

**EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

**A légúti áramlási ellenállás és a szérum aszimmetrikus  
dimetilarginin szint kapcsolata krónikus légúti  
gyulladással járó kórképekben**

**Dr. Tajti Gábor**

**Témavezető: Dr. Zsuga Judit**



**DEBRECENI EGYETEM**

**EGÉSZSÉGTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

**Debrecen, 2017**

## Tartalomjegyzék

<b>Rövidítések</b> .....	<b>4</b>
<b>1. Bevezetés</b> .....	<b>6</b>
1.1 A krónikus légúti gyulladással járóbetegségek .....	6
1.2 A bronchiális asztma és patomechanizmusa .....	6
1.3 A COPD és patomechanizmusa.....	7
<b>2. Irodalmi áttekintés</b> .....	<b>9</b>
2.1 A légutak felépítése, a légzés élettana (légzésfunkciós paraméterek).....	9
2.2 A nitrogén monoxid és argináz metabolikus útvonalak szerepe .....	14
2.3 Az ADMA metabolizmusa és szerepe asztmában és COPD-ben.....	16
<b>3. Célkitűzések</b> .....	<b>21</b>
<b>4. Anyagok és módszerek</b> .....	<b>22</b>
4.1 Vizsgálati elrendezés és protokoll .....	22
4.2 Az asztma tanulmány elemei .....	23
4.3 A COPD tanulmány elemei .....	23
4.4 Légzésfunkciós vizsgálatok.....	24
4.5 Laboratóriumi vizsgálatok.....	26
4.6 Az L-arginin és dimetilált származékainak meghatározása .....	28
4.7 A HPLC mérés kalibrációja.....	29
4.8 A HPLC mérés reprodukálhatóságának meghatározása.....	32
4.9 Betegségspecifikus életminőség .....	32
4.10 A betegek gyógyszereszedésének vizsgálata .....	34
4.11 Statisztikai elemzés.....	34
4.12 Az asztma tanulmány statisztikai elemzése.....	35
4.13 A COPD tanulmány statisztikai elemzése .....	36

<b>5. Eredmények</b> .....	<b>38</b>
5.1 A HPLC mérés reprodukálhatósága .....	38
5.2 Asztma tanulmány .....	39
5.2.1 Betegcsoport jellemzők.....	39
5.2.2 Az alacsonyabb és magasabb légúti áramlási ellenállású csoportok összehasonlítása .....	40
5.2.3 A jól- és rosszul kontrollált betegcsoportok összehasonlítása.....	42
5.2.4 A légúti áramlási ellenállás és a szérum ADMA-szint szignifikáns prediktorai .....	43
5.3 COPD tanulmány.....	48
5.3.1 Az alacsonyabb és magasabb légúti áramlási ellenállású csoportok összehasonlítása .....	48
5.3.2 A jó- és rossz tünet-kontroll betegcsoportok összehasonlítása.....	50
5.3.3 A légúti áramlási ellenállás es a szérum ADMA-szint szignifikáns prediktorai .....	52
<b>6. Megbeszélés</b> .....	<b>56</b>
6.1 Asztma tanulmány .....	56
6.2 COPD tanulmány.....	60
6.3 Összegzés.....	63
6.4 Limitációk.....	64
<b>7. Új eredmények</b> .....	<b>66</b>
<b>8. Összefoglalás</b> .....	<b>67</b>
<b>9. Summary</b> .....	<b>68</b>
<b>10. Hivatkozásjegyzék</b> .....	<b>69</b>
<b>11. Kulcsszavak</b> .....	<b>84</b>
<b>12. Keywords</b> .....	<b>85</b>
<b>13. Köszönetnyilvánítás</b> .....	<b>86</b>

## Rövidítések

%pred	A referenciaérték százalékában kifejezve
ACOS	Asztma-COPD overlap szindróma
ADMA	Aszimmetrikus dimetilarginin
ATS	American Thoracic Society
BTPS	Testhőmérséklet, nyomás, vízgőzzel telített
COPD	Krónikus obstruktív tüdőbetegség
CRP	C-reaktív fehérje
DDAH	Dimetilarginin dimetilaminohidroláz
DDD	Defined daily dose
EC <sub>50</sub>	Félhatásos koncentráció
ECCS	European Coal and Steel Community
eNOS	Endoteliális nitrogén-monoxid szintáz
ERS	European Respiratory Society
ERV	Kilégzési rezerv térfogat
FEF 25%/50%/75%	Az FVC 25%/50%/75%-ához tartozó áramlási sebesség
FEF25-75%	A vitálkapacitás 25-75% tartományában mért átlagos áramlási sebesség
FEV1	Erőltetett kilégzési másodperctérfogat
FRC	Funkcionális reziduális kapacitás
FVC	Erőltetett kilégzési vitálkapacitás
G <sub>aw</sub>	Légúti konduktancia
GFR	Glomeruláris filtrációs ráta
GINA	Global Initiative for Asthma
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
HOMA	Homeostatic model assessment
HPLC	Nagy teljesítményű folyadékkromatográfia
IC	Belégzési kapacitás

iNOS	Indukálható nitrogén-monoxid szintáz
IRV	Belégzési rezerv térfogat
IVC	Belégzési vitálkapacitás
L-arg	L-arginin
LOWESS	Helyileg súlyozott szórásgörbe simítás
MEF50%	Az FVC 50%-ához tartozó áramlási sebesség
MPA	3-merkaptopropionsav
NF- $\kappa$ B	Nukleáris faktor kapa B
nNOS	Neuronális nitrogén-monoxid szintáz
NO	Nitrogén-monoxid
NOHA	N-hidroxi-L-arginin
NOS	Nitrogén-monoxid szintáz
OPA	Orto-ftálaldehid
PEF	Csúcsáramlási sebesség
PRMT	Protein arginin metiltranszferáz
R <sub>aw</sub>	Légúti áramlási ellenállás
RPM	Revolutions per minute (fordulatszám)
RV	Reziduális térfogat
SDMA	Szimmetrikus dimetilarginin
SGRQ	St. George's Respiratory Questionnaire
STROBE	Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology.
TGV	Thorakális gáztérfogat
TLC	Totálkapacitás
V <sub>t</sub>	Nyugalmi légzési térfogat

# **1. Bevezetés**

## **1.1 A krónikus légúti gyulladással járóbetegségek**

A krónikus légúti gyulladással járó betegségek (illetve a Betegségek Nemzetközi Osztályozása (BNO) szerinti meghatározás értelmében az idült alsó légúti betegségek (J40-J47) (Héja et al. 2011)) közé tartoznak a bronchitis és emfizéma különféle formái, valamint az egyéb idült obstruktív tüdőbetegségek (COPD) illetve az asztma különféle formái, valamint a bronchiektázia. Vizsgálataink az asztmát, illetve a COPD-t érintik, így ezen kórképek patomechanizmusa kerül tárgyalásra. Általánosságban elmondható, hogy az említett betegségek igen komoly társadalmi és gazdasági terheket rónak mind társadalmunkra, mind az egészségügyi ellátórendszerre, emellett a betegek életminőségére is igen jelentős hatást gyakorolnak ezek a - jelen tudásunk szerint – nem gyógyítható, ám gyógyszeres és nem gyógyszeres terápiákkal többnyire jól kontrollálható betegségek (Braman 2006; Ferkol et al. 2014; Mathers et al. 2006; To et al. 2012).

## **1.2 A bronchiális asztma és patomechanizmusa**

A bronchiális asztma egy gyermekeket és felnőtteket egyaránt érintő kórkép, mely igen jelentős társadalmi és gazdasági terheket okoz, melyekért elsősorban a betegség miatti korai halálozás, a betegek gyakran és jelentős mértékben megromlott életminősége, a munkaerő kiesés, valamint az egészségügyi ellátórendszerre rótt jelentős terhek felelősek (To et al. 2012; Braman 2006). Kialakulásában mind genetikai, mind pedig környezeti tényezők szerepet játszanak (Martinez et al 2007), prevalenciája 2015 évi adatok szerint 8,2% a felnőtt- és 9,4% a gyermekkorú lakosság körében az Európai Unióban (Selroos et al. 2015).

Az asztma patomechanizmusának fő jellemzői az alsóbb légutakban megjelenő krónikus gyulladás, valamint a kilégzéskor megjelenő, változó súlyosságú nehézlégzés

formájában jelentkező légúti obstrukció, zihálás, légszomj és köhögés, melyek elsősorban ismétlődő hullámokban jelennek meg (Global Initiative for Asthma 2016; Vestbo et al. 2013). A tünetek efféle, rekurrens mivolta végett a kezelés - jelentős költségterhei mellett - komoly szakmai és betegedukációs kihívást jelent a szakemberek számára. A jelenleg érvényben lévő nemzetközi irányelv (Global Initiative for Asthma 2016) egy meglehetősen modern, asztma-kontroll alapú terápiás megközelítést javasol az asztmás betegek kezelésére, melynek a legfontosabb eleme a betegek tüneteinek és állapotának folyamatos követése, és a terápia állandó újraértékelése.

### **1.3 A COPD és patomechanizmusa**

A krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD) a becslések szerint 2030-ra a harmadik leggyakoribb halálok és a hetedik legnagyobb rokkantsággal korrigált életév veszteséget okozó kórkép lesz (Mathers et al. 2006). A COPD-vel kapcsolatba hozható komoly gazdasági terheket jól szemlélteti, hogy a teljes egészségügyi ellátásra szánt költségek mintegy 3,36%-át teszik ki a betegség ellátásának közvetlen kiadásai (Loddenkemper et al. 2003, Gibson et al. 2013). Könnyen belátható, hogy a COPD komplex patomechanizmusának feltárására tett komoly erőfeszítések szükségesek, ennek ellenére a kóroki tényezők pontos leírása és megértése a mai napig nem teljes.

A COPD fő tünete a perzisztens légúti áramlási akadályozottság, mely időben progresszív lefolyást mutat, valamint a légutakat irritáló anyagok (pl. dohányfüst) hatására kialakuló helyi (Aydin et al. 2015), és alacsony fokú szisztémás gyulladás (Costanzo et al. 2016). A kialakult krónikus gyulladás az oxidatív stressz fokozódásával, illetve a légutak többnyire irreverzibilis strukturális változásaival jár, melyek emfizéma és kislégúti fibrózis formájában nyilvánulhatnak meg (Barnes 2014). Ezek a folyamatok krónikus alsó légúti obstrukcióhoz, illetve következményes légúti áramlási akadályozottsághoz és permanens

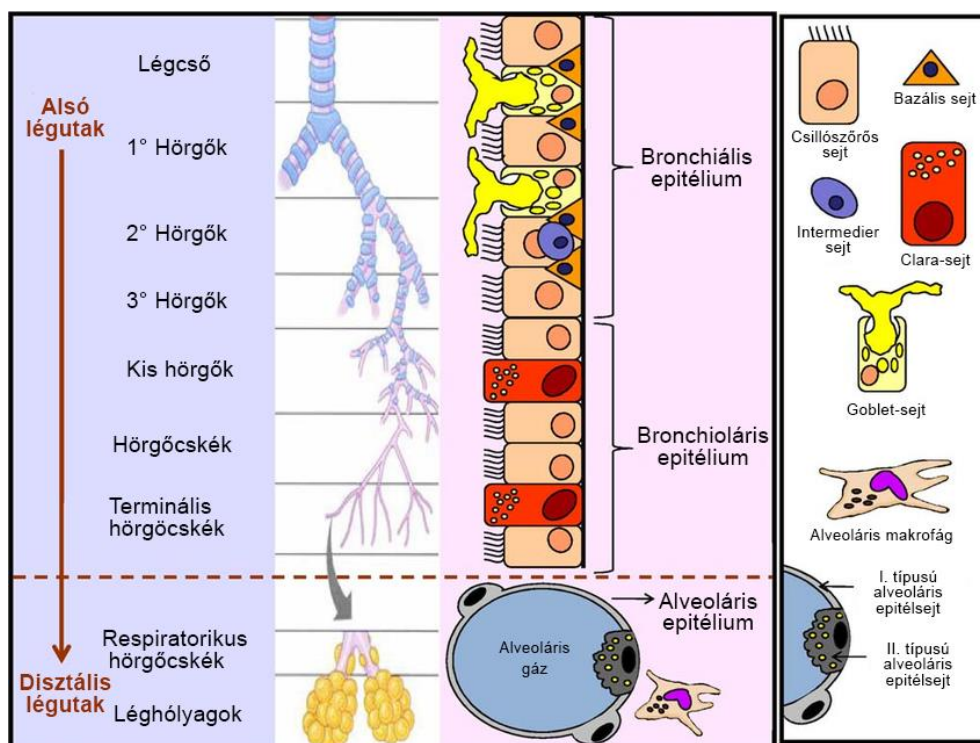
hipoxiához vezetnek (Ruzsics et al. 2016). A COPD-ben megváltozott szöveti mikro környezet fokozza az extracelluláris mátrix elemeinek (például: kollagén) metabolizmusát. Ez - a magas ciklussebessége miatt - már igen csekély növekedés esetén is komoly kollagén akkumulációhoz vezethet (Aydin et al. 2015). A COPD terápiája a nemzetközi irányelv ajánlásai értelmében (GOLD) (Vestbo et al. 2013) a betegség súlyosságán, valamint az akut fellángolások gyakoriságán és súlyosságán alapszik, illetve a gyógyszeres terápia mellett fontos eleme a nem gyógyszeres terápia is.



## 2. Irodalmi áttekintés

### 2.1 A légutak felépítése, a légzés élettana (légzésfunkciós paraméterek)

A légutakat a tracheától kezdődően számos, összesen 23 oszlási generációra oszthatjuk, melyeket a fő bronchusok (főhörgők), a bronchusok (hörgők) és bronchiolusok (hörgőcskék), valamint a terminális bronchiolusok (terminális hörgőcskék) tagolnak. Funkcionálisan a vezető- és gázcsere zónákat különböztethetjük meg (1.ábra). Ezen zónák szövettanilag jelentősen eltérnek egymástól, a vezető zóna fő sejtípusa a csillószőrös epitelsejt, míg a gázcserezónát főként az I. és II. típusú epitelsejtek alkotják. A fő sejtípusokon felül számos járulékos, ám igen fontos funkciójú sejtípus megtalálható a tüdőben, melyek a lehetnek szekretoros funkciójúak (pl Clara-sejtek, Goblet-sejtek, kehelysejtek stb.), az immunrendszer sejtjei (alveoláris makrofágok, limfociták, stb) (1. ábra), illetve fontos megemlíteni az epiteliális réteg alatt húzódó kötőszövetes réteg sejtjeit (fibroblaszt, miofibroblaszt) is (Magyar et al. 2012), melyek többek között a tüdőszövet extracelluláris mátrixának termeléséért felelősek.



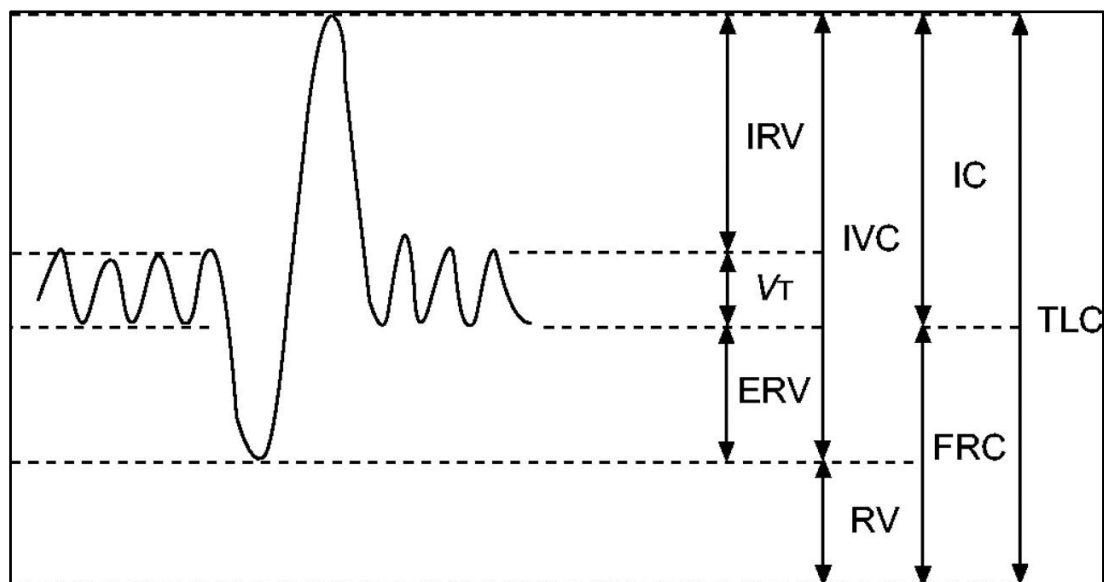
1. ábra. Az alsó légutak felépítése és sejtípusai (Bérubé et al. 2010 alapján)

A légzőrendszer élettanával kapcsolatosan jelen értekezésben a legfontosabb a tüdő statikus és dinamikus térfogati paramétereinek, valamint a légúti áramlási ellenállás ( $R_{aw}$ : resistance of airways) ismerete, így az alábbiakban ezek kerülnek bemutatásra. Az 2. ábrán grafikusán is szemléltetett statikus tüdőtérfogatok leírása, illetve változásuk követése a tüdőgyógyászat igen fontos és rutinszerűen alkalmazott eszköze. A nyugalmi légzési térfogat ( $V_t$ ) a nyugodt, normál légzés során a tüdőbe be, illetve az abból kiáramló levegő térfogatát jelenti. Az ezen felül maximálisan belélegezhető levegőmennyiség a belégzési rezerv térfogat (IRV), míg a nyugalmi légzési térfogaton kívül a tüdőből maximálisan kilélegezhető levegőmennyiség a kilégzési rezerv térfogat (ERV). A teljes kilégzést követően a tüdőben maradó levegő a reziduális térfogat (RV), mely fiziológias körülmények között nem távozik a tüdőből. A reziduális térfogat és a kilégzési rezerv térfogat együttesen a tüdő funkcionális reziduális kapacitása (FRC), mely didaktikailag hasonlatos a torakális gáztérfogathoz (TGV), azonban ez utóbbi magába foglalja a tüdőben „csapdába esett” levegő térfogatot is (a két paraméter mérési módszertana is különbözik). A funkcionális reziduális kapacitás, valamint a belégzési kapacitás (IC, ami a nyugalmi légzési térfogat és a belégzési rezerv térfogat összege) együttesen adja a totálkapacitást (TLC) (2. ábra) (Magyar et al. 2012).

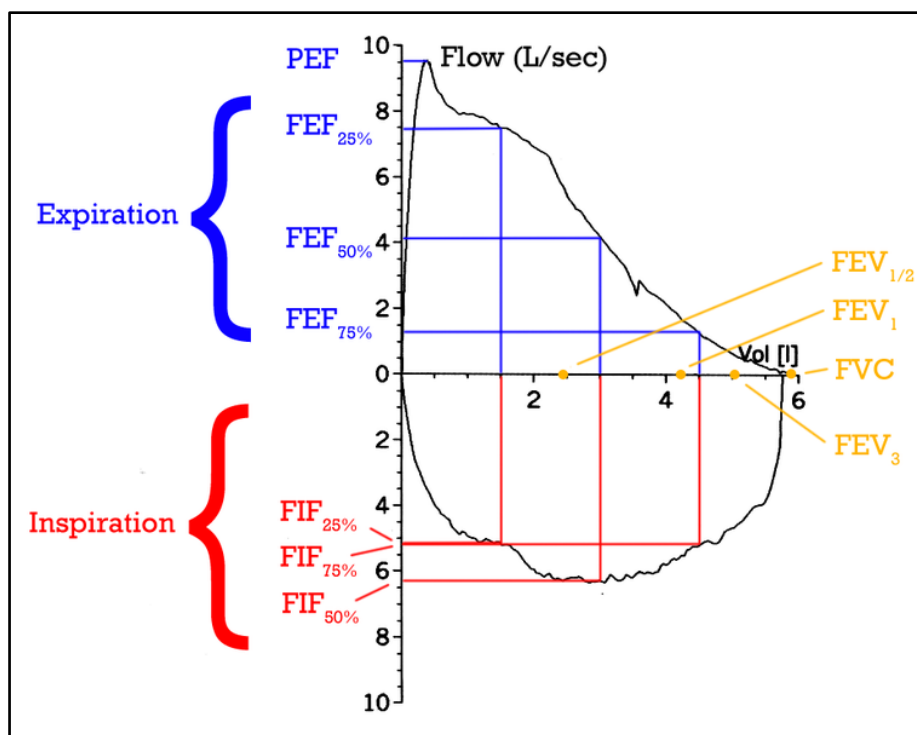
A részletezett statikus tüdőtérfogatokon kívül a légzésfunkciós vizsgálatok fontos paraméterei a dinamikus paraméterek, melyek közül számos diagnosztikus értékű, illetve a súlyosság besorolása szempontjából is döntő lehet (pl.: kilégzési másodperctérfogat (FEV1) COPD-ben) (Vestbo et al. 2013). A dinamikus paraméterek általános jellemzője, hogy a térfogati paraméteren kívül idő (vagy sebesség) dimenzióval is rendelkeznek. Az 3. ábrán bemutatásra kerülő reprezentatív áramlás-térfogat görbe jól szemlélteti a dinamikus paramétereket. A dinamikus légzésfunkciós paraméterek meghatározása során igen fontos a vizsgált páciensek kooperációja, hiszen ezen paraméterek meghatározásához erőltetett ki- és belégzési manőverek kivitelezése szükséges. Erőltetett kilégzés során a legmagasabb áramlási

sebesség az úgynevezett csúcsáramlási sebesség (PEF). Ezenkívül számos, a teljes kilégzési térfogat (FVC) meghatározott arányának kilégzésekor (pontoszerűen) mért áramlási sebesség leírása is bevett gyakorlat, ezek a FVC 25%-ának (FEF25%), 50%-ának (FEF50% vagy MEF50%), illetve 75%-ának (FEF 75%) kilégzésekor mérhető áramlási sebességek. Fontos még megemlíteni a FEF25-75% értéket, mely a a teljes erőltetett kilégzési tüdőtérfogat középső 50%-ában (25%-75%-ig) mért átlagos áramlási sebességet jelenti. A részletezett paramétereknek, a leírtakkal analóg módon meghatározott, erőltetett belégzési párájának leírása is informatív lehet (pl.: kevésbé vagy nem módosulnak obstruktív jellegű tüdőbetegségek esetén, ellenben a kilégzési paraméterekkel) (3. ábra) (Magyar et al. 2012).

A légzésfunkciós paraméterek interpretálásáról általánosan elmondható, hogy igen gyakran különféle populációs átlagértékek százalékában (%pred) fejezik ki azokat, melyek többnyire figyelembe veszik a vizsgált páciens nemét, testmagasságát és életkorát is.

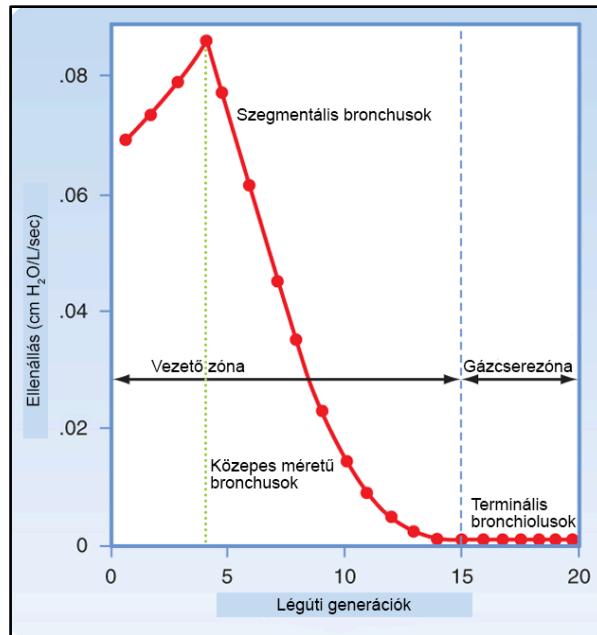


2. ábra: Statikus tüdőtérfogatok (Wanger et al. 2005)

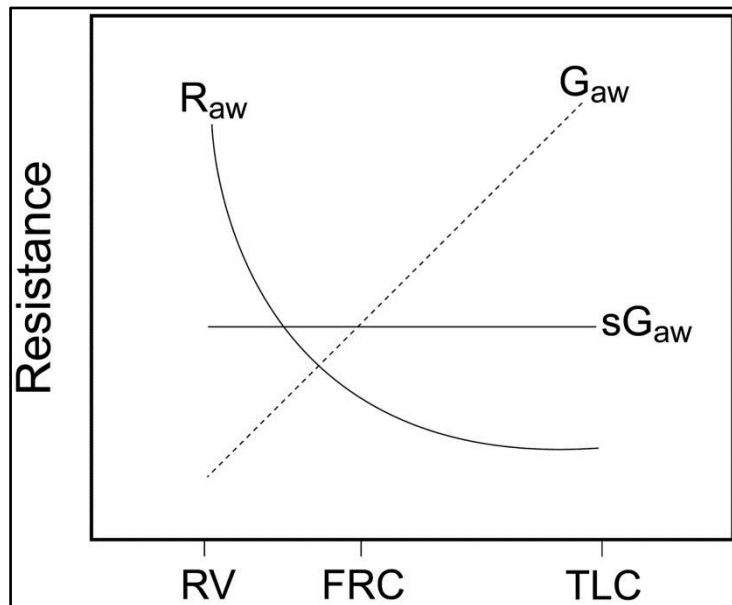


3. ábra: Reprezentatív áramlás-térfogat görbe (forrás. www.wikipedia.org)

A légúti áramlási ellenállás a légutakban kilégzés vagy belégzés alatt jelentkező ellenállást jelenti. Az 4. ábrán szemléltetettek értelmében az eredő ellenálláshoz a légutak különböző régiói (oszlási generációi) eltérő mértékben járulnak hozzá, a legnagyobb ellenállással a vezető zóna középső részei: a szegmentális bronchusok, valamint a kiségutak (2mm-nél kisebb átmérőjű) felelősek. Fontos megemlíteni, hogy a légúti ellenállás értéke nagyban függ a tüdőben található levegő mennyiségétől (az értéke a reziduális térfogat közelében mérve magasabb, míg a totálkapacitás közelében mérve alacsonyabb) (5. ábra) (Kaminsky 2012), éppen ezért a mérést standard módon, a nyugalmi légzés során mérik. A légúti ellenállás, a dinamikus paramétereknél részletezettekkel ellentétben nem függ az egyén nyomásgeneráló képességétől (melyet az általános fizikai állapot, valamint a légzési segédizmok erőssége is befolyásol), hanem elsősorban a légutak állapotától függ (hossz, térfogat, felszín, elaszticitás) (Topalovic et al. 2015), illetve a méréséhez kevésbé szükséges a páciens aktív kooperációja. Mérése standard spirometriás módszerrel nem kivitelezhető, csak teljes test pletizmográfiával.



