

Mikropartikulum és L-arginin útvonal kutatások stabil és exacerbált COPD betegekben

Ph.D. Tézis

Szerző: Dr. Ruzsics István

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Kovács L. Gábor

Programvezető: Prof. Dr. Molnár F. Tamás

Témavezető: Dr. Molnár Tihamér



Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

I. sz. Belgyógyászati Klinika

Pécs, 2018

Rövidítések jegyzéke

- α -AT: alfa-1 antitripszin
- ADMA: asszimmetrikus dimetilarginin
- ADP: adenzin-difoszfát
- AECOPD: COPD Exacerbáció
- Alb: albumin
- ANOVA: varianciaanalízis
- ASCO: Amerikai Klinikai Onkológiai Társaság (American Society of Clinical Oncology)
- ATS: Amerikai Tüdőgyógyász Társaság (American Thoracic Society)
- BAL: bronchioalveoláris lavage
- BB: béta receptor blokkoló
- BMI: testtömeg index (body mass index)
- BTS: Brit Tüdőgyógyász Társaság (British Thoracic Society)
- C: Celsius fok
- CAT: COPD állapotfelmérő teszt (COPD Assessment Test)
- CBQC: COPD Biomarker Qualification Consortium
- CD: Cluster of differentiation
- CCQ: klinikai COPD kérdőív (Clinical COPD Questionnaire)
- COPD: krónikus obstruktív tüdőbetegség (Chronic Obstructive Pulmonary Disease)
- COPD-AE: COPD akut exacerbáció
- COX-2: ciklooxygenáz-2
- CCL-18: Chemokine (C-C motív) ligand 18
- CRP: C-reaktív protein
- CXCL-10: C-X-C motív chemokin 10
- CT: komputer tomográfias vizsgálat
- CVD: Kardiovaszkuláris betegség
- DLCO: CO-diffúziós kapacitás
- ECLIPSE: Evolution of COPD Longitudinally to Identify Predictive Surrogate End-points
- ELFO: elektroforézis
- eNOS: endothel eredetű nitrogén monoxid szintetáz
- Eo: eozinofil leukocita
- ERS: Európai Tüdőgyógyász Társaság (European Respiratory Society)
- ERV: expiratorikus/kilégzési rezerv volumen
- FDA: Amerikai Egyesült Államok Élelmiszer- és Gyógyszerbiztonsági Felügyelete (U.S. Food and Drug Administration)
- FeNO: kilégzett levegő frakcionált nitrogén-monoxid tartalma
- FEV1: erőltetett kilégzési másodperc térfogat (forced expiratory volume in 1 second)
- FVC: erőltetett vitálkapacitás (forced vital capacity)
- fvs: fehérvérsejt
- GM-CSF: granulocita-monocita kolónia stimuláló faktor
- GOLD: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
- hsCRP: magas érzékenyséű (high sensitivity) C-reaktív protein
- H₂O₂: hidrogén-peroxid
- HRCT: magas felbontású komputertomográf (high resolution computed tomography)
- IC: inspiratorikus kapacitás
- ICAM-1: intercellular adhesion molecule-1
- ICS: inhalációs kortikoszteroid (inhaled corticosteroid)
- IgA: immunglobulin A
- IgG: immunglobulin G
- IgM: immunglobulin M
- IL: interleukin
- IL-6: interleukin 6
- IL-8: interleukin 8

- INF: interferon α
- iNOS: indukálható nitrogén monoxid szintetáz
- ITP: idiopátiás thrombocytopeniás purpura
- i.v.: intravénás
- IVC: inspiratorikus/belégzési vitálkapacitás
- LABA: hosszúhatású béta 2 receptor izgató (Long Acting Beta2 Agonist)
- LAMA: hosszúhatású muszkarin receptor blokkoló (Long Acting Muscarinic Antagonist)
- LTB-4: leukotrién-B4
- MMA: monometil arginin
- MMP: mátrix metalloproteináz
- mMRC: módosított Orvoskutatói Bizottság nehézlégzés skála (modified Medical Research Council dyspnoe scale)
- MP: mikropartikulum
- MPlF1: myeloid progenitor inhibitory factor 1
- MPO: myeloperoxidáz
- mRNS: messenger ribonukleinsav
- Neu: neutrofil leukocita
- NÉ: nem értelmezhető
- NO: nitrogén-monoxid
- NOS: nitrogén monoxid szintetáz
- nNOS: neuronális eredetű nitrogén monoxid szintetáz
- OAT: ornitin-amino-transzferáz
- ODC: ornitin-dekarboxiláz
- OKTPI: Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézet
- PaCO₂: parciális artériás széndioxid-nyomás
- PAF: thrombocytá aktiváló faktor (platelet activating factor)
- PaO₂: parciális artériás oxigénnyomás
- PE: foszfatidil-etanolamin
- PGI₂: prosztaciklin
- PRMT: protein arginin metiltranszferáz
- PS: foszfatidilszerin
- Raw: rezisztencia, légúti áramlási ellenállás
- RV: reziduális volumen
- SAA: serum amyloid-A
- SD: szórás (standard deviatio)
- SDMA: szimmetrikus dimetilarginin
- SGRQ: Szent György Kórház Légzőszervi Kérdőíve (St. George's Respiratory Questionnaire)
- SLPI: köpet szekretoros leukoproteáz inhibitor
- SPD: surfactant protein D
- TF: szöveti faktor (tissue factor)
- TGV: mellkasi gázvolumen (thoracal gas volume) (TGV=RV+ERV)
- TLC: teljes tüdőkapacitás (total lung capacity)
- TNF- α : tumor nekrosis faktor alfa
- TTP: thrombotikus thrombocytopeniás purpura
- vWF: von Willebrand faktor
- WHO: Egészségügyi Világszervezet (World Health Organisation)

1. Bevezetés

1.1. Témaválasztás indoka

Tudományos kutatói indíttatásomat egyetemi éveim alatt végzett TDK munkám során dr. Kovács Attila és dr. Vörös Viktor munkássága mellett dr. Kovács Lászlónak köszönhettem, mikor is a krónikus betegek háziorvosi ellátása kapcsán találkoztam először szemtől szemben a betegek szubjektív panaszával. A krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD) iránti érdeklődésemet dr. Balikó Zoltánnak köszönhetem, aki már első rezidens évem során ezen betegek kutatására buzdított. Az azóta eltelt 12 évben sok változás történt mind a COPD ellátásában, mind a betegség hátterének megértésében, de még továbbra is nagyon sok nyitott kérdés áll előttünk. A COPD térnyerése, betegszám gyarapodása, az egyre öregedő társadalomban betöltött egyre nagyobb szerepe mellett az egyes emberi sorsoknak, betegségprogresszióknak is tanúja voltam szakmai pályafutásom során. Különösen a Tüdőgyógyászati Osztályunk Légzési Szakmaspecifikus Őrzőjének vezetőjeként kerültem napi kapcsolatba a legsúlyosabb COPD betegekkel. A mikropartikulumok vizsgálatára ezen betegcsoportban néhai dr. Magyarlaki Tamás buzdított és gyakorlati megvalósítása dr. Tőkés-Füzesi Gitta segítségével történt, míg a NO útvonal fontosságára a krónikus hipoxémiával és gyulladással járó betegségben dr. Molnár Tihamér nyitotta fel a szemem. Ezért célom, hogy kutatási eredményeimmel hozzájáruljak a betegek mielőbbi kiszűréséhez, hirtelen súlyosbodásuk időbeli felismeréséhez és így az adekvát kezelés elkezdéséhez, valamint a betegség pathomechanizmusainak jobb megértéséhez. A COPD a morbiditás és a mortalitás egyik fő oka manapság a fejlett országokban. Világviszonylatban a COPD a halálokok között jelenleg a 4-6. helyen áll és 2020-ra várhatóan a 3. leggyakoribb halálókká válik. Ennek oka a légzőrendszert károsító környezeti hatások (főként a dohányzás) gyakoribb előfordulása, az öregedő lakosság, valamint más nagyobb betegcsoportokban (pl. kardiovaszkuláris) a terápiás eredmény javulása. Magas prevalenciája, krónikus és progresszív lefolyása miatt jelentős társadalmi és gazdasági terhet jelent. Az Európai Unióban a légzőszervi betegségek közvetlen költségei az egészségügyi összköltségek 6%-át teszik ki, ezen belül a források 56%-a a COPD ellátására fordítódik. Ugyanakkor a jelenlegi farmakoterápiás lehetőségek hatásfoka a betegség progressziójára gyenge, így a prevenció nagyon fontos ebben a betegcsoportban. Az eddig klinikumban használt markerek mellett ezért fontos újabb biomarkerek meghatározása, melyek segítségével a betegség progressziójában szerepet játszó tényezőket fel tudjuk mérni, a rizikóval rendelkező személyeket korai stádiumban ki tudjuk szűrni, illetve a betegség individuális lefolyásának módját és a terápia hatékonyságát követni tudjuk.

