalenciája. Az adatok medián (kvartilis tartomány) formátumban szerepelnek. *P < 0,05 vs. ENT; **P < 0,01 vs. ENT; ***P < 0,001 vs. ENT; #P < 0,05 vs. ET; ##P < 0,01 vs. ET; ###P < 0,001 vs. ET.

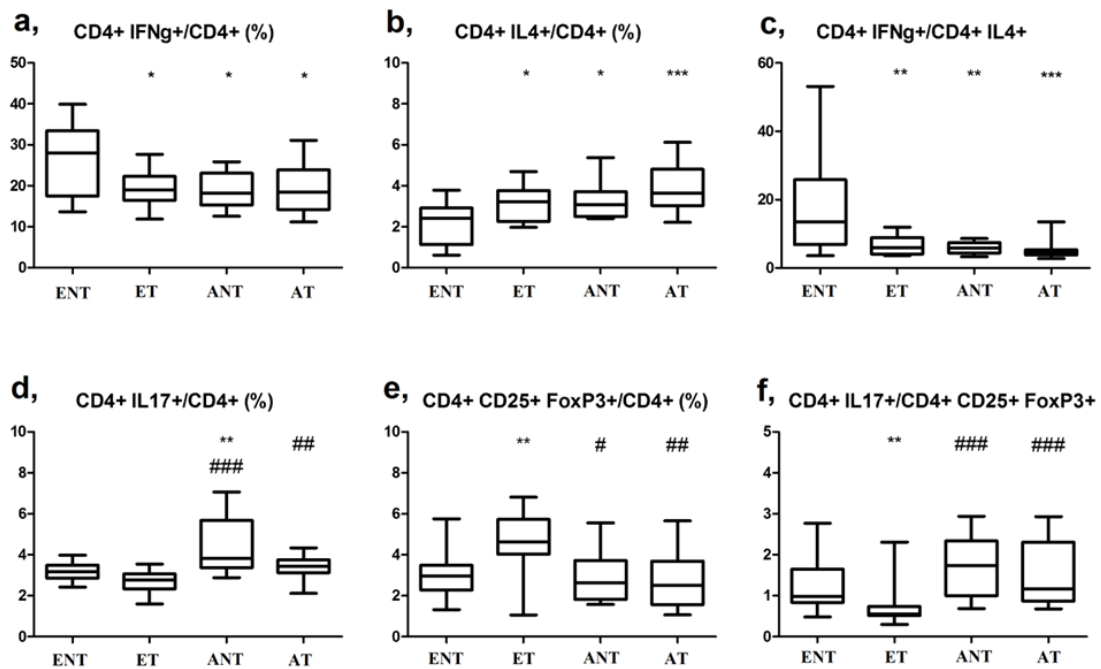
| Sejttípus | ENT n=24 | ET n=23 | ANT n=15 | AT n=15 |
|---------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------------|
| CD4 sejtek | | | | |
| CXCR3+/CD4+ (%) | 27,65 (25,00– 29,80) | 21,50 (19,00– 25,30)*** | 24,10 (18,70– 27,30)* | 22,70 (20,20– 25,20)** |
| CXCR3+/Iy (%) | 9,97 (7,36– 12,77) | 8,59 (7,13– 11,27)* | 8,78 (6,98– 10,70)* | 8,60 (6,70–11,00)* |
| CCR4+/CD4+ (%) | 11,45 (10,25– 15,05) | 10,70 (8,45– 14,20) | 12,80 (10,70– 15,80) | 13,60 (9,90–15,80) |
| CCR4+/Iy (%) | 4,22 (3,13– 5,41) | 3,94 (2,91– 5,75) | 4,94 (4,40– 6,32) | 4,51 (4,02–5,34) |
| CXCR3+/CCR4+ | 2,18 (1,98– 2,82) | 2,03 (1,73– 2,69) | 1,71 (1,46– 2,16) | 1,67 (1,38–2,21) |
| IFNg+/CD4+ (%) | 28,05 (17,50– 33,50) | 19,00 (16,50– 22,30)* | 18,20 (15,30– 23,10)* | 18,50 (14,20– 23,90)* |
| IFNg+/Iy (%) | 9,43 (6,12– 11,07) | 5,61 (3,23– 6,97)*** | 5,26 (4,30– 6,97)** | 4,84 (4,41–6,87)** |
| IL-4+/CD4+ (%) | 2,42 (1,13– 2,92) | 3,21 (2,26– 3,77)* | 3,08 (2,50– 3,72)* | 3,64 (3,03– 4,81)*** |
| IL-4+/Iy (%) | 0,75 (0,38– 1,15) | 0,83 (0,56– 1,29)* | 0,94 (0,72– 1,23)* | 1,16 (1,03–1,24)** |
| IFNg+/IL-4+ | 11,95 (6,21– 18,00) | 5,92 (4,09– 8,88)** | 5,83 (4,39– 7,45)** | 4,72 (3,85– 5,30)*** |
| IL-17+/CD4+ (%) | 3,17 (2,86– 3,49) | 2,78 (2,35– 3,06) | 3,81 (3,37– 5,68)***, ### | 3,44 (3,13–3,75)## |
| IL-17+/Iy (%) | 1,18 (0,98– 1,44) | 0,75 (0,44– 0,98)** | 0,82 (0,56– 0,96)* | 0,52 (0,30– 0,71)*** |
| CD25+FoxP3+/CD4+(%) | 2,98 (2,28– 3,49) | 4,64 (4,04– 5,73)** | 2,64 (1,82– 3,72)# | 2,52 (1,57–3,69)## |
| CD25+FoxP3+/Iy (%) | 1,11 (0,69– 1,39) | 1,86 (0,85– 2,45)* | 1,09 (0,70– 1,78)# | 0,76 (0,69–1,35)## |
| IL-17+/CD25+FoxP3+ | 0,98 (0,84– 1,65) | 0,55 (0,52– 0,74)** | 1,74 (1,00– 2,34)### | 1,17 (0,87– 2,31)### |

| Sejttípus | ENT n=24 | ET n=23 | ANT n=15 | AT n=15 |
|-------------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|
| CD8 sejtek | | | | |
| IFN γ + / CD8+ (%) | 2,87 (1,83– 4,57) | 2,72 (1,94– 4,71) | 2,63 (2,01– 3,54) | 2,10 (1,73–2,63) |
| IFN γ + / γ (%) | 0,33 (0,22– 0,53) | 0,25 (0,10– 0,38) | 0,32 (0,24– 0,47) | 0,27 (0,22–0,47) |
| IL-4+ / CD8+ (%) | 3,03 (2,16– 4,29) | 4,53 (2,89– 6,57) | 2,43 (1,43– 3,45)### | 2,66 (2,10–4,43) |
| IL-4+ / γ (%) | 0,31 (0,25– 0,48) | 0,36 (0,21– 0,41) | 0,30 (0,14– 0,52) | 0,31 (0,23–0,62) |
| IL-17+ / CD8+ (%) | 2,43 (1,68– 3,68) | 4,82 (3,60– 6,17)** | 1,66 (0,90– 2,14)### | 2,13 (1,51–3,53)# |
| IL-17+ / γ (%) | 0,30 (0,21– 0,43) | 0,28 (0,21– 0,42) | 0,20 (0,10– 0,41) | 0,26 (0,16–0,42) |
| CD56 sejtek | | | | |
| IFN γ + / CD56+ (%) | 2,76 (2,07– 3,27) | 3,16 (1,95– 7,05) | 2,55 (1,58– 2,87) | 1,88 (1,22–2,32)## |
| IFN γ + / γ (%) | 0,51 (0,15– 1,10) | 0,38 (0,19– 0,67) | 0,16 (0,13– 0,48) | 0,15 (0,10–0,21)* # |
| IL-4+ / CD56+ (%) | 2,21 (1,68– 2,85) | 2,70 (1,59– 4,10) | 1,77 (1,28– 2,71) | 2,15 (1,49–2,82) |
| IL-4+ / γ (%) | 0,45 (0,19– 0,60) | 0,30 (0,16– 0,41) | 0,22 (0,09– 0,44) | 0,46 (0,43–0,48) |
| IL-17+ / CD56+ (%) | 1,60 (1,07– 2,52) | 0,98 (0,62– 1,23)* | 1,01 (0,22– 2,50) | 1,46 (0,73–3,32) |
| IL-17+ / γ (%) | 0,39 (0,06– 0,58) | 0,09 (0,06– 0,13) | 0,06 (0,01– 0,30) | 0,09 (0,04–0,25) |

5.2.2.1. Th1 és Th2 sejtek prevalenciája

A Th1 sejtek prevalenciája- sejtfelszíni (CD4+ CXCR3+) és intracelluláris (CD4+ IFN- γ +) markerek alapján meghatározva is – alacsonyabb volt az ET, ANT és AT csoportokban, mint az ENT kontrollcsoportban (12.a ábra), míg a Th2 prevalenciát csak intracelluláris jelölés (CD4+ IL-4+) alapján találtuk magasabbnak az ET, ANT és AT csoportokban az ENT csoporthoz képest (12.b ábra), sejtfelszíni jelöléssel (CD4+ CCR4+) nem volt különbség a csoportok között. Így tehát az egészséges terhesség és az

asztma is csökkentette az intracelluláris jelölés alapján (IFN- γ +/IL-4+ CD4+) meghatározott Th1/Th2 arányt, azonban asztmával szövődött terhességben ezekhez képest további csökkenés nem volt kimutatható (12.c ábra). Sejt felszíni jelölés alapján (CXCR3+/CCR4+ CD4+) csak hasonló irányú trendet mutattunk ki.



12.ábra Az IFN γ + (a), IL-4+ (b), IL-17+ (d) és CD25+ FoxP3+ (e) sejtek prevalenciája a CD4+ limfociták között, valamint a Th1/Th2 (c) és Th17/Treg (f) arányok az ENT, ET, ANT és AT csoportokban. A box plot ábrákon a vízszintes vonal a mediánt, a doboz az interkvartilis tartományt, a szegély a mintaterjedelmet jelenti. *P < 0.05 versus ENT; **P < 0.01 versus ENT; ***P < 0.001 versus ENT; #P < 0.05 versus ET; ###P < 0.01 versus ET; ####P < 0.001 versus ET.

5.2.2.2. Th17 és Treg sejt prevalencia

Az asztma önmagában emelte a Th17 sejt (CD4+ IL-17+) prevalenciát, ugyanis az ANT csoportban magasabb arányt mértünk, mint az ENT csoportban. Egészséges terhesség hatására a Th17 prevalencia nem változott ENT-ekhez képest, azonban az AT csoportban magasabb volt, mint az ET csoportban, utalva a megzavart terhességi immuntoleranciára (12.d ábra). A Treg sejtek (CD4+ CD25+ FoxP3+) előfordulása az ET csoportban

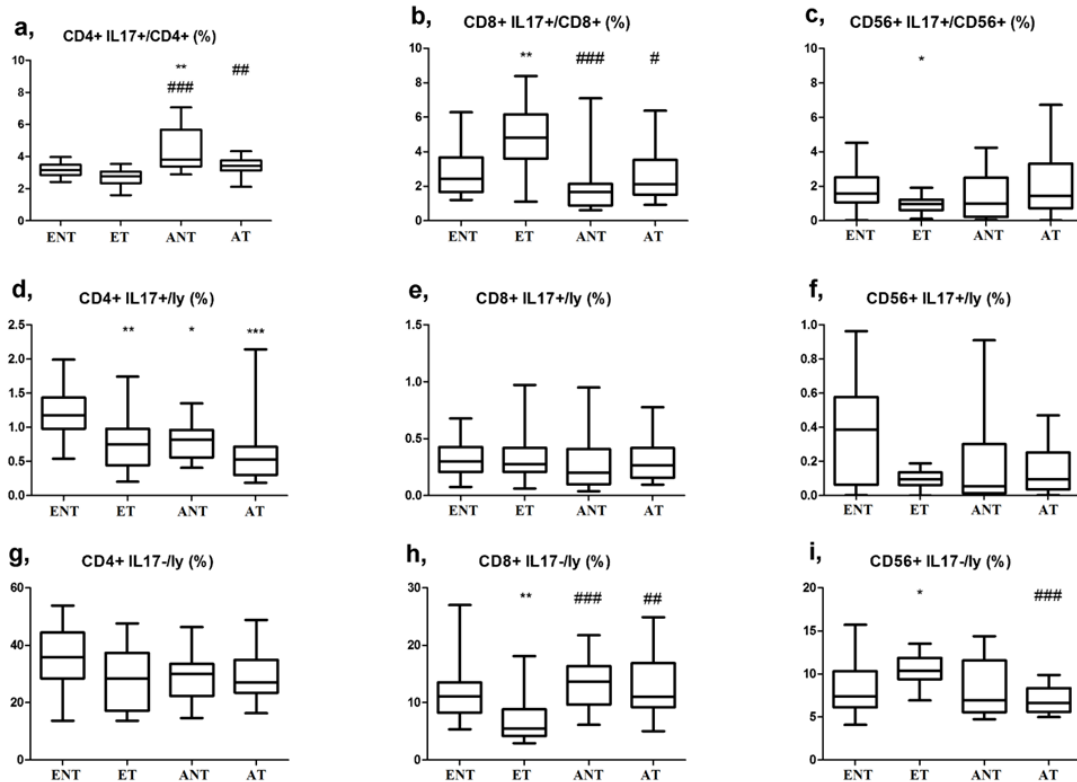
megnőtt az ENT csoporthoz képest, azonban ez az emelkedés AT betegekben elmaradt (12.e ábra). Mindezek eredményeként a Th17/Treg arány ET-ekben csökkent, de AT-ekben nem változott ENT kontrollokhoz képest, így az arány az AT csoportban magasabb volt az ET csoporthoz képest, ami ismét az asztma hatására gyengülő, elégtelenné váló terhességi immuntolerancia jele (12.f ábra).

5.2.2.3. Tc1, Tc2 , Tc17 és NK sejtek prevalenciája

A Tc1 és Tc2 limfociták (CD8+ IFN- γ + ill. CD8+ IL-4+) előfordulása sem az ET, sem az AT csoportban nem különbözött az egészséges nem terhes állapothoz képest. A Tc17 sejtek (CD8+ IL-17+) prevalenciája a CD8+ sejtek között magasabb volt ET-ekben mint ENT-ekben, és ez a terhesség-indukálta emelkedés nem volt kimutatható AT-ekben, akikben az ET-ekénél alacsonyabb, az ANT-ekére jellemző érték volt megfigyelhető (13.b ábra). Azonban ez a Tc17 sejt prevalencia eltérés nem bizonyult valósnak. Míg a Th17 sejtek előfordulása nem csak a CD4+ sejtek között (13.a ábra), hanem a teljes limfocitapopulációban vizsgálva is különbözött a csoportok között (13.d ábra), ez nem volt így a Tc17 sejtek esetében. A CD4+ IL-17– sejtek és a Tc17 sejtek előfordulása a teljes limfocita populációban nem különbözött az egyes csoportok között (13.e, 13.g ábra), viszont a CD8+ IL-17– sejtek aránya magasabb volt az asztmás csoportokban (13.h ábra). Tehát míg a Th17 sejtek prevalenciájában mutatkozó különbség valósnak bizonyult, a Tc17 sejteké csak virtuális volt, amit valójában a CD8+ IL-17– sejtek ellentétes irányú változása okozott.