4. ábra: A légúti generációk és a légúti áramlási ellenállás összefüggése



5. ábra: A tüdőterefogat- légúti áramlási ellenállás ( $R_{aw}$ ) és légúti konduktancia ( $G_{aw}$ ) összefüggése (Kaminsky 2012).

Az ábrán is látható módon a mért légúti áramlási ellenállás (és konduktancia) értéke nagyban függ a tüdőben aktuálisan megtalálható levegő mennyiségétől, ezért a méréseket rutinszerűen nyugalmi légzés közben (tehát nyugalomban FRC mennyiségű levegőt tartalmazó tüdővel) mérik.

## 2.2 A nitrogén monoxid és argináz metabolikus útvonalak szerepe

A nitrogén-monoxid (NO) homeosztázis változásának szerepét az asztmában és COPD-ben megjelenő gyulladásos és egyéb folyamatok kapcsán már régebben felvetették, ennek ellenére a megváltozott NO homeosztázis eredő szerepe az asztmában és COPD-ben kialakult gyulladásos környezetben még tisztázandó. COPD esetén a NO metabolizmus változásán kívül az argináz útvonal módosulása is hozzájárulhat a strukturális változások (fokozott kollagén termelés, fibrózis) kialakulásához (7. ábra).

A NO vitatott szerepe arra vezethető vissza, hogy (az érrendszerhez hasonlóan) (Zsuga et al. 2007a; Zsuga et al. 2007b) a szövetekben kifejtett hatás lehet védő, vagy káros, attól függően, hogy az adott szövetben és körülmények között hogyan alakul különböző nitrogén-monoxid szintáz (NOS) izoformák aktivitása (Dupont et al. 2014). A három NOS izoforma (mindegyik expresszáldik a tüdőben) közül a neuronális (nNOS) és endoteliális (eNOS) Ca-kalmodulin függő, konstitutívan expresszáldó enzimek, melyek a receptor aktivációt követően másodperceken belül és alacsony (femto- pikomoláris) koncentrációban termelnek NO-t. Az eNOS (az érrendszeren kívül) elsősorban a bronchiális epitelsejtekben, illetve a II. típusú alveoláris epitelsejtekben található meg (1. táblázat) (Ricciardolo et al. 2006) és a termelődő NO a bronchusok és erek dilatációjához vezet. Az nNOS főként a bronchiális simaizmot és a szubmukózában található szekretoros mirigyeket beidegző perifériás idegekben található meg. A beidegzés denzitása a tracheától a kisebb bronchusok felé csökken, így a kislégutakban a (nNOS eredetű) NO-mediált bronchodilatáció csekélyebb (Fischer et al. 1996). A harmadik, indukálható (iNOS) izoforma expresszióját (megemlítendő, hogy ezen izoforma konstitutívan is expresszáldik a tüdő epitelsejtjeiben (Guo et al. 1995)) főként proinflammatorikus citokinek indukálják. Ezen citokinek elsősorban a NF- $\kappa$ B transzkripciós faktor aktiválásán keresztül vezetnek az iNOS expressziójának fokozódásához, mely tartósan (órákig, akár napokig tartó) magas, nanomoláris koncentrációjú NO

felszabaduláshoz vezet (Ricciardolo et al. 2006). Preklinikai és klinikai vizsálatok alapján úgy tünik, hogy az iNOS expressziója a II. típusú epitélsejtekben, a tüdő fibroblasztjaiban, a légutak és az erek simaizomzatában, endotélsejtekben, valamint hízósejtekben és neutrofil granulocitákban is indukálódhat (1. táblázat) (Ricciardolo et al. 2006; Wells et al. 2007), melyet a kortikoszteroidok képesek gátolni (Haddad et al. 1995). Gyulladásos környezetben, az iNOS által termelt NO, és az aktivált makrofágok és neutrofilek által termelt szuperoxid anion reakciójából peroxinitrit keletkezik, mely a gyulladásban szerepet játszó sejtek toborzását, valamint a légutak konstrikióját és remodellingjét is fokozza (Prado et al. 2011).

Izoforma	Expresszió	Aktivitás	Reguláció	Előfordulás
eNOS	konstitutív	rövid (femto-pikomoláris NO termelés)	Ca <sup>2+</sup> függő	erek, bronchiális- alveoláris epitélsejtek
nNOS	konstitutív	rövid (femto-pikomoláris NO termelés)	Ca <sup>2+</sup> függő	idegrendszer
iNOS	indukálható (konstitutív)	tartós (nanomoláris NO termelés)	Ca <sup>2+</sup> független	II. típusú epitélsejtek, fibroblasztok, simaizmok, endotélsejtek, hízósejtek, neutrofil granulociták

1. táblázat: A nitrogén-monoxid szintáz izoformái, és jellemzőik

Az asztma kapcsán mindhárom NOS izoforma szintjének változását leírták különféle szöveti elemekben (Dupont et al. 2014): az iNOS fokozott expresszióját (Brindicci et al. 2007; Dupont et al. 2014; Saleh et al. 1998), illetve a konstitutív izoformák aktivitásának csökkenését (Klein et al. 2010) figyelték meg a légúti epitéliumban. Mindezekon kívül az L-arginin (a NOS szubsztrátja (Kinker et al. 2014)) illetve a tetrahydrobiopterin (a NO szintézis kofaktora) depléciója mindhárom NOS izoforma szétkapcsolódását (uncoupling) okozhatja,

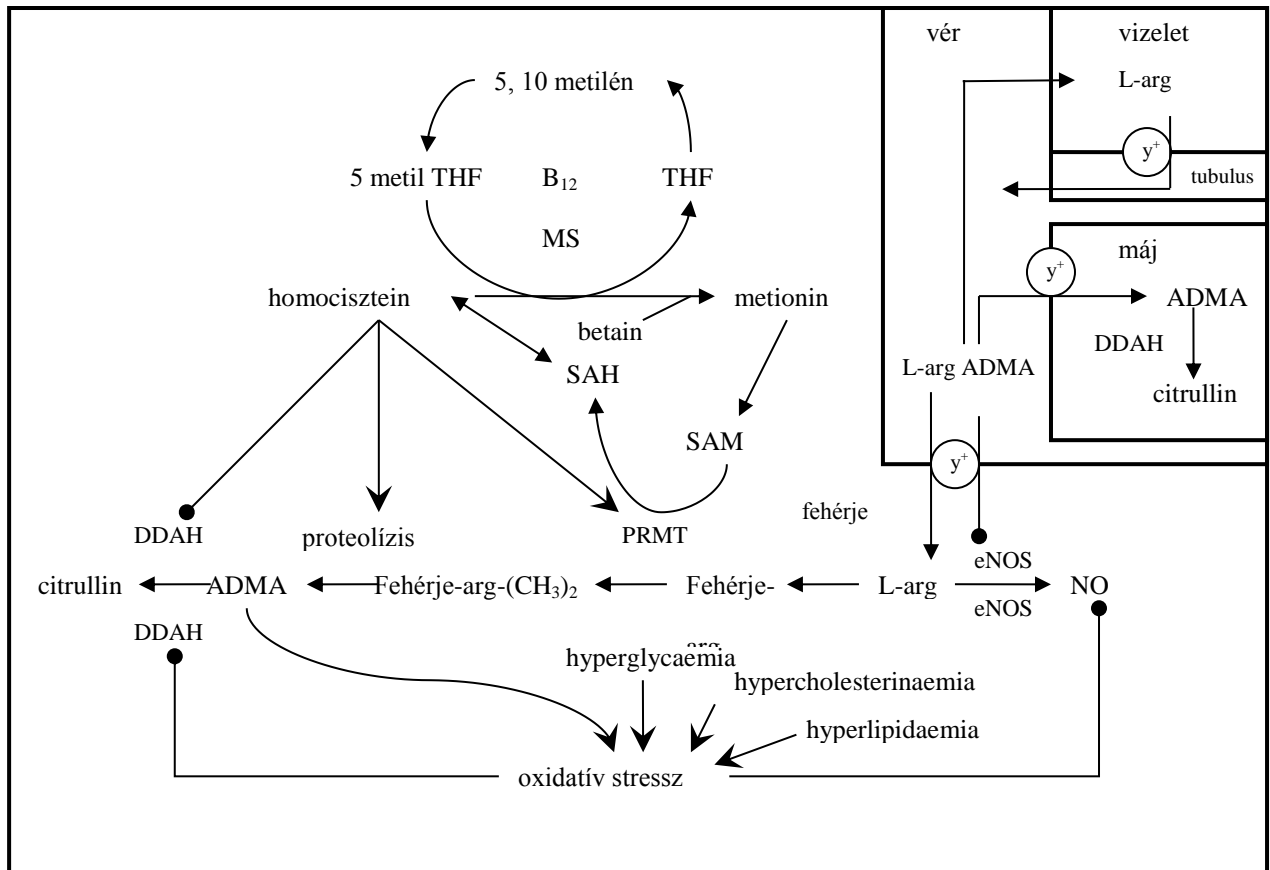
melynek hatására tovább fokozódhat a NOS monomerek szuperoxid ion termelése (Cardounel et al. 2005; Druhan et al. 2008; Wells et al. 2007).

COPD-ben a fokozott iNOS expresszió mellett az argináz expressziójának növekedését is leírták (Pera et al. 2014), Scott és munkatársai szerint továbbá a fokozott argináz aktivitás szignifikáns negatív korrelációt mutatott a légúti áramlást jellemző egyes paraméterekkel (bronchodilatátor adását megelőzően és azt követően mért FEV1) (Scott et al. 2014).

### **2.3 Az ADMA metabolizmusa és szerepe asztmában és COPD-ben**

Az aszimmetrikus dimetilarginin (ADMA) egy, az egész szervezetben termelődő fehérje bomlástermék, ami a sejtmag fehérjéinek polipeptid láncában található L-arginin poszttranszlációs metilálásával keletkezik, melyért a protein arginin metiltransferáz (PRMT-I) enzim felelős. A magfehérjékben kötött metilált argininszármazékok proteolízise, majd a sejtplazmába és keringésbe jutása a sejtek szokásos anyagcseréje során történik (Tran et al. 2003). A sejtek intracelluláris ADMA koncentrációját egyrészt a sejten belül termelődő, másrészt pedig a kationos ( $\gamma^+$ ) aminosav transzporteren keresztül az extracelluláris téből bekerülő (a sejtekbe történő L-arginin felvételéért szintén ez a transzporter felelős) ADMA mennyisége befolyásolja (6. ábra) (Chan et al. 2002). Az ADMA eliminációja kisebb részben a vesén keresztül ( $\gamma^+$  transzporter), változatlan formában történik, nagyobb részt pedig a sejtekben metabolizálódik a dimetilarginin dimetilaminohidroláz (DDAH) enzim segítségével (dimetilamin és citrullin keletkezik) (6. ábra) (Tran et al. 2003). Az extracelluláris ADMA eliminációja elsősorban a májon keresztül történik, melynek mind az  $\gamma^+$  transzporter (Siroen et al. 2005), mind a DDAH expressziója (Palm et al. 2007) jelentős. Az ADMA metabolizmusát, illetve az abban fontos szerepet játszó kofaktorokat az 6. ábra szemlélteti.





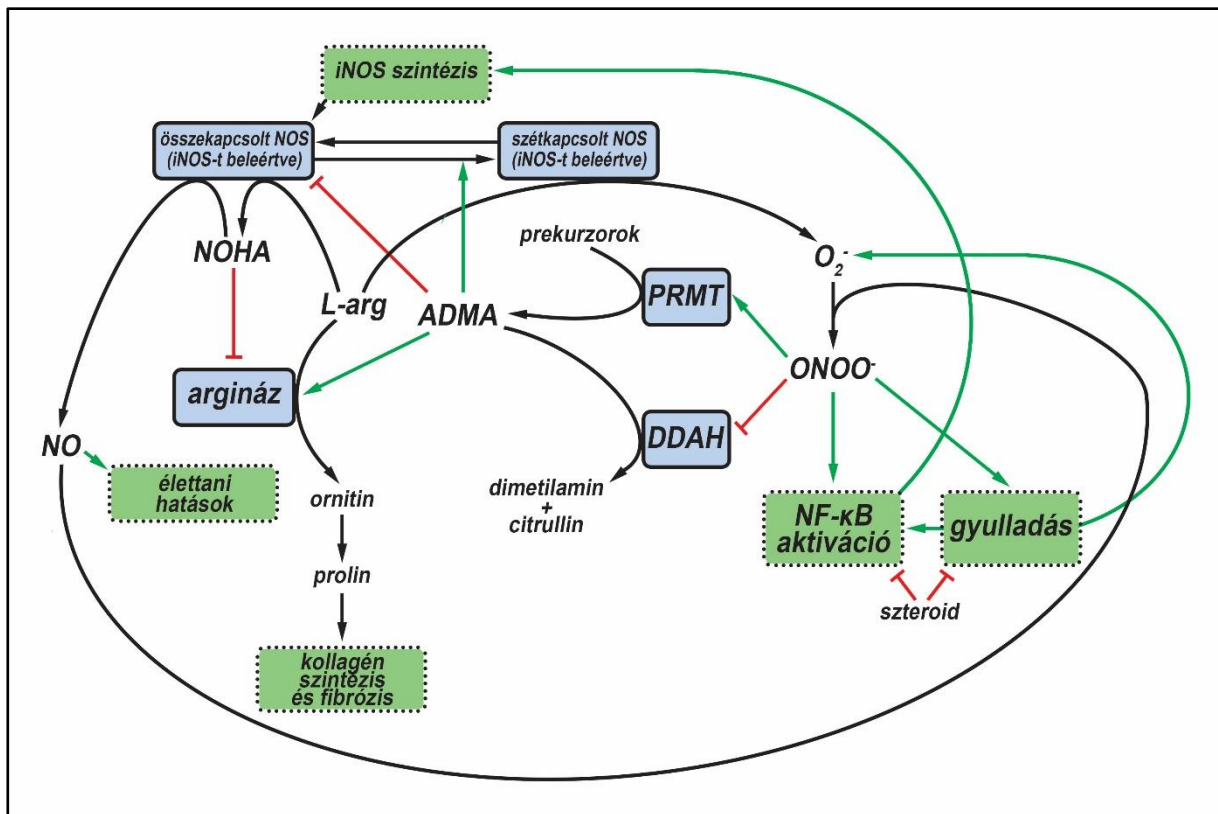
6. ábra. Az ADMA metabolizmusa (Zsuga et al. 2005)

Az ADMA fontos szerepet tölt be a NO homeosztázis szabályozásában, így a gyulladással járó légúti betegségek kialakulásának számos folyamatával kölcsönhatásban állhat. Az ADMA-t a NOS endogén kompetitív inhibitoraként tartják számon, mely nagyobb szelektivitást mutat a konstitutív izoformák irányába (Wells et al. 2007) míg a citokin stimuláció alatt álló tüdő epitélisejtekben kifejeződő iNOS-ra gyakorolt gátló hatása csekélyebb (Klein et al. 2010). Állatkísérletek igazolták továbbá, hogy az ADMA a gátló hatásán kívül, a NOS mindhárom izoformájának természetes szétkapcsoló molekulája is, így megnövekedett szuperoxid ion termelést, következményesen pedig fokozott oxidatív és nitrozatív stresszt okozhat (Ahmad et al. 2010; Gielis et al. 2011; Ritz et al. 2014). Ezen oxidatív és nitrozatív stresszt okozó anyagok ADMA hatására kialakuló termelődését kimutatták a légúti epitélben (Wells et al. 2007), továbbá *in vitro* kísérletben is igazolták, hogy az ADMA fokozza az oxidatív stresszt és apoptózist indukál (Ahmad et al. 2010). Az

ADMA az L-argininnel, a NOS enzimek szubsztrátjával (Kinker et al. 2014) közös útvonalon jut be a sejtekbe, így szintjének emelkedése –a transzportfolyamatban lejátszódó kompetíció révén- hozzájárulhat az L-arginin depléció kialakulásához, mely a már ismertetett módon tovább fokozhatja az oxidatív és nitrozatív stresszt. Igazolták továbbá azt is, hogy az ADMA önmagában képes légúti hiperreaktivitást okozni (Ahmad et al. 2010) (7. ábra).

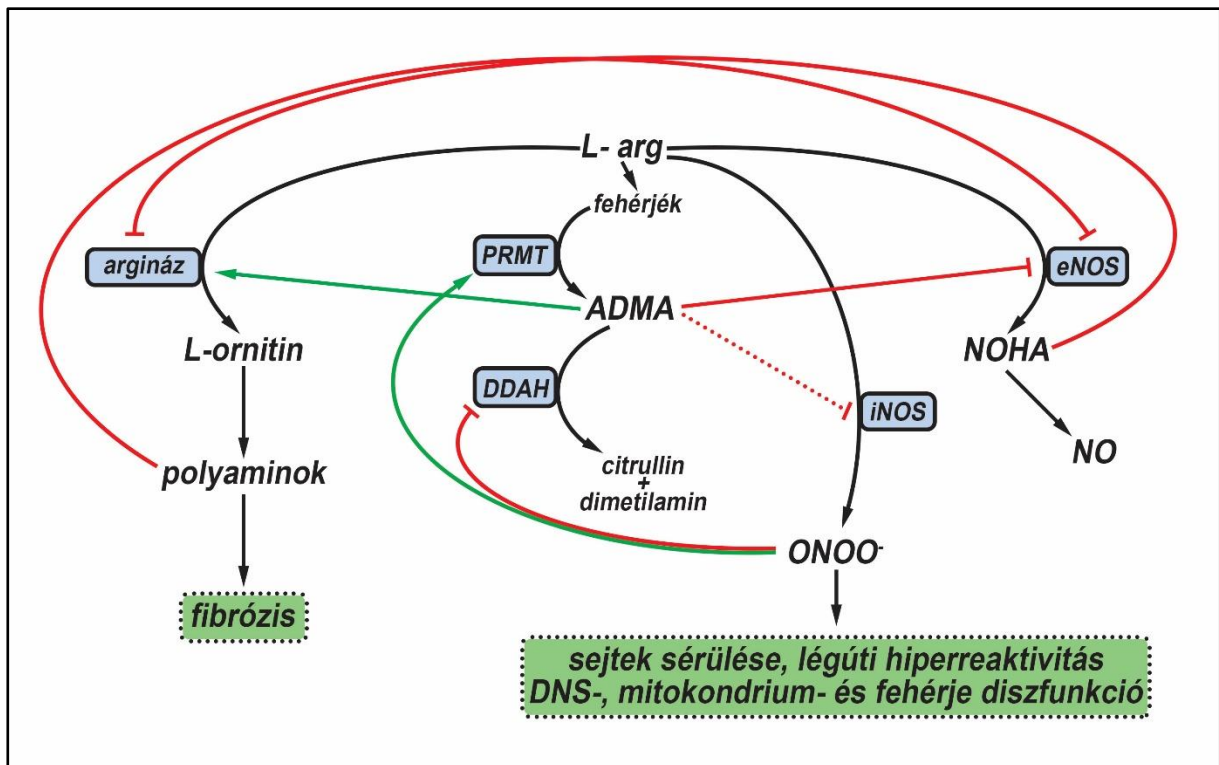
Az ADMA fokozza az L-arginin (mely mind a NOS, mind az argináz enzimek szubsztrátja) söntjét a NOS-tól az argináz irányába (Kinker et al. 2014). Az L-arginin söntjének növelése mellett az argináz enzim aktivitását is fokozza az ADMA (Kinker et al. 2014) (8. ábra), így a kollagén termelését serkenti a tüdő fibroblaszt sejtjeiben, valamint képes reverzibilis fibrózist indukálni egér modellben (Ahmad et al. 2010). A jól tetten érhető, NOS-argináz útvonalak ADMA általi reciprok módon történő szabályozását (Ahmad et al. 2010) tovább erősíti az útvonalak intermediereinek kölcsönhatása: a spermin, ami az argináz útvonal melléktermékeként keletkezik, gátolja a NOS-t, míg a NOS útvonal intermediereként keletkező N-hidroxi-L-arginin (NOHA) gátolja az argináz enzimet (Reczkowski et al. 1994). Állatkísérletes modellen igazolták, hogy az ADMA infúziója szignifikánsan megnövekedett légúti ellenállást és csökkent dinamikus compliance-t eredményez (Wells et al. 2009).

Bár az ADMA termelés egyik fő forrása a szervezetben a tüdő, konkrétan a légúti epitél (Wells et al. 2007; Kinker et al. 2014), az asztmában mérhető szisztémás koncentrációjával kapcsolatosan megoszlanak az irodalomban fellelhető eredmények (Calabrese et al. 2015), egyes szerzők magasabb (Holguin et al. 2013), míg mások alacsony/normál (Riccioni et al. 2012) értékekről számoltak be. COPD kapcsán kevés –a szisztémás ADMA koncentrációt értékelő- tanulmány érhető el, egyes szerzők emelkedett szérum szintről számoltak be (Aydin et al. 2015; Ruzsics et al. 2016), míg mások nem tapasztaltak emelkedett koncentrációt (Costanzo et al. 2016).



7. ábra: Az ADMA összefonódása a nitrogén-monoxid (NO) homeosztázissal légúti gyulladással járó kórképekben.

A NO L-argininből, N-hidroxiarginin (NOHA) intermedieren keresztül termelődik a nitrogén-monoxid szintáz (NOS) enzimek által. Asztmában és COPD-ben a gyulladási citokinek által aktivált NF-κB transzkripciósfaktor fokozza az iNOS expresszióját, mely növeli a termelt NO mennyiségét. A keletkezett NO a gyulladási környezetben gyakran előforduló szuperoxid anionnal ( $O_2^-$ ) peroxinitritet ( $ONOO^-$ ) képez, ami egy nitrozatív stressz faktor. A nitrozatív (és oxidatív) stressz fokozza az ADMA termelődését azáltal, hogy az azt termelő protein metiltranszferáz (PRMT) enzim expresszióját fokozza, míg az azt lebontó dimetilarginin dimetilaminohidroláz (DDAH) expresszióját csökkenti. az ADMA a NOS enzimek endogén inhibitora és természetes szétkapcsolója egyben, így emelkedett szintje esetén egyrészt csökken a NO termelése, másrészt a szétkapcsolt NOS enzimek révén nő a szuperoxid ion termelődése, tehát fokozódik az oxidatív (és nitrozatív) stressz. Az ADMA emelkedett szintje emellett fokozza az argináz enzim aktivitását is, hozzájárulva a fokozott kollagén szintézishez, illetve feltételezhetően a reverzibilis tüdőfibrózis kialakulásához is. A kortikoszteroid terápiával a gyulladási közeg gerjesztette fokozott iNOS expresszióhoz kapcsolódó folyamatok meggátolhatók, részben a kortikoszteroid direkt gyulladásgátló, részben pedig az NF-κB expresszióját gátló hatása révén. A csökkent iNOS expresszió eredményeként csökken a NO és az ADMA, így a nitrozatív és oxidatív stressz faktorok termelődése is. Zöld nyíl: aktiváció, piros vonalak: gátlás, fekete nyilak: átalakulás, metabolikus kapcsolat.



8. ábra: Az asszimmetrikus dimetilargin (ADMA) nitrogén monoxid szintáz (NOS) és argináz útvonalakra gyakorolt hatása COPD-ben.

Az ADMA és NOS útvonalak kölcsönhatásait az 8. ábra részletezi. A fokozott oxidatív és nitrozatív stressz eredményeképpen a légutak sejtjeiben DNS- mitokondrium- és fehérje diszfunkció léphet fel, illetve az emelkedett ADMA szint a konstitutívan kifejeződő NOS izoformák gátlása mellett az argináz enzim aktivitását is fokozza, mely végső soron a tüdő reverzibilis fibrózisát súlyosbítja. A konstitutív NOS izoformák csökkent aktivitása révén csökken a termelődő N-hidroxiarginin (NOHA) szintje, így csökken az argináz enzimre gyakorolt gátló hatás. A fokozott argináz aktivitás révén az útvonal intermediereként keletkező poliaminok gátolják az eNOS-t, mely által tovább csökken a NOS útvonal aktivitása, így a NOS-argináz egyensúly mindinkább a fokozott argináz aktivitás irányába tolódik, melyet a növekedett ADMA szint által fokozott, argináz enzim irányába kialakuló L-arginin sőt tovább fokoz. Zöld nyíl: aktiváció, piros vonalak: gátlás, fekete nyilak: átalakulás, metabolikus kapcsolat.

### 3. Célkitűzések

A fent részletezett, bevezetés és irodalmi áttekintés alapján ismert összefüggéseket alapul véve vizsgálni kívántuk a légúti áramlási korlátozottság (melyet a  $R_{aw}$  paraméterrel kvantifikáltunk) valamint a szérum ADMA szintek kapcsolatát asztmás és COPD-s betegekben. Azt is vizsgálni kívántuk, hogy az esetlegesen fennálló kapcsolat hogyan függ a két paraméter kapcsolatát potenciálisan módosító tényezőktől. Ezen kívül arra a kérdésre is kerestük a választ, hogy a  $R_{aw}$  és ADMA közötti összefüggés módosul-e, ha figyelembe vesszük a betegek szubjekíven megítélt terápiás kontrolljának szintjét.

Az asztmás betegcsoport kapcsán tisztázni kívántuk, hogy az ADMA protektív- vagy rizikófaktor az asztmára jellemző gyulladás tekintetében (melyet indirekt módon, a klinikai jellemzőkkel írtunk le). Az összefüggések vizsgálatával igazolni kívántuk, hogy a légúti áramlási ellenállás értéke -az eddig rutinszerűen alkalmazott klinikai paraméterek mellett- jól jellemzi a páciensek betegség általi érintettségét és státuszát.