1.2. Krónikus obstruktív tüdőbetegség

1.2.1. Definíció

A krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD) lassan és fokozatosan súlyosbodó funkciózavarral, növekvő bronchiális áramlási ellenállással járó kórfolyamat, mely nem teljesen reverzibilis, de az obstrukció hosszútávon kissé csökkenhet hörgőtágítók és egyéb kezelés hatására. A légúti áramlási ellenállás emelkedése a tüdő kóros gyulladással való reakciójának következménye, melyet ártalmas gázok vagy részecskék tartós belégzése indukál. A krónikus obstruktív bronchitis vezető tünete a legalább két egymást követő évben, évente minimum három hónapon át fennálló produktív köhögés, amely nem szív- vagy egyéb tüdőbetegség következménye. A légúti obstrukció részben a perifériás hörgőszűkületről (bronchiális gyulladás, hörgőfal szerkezeti átrendeződése), részben pedig a tüdőszövet emfizémás destruktív változásából (alveoláris falpusztulás, a tüdő rugalmas összehúzó erejének csökkenése) tevődik össze. A krónikus obstruktív bronchitis és emfizéma kórfejlődése különböző, de többnyire egymáshoz társulnak, és egy adott betegnél a bronchitiszes vagy emfizémás komponens dominanciája jellemző. A COPD-s betegek életminőségének felmérése a klinikai gyakorlatban elengedhetetlen, jelenleg a súlyossági beosztásban, a terápia megválasztásában is kiemelkedő szerephez jutott a panaszok objektív vizsgálata. A rövid és egyszerűen használható, a betegek által önállóan kitölthető „COPD Assessment Test” (CAT) és a „Clinical COPD Questionnaire” (CCQ) kérdőívek egyaránt alkalmasak erre a célra, mint ezt egy tanulmányunkban bemutattuk.

1.2.2. Epidemiológia

A COPD előfordulására vonatkozó adatok, a betegség diagnosztikus kritériumainak, a légúti funkciómérés módszereinek eltérései miatt igen heterogének. A fejlett ipari országokban eddig közölt felmérések szerint a COPD jelenleg a felnőtt lakosság 4-7%-át érinti. Előfordulása alacsonyabb a nők között, de gyorsabb ütemben emelkedik, mint a férfiak körében. Magyarországon az elérhető COPD-prevalencia adatok alulmaradnak a becsléseknek. A hazai nyilvántartás főként a súlyos, rendszeresen kórházi kezelést igénylő eseteket tartalmazza, míg az enyhébb, a megelőző, ill. hörgőtágító terápia szempontjából ígéretesebb többség ismeretlen, azaz nem kezelt és gondozott beteg. Ha a Burden of Obstructive Lung Disease (BOLD-2007) vizsgálat felnőttekre vonatkozó 9-10%-os COPD-prevalencia értékét a magyar 40 év fölötti lakosságra vetítjük, akkor a GOLD II-III/IV stádiumú COPD-s betegszám 5-600 ezer körüli lehet. Ez a tüdőgondozókban 2012-ben nyilvántartott 168431 betegszám háromszorosa. A hazai tüdőgyógyászati nyilvántartásban is a középsúlyos COPD-s betegek száma a legmagasabb, míg az enyhe súlyosságú ismert beteglétszám

23%-ra tehető. Kiemelendő azonban, hogy a COPD-s betegszám fokozatosan évről évre emelkedik. Baranya megyében kollégáink az országban a harmadik legtöbb COPD-vel nyilvántartott beteget kezelik. Magyarországon a felnőtt lakosság 34%-a dohányzik rendszeresen. Kiemelendő a dohányzók arányának gyors emelkedése a tizenévesek és fiatal nők korosztályában, jelenleg 40%-uk dohányzik. A fejlődő országokban kb. 3 milliárd ember főz vagy fűt biomasszával (fa, széna, trágya) és szén égetésével. Egy kínai felmérés alapján a biomassza füstexpozíciónak kitett, soha nem dohányzott falusi nők csoportjában közel háromszorosa volt a COPD prevalenciája (7.2%), mint a biomassza füstexpozíciót kerülő városi nők csoportjában (2.5%). Hasonló megfigyelések történtek a Dél-Amerikában végzett PLATINO-vizsgálatban is, itt a 60 évnél idősebb lakosság körében 18.4-32.1% között található a betegség előfordulása. Ugyanakkor a COPD nem csupán a légutak súlyos gyulladással járó betegsége, hanem egy összetett klinikai szindróma, melyet szisztémás gyulladás kísér (egyek szerint inkább ez a betegség alapja), jelentős extrapulmonális komponensekkel. Emellett a betegség megjelenésében meghökkentően sokszínű: mind lefolyásában, mind a terápiás válaszban, mind a megélt tünetek súlyosságában, vagy a légúti funkcióvesztés gyorsaságában az azonos súlyossági stádiumba sorolt betegek jelentősen különböznek egymástól.

1.2.3. Akut Exacerbáció

A GOLD meghatározás szerint az exacerbáció (AECOPD) a betegség természetes lefolyását megszakító, elhúzódó esemény. A beteg alaptüneteiben változás következik be, mely meghaladja a „normál” napi ingadozások mértékét, akután jelentkezik és változtatást igényel a kezelésben. Az exacerbációk a légúti és szisztémás gyulladás, valamint a tünetek és a légúti áramlási zavar akut fokozódásával járó, súlyos, elhúzódó epizódok, melyek kiegészítő kezelést igényelnek. A dohányfüst által károsodott légúti epitheliális barrier miatt a felső légutakat kolonizáló baktériumok (*H.Influenzae*, *S.Pneumoniae*, *M.Catarrhalis*) könnyen lejutnak az alsó légutakba és azt is kolonizálják. Ha a COPD progressziója során ezeknek a baktérium kolóniáknak a sejtszáma nő, akut légúti infekció alakul ki, a beteg exacerbálódik. A gyulladás fokozza a nyákszekréciót, a légúti epithel és mucociliaris clearance károsodását. Korábbi vizsgálatokban azt találták, hogy akut exacerbációban a légúti és szisztémás gyulladás fokozódik, emelkedik a szérumban a C-reaktív protein (CRP), fibrinogén és IL-6, illetve a köpet IL-6, IL-8, leukotrién-B4 (LTB-4), myeloperoxidáz (MPO), mátrix metalloproteináz (MMP) koncentrációja. Emelkedik a neutrofilek és eozinofil sejtek száma. Súlyos purulens exacerbációban magas a köpet baktériumszáma.