A CD56+IL-4+ sejtek vizsgálatokor a sejtek előfordulási gyakoriságát mind a négy csoportban hasonlóan találtuk, míg a CD56+ IFN- γ + (NK) sejtek prevalenciája az asztmás terhesek körében alacsonyabb volt, mint az egészséges terhes csoportban. A CD56+IL-17+ sejtek prevalenciáját (a CD56+ sejteken belül) ugyanakkor alacsonyabbnak mértük az ET csoportban, mint az ENT-ben (13.c ábra), a teljes limfocita-populációban vizsgálva azonban ez a csökkenés már trenddé minősült ($p = 0,09$; 13.f ábra). A CD56+ IL-17– sejtprevalencia ugyanakkor ellentétes irányban változott: ET-ben magasabb volt, mint az ENT kontrollokban (13.i ábra), így a CD56+ IL-17+ sejtprevalenciában megfigyelt változás részben ennek a következménye is lehet. A CD56+ IL-17+ sejtek prevalenciájának csökkenése mindenesetre asztmás terhességben

nem volt megfigyelhető (13.c ábra). Az IL-17+ sejteken kívül a többi sejtípus prevalenciája az egyes alcsoportokban hasonló volt, mint a teljes limfocita populációban (6. táblázat).



13. ábra Az IL-17+ sejtek prevalenciája a CD4+, CD8+ és CD56+ limfociták között (a-c) és a teljes limfocita populációban (d-f), valamint az IL-17– sejtek prevalenciája a teljes limfocita populációban (g-i) az ENT, ET, ANT és AT csoportokban. A box plot ábrákon a vízszintes vonal a mediánt, a doboz az interkvartilis tartományt, a szegély a mintaterjedelmet jelenti. *P < 0,05 versus ENT; **P < 0,01 versus ENT; ***P < 0,001 versus ENT; #P < 0,05 versus ET; ##P < 0,01 versus ET; ###P < 0,001 versus ET.

5.3. A perifériás T sejt profil összefüggése a légúti gyulladással és az asztma kontrollal asztmával szövődött terhességben

5.3.1. Klinikai adatok

A bevont betegek esetében az asztma részlegesen vagy jól kontrollált volt, 24-es medián ACT összpontszámmal. A legtöbb várandós a 2. trimeszter végén vagy 3. trimeszter elején járt a vizsgálatkor, a medián gesztációs kor 26 hét volt. A légzésfunkciós értékek és az oxigénszaturáció kielégítőek voltak. A FE_{NO} mediánja 20 parts per billion (ppb) volt (interkvartilis tartomány: 13-31,5 ppb), ami arra utal, hogy a legtöbb esetben kontrollált volt a légúti gyulladás. A klinikai adatok a táblázatban vannak feltüntetve.

7. táblázat. A vizsgált betegek klinikai és szülészeti adatai (n = 22; medián és kvartilisek). ACT – Asztma Kontroll Teszt, FE_{NO} – frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid, FEV1 – erőltetett kilégzési másodperc-térfogat, FVC – erőltetett vitálkapacitás, ICS – inhalációs kortikoszteroid, Raw – légúti áramlási ellenállás

| Klinikai jellemzők | Asztmás terhes betegek (n = 22) |
|--|---------------------------------|
| Életkor (év) | 31 (28–35) |
| Testtömegindex (BMI; kg/m ²) | 26,2 (20,8–31,8) |
| Gesztációs kor a vizsgálatkor (hét) | 25,5 (15,5–33) |
| Perifériás eozinofil sejtarány (%) | 2,02 (1,06–3,94) |
| FVC (az elvárt %-a) | 96 (85–102,5) |
| FEV1 (az elvárt %-a) | 84 (78,5–93,5) |
| Raw (kPa × s/l) | 0.23 (0,19–0,30) |
| Artériás oxigénszaturáció (%) | 98 (98–99) |
| FE _{NO} (ppb) | 20 (13–31,5) |
| ACT összpontszám | 24 (20,5–25) |
| Az ICS-t használó betegek száma | 18 |
| Napi ICS dózis (beclomethasone ekvivalens; µg) | 500 (100–800) |
| Születési tömeg (gramm) | 3275 (3095–3405) |
| Gesztációs kor szüléskor (hét) | 39 (38,5–40) |

5.3.2. T sejt altípusok és NK sejtek prevalenciája és a klinikai paraméterek kapcsolata asztmás terhességben

Egyik vizsgált sejttípus (Th1, Th2, Treg, NK) perifériás előfordulása sem függött össze szignifikánsan a FE_{NO} szinttel jellemzett légúti gyulladással (minden T sejt altípus esetében $p > 0,05$; a vizsgálat ereje $> 75\%$) (8. táblázat, 14-15. ábra)

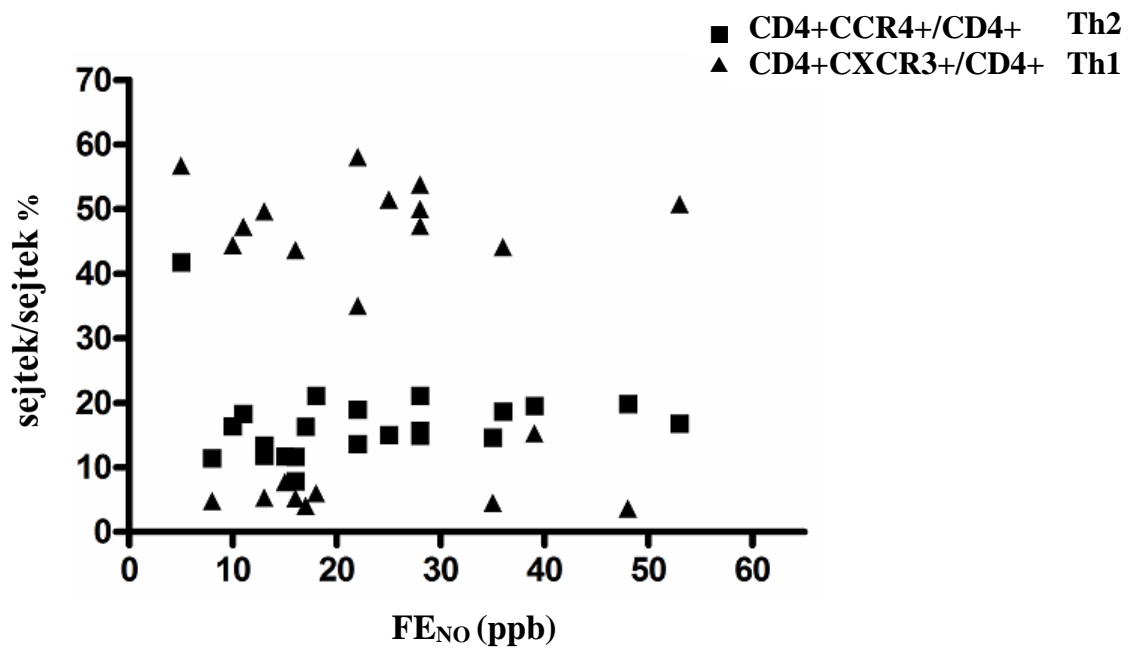
8. táblázat. T sejt altípusok és NK sejtek prevalenciája a megfelelő sejtcsoportokban asztmás várandósokban ($n = 22$; medián és kvartilisek) és Spearman korreláció a T sejt altípusok és FE_{NO} között.

CD – cluster of differentiation, FE_{NO} – frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid, Th1 – T helper 1 sejt, Th2 – T helper 2 sejt, Treg – regulatórikus T sejt, PBMC – perifériás mononukleáris sejtek, ppb – parts per billion

| Egyes sejtek | Adott sejttípus/ sejtcsoport (%) | FE _{NO} (ppb) | szignifikancia mértéke |
|--|-------------------------------------|------------------------|---------------------------|
| Th1 sejtek (CXCR3+CD4+ sejtek/CD4+ sejtek) | 43,91 (5,29–50,40) | 20 (13–31,5) | $p = 0,97$ |
| Th2 sejtek (CCR4+CD4+ sejtek/CD4+ sejtek) | 16,0 (12,58–19,22) | | $p = 0,14$ |
| Treg sejtek (CD4+CD25+Foxp3+ sejtek / CD4+ sejtek) | 3,49 (1,83–7,83) | | $p = 0,73$ |
| Natural killer sejtek (CD3–CD161+ sejtek / PBMC) | 3,85 (2,14–6,97) | | $p = 0,75$ |

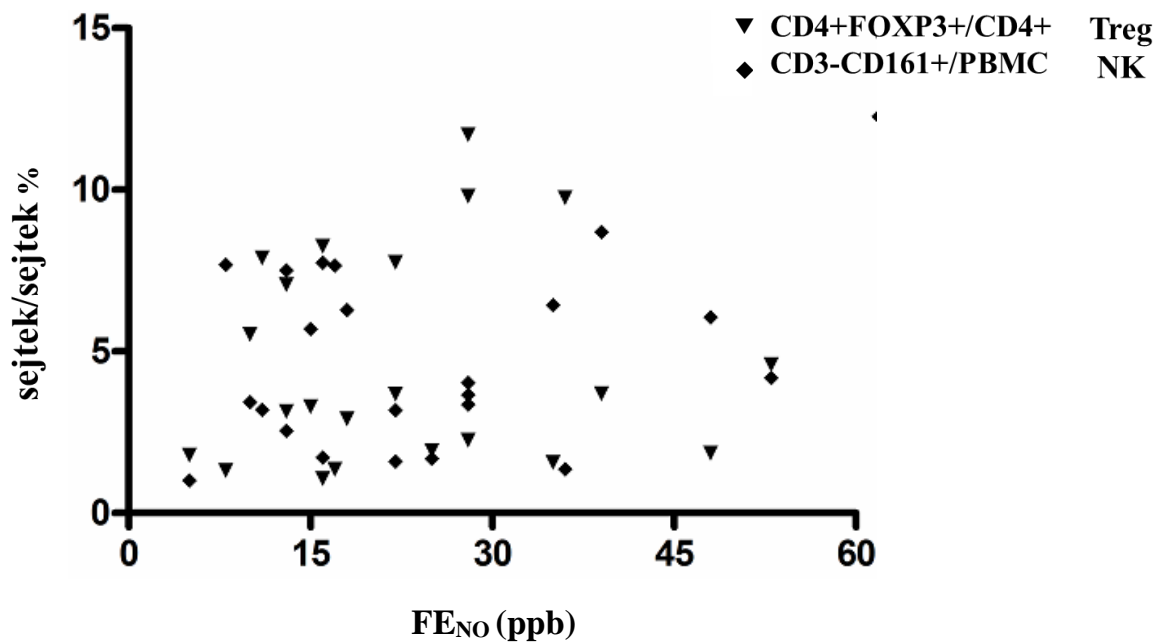
A Th2 sejtek perifériás előfordulása fordított kapcsolatban állt az ACT összpontszámmal ($r = -0,48$; $p = 0,03$; 16. ábra), azonban az ICS napi dózisára való korrekció után a szignifikancia trend szintjére csökkent ($p = 0,061$). A többi sejttípus előfordulása nem függött össze az ACT összpontszámmal. Nem találtunk összefüggést a vizsgált sejtpopulációk és egyik légzésfunkciós paraméter között sem. Azonban a légúti áramlási ellenállás (Raw) értéke korrelált a FE_{NO} szintekkel ($r = 0,49$; $p = 0,02$; 17. ábra; az outlier érték egy olyan közepesúlyos perzisztáló allergiás asztmában szenvedő várandóshoz

tartozik, akinek légzésfunkciós vizsgálata légúti obstrukciót jelzett; ezt az egy értéket eltávolítva nem változott a korreláció szignifikanciája).



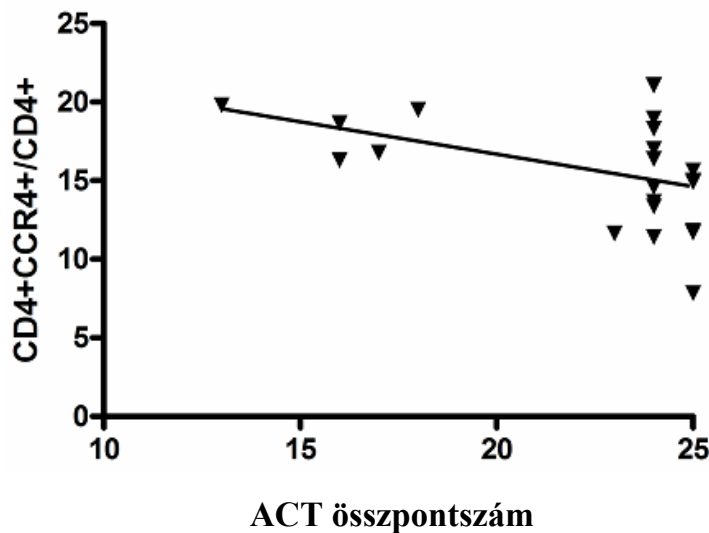
14. ábra Nincs korreláció a FE_{NO}, a Th1 és Th2 sejtelőfordulás között asztmás terhességben (n = 22; p > 0,05; a vizsgálat ereje > 75% mindkét sejttípus esetén).

(CD – cluster of differentiation, FE_{NO} – frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid, CD4+CCR3+/CD4+ – T helper 1 sejt (Th1), CD4+CCR4+/CD4+ – T helper 2 sejt (Th2), ppb – parts per billion)

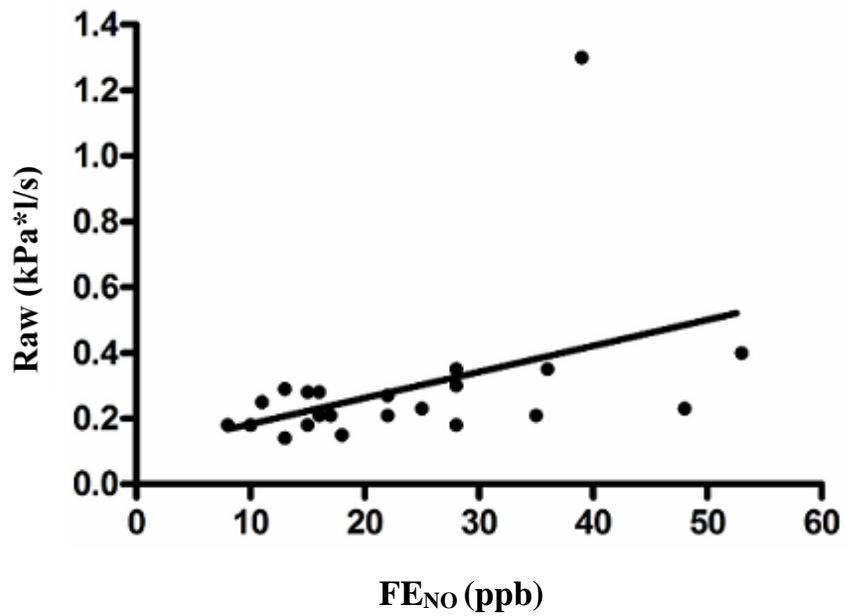


15. ábra Nincs korreláció a FE_{NO}, a Treg és NK sejtek előfordulása között asztmás terhességben (n = 22; p > 0,05; a vizsgálat ereje > 75% mindkét sejtípus esetén).