## **4. Anyagok és módszerek**

### **4.1 Vizsgálati elrendezés és protokoll**

Vizsgálatunk a STROBE egyezmény keresztmetszeti vizsgálatokra vonatkozó irányelveivel összhangban került kidolgozásra (Von Elm et al. 2007) és a Debreceni Egyetem Intézeti Kutatásetikai Bizottsága által jóváhagyásra került (DEOEC RKEB/IKEB 3632-2012). Tanulmányunk megfelel a Helsinki Deklaráció követelményeinek, a páciensek a vizsgálatot megelőzően tájékozott beleegyezésüket adták. A Debreceni Egyetem Klinikai Központ, Tüdőgyógyászati Klinikáján 2012. szeptember 1. és 2013. október 15. között megjelent összes, krónikus légúti gyulladással járó betegséggel (bronchiális asztma, COPD, asztma-COPD overlap szindróma (ACOS) és allergiás rinitisz) gondozott páciens bevonásra került. Kizárási kritériumaink között szerepeltek a benignus és malignus daganatos megbetegedések, illetve a vizsgálat időpontját megelőző 1 hónapban fennálló bármilyen akut gyulladással járó megbetegedés a laboratóriumi és egyéb paraméterekre gyakorolt esetleges torzító hatásuk végett. Összesen 319 beteg került a vizsgálatokba bevonásra, 167 bronchiális asztma, 74 COPD, 21 ACOS és 57 allergiás rinitisz eset.

Tájékozott beleegyezést követően a páciensek éhgyomri vérvételen estek át, majd a demográfiai és antropometriai adatok, részletesen jellemzett múltbéli és jelenlegi dohányzási szokások, illetve releváns anamnesztikus paraméterek (cukorbetegség, diszlipidémia, hipertónia) is rögzítésre kerültek. A dohányfüst expozíciót doboz-években fejeztük ki, mely a múltbéli és jelenlegi dohányzás kumulatív jellemzésére alkalmas. A betegség-specifikus életminőséget a Szent György Kórház Légzési Panaszokkal Kapcsolatos validált Kérdőívével (Meguro et al. 2007) (St. George's Respiratory Questionnaire- SGRQ) kvantifikáltuk, melynek a hivatalos magyar nyelvű fordítását a kérdőív kifejlesztőjének írásos engedélyével használtuk (Paul Jones, University of London, London, Egyesült Királyság, 2012.08.28).

Vizsgálataink fő kimeneteli paraméterének a légúti áramlási ellenállást ( $R_{aw}$ ) választottuk, mely az alveoláris nyomás-áramlás összefüggést jól jellemzi, értéke elsősorban a légutak állapotától függ (hossz, térfogat, felszín), így az áramlási korlátozottságot jól leíró paraméter (Topalovic et al. 2015).

#### **4.2 Az asztma tanulmány elemei**

Az asztma tanulmányunkba azok a bronchiális asztma diagnózisú páciensek kerültek bevonásra, akiknél a beválogatással egyidejűleg teljes test pletizmográfias vizsgálat is elvégzésre került (n=154). A páciensek diagnózisa a GINA, illetve a releváns hazai irányelveknek (Boulet et al. 2012; Tüdőgyógyászati Szakmai Kollégium 2011) megfelelően lett felállítva. A betegek asztma-kontroll alapú kezelési programban vettek részt, így a terápiájuk megfelelősége klinikailag igazoltnak tekinthető.

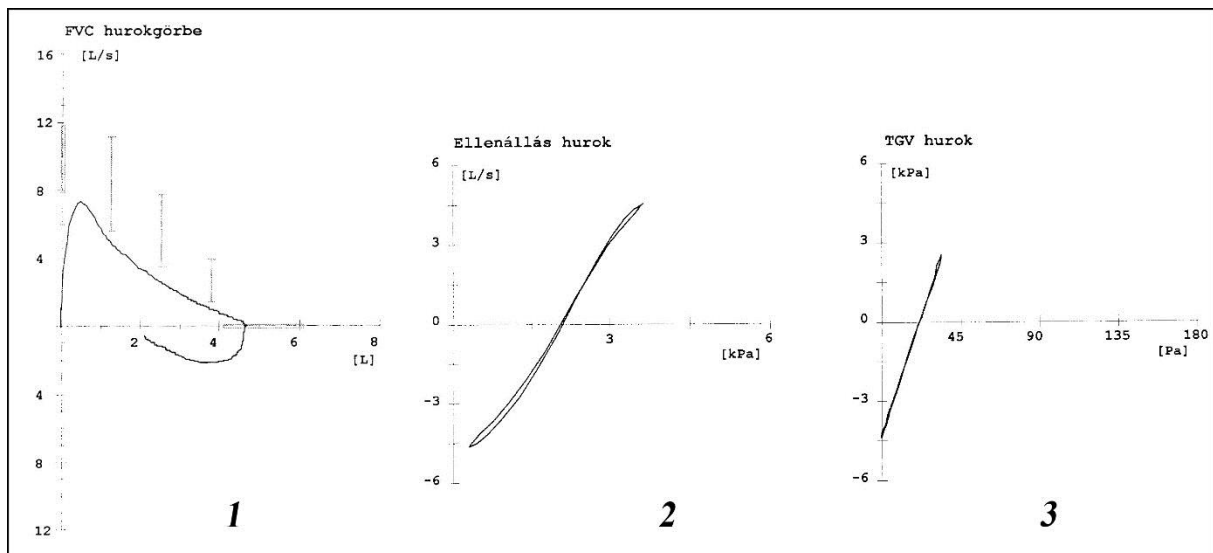
#### **4.3 A COPD tanulmány elemei**

A COPD tanulmányba a kohorsz COPD diagnózisú betegek kerültek bevonásra (n=74). A diagnózis felállítása a releváns magyar irányelvek (Tüdőgyógyászati Szakmai Kollégium 2009) és a GOLD aktuális irányelvei (Vestbo et al. 2013) alapján történt. A légúti áramlási korlátozottság megléte vagy hiánya a normál érték alsó határával került definiálásra (Celli et al. 2004; Nathell et al. 2007; Swanney et al. 2008). A vizsgálat időpontjában a páciensek (nem friss diagnózisuk révén) az említett irányelvek szerinti gyógyszeres és nem gyógyszeres terápiában részesültek, kezelésük klinikailag adekvátnak volt tekinthető.

#### 4.4 Légzésfunkciós vizsgálatok

A betegek légzésfunkcióját teljes test pletizmográfiával határoztuk meg, mellyel (a spirometriás vizsgálatokkal ellentétben) a reziduális térfogat, és ehhez kapcsolódó egyéb paraméterek (pl. FRC), illetve a légúti áramlási ellenállás ( $R_{aw}$ ) értékek is mérhetőek, ezáltal részletesebb információkat nyertünk a páciensek légutainak állapotáról. A vizsgálatot az ATS/ERS (American Thoracic Society/ European Respiratory Society) kritériumoknak megfelelően végeztük (Miller et al. 2005; Stocks et al 2001; Wanger et al. 2005) Piston teljes test pletizmográf segítségével (PDT-111/p, Piston Medical Kft, Magyarország). A készülék kalibrációja és szivárgási tesztje automatikus, valamint a műszer BTPS korrekciót végez, mely a méréseket a kabinhőmérséklet, páratartalom és a légnyomás aktuális értékeivel korrigálja. A páciensek a mérést megelőzően a szokásos gyógyszereiket alkalmazták, így az eredmények a terápiásan kontrollált értékeknek felelnek meg. A mérés során a három legjobb, technikailag megfelelően végzett manőver eredményei kerültek kiválasztásra, illetve a rezisztenciagörbék esetén két különálló, technikailag megfelelő mérést hajtottunk végre (mérésenként legalább 5 rezisztenciagörbe került rögzítésre), melyek eredményének egyezése esetén fogadtuk el a mért értékeket (9. ábra). Az eredményeket nyers formában, illetve a gyártó által megadott (ECCS: European Coal and Steel Community) standard (Quanjer 1983) százalékos értékében (%pred) fejeztük ki.





9. ábra: A pletizmográfiai készülék által rögzített áramlás-térfogat (1. FVC hurokgörbe) áramlás-nyomás (2. ellenállás hurok) és nyomás-nyomás (3. TGV hurok) függvények (reprezentatív példa).

Elemzéseink során az alábbi paramétereket használtuk fel és értékeltük:

- Légúti áramlási ellenállás ( $R_{aw}$ , kPa·s/L)
- Légúti konduktancia ( $G_{aw}=1/R_{aw}$ )
- Erőltetett kilégzési másodperctérfogat a referenciaérték százalékában kifejezve (FEV1 %pred)
- Erőltetett kilégzési vitálkapacitás a referenciaérték százalékában kifejezve (FVC %pred)
- FEV1 és FVC aránya ( $FEV1/FVC=$  Tiffeneau index)
- Reziduális térfogat a referenciaérték százalékában kifejezve (RV %pred)
- Totálkapacitás a referenciaérték százalékában kifejezve (TLC %pred)
- Az RV és TLC aránya a referenciaérték százalékában kifejezve (RV/TLC %pred)
- A belégzési kapacitás és a totálkapacitás aránya (IC/TLC)
- Belégzési vitálkapacitás a referenciaérték százalékában kifejezve (IVC %pred)
- A FEV1 és IVC aránya a referenciaérték százalékában kifejezve (FEV1/IVC %pred)

- Thorakális gáztérfogat a referenciaérték százalékában kifejezve (TGV %pred)
- Csúcsáramlási sebesség a referenciaérték százalékában kifejezve (PEF %pred)
- A vitálkapacitás 25-75% tartományában mért átlagos áramlási sebesség a referenciaérték százalékában kifejezve (FEF25-75% %pred)
- Az FVC 50%-ához tartozó áramlási sebesség a referenciaérték százalékában kifejezve (MEF50% %pred)

#### 4.5 Laboratóriumi vizsgálatok

A vizsgálatokhoz szükséges éhgyomri vérmintákat a vizsgálat reggelén vettük. A rutin laboratóriumi méréseket a szokásos klinikai gyakorlat szerint végeztük a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében. Vércsérum, illetve vérplazma mintákból az alábbi paraméterek kerültek meghatározásra:

- A szénhidrát anyagcsere paraméterei
  - Éhgyomri glükóz (mmol/L)
  - Inzulin (mU/L)
  - Glikált hemoglobin (HgA1c) (%)
- A lipid homeosztázis paraméterei
  - Összkoleszterin (mmol/L)
  - Triglicerid (mmol/L)
  - LDL-koleszterin (mmol/L)
  - HDL-koleszterin (mmol/L)
  - Lipoprotein(a) (Lp(a)) (mg/L)
  - ApoA1 (g/L)
  - ApoB (g/L)

- A vesefunkció paraméterei
  - Glomeruláris filtrációs ráta (GFR) (ml/perc/1,73m<sup>2</sup>)
  - Urea (mmol/L)
  - Húgysav (μmol/L)
  - Kreatinin (μmol/L)
- Májfunkciós paraméterek
  - GOT (U/L)
  - GPT (U/L)
  - γGT (U/L)
- Az izomzat funkcióját leíró paraméterek
  - CK (U/L)
  - LDH (U/L)
- Az L-arginin metabolizmusának paraméterei
  - Folsav (nmol/L)
  - B12 vitamin (pmol/L)
  - Urea (mmol/L)
- Gyulladásos markerek
  - C-reaktív fehérje (CRP) (mg/L)
  - Procalcitonin (μg/L)
  - Fibrinogén (g/L)

A CRP értékek a nő páciensek esetén a 4,6 mg/l, míg férfiak esetén az 5,2 mg/l határértékekkel dichotomizálásra kerültek normál, illetve magas CRP csoportokba. A HOMA-index kiszámítása az éhgyomri vércukorszint x éhgyomri inzulinszint/22,5 képlettel történt (Matthews et al. 1985; Zsuga et al. 2007b). A további mérésekhez (L-arginin, ADMA,

SDMA) szükséges szérum mintákat gélszeparátoros natív vérvételi csövekbe gyűjtöttük, melyeket alvadás után lecentrifugáltunk (3000 rpm, 10 perc), majd 60 percen belül lefagyasztottuk és a mérésekig  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk.

#### **4.6 Az L-arginin és dimetilált származékainak meghatározása**

Az L-arginin és dimetilált származékainak (ADMA, SDMA) mérése egy már korábban leírt és beállított folyadékkromatográfiás módszer szerint történt (Zsuga et al. 2007a; Zsuga et al. 2007b). Az előzetesen  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tárolt vérszérum minták  $250\text{ }\mu\text{l}$ -éhez belső standardként  $50\text{ }\mu\text{l}$  L-homoarginin-hidroklorid ( $1000\text{ }\mu\text{mol/l}$ ) oldatot (Sigma, Steinheim, Németország), majd  $700\text{ }\mu\text{l}$  borát-puffert ( $50\text{ }\mu\text{mol/l}$  pH: 9,00) adtunk.

Az így kapott elegyet átvezettük egy előzetesen borát-pufferrel kondicionált szilárd fázisú extrakciós csövön (OASIS MCX 3cc) egy 12 szívócsonkkal rendelkező vákuumozható SPE minta előkészítő kamra segítségével (J. T. Baker, Philipsburg, NJ). Ezt követően az extrakciós töltetbe kötődött mintákat először borát pufferrel, majd HPLC tisztaságú ioncserélt vízzel, végül metanollal mostuk, és  $1\text{ ml}$  ammónia-víz-metanol eleggyel (10/40/50 v/v/v%) (Reanal, Budapest, Magyarország; Scharlau, Sentmenat, Spanyolország) eluáltuk. A mosás és az elúció során alkalmazott vákuum nyomása  $750\text{ mbar}$  volt (ILMVAK MPC 101 Z vákuumpumpa, ILMVAK VCZ 324 vákuumszabályzó egység).

Az eluátumot nitrogén atmoszféra alatt, vákuum segítségével  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on szárazra pároltuk, majd  $200\text{ }\mu\text{l}$  HPLC tisztaságú ioncserélt vízben visszaoldottuk. Az így kapott oldatot elegyítettük  $63\text{ }\mu\text{l}$  OPA/MPA (orto-ftálaldehid, 3-merkaptopropionsav) tartalmú fluoreszcens származékképző reagens oldattal (pH: 9,9, KCl-os borát pufferben),  $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on inkubáltuk  $10$  percig, majd a kromatográfiás analízisig  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartottuk (az analízis a minta előkészítését követően azonnal megkezdődött, a mérések maximum  $24$  órán belül lezajlottak).

A termosztálható (5°C) automata mintaadagolóval ellátott Waters 2695 szeparációs modulból (kolonnatér hőmérséklete a mérés alatt: 35°C), Waters 2745 fluoreszcens detektorból (Waters Milford, MA, USA) és C-18 (4,6 x 150mm, 3,5µm) kolonnából álló kromatográfiás rendszerbe 10µl térfogatú mintákat injektáltunk. Az analízis során gradiens elúciós módszert alkalmaztunk 1 ml/perc áramlási sebességgel „A” eluenst (20 mmol/l ammónium karbonát ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), vízben oldva, pH 7,5±0,05-re állítva tömény hangyasavval (HCOOH)), illetve „B” eluenst (acetonitril) alkalmazva. A gradiens a következők szerint változott: 0-15 perc: 91% A, 9% B, 15-16 perc: lineáris módosítás 70% A, 30% B összetételre, melyet a 22. percig tartottunk, majd a 22-23 percig lineáris módosítás az eredeti 91% A, 9% B összetételre, mely a mérés végéig (35 perc) állandó maradt.

A detektálás gerjesztési hullámhossza 337 nm volt, míg az emissziós hullámhossz 520 nm volt az L-arginin és L-homoarginin, illetve 454 nm az ADMA és SDMA komponensek esetében.

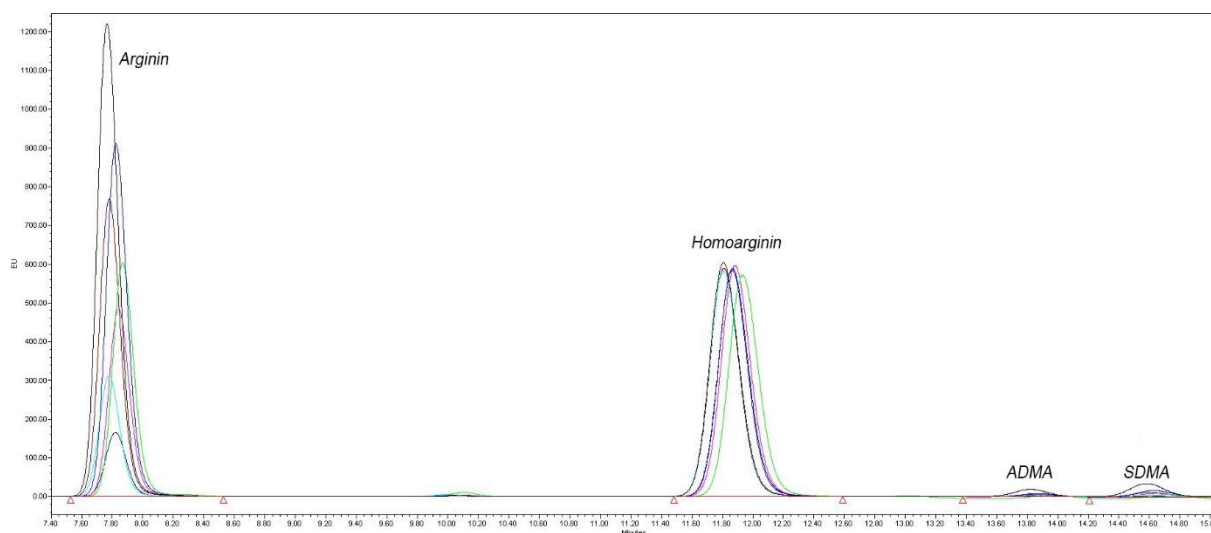
#### **4.7 A HPLC mérés kalibrációja**

Az arginin, ADMA és SDMA szérumszintjének mérésére szolgáló HPLC készülék kalibrációját minden alkalmazott kolonna esetén külön elvégeztük (a kalibrációs kromatogramokat lásd a 10. ábrán). A kalibrációt abban az esetben fogadtuk el, ha a mérés során kapott görbe alatti terület-koncentráció összefüggését ábrázoló függvény korrelációs koefficiens értékének négyzete ( $r^2$ ) >0,997 értéket adott, illetve az egyéni kalibrációs pontok esetén mért és az egyenes alapján számolt koncentrációértékek eltérése nem haladta meg a 20%-ot (11-12 ábrák). Amennyiben a kalibrációs mérések során egy adott standard minta szisztematikus hibát adott (tehát a standard komponensek számított és mért koncentrációi szisztematikusan eltértek mindhárom mért komponens (arginin, ADMA, SDMA) esetén, úgy az adott minta kizárásra került a kalibrációból (kalibrációnként maximum egy minta). Ezen

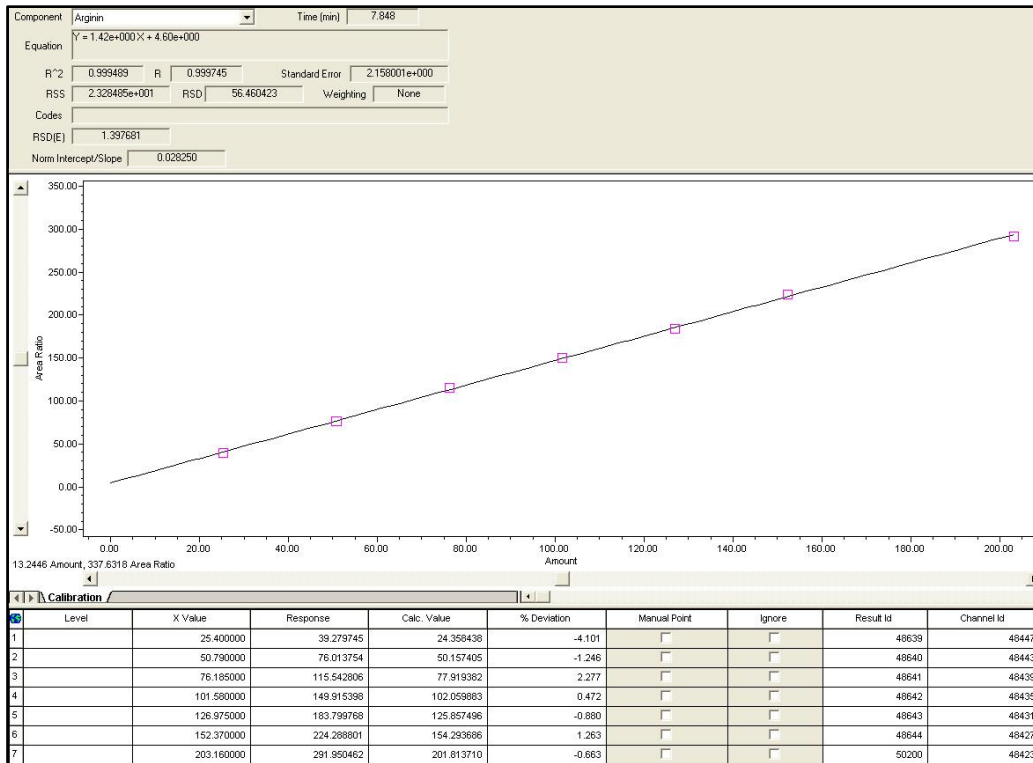
feltételek teljesülésének hiányában a kalibrációs méréseket megismételtük (a kalibrációhoz alkalmazott oldatok összetételét lásd az 2. táblázatban). Az összeállított standard minták minta-előkészítési és mérési módja a betegekből származó mintákéval megegyező módon történt.

Azonosító	L-arginin (1mM)		ADMA (100µM)		SDMA (100µM)		víz
	V (µl)	c (µM)	V (µl)	c (µM)	V (µl)	c (µM)	
<b>K1</b>	200	200	40	4	40	4	720
<b>K2</b>	150	150	20	2	20	2	810
<b>K3</b>	125	125	15	1,5	15	1,5	845
<b>K4</b>	100	100	10	1	10	1	880
<b>K5</b>	75	75	7,5	0,75	7,5	0,75	910
<b>K6</b>	50	50	5	0,5	5	0,5	940
<b>K7</b>	25	25	2,5	0,25	2,5	0,25	970

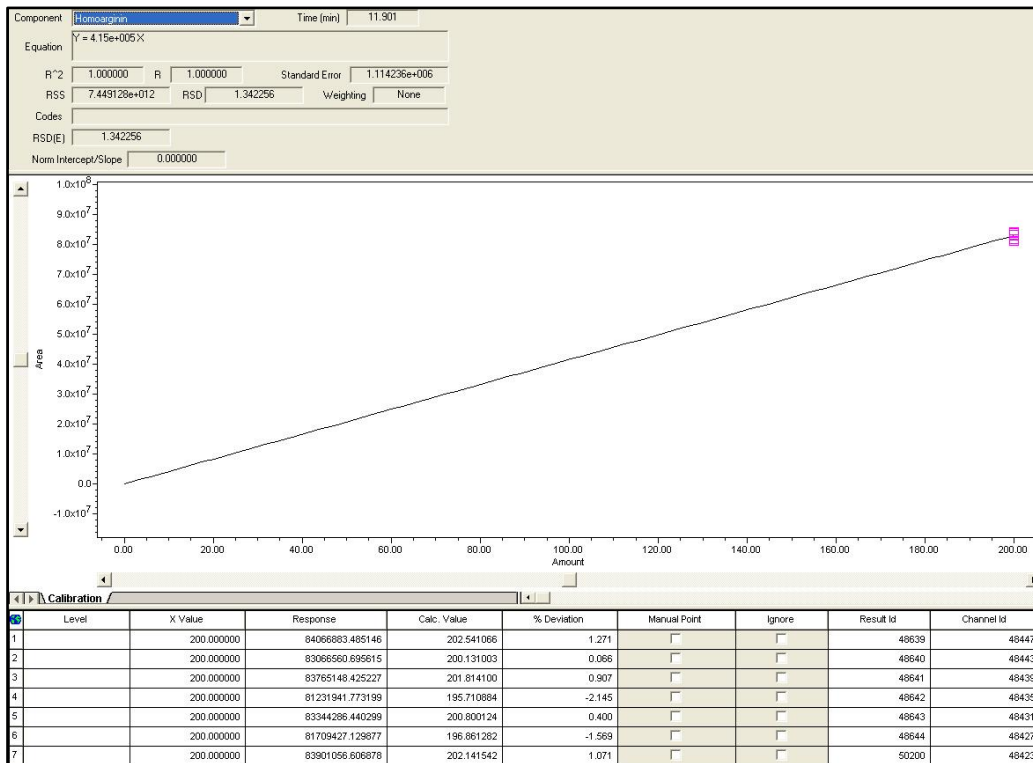
2. táblázat: A HPLC mérés kalibrációs oldatainak összetétele



10. ábra: A HPLC mérés kalibráló oldatsorozatának kromatogramjai (overlay mód)



11. ábra: A standard minták alapján felvett kalibráció adatai és görbéje arginin esetén (reprezentatív példa)



12. ábra: A standard minták alapján felvett kalibráció adatai és görbéje a belső standard (homoarginin) esetén (reprezentatív példa)

#### **4.8 A HPLC mérés reprodukálhatóságának meghatározása**

A minta előkészítés és a mérés reprodukálhatóság meghatározásához 2 személy 6-6 mintaszámmal ugyanazt a vérszérum mintát készítette elő, az így kapott eredményeket hasonlítottuk össze.

#### **4.9 Betegségspecifikus életminőség**

A páciensek betegséggel összefüggő életminőségét a Szent György Kórház Légzési Panaszokkal Kapcsolatos Kérdőívének (St. George's Respiratory Questionnaire- SGRQ) (Jones et al. 1991) validált, magyar nyelvű kiadásával mértük fel. A kérdőív magyar nyelvű, illetve Magyarországon történő alkalmazására mindössze néhány példa ismeretes. Egy 2001-ben megjelent magyar nyelvű publikációban említik a kérdőív alkalmazását, (Mészáros et al. 2001), illetve az említett munkacsoportnak ismeretes egy 2003-ban megjelent angol nyelvű publikációja is (Mészáros et al. 2003). Az említett munkacsoporton felül egy nemzetközi kollaborációban született publikációban találtunk adatokat a magyarországi felhasználásról (Szende et al. 2004). Mindezekon kívül egy nemzetközi randomizált kontrollált vizsgálat keretében Magyarországon is vizsgáltak betegeket az SGRQ kérdőív segítségével (Papi et al. 2017) mely vizsgálat az általunk publikáltakkal azonos évben, 2012-ben kezdődött (EFFECT trial). A kérdőívet –a felhasználásra vonatkozó írásos engedéllyel együtt- a vizsgálataink megkezdését megelőzően annak kifejlesztőjétől szereztük be (Paul Jones, University of London, London, Egyesült Királyság, 2012. 08. 28). A kérdőív a kitöltést megelőző egy hónapos periódusban méri fel a páciensek életminőségét, melyet három komponens pontszámmal és egy összpontszámmal jellemez. A tünetek komponens pontszám a betegek légúti tüneteinek gyakoriságát, súlyosságát, illetve hatását méri fel, gyakorlatilag a tünetek szubjektív megélését pontozza. Az aktivitás komponens pontszám a napi rutin fizikai aktivitás betegség miatt kialakuló korlátozottságát írja le, míg az impakt komponens pontszám az



életminőség pszichoszociális aspektusát jellemzi. Az összpontszám (a három komponens eredőjeként) egy összképet nyújt a beteg életminőségéről. A komponensekhez tartozó pontszámok egy 0-100 skálán kerülnek kifejezésre, ahol a 0 jelenti a legjobb, míg a 100 a lehető legrosszabb értéket, tehát a betegség, életminőséget befolyásoló súlyosabb hatását. A százalékos skálán 4 pontnyi eltérést tekinthetünk klinikailag jelentőségteljesnek (Jones 2005). A kérdőív felügyelt önkitöltéses módon került rögzítésre.