2. Célkitűzések

- A COPD-t kísérő gyulladási folyamatok eredményeképpen növekedik-e: (i) a trombocytákból, endothel sejtekből, monocytákból, illetve vörösvértestekből származó mikropartikulumok (MP) mennyisége, (ii) a felsorolt MP-ok felhasználhatók-e biomarkerként a betegség súlyosságának követésére, (iii) alkalmasak-e az exacerbáció és stabil állapot elkülönítésére?
- A kardiovaszkuláris társbetegséggel (CVD) rendelkező és nem rendelkező COPD-s betegek mikropartikulum szintjei közötti különbségek megállapítása.
- A kardiovaszkuláris társbetegséggel (CVD) rendelkező és nem rendelkező stabil vs exacerbáló COPD-s betegek mikropartikulum szintjei közötti különbségek megállapítása.
- Dohányzás mikropartikulum szintre gyakorolt hatásának vizsgálata a fenti COPD-s csoportokban.
- Az L-arginin útvonal markereinek (L-arginin, ADMA, SDMA) vizsgálata prospektív módon stabil és exacerbációban szenvedő COPD betegek szérumában, valamint egészségesekben.
- A klasszikus infekciós marker CRP és az L-arginin útvonal markerei közötti összefüggések feltárása.
- Retrospektív utánkövetés (5 év): az exacerbációs események számának auditálása, majd a vizsgált markerek predikciós erejének vizsgálata.
- A béta-adrenerg receptor blokkoló (BB) kezelés és a COPD exacerbáció prevalenciája közötti összefüggés vizsgálata.
- Végül célul tűztük ki, hogy a BB-val kezelt és nem kezelt COPD-s betegeinkben összehasonlítsuk az L-arginin útvonal molekuláit és a CRP szinteket.

3. Mikropartikulumok és COPD

3.1. Mikropartikulumokról általában

3.1.1 A mikropartikulumokról általánosságban

A keringésben megjelenő mikropartikulumok (MP-ok) olyan vezikulumok, melyek sejttaktiváció vagy apoptózis útján sejtmembrán lefűződéssel keletkeznek. Fiziológiásan is jelen vannak a vérben, azonban patofiziológiás folyamatok során szintjükben változás mutatkozhat. 1967-ben Wolf írta le őket elsőként, mint thrombocyta eredetű prokoaguláns részecskéket. A MP-ok nagy része (70-90%) thrombocytákból származik, azonban a thrombocytákon kívül leukocytákból (neutrofil granulocyta, lymphocyta, monocyta, makrofág), erythrocytákból, endothel sejtekből és simaizom sejtekből egyaránt keletkezhetnek. A MP-okat átlagosan a 0.1-1.0 μm közötti mérettartományba sorolják. A 0.1 μm alatti részecskéket exoszómáknak hívják, melyek intracellulárisan az endoszómális eredetű multivezikuláris testekből jutnak a sejten kívüli térbe. Ugyanakkor az apoptotikus sejtekből keletkező fragmentumok (apoptotikus testek) meghaladják a MP-ok átlagos méretét ($<4.0 \mu\text{m}$). A MP-ok membránja lipidekben és fehérjékben gazdag. Foszfolipid összetételük különbözik attól a sejtétől, amelyből keletkeztek. Kettősmembránjuk külső rétege főként foszfatidil-szerint (PS) és foszfatidil-etanolamint (PE) tartalmaz, melyek negatív töltésű aminofoszfolipidek. A sejteredetükre specifikus felszíni antigéneket/fehérjéket hordoznak, melyek révén azonosíthatók.

3.1.2. A mikropartikulumok szerepe

Funkciójukat tekintve részt vesznek a sejt-sejt közti kommunikációban, a sejtek védelmében, a genetikai információ átvitelében. Szerepük van a gyulladási folyamatokban, a véralvadási rendszer aktivációjában és bizonyos vaszkuláris funkciókban. A MP-ok a sejtek közti kommunikációban úgy vesznek részt, hogy receptorokat, citokineket, hírvívő molekulákat szállítanak. Egyrészt olyan keringő szignálmolekula szerepét tölthetik be, amelyek befolyásolják a célsejt tulajdonságait azáltal, hogy olyan bioaktív molekulákat hordoznak, melyekkel aktiválhatják ezek receptorait. Másrészt fehérjéket, lipideket, RNS fragmentumokat szállítva, majd sejtekkel fuzionálva képesek a sejteket aktiválni, sejt-funkciókat befolyásolni. Mivel a MP-ok nemcsak annak a sejt-típusnak a közelében vannak jelen, amelyből keletkeztek, hanem az egész keringésben, így a távoli jelátviteli kommunikációban is részt vehetnek. A thrombocyta eredetű MP-ok felszínén jelen lehetnek különféle receptorok (GP IIb/IIIa, GP Ib, P-selectin/CD62P), melyekkel aktiválhatnak endothel sejteket, leukocytákat, monocytákat. A MP-okon megjelenő arachidonsav is sejttaktivációt okozhat. A sejteket érő oxidatív stressz hatására keletkező MP-ok

összetételében főként oxidált foszfolipidek jelennek meg, amiktől a sejt fokozott MP képződéssel tud megszabadulni. A genetikai információ átvitelében szerepük lehet mRNS és microRNS szállító képességük révén. A thrombocyta eredetű mikropartikulumok gyulladásos folyamatot indíthatnak el azáltal, hogy arachidonsavat szállítanak az endothel sejtekhez, melynek hatására fokozott CD54 expresszió figyelhető meg, ami elősegíti a leukocyták kitapadását az érfalhoz. A gyulladásos folyamatokban kialakuló oxidatív stressz hatására és apoptózis során a MP-ok felszínén oxidált foszfolipidek jelennek meg, melyek elősegítik a monocyták kitapadását az endothel sejtekhez, valamint aktiválják a neutrofil sejteket. Ezek az oxidált foszfolipidek PAF (platelet activating factor) általi aktivációt indukálnak az endothel sejteken és leukocytákon. A thrombocyta eredetű MP-ok felszínén jelen lévő PS-nek fontos szerepe van a véralvadás kialakulásában, mert ebben a folyamatban Ca^{2+} jelenlétében a PS-hez kötődnek az alvadási faktorok (IXa, VIII, Va és IIa), amelyek tenáz- és prothrombináz-komplexek kialakulásához vezetnek, ami végül thrombin képződést eredményez. Szintén prothrombotikus hatású a thrombocyta eredetű MP-ok felszínén expresszálódó P-selectin és TF (tissue factor). Az endothel sejt eredetű MP-ok nagyméretű von Willebrand faktor multimereket expresszálnak, mely által thrombocyta aggregációt indíthatnak és növelhetik az aggregátum stabilitását. Vaszkuláris funkciójukat tekintve arachidonsavat szállítanak az endothel sejtekhez, ahol ciklooxygenáz-2 (COX-2) hatására prosztaciklin (PGI₂) keletkezik, melynek értágító hatása van és a thrombocyták reaktivitását csökkenti, így védi az ereket, valamint csökkenti a koaguláció kialakulásának esélyét.

3.2. Betegek és módszerek

3.2.1. A vizsgálat célkitűzései

Kutatásunk során a COPD-s betegek perifériás vérében mérhető mikropartikulumok mennyiségét vizsgáltuk eredetüket meghatározó markerek szerint különválogatva, valamint összehasonlítottuk stabil állapotú és exacerbálódott betegek eredményeit. Célkitűzésünkben arra próbáltunk választ kapni, hogy a COPD-ben fennálló gyulladásos folyamatok eredményeképpen növekedik-e a thrombocytákból, endothel sejtekből, monocytákból, illetve vörösvértestekből származó mikropartikulumok mennyisége és hogy felhasználhatók-e biomarkerként a betegség és szövődményeinek felfedésére, követésére.

3.2.2. A betegek

A vizsgálathoz megfelelő betegek kiválasztása a tüdőgyógyászati szakrendelésen és a Megyei Tüdőgondozóban kontroll vizsgálatra megjelenő személyekből, illetve a Pulmonológiai osztályon korábban kezelt betegek behívásával történt. Az exacerbálódott betegek esetében

osztályos felvétel utáni reggelen történt a mintavétel. A vizsgálati protokollt a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karának Regionális Kutatásetikai Bizottsága hagyta jóvá (2009.03.27, 3429). A betegek tájékoztatást követően beleegyező nyilatkozat aláírásával adták hozzájárulásukat a vizsgálathoz.