(CD – cluster of differentiation, FE_{NO} – frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid, Treg – regulatórikus T sejt, NK – természetes ölósejt, ppb – parts per billion)



16. ábra Negatív korreláció a Th2 sejtprevalencia és az ACT összpontszám között asztmás terhességben (n = 22; Spearman r = -0,48; p = 0,03). (ACT – Asztma Kontroll Teszt, Th2 – T helper 2 sejt)



17. ábra Pozitív korreláció a FE_{NO} és légúti áramlási ellenállás között asztmás terhességben (n = 22; Spearman r = 0,49; p = 0,02). (FE_{NO} – frakcionált kilégzett nitrogén-monoxid, ppb – parts per billion, Raw – légúti áramlási ellenállás)

6. MEGBESZÉLÉS

Az asztmás terhesség immunológiájának és klinikai változásainak jobb megismerését célzó vizsgálataink során elsőként határoztuk meg az EBC pH értékének változását egészséges, illetve asztmás terhességben, leírásra került az asztmás terhességet jellemző Th1/Th2/Th17/Treg profil, illetve megkíséreltünk összefüggéseket keresni az asztmás terhességre jellemző celluláris immunválasz változások és a betegség klinikai paraméterei között.

Első vizsgálatunk célja az volt, hogy meghatározzuk az EBC pH asztmás légúti gyulladás megítélésében esetlegesen betöltött hasznát a várandósság során. Vizsgáltuk, hogy az egészséges terhesség önmagában befolyásolja-e a kilégzett levegő pH-t, és hogy a terhesség, illetve asztma indukálta változások asztmás terhességben megfigyelhetőek-e. Vizsgálatunkban először mutattuk ki, hogy egészséges, asztmában nem szenvedő terhes nők körében az EBC pH szintje magasabb az egészséges, nem várandós csoporthoz viszonyítva. Asztmás terhességben az EBC pH értékének csökkenése a légzésfunkció romlásával és az újszülöttek csökkent születési súlyával mutat összefüggést.

Az egészséges terhesség alatt észlelt magasabb EBC pH okaként felmerülhet a terhesség indukálta hyperventiláció. Terhesség során a normális artériás oxigéntenzió fenntartásához szükséges percventiláció növekedés csökkent artériás parciális széndioxid nyomást eredményez, de a vér pH értéke nem változik, mivel a vese bikarbonátkiválasztása növekszik [197]. Mindemellett az EBC pH-ról kimutatták, hogy független a hyperventilációtól [37], a mi adataink pedig azt igazolták, hogy nincs összefüggés a vér pH és az EBC pH között. Másrészt az egészséges terhességet az immunválaszok gyengülésével járó immuntolerancia és csökkent légúti oxidatív stressz jellemzi [198]. Így feltételezhető, hogy a kilégzett levegő pH magasabb értéke nem a hyperventilációval illetve a vér pH változásaival függ össze; az alkalikus irányba történő eltolódás inkább a pH szabályzás fiziológiás terhesség kapcsán lokálisan megváltozott intrabronchiális mechanizmusait tükrözheti. Mindenesetre ezt az egészséges terhességre jellemzőbb lúgosabb vegyhatást a várandósság alatt mért EBC pH értékek interpretálásánál figyelembe kell venni.

A csökkent légúti kémhatás összefügg az asztma kontroll fokával [58], és jellemző az asztma exacerbációra [199]. Tanulmányunkban - a korábbi vizsgálatokkal egyetértésben

[200-202] - az adekvátan kontrollált asztma és a rendszeres inhalációs kortikoszteroid használat hasonló légúti kémhatást eredményezett a stabil asztmás nem várandós betegek és az egészséges kontroll alanyok között. Ezzel ellentétben az EBC pH szintje alacsonyabbnak bizonyult asztmás terhességben a rendszeres ICS használat és optimális asztma kontroll ellenére is, vagyis ebben a csoportban a fiziológiás terhességben észlelt pH emelkedés elmaradt. Ennek a megfigyelésnek a klinikai relevanciáját erősíti a kilégzett levegő vegyhatása és az újszülöttek születési súlya közötti összefüggés, mely korábbi kutatási eredményeinkkel egybehangzóan [191] alátámasztja azt a feltételezést, miszerint a magzati növekedésbeli elmaradás az asztma-asszociált anyai gyulladással válaszreakciókkal kapcsolatban áll. Mind a megnövekedett oxidatív stressz, mind az immunológiai diszfunkció együttes jelenétét leírták a magzati növekedés elmaradásával patológiás terhességben pl. preeclamsiában [203], mely a magzati optimális növekedés és az immunválasz megfelelő regulációjának kapcsolatára utalhat.

A légúti gyulladás monitorizálására alkalmas neminvaszív technikák segítséget jelenthetnek az asztmás terhesek gondozásában, akik esetében az egyéb módszerek (pl. indukált köpet) kontraindikáltak. Külön segítséget jelenthet a jövőben a módszer a veszélyeztetett terhesek esetében, akiknél az erőltetett kilégzési manőverrel járó légzésfunkciós vizsgálat veszélyt jelentene. A légúti gyulladás monitorozásán alapuló kezelés asztmás terhességben javítja az asztma kontrollt; egy FE_{NO} alapú kezelést alkalmazó algoritmus segítségével a terhesség alatti exacerbációk számának jelentős csökkenését lehetett elérni terhesség során [100]. A légúti gyulladás követésén alapuló fenntartó kezeléssel 50 %-kal kevesebb szisztémás szteroidot igénylő asztmás roham alakult ki, mint a hagyományos asztma gondozás során. Mindamellet az EBC pH feltételezhetően a FE_{NO}-tól független gyulladással jellemez [204]. Jelen vizsgálatunk igazolta, hogy a kilégzett levegő kondenzátum gyűjtés biztonságos terhesség során, és leírta, hogy az EBC pH a légzésfunkcióval összefügg. Mindez arra utal, hogy a kilégzett levegő kémhatásnak vizsgálata segítséget nyújthat az asztmában szenvedő várandós nők gondozásában a légúti gyulladás kiértékelését segítő eszközként. A kutatásunkban részt vevő asztmás várandós nők alacsony száma és az alacsony szignifikancia szint miatt azonban az általunk közölt adatok megfelelő óvatossággal kezelendők, megerősítésükre nagyobb vizsgálatokra van szükség.

Második vizsgálatunkban az asztmás terhességet jellemző keringő Th1/Th2/Th17/Treg sejtprofil vizsgáltuk, neminvaszív céljából perifériás vérmintából. Legfontosabb eredményeink alapján az egészséges terhességre jellemző Th1, Th2, Th17 és Treg sejtek érzékeny egyensúlyát a konkomittáló, jól vagy részlegesen kontrollált asztma megváltoztatja. Az egészséges terhesség és az asztma egyaránt alacsonyabb Th1/Th2 sejtaránnyal jellemezhető állapotok (az egészséges nem terhes állapothoz képest), de asztmával szövődött terhességben további csökkenés nem figyelhető meg. A keringő Th17 sejtek prevalenciája magasabb, a Treg sejteké alacsonyabb asztmás terhesekben, mint egészséges várandósokban. Végül, egészséges terhességben csökken a Th17/Treg arány (az egészséges nem terhes állapothoz képest), asztmás terhességben ez a csökkenés elmarad.

Ismert, hogy az immunválasz Th2 irányú eltolódása és a regulatórikus T sejtek szerepe az apai antigénekkal szembeni terhességi tolerancia fenntartásában alapvető fontosságúak. A Treg sejtek számának csökkenése, valamint e sejtek elégtelen működése primer meddőséghez [165], már kialakult terhesség esetén pedig vetéléshez, preeclampsziához, vagy alacsony szüléti súlyhoz vezethet [205]. Szövődmenyes terhességben, vetélésben, preeclampsziában a Treg sejtekkel ellentétes szerepű Th17 sejtek prevalenciájának növekedését is leírták [188, 189].

Míg a Th1, Th2 és T reg sejtek egészséges és asztmás terhességben betöltött szerepével kapcsolatosan korábban már több közlemény is megjelent [71, 191], addig az IL-17 termelő CD4+, CD8+ és NK sejtekről asztmás és egészséges terhességben ezidáig még nem volt adat. A hagyományos megközelítés szerint a fiziológiás terhesség és az allergiás asztma egyaránt Th2 polarizációval jellemezhető állapotok. Ezt tükrözték vizsgálatunk adatai is, ahol a Th1 sejtek prevalenciája- sejtfelszíni és intracelluláris jelöléssel is alacsonyabbnak bizonyult az egészséges terhes és az asztmás nem terhes csoportban az egészséges nem terhes kontroll csoporthoz viszonyítva. A Th2 sejtcsoport aránya ugyanezen ANT és ET csoportokban -az intracelluláris IL-4 citokin festés alapján- magasabbnak bizonyult az egészséges nem terhes kontroll adathoz képest. Ugyanakkor a jól kontrollált asztmával szövődött terhesség további változást már nem okozott sem a Th1 sejtek, sem a Th2 sejtek előfordulási gyakoriságában a nem terhes asztmásokhoz képest, ami azt eredményezte, hogy az AT és ET csoportokban hasonló Th1/Th2 arány volt kimutatható. Ez ellentmond munkacsoportunk korábban publikált adatainak, ahol

nagymennyiségű IL-4 és INF-gamma termelő perifériás T sejt detektálásával mind a Th1, mind a Th2 irányú immunválasz fokozódását figyelhettük meg nem kontrollált asztmás terhességben, illetve, ezen sejtek és az újszülöttek születési súlya között negatív korreláció volt igazolható, ami az asztma kapcsán kialakult anyai immunreakciók és a magzati növekedésbeli retardáció kapcsolatát jelezte [191]. A jelenlegi vizsgálatunkban a Th1 és Th2 sejtarányok kulminálását asztmás terhességben nem tapasztaltuk, magyarázataként részben az asztma kontroll eltérő foka szolgálhat, mivel jelen tanulmányunkban a vizsgált asztmások részben vagy jól kontrolláltak voltak. Mindemellett megemlítendő, hogy a két vizsgálat között eltelt időben a terápiás ajánlás is változott a terhes és nem terhes populáció tekintetében egyaránt.

Az eddigi eredményeket együtt tekintve feltételezhető, hogy a szövődménymentes terhesség immunszuppresszív hatása gyengítheti az asztmára jellemző limfocita aktivációt és a gyulladásos immunválaszt a jól kontrollált, kezelt betegek körében.

A Th17 sejtek prevalenciáját az asztma emelte a terhes és nem terhes asszonyok között is. A Th17 által termelt IL-17 pleiotrop hatású, többek között proinflammatorikus citokinek (IL-23, IL-6 és TNF α), valamint kemokinek (makrofág kemoattraktáns protein-1, macrophage gyulladásos kemokin-2 és matrix metalloproteáz) termelését serkenti, ami által szöveti infiltrációhoz és destrukcióhoz vezet [206]. Elképzelhető tehát, hogy az asztma dependens Th17 emelkedés szerepet játszhat az asztmás terhesség során gyengülő immuntoleranciában, befolyásolva az intrauterin magzati növekedést. Az immuntolerancia asztma-függő gyengüléséért emellett a regulatórikus T sejtprevalencia egészséges várandósoknál tapasztalt növekedésének AT csoportbeli elmaradása is felelhet, amit korábbi vizsgálatunkban is észleltünk [71]. A Treg és Th17 sejtek változásai miatt a fiziológiás gesztációra jellemző Th17/Treg arány csökkenés asztmás terhességben nem alakul ki, jelezve a megromlott immuntoleranciát és alátámasztva, hogy asztmás terhességben a Th17/Treg sejtarány inkább az asztmás nem terhes csoportéhoz hasonló. A megfelelő perifériás Th17/Treg sejtarány fontosságát a terhesség során számos kutatás igazolta. Szövődményes esetekben (úgy mint koraszülés, preeclampsia) ezen arány növekedése volt detektálható [188, 189, 207], hasonlóan a mi kutatásunkban az asztmás terhésekben észlelthez.

A Th17 és Treg előfordulási gyakoriság és az AT csoport klinikai adatai között (születési súly, ACT, FEV1 vagy PEF értékek) azonban nem találtunk összefüggést, ezért ezen

sejtek arányának változása nem magyarázza azt a klinikai ténytet, miszerint az asztmás tünetek a terhesség során az esetek harmadában romlanak, harmadában nem változnak és a betegek harmadánál javulást mutatnak. Így további prospektív longitudinális vizsgálatok szükségesek kontrollált és nem-kontrollált betegek bevonásával, hogy az asztmás terhesség kimenetelének előrejelzésében a kimutatott immunológiai változások jelentőségét megítélhessük.

Az CD8+IL-17+ sejtek és az IL-17+ NK sejtek szintén részt vehetnek az asztmás terhesség során bekövetkező gyulladásos válasz regulációjában, többek között IL-17 termelésükön keresztül a Th17 sejtek patogenitáshoz hozzájárulva [208]. Egészséges terhességben a Tc17 sejtarány emelkedését és az IL-17 termelő NK sejtek prevalenciájának csökkenését észleltük az ENT csoporthoz képest, mely változások az AT csoportban nem voltak kimutathatók. Azonban a Tc17 sejtek száma nem abszolút értékben nőtt, csak a CD8+ sejtek közötti részarányuk emelkedett, mivel a CD8+IL-17- sejtek aránya ugyanebben a sejtpopulációban csökkent. A korábbiakban a Tc17 sejtek citotoxicitása kisebbnek bizonyult a CD8+IL-17- sejtekénél [209], így az általunk egészséges terhességben leírt változás (a CD8+IL-17- sejtarány csökkenése) a terhességi immuntolerancia részét jelentheti; ez a tolerogén hatás is elmarad asztmával szövődött terhességben. A Tc17 sejtek citotoxicitásának mértékéről asztmás terhességben ugyanakkor nincs adat, így ez a feltevés még bizonyításra szorul. Egészséges várandósoknál az IL-17 termelő NK sejtek alacsonyabb prevalenciáját igazoltuk, ami szintén utalhat a terhességi immuntoleranciára; asztmás gravidákban ez a válasz is elmaradt. Megemlítendő azonban, hogy a CD56+IL-17+ sejtek előfordulásának ET-ben bekövetkező csökkenését a CD56+IL-17- sejtek arányának növekedése is okozhatta. Az INF-gamma termelő NK sejtek az immunsurveillance mellett más fontos feladatot is betöltenek, így részt vesznek az angiogenezisben és a keringés regulációjában valamint korai terhességben az uterus spirális artériáinak modifikációjában, melynek során ezek az uteroplacentáris keringésnek megfelelő alacsony rezisztenciájú, nagy volumenű erekké alakulnak, így biztosítva a terhesség fennmaradását [210]. Ennek megfelelően elképzelhető, hogy a sejtek ET csoporthoz viszonyított AT csoportbeli csökkenése hozzájárul az asztmás terhesség kedvezőtlen kimeneteléhez.

