

## MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

---

# MÁJCIRRÓZISHOZ TÁRSULÓ BAKTERIÁLIS FERTŐZÉSEK ÉS TRANSZLOKÁCIÓ DIAGNOSZTIKÁJA, PROGNÓZISA ÉS ELŐREJELZÉSÉNEK LEHETŐSÉGEI

DR. PAPP MÁRIA



DEBRECENI EGYETEM  
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR  
BELGYÓGYÁSZATI INTÉZET  
GASZTROENTEROLÓGIAI NEM ÖNÁLLÓ TANSZÉK

Debrecen, 2018

## BEVEZETÉS

### MÁJCIRRÓZIS

**Epidemiológia és betegségfolyás** A májcirrózis a különböző etiológiájú krónikus májbetegségek előrehaladott stádiuma, melyet a gazdaságilag fejlett országokban a morbiditás és mortalitás jelentős okaként tartanak számon. Világszerte a 14., míg Közép-Európában a 4. leggyakoribb haláloknak számít. A betegség évente 170,000 ember haláláért felelős Európában, az országokénti különbségek azonban jelentősek. Az Egészségügyi Világszervezet adatbázisa alapján Európán belül Magyarországon messze a legmagasabbak a májcirrózishoz kapcsolódó halálozási mutatók. A környező országokhoz képest akár 4-5-ször magasabb értéket jelent. Még jelentősebb különbség észlelhető a mediterrán országokhoz viszonyítva. Ezen betegcsoport egészségügyi költségei jelenleg 15,8 milliárd euro/év kiadást jelentenek Európában. Tekintve, hogy a májcirrózis miatti halálesetek jelentős része a 20-64 év közötti korosztályban fordul elő, még további jelentős nemzetgazdasági terheket von maga után. A betegség korai stádiumban tünetmentes, így időben történő felismerése nem megoldott. Az előrehaladott májfibrózis szűrésének lehetősége nem-invazív módszerekkel napjainkban már lehetséges, például a különféle szérum paraméterek alapján, vagy a máj tömörségét vizsgáló elasztográfiával, ugyanakkor más betegségektől eltérően egyelőre nemzeti szűrőprogramok nem léteznek. A májfibrózis és azon belül a májcirrózis becsült előfordulási gyakoriságát a 40 év feletti lakosság körében egy francia populációs alapú vizsgálatban 2,8% illetőleg 0,3%-nak találták. Az újonnan felismert cirrózisos esetek száma 15/ 100,000 lakos az Egyesült Királyság és Svédországban végzett felmérések szerint. A kórképet egyértelműen a férfi túlsúly jellemzi. A betegség kialakulásában Európában leggyakrabban a túlzott mértékű alkoholfogyasztás és egyre növekvő arányban az elhízás, a metabolikus szindróma illetőleg a 2-es típusú cukorbetegség talaján kialakult nem alkoholos zsírmáj áll. A vírusos eredetű krónikus májgyulladás, az autoimmun folyamatok, és az anyagcsere betegségek a májcirrózis ritkább okai közé tartoznak.

A májcirrózist korábban egységesen végstádiumú betegségnek tartották, mely májtranszplantáció nélkül szükségszerűen és elkerülhetetlenül a beteg halálához vezet. A megelőző intézkedések pedig csak a nyelőcsővarixok és a hepatocelluláris karcinóma szűrésére és kezelésére korlátozódtak. Napjainkra azonban jelentős szemléletváltozás következett be és a májcirrózist egy dinamikusan változó betegségnek tekintjük, amelyben bizonyos mértékig reverzibilitás is lehet, amennyiben a kiváltó ok kezelése időben megtörténik. Négy klinikai alcsoport határozható meg, ahol a betegség progressziója és a várható halálozás igen eltérő. A kezdeti stádiumot (kompenzált májcirrózis, I. és II. stádiumok), a tünetmentesség és a betegség specifikus szövődmények hiánya jellemzi. A portális hipertenzió (melyet a nyelőcső varixok jelenléte mutat) már jelen lehet, de nem éri el a klinikailag jelentős küszöbértéket. Ezen stádiumban mind a dekompenzáció kialakulásának (7-10%), mind pedig a halálozásnak (1-3,4%) az éves kockázata alacsony. A májtranszplantáció nélküli túlélés pedig akár 15-20 év is lehet. Az előrehaladott stádiumban (dekompenzált cirrózis, III. és IV. stádiumok) már jelen vannak a betegség-specifikus szövődmények (ascites, nyelőcsővarixvérzés, hepatikus encefalopátia) melyek a tüneteket okozzák. Ezek pedig a jelentős májsejtpusztulás következtében kialakult elégtelen működés, valamint a klinikailag szignifikáns portális hipertenzió következményei. A becsült éves halálozás ugrásszerűen megnő, 20% és 57% között változik. A májtranszplantáció nélküli túlélés legfeljebb 3-5 év lehet. A megelőzés és a szövődmények kezelése szintén a klinikai stádiumok szerint változik. A kezelés legújabb törekvései a megelőzés és a korai intervenció, ami arra irányul, hogy a betegséget stabilizáljuk, azaz megakadályozzuk vagy legalábbis késleltessük a klinikai dekompenzáció kialakulását és így a májtranszplantáció szükségességét. A 21. század nagy kihívása, hogy minél több beteg esetén megelőzhető legyen a májtranszplantáció szükségessége

### **Krónikus májbetegségre rakódott akut májelégtelenség szindróma (ACLF)**

Májcirrózisban a krónikus rosszabbodás folyamata során, annak bármelyik klinikai stádiumában kialakulhat hirtelen, napok vagy hetek alatt bekövetkező romlás (ún. akut dekompenzáció [AD]), mely felgyorsíthatja a betegség progresszióját és/vagy a beteg halálához vezethet, mintegy rövidre zárva a betegség lefolyását. A heveny rosszabbodás hátterében rendszerint valamilyen akut fellépő károsító hatás áll, amely azonban csak az esetek közel felében azonosítható ténylegesen. Amennyiben az AD epizód során a májelégtelenség tovább romlik, és egy vagy több extrahepatikus szerv (máj, vese, agy, vérárvadás, keringés és tüdő) működése is elégtelenné válik, májbetegségre rakódott akut májelégtelenség szindrómáról (*acute-on-chronic liver failure*, ACLF) beszélünk. A kórkép gyakori, az AD miatt hospitalizált májcirrózisos betegek mintegy harmadában alakul ki. Az ACLF szindróma rövid-távú halálozás igen magas (>50%). Az ACLF szindrómát egyértelműen el kell különíteni a májcirrózis egyszerű AD epizódjától, és az egészséges májban kialakuló akut májelégtelenségtől (*acute liver failure*, ALF), valamint a májcirrózis krónikus rosszabbodásától is. Májcirrózisban a bakteriális fertőzés/sepsis a legfontosabb oki tényező az ACLF szindróma kialakulásában. A legfrissebb tanulmányok a bakteriális fertőzés és az ACLF kapcsolatának vonatkozásában további fontos új adatokról számoltak be. Egyrészt, a nem bakteriális fertőzés kiváltotta ACLF esetén is jelentős fogékonyság észlelhető az infekciók kialakulására. Másrészt, a bakteriális fertőzés által kiváltott vagy a betegség lefolyása során infekcióval szövődött esetek egyértelműen súlyosabbak, és a halálozás is jelentősebb a bakteriális fertőzéssel nem szövődött esetekhez képest.

**Bakteriális fertőzések jelentősége és kialakulásának mechanizmusai** A májcirrózis egy szerzett immundeficiens állapot, melynek eredményeképpen a fertőzésekkel szemben fokozott fogékonyság észlelhető, és ezen epizódok egyértelműen súlyosabb lefolyásúak, mint az átlagpopulációban. A májcirrózisos betegek kétszer gyakrabban halnak meg sepszisben, mint a nem cirrózisos betegek. A leggyakoribb fertőzés az asciteses betegekben jellegzetes spontán bakteriális peritonitis (SBP), de a különféle nem-SBP típusú fertőzések is gyakoriak, mint a pneumónia vagy a húgyúti fertőzés. A bakteriális fertőzés jelenlétében a halálozás mintegy négyszeresére emelkedik, függetlenül a májcirrózis súlyosságától. A betegek 30%-a a felvételt követő 1 hónapon belül, még másik 30%-a 1 éven belül meghal az infekciót követően. Májcirrózisban a bakteriális fertőzés kialakulása ugyanakkor nemcsak a rövid távú halálozás fontos kockázati tényezője, hanem egyfajta külön, a betegség súlyosságától független prognosztikai stádiumot is jelent. A bakteriális fertőzés átesett betegek esetén a halálozás kockázata ugyanis az akut epizód lezajlását követően is fokozott marad. A bakteriális fertőzés kialakulása tehát megváltoztatja a májcirrózis természetes lefolyását is és egyfajta dekompenzációs eseményeknek kell tekinteni az ascites, a nyelőcső varixvérzés és a hepatikus encefalopátia mellett.

Májcirrózisban az immunrendszer működése számos ponton zavart szenved, mely egyaránt érinti a veleszületett és a szerzett immunitás szabályozó és effektor folyamatait. Az immunrendszer funkciója pedig mind lokálisan, mind pedig szisztémásan megnyilvánul. A lokális immunrendszer működészavarában kitüntetett két kompartment a máj és béltraktus.

Májcirrózisban a máj bakteriális filter funkciója romlik a retikuloendoteliális rendszerének csökkent funkciója és a Kupffer-sejtek számának csökkenése miatt. Ennek eredményeként a bélből transzlokálódó baktériumok és a különféle bakteriális termékek, mint pl. az endotoxinok kiszűrése romlik. Ráadásul a portoszisztémás kollaterális hálózat kialakulása miatt a vér egy része elkerülve a májat közvetlenül a szisztémás keringésbe jut. A kialakuló kontrollálatlan bakterémia miatt az immunrendszer állandó stimulált állapotban van. A máj ugyanakkor számos olyan fehérjét is termel, melyek a veleszületett immunrendszer működésében elengedhetetlenül fontosak (a komplemet rendszer alkotóelemei, a különböző szolubilis mintázat felismérő receptor fehérjék [PRR] és az akut fázis fehérjék [APP]). A májműködés romlásával ezen fehérjék szintézise is jelentősen csökken, mely jelentősen hozzájárul az immundeficienciához. A májban lévő különféle sejtek által konstitutív módon expresszált ún. membránhoz kötött és citoplazmatikus PRR-ek, mint a sejt felszíni és az endoszómális toll-szerű receptorok (TLRs), citoplazmatikus nukleotid kötő

oligomerizációs domén (NOD)-szerű receptorok (NLRs) és ribonukleinsav (RNS) helikázok egyfajta alacsonyban aktivált állapotban vannak. Ezen receptorok egyrészt a mikrobák ún. kórokozó-asszociált molekuláris mintázatait [PAMP], másrészt pedig a hepatocelluláris károsodással összefüggő molekuláris mintázatokat [DAMP] ismerik fel. Jellegzetes, például hogy a májban lévő összes sejtféleség expresszálja a TLR4-t, ami pedig részt vesz az endotoxinok felvételében és clearancében, valamint a pro- és anti-inflammatórikus citokinek termelésében.

A bélhez kapcsolódó limfoid szövet (GALT) működése – mely a szervezetünkbe a béltraktus felől bekerülő antigének és patogének elleni első fontos védelmi rendszer – májcirrózisban szintén károsodik és a bakteriális transzlokáció (BT) kórossá válásának egyik fontos komponense. Az egészséges immunrendszerű egyénekhez képest májcirrózisban öt-tízszer gyakrabban észlelhető a bélbaktériumok és a különféle bakteriális termékek (endotoxinok, mint pl. a lipopoliszacharid [LPS], glikopolimerek, flagellinek és a bakteriális dezoxiribonukleinsav [DNS]) megjelenése a keringésben, és ezen epizódok elhúzódóak is. A GALT kompartmentet a különféle lokális immunológiai védőfaktorokban bekövetkezett kedvezőtlen változások jellemzik (mint pl. a csökkent anti-mikrobiális peptid szekréció vagy intraluminális epesav mennyiség), amelyek diszbiózist okoznak és a vékonybélben bakteriális túlnövekedéshez vezetnek. Az immunológiai bélbarrier károsodás mellett számos struktúrális és funkcionális eltérés is észlelhető, mely szintén fokozza a BT-t. A vékonybélben részleges boholyatrófia, gyulladósos nyálkahártyaelterések és a nyálkahártya vérátáramlásának megváltozása észlelhető, melyek a bélkompartimentben iszkémiához és oxidatív stresszhez vezetnek. Jellegzetes eltérés a vékonybél diszmotilitás is. A BT klinikai megnyilvánulása a májcirrózisra jellegzetes infekció típus, az SBP kialakulása. Ugyanakkor az első lépésként kialakuló spontán bakterémia útján nemcsak az ascites, hanem egyéb lokalizációjú szekunder infekciók is kialakulhatnak. A kóros BT nyílt infekciók hiányában is jelentős szerepet tölt be a betegség kulcsfontosságú patogenetikai folyamataiban: tovább súlyosbítja a már zajló lokális és szisztémás gyulladást, elősegítve ezáltal a betegség progresszióját és a különféle szövődmények kialakulását. A baktériumok és a bakteriális termékek folyamatos jelenléte a szisztémás keringésben ugyanis jelentős immunválaszt vált ki, melyet jól jellemez a pro-inflammatórikus citokinek magas szintje. A gyulladósos citokinek az egyéb szervek mellett a bél hámszövetére és immunsejtjeire is jelentős károsító hatást gyakorolnak. Ennek következtében a bélnek is, mint önálló szervrendszernek, elégtelenné válhat a működése, mely még tovább fokozza a BT-t. A baktériumok és bakteriális termékek még nagyobb mennyiségben kerülnek be a béltraktusból a szervezetbe, ami circulus vitiosusként további rosszabbodáshoz vezet. Az irodalomban azonban ez egyelőre még kevésbé vizsgált terület.

A betegség lefolyása során májcirrózisban így tehát jellegzetes az immundeficiencia és a szisztémás gyulladósos válasz (SIRS) dinamikus együttes jelenléte, mely cirrózis-asszociált immundiszfunkciós (CAID) szindrómaként ismert. A különböző CAID fenotípusok pedig ezen dinamikus folyamatok spektrumának végpontjait reprezentálják. A májcirrózis kompenzált stádiumában, amikor a bélből kiinduló BT még nem jellemző, a nekrotikus hepatocitákból felszabaduló DAMP-ok már az immunrendszer aktivációját eredményezik és steril szisztémás gyulladáshoz vezetnek. A dekompenzált stádiumban a bélből transzlokálódó bakteriális termékek az immunrendszer aktivációjának fokozódását eredményezik, megemelkedik a pro-inflammatórikus citokinek szintje és az immunsejtek felszínén aktivációs antigének expresszálódnak. A túlnyomóan *'pro-inflammatórikus'* CAID fenotípus a folyamatos PAMP hatásra kialakuló válaszreakció, melyet az anti-inflammatórikus citokinek és a negatív szabályozó mechanizmusok csökkenése kísér. A progresszív immundeficiencia a 'stabil' dekompenzált májcirrózisban az immunfelügyelet elvesztése és az immunrendszer működészavara (mint pl. a fagocitaképesség csökkenése) eredményeképpen jön létre. A végső stádiumban a folyamatossá váló PAMP beáramlás miatt az immunrendszer kimerül, azaz a veleszületett és a szerzett protektív immunválasz elégtelensége lesz jellemző (*'immundeficiens'* CAID fenotípus). A perzisztáló szisztémás gyulladás károsíthatja a különféle szervek működését és hatással van a májcirrózis klinikai lefolyására is. Ennek egyik legjellegzetesebb példája, a szisztémás gyulladás válasznak a

hemodinamikai működészavar kialakulásban játszott szerepe és ezáltal a májcirrózis kedvezőtlen prognózisával való társulása.

**Bakteriális fertőzések diagnosztikai nehézségei és prognosztikája** A bakteriális fertőzések felismerése és időben történő kezelése kiemelt jelentőséggel bír májcirrózisban, ugyanakkor diagnózis felállítása nehézségekbe ütközik. A fertőzések epizódok ugyanis az esetek mintegy felében tünetszegényen vagy atípusos formában zajlanak, és sokszor csak a szervelégtelenség(ek) kialakulása hívja fel rájuk a figyelmet. A betegség klinikai jellegzetességei és egyes alkalmazott kezelési módok miatt pedig a SIRS és a szepszis felismerése nehézségekbe ütközik. Éppen ezért májcirrózisban az infekciók diagnosztikájában a bakterémia szerológiai markereinek jelentősége felértékelődik. A klinikai gyakorlatban a bakteriális fertőzések korai felismerésében széleskörben használt *C-reaktív protein (CRP)* és *prokalcitonin (PCT)* értéke azonban korlátozottabb és több szempontból is eltérően viselkednek a nem cirrózisos betegpopulációhoz képest. Aktuális szintjüket és az akut fázis reakció során a változások mértékét egyrészt a jelenlévő májelégtelenség befolyásolhatja (májban termelődő APP-k esetén), másrészt pedig a szövödményként gyakran jelenlévő veseelégtelenség vagy az éppen emiatt zajló vesepótló kezelés (kis molekulású, vesén át kiválasztódó APP-k). Végül pedig a BT által fenntartott gyulladással állapot nyílt infekció nélkül is elegendő lehet, hogy az APP-k szintjét szignifikánsan megemelje. A BT a betegség előrehaladtával pedig egyre inkább jelen van. Májcirrózisban a bakteriális fertőzések diagnózisának fellállításához vagy kizárásához, valamint az egyes epizódok súlyosságának laboratóriumi markerekkel történő megítéléséhez fontos egyrészt az ismert, elsősorban pro-inflammatórikus APP-k további vizsgálata, másrészt pedig új, eddig nem vizsgált biomarkerek tesztelése. A keringésben lévő *preszepszin* (szolúbilis CD14 fragmentum, sCD14-ST, 13 kDa), a patogének által aktivált monociták/makrofágok szerológiai bizonyítékának tekinthető és a szepszis diagnosztikájában és prognosztikájában jól használható, specifikus és érzékeny új marker. Egyelőre nem történtek arra vonatkozó vizsgálatok, hogy a preszepszin mennyiben képes hozzájárulni a cirrózishoz társuló bakteriális fertőzések diagnosztikájához és a kórlefordulás előrejelzéséhez.

A pro-inflammatórikus folyamatokkal párhuzamosan zajló anti-inflammatórikus folyamatok szabályozzák a gyulladássalos válasz mértékét, illetve az általa kiváltott szövetkárosodás eltakarításához vezetnek. Amennyiben azonban a SIRS mellett zajló kompenzatórikus anti-inflammatórikus válasz (CARS) túlzott mértékű, a betegek pro-inflammatórikus válasza elégtelenné válik, és ezáltal csökkenhet a bakteriális fertőzések eliminálásának képessége. A CARS mértéke tehát szerepet játszhat májcirrózisban az infektív AD prognózisában, ez azonban a pro-inflammatórikus válaszhoz képest egyelőre jóval kevésbé vizsgált, és szerológiai diagnosztikája sem megoldott a klinikai gyakorlatban. A máj szöveti makrofágjai, a Kupffer-sejtek, központi szerepet játszanak a pro- és az anti-inflammatórikus reakció szabályozásában. A gyulladássalos folyamat során a májban lévő makrofágok felszínéről lehasadó hemoglobin-haptoglobin (Hgb-Hp) szkevendzser receptor (CD163) oldható formája a *szolúbilis CD163 (sCD163)* a keringésbe kerül, és szerológiai módszerek segítségével mérhetővé válik. A CD163 a máj M2-típusú makrofágjainak (anti-inflammatórikus, pro-reszolúciós) felszínén expresszálódik lokális mikroenvironmenti és anti-inflammatórikus faktorok (pl. IL-10) jelenlétében. Ennek megfelelően számos klinikai tanulmányban a magas sCD163 szérumszintet az anti-inflammatórikus folyamatok jellegzetes biomarkereként interpretálják. Az elmúlt években kimutatták, hogy az anti-inflammatórikus monociták és makrofágok szerepet játszanak májcirrózisban az AD és az ACLF patogenezisében is. Nincs azonban adat arra vonatkozóan, hogy a sCD163 szérumszintje által jelzett makrofág aktiváció milyen jelentőséggel bír májcirrózisban bakteriális fertőzés és/vagy AD során.

**Bakteriális fertőzések előrejelzésének jelentősége és lehetőségei** Májcirrózisban a már kialakult bakteriális infekciók korai és hatékony felismerése mellett ezen epizódok megbízható előrejelzése és ezáltal annak megelőzése szintén alapvető fontosságú a szövödmények uralásában, a progresszió lassításában és a mortalitás csökkentésében. A

bakteriális infekciók szerológiai és genetikai kockázati tényezőinek pontosabb megismerése egyrészt betekintést enged a bakteriális infekciókkal szembeni védekező folyamatok részleteibe, lehetővé teszi az egyes részfolyamatok klinikai jelentőségének felmérését is, másrészt olyan diagnosztikus laboratóriumi panelek kidolgozásához szolgálhat alapul, mellyel kiválasztható lesz az infekciók szempontjából leginkább veszélyeztetett betegcsoport, melynek szorosabb követése, illetőleg szupportív kezelésben és/vagy profilaktikus antibiotikum terápiában történő részesítése leginkább indokoltnak látszik. Az antibiotikum profilaxis hatékonyabb tervezésének fontosságát támasztja alá az egyre növekvő bakteriális rezisztencia problémája.

Ezen betegcsoportban ugyanakkor mindössze néhány *klinikai tényező* ismert, mint az előrehaladott májbetegség, a diabetes mellitus, vagy gasztrointesztinális vérzés jelenléte, melyek növelik a bakteriális infekciók és a BT kialakulásának kockázatát. Azonos súlyosságú májcirrózis esetén is különböző lehet az infekciók gyakorisága az egyes betegekben, ami arra utal, hogy kialakulásukat az ismert kockázati tényezőkhöz kívül számos egyéb, eddig nem vizsgált faktor befolyásolhatja. A veleszületett immunrendszer receptor fehérjéinek működését érintő ismert funkcionális genetikai polimorfizmusok megváltoztatják a patogének felismerését és eliminációját, ezáltal befolyásolva a gazdaszervezet veleszületett védekező mechanizmusait és hatással vannak a bakteriális fertőzések kialakulására májcirrózisban is. A tanulmányok többségében az egy pontos nukleotid polimorfizmusok (SNP) összefüggését azonban elsődlegesen az SBP kialakulásával kapcsolatosan írták le. A PRR-ok funkcionális következménnyel járó variáns genotípusainak jelentősége a nem-SBP típusú bakteriális fertőzések kialakulásának kockázatát illetően azonban csak kevéssé ismert. Az SBP a májcirrózishoz kapcsolódó infekcióknak csak mintegy 25%-t teszi ki; és egyes, nem-SBP típusú bakteriális fertőzések, mint például a pneumónia, lefolyásukat és súlyosságukat tekintve, megegyeznek az SBP-ével.