A kérdőív eredményeinek kiértékelését, a rendelkezésünkre bocsájtott táblázatkezelő alapú SGRQ kalkulátorral végeztük, mely során az adatbevitt egymástól függetlenül két értékelő is elvégezte, az adatbevitel elveit szigorúan követve. Az adatbevitel kódolása a következőképp zajlott: A kérdésekre adott pozitív válaszok kódja „1”, a negatív válaszoké „0”, míg a nem megválaszolt, vagy kihagyott kérdések esetén az adatmező üres maradt. A két független értékelő által rögzített adatokat Spearman korrelációval hasonlítottuk össze melynek eredménye 0,976 ( $p < 0,001$ ) a tünetek komponens, 0,997 ( $p < 0,001$ ) az aktivitás komponens, 0,998 ( $p < 0,001$ ) az impakt komponens és 0,998 ( $p < 0,001$ ) az összpontszám tekintetében. A korreláció a COPD-s betegcsoport esetén a következőképp alakult: tünetek komponens pontszám: 0.990 ( $p < 0.001$ ), aktivitás komponens pontszám: 0.988 ( $p < 0.001$ ), impakt komponens pontszám: 0.999 ( $p < 0.001$ ), összpontszám: 0.999 ( $p < 0.001$ ). Az elemzésekhez a két értékelő által rögzített eredmények átlagát vettük figyelembe.

Az asztmás betegeket érintő tanulmányunkban az SGRQ 4. kérdésére (Az elmúlt 4 hétben ziháló légzéssel járó rohamom volt) adott válaszok alapján dichotomizáltuk a mintát, így létrehozva a jól kontrollált és rosszul kontrollált betegcsoportokat. Jól kontrollált csoportba kerültek a „csak légúti fertőzések alkalmával” és „egyáltalán nem” míg a rosszul kontrollált csoportba kerültek a „havonta néhány nap”, „hetente néhány nap”, vagy „hetente szinte minden nap” válaszokat adó betegek. Az így kialakított csoportokat használtuk a végső többszörös lineáris regressziós modellünk további elemzéséhez.

A COPD-s betegekkel kapcsolatos tanulmányban a dichotomizálás alapját a tünetek komponens pontszáma alapján végeztük, azokat a betegeket tekintettük megfelelően kontrolláltnak, akik esetén a tünetek komponens pontszáma a medián érték alatt volt. A medián értéknél magasabb pontszámú páciensek a rossz tünet-kontroll csoportba kerültek. Az így kialakított csoportokat használtuk a végső lineáris regressziós modell rétegzéséhez és mélyebb elemzéséhez.

#### **4.10 A betegek gyógyszereszedésének vizsgálata**

A vizsgálatainkba bevont páciensek gyógyszerelésével kapcsolatos információkat a kérdőíves felmérés mellett a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Tüdőgyógyászati Klinikáján kiadott szakorvosi javaslatok alapján is validáltuk. A gyógyszereléssel kapcsolatos adatok közül strukturált rögzítésre került az alkalmazott szerek hatóanyaga, hatáserőssége, az adagolás módja és gyakorisága. A betegeknek adagolt inhalációs kortikoszteroid készítmények a hatóanyagok definiált napi adagjának (defined daily dose-DDD) figyelembevételével is megadásra kerültek a különböző hatóanyagok összehasonlíthatósága érdekében (WHO 2016).

#### **4.11 Statisztikai elemzés**

A folytonos változók normalitás vizsgálatát Shapiro-Wilk teszttel végeztük. A normális eloszlást mutató paraméterek esetén Student t-teszttel, míg a nem normális eloszlásúaknál Mann-Whitney U-teszt segítségével hasonlítottuk össze két adatsortot. A gyakorisági paraméterek statisztikai összehasonlítását Pearson  $\chi^2$  teszttel végeztük. A szignifikancia határ minden esetben  $p < 0,05$  volt. A heteroszkedaszticitást Cook-Weisberg és Ramsey teszttel vizsgáltuk mely esetén a heteroszkedaszticitás határa  $p > 0,05$  volt. A regressziós modellek illesztését helyileg súlyozott szórásgörbe simítással (LOWESS) végeztük. A normális

eloszlást mutató paraméterek átlag±standard deviáció, a nem normális eloszlású paraméterek medián (interkvartilis tartomány), míg a gyakorisági paraméterek x/y formátumban kerültek interpretálásra. A regressziós koefficiens értékek a 95%-os konfidencia intervallum megjelölésével kerülnek bemutatásra. Elemzéseinket a Stata 13.0 szoftverrel végeztük (Stata Corporation).

#### **4.12 Az asztma tanulmány statisztikai elemzése**

A demográfiai, antropometriai, anamnesztikus, laboratóriumi és SGRQ paraméterek kerültek összehasonlításra a magasabb ( $R_{aw} \geq 0,22$  kPa·s/l) és alacsonyabb ( $R_{aw} < 0,22$  kPa·s/l) légúti áramlási ellenállású páciensek csoportjai között. A  $R_{aw} = 0,22$  kPa·s/l határértéke a pletizmográf gyártója által megadott és más szerzők által is alkalmazottak (Quanjer 1983) alapján került definiálásra, a betegpopuláció medián értékével fennálló egybeesés véletlenszerű. Ezt követően ezen adatok összehasonlítását a már említett SGRQ 4. kérdése alapján dichotomizált (megfelelő, és nem megfelelő tünet-kontroll) csoportok között is elvégeztük.

A  $R_{aw}$  és ADMA korrelációját (a normális eloszlás hiánya végett) Spearman-féle korrelációval vizsgáltuk. Az összefüggést potenciálisan zavaró tényezők értékelése és kiküszöbölése céljából, többszörös lineáris regressziós modellt alkalmaztunk. Először megvizsgáltuk minden paraméter normalitását. A CK, HDL-koleszterin, ApoB, B12 vitamin, folsav, sTSH, ADMA, SDMA, L-arginin,  $R_{aw}$  és  $G_{aw}$  paraméterek log-transzformációja, valamint az urea szint reciprok formája, és a glükóz koncentráció négyzetének reciprok formája biztosította a regresszióba bevonni kívánt paraméterek normális eloszlását.

Az egyszerű lineáris regressziót a  $R_{aw}$  és az ADMA esetén, azok lehetséges determinánsainak, a potenciális zavaró tényezők (életkor, nem, testmagasság, betegség

időtartama), laboratóriumi paraméterek (máj-, vese- és izomfunkció, arginin metabolizmus), valamint a légzésfunkciós paraméterek bevonásával végeztük. Az egyszerű regressziót követően a  $R_{aw}$  és ADMA szignifikáns regresszorai (megemlítendő többek között a betegek által szedett kortikoszteroid tartalmú gyógyszerek DDD/nap értéke), valamint egyéb *a priori* paraméterek (életkor, nem) kerültek bevonásra a többszörös lineáris regressziós modellbe, mellyel a légúti áramlási akadályozottság (melynek deskriptív paramétere a  $R_{aw}$ ) és a szérum ADMA szint összefüggését vizsgáltuk. Az így azonosított paraméterek egyidejűleg kerültek a modellbe, majd –a többszörös lineáris regresszió szabályait követve- elhagytuk azokat, melyek nem járultak hozzá szignifikánsan a modellhez. Így kaptuk meg a végső regressziós modellt, mely az *a priori* paramétereket (életkor, nem), a FEF25-75% %pred, valamint az SGRQ aktivitás komponens pontszámot és összpontszámot foglalta magába. Ezt követően végeztük el az asztma kontroll alapú rétegek szerinti elemzést.

#### 4.13 A COPD tanulmány statisztikai elemzése

A  $R_{aw}$  medián értékével definiált határérték alapján két csoportba sorolt (alacsonyabb, illetve magasabb légúti áramlási ellenállás) páciensek demográfiai, antropometriai, anamnesztikus, laboratóriumi és életminőségi paramétereit hasonlítottuk össze. A  $R_{aw} < 0,27 \text{ kPa}\cdot\text{s/l}$  értékkel rendelkező betegek az alacsony ellenállású ( $n=34$ ), míg a  $R_{aw} \geq 0,27 \text{ kPa}\cdot\text{s/l}$  értékűek a magas ellenállású ( $n=40$ ) csoportba kerültek. Az adatok az SGRQ tünetek komponens pontszám alapján dichotomizált formában is összehasonlításra kerültek ( $n=73$ , egy páciens esetén a pontszám nem volt meghatározható, a hiányzó elemi adatok végett). A határérték 32,66 pont volt, ez alapján az ennél alacsonyabb komponens pontszámú páciensek a jó tünet-kontroll ( $n=37$ ), míg az e fölötti, vagy ezzel megegyező komponens pontszámúak a rossz tünet-kontroll ( $n=36$ ) csoportot alkották.

A  $R_{aw}$  és ADMA közti összefüggést Pearson-féle korrelációval vizsgáltuk. A lehetséges zavaró tényezők figyelembevétele és kiküszöbölése céljából többszörös lineáris regressziót végeztünk. Először megvizsgáltuk a bevonni kívánt paraméterek normalitását, majd a CK, koleszterin, LDL-koleszterin, HDL-koleszterin, ApoA1, ApoB, inzulin HgA1c, folsav, sTSH, ADMA, HOMA index,  $R_{aw}$  FEF25-75% %pred, RV és RV %pred értékeket log-transzformáltuk, illetve a glükóz koncentráció négyzetének reciprokát vettük figyelembe a normális eloszlás biztosítása érdekében.

Ezt követően egyszerű lineáris regressziós elemzéssel megvizsgáltuk a  $R_{aw}$  és az ADMA lehetséges determinánsait. Az elemzésbe bevontuk a tradicionálisnak tekinthető tényezőket (életkor, nem, testmagasság, betegség időtartama), a légzésfunkciós paramétereket, a szénhidrát-, lipid-, és arginin metabolizmus, valamint a vesefunkció, vázizomzat és gyulladás laboratóriumi paramétereit. A  $R_{aw}$  és ADMA szignifikáns determinánsaiból, valamint *a priori* (életkor, nem) paramétereiből állítottuk össze a többszörös lineáris regresszió kiindulási modelljét, mellyel a  $R_{aw}$  és ADMA kapcsolatát vizsgáltuk. A kiindulási modellből elhagytuk azokat a paramétereket, melyek nem járultak hozzá szignifikánsan a modellhez, így kaptuk meg a végső modellünket, mely az ADMA, CRP, FEF25-75% %pred, illetve az *a priori* paramétereket tartalmazta. A végső modellünket a tünetek komponens pontszám alapján történő, korábban említett dichotomizált rétegek szerint is elemeztük.

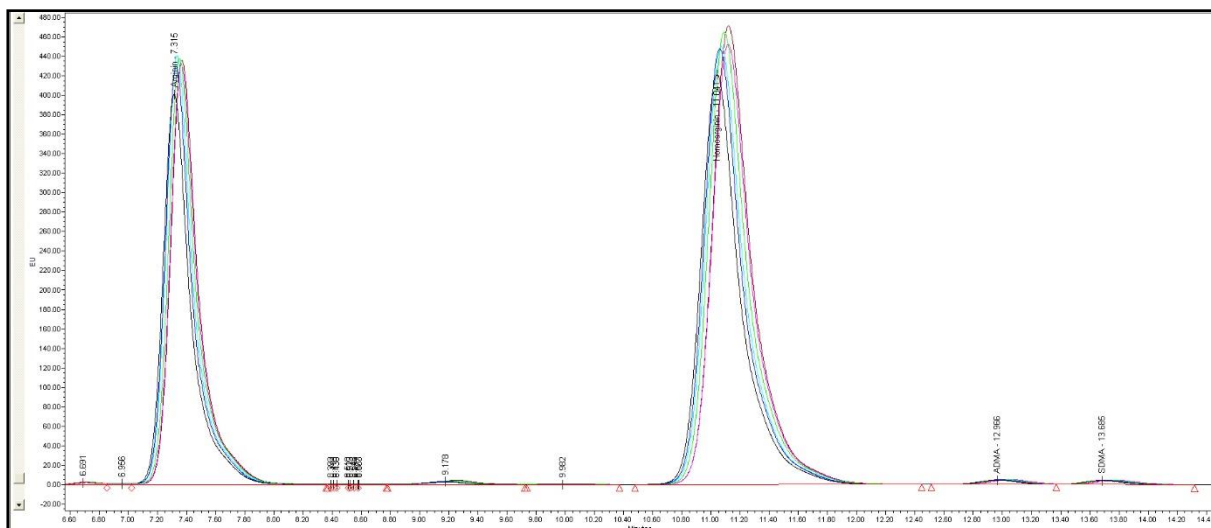
## 5. Eredmények

### 5.1 A HPLC mérés reprodukálhatósága

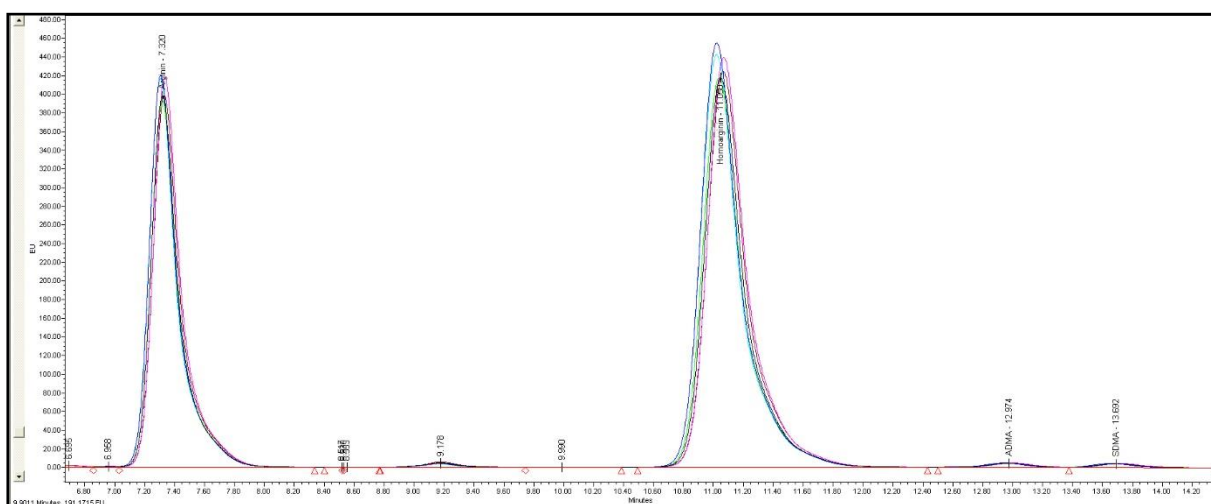
A mérés reprodukálhatóságának meghatározása során két minta előkészítő 6-6 mintát készített elő ugyan abból a vérszérum mintából. A koncentráció értékek az adott kolonnán a mérést megelőzően elvégzett és már ismertetett módon végzett kalibráció, valamint a belső standard (L-homoarginin) korrekciós hatásának segítségével kerültek meghatározásra, így az 3. táblázatban a valós mért koncentráció értékek láthatók. A mérés relatív standard deviációja L-arginin esetén 1,557%, ADMA esetén 4,300%, míg SDMA esetén 2,203% volt. Az egyes értékelők által előkészített minták kromatogram részletei az 13. és 14. ábrán láthatók.

Azonosító	L-arginin ( $\mu\text{mol/l}$ )	ADMA ( $\mu\text{mol/l}$ )	SDMA ( $\mu\text{mol/l}$ )
R1_11	105,822	0,743	0,390
R1_12	109,069	0,751	0,400
R1_13	112,558	0,748	0,411
R1_14	107,992	0,736	0,402
R1_15	109,045	0,697	0,393
R1_16	109,767	0,709	0,393
<b>átlag1</b>	<b>109,042</b>	<b>0,731</b>	<b>0,398</b>
R2_21	109,510	0,726	0,406
R2_22	109,316	0,708	0,395
R2_23	106,154	0,667	0,383
R2_24	107,674	0,710	0,408
R2_25	107,921	0,646	0,383
R2_26	108,238	0,704	0,400
<b>átlag2</b>	<b>108,136</b>	<b>0,694</b>	<b>0,396</b>
<b>átlag_összes</b>	<b>108,589</b>	<b>0,712</b>	<b>0,397</b>
<b>%RSD</b>	<b>1,557</b>	<b>4,300</b>	<b>2,203</b>

3. táblázat: A HPLC mérés reprodukálhatósága



13.ábra: Az 1. értékelő méréseinek kromatogramjai



14. ábra: A 2. értékelő mérésének kromatogramjai

## 5.2 Asztma tanulmány

### 5.2.1 Betegcsoport jellemzők

A 154 beválogatott páciens közül a vizsgálat időpontjában 4 nem részesült gyógyszeres terápiában, 2 kizárólag rövid hatású béta-agonistát kapott, 3 kizárólag ipratropium és fenoterol fix kombinációját kapta farmakológiai terápiaként. 45 páciensnek volt javaslata rövid hatású béta agonista alkalmazására (közülük 43 inhalációs kortikoszteroid hatóanyagot is kapott), illetve összesen 146 beteg részesült inhalációs kortikoszteroid

terápiában (közülük 18 monoterápiában részesült és 128 fő hosszú hatású béta-agonistával kombinált készítményt kapott). A további releváns terápia esetenként magába foglalta antikolinerg (n=38), orális metilxantin (n=16) leukotrién receptor antagonistá montelukast (n=35), illetve szubkután omalizumab (n=8) adagolását.

### **5.2.2 Az alacsonyabb és magasabb légúti áramlási ellenállású csoportok összehasonlítása**

A  $R_{aw} < 0,22$  kPa·s/l határértékkal definiált, légúti áramlási ellenálláson alapuló dichotomizáció két, 77-77 páciens magába foglaló csoportot eredményezett, melyek a legtöbb vizsgált paraméter tekintetében nem mutattak szignifikáns eltérést. A nemek eloszlása között szignifikáns különbség volt a két csoportban, a férfiak száma 42 volt az alacsonyabb-, míg 28 a magasabb  $R_{aw}$  csoportokban (p=0,023). A testmagasság szintén enyhén szignifikáns különbséget mutatott a vizsgált csoportok között, a magasabb  $R_{aw}$  csoport elemei alacsonyabbak voltak, illetve a diszlipidémia gyakorisága is magasabb volt ezen csoportban. A betegség fennállásának időtartama, a szérum ADMA szintje, valamint az SGRQ mindhárom komponensének pontszáma és összpontszáma szintén a magasabb  $R_{aw}$  csoportban bizonyult szignifikánsan magasabbnak (4. táblázat).



<i>Paraméter</i>	<i>Teljes populáció</i>	<i>Alacsonyabb R<sub>aw</sub></i>	<i>Magasabb R<sub>aw</sub></i>	<i>p-érték</i>
Életkor (évek)	49.00 (36.00-58.00)	44.00 (36.00-57.00)	52.00 (41.00-59.00)	0.086
<b>Nem (n/f)</b>	84/70	35/42	49/28	<b>0.023</b>
Dohányos (n/i)	134/20	66/11	68/9	0.632
Dohányzás (doboz-évek)	0.00 (0.00-3.88)	0.00 (0.00-4.00)	0.00 (0.00-3.75)	0.987
Cukorbetegség (n/i)	147/7	76/1	71/6	0.053
<b>Diszlipidémia (n/i)</b>	108/46	63/14	45/32	<b>0.002</b>
RR szisztolés (mmHg)	132.10±15.08	132.93±15.46	131.23±14.73	0.487
RR diasztolés (mmHg)	84.76±10.70	85.80±9.75	83.73±11.53	0.231
Magas vérnyomás (n/i)	95/59	53/24	42/35	0.068
<b>Betegség időtartama (év)</b>	15.00 (10.00-20.00)	14.00 (8.00-19.00)	16.00 (12.00-21.00)	<b>0.032</b>
Derékbőség (cm)	96.49±12.87	96.02±13.51	96.97±12.28	0.654
Testtömeg (kg)	75.00 (65.00-88.00)	76.00 (66.00-89.50)	75.00 (65.00-87.00)	0.632
<b>Testmagasság (m)</b>	1.68±0.10	1.70±0.10	1.66±0.09	<b>0.004</b>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.16±4.48	26.61±4.56	27.72±4.36	0.127
<b>ADMA (μmol/l)</b>	0.54 (0.44-0.67)	0.53 (0.40-0.65)	0.57 (0.47-0.71)	<b>0.034</b>
SDMA (μmol/l)	0.45 (0.38-0.53)	0.45 (0.36-0.52)	0.47 (0.41-0.55)	0.080
L-arginin (μmol/l)	103.17 (90.24-125.84)	101.32 (87.65-117.68)	104.58 (91.70-129.90)	0.209
B12 (pmol/l)	322.25 (237.30-398.10)	321.00 (228.80-390.70)	323.50 (239.20-401.10)	0.432
Folsav (nmol/l)	19.00 (15.19-23.99)	19.50 (14.76-24.15)	18.91 (16.00-23.16)	0.779
Urea (mmol/l)	4.50 (3.90-5.50)	4.30 (3.90-5.30)	4.60 (3.90-5.55)	0.667
Kreatinin (μmol/l)	69.00 (59.00-80.00)	70.00 (60.00-79.00)	69.00 (57.00-80.00)	0.762
GFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	91.00 (85.00-91.00)	91.00 (87.00-91.00)	91.00 (85.00-91.00)	0.469
GOT (U/l)	20.00 (16.00-25.00)	21.00 (17.00-24.00)	19.00 (16.00-25.50)	0.314
GPT (U/l)	19.00 (15.00-28.00)	19.00 (15.00-27.00)	18.00 (14.00-29.00)	0.314
γGT (U/l)	23.00 (16.00-34.00)	23.00 (16.00-32.00)	22.50 (15.50-34.50)	0.920
CK (U/l)	110.00 (81.00-158.00)	114.00 (88.00-167.00)	106.50 (75.50-152.00)	0.090
LDH (U/l)	196.00 (180.00-223.00)	195.00 (180.00-224.00)	197.50 (179.00-222.00)	0.775
Éhgyomri glükóz (mmol/l)	5.00 (4.30-5.50)	5.00 (4.20-5.40)	5.00 (4.50-5.50)	0.388
Inzulin (mU/l)	9.05 (6.25-17.35)	9.00 (6.40-16.50)	9.50 (6.00-17.70)	0.569
HgA1C (%)	5.40 (5.00-5.80)	5.40 (5.00-5.70)	5.50 (5.00-5.80)	0.266
HOMA	2.01 (1.28-4.11)	1.99 (1.24-3.38)	2.19 (1.35-4.25)	0.405
Koleszterin (mmol/l)	5.32±1.20	5.19±1.04	5.44±1.33	0.208
LDL-C (mmol/l)	3.18±0.94	3.08±0.86	3.27±1.02	0.230
HDL-C (mmol/l)	1.40 (1.20-1.75)	1.40 (1.20-1.70)	1.40 (1.20-1.90)	0.429
Apo-A1 (g/l)	1.58±0.29	1.56±0.25	1.60±0.32	0.393
ApoB (g/l)	0.99 (0.85-1.18)	0.95 (0.85-1.08)	1.00 (0.85-1.22)	0.320
Lp(a) (mg/l)	121.00 (55.00-352.00)	117.00 (52.00-346.00)	132.00 (56.00-364.00)	0.913
Triglicerid (mmol/l)	1.30 (1.00-2.00)	1.30 (0.90-2.00)	1.45 (1.00-1.95)	0.969
CRP (magas/normál)	28/125	13/64	15/61	0.648
Fibrinogén (g/l)	3.35±0.64	3.30±0.55	3.39±0.72	0.422
Prokalcitonin (μg/l)	0.00 (0.00-0.00)	0.00 (0.00-0.00)	0.00 (0.00-0.00)	0.317
<b>SGRQ tünetek pontszám</b>	29.97 (13.47-52.33)	23.04 (11.01-43.24)	33.83 (14.56-55.63)	<b>0.034</b>
<b>SGRQ impakt pontszám</b>	24.60 (10.74-40.01)	16.10 (7.39-34.92)	30.99 (20.50-48.05)	<b>&lt;0.001</b>
<b>SGRQ aktivitás pontszám</b>	47.68 (29.49-60.25)	35.47 (17.31-54.32)	55.62 (41.70-66.18)	<b>&lt;0.001</b>
<b>SGRQ összpontszám</b>	32.75 (17.52-48.73)	25.26 (13.90-41.00)	37.93 (29.53-54.01)	<b>&lt;0.001</b>

4. táblázat: Az asztma tanulmány pácienseinek (n=154) és a légúti áramlási ellenállás értékek alapján dichotomizált csoportjaik jellemzői. Az alacsonyabb és magasabb R<sub>aw</sub> értékű csoportok közötti szignifikáns eltérést mutató paraméterek vastagon szedettek.

### 5.2.3 A jól- és rosszul kontrollált betegcsoportok összehasonlítása

Az SGRQ kérdőív 4. kérdése alapján (a már korábban említett módon) dichotomizált betegcsoportok jellemzőit az 5. táblázat taglalja. A jól kontrollált betegcsoportba 123, míg a rosszul kontrolláltba 31 páciens került. A demográfiai és antropometriai jellemzők, valamint a statikus (térfogati) légzésfunkciós paraméterek nem mutattak szignifikáns eltérést, kivéve a légúti áramlási ellenállás értéke szerinti csoportosításnál is tapasztalt szignifikáns testmagasság különbséget, mely ebben az esetben a rosszul kontrollált csoportban mutatott enyhén szignifikánsan alacsonyabb értéket. A dinamikus tüdőfunkciót jellemző (áramlási) paraméterek szignifikánsan alacsonyabbak voltak a rosszul kontrollált betegcsoportban, míg a  $R_{aw}$  (és  $G_{aw}$ ) értékek nem mutattak eltérést. A rosszul kontrollált csoport esetén tapasztalható rosszabb életminőséget szemlélteti az összes SGRQ komponens pontszám, valamint az összpontszám esetén tapasztalt szignifikánsan magasabb érték.