Harmadik vizsgálatunkban jól kontrollált asztmás várandósok csoportjában kerestük az összefüggést a perifériás T sejtek gyakorisága, illetve az asztma és az újszülöttek klinikai adatai között. A második vizsgálatunk eredményei alapján az egészséges terhességre jellemző perifériás limfocita arány (profil) asztma hatására megváltozik, ennek klinikai relevanciája azonban nem teljesen egyértelmű.

Shirai és munkatársai szignifikáns pozitív összefüggést mutattak ki a perifériás immunfenotípus és a légúti gyulladás, így az IL-4 termelő CD4+ limfociták és a kilélegzett nitrogén-monoxid, valamint az indukált köpet eozinofil sejtszáma között asztmás, nem várandós nők körében [14], összhangban azzal az elképzeléssel, miszerint a kilélegzett NO részt vesz az asztma patogenezisében a Th1 sejtek szelektív gátlásával [211]. Korábban munkacsoportunk az asztma kontroll foka, illetve a Th1 és Th2 sejtek aránya között mutatott ki negatív korrelációt többnyire nem kontrollált asztmás várandósokban. Ezzel szemben nagyrészt jól kontrollált asztmás terhesekben nem találtunk összefüggést a perifériás T sejt profil és a légúti gyulladást jellemző paraméterek között [190]. Mostani adataink ez utóbbi vizsgálattal egybehangzóan arra utalnak, hogy a terhesség hatására megszűnhet a perifériás T sejtek és a légúti gyulladás közti kapcsolat jól kontrollált asztmával szövődött várandóosság során, hiszen nem találtunk összefüggést a FE_{NO} eredményekkel jellemzett légúti gyulladás és az egyes keringő T sejt prevalenciák között.

Mindemellett negatív korrelációt figyeltünk meg a perifériás Th2 sejtszám és az ACT összpontszám között. Ez alapján a felerősödő Th2 válasz ronthatja az asztma kontrollt terhesség alatt, de ez az összefüggés a tünetek és az asztma sejtes mechanizmusai között meglévő közvetlen kapcsolatra is utalhat terhességben. Ugyanakkor a szignifikáns korreláció trend szintjére csökkent az ICS adagjára történt korrekció után, tehát a sejtes mechanizmusokat befolyásolhatja az inhalációs gyulladáscsökkentő terápia.

Az eredmények értelmezéséhez fontos ismeret, hogy az inhalációs szteroid kezelés csökkenti a FE_{NO} szintet asztmában. Szteroid-naiv betegekben a kilélegzett NO szintek emelkedett volta igazolódott a szteroiddal kezelt stabil betegekhez képest, de a FE_{NO} szintje a nem stabil, ugyanakkor szteroiddal kezelt betegeknél is alacsonynak bizonyult, mely a szteroid egyértelmű FE_{NO} csökkentő hatását mutatja [13]. Ugyanakkor a FE_{NO} alkalmas és biztonságos légúti vizsgálati módszer a terhesség során is, ezt előző vizsgálatunkban igazoltuk [107]. Jelen vizsgálatunkban az asztmás terhes asszonyok ICS

kezelésben részesültek, így ez befolyásolhatta eredményeinket a légúti gyulladást jellemző paraméterek szempontjából, emellett az ICS a T limfociták gyakoriságára is hatással lehet. Az ICS terápia csökkenti az aktivált T sejt számot az indukált köpetben [212]. Provoost és munkacsoportja asztmás betegekben azt találta, hogy a FoxP3 fehérje expresszió csökkent a CD4+ CD25high Treg sejtpopulációban, míg az ICS kezelés hatására növekvő FoxP3 expresszió irányába mutató trend volt megfigyelhető [213]. Ellenben mi korábban nem találtunk különbséget a FoxP3 pozitív Treg sejtszámban inhalációs kortikoszteroidban részesülő és nem részesülő betegek között várandósok és nem terhesek esetén sem [71]. Ez alapján úgy vélhető, hogy a vizsgált asztmás várandósok ICS kezelése nem okozott jelentős torzítást a vizsgálati eredményekben. Mindemellett fontos megjegyezni, hogy az ICS fenntartó terápiát terhesség alatt nem szabad elhagyni, hiszen a kontrollvesztés, a tünetes betegség és az exacerbáció anyai és magzati szövődmények rizikójával jár, emiatt ICS megvonása mellett etikus módon perzisztáló asztmás terhességben nem végezhető kutatás [59].

A várandós asztmások különleges kihívást jelentenek az asztma specialistáknak és allergológusoknak. A légúti áramlási ellenállás és FE_{NO} értékek közti korreláció a nitrogén-monoxid mérés klinikai jelentőségére utalhat az asztmás gyulladás monitorizálásában bizonyos patológiás terhes esetekben, amikor a testpletizmográfia elvégzése kockázatot jelenthet pl. fenyegető vetélés vagy preeclampsia esetén.

A perifériás T sejt altípusok és az eozinofil légúti gyulladás között utóbbi vizsgálatainkkal korrelálva a nem terhes allergiás asztmásokban megfigyelt kapcsolat megszűnését tapasztaltuk asztmás terhességben.

7. KÖVETKEZTETÉSEK

7.1. A kilégzett levegő kondenzátum pH változásai egészséges és asztmás terhes nőkben

A kilégzett levegő kondenzátum pH változásainak vizsgálatai során nyert eredményeink alapján egészséges és asztmás terhes nőkben igazoltuk, hogy:

1. Az EBC pH egészséges terhességben emelkedik egészséges nem terhesekhez viszonyítva, és ez az emelkedés asztmás terhességben elmarad. Ez jelezheti, hogy az asztma által indukált oxidatív gyulladásos folyamatok befolyásolhatják/kompromittálhatják az alkalikus légúti pH-t biztosító regulatórikus mechanizmusokat.

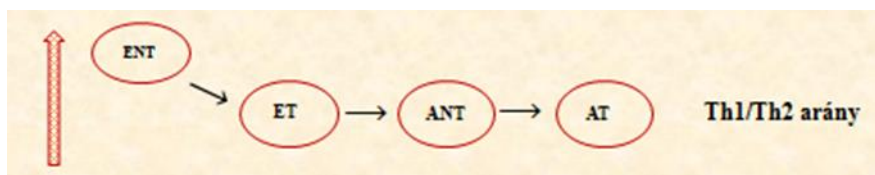
2. Az EBC pH összefügg a légzésfunkcióval és a születési súllyal asztmával szövődött terhességben: minél savasabb a kilégzett levegőkondenzátum pH értéke, annál rosszabb az asztmás gravida légzésfunkciója és annál inkább érintett lehet a magzati fejlődés.

7.2. A perifériás Th1/Th2/Th17/Treg sejtarány asztmás terhességben

3. Egészséges terhességben megemelkedett perifériás Treg sejtprevalencia igazolható; asztmás terhességben ez az egészséges terhességre jellemző Treg sejtarány emelkedés elmarad.

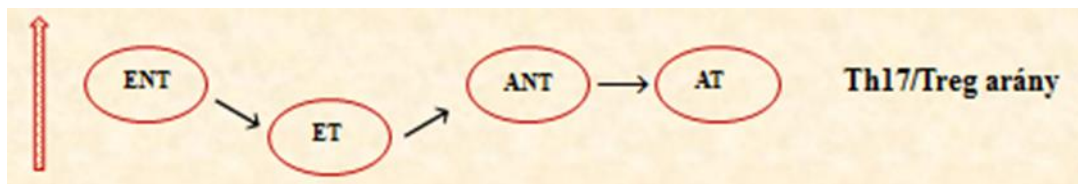
4. Az egészséges terhességre jellemző Th1, Th2, Th17 és Treg sejtek érzékeny egyensúlyát a konkomittáló, jól vagy részlegesen kontrollált asztma megváltoztatja:

a. Az egészséges terhesség és az asztma egyaránt alacsonyabb Th1/Th2 sejtaránnyal jellemezhető állapotok (az egészséges nem terhes állapothoz képest), de asztmával szövődött terhességben további csökkenés nem figyelhető meg (18. ábra);



18. ábra Th1/Th2 sejtarány a vizsgált ENT, ET, ANT és AT csoportban

- b. A keringő Th17 sejtek prevalenciája magasabb, a Treg sejteké alacsonyabb asztmás terhesekben, mint egészséges várandósokban;
- c. Egészséges terhességben csökken a Th17/Treg arány (az egészséges nem terhes állapothoz képest), asztmás terhességben ez a csökkenés elmarad (19. ábra).



19. ábra Th17/Treg sejtarány az ENT, ET, ANT és AT csoportokban

7.3. A perifériás T sejt profil összefüggése a légúti gyulladással és az asztma kontrollal asztmával szövődött terhességben

5. Kezelt asztmával szövődött terhességben a T sejt immunválasz perifériás vérből is detektálható változásai a légzésfunkcióval vagy FENO-val nem mutatnak összefüggést, azonban a Th2 prevalencia negatív összefüggést mutat az asztma kontrollfokával; A célkitűzéseken túl igazoltuk, hogy egészséges terhességben a Treg arány pozitívan korrelál az újszülöttek születési súlyával; vizsgálatunk alapján asztmás terhességben a Treg prevalencia és újszülöttkori születési súly közötti egészséges terhességre jellemző pozitív összefüggés nem mutatható ki.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Az asztma az egyik leggyakoribb terhességgel társuló krónikus megbetegedés, számos anyai és magzati szövődmény rizikófaktora, amely a várandósok egy-harmadánál a terhesség alatt romlást mutat. Napjainkban még nem ismerünk olyan szisztémás vagy kilégzett biomarkert, ami alkalmas lenne a rosszabbodás előrejelzésére. Az optimális asztma kontroll fenntartása terhesség során ugyanakkor csökkenti az anyai és magzati szövődmények rizikóját, ezért a tünetek és a légúti gyulladás megfelelő fékentartása fontos lenne ebben a betegcsoportban. A jelenleg rendelkezésre álló légúti gyulladást elemző metodikák (pl. bronchosopia, indukált köpet vizsgálat) azonban potenciális veszélyekkel járnak mind az anyára, mind a magzatra nézve. Asztmában a légúti gyulladás becslésére alkalmazható, a FENO-hoz hasonlóan neminvazív módon meghatározható marker, a kilégzett levegő kondenzátum pH értéke. Vizsgálataink során asztmás várandós és nem várandós valamint – kontrollcsoportként – egészséges terhes és nem terhes csoportokat vizsgálva először mutattuk ki, hogy az egészséges várandósok kilégzett levegőjének pH-ja magasabb a nem-terhes egészséges populációhoz képest, melynek hátterében nem a terhességi hyperventiláció, inkább a terhességre jellemző csökkent oxidatív stressz állhat. Ez a pH emelkedés asztmás terhességben elmaradt, mely arra utalhat, hogy az asztmára jellemző oxidatív gyulladós folyamatok csökkentik a terhesség alatt fellépő immuntolerogén mechanizmusok légúti kémhatást alkalizáló hatását. Asztmával szövődött terhességben negatív összefüggést igazoltunk a légúti pH és az erőltetett vitálkapacitás, valamint szignifikáns pozitív összefüggést találtunk az EBC pH és a születési súly között, alátámasztva azt a megfigyelést, miszerint a magzati növekedési retardáció az aktív, asztma-asszociált anyai gyulladós reakciókkal kapcsolatban áll.

Mind a terhességet, mind pedig az asztmát élénk sejtimmunológiai változások jellemzik, amelyek kölcsönhatása befolyásolhatja az asztmás terhesség kimenetelét. A korábbi Th1/Th2 paradigma kibővülésével az immunválasz fő meghatározójának tartott Th1/Th2/Th17/Treg sejtek egészséges terhességre jellemző arányában asztmában vizsgálataink során változást észleltünk, a keringő Treg sejtek prevalenciája alacsonyabb, a Th17 sejteké pedig magasabb volt asztmás terhesekben, mint egészséges várandósokban. Az egészséges nem várandósokhoz viszonyítva egészséges terhesekben a Th17/Treg arány csökkenését mutattuk ki, amely csökkenés asztmás terhességben

elmarad, utalva ezzel a megváltozott terhességi immuntoleranciára. A terhességet jellemző csökkent immunológiai aktivitás lehet a válasz a légúti gyulladás és az immunfenotípus között nem várandós asztmásokban megfigyelt erős kapcsolat megszűnésére, míg az asztma kontrollszintje és a perifériás Th2 sejtprevalencia összefüggése a tünetek és az asztma sejtes mechanizmusai közti közvetlen kapcsolatra utalhatnak.

9. SUMMARY

Asthma, which is one of the most common chronic disease complicating pregnancy and a risk factor for several maternal and fetal complications, deteriorates in one third of pregnant women. Up till now there are no systemic or exhaled biomarkers known that could predict the worsening of the disease during gestation. On the other hand, optimal asthma control reduces the risk of maternal and fetal complications, thus close monitoring of the disease and airway inflammation would be important in this patient population. Currently available methodologies for assessing airway inflammation (eg. bronchoscopy, induced sputum test), however, involve potential risks for the mother and the fetus. Exhaled breath condensate (EBC) pH is a non-invasive marker for estimating asthma-associated airway inflammation similarly to FE_{NO} . In our studies examining asthmatic pregnant and non-pregnant patients together with healthy pregnant and non-pregnant women, we demonstrated for the first time that the pH of exhaled breath condensate is higher in healthy pregnant than in the non-pregnant healthy population, which may be the result of the reduced oxidative stress characterizing pregnancy rather than pregnancy-induced hyperventilation. The increase of pH is not detectable in asthmatic pregnancy that may indicate that oxidative inflammatory processes related to asthma may reduce the alkalizing effect of the immune-regulatory mechanisms during pregnancy. In asthmatic pregnant we found a significant negative correlation between pH and forced vital capacity and significant positive correlation between EBC pH and birth weight, supporting that fetal growth restriction is associated with active asthma-associated maternal inflammatory reactions in asthmatic pregnancy.

The previous Th1/Th2 paradigm has been transformed into a novel viewpoint that incorporates Th1, Th2, Th17 and Treg cells as the main elements of the immune system. The proportion of cells characterizing healthy pregnancy is altered in asthmatic gestation, as the prevalence of circulating Treg cells is lower, while that of Th17 cells is higher in asthmatic pregnant compared to healthy pregnant women. Thus, we proved a decreased Th17/Treg ratio in healthy pregnant compared with healthy non-pregnant women, however this decrease could not be seen in asthmatic pregnancy, presumably due to the altered pregnancy-related immunetolerance. Impaired immune reactions associated with gestation may be responsible for the diminished connection between immune phenotype

and airway inflammation that characterizes non-pregnant asthmatics while the correlation of asthma control and peripheral Th2 cell prevalence may indicate a direct relationship between symptoms and cellular mechanisms.