A kóros BT pontos detektálása májcirrózisban kiemelten fontos, azonban vitathatalanul nehéz feladat. Emberben kizárólag indirekt módon lehetséges a baktériumok mezenterialis nyirokcsomókba és a nyirokkeringésen keresztül a különféle távoli szervekbe való bejutásának detektálása. Az utóbbi időben különböző szerológiai markerekről igazolták, hogy azok a bélfőrával történő tartós expozíció markerei lehetnek. Egyelőre azonban a mindennapi klinikai gyakorlatban egyetemesen elfogadott, rutinszerűen használt specifikus szerológiai módszer(ek) nem állnak rendelkezésre. A BT markereknek ugyanakkor nemcsak a diagnosztikában lehet szerepük, hanem adott esetben akár terápiás célpontok is lehetnek. A kóros BT kimutatására elsőként használt szerológia marker az *endotoxin vagy LPS* volt. A molekula rövid felezési ideje és alacsony szenzitivitása miatt azonban már nem használják. A bakteriális infekciók diagnosztikájában használt különféle APP-k emelkedett szintje májcirrhosisban kóros BT jelenlétét tükrözheti, amennyiben a fertőzés aktuális jelenléte kizárásra kerül. Májcirrózisban az APP szinteknek a kóros BT kimutatásában való alkalmazhatóságát csak kevéssé vizsgálták, elsősorban a *lipopoliszacharid-kötő fehérjével (LBP)* ismertek adatok. Az LPS-hez viszonyítva kedvező, hogy az LBP felezési ideje hosszú, azonban rutin klinikai alkalmazását korlátozza a teszt magas ára és a hosszadalmas mérési folyamat. A *bakteriális genom fragmens (bactDNS)* májcirrózisban jelenleg intenzíven kutatott új BT marker. Májcirrózisban a bactDNS jelenléte a pro-inflammatorikus citokinek emelkedett szintjével, klinikai szempontból pedig a betegség szövődményeinek jelenlétével, az ACLF kialakulásával és a betegség rossz prognózisával társul. A bactDNS-t az LPS-nél jobb markernek tekintik, mert az expozíciót követően akár 1-3 nappal is kimutatható és összefügg az immunfolyamatok aktiválódásával is. A bactDNS-sel kapcsolatos kutatási eredmények alátámasztják továbbá azt is, hogy a BT és kóros következményei nemcsak az élő baktériumok szisztémás keringésbe jutásához, hanem a bakteriális termékekhez is ugyanúgy köthetők. A bactDNS-nek molekuláris biológiai technikával az ascitesből történő mennyiségi meghatározása ígéretes új módszernek tűnik a különféle szövődmények kialakulására nagy kockázatú betegcsoport kiválasztásában. Új fogalom is bevezetésre került, az ún. "molekuláris bakterascites", mely a tenyésztéssel negatív, ún. nem-neutrocitás ascitest jelenti, amikor is a hasvízben jelentős mennyiségű bactDNS mutatható ki. Ez az állapot magas rövidtávú halálozással jár. Az *egyéb BT markerekkel*, mint például a különféle

neutrofil granulocita eredetű fehérjék (*kalprotektin, baktericid/ permeabilitás fokozófehérje [BPI]*), májcirrhosisban jóval kevesebb adat áll rendelkezésre. Tekintve, hogy a BT kialakulásában a bélnyálkahártya-barrier strukturális és funkcionális károsodása meghatározó tényező, így az ezen folyamattal kapcsolatos biomarkerek elméletileg májcirrhosisban alkalmasak lehetnek a BT és annak következtében kialakuló szövödmények előrejelzésére. A bél barrierfunkciójának jellemzésére használható biomarkerek: a bélhámsejtek citoplazmatikus fehérjéinek, az *intesztinális zsírsavkötő proteinnek (I-FABP)*, a magas szintje, vagy a cöliákias betegen a szövettanilag igazolt totális vagy szubtotális boholyatrófia szerológia markere, a *citoszkeletális filamentózus (F) aktin ellen termelődő IgA típusú antitest (AAA-IgA)* jelenléte. A *táplálék gliadin fehérjéje ellene termelődő IgA típusú antitestek (AGA-IgA)* májcirrhosisban összefüggést mutattak a szukróz-laktulóz-mannitol abszorpciós teszttel mért megnövekedett intesztinális permeabilitással és a klinikailag jelentős portális hipertenzióval. A széklet magas *kalprotektin szintje* elsősorban a vastagbélben zajló gyulladást jelzi. Nem szabad figyelmen kívül hagyni azonban, hogy a betegség lefolyása során a portális hipertenzió következtében a gasztrointesztinális traktusban fellépő akut és krónikus vérzések a kalprotektin bélgyulladással kapcsolatos specificitását zavarják. A plazmában mért magas kalprotektin szint összefüggést mutat a visszatérő bakteriális infekciókkal és a kedvezőtlen betegséglefolyással társul alkoholos májcirrhosisban.

A mechanikai barrierfunkció károsodását jelző markerek mellett a bél mikroorganizmusainak sejtfelszíni szénhidrát vagy fehérje alkotóelemei ellen termelődött anti-mikrobiális antitestek a májzsugorban jelentkező immunológiai barrier működési zavarairól informálhatnak. Az anti-mikrobiális antitestek jelenlétét, az irodalomban a szövödményes vékonybél Crohn-betegség (CD) szerológiai jellegzetességeként tartják számon, és kialakulásában a genetikai fogékonyság szerepét hangsúlyozzák. A nem genetikai alapon, hanem elsősorban szerzett tényezők hatására létrejövő kóros BT, mint ahogyan az májcirrhosisban is történik, elméletileg szintén járhat fokozott anti-mikrobiális antitestképződéssel. Az antitestek jelenléte, elsősorban az IgA izotípusúaké, pedig előrejelezheti a BT következtében kialakuló szövödményeket és a progresszív betegséglefolyást. Az IgA antitestek a bélnyálkahártya immunrendszerének (GALT, gut-associated lymphoid tissue) fontos humorális komponensei.

Az emberi szervezet bizonyos fehérjéi ellen kialakuló antitestek (autoantitestek) jelenléte szintén tükrözheti a szervezetnek a bél mikroflórájára adott rendellenes immunválaszt. Az *atípusos perinukleáris anti-neutrofil citoplazmatikus antitest (atípusos P-ANCA)* antigénjeként autoimmun májbetegségekben azonosított humán 5-ös izotípusú  $\beta$ -tubulin (TBB-5) citoszkeletális fehérje és a bélbaktériumok sejtfelszínén ubiquiter módon megtalálható FtsZ fehérje között nagyfokú szerkezeti hasonlóság van, mely keresztreakció kialakulásához szolgálhat alapul. Az *anti-glikoprotein 2 (GP2) antitest* esetén feltehetőleg a gasztrointesztinális traktusban előforduló, az exokrin hasnyálmirigy zimogén granulumaiból szekretálódó szolúbilis innate immunitás fehérje és egy bakteriális komponens együttese a valódi antigén. A GP2 ugyanis szelektíven kötődik bizonyos kommenzális és a patogén baktériumokhoz, mint pl. az *Escherichia coli*. A GP2 a baktériumok külső membránjában található 1-es típusú pilusok FimH komponensét ismeri fel és szükséges az ostoros baktériumok ellen irányuló nyálkahártyaimmunválasz kialakulásához a béltraktusban. Mindamellet, hogy a GP2 FimH-val rendelkező baktériumok szolúbilis receptoraként funkcionál. A GP2-nek ugyanakkor membránhoz kötött formája is van a gasztrointesztinális traktusban: a Peyer-plakkok (follikulusokhoz asszociált epitélium) M-sejtjeinek apikális felszínén is expresszálódik és a mukózális antigének transzcitotikus receptoraként funkcionál. A GP2 így kulcsfontosságú szerepet tölt be a FimH-val rendelkező bélbaktériumokkal szembeni mukózális immunválasz iniciációjában is. Feltehetőleg a kommenzális baktériumokkal szembeni tolerancia és a kórokozókra adott immunválasz közötti egyensúly fenntartásában játszik szerepet. A GP2 ellen képződő, ún. target specifikus antitestképződés tükrözheti a bélbarrier fokozott mikrobiális terhelésnek való kitettségét, de akár interferálhat bizonyos immunmechanizmusokkal, melynek eredményeként a mukóza baktérium terhelése fokozódik. Ez egyrészt a nyálkahártyában túlméretezett gyulladással

válaszreakciót és a bélbarrier sérülését vonhatja magután. Másrészt azonban a bélben aktiválódó immunsejteknek a távoli szervekbe történő eljutásával (mint pl. enterohepatikus körforgás – máj) akár azok sérülése is kialakulhat a lokális bélkárosodás mellett. Az anti-GP2 antitest azonos az egyik típusú pankreász ellenes antitesttel (PAb), míg a *CUB zona pellucida-szerű domén 1 (CUZD1) ellenes antitest* annak másik típusával. A májban szintetizálódó és a komplement szabályozó fehérjék (CCP) szupercsaládjába tartozó  $\beta$ 2-GPI veleszületett immunitásban betöltött szerepére utal, hogy bakteriális LPS semlegesítő funkciója van, mely a fehérje 5-ös doménje (D5) és az LPS közvetlen interakciója révén valósul meg. A  $\beta$ 2-GPI csökkent szintje vagy funkciózavara károsíthatja a szervezet baktériumokkal szembeni védekezőképességét. Az *anti- $\beta$ 2-GPI antitestek* jelenlétében pedig akár a fehérje veleszületett immunitásban betöltött funkciói is zavart szenvedhetnek.

A bélnyárkahártya barrier zavart tükröző szerológiai markerek, illetőleg az anti-mikrobiális antitestek és a szervezetnek a bél mikroflórájára adott rendellenes immunválaszt tükröző autoantitestek májcirrózisban is hasznosak lehetnének a mindennapi klinikai gyakorlat számára, mint a BT potenciális biomarkerei. Májcirrózisos betegcsoportban mindezidáig azonban nem történtek olyan vizsgálatok, melyek elemezték volna esetleges összefüggésüket a szövődményes betegségforma kialakulásában, köztük a bakteriális infekciókkal.

## PRIMÉR SZKLEROTIZÁLÓ KOLANGITISZ (PSC)

**Epidemiológia és betegségfolyás** A PSC egy ritka, kolesztázissal járó krónikus májbetegség, mely férfiakban gyakoribb és a 30-40. életév között kerül felismerésre. Klinikai megjelenése és lefolyása is változatos. A betegség jellegzetessége az intra- és extrahepatikus epeútak perzisztáló és progresszív gyulladása, ami fibrózis kialakulásához vezet. A betegek jelentős részében emiatt végstádiumú májbetegség alakul ki. A kezelési lehetőségek nagyon korlátozottak. Nincs olyan elérhető gyógyszeres terápia, mely kuratív lenne vagy akár csak képes lenne megakadályozni a betegség progresszióját és a végstádiumú májelégtelenség, valamint a szövődmények kialakulását. A májcirrózis esetén az egyetlen lehetőség a májátültetés. Az epeúti szűkületek miatt jellegzetesek a visszatérő bakteriális kolangitisek, azonban minden ilyen epizód további májkárosodáshoz vezet. A PSC-hez társuló betegségek, mint a gyulladós bélbetegség, a betegséggel kapcsolatos terheket tovább növelik. Bizonyos malignus daganatok kialakulásának kockázata is jelentősen megnő (kolangiokarcinóma, kolorektális karcinóma). A PSC-s betegek életkilátásai jelentősen rosszabbak, a mortalitás mintegy négyszerese az átlagpopulációban észleltnél.

A betegség patogenezisét tekintve összetett, genetikai és környezeti tényezők együttesen játszanak szerepet a kialakulásában. Nagy valószínűséggel, eddig ismeretlen környezeti antigén(ek) következtében kialakuló autoimmun folyamat áll a háttérben. A fibrózis kialakulásában a máj csillagsejtjei és a portális miofibroblasztok vesznek aktívan részt mindezidáig tisztázatlan kereszt-kommunikációban a kolangiocitákkal. A betegség jelentős kapcsolatot mutat a humán leukocita antigén (HLA) régióval, és ez mintegy ezerszer erősebb a különféle, nem-HLA genetikai régiókkal mutatott kapcsolathoz képest. A T-sejtek központi szerepe a patogenetikai folyamatokban alátámasztott. A T-sejt aktiváció során különféle, a fibrogenézist elősegítő citokinek, mint például a TGF- $\beta$  (tumor növekedési faktor béta) szabadulnak fel. A betegség kialakulásában és progressziójában is fontos szerepet tulajdonítanak a bél-máj kölcsönhatásnak („*bél-máj tengely hipotézis*”). A korai teóriák a gyulladást okozó bakteriális termékeknek (pl. LPS) a bélből történő feltételezhető „*átszivárgása*” körül forogtak. Kísérletes eredmények alátámasztják a gyulladt, átteresztő bél szerepét a későbbi epeúti gyulladás kialakulásában. PSC-ben jellegzetes az intesztinális endotoxin expozícióra adott túlzott mértékű immunválasz, ugyanakkor az ismételt expozíció hatására tolerancia nem alakul ki. Az elhúzódó és aktív bélgyulladás miatt károsodik a bélnyárkahártya barrier funkciója, ezáltal lehetővé válik a kolangiociták későbbi endotoxin expozíciója. A kolangiocita tight junction-ök szétválása miatt azok különböző kémiai anyagok hatásának lesznek kitéve, mint például epesavak, melyek sérülést és gyulladást okozhatnak.



A gyulladt bélből a kóros BT során átkerülő mikrobiális antigének kiválthatják a veleszületett immunválaszt a TLR jelátviteli útvonalon keresztül. A genetikai vizsgálatok során a HLA-val kapcsolatos jelentős felismerések világítottak rá arra, hogy az antigén prezentáló sejtek felszínén lévő MHC komplexek az adaptív immunválasz részeként meghatározzák, hogy mely antigének tudnak a T-sejt receptorok (TCR) felé prezentálódni. A béleredetű antigének kétségtelenül jelentős kiváltó tényezői ezeknek a válaszmechanizmusoknak, és az aktivált T-sejtek klonális expanziója révén mind a béltraktusba, mind pedig a májba eljuthatnak, az endotélfelszíneket érintő adhéziós molekulaprofil átfedésnek köszönhetően (pl. mukozális addressin sejtadhéziós molekula [MAdCAM-1] és vaszkuláris sejtadhéziós molekula [VCAM-1]) és a kemokinC-C 25 motívum ligand [CCL25] szekréciója révén.

**Stratifikáció és prognosztika** Eddig nem került azonosításra olyan biomarker, mely képes lenne megbízhatóan jelezni a betegségaktivitást, illetőleg előrejelezni a betegség progresszióját. Következésképpen, a PSC-ben szenvedő betegek esetén a pontos kockázatbecslés, betegség stratifikáció és az utánkövetési stratégia kérdése sem megoldott. Az első, és a mai napig is leginkább használt klinikai prognosztikai modell a *Mayo kockázati pontszám*. A PSC korai szakaszában a pontrendszer szétválasztó ereje azonban nem megfelelő és a betegségfolyással kapcsolatos előrejelezhető időintervallum is csak négy év körüli. A különféle klinikai tanulmányok egyöntetűen összefüggést tudtak kimutatni az *alkalikus foszfatáz (ALP)* szint és a betegség progressziója között, ugyanakkor annak individuális alkalmazása nehézségekbe ütközik. Az ALP emelkedése ugyanis a betegségfolyás során fluktuál, továbbá az emelkedés mértékét a különféle biliáris szövödmények kialakulása is befolyásolja. Gyakori az *IgG* emelkedés, valamint az *IgG izotípusú atípusos P-ANCA* jelenléte a szérumban, melyek azonban nem tekinthetők betegség-specifikus szerológiai markereknek, egyéb autoimmun májbetegségben is jellegzetesek. A P-ANCA IgG egy jellegzetes HLA genotípussal rendelkező csoportot azonosít (HLA-B\*08 and DRB1\*03). Az emelkedett szérum *IgG4 szint* kedvezőtlen betegségfolyással társul, de csak a betegek mintegy 10%-ban észlelhető. Nem eldöntött kérdés, hogy a PSC magas IgG4 szinttel rendelkező szubtípusa esetén a kezelés szisztémás glükokortikoiddal történő kiegészítése előnyös lehet-e a betegségprogresszió megfékezésére.

A *biliáris traktus és a bél párbeszédét jellemző biomarkerek* kutatásával PSC-ben a betegség stratifikációja szempontjából klinikailag releváns alcsoportok kijelölésén túl új, a patogenezis szempontjából jelentős összefüggések feltárására is lehetőség nyílik. Ez pedig új kezelési lehetőségek felfedezését segítheti elő. A biliáris nedvből kimutatható markerek PSC-ben történő használatát a szerológiai markerekkel szemben jelentősen korlátozza a mintavételhez szükséges invazív beavatkozás. Korszerű antitest array technológiát alkalmazva a pro-inflammatórikus markerek közül az emelkedett szérum *IL-8* mutatott a legerősebb összefüggést a rosszabb transzplantáció-mentes túléléssel. Az *IL-8* hiperszekréció a betegség patogenezisében fontos, központi szereplőnek gondolható. A megnövekedett biliáris *IL-8* szintnek, melyet a biliáris epitel sejtek a fokozott LPS expozíció hatására termelnek, proliferációt elősegítő hatása van és fokozza a fibrogenézis gének expresszióját, mely jól példázza a gyulladás és a fibrogenézis folyamatainak összekapcsolódását. A *vaszkuláris adhéziós protein (VAP-1)* expressziója és amin oxidáz enzimaktivitása a máj endotéliumában PSC-ben megnövekszik, melynek következtében annak szolubilis formája (sVAP-1) a betegek szérumban megemelkedik. Az emelkedett sVAP-1 pedig kedvezőtlen betegségfolyással társult. A fokozott VAP-1 aktivitás következtében az egyébként csak a bél endotéliumban expresszálódó MAdCAM-1 a májszövetben is megjelenik. A MAdCAM-1 megköti az effektor T limfocitákon lévő  $\alpha 4\beta 7$  integrin receptorokat, mely a limfocita hominghoz szükséges. A májban kórosan expresszálódó MAdCAM-1 miatt így nemcsak a bélbe, hanem a májszövetbe is bekerülnek a bélben aktiválódott effektor T limfociták. A VAP-1 fokozott megjelenésében és intrahepatikus aktivitásában szerepe lehet a megváltozott bélflóra és a gyulladt áteresztő bél következtében a portális traktusba fokozottan bekerülő aminoknak. A VAP-1 patológiás amin szubsztátja a cisteamin, melynek metabolizmusa során létrejövő aldehid származék rendellenes

kollagénkötést eredményez, és elméletileg hozzájárulhatnak a fokozott fibrogenézishez. A VAP-1 az  $\alpha\beta7$ /MAdCAM-1 interakciót elősegítő hatása miatt a jövőben potenciális terápiás célpont lehet. A VAP-1 antagonistá révén szabályozhatóvá válhat a gyulladt bélből az effektor T limfocitáknak a májba történő vándorlása és ezáltal a fibrogenézis gátlása is. Az *IgA izotípusú atípusos P-ANCA* jelenléte tükrözheti a szervezetnek valamilyen bél eredetű mikrobiális antigénre adott egyfajta rendellenes B-sejt válaszát azonban jelentőségét eddig azonban kevéssé vizsgálták. További jellegzetesség PSC-ben a *biliáris epitél sejtek ellen kialakuló autoreaktív IgA antitest* képződés. Az IgA izotípusú autoantitest jelenlétében a betegség progressziója egyértelműen gyorsabb volt, mint annak hiányában. Hasonló összefüggés nem állt fenn az IgG izotípusú antitestek esetén, mely felhívja a figyelemet PSC-ben az IgA izotípusú antitestek vizsgálatának jelentőségére és az ezzel kapcsolatos patogenetikai utak vizsgálatára. A biliáris epitéliumot szegélyező plazmasejtek által termelt IgA az epében nagy mennyiségben jelenlévő immunglobulin, mely központi szerepet tölt be az intesztinális patogének elleni védelemben. A plazmasejtek által termelt IgA-nak az epébe történő transzportálását (sIgA) a biliáris epitélsejtek végzik. Az IgA izotípusú antitestek alapvetően fékezik az immunológiai folyamatokat (ún. immun-represszív hatású), ugyanakkor bizonyos körülmények között akár patogénné is tudnak válni, az immunológiai folyamatok aktiválásával.

## CÉLKITŰZÉSEK

1., Célul tűztük ki, hogy egy nagy létszámú, prospektíven követett májcirrózisos beteganyagot vizsgálva a klinikai gyakorlat számára szerológiai módszerek alkalmazásával optimalizáljuk a bakteriális infekciók diagnosztikáját és klinikai lefolyásuk előrejelzést.

1.1., Különbéle pro- és anti-inflammatórikus akut fázis fehérje (APP) szérum szintek (preszepszin, C-reaktív protein, prokalcitonin, és szolúbilis CD163)

1.1.1. diagnosztikus hatékonyságának meghatározása a bakteriális infekciók jelenlétének és súlyosságának kimutatásában (mind individuálisan, mind pedig a markerek kombinációja esetén)

1.1.2. diagnosztikus hatékonyságában bekövetkező változások elemzése a májbetegség súlyosságának és a betegség-specifikus szövődmények jelenlétének ismeretében

1.1.3. előrejelző értékének vizsgálata a bakteriális infekciók klinikai lefolyásában

2., Célul tűztük ki a májcirrózishoz társuló immundiszfunkciós (CAID) szindróma új komponenseinek azonosítását a veleszületett immunrendszer különféle mikróbamintázatot felismerő receptor fehérjéinek (PRR) vizsgálatával. Ez egyrészt hatékonyabbá teheti a bakteriális infekciók kialakulásának előrejelzését, másrészt, elősegítheti ígéretes új terápiás lehetőségek azonosítását a bakteriális infekciók szupportív kezelésében.

2.1., A lektin komplement útvonal szolúbilis PRR fehérjéinek [mannózkötő lektin (MBL) és fikolinok (FCN-2 és FCN-3)] és effektor molekuláinak [mannózkötő lektin asszociált szerin proteáz-2 (MASP-2)], valamint a különféle sejtfelszíni és intracelluláris PRR fehérjék (toll-szerű receptor [TLR2 és -4] és NOD2/CARD15) és kapcsolódó innate immunitás fehérjék (haptoglobin [Hp]) funkcionális következményekkel járó ismert genetikai polimorfizmusainak vizsgálata azzal a céllal, hogy meghatározzuk

2.1.1. előrejelző értéküket a bakteriális infekciók kialakulásában, valamint a fertőzéssel összefüggésbe hozható halálozással kapcsolatosan

2.1.2. kapcsolatukat a bakteriális transzlokáció (BT) ismert és újonnan azonosított szerológia markereivel

3., Célul tűztük ki, hogy májcirrózisban és primér szklerotizáló kolangitisben (PSC) vizsgáljuk a BT folyamatát jelző különféle szerológiai markerek előrejelző értékét a szövődmények és

progresszív betegségforma kialakulásában. Továbbá a BT mechanizmusainak pontosabb megértését, mely elősegítheti új patogenetikai útvonalak és terápiás célpontok azonosítását.

3.1., Különbéféle sejtfelszíni glikán komponensek és bakteriális fehérjék ellen kialakuló anti-mikrobiális antitestek, valamint a veleszületett immunrendszer fehérjéi (glikoprotein 2 [GP2], CUB zona pellucida-szerű domén 1 [CUZD1] és  $\beta$ 2-glikoprotein I [ $\beta$ 2-GPI]) ellen irányuló auto-antitestek

3.1.1. klinikai jelentőségének tisztázása a szövődényes és progresszív betegségfolyás kialakulásában

3.1.1.1. májcirrózisban a bakteriális infekciók kialakulásában és a fertőzéssel összefüggésbe hozható halálozásban

3.1.1.2. PSC-ben a dekompenzált májcirrózis kialakulásában és a májbetegséghez kapcsolódó halálozásban

3.1.2. *in vitro* jellemzése az antitestek kialakulásnak pontosabb megértése céljából

3.2., Az enterocita integritás sérülését jellemző emelkedett intesztinális zsírsavkötő protein (I-FABP) szint, valamint a bélbarrier károsodást jelző, a citoskeletális filamentózus (F) aktin és a táplálék gliadin fehérje ellen kialakuló szerológiai immunválasz (IgA típusú anti-F-actin [AAA] és anti-gliadin antitestek [AGA])

3.2.1. klinikai jelentőségének tisztázása a szövődényes és progresszív betegségfolyás kialakulásának előrejelzésében PSC-ben

3.3., Különbéféle APP szérumszintek előrejelző értékének meghatározása a bakteriális fertőzések kialakulásában májcirrózisban

## BETEGEK

### KRÓNIKUS MÁJBETEGSÉGEK

**Májcirrózis** A Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Belgyógyászati Intézetének Gasztroenterológiai Tanszékén 2006 májusa óta zajlik prospektív módon a gondozott májcirrózisos betegek klinikai adatainak és biológiai mintáinak gyűjtése, a hepatológiai járóbeteg-rendelésen történt tervezett vagy rendkívüli kontroll vizsgálatok alkalmával, illetőleg a fekvő osztályon akut dekompenzáció (AD) miatti hospitalizáció esetén. 2011 decemberéig 404 betegről történt mintavétel (férfi/nő: 226/196, életkor: 56 év [IQR: 50-64], betegségstartam a diagnózis felállításától:  $3,9 \pm 4,2$  év). A betegek részletes klinikai adatainak összegyűjtése a vizsgálatba való beválasztáskor történt meg. Az ekkor elvégzett rutin laborvizsgálatokkal egyidőben a kutatásokhoz szükséges szérumszám, plazma és teljes vér minták gyűjtését is elvégeztük. A beválasztáskori és az azt megelőző betegség történetre vonatkozó klinikai adatok összegyűjtését és rögzítését a betegek dokumentációjának áttekintésével előre meghatározott kérdéssor segítségével végeztük. A májbetegség súlyosságának megállapítása a Child-Pugh osztályozás és a MELD (Model for End-Stage Liver Disease) pontrendszer alapján történt, valamint meghatároztuk a betegség klinikai stádiumát is (kompenzált/dekompenzált betegségforma). Akut dekompenzáció esetén rögzítettük annak típusát, mely a következők közül egy vagy több lehetett egyidejűleg: hirtelen felszaporodó ascites, heveny gasztrointesztinális (GI) vérzés, akut hepatikus encefalopátia és/ vagy bakteriális fertőzés.