<i>Paraméter</i>	<i>Teljes populáció</i>	<i>Jól kontrollált</i>	<i>Rosszul kontrollált</i>	<i>p-érték</i>
<b>Demográfiai és antropometriai paraméterek</b>				
Életkor (évek)	49.00 (36.00-58.00)	48.00 (36.00-59.00)	52.00 (40.00-56.00)	0.442
Nem (n/f)	84/70	63/60	21/10	0.099
<b>Testmagasság (m)</b>	1.68±0.098	1.69±0.097	1.65±0.099	<b>0.034</b>
Testtömeg (kg)	75.00 (65.00-88.00)	76.00 (67.00-88.00)	72.00 (62.00-87.00)	0.278
<b>Légzésfunkciós paraméterek</b>				
FVC% pred	92.55±13.80	93.45±13.60	89.00±14.25	0.101
IVC% pred	97.50 (87.00-106.00)	98.00 (88.00-106.00)	97.00 (81.00-102.00)	0.267
TLC% pred	108.65±13.78	108.25±14.27	110.26±11.75	0.470
TGV% pred	125.25±22.11	124.62±22.18	127.77±21.99	0.479
RV% pred	132.50 (117.00-157.00)	132.00 (117.00-152.00)	143.00 (114.00-175.00)	0.266
RV/TLC% pred	123.84±20.06	122.41±19.84	129.48±20.24	0.079
<b>FEV1% pred</b>	86.10±15.07	87.99±13.97	78.58±17.08	<b>0.002</b>
<b>PEF% pred</b>	75.14±18.21	78.80±16.12	60.61±18.98	<b>&lt;0.001</b>
<b>FEF25-75% % pred</b>	66.54±22.22	69.87±21.58	53.32±19.98	<b>&lt;0.001</b>
<b>MEF50% % pred</b>	68.81±24.94	72.36±23.85	54.74±24.58	<b>&lt;0.001</b>
<b>FEV1/IVC% pred</b>	90.92±10.51	92.41±10.23	85.00±9.61	<b>&lt;0.001</b>
<b>FEV1/FVC</b>	0.77 (0.73-0.83)	0.79 (0.74-0.84)	0.74 (0.68-0.78)	<b>0.002</b>
R <sub>aw</sub> (kPa·s/l)	0.22 (0.18-0.29)	0.21 (0.17-0.28)	0.25 (0.19-0.31)	0.152
G <sub>aw</sub> (l/kPa·s)	4.67 (3.44-5.55)	4.78 (3.55-5.73)	3.94 (3.2-5.35)	0.149
<b>Életminőség (SGRQ)</b>				
<b>Tünetek pontszám</b>	29.97 (13.47-52.33)	22.44 (11.01-37.28)	64.49 (51.75-74.89)	<b>&lt;0.001</b>
<b>Impakt pontszám</b>	24.60 (10.74-40.01)	20.50 (8.58-34.92)	42.59 (32.10-54.24)	<b>&lt;0.001</b>
<b>Aktivitás pontszám</b>	47.68 (29.49-60.25)	41.76 (23.33-59.45)	59.45 (53.01-72.85)	<b>&lt;0.001</b>
<b>Összpontszám</b>	32.75 (17.52-48.73)	28.35 (16.22-41.55)	53.71 (41.22-60.93)	<b>&lt;0.001</b>

5. táblázat: Az asztma tanulmány pácienseinek (n=154) és az SGRQ kérdőív 4. kérdése alapján dichotomizált csoportjaik jellemzői. A jól- és rosszul kontrollált csoportok közötti szignifikáns eltérést mutató paraméterek vastagon szedettek.

#### 5.2.4 A légúti áramlási ellenállás és a szérum ADMA-szint szignifikáns prediktorai

A teljes asztmás betegcsoportot vizsgálva a (log transzformált) R<sub>aw</sub> érték szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a (log transzformált) ADMA szinttel (Spearman korrelációs koefficiens: 0,27, p<0,001) (15. ábra). A jól kontrollált csoport esetén szintén szignifikáns pozitív korrelációt tapasztaltunk (Spearman korrelációs koefficiens: 0,30, p<0,001), azonban

a rosszul kontrollált csoportban nem kaptunk ilyen összefüggést (Spearman korrelációs koefficiens: 0,12,  $p=0,51$ ).



15. ábra: A légúti áramlási ellenállás ( $\log R_{aw}$ ) és a szérum aszimmetrikus dimetilarginin szintek ( $\log ADMA$ ) korrelációja a teljes asztmás betegpopulációban ( $n=154$ ). Az ábrán a kék vonal a  $\log R_{aw}$   $\log ADMA$  adatpárok illesztett értékeit mutatja, míg a szürke zóna a 95%-os konfidencia intervallumot szemlélteti.

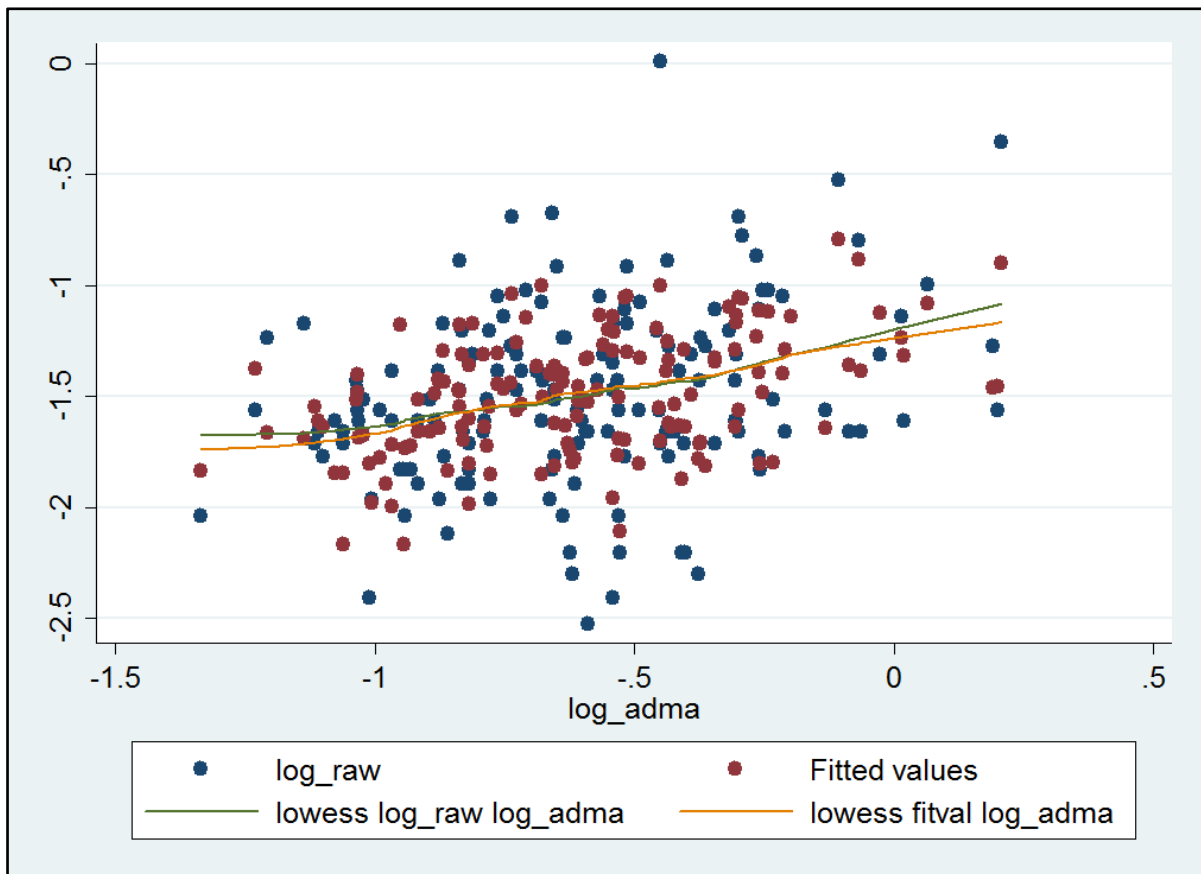
Az eddig ismertett eredményekből is adódik, hogy az egyszerű lineáris regresszió (mellyel a  $R_{aw}$  és az ADMA szignifikáns determinánsait azonosítottuk) igazolta, hogy a  $R_{aw}$  és az ADMA egymásnak determinánsai. Érdekességként megjegyezzük, hogy a FEV1% pred - ami a légutak funkciójának jellemzésére széles körben alkalmazott paraméter- szignifikáns lineáris összefüggést mutatott a ( $\log$ ) ADMA paraméterrel ( $\beta$ : -0.0035, CI -0.0067, -0.00020;  $p=0.01$ ). A  $\log R_{aw}$  és  $\log ADMA$  közötti pozitív összefüggés szignifikáns maradt a

többszörös lineáris regressziós elemzést követően is (6. táblázat). A  $\log R_{aw}$   $\log$  ADMA közötti pozitív összefüggés kifejezettebb volt a jól kontrollált asztmás betegcsoportban ( $\beta$ : 0.25; CI: 0.08, 0.41;  $p=0.005$ ) míg a rosszul kontrollált betegek rétegében gyenge, nem szignifikáns összefüggést volt kimutatható ( $\beta$ : 0.14; CI: -0.40, 0.67;  $p=0.60$ ). A végső modell nem mutatott heteroszkedaszticitást (teljes populáció esetén  $p=0,57$ , jól kontrollált réteg esetén  $p=0,78$ , illetve rosszul kontrollált réteg esetén  $p=0,19$ ). A végső modell jó illeszkedést mutatott a helyileg súlyozott szórásgörbe simítással (LOWESS) végzett illesztéshez (Cook-Weisberg teszt,  $p=0,57$ ) (16. ábra).

Az eddig részletezett  $R_{aw}$ -ADMA összefüggésen túl a végső modellünkben a  $R_{aw}$  szignifikáns negatív összefüggést mutatott a FEF25-75% %pred értékkel, mely a kislégutak diszfunkcióját jellemző paraméter, illetve szignifikáns pozitív összefüggést mutatott az SGRQ aktivitás komponens pontszámával. Meglepő módon a végső modellben a  $R_{aw}$  negatív összefüggést mutatott az SGRQ összpontszámmal (6. táblázat).

A végső modell további, asztma-kontroll szint alapján dichotomizált csoportok szerinti elemzésének eredményeként elmondható, hogy a FEF25-75% %pred érték mind a teljes populációban (Spearman korrelációs koefficiens: -0,53,  $p<0,001$ ), mind a jól kontrollált rétegben (-0,54,  $p<0,001$ ), illetve a rosszul kontrollált csoportban (-0,39,  $p=0,027$ ) is szignifikáns negatív összefüggést mutatott a  $R_{aw}$  értékével. Ebből következik, hogy a  $G_{aw}$  érték hasonló, ám fordított (tehát pozitív) összefüggést mutat a FEF25-75% %pred értékével a teljes populációban (0,53,  $p<0,001$ ), a jól kontrollált rétegben (0,54,  $p<0,001$ ) és a rosszul kontrollált csoportban is (0,39,  $p=0,031$ ). A további, többszörös regressziós modellbe bevont, a kislégutak kóros elváltozásra utaló paraméterek, mint RV %pred, illetve RV/TLC %pred (Contoli et al. 2010; Contoli et al. 2015) nem járultak hozzá szignifikánsan a végső modellhez, így ezeket figyelmen kívül hagytuk.

Az eddigieken kívül elmondható, hogy az SGRQ összpontszám szignifikáns negatív korrelációt mutatott a FEV1 %pred értékekkel (Spearman korrelációs koefficiens:  $-0,33$ ,  $p < 0,001$ ), mely összefüggés mind a jól kontrollált ( $-0,24$ ,  $p = 0,007$ ), mind a rosszul kontrollált ( $-0,36$ ,  $p = 0,049$ ) rétegekben fennállt.



16. ábra: A log  $R_{aw}$  és log ADMA korrelációs modellje. A kék pontok az eredeti adatpárokat jelölik, míg a bordó pontok a többszörös lineáris regresszió eredményeként kapott illesztett adatpárokat. A zöld vonal az eredeti adatpárok, míg a sárga az illesztett adatpárok helyileg súlyozott szórásgörbe simítással illesztett görbéit mutatja.

<i>Paraméter</i>	<i>Koefficiens (95% CI)</i>		<i>p-érték</i>
<i>A (log) ADMA egyszerű lineáris regressziója</i>			
Testmagasság (m)	-0.75	(-1.25, -0.26)	<b>0.003</b>
Betegség időtartama (év)	0.0061	(0.00062, 0.012)	<b>0.029</b>
log L-arginin	0.27	(0.083, 0.45)	<b>0.005</b>
log SDMA	0.77	(0.62, 0.93)	<b>&lt;0.001</b>
log triglicerid	0.091	(0.0022, 0.18)	<b>0.045</b>
GFR (normál/alacsony)	0.12	(0.022, 0.23)	<b>0.018</b>
FVC %pred	-0.0037	(-0.0072, 0.00010)	<b>0.044</b>
FEV1 %pred	-0.0035	(-0.0067, -0.00020)	<b>0.038</b>
FEF25-75% %pred	-0.0022	(-0.0044, 0.000013)	0.051
log R <sub>aw</sub>	0.22	(0.10, 0.34)	<b>&lt;0.001</b>
log G <sub>aw</sub>	-0.22	(-0.33, -0.10)	<b>&lt;0.001</b>
<i>A (log) R<sub>aw</sub> egyszerű lineáris regressziója</i>			
Életkor (év)	0.0046	(0.00019, 0.0090)	<b>0.041</b>
Nem (n/f)	-0.20	(-0.33, -0.075)	<b>0.002</b>
Testmagasság (m)	-1.22	(-1.86, -0.58)	<b>&lt;0.001</b>
Betegség időtartama (év)	0.0077	(0.00051, 0.015)	<b>0.036</b>
Diszlipidémia (n/i)	0.18	(0.043, 0.32)	<b>0.011</b>
Hipertónia (n/i)	0.19	(0.059, 0.32)	<b>0.005</b>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.014	(-0.000066, 0.029)	0.051
Albumin (g/l)	-0.028	(-0.051, -0.0052)	<b>0.017</b>
log ADMA	0.38	(0.17, 0.58)	<b>&lt;0.001</b>
log SDMA	0.29	(0.031, 0.54)	<b>0.028</b>
FVC %pred	-0.010	(-0.015, -0.0059)	<b>&lt;0.001</b>
FEV1 %pred	-0.14	(-0.017, -0.0099)	<b>&lt;0.001</b>
FEV1/FVC	-0.018	(-0.0263, -0.011)	<b>&lt;0.001</b>
FEF25-75% %pred	-0.15	(-0.24, -0.062)	<b>0.001</b>
RV %pred	0.0022	(0.00033, 0.0042)	<b>0.022</b>
RV/TLC %pred	0.0068	(0.0037, 0.0098)	<b>&lt;0.001</b>
IC/TLC	-1.22	(-1.95, -0.45)	<b>0.001</b>
SGRQ aktivitás pontszám	0.0071	(0.0044, 0.0097)	<b>&lt;0.001</b>
SGRQ impakt pontszám	0.0044	(0.00094, 0.0079)	<b>0.013</b>
SGRQ összpontszám	0.0059	(0.0025, 0.0093)	<b>0.001</b>
<i>A (log) R<sub>aw</sub> többszörös lineáris regressziójának végső modellje</i>			
log ADMA	0.22	(0.054, 0.383)	<b>0.010</b>
FEF25-75% %pred	-0.009	(-0.01, -0.006)	<b>&lt;0.001</b>
SGRQ aktivitás pontszám	0.009	(0.004, 0.014)	<b>&lt;0.001</b>
SGRQ összpontszám	-0.007	(-0.012, -0.001)	<b>0.019</b>

6. táblázat: A log R<sub>aw</sub> és log ADMA szignifikáns (és két közel szignifikáns) prediktora egyszerű lineáris regresszióval meghatározva, valamint a R<sub>aw</sub> többszörös lineáris regressziós végső modellje a teljes asztmás betegcsoportban (n=154). A regressziós koefficiensek a 95%-os konfidencia intervallumukkal kerültek bemutatásra. A többszörös lineáris regressziós elemzés kiindulási modelljeként az egyszerű regresszió során szignifikáns prediktornak mutató paraméterek, valamint az *a priori* paraméterek szolgálták A táblázat alján a többszörös regressziós elemzés végső modelljének elemei láthatók.

### 5.3 COPD tanulmány

A kohorsz 74 COPD diagnózisú eleme került bevonásra a tanulmányba. Közülük két páciens nem részesült gyógyszeres terápiában, a vizsgálat időpontjában. Összesen 64 beteg kapott inhalációs antikolinerg szert monoterápiában (n=63) vagy hosszú hatású  $\beta$ -agonista szerrel kombinációban (n=6), emellett 60 páciens részesült kortikoszteroid-hosszú hatású  $\beta$ -agonista kombinált terápiában. 24 páciens rövid hatású  $\beta$ -agonista szert kapott, míg hárman hosszú hatású  $\beta$ -agonistát kaptak monoterápiában. Ezeken túlmenően a *per os* metilxantin (n=30) és leukotrién receptor antagonistá montelukast (n=3) terápia említendő.

#### 5.3.1 Az alacsonyabb és magasabb légúti áramlási ellenállású csoportok összehasonlítása

A  $R_{aw}$  medián értékével (mint határértékkel) dichotomizált, alacsonyabb és magas légúti áramlási ellenállású betegcsoportok a legtöbb vizsgált paraméter viszonylatában homogének voltak (7. táblázat). A betegek életkora mérsékelten, míg a doboz-évek száma (annak ellenére, hogy a dohányzás gyakorisága nem tért el a két csoport között), és az SGRQ minden komponens pontszáma és összpontszáma lényegesen eltért a két réteg viszonylatában, a magas  $R_{aw}$  értékű csoportban magasabb értékeket mutatva. A testmagasság enyhén, de statisztikailag szignifikánsan alacsonyabb volt a magasabb  $R_{aw}$  értéket mutató csoportban. Bár a CRP értékek két csoport közötti eltérése éppen szignifikancia határon volt ( $p=0,052$ , az emelkedett CRP értékek szignifikánsan gyakoribbak voltak a magasabb légúti áramlási ellenállású csoportban (7. táblázat).



<i>Paraméter</i>	<i>Teljes populáció</i>	<i>Alacsonyabb R<sub>aw</sub></i>	<i>Magasabb R<sub>aw</sub></i>	<i>p-érték</i>
<b>Életkor (év)</b>	62.15±9.70	59.53±7.92	64.38±10.58	<b>0.031</b>
Nem (n/f)	27/47	12/22	15/25	0.844
Dohányzás (n/i)	49/25	23/11	26/14	0.810
<b>Dohányzás (doboz-évek)</b>	20.00 (5.25-33.75)	17.50 (2.25-25.00)	26.68 (8.38-39.40)	<b>0.035</b>
<b>Dohányzás (évek)</b>	10.00 (0.00-33.00)	0.50 (0.00-20.00)	20.00 (0.00-40.00)	<b>0.031</b>
Diabétesz (n/i)	61/13	29/5	32/8	0.551
Diszlipidémia (n/i)	48/26	23/11	25/15	0.644
RR szisztolés (mmHg)	136.49±15.85	134.18±14.65	138.45±16.74	0.251
RR diasztolés (mmHg)	82.38±14.06	80.85±15.24	83.68±13.04	0.393
Hipertónia (n/i)	31/43	18/16	13/27	0.076
AMI (n/i)	65/9	29/5	36/4	0.537
Stroke (n/i)	73/1	33/1	40/0	0.275
Betegség időtartama (év)	5.00 (3.00-10.00)	5.50 (3.00-10.00)	5.00 (3.00-9.00)	0.798
Derékbőség (cm)	101.99±14.31	102.25±14.01	101.78±14.74	0.888
Testtömeg (kg)	79.71±17.12	81.55±17.44	78.15±16.92	0.406
<b>Testmagasság (m)</b>	1.68±0.094	1.71±0.086	1.65±0.091	<b>0.003</b>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	28.19±5.09	27.61±4.94	28.68±5.23	0.380
ADMA (μmol/l)	0.58 (0.44-0.67)	0.58 (0.43-0.64)	0.58 (0.46-0.70)	0.354
SDMA (μmol/l)	0.48 (0.42-0.58)	0.49 (0.42-0.57)	0.48 (0.41-0.62)	0.425
L-arginin (μmol/l)	104.20±28.81	107.70±28.71	101.23±28.92	0.339
B12 (pmol/l)	302.40 (237.70-348.50)	308.00 (243.10-347.30)	288.75 (224.35-348.65)	0.498
Folsav (nmol/l)	17.85 (13.74-23.47)	18.49 (14.91-23.86)	16.92 (12.71-22.84)	0.293
Urea (mmol/l)	5.31±1.37	5.37±1.35	5.26±1.40	0.731
Kreatinin (μmol/l)	71.00 (61.00-81.00)	70.50 (58.00-90.00)	73.50 (61.00-79.00)	0.576
GFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	91.00 (80.00-91.00)	88.50 (80.00-91.00)	91.00 (80.50-91.00)	0.677
GOT (U/l)	19.50 (15.00-23.00)	20.50 (16.00-23.00)	19.00 (14.00-23.00)	0.254
GPT (U/l)	18.00 (14.00-24.00)	20.00 (13.00-26.00)	18.00 (15.00-24.00)	0.490
γGT (U/l)	32.50 (20.00-49.00)	31.00 (20.00-49.00)	33.00 (19.50-47.00)	0.991
CK (U/l)	101.00 (74.00-139.00)	106.00 (74.00-165.00)	99.00 (76.00-135.50)	0.591
LDH (U/l)	208.62±34.98	204.15±36.82	212.43±33.32	0.314
Glükóz (mmol/l)	5.00 (4.20-5.80)	5.00 (4.00-5.60)	5.10 (4.60-6.25)	0.462
Inzulin (mU/l)	8.95 (5.55-16.50)	10.15 (5.65-15.35)	7.80 (5.25-19.85)	0.892
HgA1C (%)	5.70 (5.50-6.10)	5.60 (5.40-6.10)	5.80 (5.50-6.20)	0.295
HOMA	2.14 (1.14-4.67)	2.14 (1.23-3.64)	2.15 (1.05-5.21)	0.910
Koleszterin (mmol/l)	5.30 (4.00-6.30)	5.60 (5.00-6.30)	5.00 (4.00-6.15)	0.159
LDL-C (mmol/l)	3.10 (2.60-3.70)	3.20 (2.60-3.80)	2.85 (2.4-3.65)	0.116
HDL-C (mmol/l)	1.40 (1.20-1.80)	1.45 (1.20-1.80)	1.40 (1.10-1.80)	0.752
Apo-A1 (g/l)	1.55 (1.38-1.80)	1.61 (1.47-1.76)	1.52 (1.33-1.85)	0.365
ApoB (g/l)	1.00 (0.85-1.28)	1.00 (0.91-1.28)	0.95 (0.83-1.19)	0.219
Lp(a) (mg/l)	129.50 (58.00-455.00)	136.00 (38.00-568.00)	106.50 (59.50-363.50)	0.991
Triglicerid (mmol/l)	1.35 (1.00-2.00)	1.70 (1.00-2.00)	1.20 (0.90-1.85)	0.256
CRP (mg/l)	2.00 (1.210-4.00)	1.85 (1.210-3.10)	2.80 (1.25-6.65)	0.052
<b>CRP (normál/magas)</b>	58/16	31/3	27/13	<b>0.014</b>
Fibrinogén (g/l)	3.67 (3.25-4.00)	3.56 (3.12-4.03)	3.77 (3.35-4.00)	0.282
Prokalcitonin (μg/l)	0.00 (0.00-0.00)	0.00 (0.00-0.00)	0.00 (0.00-0.00)	0.278
sTSH (mU/l)	1.26 (0.84-1.93)	1.30 (0.76-2.16)	1.21 (0.84-1.67)	0.558
<b>SGRQ tünetek pontszám</b>	32.66 (13.64-58.28)	25.55 (8.28-36.98)	40.46 (21.54-68.19)	<b>0.004</b>
<b>SGRQ impakt pontszám</b>	29.64 (15.44-49.79)	20.85 (11.00-38.70)	36.58 (22.20-52.67)	<b>0.011</b>
<b>SGRQ aktivitás pontszám</b>	57.32 (47.24-72.08)	53.25 (23.41-66.09)	65.39 (53.57-72.91)	<b>0.008</b>
<b>SGRQ összpontszám</b>	41.08±20.99	33.82±21.46	47.07±18.81	<b>0.006</b>

7. táblázat. A COPD betegcsoport (n=74), illetve annak alacsonyabb (n=34) és magasabb (n=40) légúti áramlási ellenállású csoportjainak jellemzői. A páciensek a  $R_{aw}$  medián értékével meghatározott határérték alapján kerültek dichotomizálásra ( $R_{aw} < 0,27$  kPa·s/l, illetve  $\geq 0,27$  kPa·s/L). Az alacsonyabb és magasabb  $R_{aw}$  értékű csoportok viszonylatában szignifikánsan eltérő paraméterek félkövé, míg az SGRQ paraméterek esetén a klinikailag is jelentőségteljesnek bizonyuló különbségeket dőlt betűvel jeleztük.