10. IRODALOMJEGYZÉK

1. Korányi Bulletin (2015). 1: 26.
2. Kukla L, Bouchalova M, Shkiriak-Nyzhnyk Z, Chyslovska N, Golding J, Goodfellow S, Ignatjeva RZ. (2008) Chronic morbidity in women, namely in pregnancy (comparative study between West, Central and East European countries). *Lik Sprava*, 1-2: 43-60.
3. Kwon HL, Belanger K, Bracken MB. (2003) Asthma prevalence among pregnant and childbearing-aged women in the United States: estimates from national health surveys. *Ann Epidemiol*, 13 (5): 317-324.
4. Gluck JC, Gluck PA. (1976) The effects of pregnancy on asthma: a prospective study. *Ann Allergy*, 37 (3): 164-168.
5. Schatz M, Harden K, Forsythe A, Chilingar L, Hoffman C, Sperling W, Zeiger RS. (1988) The course of asthma during pregnancy, post partum, and with successive pregnancies: a prospective analysis. *J Allergy Clin Immunol*, 81 (3): 509-517.
6. Global Initiative for Asthma (GINA). 2015. Elérhetőség: <http://www.ginasthma.org>.
7. Egészségügyi szakmai irányelv – Az asztma diagnosztikájának, kezelésének és orvosi gondozásának alapelveiről felnőttkorban. 2014.05.01 – 2018.05.01.
8. Nathan C, Xie QW. (1994) Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell*, 78: 915–918.
9. Guo FH, Comhair SA, Zheng S, Dweik RA, Eissa NT, Thomassen MJ, Calhoun W, Erzurum SC. (2000) Molecular mechanisms of increased nitric oxide (NO) in asthma: evidence for transcriptional and posttranslational regulation of NO synthesis. *J Immunol*, 164: 5970–5980.
10. Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. (1993) Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J*, 6: 1368–1370.
11. Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan-Sinclair R, Shinebourne EA, Barnes PJ. (1994) Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet*, 343: 133–135.
12. Silkoff PE, McClean P, Spino M, Erlich L, Slutsky AS, Zamel N. (2001) Dose–response relationship and reproducibility of the fall in exhaled nitric oxide after inhaled beclomethasone dipropionate therapy in asthma patients. *Chest*, 119: 1322–1328.

13. Horváth I, Donnelly LE, Kiss A, Kharitonov SA, Lim S, Chung KF, Barnes PJ: Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. (1998) *Am. J. Respir. Crit. Care Med*, 158: 1042–1046.
14. Shirai T1, Inui N, Suda T, Chida K. (2006) Correlation between peripheral blood T-cell profiles and airway inflammation in atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 118 (3): 622-626.
15. Dweik RA, Comhair SA, Gaston B, Thunnissen FB, Farver C, Thomassen MJ, Kavuru M, Hammel J, Abu-Soud HM, Erzurum SC. (2001) NO chemical events in the human airway during the immediate and late antigen-induced asthmatic response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 2622–2627.
16. Reid DW, Johns DP, Feltis B, Ward C, Walters EH. (2003) Exhaled nitric-oxide continues to reflect airway hyperresponsiveness and disease activity in inhaled corticosteroid-treated adult asthmatic patients. *Respirology*, 8: 479–486.
17. ATS/ERS Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children. (2005) *Am J Respir Crit Care Med*, 171: 912-930.
18. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, Irvin CG, Leigh MW, Lundberg JO, Olin AC, Plummer AL, Taylor DR; American Thoracic Society Committee on Interpretation of Exhaled Nitric Oxide Levels (FENO) for Clinical Applications. (2011) An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med*, 184 (5): 602-615.
19. Horváth I. (2009) Kilégzett biomarkerek alkalmazása pulmonológiai kórképek vizsgálatában. *Amega*, 16: 8-13.
20. Effros RM, Hoagland KW, Bosbous M, Castillo D, Foss B, Dunning M, Gare M, Lin W, Sun F. (2002) Dilution of respiratory solutes in exhaled condensates. *Am J Respir Crit Care Med*, 165: 663–669.
21. Hunt J. (2007) Exhaled breath condensate: an overview. *Immunol Allergy Clin North Am*, 27: 587–596.
22. Rosias PP, Robroeks CM, Niemarkt HJ, Kester AD, Vernooij JH, Suykerbuyk J, Teunissen J, Heynens J, Hendriks HJ, Jöbbsis Q, Dompeling E. (2006) Breath condenser coatings affect measurement of biomarkers in exhaled breath condensate. *Eur Respir J*, 28: 1036–1041.

23. Rosias PP, Robroeks CM, Kester A, den Hartog GJ, Wodzig WK, Rijkers GT, Zimmermann LJ, van Schayck CP, Jöbsis Q, Dompeling E. (2008) Biomarker reproducibility in exhaled breath condensate collected with different condensers. *Eur Respir J*, 31: 934–942.
24. Goldoni M, Caglieri A, Andreoli R, Poli D, Manini P, Vettori MV, Corradi M, Mutti A. (2005) Influence of condensation temperature on selected exhaled breath parameters. *BMC Pulm Med*, 5: 10.
25. Czebe K, Barta I, Antus B, Valyon M, Horváth I, Kullmann T. (2008) Influence of condensing equipment and temperature on exhaled breath condensate pH, total protein and leukotriene concentrations. *Respir Med*, 102: 720–725.
26. Horvath I, Hunt J, Barnes PJ, Alving K, Antczak A, Baraldi E, Becher G, van Beurden WJ, Corradi M, Dekhuijzen R, Dweik RA, Dwyer T, Effros R, Erzurum S, Gaston B, Gessner C, Greening A, Ho LP, Hohlfeld J, Jöbsis Q, Laskowski D, Loukides S, Marlin D, Montuschi P, Olin AC, Redington AE, Reinhold P, van Rensen EL, Rubinstein I, Silkoff P, Toren K, Vass G, Vogelberg C, Wirtz H. (2005) ATS/ERS Task Force on Exhaled Breath Condensate. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J*, 26: 523–548.
27. Garey KW, Neuhauser MM, Robbins RA, Danziger LH, Rubinstein I. (2004) Markers of inflammation in exhaled breath condensate of young healthy smokers. *Chest*, 125: 22–26.
28. Kullmann T, Barta I, Antus B, Valyon M, Horváth I. (2008) Environmental temperature and relative humidity influence exhaled breath condensate pH *Eur Respir J*, 31: 474-475.
29. Gajdocsi R, Bikov A, Antus B, Horvath I, Barnes PJ, Kharitonov SA. (2011) Assessment of reproducibility of exhaled hydrogen peroxide concentration and the effect of breathing pattern in healthy subjects. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv*, 24: 271-275.
30. Koutsokera A, Loukides S, Gourgoulialis KI, Kostikas K. (2008) Biomarkers in the exhaled breath condensate of healthy adults: mapping the path towards reference values. *Curr Med Chem*, 15: 620–630.
31. Montuschi P. (2009) LC/MS/MS analysis of leukotriene B4 and other eicosanoids in exhaled breath condensate for assessing lung inflammation. *J Chromatogr B*, 877: 1272-1280.

32. Biernacki WA, Kharitonov SA, Barnes PJ. (2003) Increased leukotrieneB4 and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of patients with exacerbations of COPD. *Thorax*, 58: 294 – 298.
33. Lazar Z, Huszar E, Kullmann T, Barta I, Antus B, Bikov A, Kollai M, Horvath I. (2008) Adenosine triphosphate in exhaled breath condensate of healthy subjects and patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Inflamm Res*, 57: 367-373.
34. Wells K, Vaughan J, Pajewski TN, Hom S, Ngamtrakulpanit L, Smith A, Nguyen A, Turner R, Hunt J. (2005) Exhaled breath condensate pH assays are not influenced by oral ammonia. *Thorax*, 60: 27-31.
35. Donnelly L. Exhaled breath condensate: nitric oxide-related compounds. In: Horváth I, de Jongste JC, editors. *European Respiratory Monograph (Exhaled Biomarkers)*. Plymouth: Latimer Trend & Co, 2010: 207–216.
36. Griese M, Noss J, von Bredow C. (2002) Protein pattern of exhaled breath condensate and saliva. *Proteomics*, 2 (6): 690-696.
37. Vaughan J, Ngamtrakulpanit L, Pajewski T, Turner R, Nguyen T, Smith A, Urban P, Hom S, Gaston B, Hunt J. (2003) Exhaled breath condensate pH is a robust and reproducible assay of airway acidity. *Eur Respir J*, 22: 889–894.
38. Hunt JF, Fang K, Malik R, Snyder A, Malhotra N, Platts-Mills TA, Gaston B. (2000) Endogenous airway acidification. Implications for asthma pathophysiology. *Am J Respir Crit Care Med*, 161: 694–699.
39. Kostikas K, Papatheodorou G, Ganas K, Ganas K, Psathakis K, Panagou P, Loukides S. (2002) pH in expired breath condensate of patients with inflammatory airway diseases. *Am J Respir CritCare Med*, 165: 1364–1370.
40. Tate S, MacGregor G, Davis M, Innes J, Greening A. (2002) Airways in cystic fibrosis are acidified: detection by exhaled breath condensate. *Thorax*, 57: 926–929.
41. Gessner C, Hammerschmidt S, Kuhn H, Seyfarth HJ, Sack U, Engelmann L, Schauer J, Wirtz H. (2003) Exhaled breath condensate acidification in acute lung injury. *Respir Med*, 97: 1188–1194.
42. Martinez D, Vermeulen M, von Euw E, Sabatté J, Maggini J, Ceballos A, Trevani A, Nahmod K, Salamone G, Barrio M, Giordano M, Amigorena S, Geffner J. (2007) Extracellular acidosis triggers the maturation of human dendritic cells and the production of IL-12. *J Immunol*, 179: 1950–1959.

43. Hunt JF, Gaston B. (2008) Airway acidification and gastroesophageal reflux. *Curr Allergy Asthma Rep*, 8 (1): 79-84.
44. Yoon SS, Coakley R, Lau GW, Lyman SV, Gaston B, Karabulut AC, Hennigan RF, Hwang SH, Buettner G, Schurr MJ, Mortensen JE, Burns JL, Speert D, Boucher RC, Hassett DJ. (2006) Anaerobic killing of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* by acidified nitrite under conditions characteristic of the cystic fibrosis airway. *J Clin Invest*, 116: 436–446.
45. Piddington DL, Kashkouli A, Buchmeier NA. (2000) Growth of *Mycobacterium tuberculosis* in a defined medium is very restricted by acid pH and Mg (2+) levels. *Infect Immun*, 68: 4518–4522.
46. Carraro S, Doherty J, Zaman K, Gainov I, Turner R, Vaughan J, Hunt JF, Márquez J, Gaston B. (2006) S-nitrosothiols regulate cell-surface pH buffering by airway epithelial cells during the human immune response to rhinovirus. *Am J Physiol Lung Cell Mol*, 290: L827–L832.
47. Cole AM1, Kim YH, Tahk S, Hong T, Weis P, Waring AJ, Ganz T. (2001) Calcitermin, a novel antimicrobial peptide isolated from human airway secretions. *FEBS Lett*, 504 (1-2): 5-10.
48. Mahmoud H. Abou Alaiwa, Leah R. Reznikov, Nicholas D. Gansemer, Kelsey A. Sheets, Alexander R. Horswill, David A. Stoltz, Joseph Zabner, Michael J. Welsh. (2014) pH modulates the activity and synergism of the airway surface liquid antimicrobials β -defensin-3 and LL-37. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 111 (52): 18703–18708.
49. Nakayama K, Jia YX, Hirai H, Shinkawa M, Yamaya M, Sekizawa K, Sasaki H. (2002) Acid stimulation reduces bactericidal activity of surface liquid in cultured human airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*, (1): 105-113.
50. Ricciardolo FL, Gaston B, Hunt J. (2004) Acid stress in the pathology of asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 113: 610–619.
51. Ricciardolo FLM, Rado V, Fabbri LM, Sterk PJ, Di Maria GU, Geppetti P. (1999) Bronchoconstriction induced by citric acid inhalation in guinea pigs: role of tachykinins, bradykinin, and nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med*, 159: 557–562.

52. Horvath G, Schmid N, Fragoso MA, Schmid A, Conner GE, Salathe M, Wanner A. (2007) Epithelial organic cation transporters ensure pH dependent drug absorption in the airway. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 36: 53–60.
53. Effros RM, Casaburi R, Su J, Dunning M, Torday J, Biller J, Shaker R. (2006) The effects of volatile salivary acids and bases on exhaled breath condensate pH. *Am J Respir Crit Care Med*, 173: 386–392.
54. Kullmann T, Barta I, Lazar Z, Szili B, Barat E, Valyon M, Kollai M, Horvath I. (2007) Exhaled breath condensate pH standardised for CO₂ partial pressure. *Eur Respir J*, 29: 496-501.
55. Carpagnano, G.E, Barnes, PJ, Francis, J, Wilson N, Bush A, Kharitonov SA. (2004) Breath condensate pH in children with cystic fibrosis and asthma: a new noninvasive marker of airway inflammation? *Chest*, 125 (6): 2005–2010.
56. Hunt JF, Erwin E, Palmer L, Vaughan J, Malhotra N, Platts-Mills TA, Gaston B. (2002) Expression and activity of pH-regulatory glutaminase in the human airway epithelium. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*, 165: 101–107.
57. Leung, TF, Li, CY, Yung, E, Liu EK, Lam CW, Wong GW. (2006) Clinical and technical factors affecting pH and other biomarkers in exhaled breath condensate. *Pediatr. Pulmonol*, 41: 87–94.
58. Kostikas K, Papaioannou AI, Tanou K, Giouleka P, Koutsokera A, Minas M, Papiris S, Gourgoulialis KI, Taylor DR, Loukides S. (2011) Exhaled NO and exhaled breath condensate pH in the evaluation of asthma control. *Respir Med*, 105 (4): 526-532
59. Murphy VE, Schatz M. Asthma in pregnancy: a hit for two. (2014) *Eur Respir Rev*, 23 (131): 64-68.
60. Tamási L, Schatz M, Losonczy Gy. Asthma in Pregnancy: Immunology, Diagnosis, and Treatment In: Teresa Altamirano Frias, Miguel Jaquez Cano, Pregnancy: Risk Factors, Management and Recovery. Hauppauge: Nova Science Publishers Inc., 2012: 221-238.
61. Siddiqui S, Goodman N, McKenna S, Goldie M, Waugh J, Brightling CE. (2008) Preeclampsia is associated with airway hyperresponsiveness. *BJOG*, 115: 520.
62. Clifton VL, Giles WB, Smith R, Bisits AT, Hempenstall PA, Kessel CG, Gibson PG. (2001) Alterations of placental vascular function in asthmatic pregnancies. *Am J Respir Crit Care Med*, 164: 546-553.