A **májcirrózisos betegek követése** során a gondozó gasztroenterológus rögzítette a kórházi felvételt igénylő AD epizód időpontját és típusát, valamint a bakteriális fertőzés jelenlétét. Az infekciók diagnosztikája minden esetben a fertőzésnek megfelelő klinikai tünetek jelenlétén, a laboratóriumi paraméterek (fehérvérsejtszám, CRP, PCT), a vizelet üledék-, és képkalkotó vizsgálatok (hasi ultrahang és mellkas röntgen felvétel), valamint ascites jelenléte esetén az abból történt diagnosztikus mintavétel (neutrofil szám meghatározás) eredményein alapultak. A vizsgálatok eredményeitől függően az adott

fertőzés helyének megfelelően mikrobiológiai vizsgálatot is végeztünk. Szepszis és nem azonosított fertőzésforrás esetén hemokultúrát is vettünk. A laboratóriumi paraméterek közül a következők támogatták a bakteriális fertőzés jelenlétének kóriméjét: emelkedett fehérvérsejt szám (abszolút: >10,8 G/L vagy relatív [leukopéniás betegekben]: a korábbi stabil érték megduplázódása esetén) magas neutrofil granulocita aránnyal (>76%), illetve emelkedett szérums CRP (>10,0 mg/L) és/ vagy PCT értékkel (>0,15 µg/L). A bakteriális infekciók jellemzése a továbbiakban a hagyományos kritériumok szerint történt. Az alábbi bakteriális fertőzéseket diagnosztizáltuk: (1) Spontán bakteriális peritonitis (SBP): ascites neutrofil sejt-szám: >250/ mm<sup>3</sup> és/vagy pozitív eredményű ascites tenyésztés, másodlagos abdominális infekcióforrás hiányában. (2) Húgyúti fertőzés: dysuriás panaszok, pyuria, (vizelet fehérvérsejtszám >10/mm<sup>3</sup>) és/vagy pozitív vizelettenyésztési lelet. (3) Tüdőgyulladás: köhögés, pozitív mellkas röntgen vizsgálat, pozitív köpettenyésztés esetén. (4) Egyéb: bőr- és lágyrész fertőzések, epeúti fertőzések, gasztroenteritisz, osteomyelitis, endokarditisz. (5) Ismeretlen eredetű bakteriális fertőzés: fertőzéses tünetek, hemokultúrával igazolt bakterémia mellett sem egyértelműen azonosítható szervspecifikus góc. A bakteriális fertőzést akkor tekintettük súlyosnak, amennyiben az szervégtelenséggel (OF, organ failure) társult. A szervégtelenség jelenlétének és stádiumának meghatározása a májbetegekre kidolgozott CLIF-C Szervégtelenség Score segítségével, annak elérhetőségét követően, retrospektíven történt.

A követési időszak 5 évig vagy a májtranszplantációig/ a beteg haláláig/ a követésből való kiesésig tartott (azaz ha a betegről további adat nem volt elérhető). Azon eseteket, ahol nem máj eredetű halálozás történt, a halál bekövetkeztekor cenzoráltuk. A 266 járóbetegként bevont beteg esetén 85 beteg (32%) halt meg a követés alatt, a halálozásig eltelt medián idő 656 [IQR: 277-971] nap volt. A 181 életben maradt beteg medián követési ideje 1107 [IQR: 411-1825] napig tartott. A 185 AD miatti hospitalizáció alkalmával bevont beteg esetén az AD epizóddal kapcsolatba hozható halálozás: 28 napnál 19,5%-nak (36/185), míg 90 napnál 25,9%-nak (48/185) adódott. A 119 beteg medián követési ideje 886 [IQR: 343-1825] napig tartott. A gyűjtött adatokat egy elektronikus adatbázisba vittük át és ott tároltuk. A vizsgálati időszak végén, 2013. december 31-én minden klinikai adatot kinyertünk további analízis céljából. A betegek egy részénél a követési idő alatt több mintavétel is történt, így párminták mérésére is lehetőségünk volt.

**Autoimmun májbetegségek** Az autoimmun májbetegségek ritka előfordulására tekintettel ezen kezdeményezésünkhöz öt magyar (Semmelweis Egyetem I.sz. Belgyógyászati Klinika és I.sz. Gyermekklinika, Pécsi Tudományegyetem, Szent Ferenc Kórház és Borsod-Abaúj-Zemplén Megyei Kórház, Miskolc) és egy német hepatológiai centrum (Otto-von-Guericke Egyetem, Magdeburg) is csatlakozott.

**Primér szklerotizáló kolangitisz** 2006. január és 2007. december között 67, jól jellemzett PSC beteg bevonására került sor (felnőtt: 56 [férfi/nő: 40/16], medián életkor a beválogatáskor: 29 év [IQR: 19-37], medián betegség időtartam: 6 év [IQR: 3-12] és gyermekek: 11 [fiú/lány: 8/3], medián életkor a beválogatáskor: 10 év [IQR: 6-12], betegség időtartam: 5 év [IQR: 1-7]). A betegek részletes klinikai adatainak összegyűjtése a vizsgálatban való beválasztáskor történt meg. Az ekkor elvégzett rutin laborvizsgálatokkal egyidőben történt meg a kutatásokhoz szükséges szérums, plazma és teljes vér minták gyűjtése is, valamint meghatároztuk a módosított Mayo kockázati pontszámot [MRS]. A beválasztáskori és az azt megelőző betegség történetre vonatkozó klinikai adatok összegyűjtését és rögzítését a betegek dokumentációjának áttekintésével előre meghatározott kérdéssor segítségével végeztük.

A **PSC betegek követése során** a tervezett és a soron kívüli kontroll vizitek, valamint a kórházi bennfekvések alkalmával a gondozó gasztroenterológus rögzítette a laboratóriumi adatokat, a képalkotó és az endoszkópos leleteket, a gyógyszeres kezelést, a szövödmények dátumát és típusát (cirrózis, kolorektális daganat, biliáris traktus daganata: epeúti karcinoma, epehólyag daganat vagy epeúti gyulladás). A gyűjtött adatokat egy elektronikus adatbázisba vittük át és ott tároltuk. A vizsgálati időszak végén, 2015. december

1-én minden klinikai adatot kinyertünk további analízis céljából. Kedvezőtlen betegségkimenetelként definiáltuk ha a májbetegség szövődményeinek következtében OLTx volt szükséges és/ vagy a beteg elhalálozott (összetett végpont). A követési időszak 10 évig vagy az OLTx/ a beteg haláláig/ a követésből való kiesésig tartott (azaz, ha a betegről további adat nem volt elérhető). Azon eseteket, ahol nem máj eredetű ok miatti elhalálozás történt, a halál bekövetkeztekor az esetet cenzoráltuk. A beválasztástól számított medián követési idő 2646 [IQR: 401-3130] nap volt.

**Autoimmun májbeteg kontroll csoport** primer biliáris kolangitiszben (PBC, n=102) (férfi/nő: 4/98 és median életkor a beválogatáskor: 60 év [IQR: 53-67]) és autoimmun hepatitiszben (AIH) (n=54) (férfi/nő: 4/50 és median életkor a beválogatáskor: 50 év [IQR: 38-59]) szenvedő betegekből állt, akiknél még a májcirrózis nem alakult ki.

**Egyéb krónikus májbeteg (CLD) kontroll csoport** 119 krónikus C vírus hepatitises betegekből állt (krónikus HCV, ffi/nő: 50/59 és medián életkor a beválogatáskor: 55 év [IQR: 47-65]).

**GYULLADÁSOS BÉLBETEGSÉGEK** A Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Belgyógyászati Intézetének Gasztroenterológiai Tanszékén 2005 januárja óta zajlik prospektív módon a gondozott IBD betegek (Crohn-betegek [CD] és colitis ulcerosában szenvedők [UC]) klinikai adatainak és biológiai mintáinak gyűjtése, a járóbeteg-rendelésen történt tervezett vagy rendkívüli kontroll vizsgálatok alkalmával, illetőleg a fekvő osztályon a súlyos relapszusok miatti hospitalizáció esetén. 2010 júniusáig 458 betegről történt mintavétel (CD: 271, [férfi/nő: 115/156, medián életkor a diagnózis időpontjában: 25 év [IQR: 19-33] és UC: 187, [férfi/nő: 86/101, medián életkor a diagnózis időpontjában: 33 év [IQR: 23-43]). A betegek részletes klinikai adatainak összegyűjtése a vizsgálatban való beválasztáskor történt meg. Az ekkor elvégzett rutin laborvizsgálatokkal egyidőben történt meg a kutatásokhoz szükséges szérum, plazma és teljes vér minták gyűjtése is. A beválasztáskori és azt megelőző betegség történetre vonatkozó klinikai adatok összegyűjtését és rögzítését a betegek dokumentációjának áttekintésével előre meghatározott kérdéssor segítségével végeztük.

Az **IBD betegek követése során** a gondozó gasztroenterológus rögzítette a tervezett és soron kívüli ambuláns betegevizitek, valamint a kórházi bennfekvések alkalmával a betegség klinikai, radiológiai, endoszkópos és laboratóriumi aktivitására, a gyógyszeres kezelés hatékonyságára és a betegség kimenetelére vonatkozó adatokat (szövődmény kialakulása, tromboembóliás esemény bekövetkezése, sebészeti beavatkozás szükségessége). A gyűjtött adatokat egy elektronikus adatbázisba vittük át és ott tároltuk. A vizsgálati időszak végén, 2013. október 1-én (CD beteg kohorsz) és 2015. május 31-én (UC beteg kohorsz) minden klinikai adatot kinyertünk további analízis céljából. A diagnózistól eltelt medián követési idő a CD kohorsz esetén 108 hónap [IQR, 65-178], míg UC kohorsz esetén 135 hónap [IQR, 84-213] volt. Crohn-betegségben a kedvezőtlen betegségkimenetelként defináltuk a szövődményes betegségforma kialakulását: strikturizáló (szűkület kialakulása) és belső penetráló betegségforma. A perianális penetráló betegséget külön szövődményként kezeltük, elkülönítve a belső penetráló formától. Műtéti igénynek kizárólag a CD-asszociált hasi műtéteket (rezekciókat) tekintettük. Colitis ulcerosában kedvezőtlen betegségkimenetelként defináltuk a betegségaktivitás miatti hospitalizáció szükségességét, az extenzív betegség kialakulását (E1/E2 – E3 lokalizáció változás), tartós immunszuppresszív kezelés szükségessége és kolektómia). A betegek jelentős részétől (n = 316) a későbbiek során több alkalommal is történt vérvétel.

Az IBD betegek esetén a keresztmetszeti tanulmányokat multicentrikus vizsgálat keretében végeztük. Gasztroenterológiai munkacsoportunk 2005-ben csatlakozott a Semmelweis Egyetem, I. sz. Belgyógyászati Klinika Gasztroenterológiai Munkacsoportja által létrehozott és koordinált magyar IBD Study Group-hoz (Dr. Lakatos Péter László), mely lehetővé tette a résztvevő centrumok részére, az összegyűjtött szérum- és DNS minták (n=990), (CD: 740, férfi/nő: 337/403, életkor: 36,7 ± 12,7 év, betegség tartam a diagnózis

felállításától:  $8,7 \pm 7,6$  év; UC: 250 férfi/nő: 114/136, életkor:  $42,9 \pm 14,4$  év, betegségtartam a diagnózis felállításától:  $11,2 \pm 9,2$  év), valamint a keresztmetszeti klinikai adatokat tartalmazó adatbázis közös használatát tudományos munkavégzéshez.

**COELIAKIA** Százkilven egymással rokonságban nem álló felnőtt coeliakiás beteget (férfi/nő: 71/119, átlagéletkor:  $39,9 \pm 14,1$  év) és azok 66 első fokú rokonát (testvérek, átlagéletkor:  $37,7 \pm 13,9$  év) vizsgáltunk. A 190 betegből 82 beteg szérumát a diagnózis felállításának idejében gyűjtöttük (*Coeliakia 1 csoport*) és ezek közül további 30 beteg szérumszintjét újraértékeljük hosszantartó gluténmentes diéta (GFD) után. A medián követési idő a mintagyűjtések között  $28,5$  hónap volt [IQR:18-52]. A fennmaradó 108 beteg esetben a coeliakia diagnózisát korábban állapítottuk fel, és a vizsgálat ideje előtt a betegek GFD-t tartottak. Ezt a 108 beteget további két külön csoportra osztottuk a vérvételkor aktuális TGA és EMA státuszuk és a mintagyűjtés alatti diétás compliance-nek megfelelően. A 33 betegnek továbbra is pozitív volt az EMA és TGA eredménye (*Coeliakia 2 csoport*) a medián időtartam  $3,5$  hónap volt [IQR: 1-11]. Megfelelő compliance-t jelentett a diagnózishoz képest csökkent antitest titer. A fennmaradó 75 betegnek negatív EMA és normál TGA titer volt (*Coeliakia 3 csoport*), medián követési idő:  $21$  hónap [IQR: 6-85]. A betegség diagnózisakor észlelt klinikai megjelenési formájáról részletes adatgyűjtés történt és azt az alábbiak szerint osztályoztuk: (1) súlyos, generalizált malabszorpció (legalább négy tünet jelenléte az alábbi ötből: hasmenés, hasfeszülés, fogyás, anémia, hipoproteinémia); (2) nem specifikus GI tünetek, melyek nem befolyásolták az általános állapotot (hasmenés, székrekedés, puffadás, visszatérő hasi fájdalom vagy hányás, refluxbetegség); (3) vashiányos anémia jelentős hasi panaszok nélkül; (4) dermatitis herpetiformis; (5) tünetmentes betegség (populációs szűrés); (6) egyéb (autoimmun betegségek, csökkent csontsűrűség, májbetegség, idegrendszeri betegség).

**EGÉSZSÉGES KONTROLL CSOPORT** A különböző betegcsoportok mintáinak összegyűjtésével párhuzamosan, 400 egészséges egyén (HC) (férfi/nő: 190/ 210) szérummintáit is összegyűjtöttük. A kontroll csoportok összeállítása az egyes tanulmányok esetén úgy történt, hogy az életkorban és nemben illesztett legyen a vizsgált betegcsoportéhoz és az az adott tanulmányok esetén került megadásra. A kontroll csoport tagjainak nem volt ismert gasztrointesztinális vagy májbetegsége.

## LABORATÓRIUMI MÓDSZEREK

A vérvételt követően a szérum és plazma, valamint a teljes vérből szeparált DNS mintákat az egyes laboratóriumi vizsgálatok elvégzéséig  $-70^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk.

### Szerológiai vizsgálatok

*A veleszületett immunrendszer fehérjéi* A **lektin komplement útvonal PRR fehérjéinek (mannóz-kötő lektin [MBL] és fikolinok [FCN-2 és FCN-3])** szérumszint meghatározására az irodalomban közölt módszereket alapul véve két monoklonális antitest felhasználásával enzimhez kapcsolt immunoszorbens módszereket (ELISA) állítottunk be (**1. táblázat**). Az MBL esetén a mintákat három különböző hígításban (1:5, 1:25 és 1:125), míg a FCN-ok esetén a mintákat egyféle hígításban (1:10 az FCN-2 és 1:1000 az FCN-3) ugyanazon a lemezen duplikátumként mértük, és az átlagértékeket használtuk. Amennyiben a variációs koefficiens (CV)  $>20\%$ -nak adódott, ismételt mérés történt. Az MBL esetén az irodalmi adatokat alapul véve az alábbi kategóriákat állapítottuk meg: abszolút MBL hiány:  $<100$  ng/mL, alacsony MBL szint:  $100-500$  ng/mL, normál MBL szint:  $>500$  ng/ml szérum koncentráció esetén. A szérum MBL antigén szint pontosan jelzi a működő molekulákat is. Szoros összefüggés ismert mind a mannózkötő assay, mind pedig a komplement aktivációs C4b depozíciós assay során meghatározott MBL funkció, és az általunk említett módon mért



QUANTA Lite® ELISA, INOVA Diagnostics, San Diego, CA, US és az **endotoxin core ellenes antitest [EndoCab]**, Hycult Biotechnology, Uden, Hollandia), másrészt glikán típusú antigének ellen kialakuló válaszkésztséget vizsgáltunk (**anti-Saccharomyces cerevisiae [ASCA, gASCA]**, **anti-mannobiozid [AMCA]**, **anti-laminaribiozid [ALCA]** és **anti-chitobiozid [ACCA] antitestek**, Glycominds Ltd IBDXR, Lod, Israel). Az anti-OMP Plus™ esetén az antigén egy Gram-negatív és egy Gram-pozitív baktériumokból származó proteinkeverék (a pontos összetételt a gyártó titkosította, INOVA Diagnostics, San Diego, CA, US), de különbözik az *Escherichia coli* külső membrán porin C antigéntől. Az anti-OMP Plus™ és az anti-OmpC antitestek (Prometheus Laboratories Inc., San Diego, CA, US) így szintén különbözöek. Az EndoCab esetén az antitestképződés négyféle – *Pseudomonas aeruginosából*, *Salmonella typhimuriumból*, *Escherichia coliból* és *Klebsiella aerogenesből* származó – endotoxin fragmentumok keverékéből álló összetett antigén ellen alakul ki. Az ASCA a *Saccharomyces cerevisiae* külső membránjában található mannóz antigén, míg az egyéb anti-glikán antitestek a glikokalixban található különféle szénhidrátkomponensek ellen irányulnak. Az anti-mikrobiális antitest vizsgálatok esetén a meghatározásokat a gyártók utasításainak megfelelően végeztük, a mintákat duplikátumként mértük. Az eredményeket önkényesen meghatározott egységekben, a gyártó által megadott egyenlet segítségével fejeztük ki (a pozitívitás küszöbértékeit a **2. táblázatban** adtuk meg). Az eredményeket mind az abszolút értékük, mind a pozitívitásuk gyakorisága szerint megadtuk.

A target specifikus *autoantitestek* közül az alábbiakat vizsgáltuk: **pankreász ellenes antitestek (PABs)** (CUB zona pellucida-szerű domén 1 (**CUZD1**) és a glikoprotein 2 (**GP2**) fehérje **ellenes antitestek**), **béta-2 glikoprotein ellenes antitestek (anti-β2-GPI)** és **anti-neutrofil citoplazmatikus antitestek (ANCA)**. Az anti-GP2 meghatározás esetén két különböző cég által gyártott rekombináns 4-es izoformájú GP2-t tartalmazó ELISA (QUANTA Lite® ELISA, anti-MZGP2, INOVA Diagnostics, San Diego, CA, US és GA Generic Assays, anti-GP2, Dahlewitz/Berlin, Németország]) illetve egy GP2-t expresszáló transzfektált HEK 293 sejteket tartalmazó IIF biochip (Morbus-Crohn Mosaic 1, rPAG2, Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, Lübeck, Németország) felhasználásával végeztünk vizsgálatokat (**2. táblázat**) és az eredményeket össze is vetettük. A háromféle anti-GP2 antitest esetén az egyes izotípusú csoportokban (IgA és IgG) külön-külön értékelve meghatároztuk a tesztek közötti egyezés fokát, megadva a konkordancia egyúthatható értékeket is. Az anti-β2-GPI antitest meghatározást csak ELISA (QUANTA Lite™, αβ2-GPI, INOVA Diagnostics, San Diego, CA, US), míg az anti-CUZD1 antitest és az ANCA vizsgálatokat csak IIF rendszerben (Morbus-Crohn Mosaic 1, rPAG1 és ANCA, Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, Lübeck, Németország) végeztük el. Az előbbi esetén CUZD1-t expresszáló transzfektált HEK 293 sejtek, míg az utóbbi esetén etanol- és a formalin-fixált humán perifériás neutrofil granulocita preparátumokon párhuzamos használatával. Kísérletes eredmények szerint a CUZD1-t expresszáló HEK293 sejteken megfigyelhető IIF kép megfeleltethető a korábban fagyasztott humán pankreász szöveten leírt retikulogranuláris (2-es típusú) Pab mintázatnak, míg a GP2-t expresszáló sejteken látható mintázat a cseppszerű festődéssel (1-es típus) azonos (**9. ábra**). Az ANCA mintázatok értékelése az ANCA Konszenzus Nyilatkozatban foglaltak szerint történt az etanol- és formalin fixált szubsztrátokon történő együttes viselkedés alapján és az alábbi mintázatok kerültek leírásra: citoplazmatikus (C-ANCA), típusos perinukleáris (P)-ANCA, valamint atípusos P-ANCA. Az IIFT lemezek leolvasását EUROStar Plus mikroszkóp kékfényű LEDjének segítségével (EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG) végeztük 400x-os nagyítást alkalmazva.

A **totál immunglobulin (Ig) A, G és M** meghatározások nefelometriás módszerrel történtek. Az IgA esetén a referencia tartomány 0,7- 4 g/L volt. A totál IgA-hoz kötődő szekretoros komponens (SC) (**szekretoros immunglobulin A, sIgA**) meghatározására két antitest felhasználásával szendvics ELISA módszert állítottunk be. A mikrotiter lemezeket (lapos aljú, nagy kötő kapacitású Greiner Bio-One, Mosonmagyaróvár, Magyarország) egy éjszakán át +4°C-on inkubálva fedtük 3 µg/mL poliklonális birka anti-humán sIgA-val (Antibodies-Online GmbH, Aachen, Németország) karbonát/bikarbonát pufferben (pH 9.6). Ezután a lemezeket



0,02% Tween-20-at tartalmazó foszfáttal pufferelt sóoldatban (PBS) hígított 1%-os borjú szérum albumin (BSA, Sigma-Aldrich, Saint Louis, Mo, USA) oldattal blokkoltuk. Az előre hígított szérumokat (1:128) duplikátumban vittük fel, és szobahőmérsékleten 1 órán keresztül együtt inkubáltuk az ismert koncentrációjú, referenciaként használt, humán kolosztrumból tisztított sIgA-val (Athens Research & Technology, Athens, GA, USA). Ötöszi mosás után egy specifikus torma peroxidáz (HRP) konjugált anti-humán IgA ( $\alpha$ -lánc specifikus) antitest (Sigma-Aldrich, Saint Louis, Mo, USA) vittünk fel 1:5000 hígítva 1% BSA-t tartalmazó PBS (pH 7,4) és 60 percig inkubáltuk szobahőmérsékleten. A színreakciót a tetrametil-benzidin dihidroklorid (TMB, Sigma-Aldrich, Schnellendorf, Németország) szubsztrát adta, melyet 2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-val állítottuk le, és azonnal lemértünk 450 nm-en egy Labsystem Multiscan MS lemez olvasó (Thermo Scientific, Budapest, Hungary) segítségével. Az eredmények kiszámítása a Genesis szoftver használatával történt, négy paraméteres görbeillesztéssel. A mérés sorozaton belüli (intra-assay) CV 4,6%-nak, míg a mérés sorozatok közötti (inter-assay) 15,2%-nak adódott. Az alsó érzékenységi küszöbérték 0,03  $\mu$ g/mL volt.

**IgA izotípusú szerológiai antitestek karakterizálása: Az IgA izotípusú anti-GP2 antitestek karakterizálását** (IgA1, IgA2 és sIgA altípusok) is elvégeztük, saját fejlesztésű GP2-fedett gyöngy-alapú áramlási citometriás immunoassay rendszerben anti-GP2 IgA pozitív beteg szérumminták (PSC, n=18 és CD, n=12) és negatív kontroll minták (n=20) felhasználásával. A gyöngyök fedéséhez az antigént a GA Generic Assays biztosította (Dahlewitz/Berlin, Németország, Prof. Dirk Roggenbuck szívességéből). Az IIF rendszerben anti-GP2 IgA pozitívnak és negatívnak adódó szérum mintákat ezért a szubtipizálás előtt még verifikáltuk a GA Generic Assays cég által gyártott rekombináns 4-es izoformájú GP2 antigént tartalmazó ELISA rendszerben is. Az IIF és az ELISA tesztek közötti egyezés 96,4% volt és a konkordancia együttható érték is jó egyezést mutatott ( $\kappa=0,625$ ). Kereskedelmi forgalomban kapható polisztirol gyöngyöket ( $1,4 \times 10^7$  gyöngy; Polysciences Inc., Warrington, PA, US) naponta – 3 mosási lépés után – 60  $\mu$ g GP2 proteinnel fedtünk 0,1 M karbonát pufferben (pH 9,5), szobahőmérsékleten 16 órán keresztül inkubálva. Két mosási lépés után, az aspecifikus kötődés elkerülése érdekében a gyöngyöket 1%-os BSA (HyClone, Logan, UT, USA) tartalmú PBS-ben inkubáltuk tovább. A GP2-vel fedett és blokkolt gyöngyöket (50  $\mu$ L)  $5 \times 10^6$  részecske/mL koncentrációban inkubáltuk együtt a beteg és a kontroll 50  $\mu$ L, előre hígított (1:5, 0,1% BSA-t tartalmazó PBS-ben) szérum mintáival 30 percig, +4°C-on. Ezután a gyöngyöket kétszer mostuk 0,1% BSA-t tartalmazó PBS-sel, majd jelöletlen, monoklonális egér anti-humán IgA1 (30  $\mu$ g/mL, Antibodies-Online, Aachen, Németország), IgA2 (30  $\mu$ g/mL, RayBiotech, Norcross, GA, USA) vagy szekretoros komponenst (SC, 100  $\mu$ g/mL, HyTest, Turku, Finnország) adtunk hozzájuk. A mintákat ezekkel az antitestekkel 30 percig inkubáltuk. A be nem kötődött primer antitesteket két mosási lépéssel eltávolítottuk. A jel erősítés céljából, 100  $\mu$ L másodlagos fikoeritrin (PE)-jelölt poliklonális kecske anti-egér antitestet (1  $\mu$ g/mL; DAKO, Glostrup, Dánia) használtunk. Az inkubációt ismét 30 percig végeztük +4°C-on, majd a mintákat mostuk és centrifugáltuk standard eljárás szerint. A felülúszó eltávolítása után, a pelletet 400  $\mu$ L paraformaldehidben oldottuk vissza (1%) és áramlási citométerrel mértük le (Cytomics FC500, Beckman Coulter, US). A gyöngyöket az előre és oldalra szórt fény tulajdonságai alapján kapuztuk és kiszámoltuk a medián PE jel intenzitást (FL2). Az adatokat Kaluza Analysis Software (Beckman Coulter) segítségével rögzítettük és elemeztük. A háttér intenzitás korrekciója céljából vak mintákat készítettünk minden beteg szérumából, ahol az IgA1/IgA2/SC specifikus antitestek ki lettek hagyva, de az összes többi jelölési lépés ugyanúgy történt, ahogy az az előzőekben leírásra került. Ezen háttér intenzitás értékeket levontuk a valódi minták medián fluoreszcencia intenzitás (MFI) értékéből.