A kutatás során az alábbi három betegcsoportban vizsgáltunk több biomarkert és értékeiket egészséges kontroll csoport eredményeivel hasonlítottuk össze:

- **COPD:** stabil állapotú COPD-ben szenvedő betegek CVD nélkül
- **COPD+CVD:** stabil állapotú COPD-ben szenvedő betegek CVD-el
- **AECOPD:** CVD nélküli és **AECOPD+CVD:** CVD-vel szövődött COPD-ben szenvedő betegek csoportja, akiknél akut exacerbáció áll fenn

Kardiovaszkuláris társbetegséggel (CVD) szövődött COPD-s betegek kórelőzményében szívinfarktus, pozitív coronarographia, érsebészeti műtét, agyi vaszkuláris esemény és perifériás érszűkület szerepelt. Az egyes csoportokba 20-20 beteg besorolása történt, összesen 60 beteget és 20 önkéntes kontrollt vizsgáltunk meg. A betegek életkora 32-84 év között volt, férfi-nő arány 2:1. Az átlagéletkor 63.2 év. A női átlagéletkor 71.1 év, a férfi átlagéletkor 58.5 év. Dohányosok száma összesen: 26. A kontroll csoportba önkéntes, szemészeti műtétre jelentkező, a betegcsoportjainkkal hasonló életkorú, társbetegségektől mentes személyeket vontunk be.

3.2.3. Vizsgált paraméterek

A betegeknél légzésfunkciós vizsgálattal meghatároztuk a post-bronchodilatator FEV1 értéket, hogy igazoljuk a COPD diagnózisát és felmérjük a betegség stádiumát. Emellett vérvétel történt, melynek segítségével az alábbi paraméterek, biomarkerek kerültek meghatározásra:

- CRP
- fehérvérsejt szám
- össz-MP szám, endothel sejt, thrombocyta, vörösvértest és fehérvérsejt eredetű MP-ok száma (A+MP, A+CD41, A+CD61, A+CD42a, A+PAC1, A+CD31, A+CD62E, A+CD45, A+CD13, A+CD14, A+GlyA)

3.2.4. Mintavétel

A keringő mikropartikulumok izolálásához alvadásgátolt teljes vért használtunk. A mintavétel áramlási cytometriás vizsgálathoz antecubitális vénából 21G-s tűvel vacutaineres, alvadásgátlóként Na₃-citrátot tartalmazó csövekbe történt. A feldolgozás a mintavételtől számítva 1 órán belül megtörtént. A vérkép meghatározáshoz K₃-EDTA-s, a hs-CRP

meghatározáshoz natív (alvadásgátlót nem tartalmazó) csöveket használtunk. A méréseket a PTE-ÁOK Laboratóriumi Medicina Intézetben végezték.

3.3. Eredmények

3.3.1. COPD vs. COPD+CVD betegcsoportok

A hsCRP (mg/l) tekintetében szignifikáns különbség volt megfigyelhető a társbetegség nélküli stabil és exacerbálódott csoportban az exacerbálódottak javára. A stabil állapotú CVD-vel szövődött betegcsoport (COPD+CVD) és az exacerbálódott monoCOPD (AECOPD) csoport eredményeit összehasonlítva szignifikánsan magasabb értékek mérhetők az utóbbi csoportban. CVD-vel szövődött exacerbációban mutakozó magasabb hsCRP értékek nem mutattak szignifikáns emelkedést a stabil állapotú alcsoportokhoz és az exacerbálódott monoCOPD-s csoporthoz képest. A fehérvérsejt szám (G/l) esetében szignifikánsan magasabb értékek mérhetők a társbetegség nélküli (AECOPD) és társbetegséggel rendelkező (AECOPD+CVD) exacerbálódott csoportban a stabil mono (COPD) és CVD-vel szövődött (COPD+CVD) csoporthoz képest. Az összes mikropartikelum szám tekintetében a stabil és exacerbálódott alcsoportokban is szignifikánsan emelkedett értékek figyelhetők meg a kontroll csoporthoz képest. A COPD-s alcsoportokat összehasonlítva nem mérhető szignifikáns különbség a csoportok között. Mind a thrombocyta eredetű CD61 és a CD41 marker tekintetében mind a stabil, mind az exacerbálódott alcsoportokban szignifikáns emelkedés volt mérhető a kontrollcsoportoz képest ($p < 0.001$). A COPD-s alcsoportokban egymáshoz képest nem volt szignifikáns különbség. A thrombocyta eredetű CD42a marker esetében csak a társbetegség nélküli exacerbálódott csoportban (AECOPD) mérhető szignifikáns emelkedés a kontrollcsoportoz képest, a többi alcsoportban nem. Az egyes COPD-s alcsoportokban egymáshoz viszonyítva nem volt szignifikáns különbség. A PAC1 thrombocyta aktivációs marker esetében a nagy szórás miatt nem értékelhető szignifikáns eltérés az alcsoportok között. Az endothel sejt eredetű CD31 marker tekintetében egyik alcsoportban sem mérhető szignifikáns eltérés a kontroll csoporthoz és egymáshoz képest. A CD62E endothel sejt aktivációs marker esetében mind a stabil állapotú COPD-s alcsoportok, mind pedig az exacerbálódott alcsoportok esetén szignifikáns emelkedés figyelhető meg a kontroll csoporthoz képest. A négy COPD-s alcsoport között külön-külön nem volt szignifikáns különbség. A leukocyta eredetű CD45 és CD13 marker esetében a kontroll csoporthoz viszonyítva szignifikánsan emelkedett értékek mérhetők mind a stabil, mind az exacerbálódott alcsoportokban. A COPD-s alcsoportokban nem mérhető szignifikáns különbség egymáshoz képest. A monocyta eredetű CD14 marker esetében a társbetegséggel szövődött exacerbálódott COPD-s csoportban (AECOPD+CVD) mérhető csak szignifikáns

emelkedés a kontroll csoporthoz képest, a többi alcsoportban nem volt megfigyelhető hasonló eltérés a kontroll csoporthoz viszonyítva. Az egyes COPD-s alcsoportok között külön-külön nem volt szignifikáns különbség. A vörösvértest eredetű Glycophorin A (CD235) marker esetében a társbetegséggel szövődött stabil COPD-s csoportban (COPD+CVD), valamint a társbetegség nélküli (AECOPD) és a CVD-vel szövődött exacerbálódott (AECOPD+CVD) betegek csoportjaiban figyelhető meg szignifikáns emelkedés a kontroll csoporthoz képest. A COPD-s alcsoportok között nem volt szignifikáns különbség.

3.3.2. Stabil (n=40) vs. exacerbálódott betegek (n=20) thrombocyta, endothel sejt és monocyta eredetű markereinek összehasonlítása

Amennyiben a stabil (COPD) és az exacerbálódott betegcsoportot (AECOPD) a CVD-től eltekintve vizsgáltuk, egymáshoz viszonyítva az utóbbiban szignifikánsan magasabb értékeket találtunk a CD42a, a CD62E, és CD14 szintekben. Mind a stabil, mind az exacerbálódott csoport értékei szignifikánsan emelkedettek voltak a kontroll csoporthoz képest. Dohányzás alapján összehasonlítva nem volt szignifikáns különbség sem a monoCOPD-s alcsoportok között, sem a CVD-vel szövődött alcsoportok között, illetve a monoCOPD-s és CVD-vel szövődött COPD-s csoportokat összevonva szintén nem volt szignifikáns az eltérés.