63. Read MA, Leitch IM, Giles WB, Bisits AM, Boura AL, Walters WA. (1999) U46619-mediated vasoconstriction of the fetal placental vasculature in vitro in normal and hypertensive pregnancies. *J Hypertens*, 17 (3): 389-396.
64. Martel MJ, Rey E, Beauchesne MF, Perreault S, Lefebvre G, Forget A, Blais L. (2005) Use of inhaled corticosteroids during pregnancy and risk of pregnancy induced hypertension: nested case-control study. *BMJ*, 330: 230.
65. Breton MC, Beauchesne MF, Lemièrre C, Rey E, Forget A, Blais L. (2009) Risk of perinatal mortality associated with asthma during pregnancy. *Thorax*, 64 (2): 101-106.
66. Schatz M. (2009) Is maternal asthma a life or death issue for the baby? *Thorax*, 64 (2): 93-95.
67. Bakhireva LN, Schatz M, Jones KL, Chambers CD. (2008) Organization of Teratology Information Specialists Collaborative Research Group. Asthma control during pregnancy and the risk of preterm delivery or impaired fetal growth. *Ann. Allergy Asthma Immunol*, 101 (2): 137-143.
68. Olesen C, Thrane N, Nielsen GL, Sorensen HT, Olsen J, EuroMap Group. (2001) A population-based prescription study of asthma drugs during pregnancy: changing the intensity of asthma therapy and perinatal outcomes. *Respiration*, 68: 256-261.
69. 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*, 104 (9): 1278-1287.
70. Murphy VE, Gibson PG, Giles WB, Zakar T, Smith R, Bisits AM, Kessel CG, Clifton VL. (2003) Maternal asthma is associated with reduced female fetal growth. *Am J Respir Crit Care Med*, 168 (11): 1317-1323.
71. 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.
72. Bertrand JM, Riley SP, Popkin J, Coates AL. (1985) The long term pulmonary sequelae of prematurity: the role of familial airway hyperreactivity and the respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*, 312: 742-745.
73. Kramer MS, Coates AL, Michoud MC, Dagenais S, Moshonas D, Davis GM, Hamilton EF, Nuwayhid B, Joshi AK, Papageorgiou A, Usher RH. (1995) Maternal asthma and idiopathic preterm labor. *Am J Epidemiol*, 142 (10): 1078-1088.

74. Murphy VE, Namazy J, Powell H, Schatz M, Chambers C, Attia J, Gibson P. (2011) A meta-analysis of adverse perinatal outcomes in women with asthma. *BJOG*, 118 (11): 1314-1323.
75. Murphy VE, Gibson P, Talbot PI, Clifton VL. (2005) Severe asthma exacerbations during pregnancy. *Obstet Gynecol*, 106: 1046-1054.
76. Schatz M. (1999) Interrelationships between asthma and pregnancy: a literature review. *J Allergy Clin Immunol*, 103: S330-336.
77. 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.
78. Bakhireva LN, Schatz M, Jones KL, Tucker CM, Slymen DJ, Klonoff-Kohen 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.
79. Beecroft N, Cochrane GM, Milburn HJ. (1998) Effect of sex of fetus on asthma during pregnancy: blind prospective study. *Br Med J*, 317: 856-857.
80. Dodds L, Armson BA, Alexander S. (1999) Use of asthma drugs is less among pregnant with boys rather than girls. *BMJ*, 318: 1011.
81. Firoozi F, Ducharme FM, Lemièrre C, Beauchesne MF, Perreault S, Forget A, Blais L. (2009) Effect of fetal gender on maternal asthma exacerbations in pregnant asthmatic women. *Respir Med*, 103 (1): 144-151.
82. Stenius-Aarniala BS, Hedman J, Teramo KA. (1996) Acute asthma during pregnancy. *Thorax*, 51: 411-414.
83. Schatz M, Dombrowski MP, Wise R, Thom EA, Landon M, Mabie W, Newman RB, Hauth JC, Lindheimer M, Caritis SN, Leveno KJ, Meis P, Miodovnik M, Wapner RJ, Paul RH, Varner MW, O'Sullivan MJ, Thurnau GR, Conway D, McNellis D. (2003) Asthma morbidity during pregnancy can be predicted by severity classification. *J Allergy Clin Immunol*, 112: 283-288.
84. Murphy VE, Clifton VL, Gibson PG. (2006) Asthma exacerbations during pregnancy: incidence and association with adverse pregnancy outcomes. *Thorax*, 61: 169-176.

85. Schatz M, Leibman C. (2005) Inhaled corticosteroid use and outcomes in pregnancy. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 95(3): 234-238.
86. Williams DA. (1967) Asthma and pregnancy. *Acta Allergol*, 22:311.
87. Chung KD, Demissie K, Rhoads GG. (2004) Asthma in pregnancy—its relationship with race, insurance, maternal education, and prenatal care utilization. *J Natl Med Assoc*, 96: 1414-1421.
88. 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. (2006) Association of obesity with pulmonary and nonpulmonary complications of pregnancy in asthmatic women. *Obstet Gynecol*, 108: 77-82.
89. Boulet LP. (2013) Asthma and obesity. *Clin. Exp. Allergy*, 43 (1): 8-21.
90. Vrieze A, Postma DS, Kerstjens HA. (2003) Perimenstrual asthma: a syndrome without known cause or cure. *J Allergy Clin Immunol*, 112 (2): 271-282.
91. Foster PS, Goldie RG, Paterson JW. (1983) Effect of steroids on beta-adrenoceptor-mediated relaxation of pig bronchus. *Br J Pharmacol*, 78: 441-445.
92. Perusquía M1, Hernández R, Montaña LM, Villalón CM, Campos MG. (1997) Inhibitory effect of sex steroids on guinea-pig airway smooth muscle contractions. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol*, 118 (1): 5-10.
93. Wheeldon NM, Newnham DM, Coutie WJ, Peters JA, McDevitt DG, Lipworth BJ. (1994) Influence of sex-steroid hormones on the regulation of lymphocyte beta 2-adrenoceptors during the menstrual cycle. *Br J Clin Pharmacol*, 37: 583-588.
94. Tan KS, McFarlane LC, Coutie WJ, Lipworth BJ. (1996) Effects of exogenous female sex-steroid hormones on lymphocyte beta 2- adrenoceptors in normal females. *Br J Clin Pharmacol*, 41: 414-416.
95. Tan KS, McFarlane LC, Lipworth BJ. (1997) Loss of normal cyclical beta 2 adrenoceptor regulation and increased premenstrual responsiveness to adenosine monophosphate in stable female asthmatic patients. *Thorax*, 52: 608-611.
96. Tan KS, McFarlane LC, Lipworth BJ. (1997) Paradoxical down-regulation and desensitization of beta2-adrenoceptors by exogenous progesterone in female asthmatics. *Chest*, 111: 847-851.

97. Piccinni MP, Giudizi MG, Biagiotti R, Beloni L, Giannarini L, Sampognaro S, Parronchi P, Manetti R, Annunziato F, Livi C, Romagnani S, Maggi E. (1995) Progesterone favors the development of human T helper cells producing Th2-type cytokines and promotes both IL-4 production and membrane CD30 expression in established Th1 cell clones. *J Immunol*, 155: 128–133.
98. Gilmore W, Weiner LP, Correale J. (1997) Effect of estradiol on cytokine secretion by proteolipid protein-specific T cell clones isolated from multiple sclerosis patients and normal control subjects. *J Immunol*, 158: 446–451.
99. Faas M, Bouman A, Moesa H, Heineman MJ, Leij L, Schuiling G. (2000) The immune response during the luteal phase of the ovarian cycle: a Th2-type response? *Fertil Steril*, 74: 1008–1013.
100. Hosenpud JD, Hart MV, Morton MJ, Hohimer AR, Resko JA. (1983) Progesterone-induced hyperventilation in the guinea pig. *Respir Physiol*, 52: 259–264.
101. Gibbs CJ, Coutts II, Lock R, Finnegan OC, White RJ. (1984) Premenstrual exacerbation of asthma. *Thorax*, 39: 833–836.
102. Kolarzyk E, Szot WM, Lyszczarz J. (2005) Lung function and breathing regulation parameters during pregnancy. *Arch Gynecol Obstet*, 272: 53–58.
103. McAuliffe F, Kametas N, Costello J, Rafferty GF, Greenough A, Nicolaides K. (2002) Respiratory function in singleton and twin pregnancy. *BJOG*, 109: 765–769.
104. Puranik BM, Kaore SB, Kurhade GA, Agrawal SD, Patwardhan SA, Kher JR. (1994) A longitudinal study of pulmonary function tests during pregnancy. *Indian J Physiol Pharmacol*, 38: 129–132.
105. Harirah HM, Donia SE, Nasrallah FK, Saade GR, Belfort MA. (2005) Effect of gestational age and position on peak expiratory flow rate: a longitudinal study. *Obstet Gynecol*, 105: 372–376.
106. Grindheim G, Toska K, Estensen ME, Rosseland LA. (2012) Changes in pulmonary function during pregnancy: a longitudinal cohort study. *BJOG*, 119 (1): 94-101.
107. 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.

108. Pijnenburg M, Bakker E, Hop W, De Jongste J. (2005) Titrating steroids on exhaled nitric oxide in children with asthma: a randomised controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med*, 172: 831–836.
109. 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: 2163–2173.
110. Petsky H, Cates C, Li A, Kynaston J, Turner C, Chang A. (2008) Tailored interventions based on exhaled nitric oxide versus clinical symptoms for asthma in children and adults. *Cochrane Database Syst Rev*, 2: CD006340.
111. Szefler SJ, Mitchell H, Sorkness CA, Gergen PJ, O'Connor GT, Morgan WJ, Kattan M, Pongracic JA, Teach SJ, Bloomberg GR, Eggleston PA, Gruchalla RS, Kerckmar CM, Liu AH, Wildfire JJ, Curry MD, Busse WW. (2008) Management of asthma based on exhaled nitric oxide in addition to guideline-based treatment for inner-city adolescents and young adults: a randomised controlled trial. *Lancet*, 372: 1065–1072.
112. 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: 983-990.
113. 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: 295-300.
114. Bikov A, Bohács A, Eszes N, Weiszhar Z, Ivancso I, Muller V, Rigo J, Jr., Losonczy G, Tamasi L, Horvath I. (2012) Circulating and exhaled vascular endothelial growth factor in asthmatic pregnancy. *Biomarkers*, 17: 648-654.
115. Ivancsó I, Toldi G, Bohács A, Eszes N, Müller V, Rigó J Jr, Vásárhelyi B, Losonczy G, Tamási L. (2013) Relationship of circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) levels to disease control in asthma and asthmatic pregnancy. *PLoS One*, 8: e60697.
116. Eszes N, Toldi G, Bohács A, Ivancsó I, Müller V, Rigó J Jr, Losonczy G, Vásárhelyi B, Tamási L. (2014) Relationship of circulating hyaluronic acid levels to disease control in asthma and asthmatic pregnancy. *PLoS One*, 9: e94678.

117. Schatz M, Dombrowski MP. (2009) Asthma in Pregnancy. *NEJM*, 360 (18): 1862–1869.
118. 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.
119. Schatz M, Dombrowski MP, Wise R, Momirova V, Landon M, Mabie W, Newman RB, Hauth JC, Lindheimer M, Caritis SN, Leveno KJ, Meis P, Miodovnik M, Wapner RJ, Paul RH, Varner MW, O'Sullivan MJ, Thurnau GR, Conway DL; Maternal-Fetal Medicine Units Network, The National Institute of Child Health and Development; National Heart, Lung and Blood Institute. (2004) The relationship of asthma medication use to perinatal outcomes. *J Allergy Clin Immunol*, 113: 1040–1045.
120. Bakhireva LN, Jones KL, Schatz M, Johnson D, Chambers CD. (2005) Organization Of Teratology Information Services Research Group Asthma medication use in pregnancy and fetal growth. *J Allergy Clin Immunol*, 116: 503–509.
121. Källén B, Rydhstroem H, Aberg A. (1999) Congenital malformations after the use of inhaled budesonide in early pregnancy. *Obstet Gynecol*, 93: 392–395.
122. Munsie JPW, Lin S, Browne ML, Campbell KA, Caton AR, Bell EM, Rasmussen SA, Romitti PA, Druschel CM; National Birth Defects Prevention Study. (2011) Maternal bronchodilator use and the risk of orofacial clefts. *Hum Reprod*, 26: 3147-3154.
123. Lin S, Munsie JP, Herft-Losavio ML, Bell E, Druschel C, Romitti PA, Olney R; National Birth Defects Prevention Study. (2008) Maternal asthma medication and the risk of gastroschisis. *Am J Med Genet*, 168: 73-79.
124. Garne E, Hansen AV, Morris J, Zaupper L, Addor MC, Barisic I, Gatt M, Lelong N, Klungsoyr K, O'Mahony M, Nelen V, Neville AJ, Pierini A, Tucker D, de Walle H, Wiesel A, Loane M, Dolk H. (2015) Use of asthma medication during pregnancy and risk of specific congenital anomalies: A European case-malformed control study. *J Allergy Clin Immunol*, 136 (6): 1496-1502.

125. National Asthma Education and Prevention Program. (2007) Expert panel report 3: guidelines for the diagnosis and management of asthma: full report (Accessed April 6, 2009, at <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthgdln.pdf>.)
126. Sarkar M, Koren G, Kalra S, Ying A, Smorlesi C, De Santis M, Diav-Citrin O, Avgil M, Lavigne SV, Berkovich M, Einarson A. (2009) Montelukast use during pregnancy: a multicentre, prospective, comparative study of infant outcomes. *Eur J Clin Pharmacol*, 65 (12): 1259-1264.
127. Lambrecht BN, Hammad H. (2009) Biology of lung dendritic cells at the origin of asthma. *Immunity*, 31: 312-424.
128. Vercelli D. Immunoglobulin E and its regulators. (2001) *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 1: 61-65.
129. Till S, Li B, Durham S, Humbert M, Assoufi B, Huston D, Dickason R, Jeannin P, Kay AB, Corrigan C. (1995) Secretion of the eosinophil-active cytokines interleukin-5, granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and interleukin-3 by bronchoalveolar lavage CD4+ and CD8+ T cell lines in atopic asthmatics, and atopic and non-atopic controls. *Eur J Immunol*, 25: 2727-2731.
130. Dougherty RH, Sidhu SS, Raman K, Solon M, Solberg OD, Caughey GH, Woodruff PG, Fahy JV. Accumulation of intraepithelial mast cells with a unique protease phenotype in T(H)2-high asthma. (2010) *J Allergy Clin Immunol*, 125: 1046–1053.
131. Sallusto F, Lanzavecchia A, Mackay C.R. (1998) Chemokines and chemokine receptors in T-cell priming and Th1/Th2-mediated responses. *Immunol Today*, 19: 568–574.
132. Bonecchi R, Bianchi G, Bordignon PP, D'Ambrosio D, Lang R, Borsatti A, Sozzani S, Allavena P, Gray P.A, Mantovani A, Sinigaglia F. (1998) Differential expression of chemokine receptors and chemotactic responsiveness of type 1 T helper cells (Th1s) and Th2s. *J. Exp. Med*, 187: 129–134.
133. Zheng W, Flavell RA. (1997) The transcription factor GATA-3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells. *Cell*, 89: 587–596.
134. Wiley R, Palmer K, Gajewska B, Stampfli M, Alvarez D, Coyle A, Gutierrez-Ramos J, Jordana M. (2001) Expression of the Th1 chemokine IFN-gamma-inducible protein 10 in the airway alters mucosal allergic sensitization in mice. *J. Immunol*, 166: 2750–2759.