**1. táblázat. A lektin komplement útvonal mintázatfelismerő fehérjéinek szérumszint meghatározása**

Módszer		MBL ELISA	FCN2 ELISA	FCN3 ELISA	
Lemez		Lapos, nagy kötőkapacitású 96-lyukú mikrotiter lemez (Greiner Bio-One Hungary, Mosonmagyaróvár, Magyarország)			
Antitestek	Fedő monoklonális, egér, anti-humán antitest	klón	131-1	GN4	4H5
		származási hely	BioPorto Diag.A/S, Gentofte, Dánia	HyCult Biotechnology, Uden, Hollandia	HyCult Biotechnology, Uden, Hollandia
		koncentráció	1 µg/mL	0,75 µg/mL	0,75 µg/mL
		hígító puffer	TBS	karbonát/ bikarbonát puffer (pH 9,6)	karbonát/ bikarbonát puffer (pH 9,6)
		inkubálás	egy éjszakán át, +4°C	6 óra, +37°C	6 óra, +37°C
	Detektáló, biotinált, poliklonális, kecske antitest	klón	Mab 131-1	anti-humán Fikolin-L	anti-humán fikolin-H
		származási hely	BioPorto Diag. A/S, Gentofte, Dánia	R&D Sytems, Minneapolis, MN	R&D Sytems, Minneapolis, MN
		koncentráció	1:8000	0,15 µg/mL	0,15 µg/mL
		hígító puffer	TBS-T-EDTA (pH 7,5), Tween-20: 0,05%, EDTA: 0,25 µM	0,1% BSA tartalmú PBS (pH 7,4)	0,1% BSA tartalmú PBS (pH 7,4)
		inkubálás	nedves kamra, 90 perc, +37°C	nedves kamra, 2,5 óra, szobahő	nedves kamra, 2,5 óra, szobahő
Minta	Szérumsz	hígítás	1:5, 1:25, 1:125	1:10, duplikátum	1:1000, duplikátum
	Rekombináns humán fehérje	megnevezés	oligomerizált MBL	Fikolin-L	Fikolin-H
		származási hely	BioPorto Diag.A/S, Gentofte, Dánia	R&D Sytems, Minneapolis, MN	R&D Sytems, Minneapolis, MN
		koncentráció	1000 AU = 3200 ng/mL	0,75 µg/mL	0,75 µg/mL
		hígítás	2,5-160 ng/mL	2.3 ng/mL - 150 ng/mL	8 ng/mL - 50 ng/mL
		inkubálás	nedves kamra, 90 perc, +37°C	nedves kamra, egy éjszakán át, +4°C	nedves kamra, egy éjszakán át, +4°C
Detektálás	konjugátum	Avidin –biotin-peroxidáz	Avidin –biotin-peroxidáz	Avidin –biotin-peroxidáz	
	származási hely	Vectastain, Vector Laboratories Inc, Burlingame, CA	Vectastain, Vector Laboratories Inc, Burlingame, CA	Vectastain, Vector Laboratories Inc, Burlingame, CA	
	hígítás	1:1000	1:1000	1:1000	
	inkubálás	nedves kamra, 30 perc, szobahő	nedves kamra, 30 perc, szobahő	nedves kamra, 30 perc, szobahő	
	előhívás	TMB (Sigma Aldrich, Schnelldorf, Németország)	TMB (Sigma Aldrich, Schnelldorf, Németország)	TMB (Sigma Aldrich, Schnelldorf, Németország)	
	leállítás	2M H2SO4	2M H2SO4	2M H2SO4	
Leolvasás	hullámhossz	450 nm	450 nm	450 nm	
	műszer	Tecan, Austria GmbH, Salzburg, Austria	LabSystem Multiscan MS, Thermo Scientific, Budapest, Magyarország	LabSystem Multiscan MS, Thermo Scientific, Budapest, Magyarország	
Értékelés		Magellan software, Marquard görbe illesztés	Genesis program, négyponos logisztikus görbeillesztés	Genesis program, négyponos logisztikus görbeillesztés	
Analitikai mutatók	Alsó érzékenységi küszöbérték	4,86 ng/mL	legalacsonyabb standard koncentráció	legalacsonyabb standard koncentráció	
	Mérés sorozatok közötti ('inter-assay') CV	11,3%, 12,3% és 11,6% (1:5, 1:25 és 1:125 hígítás)	17%	14%	

## 2. táblázat. Szerológia meghatározások kereskedelmi forgalomban elérhető immunoassay-k segítségével

			Markerek		Módszer	Megnevezés	Gyártó	Származási hely	Hígítás	Mérték egység	Alsó érzékenységi küszöbérték	Tanulmányban használt küszöbérték
Akut fázis fehérvérjék (APP)			hsCRP			Integra 700 automata rendszer	Roche	Basel, Svájc		mg/L	0,1	10 és 40
			PCT		ILMA	Liaison luminométer B.R.A.M.S	DiaSorin	Saluggia, Olaszország		µg/L	0,1	0,39 és 0,5
			LBP		ELISA	HK315	Hycult Biotechnology	Uden, Hollandia	1: 1000	µg/L	0,1	25 467
			sCD14		ELISA	Quantakine® Cat.No. DC140	R&D Systems	Minneapolis, MN, US	1: 200	µg/L	0,125	2804
			Preszepszin*		CLEIA	PATHFAST test	Mitsubishi Chemical Medience Corporation	Tokyo, Japan	—	pg/mL	20	844 és 1206
			sCD163		ELISA	Macro163TM	IQProducts	Groningen, Hollandia	1: 500	ng/mL	0,23	7000
Anti-mikrobiális antitestek			EndoCab	IgA	ELISA		Hycult Biotechnology	Uden, Hollandia	1: 101	AMU/mL	0,16	195
		Protein ellenes antitestek	OMP Plus	IgA	ELISA	QUANTA Lite™	INOVA Diagnostic	San Diego, CA, US	1: 101	U		25
		Glikán ellenes antitestek	ASCA	IgA/G	ELISA	QUANTA Lite™	INOVA Diagnostics	San Diego, CA, US	1: 101	U		25
			gASCA	IgG	ELISA	IBDX <sup>R</sup>	Glycominds Ltd	Lod, Israel	1: 101	U/mL		50
			ACCA	IgA								90
			ALCA	IgG								60
	AMCA		IgG								100	
	Anti-β2-GPI	IgA/G/M	ELISA	QUANTA Lite™						INOVA Diagnostic	San Diego, CA, US	
Target specifikus autoantitestek			MZGP2	IgA/G	ELISA				1:101	AU/ml		25
	Target specifikus PAB	Anti-GP2	anti-GP2	IgA/G	ELISA		GA Generic Assays	Dahlewitz, Németország	1: 101	AU/ml		20
			rPAg2	IgA/G	IIF	Morbus-Crohn Mosaic 1	Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG	Lübeck, Németország	hígítási sor (1:10, 1:100, 1:1000 és 1:32, 1:320, 1:3200)	Titer		1:10
		Anti-CUZD1	rPAg1	IgA/G	IIF							1:10
		ANCA	IgAG	IIF	Granulocyte Mosaic						1:32	
	Bélbarrier károsodás markerei		EMA	IgA/G	IIF	EUROPLUS™ Liver (primate) / Gliadin (GAF-3X)						
			Anti-TGA	IgA	ELISA	QUANTA Lite	INOVA Diagnostic	San Diego, CA, US	1:101	U/mL		5
			AAA	IgA/G	ELISA	QUANTA Lite™	INOVA Diagnostic	San Diego, CA, US	1: 101	U		35
			AGA	IgA/G	ELISA				1: 101	U		25
			I-FABP		ELISA	HK406	Hycult Biotechnology	Uden, Hollandia	1: 5	pg/mL	47	—

Mivel célunk minden egyes minta esetén a totál anti-GP2 IgA szint meghatározása volt, az antitest IgA2 és IgA1 altípusainak összegeként, standardizálnunk kellett az anti-IgA1 és anti-IgA2 antitestek által kibocsájtott fluoreszcens jelet. Ismert számú anti-egér antitesttel (3,448; 19,426; 82,751; 276,941, antigénkötő kapacitás [ABC]) fedett Quantum™ Simply Cellular® (QSC) mikro-gyöngyöket (Bangs Laboratories, Inc., Fishers, IN, USA) alkalmaztunk az általunk használt egér anti-humán IgA1 vagy IgA2 antitestek megkötésére, majd hozzájuk adtuk a kecske anti-egér PE-jelölt konjugátumot, az előzőekben leírt beállításhoz megfelelő hígításban. A mintákat áramlási citométerrel elemeztük. A gyöngyök MFI-át az ismert ABC függvényében ábrázoltuk, és ezeket a kalibrációs görbéket használtuk a GP2-fedett részecskék felszínéhez kikötődött anti-GP2 antitestek mennyiségének meghatározására. Az így megbecsült IgA1, illetve IgA2 ABC értékeket használtuk a totál anti-GP2 IgA antitest szintek kiszámítására, összeadva azok egyedi ABC értékeit.

A betegek és egészséges kontrollok szérumból az új áramlási citometriás assay segítségével mért anti-GP2 IgA1 és IgA2 ABC értékek összegét (totál anti-GP2 IgA) az ELISA módszerrel meghatározott anti-GP2 IgA titerekhez hasonlítottuk. A két különböző eljárás használatával kapott eredmény erős korrelációt mutatott ( $r=0,879$ ,  $p<0,001$ ). Az anti-GP2 IgA ELISA által negatívnak mért minták átlag+2SD értéke szolgáltatta a 9,425-ös ABC küszöbértéket az áramlási citometriás módszernél. Minden, ELISA módszerrel anti-GP2 IgA antitestre pozitívnak mért beteg mintája áramlási citometriás módszerrel ezen küszöbérték feletti értéket adott, alátámasztva a két módszer teljes megfeleltethetőségét.

Az egyedi mintákban jelenlévő SC pozitivitását tükröző küszöbérték szint (0,101) meghatározása a kontrollcsoport medián MFI értékeinek átlag+2 SD-je alapján történt.

**Az IgA izotípusú ANCA antitestek karakterizálását** (IgA1, IgA2 és sIgA altípusok) az EUROIMMUN etanollal fixált neutrofil granulocitákat tartalmazó lemezeit felhasználva végeztük el a fentiekhez hasonló rendszerben szemikvantitatív IIF módszerrel, ismert ANCA IgA pozitív ( $n=142$ ) és negatív ( $n=20$ ) májcirrózisos beteg és negatív egészséges kontroll mintáknak ( $n=20$ ) a felhasználásával. A sejteket a szérumból 1:10-es hígításával inkubáltuk, majd az IgA alosztályok illetve a SC detektálása 3 specifikus FITC-vel jelölt monoklonális antitest segítségével (egérben termeltetett anti-humán IgA1 NI69-11; anti-humán IgA2 NI512 és anti-humán sIgA NI194-4; Acris Antibodies, Herford, Németország), egymástól függetlenül történt. Ezen antitesteket 1:30-as hígításban alkalmaztuk. A fluoreszcens szignál erősítéséhez FITC-cel jelölt, poliklonális  $F(ab')_2$  IgG típusú anti-egér antitestet használtunk 1:10 hígításban (DAKO, Glostrup, Dánia). Az IgA1 és IgA2 ANCA antitestek mennyiségének meghatározása egy image analízis alapú kvantitálási technika segítségével történt, egyetlen mintahígítást (1:10) tesztelve.

A lemezeket egy MicroOptix MX 300 TF (West Medica, Perchtoldsdorf, Ausztria) mikroszkóp segítségével 400x-os nagyítást használva értékeltük ki. A fluoreszcens képeket 32-bites ".bmp" formátumban egy MicroOptix/Vision CAM V330 kamera segítségével rögzítettük az SB Video&Audio AV Grabber (West Medica) program segítségével. Egy zöld háttér lemezt is exponáltunk minden mérési napon a megvilágítási erősség és inhomogenitás korigálására (Chroma Technology Corp., Rockingham, VT, USA). A képeket az "ImageJ 1.46r" software segítségével értékeltük (171). A zöld csatornán mért fluoreszcencia intenzitások meghatározása mesterséges egységekben (AU, arbitrary unit) történt látóterenként 20 darab egyedi granulocita értékelésével, majd a kapott értékekből minden minta esetén átlagos fluoreszcencia denzitás (FD)/sejt  $\pm$  SD értékeket számoltunk. Minden szérumból három AU/sejt értéket adtunk meg a három IgA izotípusnak megfelelően (IgA1, IgA2 és sIgA).

Az anti-IgA1 és anti-IgA2 antitestekkel kapott FD szignálok mennyiségi összehasonlíthatósága végett és az IgA1/A2 arány pontos meghatározásához Quantum™ Simply Cellular® (QSC) mikropartikulumok/gyöngyök (Bangs Laboratories, Fishers, IN, USA) segítségével standardizáltuk a mikroszkópos kvantitálási technikáját. Ezek a gyöngyök ismert számú kecske anti-egér antitestet tartalmaznak a felszínükön és megfelelő telítési koncentráció esetén ennyi antitest megkötésére képesek. A vizsgálat során az IIF jelölésnek megfelelő hígításban anti-IgA1 és IgA2 antitesteket majd a GaM-FITC konjugátumot adtuk a

gyöngyökhöz. Ezután a tárgylemezre cseppentve a fentiekben leírt képanalizáló módszernek megfelelően értékeltük a gyöngyök fluoreszcencia intenzitását. A 172189 ABC-t tartalmazó gyöngyök esetében a fluoreszcencia intenzitás  $44,6 \pm 8,2$  volt az IgA1 és  $48,4 \pm 10,4$  az IgA2 antitestek jelenlétében, míg a 490505 kötőhelyet tartalmazó gyöngyök esetén  $100,0 \pm 12,2$  (IgA1) és  $103,2 \pm 9,7$  (IgA2) volt a szignál. Ezek a különbségek az IgA1 és IgA2 antitestek között statisztikailag nem voltak szignifikánsak, ez alapján arra következtettünk, hogy az IgA1 és IgA2 típusú ANCA egyenlő mennyiségben egyforma fluoreszcens szignált ad rendszerünkben, így a kapott jelintenzitások hányadosa közvetlenül megadja az IgA1/IgA2 antitestek arányát a mintáinkban.

A módszer reprodukálhatóságát 5-5 mérés alapján határoztuk meg. A mérés sorozaton belüli CV 8,0%, 5,6% és 10,2%, míg a mérés sorozatok közötti CV 10,4%, 14,9% és 13,2% volt az IgA1, IgA2 és a SC esetében. A módszer egyértelműen képes volt elkülöníteni az ANCA IgA pozitív és negatív mintákat. Ezt bizonyítja, hogy az ANCA IgA1, IgA2, illetve sIgA fluoreszcencia intenzitások szignifikánsan magasabbak voltak az ANCA IgA pozitív cirrózisos betegekben az egészséges kontrollcsoporthoz viszonyítva (IgA1:  $38,4 \pm 12,4$  vs.  $14,4 \pm 4,5$ , IgA2:  $31,7 \pm 5,7$  vs.  $14,4 \pm 4,0$  és sIgA:  $35,1 \pm 9,4$  vs.  $14,0 \pm 3,1$ ;  $p < 0,001$  minden csoportban). Mindemellett a kapott fluoreszcencia intenzitások erős korrelációt mutattak a szemikvantitatív módszerrel korábban meghatározott ANCA IgA titer értékekkel (IgA1: Spearman korrelációs koefficiens,  $R=0,63$  [95%CI: 0,51-0,73], IgA2:  $R=0,37$  [95%CI: 0,21-0,52] és sIgA:  $R=0,55$  [95%CI: 0,41-0,66];  $p < 0,001$  minden csoportban). Ezen eredmények alátámasztják, hogy a két IIF technika (képanalízis alapú kvantitatív és a korábban ismertetett szemikvantitatív IIF módszer) egymással erősen egybehangzó eredményeket ad. Tekintve, hogy az ANCA IgA1, IgA2, illetve sIgA fluoreszcencia intenzitások között nem volt szignifikáns különbség az egészséges és beteg kontrollcsoportokban (ANCA IgA negatív esetek) (egészséges kontroll: IgA1= $12,8 \pm 3,3$ , IgA2= $14,1 \pm 4,5$ , sIgA= $13,0 \pm 2,7$ ; beteg kontroll: IgA1= $16,0 \pm 4,9$ ,  $p=0,08$ , IgA2= $14,6 \pm 3,4$ ,  $p=0,98$ , sIgA= $14,9 \pm 3,1$ ,  $p=0,06$ ), ezen csoportokat összevontuk egy egységes kontrollcsoportba ( $n=40$ ). Az IgA2/IgA1 arányok meghatározásakor minden egyes minta esetén elosztottuk az ANCA IgA1 vagy IgA2 fluoreszcencia intenzitását ezen két érték összegével. A SC pozitívításának megítélésére egy fluoreszcencia küszöbértéket határoztunk meg a 40 kontroll minta mérése alapján: az átlag+3 SD ebben a csoportban 23,4 AU fluoreszcencia intenzitás volt.

**Molekuláris genetikai vizsgálatok** A genetikai vizsgálatokat más intézményben végezték (Bors András és Prof. Dr. Tordai Attila, Országos Vérellátó Szolgálat **Molekuláris Diagnosztikai Labor**). **NOD2, TLR2 és TLR4 gének analízise:** Genomiális DNS-t izoláltak teljes vérből Gentra Puregene Blood Kit (Qiagen; Hilden, Germany) felhasználásával, a gyártó előírásai alapján. A *NOD2* gén három variánsának rs2066844, (p.R702W; NM\_022162.2:c.2104C>T), rs2066845 (p.G908R; NM\_022162.2:c.2722G>C) és rs2066847 (L1007Pfs; NM\_022162.2:c.3019dupC) genotipizálását végezték el hibridizációs próbák használatával fluoreszcencia rezonancia energia transzfer (FRET) technikával LightCycler 480 (Roche) valós idejű PCR rendszeren, ismert irodalmi módszerek alapján. A *TLR2* gén rs4696480 (NM\_003264.4:c.-148 + 1614T>A) variánsának genotipizálását szintén elvégezték már közölt oligonukleotidok használatával. A *TLR4* gén rs4986790 (p.D299G; NM\_138554.4:c.896A>G) variánsának genotipizálása saját tervezésű amplifikációs oligonukleotidokkal történt, (TLR4-D299G F: CATCGTTTGGTTCTGGGAG and TLR4-D299G R: TTTACCCTTTCAATAGTCACACTCA), a FRET-s oligonukleotidok megegyeztek a korábbiakban más munkacsoportok által közöltekkel (TLR4-D299G SENS: CTACTACCTCGATGGTATTATTGACTTATT-6FAM, TLR4-D299G ANCH: Cy5.5-AATTGTTTGACAAATGTTTCTTCATTTCC- 3' phosph).

## STATISZTIKAI MÓDSZEREK

A folyamatos változók eloszlását Shapiro-Wilk W-teszt segítségével vizsgáltuk. Az adatok bemutatása medián (25-75 percentilis tartomány, interkvartilis tartomány [IQR]), átlag  $\pm$  szórás illetve esetszám, (%) formában történt. Csoportok összehasonlításához kategorikus változó esetén  $\chi^2$ -próbát, alacsony elemszám esetén Fisher féle tesztet, folyamatos változó esetén Mann-Whitney U-tesztet vagy Student-féle t próba, >2 csoport esetén a Kruskal Wallis H-tesztet használtuk Dunn post-hoc tesztel. A párminták összehasonlítását Wilcoxon féle rang tesztel végeztük. A folyamatos változók közötti összefüggés megállapításához Spearman korrelációt használtunk. A folyamatos változók diszkriminációs képességét Receiver Operating Characteristics (ROC) analízissel végeztük (szenzitivitás vs. 1-specificitás), meghatároztuk a görbe alatti területet (AUC-ROC, area under the curve) 95%-os megbízhatósági tartománnyal (confidence interval, [CI]), valamint a Youden-féle módszerrel azt a küszöbértéket, mely a vizsgált csoportokat a legnagyobb hatékonysággal választja el (szenzitivitás+specificitás-1). A ROC görbék összehasonlítása DeLong módszere szerint történt. A diagnosztikus hatékonyság meghatározásához szenzitivitást, specificitást, pozitív prediktív értéket (PPV) és negatív prediktív értéket (NPV), valamint valószínűségi hányados értékeket (LR+ és LR-) számoltunk. A különféle tesztek egyezését súlyozott Kappa teszt segítségével határoztuk meg. Az SNP vizsgálatoknál a genotípus megoszlásokat Hardy-Weinberg equilibrium teszt segítségével vizsgáltuk.

A túlélési esély becsléséhez Kaplan-Meier módszert használtunk, az összehasonlítást *Log-Rank* tesztel végeztük és a különféle betegségkimenetek kumulatív esélyét [CP, cumulative probability] ( $\pm$  standard hiba [SE]) %-os formában is megadtuk. Betegségkimenetek az egyes betegcsoportok szerint az alábbiak voltak: májcirrózis esetén bakteriális fertőzés, SBP, klinikai dekompenzáció, összhalálozás vagy infekcióhoz kapcsolódó halálozás [28-napos]; PSC esetén OLTx és/vagy májbetegséggel összefüggésbe hozható halálozás (összetett végpont); Crohn-betegség esetén strikturizáló betegségforma/szűkület és/vagy belső penetráló és/vagy perianális penetráló betegségforma kialakulása, valamint sebészeti beavatkozás szükségessége (CD-asszociált műtétnek kizárólag a bélrezekcióval járó műtétet tekintettük); míg colitis ulcerosa esetén: a betegségaktivitás miatti hospitalizáció szükségessége, az extenzív betegség kialakulása (E3 forma), tartós immunszuppresszív kezelés szükségessége és kolektómia. A folyamatos és kategorikus változóknak a különféle betegségkimenetek idejére gyakorolt hatását Cox-regresszióval határoztuk meg. Független rizikófaktorok azonosításához többváltozós analízis során az enter vagy a backward eliminációs stratégiát követtük. Amennyiben a betegségkimenetelt (rövidtávú halálozás) bináris változóként értelmeztük, úgy logisztikus regressziót használtuk. A regressziós számításokhoz a folyamatos változókat logaritmikusan transzformáltuk vagy bináris változókká alakítottuk. Az összefüggéseket Cox-regresszió esetében kockázati hányadosként (hazard ratio, [HR]), logisztikus regresszió esetében esélyhányadosként (odds ratio, [OR]) adtuk meg a 95%CI megjelölésével. Az univariációs analízisben  $p < 0,1$  tényezők illetve egyes *a priori* kiválasztott tényezők kerültek bevonásra a multivariációs analízisekbe. Amennyiben nincs külön más kritérium jelezve a kétoldalas  $p < 0,05$  értéket tekintettük szignifikánsnak. A többváltozós analízis eredményének értelmezéséhez az adatok grafikus ábrázolásával szerettünk volna segítséget nyújtani, melyhez Liu és munkatársainak módszerét választottuk. A statisztikai elemzésekhez az SPSS Statistics (V.22, IBM, Armonk, NY, USA), SAS (V9.1 SAS Institute Inc. Cary, NC, USA) és MedCalc statisztikai software-t (Ostend, Belgium), az adatok ábrázolásához a Prism 7 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) programokat használtuk statisztikusok ellenőrzése mellett (Dr. Dinya Elek és Karányi Zsolt).