3.3.3. Eredményeink összefoglalva

Stabil COPD vs. kontroll: A stabil COPD-s betegek vizsgálatából kiderült, hogy szignifikáns különbségek vannak szinte valamennyi mikropartikulum mennyiségében a kontroll csoporthoz képest.

AECOPD vs. kontroll: Az exacerbálódott betegek körében a kontroll csoporthoz képest jelentősen magasabb értékeket mértünk az össz-mikropartikulum érték esetében, a thrombocyta eredetű CD61 és CD42a (az utóbbi esetében csak monoCOPD exacerbációban) markerek esetében, az endothel eredetű CD62E marker, a leukocyta eredetű CD45 és CD13 marker, a monocyta eredetű CD14 (csak CVD-vel szövődött exacerbációban) marker, és a vörösvértest eredetű glycophorin A marker esetében. A thrombocyta eredetű PAC1 és az endothel eredetű CD31 markereknél nem volt szignifikáns eltérés a kontrollhoz viszonyítva.

Stabil COPD vs. AECOPD: A stabil és az exacerbálódott betegcsoport közti szignifikáns különbségek a CD42a (thrombocyta marker), a CD62E (endothel sejt marker), és a CD14 (monocyta marker) értékekben mutatkoztak. Az exacerbálódott csoportban a gyulladásos paraméterek (CRP, fehérvérsejt) szintjei szignifikánsan magasabbak voltak a stabil állapotú betegekéhez képest.

COPD+CVD vs. monoCOPD: A CVD-vel szövődött COPD-s betegek és ezen társbetegségekkel nem rendelkező COPD-s betegek mikropartikulum szintjei között nem találtunk

szignifikáns különbséget sem a stabil, sem az exacerbálódott betegekben. Dohányzás alapján összehasonlítva nem találtunk különbséget a társbetegség nélküli és CVD-vel szövődött csoportok között.

4. L-arginin útvonal és COPD

4.1. L-arginin útvonalról általában

Az L-arginin metabolizmusa során a NO-szintáz (NOS) és az argináz utakon nitrogén-oxid (NO) és L-citrullin, illetve urea és L-ornitin képződik. L-ornitin-t az ornitin-dekarboxiláz (ODC) bontja poliaminokra, ami blokkolja a NOS aktivitást, vagy az ornitin-amino-transzferáz (OAT) bontja, amely a prolint képez, ami egy prekursor a kollagén bioszintézisének. Az L-arginint be is építik a fehérjékbe, ami során a protein arginin metiltranszferáz (PRMT) mono- vagy di-metilezett formát hoz létre, melynek következtében proteolízissel monometil arginin (MMA) és aszimmetrikus dimethylarginin (ADMA) szabadul fel, mely utóbbi endogén kompetitív inhibitora a NOSnak. Ezen folyamat során szimmetrikus dimethylarginin (SDMA) is felszabadul, amely az L-arginin kompetitora a kationos aminosav transzporter-2 előtt. A kapcsolat a hipoxia és az L-arginin – nitrogén-monoxid (NO) útvonal között kettős. A hipoxia nem csak az NO túlprodukciónak indukálja, hanem elősegíti a fehérjék arginin-metilációját is. Az NO termelődése során a nitrogén-monoxid szintáz (NOS) segítségével L-argininből L-citrullin készül. SDMA szintjének csökkentésében a veseműködésnek van nagy szerepe, míg az ADMA a májban metabolizálódik. Három NOS izoformát azonosítottak: endothelialis NOS (eNOS), indukálható NOS (iNOS) és a neuronális NOS (nNOS). Míg az eNOS és nNOS többnyire kalcium / kalmodulin-függő, az iNOS keletkezhet oxigénhiány vagy gyulladási folyamat során is. A NOS aktivitását csökkentik bizonyos endogén inhibitor molekulák, mint amilyen az aszimmetrikus dimethylarginin (ADMA).

4.2. Célkitűzés

Célunk az L-arginin útvonal markereinek (L-arginin, ADMA, SDMA) vizsgálata volt prospektív módon stabil és exacerbációban szenvedő COPD betegek szérumban, valamint egészségesekben. Ezen kívül a klasszikus infekciós marker CRP és az L-arginin útvonal markerei közötti összefüggések feltárására is törekedtünk. Tanulmányunk második, retrospektív részében, egy öt éves utánkövetés során auditáltuk az exacerbációs események számát, hogy a vizsgált markerek predikciós erejéről információt nyerjünk. Egy frissen publikált cikkben azt diszkutálták, hogy a béta adrenerg blokkoló (BB) előkezelés

összefüggésben lehet a COPD exacerbációinak szignifikáns csökkenésével. Ezért logikusnak tűnt „post hoc” összehasonlítani a BB kezelt és BB-val nem kezelt COPD-s betegekben a szérumban aszimmetrikus és szimmetrikus dimethylarginin (ADMA, SDMA), valamint hsCRP szinteket.

4.3. Betegek és módszerek

A vizsgálati protokollt a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karának Regionális Helyi Etikai Bizottsága hagyta jóvá (3950.316-17030/KK4/2010). A vizsgálatba bevont betegek beleegyezési nyilatkozatot írtak alá. A kontroll csoportban 30 egészséges embertől is történt vérvétel, a kor megjelölésével.

4.3.1. Betegek

2010-ben a prospektív vizsgálatunkba összesen 44 COPD beteget válogattunk be a Pécsi Tudományegyetem I. sz. Belgyógyászati Klinika Tüdőgyógyászati Osztályán fekvő és szakrendelésén megjelent betegek közül. A COPD diagnosztikai kritériumának valamennyi beteg megfelelt, FEV1/FVC értékük 70% alatti volt. Súlyossági beosztásuk a GOLD 2010-ben érvényes beosztása szerint történt, a következőképp: I= enyhe: $FEV1 \geq \text{referencia}80\%$, II= közepes: $\text{referencia}50\% \leq FEV1 < \text{referencia}80\%$, III= súlyos: $\text{referencia}30\% \leq FEV1 < \text{referencia}50\%$, IV= nagyon súlyos: $FEV1 < \text{referencia}30\%$ vagy $FEV1 < \text{referencia}50\%$ plusz krónikus légzési elégtelenség áll fenn. A COPD exacerbációját a GOLD megállapításaira alapoztuk: az alap dyspnoe mértékének súlyosbodása, a szokásos napi ingadozástól eltérő köhögés / vagy köpetürítés súlyosbodása, akut rohamok előfordulása, melyek miatt a korábbi medikáció változtatásra szorult, és kiegészítettük azon kritériummal, hogy az alany fekvőbeteg intézményi ellátást (osztályos vagy sürgősségi) vett igénybe. Vizsgálatunk második fázisában 2016-ban retrospektíven az elektronikus beteg dokumentációinkból (PTE-KK, eMEDsol adatbázis) kigyűjtöttük valamennyi bevont beteg exacerbációjának számát a mintavételt megelőző egy évből, valamint a mintavételt követő 5 évből. Kizárási kritérium a krónikus veseelégtelenség ($eGFR < 50 \text{ml/min/1.73m}^2$ és/vagy a szérumban kreatinin $>120 \mu\text{mol/l}$), az ismert malignus betegség és a vizsgálatban való részvétel elutasítása volt. Az anamnézisben minden betegnél kitértünk a korábbi szívkoszorúér-betegség, szívinfarktus, diabetes mellitus, magas vérnyomás, dislipidémia és a stroke előfordulására, a jelenlegi dohányzási szokásokra és a rendszeres otthoni gyógyszerelésre, különös tekintettel a béta adrenerg blokkoló szedésre. Valamennyi betegnél alap kapilláris vérgáz vizsgálat is történt a helyi klinikai gyakorlatnak megfelelően.