135. Patel M, Xu D, Kewin P, Choo-Kang B, McSharry C, Thomson N.C, Liew F.Y. (2005) TLR2 agonist ameliorates established allergic airway inflammation by promoting Th1 response and not via regulatory T cells. *J. Immunol*, 174: 7558–7563.
136. Haldar P, Pavord ID, Shaw DE, Berry MA, Thomas M, Brightling CE, Wardlaw AJ, Green RH. (2008) Cluster analysis and clinical asthma phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med*, 178 (3): 218-224.
137. Wenzel SE, Schwartz LB, Langmack EL, Halliday JL, Trudeau JB, Gibbs RL, Chu HW. (1999) Evidence that severe asthma can be divided pathologically into two inflammatory subtypes with distinct physiologic and clinical characteristics. *Am J Respir Crit Care Med*, 160 (3): 1001-1008.
138. Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, McClanahan T, Kastelein RA, Cua DJ. (2005) IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exper Med*, 201: 233-240.
139. Afzali B, Lombardi G, Lechler RI, Lord GM. (2007) The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clin Exp Immunol*, 148: 32-46.
140. Ikeuchi H, Kuroiwa T, Hiramatsu N, Kaneko Y, Hiromura K, Ueki K, Nojima Y. (2005) Expression of interleukin-22 in rheumatoid arthritis: potential role as a proinflammatory cytokine. *Arthritis Rheum*, 52: 1037-1046.
141. Brand S, Beigel F, Olszak T, Zitzmann K, Eichhorst ST, Otte JM, Diepolder H, Marquardt A, Jagla W, Popp A, Leclair S, Herrmann K, Seiderer J, Ochsenkuhn T, Goke B, Auernhammer CJ, Dambacher J. (2006) IL-22 is increased in active Crohn's disease and promotes proinflammatory gene expression and intestinal epithelial cell migration. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 290: G827–38.
142. Shin HC, Benbernou N, Esnault S, Guenounou M. (1999) Expression of IL-17 in human memory CD45RO+T lymphocytes and its regulation by protein kinase A pathway. *Cytokine*, 11:257.
143. Passos ST, Silver JS, O'Hara AC, Sehy D, Stumhofer JS, Hunter CA. (2010) IL-6 promotes NK cell production of IL-17 during toxoplasmosis. *J. Immunol*, 184: 1776-1783.
144. Sargent IL, Borzychowski AM, Redman CW. (2007) NK cells and preeclampsia. *J. Reprod. Immunol*, 76: 40-44.

145. Hellings PW, Kasran A, Liu Z, Vandekerckhove P, Wuyts A, Overbergh L, Mathieu C, Ceuppens JL. (2003) Interleukin-17 orchestrates the granulocyte influx into airways after allergen inhalation in a mouse model of allergic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 28: 42-50.
146. Zhao Y, Yang J, Gao YD, Guo W. (2010) Th17 immunity in patients with allergic asthma. *Int Arch Allergy Immunol*, 151 (4): 297-307.
147. Bullens DM, Truyen E, Coteur L, Dilissen E, Hellings PW, Dupont LJ, Ceuppens JL. (2006) IL-17 mRNA in sputum of asthmatic patients: linking T cell driven inflammation and granulocytic influx? *Respir Res*, 7: 135.
148. Agache I, Ciobanu C, Agache C, Anghel M. (2010) Increased serum IL-17 is an independent risk factor for severe asthma. *Respir Med*, 104 (8): 1131-1137.
149. Molet S, Hamid Q, Davoine F, Nutku E, Taha R, Page N, Olivenstein R, Elias J, Chakir J. (2001) IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines. *J Allergy Clin Immunol*, 108: 430–438.
150. Chien JW, Lin CY, Yang KD, Lin CH, Kao JK, Tsai YG. (2013) Increased IL-17A secreting CD4+ T cells, serum IL-17 levels and exhaled nitric oxide are correlated with childhood asthma severity. *Clin Exp Allergy*, 43 (9): 1018-1026.
151. McKinley L, Alcorn JF, Peterson A, Dupont RB, Kapadia S, Logar A, Henry A, Irvin CG, Piganelli JD, Ray A, Kolls JK. (2008) TH17 cells mediate steroid-resistant airway inflammation and airway hyperresponsiveness in mice. *J Immunol*, 181: 4089-4097.
152. Vazquez-Tello A, Halwani R, Hamid Q, Al-Muhsen S. (2013) Glucocorticoid receptor-beta up-regulation and steroid resistance induction by IL-17 and IL-23 cytokine stimulation in peripheral mononuclear cells. *J Clin Immunol*, 33:466–478.
153. Dias PM1, Banerjee G. (2013) The role of Th17/IL-17 on eosinophilic inflammation. *J Autoimmun*, 40: 9-20.
154. Besnard AG, Sabat R, Dumoutier L, Renauld JC, Willart M, Lambrecht B, Teixeira MM, Charron S, Fick L, Erard F, Warszawska K, Wolk K, Quesniaux V, Ryffel B, Togbe D. (2011) Dual Role of IL-22 in allergic airway inflammation and its cross-talk with IL-17A. *Am J Respir Crit Care Med*, 183 (9): 1153-1163.

155. Cheung PF, Wong CK, Lam CW. (2008) Molecular mechanisms of cytokine and chemokine release from eosinophils activated by IL-17A, IL-17F, and IL-23: implication for Th17 lymphocytes-mediated allergic inflammation. *J Immunol*, 180: 5625-5635.
156. Wakashin H, Hirose K, Maezawa Y, Kagami S, Suto A, Watanabe N, Saito Y, Hatano M, Tokuhisa T, Iwakura Y, Puccetti P, Iwamoto I, Nakajima H. (2008) IL-23 and Th17 cells enhance Th2-cell-mediated eosinophilic airway inflammation in mice. *Am J Respir Crit Care Med*, 178:1023-1032.
157. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. (2003) Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*, 299: 1057-1061.
158. Takahashi T, Kuniyasu Y, Toda M, Sakaguchi N, Itoh M, Iwata M, Shimizu J, Sakaguchi S. (1998) Immunologic self-tolerance maintained by CD25+CD4+ naturally anergic and suppressive T cells: induction of autoimmune disease by breaking their anergic/suppressive state. *Int Immunol*, 10: 1969–1980.
159. Shevach EM. (2006) From vanilla to 28 flavors: multiple varieties of T regulatory cells. *Immunity*, 25: 195–201.
160. Dieckmann D, Plottner H, Berchtold S, Berger T, Schuler G. (2001) Ex vivo isolation and characterization of CD4(+)CD25(+) T cells with regulatory properties from human blood. *J Exp. Med*, 193: 1303–1310.
161. Nakamura K, Kitani A, Strober W. (2001) Cell contact-dependent immunosuppression by CD4+CD25+ regulatory T cells is mediated by cell surface-bound transforming growth factor β . *J Exp Med*, 194: 629-644.
162. Ly D, Mi QS, Hussain S, Delovitch TL. (2006) Protection from type 1 diabetes by invariant NK T cells requires the activity of CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol*, 177: 3695–3704.
163. Lu LF, Lind EF, Gondek DC, Bennett KA, Gleeson MW, Pino-Lagos K, Scott ZA, Coyle AJ, Reed JL, Van Snick J, Strom TB, Zheng XX, Noelle RJ. (2006) Mast cells are essential intermediaries in regulatory T-cell tolerance. *Nature*, 442: 997–1002.
164. Duthoit CT, Mekala DJ, Alli RS, Geiger TL. (2005) Uncoupling of IL-2 signaling from cell cycle progression in naive CD4+ T cells by regulatory CD4+CD25+ T lymphocytes. *J Immunol*, 174: 155–163.
165. Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. (2010) Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol*, 63: 601-10.

166. Lin YL, Shieh CC, Wang JY. (2008) The functional insufficiency of human CD4+ CD25 high T-regulatory cells in allergic asthma is subjected to TNF-alpha modulation. *Allergy*, 63: 67–74.
167. Shi YH, Shi GC, Wan HY, Jiang LH, Ai XY, Zhu HX, Tang W, Ma JY, Jin XY, Zhang BY. (2011) Coexistence of Th1/Th2 and Th17/Treg imbalances in patients with allergic asthma. *Chin Med J (Engl)* 124 (13): 1951-1956.
168. Hartl D, Koller B, Mehlhorn AT, Reinhardt D, Nicolai T, Schendel DJ, Griese M, Krauss-Etschmann S (2007) Quantitative and functional impairment of pulmonary CD4+CD25hi regulatory T cells in pediatric asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 119: 1258-1266.
169. Zhu J, Paul WE. (2008) CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood*, 112 (5): 1557-1569.
170. Basso AS, Cheroutre H, Mucida D. (2009) More stories on Th17 cells. *Cell Res*. 19 (4): 399-411.
171. Cosmi L, Liotta F, Maggi E, Romagnani S, Annunziato F. (2011) Th17 cells: new players in asthma pathogenesis. *Allergy*, 66: 989–998.
172. Jackson DJ, Gangnon RE, Evans MD, Roberg KA, Anderson EL, Pappas TE, Printz MC, Lee WM, Shult PA, Reisdorf E, Carlson-Dakes KT, Salazar LP, DaSilva DF, Tisler CJ, Gern JE, Lemanske RF Jr. (2008) Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*, 178: 667–672.
173. Scordamaglia F, Balsamo M, Scordamaglia A, Moretta A, Mingari MC, Canonica GW, Moretta L, Vitale M. (2008) Perturbations of natural killer cell regulatory functions in respiratory allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*, 121: 479-485.
174. Kaiko GE, Phipps S, Angkasekwinai P, Dong C, Foster PS. (2010) NK cell deficiency predisposes to viral-induced Th2-type allergic inflammation via epithelial-derived IL-25. *J Immunol*, 185: 4681-4690.
175. Lisbonne M, Diem S, de Castro Keller A, Lefort J, Araujo LM, Hachem P, Fourneau JM, Sidobre S, Kronenberg M, Taniguchi M, Van Ender P, Dy M, Askenase P, Russo M, Vargaftig BB, Herbelin A, Leite-de-Moraes MC. (2003) Cutting edge: Invariant V alpha 14 NKT cells are required for allergen-induced airway inflammation and hyperreactivity in an experimental asthma model. *J. Immunol*, 171: 1637–1641.

176. Matangkasombut P, Marigowda G, Ervine A, Idris L, Pichavant M, Kim HY, Yasumi T, Wilson SB, DeKruyff RH, Faul JL, Israel E, Akbari O, Umetsu DT. (2009) Natural killer T cells in the lungs of patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 123: 1181–1185.
177. Nguyen KD, Vanichsarn C, Nadeau KC. (2008) Increased cytotoxicity of CD4+ invariant NKT cells against CD4+CD25hiCD127lo/- regulatory T cells in allergic asthma. *Eur J Immunol*, 38: 2034-2045.
178. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. (1993) Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today*, 14: 353–356.
179. Somerset DA, Zheng Y, Kilby MD, Sansom DM, Drayson MT. (2004) Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25+CD4+ regulatory T-cell subset. *Immunology*, 112: 38-43.
180. Tilburgs T, Roelen DL, van der Mast BJ, de Groot-Swings GM, Kleijburg C, Scherjon SA, Claas FH. (2008) Evidence for a selective migration of fetus-specific CD4+CD25bright regulatory T cells from the peripheral blood to the decidua in human pregnancy. *J Immunol*, 180 (8): 5737-5745.
181. Sasaki Y1, Sakai M, Miyazaki S, Higuma S, Shiozaki A, Saito S. (2004) Decidual and peripheral blood CD4+CD25+ regulatory T cells in early pregnancy subjects and spontaneous abortion cases. *Mol Hum Reprod*, 10 (5): 347-353.
182. Arruvito L, Billordo A, Capucchio M, Prada ME, Fainboim L. (2009) IL-6 trans-signaling and the frequency of CD4+FOXP3+ cells in women with reproductive failure. *J Reprod Immunol*. 82(2): 158-165.
183. Sasaki Y, Darmochwal-Kolarz D, Suzuki D, Sakai M, Ito M, Shima T, Shiozaki A, Rolinski J, Saito S. (2007) Proportion of peripheral blood and decidual CD4(+) CD25(bright) regulatory T cells in pre-eclampsia. *Clin Exp Immunol*, 149(1): 139-145.
184. Zenclussen ML, Thuere C, Ahmad N, Wafula PO, Fest S, Teles A, Leber A, Casalis PA, Bechmann I, Priller J, Volk HD, Zenclussen AC. (2010) The persistence of paternal antigens in the maternal body is involved in regulatory T-cell expansion and fetal-maternal tolerance in murine pregnancy. *Am J Reprod Immunol*, 63 (3): 200-208.

185. Tai P, Wang J, Jin H, Song X, Yan J, Kang Y, Zhao L, An X, Du X, Chen X, Wang S, Xia G, Wang B. (2008) Induction of regulatory T cells by physiological level estrogen. *J Cell Physiol*, 214 (2): 456-464.
186. Higuma-Myojo S, Sasaki Y, Miyazaki S, Sakai M, Shiozaki A, Miwa N, Saito S. Cytokine profile of natural killer cells in early human pregnancy. *Am J Reprod Immunol*, (2005) 54: 21-29.
187. Croy BA, Chantakru S, Esadeg S, Ashkar AA, Wei Q. (2002) Decidual natural killer cells: key regulators of placental development (a review). *J Reprod Immunol*, 57: 151–168.
188. Nakashima A, Ito M, Yoneda S, Shiozaki A, Hidaka T, Saito S. (2010) Circulating and decidual Th17 cell levels in healthy pregnancy. *Am J Reprod Immunol*, 63: 104–109.
189. Santner-Nanan B, Peek MJ, Khanam R, Richarts L, Zhu E, Fazekas de St Groth B, Nanan R. (2009) Systemic increase in the ratio between Foxp3+ and IL-17-producing CD4+ T cells in healthy pregnancy but not in preeclampsia. *J Immunol*, 183: 7023–7030.
190. Wang WJ, Hao CF, Lin Y, Yin GJ, Bao SH, Qiu LH, Lin QD. (2010) Increased prevalence of T helper 17 (Th17) cells in peripheral blood and decidua in unexplained recurrent spontaneous abortion patients. *J Reprod Immunol*, 84: 164–170.
191. Toldi G, Rigo J, Stenczer B, Vasarhelyi B, Molvarec A. (2011) Increased prevalence of IL-17-producing peripheral blood lymphocytes in pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol*, 66: 223–229.
192. Tamási L, Bohács A, Pállinger É, Falus A, Rigó Jr J, 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.
193. Bohács A, Pállinger É, Tamási L, Rigó Jr J, Komlósi Z, Müller V, Dong Y, Magyar P, Falus A, Losonczy G. (2010) Surface markers of lymphocyte activation in pregnant asthmatics. *Inflamm Res*, 59(1): 63-70.
194. American Thoracic Society. (1995) Standardization of spirometry 1994, Update. *Am J Respir Crit Care Med*, 152: 1107-1136.
195. <http://www.asthma.com/resources/asthma-control-test>.