## EREDMÉNYEK és MEGBESZÉLÉSEK

### Májcirrózishoz társuló bakteriális fertőzések diagnosztikája

Májcirrózisban a bakteriális fertőzések a betegség progressziójában, a szövődmények kialakulásában és a halálozásban kiemelt jelentőséggel bírnak, mely miatt ezen epizódok korai és hatékony diagnosztikája elengedhetetlen. A klinikai diagnózis felállításban klasszikusan használt tünetegyüttes ebben a betegcsoportban azonban csak korlátozottan alkalmazható, így a laboratóriumi diagnosztika szerepe kiemelten fontossá válik. A szerológiai diagnosztikában klasszikusan használt APP-k alkalmazhatósága azonban szintén számos korláttal bír májcirrózisban, így újabb biomarkerek vizsgálata elengedhetetlenül fontos.

Klinikai tanulmányunkban egy újonnan felismert, májcirrózisban eddig még nem vizsgált pro-inflammatórikus biomarker, a preszepszin és egy anti-inflammatórikus biomarker a szolúbilis (s) CD163 hatékonyságát vizsgáltuk a májcirrózishoz társuló bakteriális fertőzések szerológiai diagnosztikájában. Összehasonlítottuk azok gyakorlati értékét a jelenleg rutinszerűen használt APP-kével (CRP és PCT). Nagyszámú betegpopulációt vizsgáltunk, amelyben a fertőzések megoszlása megfelelt a mindennapi klinikai gyakorlatban észleltnek, mind az enyhe, mind pedig a súlyos fertőzések egyaránt jelen voltak. Ez utóbbiak a fertőzések mintegy egyharmadát tették ki. Súlyos infekciónak tekintettük azokat az eseteket, ahol a fertőzés során a májelégtelenség súlyosbodott és/ vagy egyéb extrahepatikus szervrendszer(ek) működése is elégtelenné vált. A SIRS és a szepszis jelenleg elfogadott diagnosztikus kritériumainak alkalmazása ugyanis májcirrózisban különféle betegségspecifikus jellegzetességek miatt nehézségekbe ütközik.

Májcirrózisban a plazma preszepszin értékek szignifikánsan magasabbnak bizonyultak bakteriális fertőzés fennállása esetén mint annak hiányában ( $n= 216$ ,  $1002$  pg/mL [575-2149] vs.  $477$  [332-680] pg/mL,  $p<0,001$ ). ROC analízist használva a  $>844$  pg/mL küszöbérték bizonyult a leghatékonyabbnak a bakteriális infekciók diagnosztikájában. A nem cirrózisos betegpopulációban ez az érték némileg különböző volt, a közlemények többségében  $400-600$  pg/mL volt. A preszepszinhez hasonlóan a bakteriális fertőzés jelenlétében a sCD163 szintek magasabbak voltak ( $n= 378$ ,  $4586$  ng/mL [2854-8066], mint annak hiányában, akár a stabil járóbetegekben mért értékekkel vetettük össze ( $3538$  ng/mL [2128-5876],  $p=0,001$ ), akár AD miatt hospitalizált, de bakteriális infekcióban nem szenvedő betegekével ( $3792$  ng/mL [2165-6389],  $p=0,015$ ). A preszepszin szint pozitív korrelációt mutatott a klasszikus gyulladási markerekkel (CRP [Spearman rho:  $+0,63$ ], PCT [ $+0,53$ ] és fehérvérsejt szám [ $+0,27$ ],  $p< 0,001$  mindhárom esetén), mely a sCD163 esetén is megfigyelhető volt gyenge-közepes fokú, de szignifikáns korreláció formájában (CRP [ $+0,13$ ],  $p=0,027$  és fehérvérsejt szám [ $+0,12$ ] és fehérvérsejt szám,  $p=0,027$ ).

Ismert jelenség, hogy egyes APP-k szintje függ a fertőzést kiváltó patogének típusától. Ilyen például a PCT, vagy a mid-regional pro-adrenomedullin (MR-proADM), melyet szignifikánsan magasabbnak találtak szepszis betegekben, ha a fertőzést Gram-negatív baktériumtörzs okozta. Ennek oka részben az lehet, hogy a véráramban keringő citokinek szintjében szintén kimutatható különbség a patogének Gram típusa szerint. Például a Gram-negatív fertőzésekben az interleukin (IL)-6, a tumor nekrosis faktor-alfa (TNF- $\alpha$ ) vagy az IL-10 szintje jobban megemelkedik. Ezzel szemben más APP-k szintjei – mint pl. a CRP, a CD14 vagy a szolúbilis urokináz plazminogén aktivátor receptor (SuPAR) – nem mutatnak összefüggést a fertőzés Gram specificitásával. Tanulmányunkban a preszepszin szint nem különbözött sem a fertőzés lokalizációjára, sem pedig a baktériumok Gram-specificitása szerint (Gram-negatív:  $1240$  pg/mL [871-1884] vs. Gram-pozitív:  $852$  pg/mL [661-2467],  $p=0,76$ ), mely megegyezik a nem cirrózisos betegekben ismert irodalmi adatokkal. Többgócú fertőzés esetén (10,6%) a preszepszin értékek számszerűen magasabbak voltak, mint egygócú fertőzésekben, de a különbség nem érte el a statisztikailag szignifikáns mértéket ( $2470$  pg/mL [729-2671] vs.  $983$  pg/mL [560-1774],  $p=0,065$ ). A sCD163 szintje sem függött a fertőzés lokalizációjától (SBP:  $3844$  pg/mL [2393-7011], UTI:  $4116$  pg/mL [3187-7790],

pneumónia: 6974 pg/mL [5384-10346], egyéb: 3594 pg/mL [3153-15479], ismeretlen: 2969 pg/mL [2214-6110] és többgócú 4803 pg/mL [2159-11337],  $p=0,085$ ).

A preszepszinnek a bakteriális fertőzések elkülönítésében mutatott diagnosztikus hatékonyságát a klasszikus APP-kével összehasonlítva az hasonló hatékonyságot mutatott, mint a PCT (AUROC, [95%CI]: 0,79 [0,73-0,84] vs. 0,77 [0,71-0,83],  $p=0,668$ ), azonban némileg rosszabbul teljesített a CRP-vel összevetve (0,86 [0,80-0,90],  $p=0,057$ ). A preszepszin a klinikai gyakorlat számára elsősorban a CRP-vel együttesen alkalmazva javítja a fertőzések szerológiai detektálását. A CRP ( $>10$  mg/L) preszepszinnel ( $>844$  pg/mL) való kombinációja ugyanis hatékonyabban azonosította a bakteriális fertőzéseket, mint a CRP önmagában (a szenzitivitás és az NPV 9% és 4%-val növekedett). Amennyiben a két APP közül legalább az egyik marker pozitív volt a szenzitivitás: 88,0%, a specificitás: 74,5%, a PPV: 64,7% és az NPV: 92,1%-nak adódtak. A CRP és a preszepszin kombinációjának diagnosztikus hatékonysága hasonló volt, mint ami a CRP és a PCT ( $>0,39$   $\mu\text{mol/L}$ ) kombinálásával adódott (szenzitivitás: 81,3%, specificitás: 84,2%, PPV: 69,3% és NPV: 91,1%).

A bakteriális infekcióban szenvedő beteg mintegy harmadában a fertőzés súlyos volt, azaz legalább egy szerv elégtelensége kísérte. A preszepszin szintek szignifikánsan magasabbak voltak a súlyos fertőzésekben (2358 pg/mL [1398-3666] vs. 710 pg/mL [533-1277],  $p<0,001$ ), mely igaz volt az sCD163 szintekre is (7233 ng/mL [3864–11643] vs. 3864 ng/mL [2700–7031],  $p=0,003$ ). A preszepszin diagnosztikus pontossága a súlyos, szervelégtelenséggel járó, fertőzések elkülönítésében egyértelműen jobbnak bizonyult a CRP-nél (0,66 [0,54-0,77],  $p<0,01$ ) és elérte a PCT-jét (AUROC [95%CI]: 0,85 [0,74-0,92] vs. 0,85 [0,74-0,92],  $p=0,994$ ). A súlyos fertőzések elkülönítésében a küszöbértékek az alábbiak voltak: preszepszin: 1206 pg/mL, PCT: 0,5  $\mu\text{mol/L}$  és CRP: 41 mg/L. A markerekhez tartozó szenzitivitás értékek pedig rendre: 87,5%, 79,2% és 62,5%, míg a NPV-k: 92,7%, 88,6% és 81,2% voltak. A súlyos fertőzések diagnosztikájában a preszepszin esetén meghatározott AUROC érték megfelel a nem cirrózisos betegek súlyos fertőzése kapcsán adódónak. Egy újonnan közölt meta-analízisében (8 tanulmány, 1757 eset) a preszepszin összesített AUROC értékét 0,82-nek találták nem cirrózisos betegek súlyos fertőzése kapcsán. Ezek alapján a preszepszin a klinikai gyakorlatban a súlyos infekciók azonosításában elsődlegesen fontos szerepet tölthet be és a PCT alternatívája lehet.

A sCD163-nak a bakteriális fertőzések elkülönítésében általánosságban mutatott diagnosztikus pontossága (küszöbérték  $>2836$  ng/mL, AUROC, [95%CI]: 0,6 [0,53-0,68], szenzitivitás 75,8 és specificitás 43) elmaradt a CRP-hez képest ( $p<0,001$ ). A súlyos infekciókat tekintetbe véve (küszöbérték  $>5384$  ng/mL, AUROC, [95%CI]: 0,69 [0,59-0,78], szenzitivitás 69,0 és specificitás 68,4) azonban nem mutatkozott jelentős különbség sem a PCT-hez ( $p=0,342$ ), sem pedig a preszepszinhez ( $p=0,358$ ) viszonyítva. Ez utóbbi eredmény összhangban áll egy korai tanulmányában közölt eredménnyel, miszerint Pneumococcus fertőzés során nem cirrózisos betegekben a sCD163 szintje magasabb volt szervelégtelenség társulása esetén.

Munkacsoportunk egy korábbi tanulmányában arról számolt be, hogy a CRP és PCT diagnosztikus pontossága a fertőzések azonosításában előrehaladott májcirrózis vagy ascites jelenléte esetén egyértelműen csökken. Ismert továbbá az irodalomból, hogy a májelégtelenség súlyosságának növekedésével egyre kisebb CRP emelkedés figyelhető meg véráramfertőzés esetén. Megvizsgáltuk ezért, hogy a preszepszin mentes-e a klasszikus APP-re jellemző korlátoktól májcirrózisos betegekben használva és azt találtuk, hogy előrehaladott Child-Pugh stádiumok esetén a klasszikus APP-hez hasonlóan a preszepszin szint hatékonysága is csökken a bakteriális fertőzések jelenlétének azonosításában. Az emelkedett preszepszin szint ( $>844$  pg/mL) specificitása és valószínűségi hányados (LR) értékek alacsonyabbak voltak Child-Pugh B és C stádiumban (74%; LR+: 2,28, LR–: 0,56) összehasonlítva a Child-Pugh A stádiummal (96%; LR+: 15,6, LR–: 0,56), míg a szenzitivitásbeli eltérés valamivel kisebb volt (58% vs. 70%). Mivel a preszepszin nem elsősorban a májban termelődik, ezért ez a jelenség nem magyarázható a máj csökkent szintetikus képességével. A májcirrózis egyik jellegzetessége a tartósan fennálló gyulladási állapot, amely fertőzés hiányában is kiválthatja az APP fehérjék fokozott



szintézisét, mely miatt elkerülhetetlenül csökken azok diagnosztikus hatékonysága előrehaladott májbetegség esetén. A krónikus gyulladás lehetséges okai közül a BT emelendő ki elsősorban, mely májcirrózisban a betegség súlyosságának fokozódásával és az ascites megjelenésével egyre gyakoribbá válik. Feltételezhetően ez a folyamat magyarázza azt, hogy tanulmányunkban a preszepszin szint a bakteriális fertőzésben nem szenvedő betegcsoportban a betegség súlyosságától függően változott (Child-Pugh A: 361 pg/mL, Child-Pugh B: 530 pg/mL és Child-Pugh C: 703 pg/mL,  $p < 0,001$  vagy az ascites jelenlétével: 575 pg/mL vs. 382 pg/mL,  $p < 0,001$ ). Illetve magyarázatot adhat arra is, hogy a fertőzésben nem szenvedő májcirrózisos betegekben miért magasabb a bazális preszepszin szint az egészséges egyénekéhez képest.

Egy másik fontos, de sokszor nem kellően figyelembe vett kérdés a vesefunkció hatása az APP-k szintjére. Az akut vesekárosodás gyakori szövődménye a cirrózisnak, amely a kórházi felvételt igénylő betegek akár 50%-ában is előfordulhat. Tanulmányunkban vizsgáltuk ezért a preszepszin szint hatékonyságát a bakteriális fertőzések jelenlétének azonosításában veseelégtelenség jelenlétében és azt csökkentenek találtuk (specifititás  $VE^-$  vs.  $VE^+$ : 87% vs. 46%; szenzitivitás  $VE^-$  vs.  $VE^+$ : 86% vs. 49%;  $LR^+$   $VE^-$  vs.  $VE^+$ : 3,86 vs. 1,58  $LR^-$   $VE^-$  vs.  $VE^+$ : 0,58 vs. 0,3). A preszepszin pontos eliminációs mechanizmusa nem ismert, de tekintetbe véve alacsony molekulásúlyát (13 kDa), valószínűleg glomeruláris filtrációt követően a proximális tubulus sejtjei által szívódik vissza és ott metabolizálódik. Kevés klinikai adat áll rendelkezésre a preszepszin szint és a vesefunkció összefüggéséről. Beszámoltak arról, hogy a preszepszin szintje a glomeruláris filtrációs ráta csökkenésével arányosan növekedett, és ez a jelenség a krónikus vesebetegek és a dialízisre szorulóknak esetében volt a legkifejezettebb. Retrospektíven vizsgálva az intenzív osztályra kerülő szeptikus és nem szeptikus betegeket azt találták, hogy a preszepszin szintje jelentősen magasabb volt veseelégtelenség és végstádiumú vesebetegség esetén. Ennek megfelelően mi is szignifikáns összefüggést találtunk a preszepszin és a szérum kreatinin szintje között (Spearman: 0,36,  $p < 0,001$ ) májcirrózis AD epizódja során. Emellett veseelégtelen betegek preszepszin szintje akkor is jelentősen emelkedett volt, ha nem volt bakteriális fertőzésük. Mindez arra utal, hogy a preszepszin szint interpretációja különös odafigyelést igényel a veseelégtelenséggel járó AD során. Ezeknél a betegeknél valószínűleg külön küszöbérték definiálása lenne szükséges a fertőzések diagnosztizálásához.

## Májcirrózishoz társuló bakteriális fertőzések prognosztikája

Májcirrózisban a bakteriális fertőzések során a diagnózis fellállításának időpontjában a legesendőbb, intenzív osztályos ellátást és monitorozást igénylő betegek pontos és korai kiszűrése létfontosságú a mindennapi klinikai gyakorlatban. Vizsgáltuk ezért, hogy a pro-inflammatórikus választ reprezentáló preszepszin szint és anti-inflammatórikus választ reprezentáló sCD163 szint képes-e előrejelezni a halálozást májcirrózisban a bakteriális fertőzés esetén. Ilyen irányú vizsgálatok cirrózisban csak a CRP és a PCT vonatkozásában állnak rendelkezésre, de az eredmények nem mentesek az ellentmondásoktól. A legtöbb tanulmányban egyaránt szerepeltek ambuláns és AD miatt hospitalizált betegek, bakteriális fertőzéssel vagy anélkül. A vizsgálatok során gyakran egy populációként értékelték ezt a két különböző klinikai jellegzetességekkel bíró betegcsoportokat, ami megnehezíti az adatok közvetlen összehasonlítását és a következtetések levonását. Az ACLF gyakran szisztémás gyulladással és markáns gyulladással járó válaszreakcióval jár, ez pedig rosszabb prognózist vetít előre. A magas fehérvérsejtszám a rövid távú halálozás független rizikótényezőjének bizonyult. Ez alapján joggal feltételezhető, hogy az APP-k szintjének növekedése – mint a felfokozott gyulladással járó válasz indikátora – cirrózisos betegek bakteriális fertőzéseinek esetén magasabb rövidtávú halálozási kockázatot vetít majd előre.

Saját vizsgálatunkban a bakteriális fertőzésben szenvedő betegek közel egy harmadát veszítettük el 28 napon belül. Ezen betegekben a kiindulási preszepszin szint szignifikánsan magasabb volt, mint a túlélőkben (2323 pg/mL [1172-3688] vs. 852 pg/mL [549-1451],  $p < 0,001$ ). A preszepszin hatékonyan azonosította a nem-túlélő betegcsoportot (AUROC [95%CI]: 0,76 [0,64-0,85]), a legjobb küszöbérték az 1277 pg/mL volt. A 28 napos

halálozási arány szignifikánsan magasabb volt azon betegekben, akiknél a preszepszin szint meghaladta ezt az értéket (46,9% vs. 11,6%,  $p < 0,001$ ). A többváltozós logisztikus regressziós modellben a preszepszin azonban nem bizonyult a rövidtávú mortalitás független kockázati tényezőjének a betegsúlyossággal (MELD pontszám) és a pro-inflammatórikus választ reprezentáló fehérvérsejt számmal történt illesztést követően (OR: 1,61 [0,65–3,97],  $p = 0,303$ ). A PCT volt az egyetlen a vizsgált pro-inflammatórikus APP-k közül, amely ebben a modellben a rövidtávú halálozás független kockázati tényezőjének bizonyult (OR: 1,81 [1,09–3,01],  $p = 0,022$ ). Ennek az lehet a magyarázata, hogy a PCT egy külön molekulacsaládroz, az ún. „hormonkinék” közé tartozik. Döntően különböző szervek neuroendokrin sejtjeiben termelődik, és a jelenléte azt tükrözi, hogy a pro-inflammatórikus válaszban nem csak egy, hanem számos szerv érintett. Ha szeptikus állatoknak intravénásan rekombináns PCT-t adtak, az a halálozás növekedésével járt, ugyanakkor ezt a hatást PCT ellenes antitest alkalmazásával ki lehetett védeni. A preszepszin ugyanakkor a pro-inflammatórikus válaszreakció során a monocita-makrofág rendszer aktiválódását tükrözi. A makrofágok élettani hatása pedig kettős: egyrészt a túlzott mértékű gyulladással szövetkárosodást okozhatnak, másrészt a gyulladás feloldásában játszott szerepük miatt aktivációjuk előnyös is lehet. Az előbbi folyamatot az úgynevezett M1, másnéven pro-inflammatórikus, az utóbbit M2-típusú, másnéven anti-inflammatórikus makrofágok irányítják lokális mikrokörnyezeti szignálok, citokinek jelenlétében. Éppen az utóbbi, M2 típusú makrofágról hasad le aktivációjuk során a sCD163/ CD163 scavenger receptor szolúbilis formája. A sCD163 vérszintje jól korrelál bizonyos egyéb makrofág aktivációs markerekkel, úgy mint a suPAR vagy a szolúbilis mannóz receptor (sMR). Más makrofág aktivációs markerekkel, mint a szolúbilis CD14 azonban nem mutat összefüggést. A sCD163 szerepét az elmúlt években kezdték el vizsgálni cirrózisban és azt találták, hogy egyrészt termelődése ebben a betegcsoportban fokozott, másrészt a molekula szintje összefügg a betegség előrehaladott állapotával és a portális hipertóniával, bár utóbbi vonatkozásában az adatok némileg ellentmondásosak.

Mindemellett a sCD163 szérumszintjének változása májcirrózisban a különböző AD epizódok során kevésbé ismert, és az sem teljesen tisztázott, hogy a molekula milyen előrejelző értékkel bír a betegséggel összefüggő szövődmények, illetve a halálozás vonatkozásában. Tanulmányunkban a hospitalizációkor mért sCD163 szintek jelentősen magasabbak voltak azokban, akik 28 napon belül elhunytak, mint a túlélőkben (7233 ng/mL [3594–10337] vs. 4045 ng/mL [2700–7355],  $p = 0,029$ ). A túlélőket és nem-túlélőket legjobban elválasztó küszöbértéket 7000 ng/mL értéknek adódott (szenzitivitás: 56,5%, specificitás: 72,9%, NPV: 83,1%, PPV: 41,2%). A magas sCD163 szint bakteriális fertőzés esetén alacsonyabb túléléssel járt (CP $\pm$ SE: 55,8 $\pm$ 8,9% vs. 83,1 $\pm$ 4,7%,  $p_{\text{LogRank}} = 0,003$ ). Ugyanakkor nem fertőzőes AD epizódok kapcsán a túlélésben nem volt ilyen különbség a magas és az alacsony sCD163 szintek esetén (CP $\pm$ SE: 87,0 $\pm$ 4,0% vs. 86,2 $\pm$ 9,1%,  $p_{\text{LogRank}} = 0,936$ ).

Többváltozós Cox regressziós modellben tovább vizsgálva a sCD163 szintek és a halálozással összefüggést mutató klinikai és laboratóriumi tényezők – köztük a pro-inflammatórikus választ reprezentáló magas CRP érték és fehérvérsejt szám – egymástól való függetlenségét, azt találtuk, hogy a magas sCD163 szint a klinikai és a laboratóriumi paramétereiktől függetlenül is, a rövidtávú halálozás kockázati tényezője (HR: 2,96 [1,27–6,95],  $p = 0,012$ ). A CRP becslő értéke azonban nem bizonyult függetlennek a többi változótól.

Elsőként számoltunk be arról, hogy cirrózisban bakteriális fertőzés esetén az emelkedett sCD163 szint (>7000 ng/mL) összefüggésben áll a 28 napos halálozással. Magas sCD163 szint esetén a betegek közel fele meghalt, míg alacsony sCD163 szint mellett a halálozás 16% volt. A magas sCD163-mal járó halálozási kockázat (HR: 2,96) mértéke nagyon hasonlított ahhoz, amit emelkedett suPAR esetén találtak (HR: 3,05), mely a makrofágok aktivációjának egy másik elfogadott markere. Ezen felül a sCD163 független rizikófaktornak bizonyult, akkor is ha korrigáltunk a betegség súlyosságára (MELD pontszám), és a pro-inflammatórikus válasz mértékére (CRP, fehérvérsejtszám) is. A miénkhez hasonló következtetésre jutottak más kutató csoportok is, miszerint a fokozott anti-inflammatórikus válasz – melyet az IL-10, az IL-6, a szolúbilis tumor nekrozis faktor- $\alpha$

receptor (sTNFR) és a csökkent monocita HLA-DR expresszió jelzett –, szignifikáns módon rontja a túlélést májcirrózisban. Érdekes módon ezekben a vizsgálatokban az anti-inflammatórikus válaszreakció különböző markereihez társuló mortalitási kockázat nagyjából megegyezett azzal, amit mi is találtunk a sCD163 vonatkozásában. A túlzott anti-inflammatórikus válasz káros, vagy akár végzetes hatása azzal magyarázható, hogy ebben az esetben a szervezet a különféle kórokozókkal szemben kevésbé képes védekező reakciót kifejteni. Egy friss közleményben rávilágítottak arra, hogy a CD163<sup>high</sup> monociták/makrofágok szerepe fontos ebben a folyamatban. Bemutatták azt is, hogy a kórokozókval szembeni csökkent immunválasz helyreállítható az anti-inflammatórikus (CD163<sup>high</sup>-MERTK pozitív) monociták *in vitro* modulálásával.

Eredményeink tükrében, figyelembe véve mások eredményeit is, kórélettani szempontból nézve lenne létjogosultsága egy, a megváltozott anti-inflammatórikus folyamatokat reprezentáló biomarker beillesztésének a halálozás jelenlegi prediktív modelljeibe és erre a szerepre a sCD163 is ígéretes jelölt lehet. Jelen tanulmányunk azonban jórészt exploratív célzatú volt és a bakteriális fertőzésben szenvedő betegek viszonylagos kis száma, valamint a vizsgálat egycentrumos mivolta nem tette lehetővé ilyen modell létrehozását. Cirrózisban a jelenleg használt rövidtávú halálozási modellek többcentrumos, nagy betegszámú vizsgálatok alapján születtek.

### **Májcirrózishoz társuló bakteriális fertőzések előrejelzése**

Májcirrózisban a bakteriális fertőzések kialakulásában a kórképhez társuló CAID szindróma fontos szerepet játszik. A bakteriális infekciókkal szembeni megváltozott védekező folyamatok részleteinek pontosabb megismerése és azok klinikai jelentőségének felmérése fontos. Ez ugyanis elősegítheti új szupportív kezelési módok tervezését. Másrészt lehetővé teszi olyan új biomarkerek azonosítását, melyekkel a mindennapi klinikai gyakorlatban a fertőzéses epizódok megbízható előrejelzése lehetővé válik. Ezáltal pedig kiválasztható lesz az infekciók szempontjából leginkább veszélyeztetett betegcsoport, melynek szorosabb követése, illetőleg szupportív kezelésben történő részesítése leginkább indokolt. Továbbá az antibiotikum profilaxis is tervezhetőbbé válik, melynek fontosságát májcirrózisban az egyre növekvő bakteriális rezisztencia problémája támasztja alá.