### **5.3.2 A jó- és rossz tünet-kontroll betegcsoportok összehasonlítása**

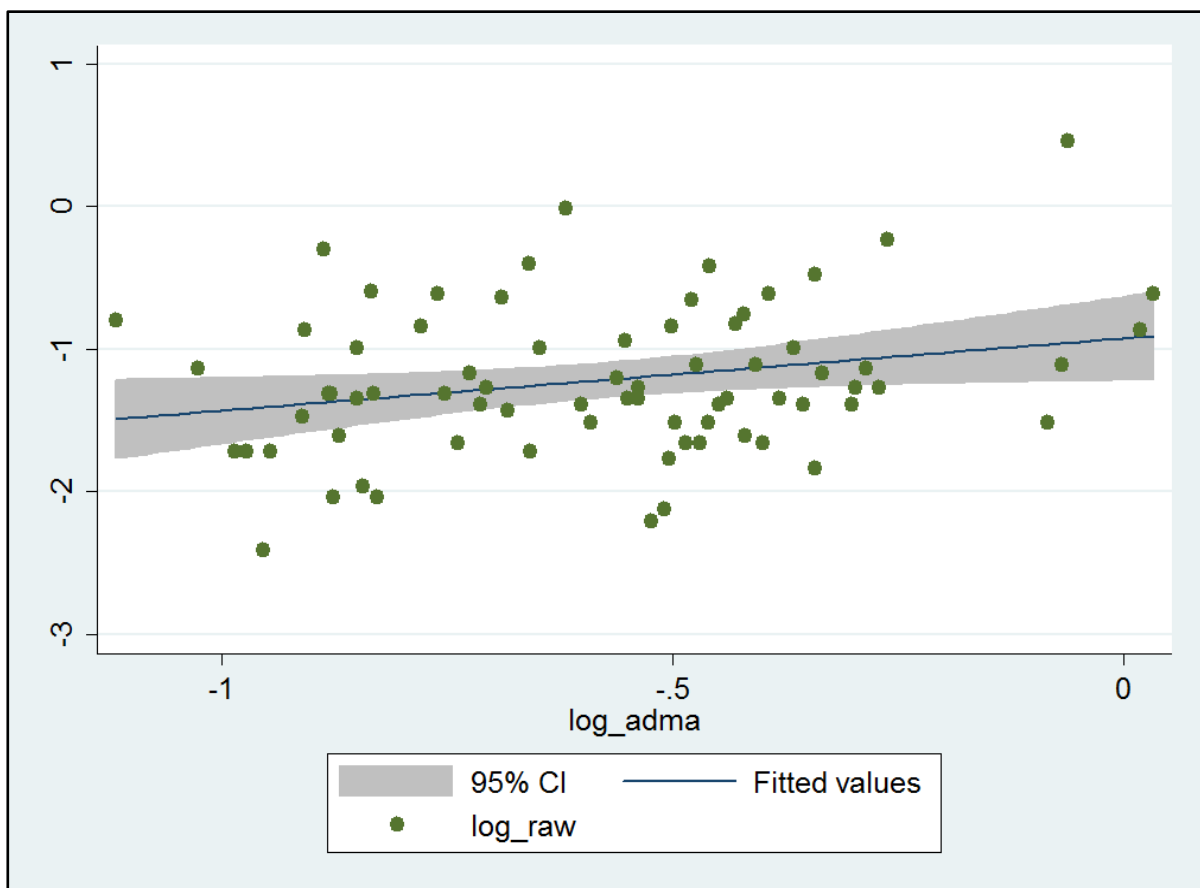
A betegek demográfiai és antropometriai paraméterei nem különböztek szignifikánsan a tünet-kontroll szerint dichotomizált csoportok között (8. táblázat). A pletizmográfias vizsgálat azon paraméterei, melyek az áramlást, valamint a légúti konduktanciát írják le, szignifikáns különbséget mutattak a két csoport között, valamint a TGV %pred, RV %pred, RV/TLC %pred és a  $R_{aw}$  is szignifikánsan magasabb volt a rossz tünet-kontroll betegcsoportban. Az SGRQ mindhárom komponens pontszáma, illetve az összpontszám is szignifikánsan magasabb volt a rossz tünet-kontroll csoportban, mely egyértelműen az ebbe a rétegbe tartozó betegek rosszabb életminőségére utal (8. táblázat).

<i>Paraméter</i>	<i>Teljes populáció</i>	<i>Jó tünet-kontroll</i>	<i>Rossz tünet-kontroll</i>	<i>p-érték</i>
<b><i>Demográfiai és antropometriai paraméterek</i></b>				
Életkor (év)	62.01±9.70	61.32±8.35	62.72±10.99	0.542
Nem (n/f)	27/46	13/24	14/22	0.740
Testmagasság (m)	1.68±0.09	1.70±0.10	1.66±0.08	0.083
Testtömeg (kg)	79.61±17.22	82.36±18.65	76.77±15.37	0.173
<b><i>Légzésfunkciós paraméterek</i></b>				
<b>FVC% pred</b>	82.30±17.44	87.46±16.58	77.00±16.90	<b>0.009</b>
IVC% pred	87.00 (74.00-100.00)	89.00 (78.00-100.00)	85.00 (70.00-99.50)	0.166
TLC% pred	113.00 (103.00-127.00)	108.00 (101.00-120.00)	121.50 (106.50-130.00)	0.086
<b>TGV% pred</b>	140.00 (123.00-167.00)	135.00 (116.00-155.00)	157.00 (126.50-178.50)	<b>0.025</b>
<b>RV% pred</b>	172.03±47.23	157.14±35.80	187.33±52.87	<b>0.006</b>
<b>RV/TLC% pred</b>	140.47±20.99	132.00±16.71	149.17±21.57	<b>&lt;0.001</b>
<b>FEV1% pred</b>	66.08±20.04	74.19±16.98	57.75±19.71	<b>&lt;0.001</b>
<b>PEF% pred</b>	52.00 (39.00-73.00)	58.00 (50.00-77.00)	41.50 (29.50-59.50)	<b>&lt;0.001</b>
<b>FEF25-75% % pred</b>	35.00 (24.00-53.00)	42.00 (29.00-60.00)	28.50 (18.50-46.50)	<b>0.006</b>
<b>MEF50% % pred</b>	37.00 (20.00-58.00)	43.00 (32.00-63.00)	24.50 (16.00-49.00)	<b>&lt;0.001</b>
<b>FEV1/IVC% pred</b>	76.11±16.36	82.19±13.36	69.86±16.96	<b>&lt;0.001</b>
<b>FEV1/FVC</b>	0.65 (0.54-0.74)	0.68 (0.64-0.76)	0.59 (0.48-0.71)	<b>0.007</b>
<b>R<sub>aw</sub> (kPa·s/l)</b>	0.27 (0.22-0.42)	0.25 (0.20-0.31)	0.33 (0.26-0.53)	<b>0.008</b>
<b>G<sub>aw</sub> (l/kPa·s)</b>	3.67 (2.36-4.64)	3.96 (3.27-4.96)	3.07 (1.90-3.86)	<b>0.007</b>
<b><i>Életminőség (SGRQ)</i></b>				
<b>Tünetek pontszám</b>	32.66 (13.64-58.28)	13.64 (5.20-25.55)	60.02 (43.24-76.70)	<b>&lt;0.001</b>
<b>Impakt pontszám</b>	29.66 (17.09-49.79)	18.51 (10.10-29.66)	47.01 (31.34-54.40)	<b>&lt;0.001</b>
<b>Aktivítás pontszám</b>	59.45 (47.63-72.08)	52.14 (24.62-59.45)	66.41 (57.32-82.57)	<b>&lt;0.001</b>
<b>Összpontszám</b>	41.08±20.99	27.61±15.94	54.93±15.98	<b>&lt;0.001</b>

8. táblázat: A teljes COPD-s betegpopuláció (n=73, egy páciens esetén hiányos SGRQ adatok végett), illetve a jó- (n=37) és rossz tünet-kontroll (n=36) csoportok főbb jellemzői. A dichotomizálás határértéke az SGRQ tünetek komponens pontszámának teljes COPD betegcsoport esetén kapott medián értéke volt. A tünet-kontroll szerinti csoportok viszonylatában szignifikáns különbséget mutató paramétereket félkövéren, míg az SGRQ paraméterek esetén a klinikailag is jelentőségteljesnek bizonyuló különbségeket dőlt betűvel jeleztük.

### 5.3.3 A légúti áramlási ellenállás es a szérum ADMA-szint szignifikáns prediktorai

A szérum ADMA szint mediánja a teljes COPD-s betegcsoportban 0,58 (0,44-0,67)  $\mu\text{mol/l}$  volt, az alacsonyabb  $R_{aw}$  értékű csoportban 0,58 (0,43-0,64)  $\mu\text{mol/l}$ , míg a magasabb  $R_{aw}$  értékű rétegben 0,58 (0,46-0,70)  $\mu\text{mol/l}$ . A (log)  $R_{aw}$  és (log) ADMA közötti lineáris összefüggés vizsgálata során szignifikáns pozitív összefüggést tapasztaltunk a teljes populációban (Pearson korrelációs koefficiens: 0,25,  $p=0,03$ ) (17. ábra), illetve a rossz tünet-kontroll csoportban (0,35,  $p=0,04$ ), azonban a jó tünet-kontroll csoportban nem volt szignifikáns az összefüggés (0,08,  $p=0,61$ ).



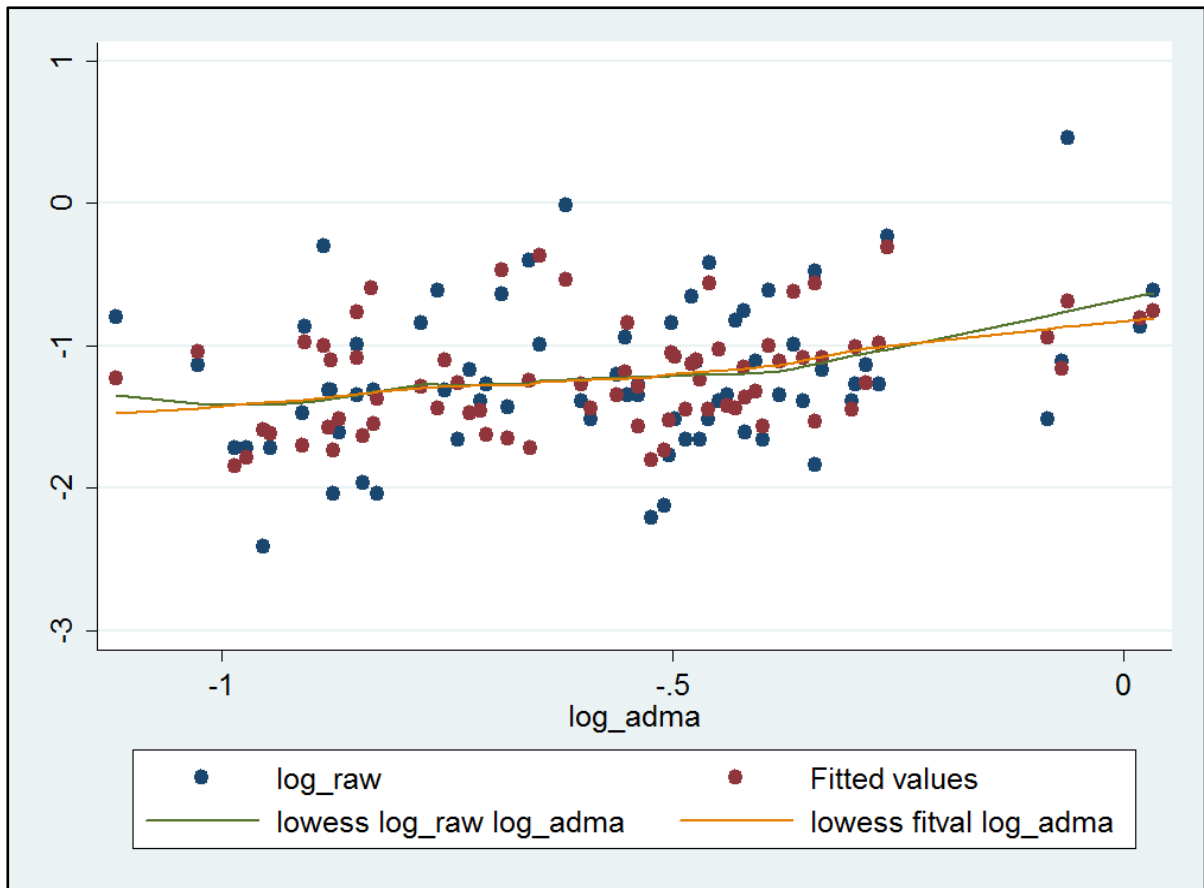
17. ábra: A légúti áramlási ellenállás ( $\log R_{aw}$ ) és a szérum aszimmetrikus dimetilarginin szintek ( $\log$  ADMA) korrelációja a teljes COPD-s betegpopulációban ( $n=74$ ). Az ábrán a kék vonal a  $\log R_{aw}$   $\log$  ADMA adatpárok illesztett értékeit mutatja, míg a szürke zóna a 95%-os konfidencia intervallumot.

A korreláció vizsgálatának eredményeivel összhangban, az egyszerű lineáris regresszió, melyet a  $R_{aw}$  és az ADMA szignifikáns determinánsainak meghatározása céljából végeztünk igazolta, hogy a log  $R_{aw}$  és log ADMA egymásnak kölcsönösen prediktorai (9. táblázat). A pozitív összefüggés a többszörös lineáris regressziós elemzést követően (mely során az ADMA és a  $R_{aw}$  szignifikáns prediktoraival és egyéb *a priori* paraméterekkel korrigáltunk) is megmaradt ( $\beta$ : 0,42; CI: 0,06, 0,77;  $p=0,022$ ) (9. táblázat). Ezen összefüggés kifejezettebb volt a rossz tünet-kontroll betegcsoportban ( $\beta$ : 0,84; CI: 0,25, 1,43;  $p=0,007$ ), míg a jó tünet-kontroll csoportban gyenge, nem szignifikáns összefüggés volt kimutatható ( $\beta$ : -0,17; CI: -0,61, 0,27;  $p=0,45$ ). A Cook-Weisberg teszt nem mutatott heteroszkedaszticitást sem a teljes modellben, sem az egyes rétegekben (teljes populáció:  $p=0,18$ ; rossz tünet-kontroll:  $p=0,74$ ; jó tünet-kontroll:  $p=0,39$ ). Ezen kívül mindhárom modell jó illeszkedést mutatott mind Ramsey teszttel (teljes populáció:  $p=0,75$ ; rossz tünet-kontroll:  $p=0,15$ ; jó tünet-kontroll:  $p=0,67$ ) mind pedig helyileg súlyozott szórásgörbe simítással (18. ábra).

A  $R_{aw}$  többszörös lineáris regressziójának végső modellje azt mutatja, hogy az emelkedett CRP értéknek fontos szerepe lehet COPD-ben, illetve az az emelkedett CPR érték magasabb  $R_{aw}$  értékekkel jár. A (log) FEF25-75% %pred értéke negatív összefüggést mutatott a  $R_{aw}$  értékkel a végső modellben ( $\beta$ :-0,33; CI:-0,51, -0,15;  $p<0,001$ ), mely a rezisztencia kialakulásával kapcsolatos kislégúti érintettségre enged következtetni. Ezekből is következik, hogy a (log)  $G_{aw}$  értéke ( $1/R_{aw}$ ) erősen szignifikáns összefüggésben állt a (log) FEF25-75% %pred értékével mind a teljes populáció (Pearson korrelációs koefficiens: 0,53;  $p<0,001$ ), mind a rossz tünet-kontroll (0,40;  $p=0,017$ ) mind pedig a jó tünet-kontroll (0,57;  $p<0,001$ ) rétegek esetén.

Ezeken kívül elmondhatjuk, hogy mindhárom SGRQ komponens pontszám, mind az összpontszám szignifikáns és klinikailag jelentős eltérést mutatott mind az alacsonyabb-magasabb  $R_{aw}$  értékű rétegek, mind pedig a rossz-jó tünet-kontroll rétegek összehasonlításában (8. táblázat), illetve az SGRQ összpontszám szignifikáns negatív

összefüggést mutatott a FEV1 %pred értékkel (Pearson korrelációs koefficiens: -0,43;  $p < 0,001$ ).



18. ábra: A  $\log R_{aw}$  és  $\log ADMA$  korrelációs modellje. A kék pontok az eredeti adatpárokat jelölik, míg a bordó pontok a többszörös lineáris regresszió eredményeként kapott illesztett adatpárokat. A zöld vonal az eredeti adatpárok, míg a sárga az illesztett adatpárok helyileg súlyozott szórásgörbe simítással illesztett görbéit mutatja.

<i>Paraméter</i>	<i>Koefficiens (95% CI)</i>	<i>p-érték</i>
<b><i>A (log) ADMA egyszerű lineáris regressziója</i></b>		
Dohányzás (n/i)	0.13 (0.006, 0.26)	<b>0.039</b>
log SDMA (µmol/l)	1.28 (0.93, 1.63)	<b>&lt;0.001</b>
Fibrinogén (g/l)	0.11 (0.034, 0.19)	<b>0.006</b>
log R <sub>aw</sub>	0.13 (0.012, 0.24)	<b>0.030</b>
<b><i>A (log) R<sub>aw</sub> egyszerű lineáris regressziója</i></b>		
Életkor (év)	0.019 (0.0076, 0.031)	<b>0.002</b>
testmagasság (m)	-1.72 (-2.97, -0.47)	<b>0.008</b>
Húgysav (µmol/l)	0.0017 (0.00050, 0.0029)	<b>0.006</b>
Fibrinogén (g/l)	0.18 (0.014, 0.34)	<b>0.034</b>
CRP (normál/magas)	0.61 (0.35, 0.87)	<b>&lt;0.001</b>
log ADMA (µmol/l)	0.51 (0.049, 0.96)	<b>0.030</b>
SDMA (µmol/l)	0.94 (0.032, 1.85)	<b>0.043</b>
FVC (l)	-0.32 (-0.44, -0.19)	<b>&lt;0.001</b>
FVC %pred	-0.0087 (-0.015, -0.0020)	<b>0.012</b>
FEV1 (l)	-0.42 (-0.56, -0.28)	<b>&lt;0.001</b>
FEV1 %pred	-0.011 (-0.016, -0.0051)	<b>&lt;0.001</b>
FEV1/FVC	-0.015 (-0.024, -0.0059)	<b>0.002</b>
FEF25-75% (l/s)	-0.38 (-0.50, -0.25)	<b>&lt;0.001</b>
log FEF25-75% %pred	-0.49 (-0.68, -0.31)	<b>&lt;0.001</b>
RV/TLC%	0.024 (0.013, 0.035)	<b>&lt;0.001</b>
RV/TLC %pred	0.0080 (0.0025, 0.013)	<b>0.005</b>
IC/TLC	-2.22 (-3.45, -0.98)	<b>0.001</b>
Kortikoszteroid szedése (n/i)	0.31 (0.023, 0.60)	<b>0.035</b>
SGRQ tünetek pontszám	0.0042 (-0.000083, 0.0086)	0.054
SGRQ aktivitás pontszám	0.0063 (0.0014, 0.011)	<b>0.012</b>
SGRQ impakt pontszám	0.0055 (-0.00023, 0.011)	0.060
SGRQ összpontszám	0.0060 (0.00033, 0.012)	<b>0.038</b>
<b><i>A (log) R<sub>aw</sub> többszörös lineáris regressziójának végső modellje</i></b>		
log ADMA	0.42 (0.062-0.771)	<b>0.022</b>
log FEF25-75% %pred	-0.336 (-0.517, -0.154)	<b>&lt;0.001</b>
CPR (normál/magas)	0.489 (0.266, 0.713)	<b>&lt;0.001</b>

9. táblázat: A log R<sub>aw</sub> és log ADMA szignifikáns (és két közel szignifikáns) prediktorai egyszerű lineáris regresszióval meghatározva, valamint a R<sub>aw</sub> többszörös lineáris regressziós végső modellje a teljes COPD betegcsoportban (n=74). A regressziós koefficienssek a 95%-os konfidencia intervallumukkal kerültek bemutatásra. A többszörös lineáris regressziós elemzés kiindulási modelljeként az egyszerű regresszió során szignifikáns prediktornak mutakozó paraméterek, valamint az *a priori* paraméterek szolgáltak. A táblázat alsó részében a többszörös regressziós elemzés végső modelljének elemei láthatók

## 6. Megbeszélés

### 6.1 Asztma tanulmány

Az asztmás betegekkel foglalkozó tanulmányunk fő megállapítása a szérumban lévő ADMA szint szignifikáns pozitív korrelációja a ( $R_{aw}$  paraméterrel leírt) légúti áramlási korlátozottsággal a kontroll kezelésben részesülő felnőtt korú asztmás betegcsoportban (többségében inhalációs kortikoszteroiddal kezelt páciensek), mely összefüggés a lehetséges zavaró tényezőkkel történt korrekciót követően is szignifikáns maradt. Ezenkívül a pozitív összefüggés kifejezettebb volt, ha az elemzéseinket kizárólag a magasabb szintű asztma-kontroll betegcsoportra korlátoztuk.

A páciensek kórképpel összefüggő gyulladásos státuszával kapcsolatos eredményeink alapján az azt kvantifikáló általános markerek (CRP, prokalcitonin, fibrinogén) szintje a klinikailag normál tartományban volt, illetve nem mutattak összefüggést a légúti áramlási korlátozottságot leíró  $R_{aw}$  értékével. A szisztémás gyulladás hiánya feltehetően annak tudható be, hogy a páciensek túlnyomó többsége a vizsgálat időpontjában asztma-kontroll terápiában részesült, melynek az alappillére az inhalációs kortikoszteroidok alkalmazása volt (n=146, 94%).

A részletezett ismérveknek számos, az L-arginin-NO homeosztázist érintő következménnyel bírhatnak, különösen az ADMA és a NOS különböző izoformái közötti kölcsönhatások viszonylatában. Korábbi kutatások eredményeként beszámoltak arról, hogy a kortikoszteroidok alkalmazása még alacsony dózisok esetén is gátolja az NF- $\kappa$ B aktivációját, így a következményes iNOS termelődést is (Haddad et al. 1995), emellett a kortikoszteroidok az iNOS transzkripció indukálásához szükséges szisztémás gyulladást is mérséklék (Ricciardolo et al. 2006). Ezeket a hatásokat összevetve azzal a megfigyeléssel, miszerint az ADMA leginkább a konstitutív NOS izoformákat gátolja (Wells et al. 2007) feltételezzük, hogy az általunk vizsgált asztmás betegcsoportban az iNOS termelődés nem, vagy csak



minimális mértékben volt indukált, és az ADMA iNOS gátló hatása elhanyagolható. Ennek értelmében az ADMA potenciális jótékony hatása (melyet az iNOS gátlása révén fejtené ki) elhanyagolható, következésképpen úgy véljük, hogy az általunk vizsgált kohorszban az ADMA NOS gátlása szempontjából döntően a konstitutív formák érintettek. Ebben az esetben az emelkedett ADMA-szint feltehetően káros hatású azáltal, hogy csökkenti a konstitutív NOS izoformák által termelt NO mennyiségét, illetve az enzim szétkapcsolása révén fokozott oxidatív és nitrozatív stresszhez vezet a szuperoxid és peroxinitrit termelés fokozása által (Wells et al. 2007). Az ADMA argináz aktivitást fokozó hatása révén fokozott kollagén termeléshez vezethet (Kinker et al. 2014), mely a tüdőben reverzibilis fibrózist okozva szintén hozzájárulhat az emelkedett  $R_{aw}$  értékek kialakulásához (7. ábra).

Ezen elképzelést tovább erősíti a  $R_{aw}$  és ADMA szintek között a rossz tünet-kontroll páciensek rétegében fennálló gyengébb kapcsolat (melyet a regressziós koefficiens alacsonyabb értéke és a szignifikancia hiánya is mutat). Figyelembe véve azt a tényt, hogy a pácienseknél jelentkező zihálás a légúti gyulladás meglétének feltételezhető jele (függetlenül az alkalmazott gyógyszeres terápiától), az iNOS indukciója ezen betegekben valószínűleg fennáll. Ezen esetekben az iNOS ADMA általi gátlása ellensúlyozhatja annak káros hatásait, ami a  $R_{aw}$  értékének gyengébb növekedésében is megnyilvánulhat (rossz tünet-kontroll csoport).

Vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy a dinamikus légzésfunkciós paraméterek (a  $R_{aw}$  értékkel ellentétben) a tünet-kontroll rétegek szerinti összehasonlítás esetében szignifikánsan eltértek. Ez a jelenség feltehetően visszavezethető arra, hogy e paraméterek a légúti ellenálláson kívül a légzési munkáról is információt hordoznak. Ez utóbbi paramétert befolyásolja a tüdőszövet elaszticitása, a légzési izmok ereje, valamint a mellkas merevsége is. Valószínű, hogy azon páciensek, akik a vizsgálatot megelőző 4 hétben zihálásról, vagy egyéb légzési nehézségről számoltak be, rosszabb általános fizikai állapotúak, melyet a

klínikailag is jelentős SGRQ tünetek-, aktivitás- és impakt komponens pontszámok és az összpontszám is jól szemléltet. Ezek alapján valószínűnek látszik, hogy az áramlási paraméterek esetén tapasztalt szignifikáns eltérések az általános fizikai állapot és következményes izomerő különbségeinek tudhatók be. Ezen különbségek a  $R_{aw}$  (és  $G_{aw}$ ) esetén nem jelennek meg, minthogy e paramétereket nem befolyásolja a légzési erő kifejtés.

Kutatócsoportunk korábbi tevékenységének eredményeként feltételeztük, hogy az ADMA normál koncentrációtartományban ( $0,35-1,00 \mu\text{mol/l}$ ) protektív ágensként viselkedik atheroszklerózissal szemben (Zsuga et al. 2007a), azonban ebben az esetben az iNOS fokozott indukciója bizonyított, és az ADMA iNOS izoformával szemben tapasztalt alacsonyabb  $EC_{50}$  értékének betudhatóan a protektív hatás érvényesül (Ueda et al. 2003; Tsikas et al. 2000). Bár az ADMA koncentrációja a jelenlegi tanulmányunkban is a korábban meghatározott normál tartományba esett, az ADMA előnyös hatása mégsem volt megfigyelhető, feltehetően amiatt, hogy a kortikoszteroid terápiának köszönhetően az iNOS termelődése minimális volt, így az ADMA iNOS gátló hatása marginális.

Az irodalomban néhány adat fellelhető a gyermek, illetve felnőtt asztmás populáció szisztémás ADMA szintjéről, melyek összevethetőek az általunk kapott eredményekkel. Egy nemrégiben publikált tanulmányban  $0,37 \mu\text{mol/l}$  (IQR:  $0,29; 0,59$ ), illetve  $0,48 \mu\text{mol/l}$  (IQR:  $0,35; 0,70$ ) szisztémás ADMA szintről számoltak be korai- illetve késői megjelenési formájú asztmás betegekben (Holguin et al. 2013). Egy gyerekkori asztmával foglalkozó tanulmányban  $0,53 \mu\text{mol/l}$  (IQR:  $0,47; 0,60$ ) szérumszintről számoltak be (Carraro et al. 2013), míg egy másik csoport  $0,58 \pm 0,05 \mu\text{mol/l}$  értéket tapasztalt (Riccioni et al. 2012). Egy esetben beszámoltak jelentősen magasabb szisztémás ADMA-szintről gyerekkori asztmában ( $0,92 \pm 0,20 \mu\text{mol/l}$ ), bár ebben a tanulmányban a mért érték nem tért el szignifikánsan az egészséges kontrolcsoportban tapasztaltaktól ( $0,91 \pm 0,23 \mu\text{mol/l}$ ,  $p=0,88$ ) (Lau et al. 2013).