4.3.2. Az L-arginin derivátumok és a hsCRP meghatározása

Éhomi vénás vérmintát vettünk le a szakrendelésen megjelent stabil COPD betegektől, valamint az osztályra COPD exacerbáció miatt felvételre került betegektől a felvételüket követő nap reggelén. A szérum mintát lefagyasztottuk mínusz 70C fokra az analízisig. A szérum hsCRP mérése automata fluorescence immunoassay (BRAHMS Kryptor, Hennigsdorf, Germany) segítségével történt. Az L-arginin, ADMA és SDMA méréséhez a vérminta aminosav tartalmát solid-phase extraction (SPE) metodikával nyertük ki és high-performance liquid chromatography (HPLC) segítségével mértük meg.

4.4. Eredmények

4.4.1. COPD és egészséges csoport összehasonlítása

Az L-arginin szint szignifikánsan magasabb volt a tanulmányba bevont 44 betegnél, összehasonlítva az egészséges kontroll csoporttal ($p < 0.05$). Az ADMA és SDMA szintje is szignifikánsan magasabb volt az egészséges csoporttal összehasonlítva ($p < 0.001$). A hsCRP szérum szintje szintén szignifikánsan emelkedett a COPD betegek esetében ($p < 0.05$)

4.4.2. AECOPD vs. stabil COPD összehasonlítás

Az ADMA és az SDMA szignifikánsan magasabb volt az AECOPD csoportban, összehasonlítva a stabil COPD betegekkel, bár sem az L-arginin szintje, sem a hsCRP nem mutatott szignifikáns különbséget. A ROC analízis alapján az ADMA (cut-off $\geq 0.69 \mu\text{mol/l}$, AUC: 0.81, $p = 0.001$) 75%-os szenzitivitással és 73%-os specificitással, az SDMA (cut-off $\geq 0.57 \mu\text{mol/l}$, AUC: 0.91, $p < 0.001$) pedig 92%-os szenzitivitással és 80%-os specificitással elkülönítette az AECOPD csoportot a stabil COPD betegektől. Többszörös regressziós analízis alapján, az SDMA szérum koncentráció $\geq 0.57 \mu\text{mol/l}$ függetlenül képes (OR: 1.632, $p = 0.001$) elkülöníteni az AECOPD betegeket a stabil betegektől. A kapilláris pO_2 szint szignifikánsan alacsonyabb volt az AECOPD csoportban összehasonlítva a stabil COPD csoport alanyaival ($p = 0.01$). Szignifikáns negatív korrelációt találtunk a hipoxia súlyosságát jelző kapilláris pO_2 szintek és a serum ADMA szint között ($p < 0.05$).

4.4.3. COPD betegek légzési elégtelenséggel

16 betegnél észleltünk 90% alatti oxigén szaturációt. Sem az L-arginin szérum szintje, sem a derivátumainak (ADMA, SDMA) szérum szintje nem különbözött szignifikánsan a légzési elégtelen és a nem légzési elégtelen COPD-sek között.

4.4.4. Exacerbációs gyakoriság - retrospektív adatgyűjtés

A vizsgálatba bevont stabil COPD betegek kórházi ellátást igénylő exacerbációinak számát is vizsgáltuk a mintavételt megelőző egy évben és a mintavételt követő első és 5. évben. A stabil betegek vérvétel előtti egy évét retrospektíven szemlélve azt találtuk, hogy akiknek egy vagy több exacerbációjuk volt (8fő), azoknak szignifikánsan alacsonyabb volt az L-arginin szintjük azokhoz képest, akiknek nem volt exacerbációjuk (median: 91.90 $\mu\text{mol/l}$, IQR: 83.90-102.50 vs. 111.70 $\mu\text{mol/l}$, IQR:100.20-122.20, $p=0.02$). A vizsgálat utáni egy évet elemezve a vérvételkor stabil COPD betegeknél azt találtuk, hogy akiknek lettek exacerbációik ($n=2$), azoknak szintén alacsonyabb volt az L-arginin szintjük a többi beteghez képest, de ez a szignifikáns különbséget nem érte el ($p=0.05$). Ez a különbség 5 éves követés adataiból már nem mutatkozott meg. Az 5 éves túlélést nézve az találtuk, hogy a stabil állapotban vizsgált betegek között az 5 éves túlélőkben ($n=15$) a hsCRP szignifikánsan alacsonyabb volt, mint az 5 évet meg nem éltek esetén (median: 6.00 mg/l, IQR: 3.20-61.00 vs. 15.97 mg/l, IQR:10.09-29.30, $p=0.028$).

4.4.5. Béta adrenerg blokkoló terápia szerepe a mért paraméterek változásaiban és az exacerbációs gyakoriságban

Tanulmányunk retrospektív fázisában a béta adrenerg blokkoló (BB) használat szerint is csoportosítottuk stabil és exacerbált betegeinket. A BB-val nem előkezelt alcsoportban a szérums hsCRP szignifikánsan magasabb volt az AECOPD betegekben a stabil COPD-s betegekhez képest (median: 30.04mg/l, IQR:15.04-39.92 vs. 5.60mg/l, IQR:3.69-10.32 $p=0.021$). Ha az AECOPD alcsoportban vizsgáltuk a hsCRP és a BB kezelés közötti összefüggést, azt találtuk, hogy BB kezelt betegekben COPD exacerbációban szignifikánsan kisebb maradt a szérums hsCRP, mint BB kezelés nélküli csoportban (median: 3.3, IQR:2.32-7.4 vs. 30.04, IQR:15.04-39.92, $p=0.01$). A BB előkezelt exacerbált COPD-s betegek alcsoportjában az ADMA magasabb volt (median: 0.93, IQR:0.85-0.97 vs. 0.69, IQR:0.64-0.78, $p=0.06$), mint BB nélküli exacerbációban, de ez nem érte a szignifikáns szintet, valószínűleg a kis mintaméret miatt. Mind az ADMA ($p=0.003$), mind az SDMA ($p<0.001$) szignifikánsan magasabb volt az exacerbált betegekben a stabil betegekhez képest, ha a BB kezelést nem vettük figyelembe. BB előkezelt esetben ez a szignifikáns különbség megmaradt. Valamennyi vizsgált betegünk követése során azt találtuk, hogy nem volt szignifikáns korreláció BB előkezelés és az exacerbációk száma között a követési időszakban, és nem találtunk befolyást az 5 éves mortalitásra sem. Érdekes módon csak a nem-BB előkezelt alcsoportban mutatott a stabil állapotban levett hsCRP pozitív korrelációt az exacerbációk számával ($p=0.003$).

5. Új megállapítások

1. Igazoltuk, hogy a stabil COPD-s betegek vérében szignifikánsan magasabb az össz-mikropartikulumok száma, a thrombocyta eredetű CD61 és CD41, az endothel eredetű CD62E, valamint a leukocyta eredetű CD13 markerrel jelzett mikropartikulum mennyisége az egészséges kontroll csoporthoz képest, s ez a különbség CVDvel társult és anélküli esetekben is megmaradt.

2. Igazoltuk, hogy az AECOPD-s betegek szisztémás keringésében szignifikánsan magasabb az össz-mikropartikulumok száma, a thrombocyta eredetű CD61 és CD41, az endothel eredetű CD62E, a leukocyta eredetű CD45 és CD13, a monocyta eredetű CD14, és a yörösvértest eredetű glycophorin A markerrel jelzett MP-ok szintje a kontroll csoporthoz képest, és ez a különbség CVDvel társult és anélküli esetekben is megmaradt.

3. Szignifikáns különbséget tártunk fel a stabil és az exacerbálódott betegcsoport között a CD42a (thrombocyta marker), a CD62E (endothel sejt marker), és a CD14 (monocyta marker) értékekben, utóbbi csoportban emelkedettebb értékeket találtunk.

4. Igazoltuk, hogy a metilált arginin derivátumok (ADMA, SDMA) és a prekursor L-arginin molekula szérumszintje emelkedett a COPD betegekben, összehasonlítva az egészségesekkel.