A májcirrózisos beteg kohorszban a követési idő alatt 95 beteg esetén (35,7%) alakult ki legalább egy alkalommal valamilyen bakteriális fertőzés. Az első infekció kialakulásáig eltelt medián idő 626 [169-799] nap volt. A leggyakrabban diagnosztizált bakteriális fertőzés a húgyúti infekció volt, amely az esetek 33,7%-ban fordult elő, ezt az SBP (24,2%) és pneumónia (12,6%) követték. Az esetek 5,3%-ában egyidejűleg többféle lokalizációjú infekció zajlott. Az előforduló egyéb bakteriális infekciók a következők voltak: orbánc (4,2%), kolangitisz (2,1%), bakterémia (2,1%), akut bronchitis (3,2%). Tizenkét esetben (12,6%) a bakteriális infekció lokalizációja nem volt meghatározható.

A tenyésztési eredmények az esetek mintegy felében voltak pozitívak, Gram-negatív baktérium 57,1%-ban, míg Gram-pozitív baktérium 42,9%-ban igazolódott. Az izolált kórokozók megoszlásai az alábbiak voltak: *Escherichia coli* (22,9%), *Enterococcus faecalis* (15,7%), *Klebsiella pneumoniae* (15,1%), *Pseudomonas aeruginosa* (13,6%), *Staphylococcus aureus* (11,4%), *Streptococcus pneumoniae* (8,6%), *Proteus mirabilis* (2,9%), *Staphylococcus epidermis* (1,4%), others (5,7%).

**Klinikai tényezők szerepe** Májcirrózisban a bakteriális fertőzések klinikai kockázati tényezőit tekintve egyrészt megerősítettük a korábbi irodalmi eredményeket saját beteg populációnkban is, miszerint a súlyosabb betegség stádium (Child-Pugh stádium B/C [HR: 2,42, 95%CI: 1,61-3,64, p<0,001] és a portális hipertenzió jelenléte (ascites [HR: 2,31, 95%CI: 1,54-3,46, p<0,001]) a legjelentősebb, bakteriális infekciók kialakulására hajlamosító tényezők. A SBP vonatkozásában már régóta ismert, hogy az első epizód lezajlását követően az SBP ismételt kialakulásának a kockázata magas, ezért ezen betegcsoport szekunder profilaktikus antibiotikus kezelésben való részesítése kötelező. A nem-SBP típusú

fertőzésekkel kapcsolatos ilyen jellegű adat azonban nem ismert. Saját vizsgálataink figyelemreméltó új eredménye, hogy amennyiben egy adott beteg esetén korábban már zajlott nem-SBP típusú bakteriális fertőzés, egy következő epizód kialakulásának kockázata fokozott függetlenül a májbetegség súlyosságától (HR: 2,48, 95%CI: 1,65-3,73,  $p < 0,001$ ). Kompenzált stádiumú májcirrózisos betegekben, amennyiben megelőzően már volt bakteriális infekció, az újabb fertőzések kialakulásának kumulatív valószínűsége megegyezett a dekompenzált stádiumú korábban bakteriális infekción még át nem esett májcirrózisos betegekével ( $58,2 \pm 8,1\%$  és  $52,8 \pm 9,4\%$ ). Amennyiben mindkét klinikai kockázati tényező egyidejűleg jelen volt (ascites és megelőző infekció) a fertőzések kialakulásának kumulatív valószínűsége még magasabbnak adódott ( $84,2 \pm 7,0\%$ , HR: 5,57, 95%CI: 3,23-9,59,  $p < 0,001$ ). Ezen adatok arra engednek következtetni, hogy lehetnek még egyéb, a gazdaszervezet részéről olyan tartósan fennálló tényezők, amelyek befolyásolják az adott egyén bakteriális infekciókkal szembeni fogékonyságát.

**Szerológiai és genetikai tényezők szerepe** Májcirrózisban a bakteriális fertőzések kialakulása egyértelműen kedvezőtlenül befolyásolja a betegségnek mind a rövid, mind pedig a hosszútávú prognózisát, mely egyaránt igaz az asciteses betegekben jellegzetes bakteriális fertőzés típusra, az SBP-re és a nem-SBP típusú infekciókra is. A fertőzések kialakulásának egyénenkénti kockázatának felmérése éppen ezért az akut ellátás és a hosszútávú gondozása során is fontos klinikai kérdés. A fertőzéses epizódok kialakulása szempontjából leginkább veszélyeztetett betegek pontosabb identifikálásával lehetővé válna ezen csoport szorosabb követése és profilaktikus terápiában való részesítése. Munkánk során új szerológiai és genetikai tényezőket keresve olyan, a veleszületett immunitásban fontos szerepet játszó fehérjéket vizsgáltunk, melyeknek az alap kutatás és a korábbi klinikai tanulmányok alapján a bakteriális infekciók kialakulásában szerepük lehet, de májcirrózisban jelentőségüket eddig egyáltalán nem vagy csak kevéssé vizsgálták.

A komplement rendszer lektin útvonalának molekulái döntően a májban termelődnek és mint szérumfehérjék jutnak a keringésbe. Kulcsszerepük van a gazdaszervezet kórokozókkal szembeni természetes védekezésében. A mannóz-kötő lektin (MBL), a fikolinok (FCN) és a kollektinek szolubililis mintázatfelismerő molekulaként (sPRM) viselkednek, míg a mannóz-kötő lektin asszociált szerin proteázok (MASP) a patogének eliminálásának effektor molekulái. A lektin molekulák közül elsősorban az MBL esetén ismert pontosan, hogy annak expresszióját, szerkezetét és működését az *MBL2* gén kódoló és promoter régiójában elhelyezkedő funkcionális polimorfizmusok határozzák meg. Ezért adott egyénben az MBL szérum koncentrációja és a molekula aktivitása állandó. Az *FCN-2* és *MASP2* gén promoter és kódoló régiói is számos SNP-t foglalnak magukba, amelyek szintén jelentős hatással vannak a fehérjekoncentrációra és működésre. Az *FCN-3* génnel kapcsolatosan kevesebb ilyen adat áll rendelkezésre. A jelentős genetikai meghatározottság ellenére a lektin útvonal molekulái esetén azok szérum szintjeinek ismerete jellemzi mégiscsak jobban a tényleges protein koncentrációt és a molekula működését a genotípushoz képest. A promóter párok és a strukturális gén dimorfizmusok közötti jelentős kapcsoltság kiegyensúlyozatlanság miatt ugyanis az allél expresszió nem fordítható le egyértelműen a ténylegesen működőképes protein koncentrációra. Egyértelműen alátámasztott, hogy a protein koncentrációt tekintve egy adott genotípus esetén az egyéni különbségek nagyok, továbbá jelentősek az átfedések az egyes genotípusok között is.

Nagy esetszámú klinikai tanulmányban elsőként vizsgáltuk a különféle lektin molekulák szérum szintjeinek komplex változásait és azok jelentőségét májcirrózisban. Mindkét fikolin molekula, valamint a MASP-2 szintek is szignifikánsan alacsonyabbak voltak májcirrózisban az egészséges kontroll csoporthoz képest (medián [IQR], FCN-2: 505 ng/mL [426 – 596] vs. 769 ng/mL [629 – 1145]; FCN-3: 7301 ng/mL [4857 – 10601] vs. 10797 ng/mL [9017 – 13867] és MASP-2: 212 ng/mL [126 – 359] vs. 412 ng/mL [285 – 586], mindhárom esetén  $p < 0,001$ ). Két korábbi, kis esetszámú tanulmány eredményei megerősítik saját vizsgálatunkét. A szérum FCN-2 és FCN-3 szinteket alkoholos eredetű májcirrózisos betegekben ( $n=20$ ), míg az FCN-2 szinteket krónikus HBV fertőzés talaján kialakult

májcirrózisban (n=120) is. A szérumban MBL szintek ugyanakkor májcirrózisban saját beteganyagunkban nem különböztek sem az egészséges (1118 ng/mL [337-2454] vs. 1027 ng/mL [253-2120]; p=NS) sem pedig a nem-cirrózisos májbetegkontroll csoportokban mért értékektől (krónikus HCV: 1139 ng/mL [320-2352] és autoimmun májbetegségek: 959 ng/mL [276-2204]; p=NS, mindkettő esetben). Az abszolút MBL hiány előfordulási gyakorisága májcirrózisban 10,7%, míg az alacsony MBL szinté 31,1% volt és szintén nem különböztek a különböző kontroll csoportok értékeitől (11,8-15,6% és 29,9-41,3%). Az abszolút MBL hiány <100 ng/mL, míg az alacsony MBL szint <500 ng/mL szérumban koncentrációknak feleltek meg az ismert irodalmi adatok alapján. A különféle lektin molekulák csökkent szérumszintjeinek májcirrózisban nagy valószínűség szerint az a magyarázata, hogy a hepatociták károsodott szintetikus kapacitásának miatt csökken a termelődésük. Ezt a feltételezést támasztja alá az az eredményünk is, hogy a lektin molekulák szérumszintjei a betegség súlyosságának megfelelően fokozatosan csökkennek és legkifejezettebben az előrehaladott betegség stádium esetén észlelhetők. A lektin molekulák szérumszint csökkenése a fikolinok (FCN-2: p<0,01 és FCN-3: p<0,001) és a MASP-2 esetén (p<0,05) lépcsőzetes csökkenést mutatott a májcirrózis klinikai súlyosságával. A szérumban MBL szint ugyanakkor csak a legsúlyosabb klinikai stádium esetén (Child C) mutatott jelentős csökkenést (p<0,001). Az abszolút MBL deficiencia előfordulási gyakorisága azonban nem különbözött az eltérő betegség súlyosságú csoportokban sem (Child A: 11,8%, Child B: 8% és Child C: 13,8%).

A pro-inflammatorikus választ jelző CRP és a lektin komplement útvonal molekuláinak szérumban szintjei között nem találtunk szignifikáns összefüggést (MBL: rho: 0,043 és p=0,512; FCN-2: rho:-0,059 és p=0,366; FCN-3:-0,062 és p=0,422 és MASP-2: rho: 0,065 és p=0,321). Hasonlóképpen az MBL szintek és a betegség aktivitását jelző CRP értékek között Crohn-betegségben sem volt összefüggés saját beteganyagunkban (n=427, rho<sub>CRP</sub>: 0,03, p=0,59), mint ahogyan a betegség aktivitást jelző CDAI között sem (rho<sub>CDAI</sub>: 0,06, p=0,27). Ugyanez volt elmondható a colitis ulcerosában is (n=250, rho<sub>CRP</sub>: 0,15, p=0,231 és rho<sub>TWI</sub>: 0,09, p=0,182)

A lektin útvonal molekulái esetén a funkcionális fehérjék alacsony szintje a mikrobák elégtelen felismeréséhez és csökkent komplement aktivációhoz, opszonizációhoz, gyulladásos citokin szekrécióhoz vezet növelve ezáltal a különféle fertőzések kialakulásának kockázatát. Ez a hatás klinikailag elsősorban akkor nyilvánul meg, ha az immunrendszer még éretlen vagy működése valamilyen más oldalról is gyengül (szerzett immundeficienciák, gyógyszeres immunszuppresszió). Májcirrózisban a csökkent ellenállóképesség egyik fontos oka az alacsonyabb komplement szint – elsősorban a C3 –, melyet a lektinmolekulák csökkent szintje és az így közvetített opszonizáció romlása tovább súlyosbíthat. A bakteriális felismerés és a baktericid aktivitás zavara miatt a fertőzésekre való fogékonyság pedig fokozódik. Klinikai vizsgálatainkban az alacsony fikolin szintek esetén a bakteriális fertőzések kialakulásának kumulatív valószínűsége fokozott volt a normál fikolin szintekhez képest (FCN-2: 62,6±7,4 vs. 46,7±4,6%; HR: 1,55, 95%CI: 1,00-2,39, p=0,047 és FCN-3: 59,3±7,1 vs. 48,2±4,7%; HR: 1,61, 95%CI: 1,05-2,47, p=0,029). Az alacsony fikolin szinteket irodalmi adatok hiányában a májcirrózisos betegek 25 percentil alatti szérumban szint tartományának megfelelő értékben határoztuk meg és rendre a következők voltak: FCN-2: <427 ng/mL és FCN-3: <4857 ng/mL. A szérumban fikolin profil – amely esetén mindkét fikolin molekula szintjét egyidejűleg figyelembe vettük – a bakteriális fertőzések kialakulására nézve lépcsőzetesen növekvő kumulatív valószínűséget mutatott az alacsony fikolin szintek számának növekedésével: 45,7±5,2% volt mindkét fikolin normál szintje esetén, 57,2±7,5% ha a két fikolin közül az egyiknek volt alacsony a szintje és 63,8±9,7% volt azokban, akiknél mindkét fikolin szint alacsonyabbnak bizonyult (HR: 2,00, 95%CI: 1,15-3,47, p=0,016). Nem találtunk hasonló összefüggést sem az individuális, sem a fikolinokkal kombinált MASP-2 deficiencia esetén. Az abszolút MBL hiány esetén is a bakteriális fertőzések kialakulásának kumulatív valószínűsége fokozott volt az MBL kompetens egyénekével összehasonlítva (70,7±10,1 vs. 63,4±6,0%; HR: 1,75, 95%CI: 1,06-2,9, p=0,03). Az infekciók lokalizációját vagy Gram szerinti típusát tekintve, a fertőzések megoszlásában nem volt a különbség a fikolin, MASP-2 és az MBL fenotípusok szerint. A lektin komplement útvonal molekuláinak szérumszintjei és a bakteriális fertőzések kialakulása között talált összefüggéseket többváltozós Cox

regressziós analízisben tovább elemezve, a klinikai tényezők (betegsúlyosság – Child-Pugh stádium B/C [HR: 2,79, 95%CI: 1,72-4,52,  $p < 0,001$ ] – és korábbi fertőzőes epizód – [HR: 2,48, 95%CI: 1,65-3,73,  $p < 0,001$ ]) mellett csak az abszolút MBL hiány bizonyult független kockázati tényezőnek [HR: 2,1, 95%CI: 1,25-3,52,  $p < 0,001$ ].

Irodalmi adatok szerint májtranszplantációt követően szintén gyakoribbnak találták az életet veszélyeztető súlyos fertőzések megjelenését a donor MBL deficienciája esetén. Az MBL molekula feltehetőleg nemcsak a szisztémás, hanem a lokális immunvédekezésben is fontos szerepet játszik, gátolva a bél falon át történő BT-t. Az *MBL2* gén transzkripciója a gyulladt vékonybelet infiltráló immunsejtekben fokozódik. Ismert továbbá az is, hogy a vékonybél nedvébe is kiválasztásra kerül. Az MBL deficiens betegek valószínűleg kevésbé képesek védekezni a bél falon át bejutó baktériumokkal szemben MBL kompetens társaikhoz képest. Ezt támogatja az az adat, miszerint az SBP – melynek patogenezisében kulcsszerepet játszik a BT – előfordulását gyakoribbnak találták hepatitis B vírusfertőzés talaján kialakult májcirrózisos betegekben, amennyiben azok MBL hiányban szenvedtek.

Az MBL deficienciától eltérően azonban az alacsony fikolin szinteknek a bakteriális infekciók kialakulásával való összefüggése nem volt független a májbetegség súlyosságától. Ezek az eredmények is arra utalnak, hogy a csökkent fikolin szintek előrehaladott májcirrhosisban a májsejtek szintetikus kapacitás-károsodásának következményei, és nincs olyan jelentős helyettes, ami ezt a funkciójukat pótolni tudja. A csökkent fikolin szintek a CAID újonnan azonosított fontos, szerzett alkotóelemének tekinthetők. Az ismert klinikai és szerológiai kockázati tényezők mellett a csökkent fikolin szintek CAID komponensként való azonosítása prognosztikai szempontból ugyan nem hordoz új információt és kockázatbecslő mátrix modellbe való bevonásra nem lesz alkalmas, patofiziológiai szempontból mégis figyelemre méltó új felismerésnek tekinthető. Az sPRM molekulák a nem antibiotikum alapú infekció profilaxis célpontjai lehetnek májcirrhosisban. Előrehaladott betegség stádium esetén, amikor a májműködés javulása májtranszplantáció nélkül már nem lehetséges, a CAID komponenseinek korrekciója csökkenthetné a kialakuló, és döntően halálhoz vezető infekciók gyakoriságát. Az MBL esetén ismertek olyan pre-klinikai és fázis 2 vizsgálatok, mely szerint MBL deficiens betegekben az MBL szint helyreállítása plazma eredetű (pdMBL) vagy rekombináns (rMBL) fehérje intravénás bevitelével javította a túlélést, biztonságosnak és hatékonyan bizonyult. Daganatos gyermekekben, akiknek ismert MBL deficienciájuk volt, kemoterápia következtében kialakult neutropénia esetén heti egy-két alkalommal adott 200-300 g/tskg pdMBL infúzióval normál plazma MBL szint volt elérhető és fenntartható. Hasonló vizsgálatok végzése fikolin deficiencia esetén is jelentőséggel bírhat.

A MASP-2 a lektin útvonal központi, de nem egyetlen aktivátora. Miután a lektin típusú sPRM molekulák kötődnek a célmolekulájukhoz, MASP-ok hasítása megtörténik. Az aktiválódás pedig elindítja a proteolitikus kaskád, ami a membrán károsító komplex létrehozásához és a patogének líziséhez vezet. Saját tanulmányunkban a szérumban MASP-2 szintek nem függtek össze a bakteriális fertőzések kialakulásának gyakoriságával májcirrhosisban. A MASP-2 antigén szint azonban nem feltétlenül jelzi a molekula funkcionális aktivitását. Vizsgálatunk korlátozó tényezője, hogy az antigén mérés mellett nem végeztünk funkcionális analízist, így nem zárható ki, hogy bár a MASP-2 szint nem, ugyanakkor a MASP-2 aktivitás összefügghet a vizsgált klinikai kérdéssel. Az MBL szérumban antigén szint meghatározás esetén ismert, hogy az pontosan jelzi a működő molekulákat is. Szoros összefüggés ismert továbbá mind a mannózkötő assay, mind pedig a komplement aktivációs C4b depozíciós assay során meghatározott MBL funkció, és az általunk használt módszerrel mért MBL koncentrációk között. Hasonló vizsgálatok a MASP-2 esetén nem ismertek az irodalomban.

A komplement rendszer lektin molekuláihoz hasonlóan a *haptoglobin* (*Hp*) is elsősorban a májban szintetizálódik és onnét kerül a keringésbe. Az erős antioxidáns hatás mellett (hemoglobin [Hgb] kötés) a fehérje gyulladásgátló és immunmoduláns hatásokkal is rendelkezik, mely a *Hp*-nak a PRR-okhoz való kötődésén keresztül valósul meg. A molekulának kulcsszerepe van mind az akut, mind pedig a krónikus gyulladásgátló folyamatok mérséklésében, a tolerancia indukcióban és a szöveti regenerációban. A *Hp*-Hgb komplex

egyik ilyen jelentős receptora a retikuloendoteliális rendszer (RES) sejtjein, a monocitákon és a makrofágokon található scavenger receptor (CD163). A CD163 egyrészt a Hp-Hgb komplex endocitotikus receptora, másrészt bakteriális szenzorként működve a lokális immunválasz elindításában játszik szerepet. A Hp-Hgb komplex kötődik a granulociták és az NK sejtek felszínén elhelyezkedő CD11b receptorhoz (CR3) is. A kötődésének azonban inkább szabályozó funkciója van, a komplex eltakarítása szempontjából a jelentősége kisebb. A Hp továbbá egyike azon molekuláknak, melyek képesek a veleszületett és a szerzett immunrendszer működését összekapcsolni és az immunválaszt optimalizálni. Kötődik a B sejtek felszínén lévő CD22-höz és a CD4+ és CD8+ T limfociták többségéhez is. A Hp csökkenti a LPS indukálta T- és B-limfocita proliferációt és funkciót, valamint befolyásolja a Th1/Th2 egyensúlyt. Az MBL-hez hasonlóan a Hp esetén is ismert extrahepatikus képződése. Egyrészt különféle szövetekben, köztük a vékony- és vastagbélben is lokálisan expresszálódik, másrészt a monocitákból és a granulocitákból, melyek a Hp *de novo* szintézisére is képesek, a gyulladás helyén felszabadul. A Hp így autokrin és parakrin módon hatva a gyulladás és az immunválasz lokális szabályozásában is részt vesz.

A molekula alfa láncát kódoló gén polimorfizmusa következtében három eltérő szerkezetű Hp molekula (Hp1-1, 1-2, 2-2) képződik. A Hp fenotípus egyértelműen azonosítja az egyén genotípusát. A Hp fenotípusában megmutatkozó strukturális különbségek jelentős működésbeli különbségekkel is járnak a molekula antioxidáns, scavenger és immunregulatorikus funkcióit tekintve. A Hp polimorfizmus emiatt különféle gyulladásos és autoimmun kórkép lefolyását módosíthatja. Kevés adat áll rendelkezésre arról, hogy a különböző Hp fenotípusok esetén az eltérő immunmoduláló képesség hogyan befolyásolja a bakteriális infekciók kialakulását és lefolyását. Feltételezés szerint a Hp1 allél intragénikus duplikációját követően kialakult Hp2 allél, és az így megjelenő Hp2-1 illetőleg Hp2-2 geno/fenotípus, gyors elterjedését az magyarázza, hogy szelektív rezisztenciát biztosít a behatoló kórokozókval szemben. Egy kis esetszámú klinikai tanulmányban a Hp1-1 fenotípus esetén gyakoribbnak találták az életet veszélyeztető *Streptococcus* infekciók előfordulását.

Elsőként vizsgáltuk a Hp fenotípusok jelentőségét a májcirrózishoz társuló bakteriális infekciók kialakulásában. A különböző Hp fenotípusok megoszlása májcirrózisban (n=336) megegyezett az egészséges kontroll populációban (n=384) talált arányokkal (Hp1-1: 10,7% vs. 11,5% , Hp2-1: 47,9% vs. 46,1%, Hp2-2: 41,4% vs. 42,4%). A Hp1-1 fenotípusú betegek esetén a bakteriális fertőzések kialakulásának kumulatív valószínűsége fokozott volt a másik két fenotípussal rendelkező egyénekével összehasonlítva (Hp1-1:  $77,6 \pm 11,5\%$ , Hp2-1:  $66,4 \pm 7,6\%$  és Hp2-2:  $50,8 \pm 7,4\%$ ,  $pLogRank = 0,046$ ). A bakteriális fertőzések Gram specificitásának és azok lokalizációjának megoszlásában ugyanakkor nem volt a különbség a Hp fenotípusok szerint. A Hp fenotípusok és a bakteriális fertőzések kialakulása között talált összefüggést többváltozós Cox regressziós analízisben tovább elemezve a betegség súlyosság mellett a Hp fenotípus is független kockázati tényezőnek bizonyult [HR: 2,44, 95%CI: 1,37-4,34,  $p=0,002$ ].

A Hp1-1 fenotípus esetén a bakteriális infekciókkal szemben észlelt fokozott fogékonyságot magyarázhatja ezen fenotípushoz társuló csökkent immunreaktivitás (alacsonyabb B és CD4+ T limfocita szám és a prosztaglandin szintézis erőteljes gátlása). A Hp1-1 molekula bakteriosztatikus funkciója, illetőleg a patogének megfelelő elimináláshoz elengedhetetlenül szükséges Th1 válasz kialakulását elősegítő hatása is gyengébb a Hp2-2-molekulához képest. Sok kórokozónak vasra van szüksége az alapvető anyagcsere folyamatokhoz, melyet a Hgb-Hp komplex bekebelezése útján vesznek fel. A kis dimer szerkezetű Hp1-1-vel szemben a polimer szerkezetű Hp2-2-s fenotípus ezt lehetetlenné teszi, így akadályozza a baktériumok szaporodását. Ráadásul a multimer szerkezetű Hp2-2 több baktériumkötő hellyel rendelkezve agglutinálja azokat, tovább gátolva szaporodásukat. Ezáltal a polimer formák egy természetes védelmet jelentenek számos kórokozóval szemben. A Hp1-1 fenotípus esetén a Th1 válasz relatív hiánya észlelhető, mely a makrofágok CD163 receptorához történő kapcsolódást követő Th2 típusú elsősorban anti-inflammatórikus citokinek (IL-6 és IL-10) fokozott indukciója miatt alakul ki. A Hp2-2 fenotípus

gyengébb induktora az anti-inflammatórikus citokinek, és a T sejt választ elsősorban a Th1 irányba tolja. A Th1 típusú celluláris immunválasz alapvető fontosságú a patogén baktériumok eliminációjában, míg a Th2 válasz a gyulladásos folyamatok lecsengéséhez, a szöveti gyógyuláshoz nélkülözhetetlen.