196. Nathan RA, Sorkness CA, Kosinski M, Schatz M, Li JT, Marcus P, Murray JJ, Pendergraft TB. (2004) Development of the asthma control test: a survey for assessing asthma control. *J Allergy Clin Immunol*, 113: 59-65.
197. Rosene-Montella K, Bourjeily G. Venous thromboembolism in pregnancy. In: Bourjeily G, Rosene-Montella K (eds). *Pulmonary problems in pregnancy*. New York: Respir Med, Humana Press, a part of SpringerScience+Business Media, LLC, 2009: 253-84.
198. Stolarek R, Szkudlarek U, Luczynska M, Kasielski M, Ciesla W, Lewinski A, Nowak D. (2008) Decreased H₂O₂ in exhaled breath condensate during pregnancy-feasible effect of 17beta-estradiol. *Respir Physiol Neurobiol*, 162:152-159.
199. Liu L, Urban P, Hunt JF, Wilkinson P, Laning K, Gaston B. (2010) Changes in exhaled nitric oxide and breath pH during fluticasone wean in asthma. *Respiration*, 79: 193-199.
200. Ojoo JC, Mulrennan SA, Kastelik JA, Morice A, Redington A. (2005) Exhaled breath condensate pH and exhaled nitric oxide in allergic asthma and in cystic fibrosis. *Thorax*, 60: 22-26.
201. Koczulla R, Dragonieri S, Schot R, Bals R, Gauw SA, Vogelmeier C, Rabe KF, Sterk PJ, Hiemstra PS. (2009) Comparison of exhaled breath condensate pH using two commercially available devices in healthy controls, asthma and COPD patients. *Respir Res*, 10: 78.
202. Liu L, Teague WG, Erzurum S, Fitzpatrick A, Mantri S, Dweik RA, Bleecker ER, Meyers D, Busse WW, Calhoun WJ, Castro M, Chung KF, Curran-Everett D, Israel E, Jarjour WN, Moore W, Peters SP, Wenzel S, Hunt JF, Gaston B; National Heart, Lung, and Blood Institute Severe Asthma Research Program (SARP). (2009) Determinants of exhaled breath condensate pH in a large population with asthma. *Chest*, 139: 328-336.
203. George EM, Granger JP. (2010) Recent insights into the pathophysiology of preeclampsia. *Expert Rev Obstet Gynecol*, 5: 557-566.
204. Dressel H, Müller F, Fischer R, Römmelt H, Hohlfeld JM, Behr J, Huber RM, Nowak D, Jörres RA. (2010) Independent information of nonspecific biomarkers in exhaled breath condensate. *Respiration*, 80: 401-409.

205. Toldi G, Svec P, Vásárhelyi B, Mészáros G, Rigó J, Tulassay T, Treszl A. (2008) Decreased number of FoxP3+ regulatory T cells in preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 87: 1229-1233.
206. Van Kooten C, Boonstra JG, Paape ME, Fossiez F, Banchereau J, Lebecque S, Bruijn JA, De Fijter JW, Van Es LA, Daha MR. (1998) Interleukin-17 activates human renal epithelial cells in vitro and is expressed during renal allograft rejection. *J Am Soc Nephrol*, (8):1526-1534.
207. Ito, M, Nakashima, A, Hidaka, T, Okabe M, Bac ND, Ina S, Yoneda S, Shiozaki A, Sumi S, Tsuneyama K, Nikaido T, Saito S. (2010) A role for IL-17 in induction of an inflammation at the fetomaternal interface in preterm labour. *J. Reprod. Immunol*, 84: 75-85.
208. Huber M, Heink S, Pagenstecher A, Reinhard K, Ritter J, Visekruna A, Guralnik A, Bollig N, Jeltsch K, Heinemann C, Wittmann E, Buch T, Prazeres da Costa O, Brüstle A, Brenner D, Mak TW, Mittrücker HW, Tackenberg B, Kamradt T, Lohoff M. (2013) IL-17A secretion by CD8+ T cells supports Th17-mediated autoimmune encephalomyelitis. *J Clin Invest*, 123(1): 247-260.
209. Huber M, Heink S, Grothe H, Guralnik A, Reinhard K, Elflein K, Hünig T, Mittrücker HW, Brüstle A, Kamradt T, Lohoff M. (2009) A Th17-like developmental process leads to CD8+Tc17 cells with reduced cytotoxic activity. *Eur. J. Immunol*, 39:1716.
210. Zhang J1, Chen Z, Smith GN, Croy BA (2011) Natural killer cell-triggered vascular transformation: maternal care before birth? *Cell Mol Immunol*. 8(1): 1-11.
211. P.J. Barnes, F.Y. Liew. Nitric oxide and asthmatic inflammation. (1995) *Immunol Today*, 16: 128–130.
212. Vatrella A, Perna F, Pelaia G, Parrella R, Maselli R, Marsico SA, Calabrese C. (2010) T cell activation state in the induced sputum of asthmatics treated with budesonide. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol*, 23 (3): 745–753
213. Provoost S, Maes T, van Durme YM, Gevaert P, Bachert C, Schmidt-Weber CB, Brusselle GG, Joos GF, Tournoy KG. (2009) Decreased FOXP3 protein expression in patients with asthma. *Allergy*, 64 (10): 1539–1546.

11. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Az értekezés alapjául szolgáló angol nyelvű közlemények:

1. **Eszes N**, Bikov A, Lazar Z, Bohacs A, Muller V, Stenczer B, Rigo J Jr, Losonczy G, Horvath I, Tamasi L. (2013) Changes in exhaled breath condensate pH in healthy and asthmatic pregnant women. *Acta Obstet Gyn Scan*, 92:(5): 591-597. **IF: 2.005**

2. Toldi G, Molvarec A, Stenczer B, Muller V, **Eszes N**, Bohacs A, Bikov A, Rigo J Jr, Vasarhelyi B, Losonczy G, Tamasi L. (2011) Peripheral Thelper1/Thelper2/Thelper17/regulatory T cell balance in asthmatic pregnancy. *Int Immunol*, 23 (11): 669-677. **IF: 3.415**

3. **Eszes N**, Bohács A, Cseh Á, Toldi G, Bikov A, Ivancsó I, Müller V, Horváth I, Rigó J Jr, Vásárhelyi B, Losonczy Gy, Tamási L. (2012) Relation of circulating T cell profiles to airway inflammation and asthma control in asthmatic pregnancy. *Acta Physiol Hung*, 99:(3): 302-310. **IF:0.882**

Az értekezés témájával összefüggő hazai szakmai lapokban megjelent közlemények:

Bíró A, Dombai B, Oroszi D, **Eszes N**, Czaller I, Tamási L. (2016) Asztma okozta rizikó terhességben. *Med. Thor*, 69(1): 35-39.

Egyéb, az értekezés témájától független angol nyelvű közlemények:

1. Bikov A, Bohacs A, **Eszes N**, Weiszhar Z, Ivancso I, Muller V, Rigo J Jr, Losonczy G, Tamasi L, Horvath I. (2012) Circulating and exhaled vascular endothelial growth factor in asthmatic pregnancy. *Biomarkers*, 17(7): 648-654. IF:1.879

2. Ivancso I, Toldi G, Bohacs A, **Eszes N**, Muller V, Rigo J Jr, Vasarhelyi B, Losonczy G, Tamasi L. (2013) Relationship of Circulating Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR) Levels to Disease Control in Asthma and Asthmatic Pregnancy. *Plos One*, 8(4): e60697. IF:3.534

3. Ivancsó I, Bohács A, **Eszes N**, Losonczy G, Tamási L. (2013) Asthma in pregnancy. *EMJ Respir*, 1:92-100.
4. **Eszes N**, Toldi G, Bohacs A, Ivancso I, Muller V, Rigo J Jr, Losonczy G, Vasarhelyi B, Tamasi L. (2014) Relationship of circulating hyaluronic Acid levels to disease control in asthma and asthmatic pregnancy. *Plos One*, 9(4): e94678. IF:3.234
5. Bikov A, Bocskei R, **Eszes N**, Bohacs A, Losonczy G, Rigo J, Horvath I, Tamasi L. (2014) Circulating survivin levels in healthy and asthmatic pregnancy. *Reprod Biol Endocrin*, 12(1): 93. IF:2.226
6. Kis A, Süttö Z, Tamási L, **Eszes N**, Losonczy G, Máthé Z, Langer RM, Németh A, Müller V. (2010) Spontaneous Pneumomediastinum After Kidney Transplantation: Case Report. *Transpl P*, 42(6): 2350-2352. IF:0.993
7. Müller V, Gálffy G, **Eszes N**, Losonczy G, Bizzi A, Nicolini G, Chrystyn H, Tamási L. Asthma control in patients receiving inhaled corticosteroid and long-acting beta2-agonist fixed combinations. (2011) A real-life study comparing dry powder inhalers and a pressurized metered dose inhaler extrafine formulation. *BMC Pulm Med*, 11: 40.
8. Tamasi L, Muller V, **Eszes N**, Kardos T, Budai M, Vincze K, Losonczy G, Szilasi M. (2011) Patterns of erythropoiesis-stimulating agent use for chemotherapy-induced anemia in lung cancer: results of a retrospective Hungarian real-life clinical data analysis. *Exp Op Drug Safety*, 10(4): 503-507. IF:3.015
9. Kis A, **Eszes N**, Tamasi L, Losonczy G, Csekeo A, Csomor J, Muller V. (2013) Sarcoidosis lymphoma syndrome - the value of PET-CT in the diagnosis. *World J Surg Oncol*, 11: 235. IF:1.2
10. Müller V, Vincze K, **Eszes N**, Zahorecz G, Bohács A, Losonczy GY, Tamási L. (2013) Supportive care of palliative chemotherapy for advanced stage lung cancer

patients: Summary for the daily practice. Journal of nursing. Education and Practice, 4 (3): 101

11. **Eszes N**, Tamasi L, Csekeo A, Csomor J, Szepesi A, Varga G, Balazs G, Losonczy G, Muller V. (2014) Unicentric mixed variant castleman disease associated with intrabronchial plasmacytoma. Diagn Pathol, 20(9):64. IF:2.597

Az értekezéstől független hazai szakmai lapokban megjelent közlemények:

1. **Eszes N**, Molvarec A, Bohács A, Stenczer B, Prohászka Z, Prof. Rigó J Jr., Losonczy Gy, Tamási L. (2011) A 70 kDa-os hőszokkfehérje szérumszintje asztmás terhesekben. Med. Thor, 64(1): 48-53.

2. Tamási L, **Eszes N**, Kovács Zs, Velicsek A, Bohács A, Losonczy Gy, Müller V. (2012) COPD Assessment Test (CAT) a hazai mindennapi betegellátásban és egészségesekben. Med. Thor, 65(4): 267-271.

3. **Eszes N**. (2010) A compliance szerepe a COPD kezelésében. Amega, 17(3): 44-45.

4. **Eszes N**. (2010) A COPD korai felismerésének és kezelésének fontossága. Amega, 17(4): 35-36.

5. Rédei Cs, **Eszes N**, Hajnal P, Máté M, Simon K, Tóth J, Pozsár J, Topa L. (2010) Retroperitoneális fibrosis képét utánzó pancreascarcinoma. LAM, 20(10): 679–682.

6. Ivancsó I, **Eszes N**, Toldi G, Bohács A, Müller V, Rigó J Jr, Losonczy G, Vásárhelyi B, Tamási L. (2015) A perifériás hialuronsav és a betegségkontroll kapcsolata asztmában és asztmás terhesekben. Med. Thor, 68(1): 40-45.

7. Müller V, Horváth G, Tamási L, **Eszes N**, Bohács A, Vincze K, Kovács Zs, Lázár Zs, Odler B, Kornafeld A, Erdély T, Somogyi V, Losonczy Gy. (2015) Obstruktív

tüdőbetegségekben alkalmazott inhalációs gyógyszerek célpontjai: receptorok a légúti felszín sejtjein. Med Thor, 68:(1): 6-12.

12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőmnek, dr. Tamási Lillának folyamatos segítségéért és iránymutatásáért, melyek alapvető mértékben hozzájárultak a dolgozat illetve a tudományos közlemények megszületéséhez.

Köszönettel tartozom intézetvezetőmnek, Prof. Dr. Losonczy Györgynek a tudományos pályán és a klinikai gyakorlatban való odafigyelő támogatásáért, a „fiatal pulmonológusok” ösztönzéséért.

Szeretném megköszönni Müller Veronika professzor asszonynak mindennapi támogatását, lelkesítő tanítását, mely a klinikum és a kutatás szeretetére egyaránt sarkall. Nagyon köszönöm az asztmás terhes munkacsoport tagjainak dr. Bikov Andrásnak, Ivancsó Istvánnak, Toldi Gergőnek nélkülözhetetlen segítségüket, értékes munkájukat. Külön köszönet dr. Bohács Anikónak értékes szakmai tanácsaiért, a terhes asztmások ellátásában nyújtott segítségéért.

Köszönöm Rigó János professzornak és Vásárhelyi Barna professzornak, valamint a saját és társintézetekben dolgozó társszerző kollégáknak, dr. Molvarec Attilának, dr. Cseh Áronnak, dr. Stenczer Baláznak, Lázár Zsófiának segítőkészségüket, a kutatásban való aktív szerepvállalásukat.

Szeretnék köszönetet mondani Horváth Ildikó professzor asszonynak szakmai hozzájárulásáért.

Köszönet illeti továbbá a klinikán dolgozó valamennyi kollégát és szakdolgozót a mindennapi munkában nyújtott segítségükért, a terhes asztmás gondozásban való részvételükért, a betegekre való odafigyelésükért.

A kutatás megvalósulásában nagy segítséget jelentett a Magyar Tüdőgyógyász Társaság és a Magyar Pulmonológiai Alapítvány anyagi és szakmai támogatása.

Végül, de nem utolsósorban köszönöm családomnak, páromnak és gyermekemnek támogatásukat, szeretetüket és megértő türelmüket.