5. Kimutattuk továbbá, hogy ezeknek a molekuláknak a szérumszintje még magasabb a COPD exacerbációja során.

6. Kimutattuk, hogy az alacsony L-arginin szint magasabb COPD exacerbációs gyakorisággal jár együtt.

7. Érdekes módon kizárólag a béta adrenerg blokkolót nem szedő alcsoportban, stabil állapotban levett hsCRP mutatott pozitív korrelációt az exacerbációk számával ($p=0.003$). Saját adataink szerint a béta adrenerg blokkolót szedő COPD betegekben a szisztémás keringésben mért hsCRP koncentráció kevésbé informatív az exacerbáció monitorozásában.

6. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani programvezetőmnek prof. Dr. Molnár F. Tamásnak és témavezetőmnek Dr. Molnár Tihamérnak a rengeteg értékes tanácsért, gyakorlati segítségért, és hogy kitartóan buzdítottak kutatási eredményeim összefoglalására.

Köszönettel tartozom Dr. Tőkés-Füzesi Margitnak, prof. Dr. Kovács L. Gábornak, valamint megboldogult prof. Dr. Vermes Istvánnak és Dr. Magyarlaki Tamásnak, akik a mikropartikulumok világába kalauzoltak, s a mérések lebonyolításában segítségemre voltak.

Köszönöm Dr. Biri Bernadett, Dr. Nagy Lajos és Dr. Kéki Sándor áldozatos munkáját, amivel a mintáinkból az L-Arginin, ADMA és SDMA kvantitatív értékeit megkaphattuk.

Köszönet illeti Dr. Sárosi Veronika, Dr. Balikó Zoltán, Dr. Kacsó Anita Harmat, prof. Dr. Bajnok László, prof. Dr. Tóth Kálmán, prof. Dr. Bogár Lajos és prof. Dr. Horváth Ildikó személyét is, akik támogatásukkal a szakmai előmeneteletemet mindig biztosították.

Köszönöm a TDK hallgatóimnak, Dr. Singoszki Szendrának és Dr. Rajkó Zsófiának, valamint Lauly Líviának az adatgyűjtő munkában nyújtott lelkiismeretes segítségét.

Szeretném hálám kifejezni Balog Rózsa, Gáspár Márta és László Beáta kolléganőknek a mintavételekben, Bonczók Tibornak pedig a mintaszállításban nyújtott segítségért.

Köszönet illeti Dr. Litter Ilona főorvosnőt és csapatát, akik a minták fagyasztásához és tárolásához nyújtottak segítséget, valamint a rutin laborméréseket végezték.

Hálával tartozom Dr. Woth Gábor Lászlónak az adatok statisztikai feldolgozásában nyújtott segítségéért.

Köszönettel tartozom a Magyar Pulmonológia Alapítványnak és a GlaxoSmithKline Kft.-nek a kutatásaimhoz nyújtott anyagi támogatásért.

Hálás vagyok a Pécsi Tudományegyetem I. sz. Belgyógyászati Klinika Pulmonológia osztályán dolgozó összes orvosnak, ápolónak a megértésért, támogatásért, amivel a kutatói munkám létrejöttét elősegítették.

S végül köszönöm a vizsgálatban résztvett összes betegnek és önkéntes kontrollnak, hogy vérükből „áldoztak a tudomány és gyógyítás oltárán”.

7.Közlemények

7.1.Az értekezéshez felhasznált közleményeim

1. **Ruzsics I**, Nagy L, Keki S, Sarosi V, Illes B, Illes Z, Horvath I, Bogar L, Molnar T. L-Arginine Pathway in COPD Patients with Acute Exacerbation: A New Potential Biomarker. COPD 2016;13:139-45. **IF:2,16**
2. **Ruzsics I**, Biri B, Nagy L, Kéki S, Sárosi V, Horváth I, Bogár L, Molnár T. Metilált arginin származékok szerepe a stabil és az exacerbált COPD betegeknél: követéses vizsgálat. Medicina Thoracalis, 2017;70: 3-12.

Az értekezéshez felhasznált közlemények összesített IF-a: 2,16

7.2. Az értekezés témájához kapcsolódó előadásaim, idézhető absztraktok

1. A CRP jelentősége COPD acut exacerbatiojában (poszter) Magyar Tüdőgyógyász Társaság 54. Nagygyűlése, 2006.06.08-10, Szeged, Absztrakt: Medicina Thoracalis – 2006, Suppl. 69.o.
2. Biomarkerek (mikropartikulumok, gyulladásos markerek) vizsgálata COPDs betegeink körében. Pulmonológus Kutatók Fóruma, 2012.06.13, Budapest.
3. COPD and the microparticles. Croatian–Slovenian–Hungarian, Pulmonologist Meeting, Siófok, 2011 Ápr. 7-10,
4. Gyulladásos és thrombocytá aktivációs markerek vizsgálata COPDs betegeink körében. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 57. Nagygyűlése és 100 éves Centenárium Emlékülése, 2012. június 13-16, Budapest.
5. A mikropartikulumokról a COPD és a társult kardiovaszkuláris betegségek kapcsán. A Magyar Hypertonia Társaság 11. Nemzetközi Továbbképző Előadás sorozata és 20. Kongresszusa, 2012.dec.9-12, Budapest,
6. Increased circulating microparticles in COPD patients. 3rd Croatian – Slovenian – Hungarian Pulmonologist Meeting, 18. Apr. 2013, Brijuni, Croatia
7. Microparticles in stable and exacerbated COPD patients (poster, Silver Sponsorship) ERS Congress, 07-11, Sept. 2013, Barcelona, Spain
Eur Respir J 2013 42:Suppl 57, P777, **IF:7,125**
8. Methylated arginine derivatives can differ stable and unstable patients with COPD. ERS Congress, 07-11, Sept. 2013, Barcelona, Spain
Eur Respir J 2013.42: Suppl57,394, **IF:7,125**
9. Microparticulum vizsgálataink COPD-s betegek körében. Pulmonológia Akadémia, Hajdúszoboszló, 2013.09.21.

10. Biomarker kutatás Pécsen COPD exacerbációban. Fókuszban a beteg - Országos Tudományos Rendezvény, Pécs, 2014.05.17
11. Methylált arginin származékok szerepe a stabil és exacerbációban lévő COPDs betegek differenciálásában. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 58. Nagygyűlése, 2014.június, Medicina Thoracalis, LXVII. évfolyam, 2014 június, 190.o.
12. L-arginine pathway metabolites in COPD patients with and without acute exacerbation: a follow-up study, Hungarian Medical Association of America, Summer Conference Balatonfüred, 2016 08. 27.
13. L-arginine pathway metabolites can predict exacerbation independently from beta blocker treatment in patients with COPD: A follow-up study. ERS Congress, 03-07, Sept, 2016 London, UK
Eur Respir J 2016 48 Issue Suppl 60, PA996, **IF:10,569**
14. Az L-arginin útvonal összefüggése a COPD exacerbációjának gyakoriságával: egy 5 éves utánkövetés eredményei. Magyar Tüdőgyógyász Társaság 59. Nagygyűlése, Debrecen, 2016. június 8 - 11.
15. Gyulladás jelentősége COPD-ben, Előadás, 22.Tavaszi AMEGA Fórum, 2017.03.24, Pécs
16. Változások a GOLD 2017/18-ban, Előadás, 1. Rehabilitációs Kazuisztikai Fórum, 2018.02.09-10, Sikonda

Az értekezés témájához kapcsolódó idézhető kongresszusi absztraktok IF-a: 24,819

7.3.Egyéb közleményeim

1. **Ruzsics I**, Hegedűs G, Agócs Á, Komoly S, Sinkovicz A, Sárosi V. A kép és valóság. Medicina Thoracalis. 2007;60:314-8.
2. Sárosi V, **Ruzsics I**, Enyezdí J, Grexa E, Balikó Z. Az Avastin kezelés biztonságossága egy tüdő-adenocarcinomás beteg kezelése kapcsán. Tüdőgyógyászat 2009; 3:24-25.
3. Sárosi V, Balikó Z, Smuk G, Szabó M, **Ruzsics I**, László T, Mezősi E. The frequency of EGFR mutation in lung adenocarcinoma and the efficacy of tyrosine kinase inhibitor therapy in a Hungarian cohort of patients. Pathol Oncol Res. 2016;22:755-761. **IF:1,94**
4. Matancic M, Faludi B, Sárosi V, **Ruzsics I**. Tartós otthoni NIV kezelés – Egy összeadott élet. Medicina Thoracalis. 2016;69:306-308.