A T sejt válasz egyensúlyának különös jelentősége lehet lokálisan, az extravaszkuláris térben. A Hp immunvédekezésben betöltött jelentős lokális szerepére utal, hogy a fehérje nagy mennyiségben szintetizálódik a tüdőben is pulmonális fertőzések során. A fehérjeszintézis elsősorban az alveoláris epitél sejtekben és makrofágokban zajlik, párhuzamosan a fokozott CD163 expresszióval. A Hp-t a legkülönbözőbb testfolyadékokban is megtalálták, mint például az ascitesben. A Hp a gyulladás helyén a granulocitákból is felszabadul. Saját még nem publikált megfigyelésünk, hogy mind a haptoglobin mRNS, mind pedig maga a fehérje fokozott mennyiségben van jelen különféle vékony- és vastagbélgyulladásban szenvedő betegek bélbiopsziás mintáiban. Cirrózisban ismert a vékonybél gyulladásos állapota, mely hozzájárul a BT fokozódásához. Feltételezhető, hogy a Hp1-1 fenotípus a Hp2-2-höz képest lokálisan egy kevésbé erőteljes védelmi vonalat hoz létre és így kevésbé képes akadályozni a baktériumoknak a szisztémás keringésbe való jutását, és így a fertőzések kialakulását.

A különféle *sejtfelszíni és intracelluláris PRR-ok* funkcionális következménnyel járó variáns genotípusai esetén a bakterális patogének érzékelése és azok eliminációja megváltozik, melynek következtében a veleszületett immunrendszer működése zavart szenved. Nem-cirrotikus betegekpopulációban korábban már leírták, hogy a veleszületett immunrendszer PRR-jeit érintő különféle funkcionális polimorfizmusok fontos szerepet játszanak a bakteriális fertőzésekkel vagy a széptikus állapottal szembeni fogékonyság kialakulásában, elsősorban szerzett immundeficienciák esetén (pl. akut leukémia vagy allogén őssejt transzplantáció). Emellett, kritikus állapotú betegekben a *NOD2/TLR4* kombináció esetén magasabbnak bizonyult a tenyésztéssel igazolt bakterémia előfordulási gyakorisága is. Májcirrózisban a korábbi, funkcionális PRR génvariánsokkal foglalkozó tanulmányokat dekompenzált, asciteses betegek körében végezték és döntően az SBP kialakulására fókuszáltak. A nem-SBP típusú bakteriális infekciók vonatkozásában hasonló jellegű adatok csak szórványosan állnak rendelkezésre. Saját betegkohorszunkban ezért a betegség stádiumainak teljes spektrumát átfogóan három különböző PRR gén funkcionális SNP-inek szerepét tanulmányoztuk a nem-SBP típusú bakteriális infekciók kialakulásában. A *NOD2 (R702W, G908R and L1007PfsinsC)* egy pontos nukleotid polimorfizmusokra (SNP) nézve betegeink közül 16,4%-nak volt variáns genotípusa. Homozigóta mutáns nem fordult elő, míg a betegek mintegy 0,6%-a volt összetett heterozigóta. A *NOD2* genotípus megoszlások megfeleltek az irodalomban a kaukázusi populációban korábban közölt adatoknak, mint ahogyan a *TLR2 (-16934T>A, rs4696480)* és a *TLR4 (D299G, rs4986790)* polimorfizmusok esetén is és az alábbiak voltak: *TLR2*, -TT: 24,5%, -TA: 44,4% és -AA: 30,8% és *TLR4*, -AA: 93,1%, -AG: 6,6% és -GG: 0,3%. A *NOD2, TLR2 vagy TLR4* rizikó allélel rendelkező betegek esetén a nem-SBP típusú bakteriális fertőzések kialakulásának kumulatív valószínűsége az utánkövetés során nem volt fokozott ( $PLogRank=0,107$ ,  $=0,439$  és  $=0,535$ , rendre). Májcirrózisos betegekben eddig mindössze egy kisesetszámú retrospektív tanulmány (N=111) számolt be arról, hogy előrehaladott betegségstádium esetén a *TLR4 (D299G, rs4986790)* variáns fokozta a bakteriális infekciók kialakulását. Ugyanakkor egy nagy retrospektív kohorszban (n=336), melyhez egy hasonló létszámú validációs kohorsz vizsgálata is megtörtént, egy másik *TLR4* variáns (c.+1196C/T, rs4986791) nem fokozta a bakteriális infekciók kialakulásának kockázatát. Továbbá az infekciók Gram specificitásában és lokalizációjának megoszlásában sem tudtunk különbséget kimutatni a *NOD2, TLR2* és *TLR4* genotípusok szerint. Ismert, hogy a PRR család két legfontosabb tagja – a TLR-ek és a NOD-szerű receptorok – szinergikus módon működnek a kórokozók szembeni immunválasz kialakulásában. A *TLR2* és legalább egy *NOD2* rizikó variánst egyaránt hordozó betegeink esetén (n=10, kombinált rizikó tényező) sem mutatkozott különbség a csak egyik rizikó variánst hordozó betegekhez képest ( $PLogRank=0,397$ ). A *TLR4* és a *NOD2* rizikó variáns kombinációk értékelésének a nem-SBP típusú bakteriális fertőzések



kumulatív valószínűsége szempontjából nem volt értelme, mert mindössze egy beteg rendelkezett mindkét genotípussal egyidejűleg. Tekintve, hogy a CAID egy dinamikusan változó folyamat a májbetegség progressziója során, ésszerű volt azt feltételezni, hogy a bakteriális fertőzésekkel szembeni veleszületett fogékonyság eltérő mértékben befolyásolhatja az infekciós epizódok kialakulásának tényleges kockázatát a betegség különböző stádiumaiban. Az előrehaladott májcirrózisban ugyanis a kezdeti stádiumhoz képest egyre inkább kimerülnek a kompenzatórikus mechanizmusok. A PRR génvariánsok hatását a különböző betegsúlyosságú alcsoportokban (kompenzált vs. dekompenzált májcirrózis) vizsgálva nem tudtunk különbséget kimutatni. Ezen eredmények alátámasztják, hogy májcirrózisban a bakteriális fertőzések kialakulását tekintve a CAID szerzett tényezői sokkal inkább kockázati tényezőnek számítanak, mint a különféle PRR-ek funkcionális genetikai polimorfizmusai.

A kóros BT a bakteriális infekción túl szorosan összefügg a májcirrózis számos egyéb, klinikailag jelentős szövödményével. Crohn-betegségben a *NOD2* génvariánsai, és többféle *TLR* polimorfizmus is hozzájárulnak a kóros BT kialakulásához. Dekompenzált májcirrózisos betegekben az egyik *NOD2* variáns (p.G908R) megléte esetén a bakteriális DNS fragmentumok fokozott átjutását találták a hasúri folyadékba. Ugyanezen *NOD2* variáns jelenléte esetén a patológiás BT gyakrabban alakult át mikrobiológiailag igazolt SBP-vé. A *TLR2* (-16934 T>A, rs4696480) és a *TLR4* (D299G, rs4986790) polimorfizmusok szintén összefüggést mutattak a bél felől kiinduló megnövekedett szisztémás antigén terheléssel. Ezen variáns genotípusok esetén a szérumban emelkedett lipoteikon sav, LPS és bakteriális DNS jelenlétét lehetett igazolni. Tanulmányunkban mind szerológiai, mind klinikai megközelítésből tanulmányoztuk a különböző PRR génvariánsok szerepét a BT-ra nézve. Először is megvizsgáltuk a *NOD2* és *TLR2* és *TLR4* SNP-k hatását a BT következtében kialakuló szerológiai válaszra. A különféle IgA típusú anti-mikrobiális antitestek gyakorisága és a szérumban LBP szintek azonban nem különböztek az egyes PRR genotípusok szerint; akár a teljes betegkohorszot néztük, akár az ascites jelenléte vagy hiánya alapján képzett alcsoportokat. Másodszor, megpróbáltuk igazolni azt a feltételezést, miszerint ha a PRR génvariánsok összefüggnek a BT-vel, akkor májcirrózisban korrelálniuk kell a felgyorsult betegségprogresszióval is, mint például az első dekompenzációs epizód kialakulása vagy a májbetegséghez kapcsolódó halálozás. Saját munkánk során elsőként vizsgáltuk az irodalomban a különféle PRR génvariánsok és a májcirrózishoz társuló dekompenzációs események összefüggését. A *NOD2*, a *TLR2* és a *TLR4* génvariánsok azonban nem befolyásolták a dekompenzált betegségstádium kialakulását ( $p\text{LogRank}=0,681$ ,  $=0,068$  és  $=0,249$ , rendre). A PRR génvariánsok hatását a mortalitásra már korábban is kutatták, de ellentmondásos eredmények születtek. A mi eredményeinkkel nem tudtuk összefüggést igazolni a *NOD2* általunk vizsgált variánsai és a fokozott mortalitás között ( $p\text{LogRank}=0,785$ ).

## Májcirrózishoz társuló bakteriális transzlokáció előrejelzése

**Anti-mikrobiális antitestek** A májcirrózishoz társuló bakteriális fertőzések hatékony előrejelzésében a kóros BT folyamatát specifikusan jelző szerológiai markerek azonosítása szintén érdeklődésre tarthat számot. Hipotézisünk szerint a PRR-ok által felismert sejt felszíni mikrobiális alkotóelemek ellen a szervezetben képződő antitestek hátterében a krónikus BT áll, az antitestek jelenléte pedig a folyamat szerológiai markerének tekinthető. Az anti-mikrobiális antitestek – elsősorban az ASCA – jelenlétét az irodalomban a szövödményes vékonybél CD szerológiai jellegzetességeként tartják számon. Az anti-mikrobiális antitestek kialakulásában a genetikai fogékonyság szerepét hangsúlyozzák, tekintve hogy fokozott képződésük egyrészt családi halmozódást mutat, másrészt pedig összefügg a PRR-ok bizonyos polimorfizmusainak jelenlétével. Feltételezik, hogy CD-ben a bélfóra alkotóelemeinek nem megfelelő módon történő felismerése a bakteriális antigének fokozott felvételét eredményezi, mely kiváltja és fenntartja a fokozott antitest képződést, függetlenül a betegségállapottól és a bélnyálkahártya gyulladástól. A *NOD2*/*CARD15* mutációk és az ASCA jelenléte közötti pozitív összefüggést saját CD betegcsoportunkban is meg tudtuk

erősíteni. Az ASCA előfordulási gyakorisága mintegy 25%-kal volt magasabb a legalább egy NOD2/CARD15 mutációt hordozó CD betegcsoportban összevetve a NOD2/CARD15-re vad típusú betegcsoporttal. Szerológiai gén-dózis hatást is ki tudunk mutatni, azaz az ASCA előfordulási gyakorisága szignifikánsan nőtt a NOD2/CARD15 mutációk számának növekedésével. Az ASCA előfordulási gyakorisága ugyanakkor a NOD2/CARD15-re vad típusú betegcsoportban is magas volt, melyek alapján felmerül, hogy a genetikai alapon létrejövő bélflóra elleni tolerancia vesztés nem az egyetlen és nem is a fő mechanizmus, mely az anti-mikrobiális antitestek kialakulásának hátterében áll. Az anti-mikrobiális antitestek gyakori megjelenése és a betegség klinikai lefolyásával való kapcsolata CD-n kívül feltételezésünk szerint egyéb olyan kórképekben is várható, ahol a BT központi szerepet játszik a kórkép patogenezisében és a szövődményes betegségforma kialakulásában, mint pl. májcirrózis. Hipotézisünk alátámasztására ezért három olyan gasztroenterológiai betegcsoportot választottunk ki és vizsgáltunk egyidejűleg, ahol a betegség patogenezisében és a kórlefordulás során a szövődmények kialakulásában jelentős szerepet játszik a veleszületett immunrendszer működészavara és így a bélnyálkahártya csökkent védekezőképessége. További közös jellemzőjük, hogy a vékonybélgyulladás következtében létrejövő strukturális és funkcionális károsodás és a megváltozott bélflóra együttesen krónikus BT-hez vezetnek. A különféle luminális baktériumok és/vagy bakteriális termékek kontrollálatlan felvétele pedig tovább súlyosbítja a már zajló lokális és szisztémás proinflammatorikus folyamatokat elősegítve ezáltal a betegség súlyosbodását és a szövődmények kialakulását.

Az anti-mikrobiális szerológiai válasz és a betegség összefüggését komplex módon vizsgálva CLD-ben (n=676) igazoltuk, hogy a májcirrózissal szövődött esetekben az IgA izotípusú anti-OMP<sup>Plus</sup><sup>TM</sup> antitestek és az ASCA előfordulása jelentősen gyakoribb, a betegség etiológiájától függetlenül, mind az egészséges kontroll (OR<sub>anti-OMP Plus<sup>TM</sup></sub>: 6,69, 95%CI: 3,88-11,55 és OR<sub>ASCAeither</sub>: 3,28, 95%CI: 1,83-5,89), mind pedig a nem-cirrózisos CLD csoporthoz képest ( $p < 0,001$  mindkettő esetén). Májcirrózis hiányában azonban, az antitest prevalenciák megegyeztek a kontroll csoportban észleltekkel, mely alól csak a PSC volt kivétel. Primér szklerotizáló cholangitisben a BT már a májcirrózis kialakulása előtt is jelentős fokú, függetlenül az IBD jelenlététől. Az általunk észlelt ASCA pozitívitas PSC-ben megegyezett az irodalomban korábban közöltekkel (30,5% vs. 44%). A májcirrózisos betegcsoportban az alkoholos és nem-alkohol etiológia szerint azonban nem találtunk különbséget az anti-OMP<sup>Plus</sup><sup>TM</sup> és az ASCA szeropozitivitasban. Az IgA izotípusú anti-mikrobiális antitestek szeropozitivitas arányának növekedése pozitív korrelációt mutatott a betegség súlyosságának fokozódásával, a Child-Pugh pontrendszer szerint (anti-OMP<sup>Plus</sup><sup>TM</sup> IgA, Child A: 39,6%, Child B: 72,0% és Child C: 84,2%, valamint ASCA IgA, Child A: 15,6%, Child B: 34,6% és Child C: 56,6%,  $p < 0,001$  mindkettő esetén) és a portális hipertenzió jelenlétével ( $p < 0,001$ ). A szeropozitivitas mellett, minél súlyosabbnak bizonyult a betegség, annál magasabb ASCA IgA és anti-OMP<sup>Plus</sup><sup>TM</sup> IgA titer értékeket figyeltünk meg. Ez összhangban van azzal, hogy a BT májcirrózisban gyakori, főleg súlyos, előrehaladott májbetegségben vagy ascites jelenlétekor. A Gram negatív baktériumok azok, amelyek a leggyakrabban transzlokálódnak. Az anti-OMP<sup>Plus</sup><sup>TM</sup> IgA, mely tartalmaz Gram negatív baktérium fehérjék elleni frakciót is, a májcirrózisos betegek 62,6%-ban volt jelen. Egy másik antitestről, az anti-gal-ról, mely szintén Gram negatív baktériumok sejtfelszíni antigénje ellen termelődik korábban igazolták, hogy kapcsolatot mutat az előrehaladott fibrózis jelenlétével ( $\geq$  III. stádium) a CLD etiológiájától függetlenül. Az anti-gal antitest jelenlétében magasabb endotoxin szinteket észleltek, illetőleg egyéb, a bakteriális expozíciót jelző markerek gyakoribb előfordulását is.

Saját betegkohorszunkban a májcirrózis előrehaladott stádiumában észlelt ASCA IgA pozitívitas megegyezett a CD-ben észleltekkel (56,6% vs. 59,4%). Hasonló eredményt mutatott a kvantitatív ASCA válasz is (medián titerek [IQR], CD: 26,0 [11,2-75,4] U vs. LC – Child C: 31,7 [18,4-47,4] U,  $p = NS$ ). Továbbá még nem kezelt cöliákias betegekben (a diagnózis felállításakor) a különféle anti-glikán antitestek előfordulási gyakoriságát (65,9% vs. 59,4%) és medián titer értékeiket is nagyon hasonlóan találtuk a CD-ben észleltekhez (Cöliákia Csoport 1, n=82; gASCA: 33,1 U/mL, AMCA 79,3 U/mL, ALCA 21,5 U/mL, ACCA 68,4 U/mL

vs CD, n=557; gASCA: 48,3 U/mL, AMCA 55,5 U/mL, ALCA 25,4 U/mL, ACCA 46,2 U/mL). Cöliákiában ugyanakkor kellően hosszú ideig tartó sikeres GFD-t követően (Csoport 3, n=75) az antitestek előfordulási gyakorisága nem különbözött az egészséges kontrolloktól (gASCA: 13,3% vs. 14%, AMCA IgG: 1,3% vs. 0%, ALCA IgG: 6% vs. 2,1%, ACCA IgA: 4,2% vs. 6%, bármely glikán: 20% vs. 21% és anti-OMP<sup>Plus™</sup> IgA: 30,7% vs. 20%). Cöliákiában a diagnózis felállításának időpontjában (Csoport 1) is a legmagasabb antitest prevalenciákat és titereket a legsúlyosabb klinikai formában jelentkező betegség, a malabszorpció, esetén észleltük, ahol a bél károsodása jelentős fokú. Cöliákias betegek egészséges elsőfokú hozzátartozóit vizsgálva (n=66) az anti-mikrobiális antitestek jelenléte családi halmazódást nem mutatott és nem volt gyakoribb az egészséges kontroll csoportban észlelnél (gASCA: 9,1% vs. 14% és anti-OMP<sup>Plus™</sup> IgA: 12,1% vs. 20%). Májcirrózisban és cöliákiában ráadásul az IgA izotípusú anti-mikrobiális antitestek gyakorisága anélkül volt magas, hogy ezen betegcsoportokban gyakoribb lett volna a NOD2/CARD15 variáns allél hordozása a kontroll populációhoz képest. Továbbá sem májcirrózisban, sem pedig cöliákiában nem észleltünk fokozott anti-mikrobiális antitest képződést a NOD2 variánstípust hordozó betegekben a vad típushoz képest. Cöliákiában az antitestek megjelenése a glutén által provokált gyulladás és következményes szövetkárosodás miatt kialakuló megnövekedett bélpermeabilitásnak tulajdonítható, míg a glutén étrendből történő eliminálása jelentősen csökkenti vagy normalizálja a fokozott bélpermeabilitást. Feltételezhetően ezek a gliadin által indukált folyamatok (bél barrier károsodás) az okai az anti-mikrobiális antitest képződésének a betegségben. Ezt támasztja alá, hogy vizsgálatunkban a glikán ellenes antitestek és a TGA IgA szintek között összefüggést tudtunk kimutatni (cöliákia teljes csoport, n=190:  $p_{gASCA} < 0,001$ ,  $R=0,39$ ;  $p_{AMCA}=0,01$ ,  $R=0,28$ ;  $p_{ALCA}=0,006$ ,  $R=0,23$ ;  $p_{ACCA} < 0,001$ ,  $R=0,53$ ;  $p_{anti-OMP^{Plus™}}=0,001$ ,  $R=0,25$ ). Továbbá az is, hogy az antitest státusz alapvetően megváltozott a gluténmentes diéta bevezetését követően. Egy 30 fős betegcsoportban (Csoport 1, n=82 része) vizsgáltuk a GFD hatását a glikán ellenes és anti-OMP<sup>Plus™</sup> antitestek jelenlétére. A GFD megkezdése előtt levett szérum mintákból kapott eredményeket hasonlítottuk össze a hosszútávú GFD követőkkel (medián követési idő [IQR]: 49 [10-159] hónap és minden betegben a TGA, az EMA IgA és IgG is negatívvá váltak). A glikán ellenes antitest pozitivitás (gASCA 12, AMCA 9 és ACCA 11 betegben) a szigorú, hosszas GFD mellett teljesen eltűnt. Az anti-OMP<sup>Plus™</sup> ellenanyag a 14 betegből egy esetben maradt pozitív az EMA és TGA negatívvá válása ellenére, de a titer ebben a betegben is jelentősen csökkent (33,2 U/ml-ről 25,4 U/ml-re; pozitív küszöbérték: 25 U/ml). Ezek az eredmények megegyeznek korábbi irodalomból ismert vizsgálatok eredményeivel, mint például 111 cöliákias betegből álló vizsgálati csoportban a GFD mellett jelentősen csökkent az ASCA pozitivitás aránya (28,8%-ról 8,1%-ra), azonban nem szűnt meg teljesen. Ezen különbség magyarázata az lehet, hogy az medián követési idő GFD a mi tanulmányunkban hosszabb volt (49 [10-159] hónap vs. 33 [3-113] hónap). Az eredmények azt támasztják alá, hogy a hosszabb ideig tartó diétával feltehetőleg sokkal inkább elérhető az antitest-negativitás, miként a nyálkahártya teljes gyógyulásának aránya is. A felnőttekben az ASCA prevalenciája magasabb a gyerekekhez képest, ami a hosszan tartó gyulladás és következményes antigén expozíció fontos szerepét támasztja alá az anti-mikrobiális antitestek képződésében. Jól ismert, hogy a TGA a szöveti sérülés jó markere. Saját tanulmányunkban az összes cöliákias alcsoport közül a TGA titer azok esetében érte el a legmagasabb értéket (115,9 U/mL vs egyéb: 60,9 U/mL,  $P = 0,016$ ), akiknél malabszorpció jelentkezett, mely szintén arra utal, hogy a fokozott intesztinális permeabilitás az antitest képződés valószínűsíthető komponense.

Ugyanakkor a gyógyult bélfal véd a mikrobák, illetve azok komponenseinek inváziójától és ez az anti-mikrobiális antitest képződés megszűnéséhez vezet. Cöliákiában ez a folyamat igazolható annak megfigyelésével, hogy az antitestképződés csak átmeneti jelenség. A gliadin expozíció megszűnése és az ezt követő nyálkahártya gyógyulás eredményeképpen az antitestek teljesen eltűnnek. A feltételezésünk ezen szempontjának megerősítése sokkal bonyolultabb CD-ben. Mindenekelőtt a patogenetikai folyamat nemcsak sokoldalúbb, hanem kevésbé is jellemzett a cöliákiához képest. A kiváltó ágens teljes eliminálása nem lehetséges. Továbbá nem érhető el olyan megbízható szerológiai markerek, amik a bél kiterjedt gyulladását tükrözik, mint cöliákiában a TGA és az AAA. Végül

a mikrobiális szeroreaktivitás teljes megszűnése szempontjából a hosszú távú teljes remisszió (nyálkahártyagyulladás nélkül) szükséges, mely azonban ritkán érhető el CD-ben összehasonlítva azon cöliákias betegekkel, akik szigorú GFD-t tartanak. Saját beteganyagunkban a követés során különböző időpontokban levett szérumminták vizsgálatával (n=203 és 30,3 [15,3-48,7] hónap) elemeztük CD-ben is az ASCA és az anti-OMP<sup>Plus</sup><sup>TM</sup> antitestek jelenlétének időbeli stabilitását. CD-ben a különféle antitestek státusza meglehetősen stabilnak bizonyult és a nagy esetszám részletesebb elemzést is lehetővé tett: lehetővé tett: kevesebb mint 10%-ban változott az anti-mikrobiális antitest státusz (negatív – pozitív váltás: 7,5 %, 9,4% és 9% az ASCA IgA és IgG illetőleg az anti-OMP<sup>Plus</sup><sup>TM</sup> IgA esetén; a pozitív – negatív váltás: 0,8%, 2,9% és 3,0% rendre az egyes antitestek esetén). A biológiai terápia bevezetése CD-ben megválaszolhatja ezt a megoldatlan kérdést. A nyálkahártya teljes gyógyulása ezen kezeléssel ugyanis a betegek nagyobb hányadában érhető el, mint a klasszikus immunszuppresszív gyógyszerekkel. Jelen pillanatban nincsenek elérhető adatok prospektív vizsgálatokból, amik a biológiai terápia hatékonysága és az antitestek stabilitása közötti összefüggést értékelné. A CD-hez hasonlóan májcirrózisban sem érhető el a bélbarrier defektus és a BT rendeződése, csak abban az esetben, ha máj állapota javul. Saját májcirrózisos beteganyagunkban (n=62 alcsoportban vizsgálva és medián követési idő [IQR] 204 [71-245] nap) minősége 9,7%-ban következett be változás az antitest státuszban. Nem ismertek az irodalomból olyan vizsgálatok, melyek az anti-mikrobiális antitestek előfordulási gyakoriságának változását vizsgálták volna májtranszplantáció előtt és után.