A  $R_{aw}$  és az ADMA kapcsolatát leíró többszörös lineáris regressziós elemzésünk végső modellje magába foglalta a FEF25-75% %pred (6. táblázat) paramétert. Ez összhangban áll azzal a megfigyeléssel, hogy asztmában a kislégutak, elsősorban a 2 mm belső átmérőnél kisebb lumenű régió (Baraldo et al. 2003) diszfunkciója lép fel (Usmani 2015). Ismert továbbá az is, hogy a légutak ellenállásához a kislégutak hozzájárulása a legjelentősebb (Yanai et al. 1992). Ezekkel a megfigyelésekkel összhangban, a vizsgálatunkban a FEF25-75% %pred érték erős negatív korrelációt mutatott a  $R_{aw}$  értékével (ebből következően a  $G_{aw}$  értékével, mely a  $R_{aw}$  reciproka, szignifikáns pozitív korreláció volt tapasztalható), mely a fent említettek értelmében a kislégutak jelentős érintettségének bizonyítéka. A tény, hogy ez az erős korreláció a páciensek asztma-kontroll szintjétől függetlenül megfigyelhető volt felhívja a figyelmet arra, hogy a disztális légutak (a kislégutak részeként) inhalációs eszközökkel történő célzott terápiája máig komoly kihívás (Usmani 2015). Az eredményeink alapján tapasztalt korreláció a magasabb  $R_{aw}$  (mint a légúti áramlási ellenállás mérőszáma) és a csökkent FEF25-75% %pred (mint az asztmában fellépő gyulladás és obstrukció kislégúti érintettségére utaló indikátor) értékek között azt a tényt erősíti, hogy a klinikai gyakorlatban igen nagy hangsúlyt kell fektetni az inhalációs készítmények optimális alkalmazására és formulálására, mellyel a disztális légutakból eredő légúti áramlási korlátozottság is megfelelően feloldható.

A  $R_{aw}$  és ADMA közötti kapcsolatot jellemző modellünk harmadik szignifikáns paramétercsoportját az asztmás páciensek életminőségét leíró mutatók adják. Korábbi tanulmányokban publikáltakkal összhangban (Barley et al. 1999) az általunk vizsgált csoportban szignifikáns korrelációt tapasztaltunk az SGRQ összpontszám és a FEV1 %pred értékek között. Ezen kívül az SGRQ aktivitás komponens pontszámok  $R_{aw}$  értékekkel tapasztalt szignifikáns pozitív korrelációja arra enged következtetni, hogy a légúti áramlási korlátozottság szubjektív életminőséget befolyásoló hatásában a fizikai aktivitásra gyakorolt

negatív hatás hangsúlyos. Az alacsonyabb és magasabb  $R_{aw}$  értékeket mutató rétegek (4. táblázat) összehasonlításában az SGRQ mindhárom komponens pontszámában és az összpontszámában is klinikailag jelentőségteljes (4 pontot meghaladó) különbséget tapasztaltunk, mely tovább hangsúlyozza a légúti áramlási ellenállás növekedésének szubjektív életminőségre gyakorolt káros hatását.

## 6.2 COPD tanulmány

A COPD-vel kapcsolatos tanulmányunk fő eredménye annak igazolása, hogy a páciensek szérum ADMA szintje és a  $R_{aw}$  segítségével kvantifikált légúti áramlási korlátozottságának szintje szignifikáns pozitív korrelációt mutat. A klinikailag diverznek tekinthető populációban fellépő számtalan zavaró paraméter kiküszöbölése végett többszörös lineáris regressziós modellt alkalmazunk az összehasonlításra, melynek eredményeként az összefüggés továbbra is szignifikáns maradt. A szérum ADMA szintjén túlmenően két további – a légúti áramlási ellenállást befolyásoló- paramétert azonosítottunk; a FEF25-75%<sub>pred</sub> értéket, mely a kislégutak diszfunkcióját jellemző dinamikus légzésfunkciós paraméter (Contoli et al. 2010), valamint a CRP-t.

COPD-ben a kislégutak érintettsége központi jelenség, melynek megértése igen fontos a betegség progressziójának szempontjából. Az itt megjelenő, gyulladásos exudátum termelődését eredményező immunsejtes infiltráció a légutak falának átépülését (remodelling) okozza (Hogg et al. 2004). Ezzel összhangban az általunk kapott eredmények is a kislégutak erőteljes szerepét tükrözik a légúti áramlási korlátozottság kialakulása szempontjából, megerősítve az irodalomban fellelhető, erre vonatkozó adatokat melyek szintén a kislégutak kifejezett szerepét írják le (Sturton et al. 2008). A vizsgálatainkban a  $R_{aw}$  szignifikáns prediktorának bizonyuló CRP az alacsony fokú gyulladás stabil szisztémás biomarkere (Windgassen et al. 2015). A 4803 enyhe és középsúlyos COPD-s páciens bevonásával végzett

Lung Health Study vizsgálat elemzése során kimutatták, hogy a CRP szérumszintje a későbbi halálozás esélyének és a kardiovaszkuláris események kialakulási gyakoriságának szignifikáns prediktora, így a tradicionális, FEV1 és dohányzási szokásokon alapuló értékeléseken túl többletinformációt hordoz a CRP szint értékelése (Man et al. 2006).

Az általunk vizsgált COPD-s betegcsoportban az emelkedett CRP szint a  $R_{aw}$  szignifikáns prediktorának bizonyult a többszörös lineáris regressziós elemzést követően is, mely elmondható mind a jó- mind a rossz tünet-kontroll rétegekről is. Érdekes ezenkívül figyelembe venni, hogy az emelkedett CRP szint hatását nem befolyásolta a páciensek kortikoszteroid szedése (melyre utal az, hogy a kortikoszteroid szedés nem járult hozzá szignifikánsan a végső modellhez, így kiesett abból).

A végső modellünk további elemzése érdekében az adatokat a tünet-kontroll szintje szerint két rétegre osztottuk. Határértékként az SGRQ tünetek komponens pontszám medián értékét alkalmaztuk, mely pontszám a páciensek előző 4 hétben fellépő tüneteik meglétét és megélését kvantifikáló kérdések eredményeként jött létre. A kérdések a betegek esetleges zihálására, légszomjára, köpet termelődésére, valamint az exacerbációk meglétére vagy hiányára vonatkoznak. A  $\log R_{aw}$   $\log$  ADMA kapcsolata erősebbnek mutatkozott a rosszabb tünet-kontroll (tehát súlyosabb tüneteket mutató) betegcsoportban, míg a jó tünet-kontroll csoport esetén az összefüggés gyengébb (statisztikailag nem szignifikáns) volt. Ezenkívül – korábbi eredményekkel összhangban – az SGRQ összpontszám erős negatív korrelációt mutatott a FEV1 %pred értékével. A CRP mindkét rétegben szignifikáns prediktor maradt, míg a FEF25-75% %pred értéke csak a jó tünet-kontroll csoportban tartotta meg szignifikáns prediktor szerepét. A  $R_{aw}$  és ADMA közötti szignifikáns korrelációt, valamint az ADMA betegség súlyosságával fennálló összefüggését és  $R_{aw}$ -ra gyakorolt hatását figyelembe véve feltételezzük, hogy COPD-ben az ADMA hozzájárul a betegség progressiójához, az L-arginin argináz irányú söntjének fokozásával, a gyulladás által indukált iNOS

szétkapcsolásával, valamint a konstitutívan kifejeződő és aktív eNOS és nNOS kompetitív gátlásával és szétkapcsolásával. Ezen folyamatok eredményeként fokozott poliamin termelés léphet fel, mely a sejtproliferációt és a fibrózis kialakulását fokozza, valamint az argináz útvonal melléktermékeként keletkező spermin tovább fokozhatja a konstitutív NOS izoformák gátlását. A szétkapcsolt iNOS aktivitásának eredményeként fokozódhat a reaktív oxigén- és nitrogénradikálok termelődése, melynek következményeként fokozódhat a protein arginin metiltransferázok expressziója (PRMT, melyek a fehérjék arginin oldalláncainak metilációját végzik), illetve csökkenhet a dimetilarginin dimetilaminohidroláz (DDAH, ami az ADMA lebontásáért felelős) expressziója, az ADMA szint további emelkedését eredményezve. A konstitutív NOS izoformák kompetitív inhibíciója révén, az alacsonyabb fokú NO szintézis hozzájárul a csökkent mukociliáris tisztulás és baktericid aktivitás kialakulásához, valamint a fokozott simaizom sejt proliferációhoz, megnövekedett bronchiális tónushoz és a bronchiális hiperreaktivitás fokozódásához is (Aydin et al 2015; Maziak et al. 1998; Scott et al. 2014).

A COPD kontextusában eddig kevesen említik az L-arginin-ADMA tengely szerepét az irodalomban, ugyanakkor az általunk tapasztalt ADMA szintek (0,58  $\mu\text{mol/l}$ , IQR: 0,44-0,66  $\mu\text{mol/l}$ ) összevethetőek a mások által publikáltakkal. Egy nem régiben közölt, idős COPD-s betegeket érintő tanulmányban nem tapasztaltak szignifikáns ADMA-szint növekedést a betegcsoporthoz korban és nemben illesztett kontrollcsoporthoz viszonyítva 0,319 $\pm$ 2,87  $\mu\text{mol/l}$  COPD betegcsoport, valamint 0,318 $\pm$ 0,389  $\mu\text{mol/l}$  kontrollcsoport értékek mellett (Constanzo et al. 2016). Mások némileg magasabb szérumszintekről számoltak be: 0,70 $\pm$ 0,35  $\mu\text{mol/l}$  (Nural et al. 2013), 0,766 $\pm$ 0,01  $\mu\text{mol/l}$  (vs. 0,479 $\pm$ 0,006  $\mu\text{mol/l}$  illesztett kontroll csoportban) (Aydin et al. 2015), valamint 0,63 (IQR 0,57-0,72)  $\mu\text{mol/l}$  (vs. 0,41 (IQR: 0,38-0,46) illesztett kontrollcsoportban) (Ruzsics et al. 2016). Fontos azonban megemlíteni, hogy ezek az irodalomban is fellelhető szérumszintek a normálként definiált tartományba (0,4-1,0  $\mu\text{mol/l}$ ) esnek (Aydin et al. 2015; Constanzo et al.

2016; Ruzsics et al. 2016; Scott et al. 2014). Mindezekről függetlenül feltételezhetjük az ADMA központi szerepét a COPD patogenezisében, különösen ha figyelembe vesszük, hogy a szérumban mért ADMA szint lényegesen alacsonyabb lehet az intracellulárisan mérhetőnél, ugyanakkor az ADMA hatását elsősorban a sejteken belül fejt ki. Ezt a felvetést támasztja alá az is, hogy a szervezetben belül a tüdőben mérhető az egyik legmagasabb ADMA koncentráció, így a szisztémás ADMA szint csekély változása is utalhat jelentős tüdőbeli változásokra (Zakrzewicz et al. 2009), mely esetben az ADMA káros hatása érvényesülhet.

### 6.3 Összegzés

Az asztmás és COPD-s betegekkel kapcsolatos eredmények összevetéséből számos következtetést vonhatunk. Az asztma tanulmány elemszáma lényegesen magasabb volt, mint a COPD-s betegeket érintő, és bár a végső modell mindkét esetben az ADMA és  $R_{aw}$  közötti szignifikáns korrelációt igazolta, asztma esetén a korrelációs együttható értéke alacsonyabb volt ( $\beta$ : 0,22; CI: 0,054, 0,383;  $p=0,01$ ) mint COPD-ben ( $\beta$ : 0,42; CI: 0,06, 0,77;  $p=0,022$ ). Az asztmás páciensek esetén a végső modell nem foglalta magába a CRP-t, mint a gyulladás általános markerét. Ezen ismérvek látszólag alátámasztják azt a korábbi feltételezést, mely szerint a két krónikus gyulladásos betegségben a gyulladás természete eltérő, melyre a különböző citokin profil is utal (Chung 2001). Példának okáért a NF- $\kappa$ B, (ami egy kortikoszteroid terápiára érzékeny transzkripciós faktor (Ricciardolo et al. 2006)) fokozott aktivitása ismeretes asztmában (Chung 2001), míg COPD-ben szintén igazolt az expressziós profil megváltozása, azonban a kortikoszteroid terápiával szembeni rezisztenciája szintén feltételezett (Hart et al. 1998). Ezzel összhangban a kortikoszteroid terápiában részesülő asztmás betegcsoportban nem voltak kimutathatók a szisztémás gyulladásra utaló jelek, a CRP, fibrinogén és prokalcitonin szintek a klinikailag normál tartományba estek. Ezen jelenség magyarázataként feltételezhetjük, hogy a NF- $\kappa$ B expresszió kortikoszteroid terápia

általi gátlása elnyomta az iNOS indukcióját és a következményes peroxinitrit és egyéb reaktív oxigéngyökök termelését, így az ADMA- $R_{aw}$  kapcsolatban kizárólag a konstitutív NOS izoformákra gyakorolt hatás a mérvadó. Ezzel szemben COPD-ben feltételezhető a szisztémás alacsony fokú gyulladás jelenléte, mely feltehetően egy, a NF- $\kappa$ B-től független útvonalon indukálhatta az iNOS termelődését (COPD-ben ismeretes az IFN- $\gamma$  szintjének növekedése, ami egy, az NF- $\kappa$ B-hez tartozótól eltérő enhanszer régió keresztül aktiválhatja az iNOS termelődését (Ricciardolo et al. 2006), így fokozott oxidatív stresszt okozva). A keletkező peroxinitrit tovább növelheti az argináz aktivitását (Sankaralingam et al. 2010; Chandra et al. 2012), ami felborítja az argináz-NOS útvonalak egyensúlyát (Ruzsics et al. 2016; Wells et al. 2009). Ezek az egymással szinergizmusban álló folyamatok mind hozzájárulhatnak a gyulladás kialakulásához, az oxidatív stressz fokozódásához, a légutak remodellingjéhez, és az ezek következményeként kialakuló légúti áramlási korlátozottsághoz. A COPD-ben tapasztalt szorosabb  $R_{aw}$ -ADMA kapcsolat hátterében ezt a jelenséget feltételezzük.

#### **6.4 Limitációk**

Vizsgálataink limitációjaként fontos megemlíteni a különböző NOS izoformák lokális aktivitására vonatkozó direkt információk hiányát. Ennek tükrében csupán feltételezhetjük az alacsony/hiányzó iNOS aktivitást, kiindulva abból, hogy a szisztémás gyulladásos markerek szintje nem emelkedett az asztmás betegcsoportban. További limitációként említhetjük az oxidatív és nitrozatív stressz jellemzésére alkalmas stabil végtermékek (nitrit, nitrát) meghatározásának hiányát.

Említendő továbbá, hogy a gyakorlat, illetve irodalmi adatok is a FEF25-75% %pred paraméter óvatos interpretációjára intenek a reprodukálhatóság kapcsán felmerült nehézségek végett (Contoli et al. 2010). További limitációt a vizsgálatunk keresztmetszeti elrendezéséből fakadó okok jelentik, mely az ok-okozati összefüggések feltárásának lehetőségeit korlátozza.



Ezen hiányosságok orvosolására az adatgyűjtésünk során gondos odafigyeléssel jártunk el, és az esetleges zavaró tényezőkről gyűjtött adatok felhasználásával végeztük a többszörös lineáris regressziós elemzést. A bronchodilatátor szer adását követő pletizmográfias mérések hiánya is említhető további limitációként, fontos azonban megemlíteni, hogy a COPD-s betegcsoport elemei a bevonáskor már kezelés alatt álltak (a kezelési időtartamok mediánja 5 év (IQR:3-10)), illetve mind az asztmás, mind a COPD-s páciensek nagy hányada részesült valamilyen bronchodilatátor vagy kortikoszteroid terápiában, mely nem került megszakításra a vizsgálat okán. Az általunk kapott eredmények tehát kezelés mellett kapott eredményként interpretálhatók. Ezenkívül a vizsgálatunknak nem célja az L-arginin-NOS-argináz útvonalak jellemzőinek és szabályozó mechanizmusainak átfogó tárgyalása, e folyamatok tisztázásához további prospektív, az eddigi eredményeinken alapuló vizsgálatok szükségesek. A vizsgálatunk előnyeiként megfogalmazhatjuk a relatíve nagy elemszámú klinikai betegmintát, a speciális eszközök alkalmazását (teljes test pletizmográfia, SGRQ kérdőív), valamint az adatok elemzésére alkalmazott módszerekből fakadó előnyöket.

## 7. Új eredmények

1. A szérumban az ADMA szint szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a  $R_{aw}$  paraméterrel jellemzett légúti áramlási korlátozottsággal asztma kontroll terápiában részesülő felnőtt asztmás betegekben, akikben nem voltak kimutathatók a szisztémás gyulladás jelei. A vizsgált összefüggés erősebbnek mutatkozott a jó (magasabb) asztma kontroll betegcsoportban. Ezek alapján az emelkedett ADMA szint káros hatású asztma kontroll terápiában részesülő betegekben, és az emelkedett szint káros hatása fokozottabb a jól kontrollált betegcsoportban.
2. A szérumban az ADMA szint szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a  $R_{aw}$  paraméterrel jellemzett légúti áramlási korlátozottsággal kontroll terápiában részesülő felnőtt COPD-s betegekben, akik a szisztémásan is megjelenő gyulladás jeleit mutatták. A vizsgált összefüggés erősebbnek mutatkozott a rossz tünet-kontroll betegcsoportban. Ezek alapján az emelkedett ADMA szint káros hatású COPD-s betegekben, és az emelkedett szint káros hatása fokozottabb a rossz tünet-kontroll betegcsoportban.
3. Az a tény, hogy az ADMA és  $R_{aw}$  korrelációja (a teljes betegcsoporthoz képest) erősebbnek mutatkozott a jól kontrollált asztmás betegcsoportban, míg COPD-ben ezzel ellentétesen, a rossz tünet-kontroll csoport esetén tapasztaltunk erősebb korrelációt (a teljes COPD betegcsoporthoz képest) feltehetően a gyulladás meglétének (COPD) vagy hiányának (asztma) tudható be, melyre a szisztémásan is megjelenő gyulladás jeleinek megléte vagy hiánya utal.
4. Az asztma és COPD patomechanizmusa szempontjából alapvető a kislégutak érintettsége, és a  $R_{aw}$  evégett egy ígéretes és objektív mérőszámnak mutatkozik mindkét betegség súlyosságának jellemzése szempontjából, tekintve hogy értékét nem befolyásolja érdemben a tüdő elaszticitása és a légzőizmok erőssége (melyek nagyban függenek a páciens általános fizikai állapotától).

## 8. Összefoglalás

A krónikus légúti gyulladással járó megbetegedések (bronchiális asztma, COPD) közös jellemzője a légutakban jelentkező gyulladás, a megjelenésében eltérő, de mindkét kórképben előforduló légúti áramlási korlátozottság illetve a légutak átépülése. A nitrogén-monoxid szintáz (NOS) enzimek expresszió változása mindkét kórképben ismert, azonban ennek káros (fokozott oxidatív és nitrozatív stressz) vagy jótékony (légutak szűkületének mérséklése) hatása is lehet, mely nem teljesen tisztázott. COPD-ben az argináz útvonal aktivitása is fokozódik, mely hozzájárul a légutak átépüléséhez. Az aszimmetrikus dimetilarginin (ADMA), a NOS enzimek természetes gátlószere és szétkapcsolója, ezáltal az NO termelést csökkentheti, következményesen a légutak funkcionális szűkületét, valamint az oxidatív és nitrozatív stressz további fokozódását okozhatja. Ezenkívül a NOS és argináz enzimek közös szubsztrátját, az L-arginint az argináz irányába sөntölheti, ezáltal fokozhatja annak aktivitását. Vizsgálatainkkal ezért az ADMA szint és a légúti áramlási ellenállás ( $R_{aw}$ ) kapcsolatát kívántuk jellemezni.

Összesen 154 asztmában és 74 COPD-ben szenvedő, terápiás kontroll alatt álló páciens került beválogatásra vizsgálatainkba. Tájékozott beleegyezést követően a páciensek részletes anamnézis felvételen, laboratóriumi vizsgálatokon, a szérum arginin és ADMA szintek meghatározásán illetve teljes test pletizmográfias vizsgálaton estek át, valamint a szubjektív életminőséget is vizsgáltuk a Szent György Kórház Légzési Panaszokkal Kapcsolatos Kérdőívével (SGRQ). Adatainkat egyszerű és többszörös lineáris regresszióval elemeztük, mellyel a  $R_{aw}$  szignifikáns determinánsait határoztuk meg. A végső modellt asztma esetén az SGRQ (akut tünetek meglétére utaló) 4. kérdésére adott válaszok alapján jól és rosszul kontrollált, míg COPD esetén a tünetek komponens pontszáma alapján jó- illetve rossz tünet kontroll csoportok szerint rétegeztük.

A végső regressziós modellekben a (log)  $R_{aw}$  szignifikáns korrelációt mutatott az ADMA szintjével ( $\beta=0.22$ , CI: 0.054, 0.383  $p=0.01$  asztma esetén, illetve  $\beta=0.42$ , CI: 0.06, 0.77  $P=0.022$  COPD esetén). A szignifikáns korreláció fennállt a jó tünet kontroll rétegben asztmás betegek esetén, illetve COPD-ben a rossz tünet kontroll csoportban. Mindemellett az asztmás betegcsoportról elmondható, hogy a végső modellben a  $R_{aw}$  szignifikáns korrelációt mutatott a FEF<sub>25-75%</sub> %pred, az SGRQ összpontszámmal és aktivitás komponens pontszámmal, illetve hogy a szisztémás gyulladás jeleit nem mutatta a betegcsoport. A COPD betegcsoportban a  $R_{aw}$  (az ADMA mellett) szignifikáns korrelációt mutatott a FEF 25-75% %pred értékel, valamint a C-reaktív protein emelkedett szintjével.

Eredményeink alapján az asztmás betegcsoport esetén elmondható, hogy az emelkedett ADMA szint hatása káros, negatívan befolyásolja a NO metabolizmust, és hozzájárulhat a rossz kimenetelhez. COPD-s betegcsoportunkról elmondható, hogy az ADMA feltehetően hozzájárul a betegség progressziójához, feltételezéseink szerint az L-arginin NOS útvonal felőli, argináz útvonal irányú sөntölésével.

## 9. Summary

Inflammation of airways and differently manifesting airflow limitation as well as airway remodeling are common feature of chronic inflammatory airway diseases (bronchial asthma, COPD). Alteration of nitric-oxide synthase (NOS) expression and changing of NO production is common feature in both diseases however the protective (decreasing airflow limitation) and detrimental (increased oxidative and nitrosative stress) effects depending on the NOS isoforms remains unclear. In COPD the function of arginase pathway is also affected leading to airway remodelling. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) is an endogenous inhibitor and uncoupler of NOS with distinct selectivity for NOS isoforms. Increased levels of ADMA may lead to enhanced oxidative and nitrosative stress as well as increased airflow limitation, and may shunt L-arginine (substrate of arginase and NOS) towards the arginase. Based on these we set out to assess the relationship of ADMA levels and airflow limitation (quantified by airway resistance ( $R_{aw}$ )).

In our study 154 therapy-controlled asthma and 74 therapy-controlled COPD patients were recruited. After giving informed consent the patients underwent case history recording, laboratory tests, serum arginine and ADMA measurement and pulmonary function testing (whole-body plethysmography). Disease specific quality of life was also recorded via St George's Respiratory Questionnaire (SGRQ). Multiple linear regression was used to identify independent determinants of  $R_{aw}$ . The final multiple regression models were stratified based on symptom control (originated from SGRQ symptoms score).

Log  $R_{aw}$  showed significant positive correlation with log ADMA in both disease groups ( $\beta=0.22$ , CI: 0.054, 0.383  $p=0.01$  in the asthma and  $\beta=0.42$ , CI: 0.06, 0.77;  $P=0.022$  in the COPD group). The significant correlation was also observed in the well-controlled stratum of asthma patients and in the worse-controlled stratum of COPD patients. Furthermore  $R_{aw}$  showed significant correlation with FEF25-75% %pred, SGRQ Activity score and SGRQ total score in the asthma group (with the lack of evidence for systemic inflammation). In the COPD group  $R_{aw}$  showed significant correlation with FEF25-75% %pred and with the elevated level of C-reactive protein.

Based on our results, higher ADMA levels have detrimental effect on NO homeostasis and can contribute to a poor outcome in asthma while in COPD, ADMA may contribute to the progression, probably by shunting L-arginine from the NOS pathway to the arginase pathway.

## 10. Hivatkozásjegyzék

1. AHMAD, T., MABALIRAJAN, U., GHOSH, B. and AGRAWAL, A., 2010. Altered asymmetric dimethyl arginine metabolism in allergically inflamed mouse lungs. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, **42**(1), pp. 3-8.
2. AYDIN, M., ALTINTAS, N., CEM MUTLU, L., BILIR, B., ORAN, M., TULÜBAŞ, F., TOPÇU, B., TAYFUR, İ., KÜÇÜKYALÇIN, V. and KAPLAN, G., 2015. Asymmetric dimethylarginine contributes to airway nitric oxide deficiency in patients with COPD. *The clinical respiratory journal*, .
3. BARALDO, S., SAETTA, M. and COSIO, M.G., 2003. Pathophysiology of the small airways, *Seminars in respiratory and critical care medicine* 2003, Copyright© 2003 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA. Tel.: 1 (212) 584-4662, pp. 465-472.
4. BARLEY, E. and JONES, P., 1999. A comparison of global questions versus health status questionnaires as measures of the severity and impact of asthma. *European Respiratory Journal*, **14**(3), pp. 591-596.
5. BARNES, P.J., 2014. Cellular and molecular mechanisms of chronic obstructive pulmonary disease. *Clinics in chest medicine*, **35**(1), pp. 71-86.
6. BERUBE, K., PRYTHERCH, Z., JOB, C. and HUGHES, T., 2010. Human primary bronchial lung cell constructs: the new respiratory models. *Toxicology*, **278**(3), pp. 311-318.
7. BOULET, L.P., FITZGERALD, J.M., LEVY, M.L., CRUZ, A.A., PEDERSEN, S., HAAHTELA, T. and BATEMAN, E.D., 2012. A guide to the translation of the Global

- Initiative for Asthma (GINA) strategy into improved care. *The European respiratory journal*, **39**(5), pp. 1220-1229.
8. BRAMAN, S.S., 2006. The global burden of asthma. *Chest Journal*, **130**(1\_suppl), pp. 4S-12S.
  9. BRINDICCI, C., ITO, K., BARNES, P.J. and KHARITONOV, S.A., 2007. Effect of an inducible nitric oxide synthase inhibitor on differential flow-exhaled nitric oxide in asthmatic patients and healthy volunteers. *CHEST Journal*, **132**(2), pp. 581-588.
  10. CALABRESE, C., CARPAGNANO, G., PATELLA, V., VATRELLA, A. and SANTUS, P., 2015. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): will be or will not be a new revolutionary biomarker of bronchial asthma. *Minerva medica*, .
  11. CARDOUNEL, A.J., XIA, Y. and ZWEIER, J.L., 2005. Endogenous methylarginines modulate superoxide as well as nitric oxide generation from neuronal nitric-oxide synthase: differences in the effects of monomethyl- and dimethylarginines in the presence and absence of tetrahydrobiopterin. *The Journal of biological chemistry*, **280**(9), pp. 7540-7549.
  12. CARRARO, S., GIORDANO, G., PIACENTINI, G., KANTAR, A., MOSER, S., CESCA, L., BERARDI, M., DI GANGI, I.M. and BARALDI, E., 2013. Asymmetric dimethylarginine in exhaled breath condensate and serum of children with asthma. *CHEST Journal*, **144**(2), pp. 405-410.
  13. CELLI, B.R., MACNEE, W. and ATS/ERS TASK FORCE, 2004. Standards for the diagnosis and treatment of patients with COPD: a summary of the ATS/ERS position paper. *The European respiratory journal*, **23**(6), pp. 932-946.
  14. CHAN, N.N. and CHAN, J.C., 2002. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a potential link between endothelial dysfunction and cardiovascular diseases in insulin resistance syndrome? *Diabetologia*, **45**(12), pp. 1609-1616.