5. Jakab Z, Szabó M, **Ruzsics I**, Balikó Z, Sárosi V. A CAT (COPD Assesment Test) és a CCQ (Clinical COPD Questionnaire) életminőség kérdőívek jelentősége a COPD-ben szenvedő betegek keresztmetszeti állapotfelmérésében, *Medicina Thoracalis*, 2015; 68:264-269
6. Vörös V, Osváth P, **Ruzsics I**, Nagy T, Kovács L, Varga J, Fekete S, Kovács A. Az öngyilkos viselkedés gyakorisága és jellegzetességei a családorvosi gyakorlatban. *Orvosi Hetilap*. 2006;147:263-268.
7. Vörös V, Osváth P, **Ruzsics I**, Varga J, Kovács L, Fekete S, Kovács A. Prevalence of mental disorders among psychiatric drug users in general practice. Poster, 18th ECNP Congress, abstract published in *European Neuropsychopharmacology (Suppl)* 2005;15:S556-S556, **IF:3,510**
8. Müller V, **Ruzsics I**, Balikó Z. A HERMES programról. *Medicina Thoracalis*, 2007;60:47-52.
9. Vörös V, Osváth P, **Ruzsics I**, Varga J, Kovács L, Fekete S, Kovács A. Prevalence and treatment of mental disorders in general practice. Annual Scientific Meeting European Association for Consultation-Liaison Psychiatry and Psychosomatics (EACLPP). *Journal of Psychosomatic Research*, 2005;59:48-50. **IF:2,052**
10. Vörös V, Osváth P, **Ruzsics I**, Nagy T, Kovács L, Varga J, Fekete S, Kovács A. A pszichotróp gyógyszerhasználat, az affektív betegségek és a szuicid viselkedés gyakoriságának és jellegzetességeinek felmérése egy háziiorvosi körzetben. *Neuropsychopharmacologia Hungarica* 2005;7 (suppl.):52.
11. Vörös V, Osváth P, **Ruzsics I**, Nagy T, Kovács L, Varga J, Fekete S, Kovács A. Az öngyilkos viselkedés felmérése egy családorvosi körzetben. *Psychiatria Hungarica* 2005;20(suppl):105.

Egyéb közlemények IF-a: 7,502

Közlemények összesített IF-a (idézhető absztrakt nélkül): 9,662

7.4. Egyéb tudományos előadásaim

1. Kép és Valóság (előadás, I. Díj). Fialat Pulmonológusok Kazuisztikai Fóruma, Budapest, 2006.12.08.
2. Image and reality (lecture). 7th Fenno-Ugric Conference on Pulmonology, Kuressaare, Estonia, 2007.05.10.
3. Sikeres bevacizumab kezelések tüdő adenocarcinómában (poszter, III. Díj). Magyar Tüdőgyógyász Társaság 55. Nagygyűlése, Balatonfüred, 2008.06.04-07.

4. NSCLC ellenes kezelések figyelemreméltó thromboticus mellékhatásai (poszter). Magyar Tüdőgyógyász Társaság 55. Nagygyűlése, Balatonfüred, 2008.06.04-07.
5. Alsó légúti mintákból nyert baktériumok fluorokinolon rezisztenciája kórházi beteganyagunkban (előadás). Magyar Tüdőgyógyász Társaság 55. Nagygyűlése, Balatonfüred, 2008.06.04-07.
6. Elégséges terápia-e a célzott antibiotikus kezelés kábítószer-fogyasztó egyén staphylococcus okozta pneumoniájában? (előadás, III. Díj) Fialat Pulmonológusok Kazuisztikai Fóruma, Hajdúszoboszló, 2009 március 19-21.
7. Cured Small Cell Lung Cancer (előadás). II. Román-Magyar Tüdőgyógyász Találkozó, Szeged, 2009 11.06-08.
8. A pro Gastrin Releasing Peptide (ProGRP) tumormarkerrel szerzett tapasztalataink kissejtes tüdőcarcinómában (poszter). Magyar Onkológusok Társaságának 28. Kongresszusa, Budapest, 2009 november 12-14. Magyar Onkológia Suppl. 2009;53:14.
9. Hodgkin-lymphomából gyógyult fiatal nőbeteg mesotheliomájának története (előadás). A Magyar Tüdőgyógyász Társaság Onkopulmonológiai Szekciójának Konferenciája, Tapolca, 2009. december 3 - 5.
10. Sürgősségi Sarcoidosis (előadás). Magyar Tüdőgyógyász Társaság 56. Nagygyűlése, Sopron, 2010. június 2-5. Medicina Thoracalis, 2010;63:216.
11. Solid tumor patients with symptomless pulmonary embolism recognized by restaging chest CT (poster). 12th Central-European Lung Cancer Conference (CELCC), Budapest. 2-4. Dec. 2010.
12. A tüdőrák, mint stigma (legjobb poszter díj) A Magyar Tüdőgyógyász Társaság Onkopulmonológiai és Légzésrehabilitációs szekció konferenciája, Sopron, 2011 12.01-03.
13. TBC a pulmonológus szemével (előadás). IX. Pécsi Reumatológus Rezidens és Szakorvosjelölt Fórum, Pécs, 2011 03.25.
14. Látens Tuberculosis – Az anti-TNF terápiaik vonatkozásában (előadás). Regionális Szakfőorvosi értekezlet, Pécs, 2011 05.12.
15. Pulmonológiai betegség extrapulmonalis tünetekkel (előadás). 56. Dunántúli Belgyógyász Vándorgyűlés, Siófok, 2011 05.28.
16. Változások az egyedi tételes gyógyszerek elszámolásával kapcsolatban - Pulmonológus szemmel. Lilly szimpózium, Pécs, 2012 05.16.

17. Felnőtt betegek NIV kezelésének a körülményei (előadás). NIV Workshop orvosoknak, Budapest, 2012 10.12-13.
18. A 2012-es ERS üzenetei: NIV (előadás). A Magyar Tüdőgyógyász Társaság Továbbképző Tanfolyama, Budapest, 2013 01.25-26.
19. Leptomeningeális carcinosis vagy posterior reverzibilis encephalopathia szindróma? Avastin kezelés mellett (előadás). MTT Onkopulmonológiai Szekciójának konferenciája, Budapest, 2013 11.28-30.
20. Ritka, de életveszélyes mellékhatás Avastin mellett (poszter). Magyar Onkológusok Társasága 30. Kongresszusa, Pécs, 2013 11.14-16.
21. Pertussis, mint a collapsus oka (előadás). Magyar Tüdőgyógyász Társaság Továbbképző Tanfolyama, Budapest, 2016.01.29-30
22. Non-invazív ventiláció helye, szerepe. A Magyar Tüdőgyógyász Társaság COPD Világnapi rendezvénye és Újdonságok a Tüdőgyógyászatban rendezvény, Budapest, 2016 11.18-19.
23. Pertusis whooping cough as a cause for collapse. 4th Meeting of three Respiratory Societies: Slovenia, Croatia, Hungary, 22-23 May 2015, Bled, Slovenia
24. Fenntartó terápia elvei tüdőrákban. 'Onkológiai, Onko-pulmonológiai problémák a mindennapi gyakorlatban' továbbképző Lilly szimpózium, Pécs, 2014 10.13.