15. CHANDRA, S., ROMERO, M., SHATANAWI, A., ALKILANY, A., CALDWELL, R.B. and CALDWELL, R.W., 2012. Oxidative species increase arginase activity in endothelial cells through the RhoA/Rho kinase pathway. *British journal of pharmacology*, **165**(2), pp. 506-519.
16. CHUNG, K.F., 2001. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. *The European respiratory journal. Supplement*, **34**, pp. 50s-59s.
17. CONTOLI, M., BOUSQUET, J., FABBRI, L., MAGNUSSEN, H., RABE, K., SIAFAKAS, N., HAMID, Q. and KRAFT, M., 2010. The small airways and distal lung compartment in asthma and COPD: a time for reappraisal. *Allergy*, **65**(2), pp. 141-151.
18. CONTOLI, M., SANTUS, P. and PAPI, A., 2015. Small airway disease in asthma: pathophysiological and diagnostic considerations. *Current opinion in pulmonary medicine*, **21**(1), pp. 68-73.
19. COSTANZO, L., PEDONE, C., BATTISTONI, F., CHIURCO, D., SANTANGELO, S. and ANTONELLI-INCALZI, R., 2016. Relationship between FEV1 and arterial stiffness in elderly people with chronic obstructive pulmonary disease. *Aging clinical and experimental research*, , pp. 1-8.
20. DRUHAN, L.J., FORBES, S.P., POPE, A.J., CHEN, C., ZWEIER, J.L. and CARDOUNEL, A.J., 2008. Regulation of eNOS-derived superoxide by endogenous methylarginines†. *Biochemistry*, **47**(27), pp. 7256-7263.
21. DUPONT, L.L., GLYNOS, C., BRACKE, K.R., BROUCKAERT, P. and BRUSSELLE, G.G., 2014. Role of the nitric oxide–soluble guanylyl cyclase pathway in obstructive airway diseases. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*, **29**(1), pp. 1-6.
22. FERKOL, T. and SCHRAUFNAGEL, D., 2014. The global burden of respiratory disease. *Annals of the American Thoracic Society*, **11**(3), pp. 404-406.

23. FISCHER, A. and HOFFMANN, B., 1996. Nitric oxide synthase in neurons and nerve fibers of lower airways and in vagal sensory ganglia of man. Correlation with neuropeptides. *American journal of respiratory and critical care medicine*, **154**(1), pp. 209-216.
24. GIBSON, G.J., LODDENKEMPER, R., LUNDBACK, B. and SIBILLE, Y., 2013. Respiratory health and disease in Europe: the new European Lung White Book. *The European respiratory journal*, **42**(3), pp. 559-563.
25. GIELIS, J.F., LIN, J.Y., WINGLER, K., VAN SCHIL, P.E., SCHMIDT, H.H. and MOENS, A.L., 2011. Pathogenetic role of eNOS uncoupling in cardiopulmonary disorders. *Free Radical Biology and Medicine*, **50**(7), pp. 765-776.
26. GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA, 2016. Global Strategy for Asthma Management and Prevention.
27. GUO, F.H., DE RAEVE, H.R., RICE, T.W., STUEHR, D.J., THUNNISSEN, F.B. and ERZURUM, S.C., 1995. Continuous nitric oxide synthesis by inducible nitric oxide synthase in normal human airway epithelium in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **92**(17), pp. 7809-7813.
28. HADDAD, E., LIU, S.F., SALMON, M., ROBICHAUD, A., BARNES, P.J. and CHUNG, K.F., 1995. Expression of inducible nitric oxide synthase mRNA in Brown Norway rats exposed to ozone: effect of dexamethasone. *European Journal of Pharmacology: Environmental Toxicology and Pharmacology*, **293**(3), pp. 287-290.
29. HART, L.A., KRISHNAN, V.L., ADCOCK, I.M., BARNES, P.J. and CHUNG, K.F., 1998. Activation and localization of transcription factor, nuclear factor- $\kappa$  B, in asthma. *American journal of respiratory and critical care medicine*, **158**(5), pp. 1585-1592.



30. HÉJA, G. and SURJÁN, G., 2011. XML Representation of the Hungarian Translation of the Updated ICD10, *5th European Conference of the International Federation for Medical and Biological Engineering 2011*, Springer, pp. 1157-1160.
31. HOGG, J.C., CHU, F., UTOKAPARCH, S., WOODS, R., ELLIOTT, W.M., BUZATU, L., CHERNIACK, R.M., ROGERS, R.M., SCIURBA, F.C. and COXSON, H.O., 2004. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *New England Journal of Medicine*, **350**(26), pp. 2645-2653.
32. HOLGUIN, F., COMHAIR, S.A., HAZEN, S.L., POWERS, R.W., KHATRI, S.S., BLEECKER, E.R., BUSSE, W.W., CALHOUN, W.J., CASTRO, M. and FITZPATRICK, A.M., 2013. An association between L-arginine/asymmetric dimethyl arginine balance, obesity, and the age of asthma onset phenotype. *American journal of respiratory and critical care medicine*, **187**(2), pp. 153-159.
33. JONES, P.W., 2005. St. George's respiratory questionnaire: MCID. *COPD: Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, **2**(1), pp. 75-79.
34. JONES, P.W., QUIRK, F. and BAVEYSTOCK, C., 1991. The St George's respiratory questionnaire. *Respiratory medicine*, **85**, pp. 25-31.
35. KAMINSKY, D.A., 2012. What does airway resistance tell us about lung function? *Respiratory care*, **57**(1), pp. 85-96; discussion 96-9.
36. KINKER, K.G., GIBSON, A.M., BASS, S.A., DAY, B.P., DENG, J., MEDVEDOVIC, M., FIGUEROA, J.A.L., HERSHEY, G.K.K. and CHEN, W., 2014. Overexpression of dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1 attenuates airway inflammation in a mouse model of asthma. *PloS one*, **9**(1), pp. e85148.
37. KLEIN, E., WEIGEL, J., BUFORD, M.C., HOLIAN, A. and WELLS, S.M., 2010. Asymmetric dimethylarginine potentiates lung inflammation in a mouse model of allergic asthma. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, **299**(6), pp. L816-25.

38. LAU, E.M., MORGAN, P.E., BELOUSOVA, E.G., TOELLE, B.G., AYER, J.G., CELERMAJER, D.S. and MARKS, G.B., 2013. Asymmetric dimethylarginine and asthma: results from the Childhood Asthma Prevention Study. *The European respiratory journal*, **41**(5), pp. 1234-1237.
39. LODDENKEMPER, R., 2003. *European Lung White Book. The first comprehensive survey on respiratory health in Europe*. European Respiratory Society.
40. MAGYAR P., LOSONCZY G., and BÁRTFAI Z., 2012. A pulmonológia kézikönyve. *Budapest: Medicina*.
41. MAN, S.F., CONNETT, J.E., ANTHONISEN, N.R., WISE, R.A., TASHKIN, D.P. and SIN, D.D., 2006. C-reactive protein and mortality in mild to moderate chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*, **61**(10), pp. 849-853.
42. MARTINEZ, F.D., 2007. Genes, environments, development and asthma: a reappraisal. *The European respiratory journal*, **29**(1), pp. 179-184.
43. MATHERS, C.D. and LONCAR, D., 2006. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *Plos med*, **3**(11), pp. e442.
44. MATTHEWS, D.R., HOSKER, J.P., RUDENSKI, A.S., NAYLOR, B.A., TREACHER, D.F. and TURNER, R.C., 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, **28**(7), pp. 412-419.
45. MAZIAK, W., LOUKIDES, S., CULPITT, S., SULLIVAN, P., KHARITONOV, S.A. and BARNES, P.J., 1998. Exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease. *American journal of respiratory and critical care medicine*, **157**(3), pp. 998-1002.
46. MEGURO, M., BARLEY, E.A., SPENCER, S. and JONES, P.W., 2007. Development and validation of an improved, COPD-specific version of the St. George Respiratory Questionnaire. *CHEST Journal*, **132**(2), pp. 456-463.

47. MESZAROS, A., OROSZ, M., MAGYAR, P., MESKO, A. and VINCZE, Z., 2003. Evaluation of asthma knowledge and quality of life in Hungarian asthmatics. *Allergy*, 58(7), pp. 624-628.
48. MESZAROS, A., MAJOR, T.,JR, BARTFAI, Z., MESKO, A. and VINCZE, Z., 2001. Quality of life in asthmatics. *Acta Pharmaceutica Hungarica*, 71(2), pp. 196-200.
49. MILLER, M.R., HANKINSON, J., BRUSASCO, V., BURGOS, F., CASABURI, R., COATES, A., CRAPO, R., ENRIGHT, P., VAN DER GRINTEN, C.P., GUSTAFSSON, P., JENSEN, R., JOHNSON, D.C., MACINTYRE, N., MCKAY, R., NAVAJAS, D., PEDERSEN, O.F., PELLEGRINO, R., VIEGI, G., WANGER, J. and ATS/ERS TASK FORCE, 2005. Standardisation of spirometry. *The European respiratory journal*, 26(2), pp. 319-338.
50. NATHELL, L., NATHELL, M., MALMBERG, P. and LARSSON, K., 2007. COPD diagnosis related to different guidelines and spirometry techniques. *Respiratory research*, 8(1), pp. 1.
51. NURAL, S., GÜNAY, E., HALICI, B., CELIK, S. and ÜNLÜ, M., 2013. Inflammatory processes and effects of continuous positive airway pressure (CPAP) in overlap syndrome. *Inflammation*, 36(1), pp. 66-74.
52. PALM, F., ONOZATO, M.L., LUO, Z. and WILCOX, C.S., 2007. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH): expression, regulation, and function in the cardiovascular and renal systems. *American journal of physiology.Heart and circulatory physiology*, 293(6), pp. H3227-45.
53. PAPI, A., DOKIC, D., TZIMAS, W., MÉSZÁROS, I., OLECH-CUDZIK, A., KOROKNAI, Z., MCAULAY, K., MERSMANN, S., DALVI, P. and OVEREND, T., 2017. Fluticasone propionate/formoterol for COPD management: a randomized controlled trial. *International journal of chronic obstructive pulmonary disease*, 12, pp. 1961.

54. PERA, T., ZUIDHOF, A.B., SMIT, M., MENZEN, M.H., KLEIN, T., FLIK, G., ZAAGSMA, J., MEURS, H. and MAARSINGH, H., 2014. Arginase inhibition prevents inflammation and remodeling in a guinea pig model of chronic obstructive pulmonary disease. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **349**(2), pp. 229-238.
55. PRADO, C.M., MARTINS, M.A. and TIBÉRIO, I.F., 2011. Nitric oxide in asthma physiopathology. *ISRN allergy*, **2011**.
56. QUANJER, P.H., 1983. *Standardized Lung Function Testing: Report Working Party" Standardization of Lung Function Tests"*, European Community for Coal and Steel, Luxembourg, July 1983. Pergamon P.
57. RECZKOWSKI, R.S. and ASH, D.E., 1994. Rat liver arginase: kinetic mechanism, alternate substrates, and inhibitors. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **312**(1), pp. 31-37.
58. RICCIARDOLO, F.L., NIJKAMP, F.P. and FOLKERTS, G., 2006. Nitric oxide synthase (NOS) as therapeutic target for asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Current Drug Targets*, **7**(6), pp. 721-735.
59. RICCIONI, G., BUCCIARELLI, V., VERINI, M., CONSILVIO, N., GALLINA, S., MARTINI, F., ACETO, A., SCOTTI, L. and BUCCIARELLI, T., 2012. ADMA, SDMA, L-Arginine and nitric oxide in allergic pediatric bronchial asthma. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, **26**(3), pp. 561.
60. RITZ, T. and TRUEBA, A.F., 2014. Airway nitric oxide and psychological processes in asthma and health: a review. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, **112**(4), pp. 302-308.
61. RUZSICS, I., NAGY, L., KEKI, S., SAROSI, V., ILLES, B., ILLES, Z., HORVATH, I., BOGAR, L. and MOLNAR, T., 2016. L-arginine pathway in COPD patients with

acute exacerbation: a new potential biomarker. *COPD: Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, **13**(2), pp. 139-145.

62. SALEH, D., ERNST, P., LIM, S., BARNES, P.J. and GIAID, A., 1998. Increased formation of the potent oxidant peroxyntirite in the airways of asthmatic patients is associated with induction of nitric oxide synthase: effect of inhaled glucocorticoid. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, **12**(11), pp. 929-937.
63. SANKARALINGAM, S., XU, H. and DAVIDGE, S.T., 2010. Arginase contributes to endothelial cell oxidative stress in response to plasma from women with preeclampsia. *Cardiovascular research*, **85**(1), pp. 194-203.
64. SCOTT, J.A., DUONGH, M., YOUNG, A.W., SUBBARAO, P., GAUVREAU, G.M. and GRASEMANN, H., 2014. Asymmetric dimethylarginine in chronic obstructive pulmonary disease (ADMA in COPD). *International journal of molecular sciences*, **15**(4), pp. 6062-6071.
65. SELROOS, O., KUPCZYK, M., KUNA, P., LACWIK, P., BOUSQUET, J., BRENNAN, D., PALKONEN, S., CONTRERAS, J., FITZGERALD, M., HEDLIN, G., JOHNSTON, S.L., LOUIS, R., METCALF, L., WALKER, S., MORENO-GALDO, A., PAPADOPOULOS, N.G., ROSADO-PINTO, J., POWELL, P. and HAAHTELA, T., 2015. National and regional asthma programmes in Europe. *European respiratory review : an official journal of the European Respiratory Society*, **24**(137), pp. 474-483.
66. SIROEN, M.P., VAN DER SIJP, J.R., TEERLINK, T., VAN SCHAİK, C., NIJVELDT, R.J. and VAN LEEUWEN, P.A., 2005. The human liver clears both asymmetric and symmetric dimethylarginine. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, **41**(3), pp. 559-565.

67. STOCKS, J., GODFREY, S., BEARDSMORE, C., BAR-YISHAY, E., CASTILE, R. and ERS/ATS TASK FORCE ON STANDARDS FOR INFANT RESPIRATORY FUNCTION TESTING. EUROPEAN RESPIRATORY SOCIETY/AMERICAN THORACIC SOCIETY, 2001. Plethysmographic measurements of lung volume and airway resistance. ERS/ATS Task Force on Standards for Infant Respiratory Function Testing. European Respiratory Society/ American Thoracic Society. *The European respiratory journal*, **17**(2), pp. 302-312.
68. STURTON, G., PERSSON, C. and BARNES, P.J., 2008. Small airways: an important but neglected target in the treatment of obstructive airway diseases. *Trends in pharmacological sciences*, **29**(7), pp. 340-345.
69. SWANNEY, M.P., RUPPEL, G., ENRIGHT, P.L., PEDERSEN, O.F., CRAPO, R.O., MILLER, M.R., JENSEN, R.L., FALASCETTI, E., SCHOUTEN, J.P., HANKINSON, J.L., STOCKS, J. and QUANJER, P.H., 2008. Using the lower limit of normal for the FEV1/FVC ratio reduces the misclassification of airway obstruction. *Thorax*, **63**(12), pp. 1046-1051.
70. SZENDE, A., SVENSSON, K., STÅHL, E., MESZAROS, A. and BERTA, G.Y., 2004. Psychometric and utility-based measures of health status of asthmatic patients with different disease control level. *PharmacoEconomics*, **22**(8), pp. 537-547.
71. TO, T., STANOJEVIC, S., MOORES, G., GERSHON, A.S., BATEMAN, E.D., CRUZ, A.A. and BOULET, L., 2012. Global asthma prevalence in adults: findings from the cross-sectional world health survey. *BMC public health*, **12**(1), pp. 1.
72. TOPALOVIC, M., DEROM, E., OSADNIK, C.R., TROOSTERS, T., DECRAMER, M. and JANSSENS, W., 2015. Airways resistance and specific conductance for the diagnosis of obstructive airways diseases. *Respiratory research*, **16**(1), pp. 1.
73. TRAN, C.T., LEIPER, J.M. and VALLANCE, P., 2003. The DDAH/ADMA/NOS pathway. *Atherosclerosis.Supplements*, **4**(4), pp. 33-40.

74. TSIKAS, D., SANDMANN, J., SAVVA, A., LUEBEN, P., BÖGER, R.H., GUTZKI, F., MAYER, B. and FRÖLICH, J.C., 2000. Assessment of nitric oxide synthase activity in vitro and in vivo by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, **742**(1), pp. 143-153.
75. TŰDŐGYÓGYÁSZATI SZAKMAI KOLLÉGIUM, 2009. A krónikus obstruktív légúti betegség (chronic obstructive pulmonary disease – COPD) diagnosztikájáról és kezeléséről (1. módosított változat). *Magyar Közlöny*, **21**, pp. 3661-3692.
76. TŰDŐGYÓGYÁSZATI SZAKMAI KOLLÉGIUM, 2011. Az Egészségügyi Minisztérium szakmai irányelve: Az asztma diagnosztizálásáról, kezeléséről és gondozásáról, *Egészségügyi Közlöny*, **61**(2), pp. 275.
77. UEDA, S., KATO, S., MATSUOKA, H., KIMOTO, M., OKUDA, S., MORIMATSU, M. and IMAIZUMI, T., 2003. Regulation of cytokine-induced nitric oxide synthesis by asymmetric dimethylarginine: role of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation research*, **92**(2), pp. 226-233.
78. USMANI, O.S., 2015. Small-airway disease in asthma: pharmacological considerations. *Current opinion in pulmonary medicine*, **21**(1), pp. 55-67.
79. VESTBO, J., HURD, S.S., AGUSTÍ, A.G., JONES, P.W., VOGELMEIER, C., ANZUETO, A., BARNES, P.J., FABBRI, L.M., MARTINEZ, F.J. and NISHIMURA, M., 2013. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *American journal of respiratory and critical care medicine*, **187**(4), pp. 347-365.
80. VON ELM, E., ALTMAN, D.G., EGGER, M., POCOCK, S.J., GÖTZSCHE, P.C., VANDENBROUCKE, J.P. and STROBE INITIATIVE, 2007. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *Preventive medicine*, **45**(4), pp. 247-251.

81. WANGER, J., CLAUSEN, J., COATES, A., PEDERSEN, O., BRUSASCO, V., BURGOS, F., CASABURI, R., CRAPO, R., ENRIGHT, P. and VAN DER GRINTEN, C., 2005. Standardisation of the measurement of lung volumes. *European Respiratory Journal*, **26**(3), pp. 511.
82. WELLS, S.M., BUFORD, M.C., MIGLIACCIO, C.T. and HOLIAN, A., 2009. Elevated asymmetric dimethylarginine alters lung function and induces collagen deposition in mice. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, **40**(2), pp. 179-188.
83. WELLS, S.M. and HOLIAN, A., 2007. Asymmetric dimethylarginine induces oxidative and nitrosative stress in murine lung epithelial cells. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, **36**(5), pp. 520-528.
84. WHO, 2016-last update, WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. ATC/DDD index. Available: <http://www.whocc.no/atcddd> last accessed 07. 31. 2016.
85. WINDGASSEN, E.B., FUNTOWICZ, L., LUNSFORD, T.N., HARRIS, L.A. and MULVAGH, S.L., 2015. C-reactive protein and high-sensitivity C-reactive protein: an update for clinicians. *Postgraduate medicine*, .
86. YANAI, M., SEKIZAWA, K., OHRUI, T., SASAKI, H. and TAKISHIMA, T., 1992. Site of airway obstruction in pulmonary disease: direct measurement of intrabronchial pressure. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, **72**(3), pp. 1016-1023.
87. ZAKRZEWICZ, D. and EICKELBERG, O., 2009. From arginine methylation to ADMA: a novel mechanism with therapeutic potential in chronic lung diseases. *BMC pulmonary medicine*, **9**(1), pp. 1.
88. ZSUGA, J., GESZTELYI, R., TOROK, J., KEKI, S. and BEREKZKI, D., 2005. Asymmetric dimethylarginine: a molecule responsible for the coexistence of insulin resistance and atherosclerosis via dual nitric oxide synthase inhibition. *Medical hypotheses*, **65**(6), pp. 1091-1098.



89. ZSUGA, J., TOROK, J., MAGYAR, M.T., VALIKOVICS, A., GESZTELYI, R., KEKI, S., CSIBA, L., ZSUGA, M. and BEREZKI, D., 2007a. Serum asymmetric dimethylarginine negatively correlates with intima-media thickness in early-onset atherosclerosis. *Cerebrovascular diseases (Basel, Switzerland)*, **23**(5-6), pp. 388-394.
90. ZSUGA, J., TÖRÖK, J., MAGYAR, M.T., VALIKOVICS, A., GESZTELYI, R., LENKEI, Á., CSIBA, L., KÉKI, S., ZSUGA, M. and BEREZKI, D., 2007b. Dimethylarginines at the crossroad of insulin resistance and atherosclerosis. *Metabolism*, **56**(3), pp. 394-399.



Nyilvántartási szám: DEENK/254/2017.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Tajti Gábor  
Neptun kód: JLR8Z3  
Doktori Iskola: Egészségtudományok Doktori Iskola

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Tajti, G.**, Papp, C., Kardos, L., Kéki, S., Pák, K., Szilasi, M. E., Gesztelyi, R., Mikáczó, A., Fodor, A., Szilasi, M., Zsuga, J.: Positive correlation of airway resistance and serum asymmetric dimethylarginine (ADMA) in bronchial asthma patients lacking evidence for systemic inflammation.  
*Allerg Asthma Clin. Immunol. "Accepted by Publisher"*, -, 2017.  
IF: 2.869 (2016)
2. **Tajti, G.**, Gesztelyi, R., Pák, K., Papp, C., Kéki, S., Szilasi, M. E., Mikáczó, A., Fodor, A., Szilasi, M., Zsuga, J.: Positive correlation of airway resistance and serum asymmetric dimethylarginine level in COPD patients with systemic markers of low-grade inflammation.  
*Int. J. Chronic Obstr. Pulm. Dis.* 12, 873-884, 2017.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.2147/COPD.S127373>  
IF: 3.157 (2016)





### További közlemények

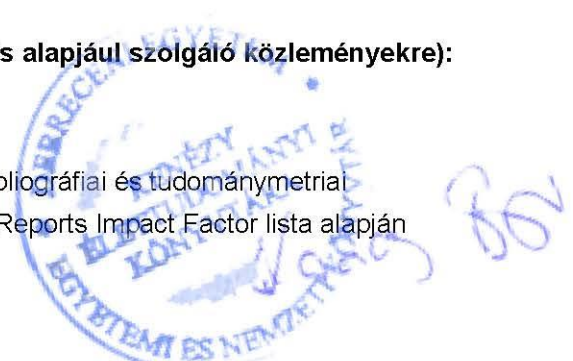
3. Zsuga, J., Bíró, K., **Tajti, G.**, Szilasi, M. E., Papp, C., Juhász, B., Gesztelyi, R.: 'Proactive' use of cue-context congruence for building reinforcement learning's reward function.  
*BMC Neurosci.* 17 (70), 70, 2016.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12868-016-0302-7>  
IF: 2.312
4. Zsuga, J., **Tajti, G.**, Papp, C., Juhász, B., Gesztelyi, R.: FNDC5/irisin, a molecular target for boosting reward-related learning and motivation.  
*Med. Hypotheses.* 90, 23-28, 2016.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mehy.2016.02.020>  
IF: 1.066
5. Zsuga, J., Bíró, K., Papp, C., **Tajti, G.**, Gesztelyi, R.: The "proactive" model of learning: integrative framework for model-free and model-based reinforcement learning utilizing the associative learning-based proactive brain concept.  
*Behav. Neurosci.* 130 (1), 6-18, 2016.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1037/bne0000116>  
IF: 2.453
6. **Tajti, G.**, Pák, K., Képes, Z., Erdei, T., Fodor, A., Mikáczó, A., Zsuga, J., Szilasi, M., Gesztelyi, R.: Asthma bronchiale-val kezelt betegek inzulinérzékeny és inzulinrezisztens-csoportjainak összehasonlítása.  
*Med. Thorac.* 68 (3), 193-199, 2015.

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 11,857**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 6,026**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2017.08.01.



## **11. Kulcsszavak**

ADMA, bronchiális asztma, COPD, légúti áramlási ellenállás,  $R_{aw}$ , SGRQ, NOS, nitrogén monoxid, teljes test pletizmográfia

## **12. Keywords**

ADMA, Bronchial asthma, COPD, airway resistance,  $R_{aw}$ , SGRQ, NOS, nitric-oxide, whole-body plethysmography

### **13. Köszönetnyilvánítás**

Kutatásainkat támogatta: Debreceni Egyetem, TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001, TÁMOP-4.2.2.A-11/1/ KONV-2012-0045, MPA Tudományos Pályázat (2015), Nemzeti Agykutatási Program (KTIA\_13\_NAP-A-V/2), GINOP-2.3.2.-15-2016-00005. A felsorolt támogatások kizárólag a kutatás anyagi fedezetét biztosították, nem volt szerepük sem a kutatási terv kidolgozásában, sem az adatgyűjtésben, adatelemzésben, sem annak interpretálásában.