Feltételezésünk további alátámasztására, miszerint a lokális immundefektus miatt a baktériumoknak és/vagy antigénjeiknek a szisztémás keringésbe való folyamatos bejutása fontos szerepet játszhat a fokozott, elsősorban IgA izotípusú anti-mikrobiális antitestek képződésében, májcirrózisos betegekben követéses klinikai vizsgálatot végeztünk, melyben elemeztük, hogy az IgA izotípusú anti-mikrobiális antitestek jelenléte mutat-e összefüggést a bakteriális infekciók kialakulásával. Azt találtuk, hogy az IgA izotípusú antitestek jelenléte esetén a bakteriális fertőzések kialakulásának kumulatív valószínűsége fokozott volt az adott antitestre negatív esetekkel összehasonlítva (ASCA IgA: 54,6% ± 6,3% vs. 29,1% ± 3,9%; HR: 2,43, 95%CI: 1,55-3,81,  $p < 0,001$ ; és anti-OMP<sup>Plus</sup><sup>TM</sup> IgA: 42,9% ± 4,5% vs. 28,2 ± 5,2 ; HR: 1,72, 95%CI: 1,05-2,82,  $p = 0,033$ ). Hasonló összefüggést az IgG izotípusú antitestek esetén nem tudtunk kimutatni. Az ASCA IgA továbbá a betegség stádiumától független és azzal additív kockázati tényezőnek bizonyult. Kompenzált stádiumú májcirrózisos betegekben, amennyiben jelen volt az ASCA IgA antitest, az újabb fertőzések kialakulásának kumulatív valószínűsége megegyezett a dekompenzált stádiumú ASCA IgA negatív májcirrózisos betegekével (42,7% ± 9,1% és 43,1% ± 6,9%). Amennyiben mindkét klinikai kockázati tényező egyidejűleg jelen volt (ascites és IgA pozitivitás) a fertőzések kialakulásának kumulatív valószínűsége még magasabbnak adódott (68,5% ± 6,0%, HR: 6,03, 95%CI: 3,11-11,68,  $p < 0,001$ ). Ez az összefüggés nem volt elmondható az anti-OMP<sup>Plus</sup><sup>TM</sup> IgA pozitivitásról.

Eredményeink alapján a bélbaktériumok sejtfelszíni glikán komponensei és fehérjéi ellen kialakuló szerológiai válaszról megállapítható, hogy nem egy adott kórképre, hanem a BT kórfolyamatára specifikus. Az IgA izotípusú anti-mikrobiális antitestek a kóros BT munkacsoportunk által újonnan azonosított szerológiai markerei. Továbbá az ASCA IgA antitesteket májcirrózisban a bakteriális fertőzések új szerológia kockázati tényezői.

**Anti-neutrofil citoplazmatikus antitestek** különféle auto- és feltehetőleg anti-mikrobiális antigének ellen irányuló antitestcsalád. Perifériás vérből nyert neutrofil granulocita preparátumon IIFT két klasszikus ANCA mintázat különíthető el, melyek antigén specificitás is eltérő: a citoplazmatikus (C-ANCA) és perinukleáris mintázat (P-ANCA). Az előbbi esetén az antigén a proteináz-3 (PR-3), míg az utóbbi esetén a mieloperoxidáz (MPO). A klasszikus ANCA kimutatást elsősorban a primér vaszkulitiszek diagnosztikájában, illetve ezen kórképekben a gyulladással aktivitás monitorozásában alkalmazzák. Vaszkulitiszekben feltehetőleg az ANCA a kórkép patogenetikai folyamataiban is szerepet játszik. Az ANCA

gyakoribb előfordulásáról azonban számos egyéb betegségben is beszámoltak, mint például IBD, reumatoid arthritis, krónikus autoimmun májbetegségek és különböző szisztémás fertőzések. Ezekben a betegségekben megfigyelt P-ANCA mind antigén specificitásában, mind festődési mintázatában eltér a klasszikus P-ANCA-tól. Elkülönítésképpen atípusos P-ANCA-nak nevezték el, bár számos más néven is szerepel a szakirodalomban, mint például x-ANCA, pANNA vagy DNA-ANCA. Az atípusos P-ANCA különböző, egyelőre még kevésbé jól definiált neutrofil antigén (nukleáris vagy sejtmaghoz kötött citoplazmatikus) ellen képződik. Az atípusos P-ANCA klinikai és patofiziológiai jelentősége a klasszikus ANCA-hoz képest egyelőre kevésbé meghatározott. Az ANCA képződését illetően számos elképzelés létezik. Egyrészt összefügghet a gyulladáshoz vezető folyamatokkal. A gyulladáshoz vezető választásban résztvevő neutrofilek pusztulása olyan mértékű lehet, hogy meghaladja a sejttermelés eltávolításának ütemét. A gyulladás helyén lokálisan így olyan citoplazmatikus fehérjék szabadulhatnak fel az elpusztult neutrofilekből, melyek egy autoimmun választást indít(hat)nak be a szervezetben. Ez a folyamat az egészségesekben is megtalálható természetes ANCA-k mellett nagy koncentrációjú, nagy affinitású, megváltozott epitópspecificitású és funkcionálisan is aktív patológiás ANCA-k megjelenését eredményezi. A neutrofil extracelluláris "csapdák" (neutrofil extracellular trap, NET) keletkezése elősegítheti ezt a folyamatot. Az extracelluláris mátrixhoz kötődő hálózatos struktúráról van szó, ami a neutrofilek degradációja során jön létre, nagy mennyiségben tartalmaz kromatin elemeket, hiszton komponenseket és citoplazmatikus fehérjéket, így PR3-at és MPO-t is. Ezek a struktúrák elősegítik a neutrofil eredetű autoantigének bemutatását az immunrendszernek. Az ANCA képződés mechanizmusára egy másik lehetséges magyarázat az egyes bakteriális fehérjék és a szervezet saját antigénjei közötti keresztreakció. Lehetséges, hogy elhúzódó fertőzések a molekuláris mimikri jelensége révén képesek triggerelni az ANCA képződést. Érdekes módon az atípusos P-ANCA jelenléte jelezhet a bélben található mikroorganizmusokra adott egyfajta rendellenes immunválaszt. Autoimmun májbetegségekben az atípusos P-ANCA az 5-ös izotípusú humán  $\beta$ -tubulin (TBB-5) ellen alakul ki és keresztreakciót ad a bakteriális FtsZ fehérjével. Ez annak lehet a következménye, hogy a TBB-5 kifejezetten nagy strukturális homológiát mutat ezzel a mikrobiális sejtosztódásban szerepet játszó fehérjével, mely szinte minden intesztinális flórában előforduló baktériumban megtalálható. Ezt az elképzelést támasztja alá az is, hogy állakísérletes modellekben csiramentes környezetben nevelkedett egyedekben nem mutatható ki P-ANCA képződés.

Ezen klinikai és alapkutatósi adatok ismeretében feltételeztük, hogy a különféle ANCA-k előfordulása májcirrózisban gyakoribb és jelenlétük összefüggést mutat a betegség klinikai lefolyásával, valamint a bakteriális fertőzések kialakulásával. Ezzel kapcsolatosan korábban átfogó klinikai tanulmányokat nem végeztek. Az ANCA meghatározás esetén a rutin laboratóriumi eljárástól eltérően nemcsak anti-IgG, hanem anti-IgA szekunder antitestekkel is elvégeztük a vizsgálatokat. Továbbá az ANCA IgA esetén annak szubtypusai is meghatározásra kerültek.

Klinikai tanulmányunkban elsőként sikerült igazolnunk az ANCA IgA fokozott képződését májcirrózisban (n=385) az egészséges egyénekhez (n=100) és a nem-cirrótikus CLD-hez képest (n=229) (52,2% vs. 10,9% [krónikus HCV] és 0% [HC],  $p < 0,001$ , mindkettő esetén). A CLD-k közül csak a PSC esetén észlelhető olyan gyakorisággal ANCA IgA képződés (40%), mint a májcirrózis esetén tapasztalható. A májcirrózisban előforduló ANCA antitestek előfordulási gyakoriságát és azok izotípus összetételét saját UC betegeinkben (n=178) találtakkal is összevetettük, ugyanis az ANCA-t a gyulladáshoz vezető bélbetegségek közül az UC jellegetes szerológiai markereként tartja számon az irodalom. Az ANCA IgA és/vagy IgG pozitivitás UC-ben nem különbözött a májcirrózisban talált előfordulási aránytól (73,6% vs. 73%,  $p=0,919$ ), ugyanakkor UC-ben az ANCA pozitív esetek 95,4%-ban (125/131) az antitest IgG izotípusú volt. Az IgA izotípusú ANCA a pozitív esetek 55%-ban (72/131) volt jelen és az esetek jelentős részében az IgG izotípusú antitesttel együtt fordul elő.

Májcirrótikus betegeinkben az IgA típusú ANCA dominánsan C-ANCA-nak megfelelő mintázatot mutatott (46,3%), míg az IgG izotípusú ANCA elsősorban atípusos P-ANCA mintázatnak felelt meg leggyakrabban (51,1%). A másik két mintázat megközelítőleg azonos

gyakorisággal fordult elő mindkét esetben (IgA izotípusú ANCA esetében atípusos P-ANCA: 22,4% és P-ANCA: 31,3%; IgG típusú ANCA esetében P-ANCA: 27,3% és C-ANCA: 21,6%). Colitis ulcerosás betegekben az ANCA mintázat kizárólag atípusos P-ANCA volt.

Az IgA izotípusú anti-mikrobiális antitestekhez hasonlóan májcirrózisban az ANCA IgA jelenléte is egyértelmű összefüggést mutatott a betegsúlyossággal (Child A: 38,2%, Child B: 57,4% és Child C: 64,8%,  $p < 0,001$ ) és a portális hipertenzió jelenlétével ( $p < 0,001$ ). A szeropozitivitáshoz hasonlóan, minél súlyosabbnak bizonyult a betegség, annál magasabb ANCA IgA titerértékeket figyeltünk meg ( $\geq 1:32$  titer előfordulási aránya, Child A: 31,3%, Child B: 49,3% és Child C: 60,0%  $p < 0,001$ ). A szérumban totál IgA (nem specifikus IgA) koncentráció jelentős emelkedése alkoholos májcirrózisban régóta ismert. Ezzel egybehangzó módon a cirrózisos csoporton belül az alkoholos etiológiájú alcsoportban magasabb volt az ANCA IgA pozitivitás gyakorisága (63,0% vs. 33,1%,  $p < 0,001$ ) és magasabbak voltak a titerértékek is szemben a nem-alkoholos etiológiájú alcsoporttal.

A fokozott szérumban IgA képződés oka májcirrózisban jelenleg nem teljesen tisztázott. A gasztrointesztinális traktus részvétele a folyamatban azonban igen valószínűnek tűnik. A bél barrier integritásának megbomlása mind mechanikus, mind immunológiai szempontból jól ismert jellemzője a májcirrózisnak és a betegség előrehaladásával egyre kifejezettebbé válik. Továbbá az alkohol intesztinális epitel sejtekre kifejtett direkt toxikus hatása is ismert. A bél barrier integritásának zavara a vékonybél bakteriális túlnövekedésével együtt lehetővé teszi a bakteriális alkotórészeknek a béllumenből való fokozott lokális felvételét (BT), mely stimulálja a szekretoros immunrendszert és részt vesz a betegség-specifikus szövődmények kialakulásának patogenetikai folyamataiban májcirrózisban. Májcirrózisban a béltraktus részvételét az IgA képződésben alátámasztja a bélben megtalálható bakteriális fehérjék ellen termelődő különféle antitestek emelkedett szérumban koncentrációja, a szervezet fehérjéinek bakteriális alkotórészekkel keresztreakciót adó epitópjai és az sIgA emelkedett szintje a szérumban.

Az IgA régóta jelentős tényezőnek számít a mukozális immunitásban, melyet az alap kutatásokból származó adatok is alátámasztanak. Állatkísérletek alapján az intesztinális IgA képződése és a bakteriális kolonizáció szoros összefüggést mutat: (1) amennyiben csíramentes környezetben lévő egérbe *per os* kommenzális baktériumokat viszünk be, sIgA képződést figyelhetünk meg, mely ismételt dózisokat követően a baktériumok csökkent penetrációját eredményezi a mezenterialis nyirokcsomókba; (2) immundeficiens egérben a szerzett immunitás génjeinek a kommenzális baktériumok általi indukciója csökkent IgA-t szekretáló hibridóma sejtek injekcióját/befecskendezését követően; (3) polimer Ig receptor deficiens állatokban az intesztinális lumenbe való IgA transzport hiányzik, mely alacsony fokú intesztinális gyulladást eredményez; és (4) aktiváció-indukált citidin-deamináz (AID) deficiens egérben, ahol hiányzik a megfelelő IgA képződés, bakteriális túlnövekedés van jelen a vékonybélben. Ezek a kísérletek azt is megmutatták, hogy nagy mennyiségű baktériumra van szükség a mukozális IgA válasz stimulációjához, melynek mértékét az össz-baktérium mennyiség határozza meg; emellett a specifikus IgA válasz elég hosszú ideig tartott, kivéve ha más baktérium is bemutatásra került a bélben.

Az IgA és a kommenzális baktériumok kölcsönhatásai különfélék lehetnek. Az IgA molekulák képesek a mikroorganizmusokat befedve meggátolni azok penetrációját a bél epitel sejtjein keresztül. Az sIgA elősegítheti bizonyos bakteriális antigének felvételét és prezentációját az immunrendszernek, és ezáltal a jelátvitelt megváltoztatva (mint például a CD89 révén) elősegítheti a lokális adaptív immunrendszer egy tolerogénebb állapotba kerülését. Az sIgA ezáltal képes résztvenni a bél lumenében lévő bakteriális flóra szabályozásában. Másrészt a bél mikroflórája szintén fontos szerepet játszik a lokális IgA képződés szabályozásában. A B-sejtek IgA szekréciója a Peyer plakkok centrum germinatívumaiban, izolált limfoid folliculusokban és a bél lamina propriajának elszórt limfoid elemeiben zajlik és ehhez a mikrobiális antigének jelenlétére is szükség van. A dendritikus sejtek folyamatosan bemutatják a bélbaktériumokat az immunrendszernek. Ez a folyamat a Peyer-plakkokat fedő M-sejtek segítségével megy végbe vagy pedig az epitel sejtek közötti szoros kapcsolódások („tight junction”) távolodásának révén, melyek egy speciális citokin mikrokozmoszt teremtenek a T-sejtek segítségével, és ezáltal stimulálja az IgA izotípus

váltást („switch-rekombináció”). A T-sejt független aktiváció pedig a B-sejt aktiváló faktor (BAFF), a proliferációt indukáló ligand (APRIL), a TGF- $\beta$ , IL-6 és a dendritikus, stromális és epiteliális sejtek retinoid sav expressziója/szekrécója révén valósul meg, melyet a target B-sejt receptorok dendritikus sejtek általi kereszt kötése kísér. Ezen felül a baktériumok konzervált molekuláris struktúrái, mint a CpG oligonukleotidok, képesek közvetlenül aktiválni a B-sejtek IgA termelését a TLR 9 közvetítésével. Az aktivált és IgA izotípus váltáson átesett B-sejtek a nyirokvezető utakon a mezenterialis nyirokcsomókba vándorolnak, majd a mellkasi fő nyirokvezetőken (ductus thoracicus) bejutnak a szisztémás keringésbe, ezt követően pedig speciális „homing” receptorok közreműködése révén visszajutnak a nyálkahártya felszínre. Ezek az IgA termelő B-sejtek és plazmasejtek fenotípusa ún. „monocitaszerű”: TNF- $\alpha$ -t, indukálható nitrogén-oxid szintetáz (iNOS) és néhány mieloid felszíni markereket expresszálnak, sőt rendelkeznek nem konvencionális mieloid/ dendritikus sejt funkciókkal is. Mivel ezek az aktivált mukozális eredetű B-sejtek bejutnak a szisztémás keringésbe, így a fokozott BT következtében kialakuló fokozott lokális IgA képződés a perifériás vérben is észlelhető és kimutatható.

Tekintve, hogy a bél bakteriális flórájának az összetétele, illetve a bakteriális terheltség mértéke egyértelműen hatással van az IgA képződésre, a fokozott BT pedig a májcirrózis jól ismert jellemzője, így feltételeztük, hogy mukozális kompartmentből származó bakteriális antigének és ezek keresztreakciója a granulociták citoszolban lévő vagy granuláris fehérjével központi szerepet játszanak a fokozott az IgA izotípusú ANCA képződésében májcirrózisban. *In vitro* körülmények között részletesen vizsgáltuk az IgA izotípusú ANCA jellemzőit IIFT-vel. Az IgA1 és IgA2 szubtypusok arányának meghatározása, illetve a SC jelenlétének kimutatása az IgA molekulákon a szérumban támpontot adhat azok képződési helyének megállapításához (csontvelő vagy mukozális kompartment eredetű). Korábbi tanulmányokban különféle autoantitestek esetén az IgA2 szubtypus arányának megnövekedését és a SC párhuzamos jelenlétét az IgA szekrécio mukozális eredetére nézve bizonyító erejűnek tekintették. Az IgA2 arányaiban a humán szérum össz IgA szintjének 10%-át teszi ki, míg az IgA1 pedig a 90%-át, melynek nagyrésze monomer (m) formában van jelen. Az SC-t tartalmazó IgA antitestek részesedése az össz IgA „pool”-ból kevesebb, mint 1%, mely könnyen érthetővé válik keletkezésének mechanizmusa alapján. Ugyanis az SC a mukozális felszínre történő transzport során kapcsolódik a di- és polimer IgA-hoz (pIgA) és gyakorlatilag nem más, mint a transzportban résztvevő polimer Ig receptor (pIgR) kb. 80 kDa méretű extracelluláris proteolitikus fragmense. A polipeptid a nyálkahártya felszínre eljutva hasítódik le a receptorról IgA kapcsolt formában. Ez a transzport a bélumen irányába az epitel sejtek közvetítésével valósul meg transzcitózissal. A májcirrózisban képződő IgA izotípusú ANCA antitesteket szemikvantitatív IIF módszerrel karakterizáltuk. Egyidejűleg meghatároztuk egyrészt a különféle IgA szubtypusok arányát (IgA1 és IgA2), másrészt a szekretoros komponens (SC) jelenlétét. Az ANCA IgA2 szubtypus aránya jelentősen emelkedett volt ( $46,2 \pm 8,5\%$ ) és csak kevéssé maradt el az ANCA IgA1 szubtypushoz képest ( $53,8 \pm 8,5\%$ ). Az IgA2 arány megoszlása a három különböző ANCA mintázat esetében nagyon hasonló volt (C-ANCA:  $45,8\% \pm 8,1\%$ ; P-ANCA:  $48,0 \pm 6,8\%$  és atípusos P-ANCA:  $44,9 \pm 8,6\%$ ). Májcirrózisban a SC jelenlétének aránya is magas volt. Az ANCA IgA pozitív szérumminták mintegy 86,8%-a volt pozitív SC-re. Az ANCA IgA szerkezetét ugyan nem állt módunkban vizsgálni, ugyanakkor nagyon valószínű, hogy ezeknek az antitesteknek a nagyrésze az SC jelenlétéből fakadóan di- vagy polimer formában vannak jelen. A vizsgálatunk egyik hiányossága, hogy az ANCA IgA antitestek jelenlétét nem vizsgáltuk közvetlenül a különböző mukozális kompartmentekben, illetve azokban a szervekben ahová baktériumok transzlokációja feltételezhető (májban és ascites). Ennek ellenére az ANCA szubtypizálás során nyert szerológiai eredményeink alátámasztják az ANCA IgA bélkompartmentben történő képződésének gondolatát. Saját még nem publikált IBD beteganyagunkban, a CD esetén az ANCA IgA áramlási citometriás módszerrel történő szubtypizálása során is jelentősen emelkedett IgA2 arányt találtunk ( $28,9\%$ ), a SC komponens előfordulási arány pedig  $89,6\%$  volt.

Korábbi tanulmányokban különféle IgA szubtypus meghatározó módszerek segítségével saját munkánkhoz hasonló módon sikerült egyes betegségspecifikus

autoantitestek bélnyálkahártya eredetét igazolni (cöliákia), vagy éppen kizárni (Guillain-Barre szindróma), mely szintén alátámasztja saját eredményeinket. Újabb adatok arra utalnak, hogy májcirrózisos betegekben az emelkedett IgA/sIgA szinteket részben magyarázhatja a monociták felszínén expresszáldó humán mieloid IgA Fc receptor – CD89 (Fc $\alpha$ RI) –, illetve ennek szolúbilis formájának (sCD89) megváltozott expressziója/ koncentrációja, glikozilációja és funkciója. Sőt az sCD89 molekulák nagyobb affinitással kötődnek a plgA-hoz szemben a monomer formával (mlgA). Így az sCD89 fokozott kötődése az IgA-hoz indirekt bizonyítékkal szolgálhat a molekula polimer formájának nagyobb arányú jelenlétére. Sajnálatos módon az általunk alkalmazott biochip módszer, mely etanol fixált neutrofil szubsztrátot használ, nem volt alkalmas annak az eldöntésére, hogy az sCD89 képez-e komplexet az ANCA IgA-val. A CD89 ugyanis konstitutív módon expresszáldik a neutrofil granulocitákon, így ebben a vizsgálati rendszerben interferál az ANCA IgA molekulákhoz potenciálisan kötődő CD89 meghatározásával. A neutrofil szubsztrátok ANCA IgA pozitív vagy negatív szérummal illetőleg pufferrel történt inkubációja során, mindhárom esetben ugyanazt az intenzív és hasonló CD89 expresszióra utaló festődést találtunk az IIF vizsgálat során (ezen adatok nem kerülnek bemutatásra az eredmények részben).

A korábbi tanulmányok egy részében kapott eredmények nem feltétlenül támasztják alá az általunk és mások munkáiban az IgA bélnyálkahártya eredetét illetően vázolt elméletet. Egy vizsgálatban szignifikánsan emelkedett szérum mlgA és plgA szintek ellenére normál mlgA, plgA és SC szekréciós rátát detektáltak alkoholos májcirrózisban szenvedő betegek jejunális folyadékában. Szabad dimér IgA sem volt kimutatható a jejunális folyadékból. A szerzők feltételezése szerint a jejunális szinten észlelt rendellenes szintézis és transzport nem játszik szerepet abban a folyamatban, mely alkoholos májcirrózisban a keringő plgA emelkedett szintjéhez vezet. Érdemes megjegyezni ezzel kapcsolatban, hogy a közölt tanulmányban az intesztinális traktus más részei a jejunumon kívül nem lettek vizsgálva, és feltételezhető, hogy ezek a nyálkahártya régiók másként viselkedhetnek ebben a tekintetben. Egy másik szempont, hogy kizárólag az össz mlgA és plgA szinteket mérték, mely nem zárja ki, hogy az össz IgA egyes kisebb, antigénspecifikus szubfrakciói (mint például az ANCA IgA) máshogy viselkednek, mint a teljes IgA tömeg.

A bakteriális antigének szerepe az ANCA képződés kiváltásában néhány betegségben és állatkísérletes modellben is jól ismert, mely bizonyos bakteriális alkotórészek és a szervezet fehérjéi közötti szekvenciális vagy szerkezeti hasonlóságon alapuló keresztreakciók következményei. Felmerült továbbá az is, hogy IBD-ben és autoimmun májbetegségben a klasszikus és atípusos P-ANCA jelenléte tükrözhet egyfajta, az intesztinális mikroorganizmusokra adott rendellenes immunválaszt. Ezen kívül az ANCA-t kimutatták más krónikus gyulladással járó szisztémás fertőzésekben is. A *Staphylococcus aureus* genetikai szekvenciája komplementer a C-ANCA egyik fő target antigénjének, a PR-3-nak a kritikus szekvenciáival. Kísérleti körülmények között patkányok *Escherichia coli* és *Staphylococcus* eredetű pasztörizált fehérjékkel történt immunizációját követően keringő ANCA megjelenését észlelték. A B-sejtek stimulációja bakteriális nem metilált CpG oligodeoxinukleotidokkal a TLR 9 receptorokon keresztül szintén ANCA képződést váltott ki. Tanulmányunk klinikai eredményei szintén alátámasztják a bakteriális fertőzések és az ANCA képződés indukciója közötti összefüggéseket. Az ANCA IgA pozitivitás szignifikánsan gyakoribb volt azon betegek körében, akiknek a kórelőzményében szerepelt korábban bakteriális fertőzés, szemben azokkal akik nem estek át bakteriális fertőzésen a tanulmányba való bevonást megelőzően (45,8% vs. 30,4%;  $p < 0,01$ ). Ezeket az adatokat retrospektív módon gyűjtöttük össze. Emellett a prospektív módon történő utánkövetéses vizsgálatban az ASCA IgA-hoz hasonlóan az IgA izotípusú ANCA jelenléte is a betegsúlyosságtól és a társbetegség jelenlététől független kockázati tényezőnek bizonyult egy következő bakteriális fertőzéses epizód kialakulása szempontjából, míg az emelkedett szérum totál IgA szint nem ( $> 4,2$  g/L) (ANCA IgA: HR: 1,63, 95%CI: 1,09-2,42,  $p = 0,016$ ; ASCA IgA: HR: 2,10, 95%CI: 1,24-3,56,  $p = 0,006$  és emelkedett totál IgA: HR: 1,13, 95%CI: 1,72-1,76,  $p = 0,596$ ). Ugyanebben a modellben a betegsúlyosság (MELD pontszám/1 pont növekedés) és a társbetegség jelenléte esetén a kockázati hányadosok az alábbiak szerint alakultak: 1,08 és 1,52 (95%CI: 1,04-1,11,  $p < 0,001$  és 1,02-2,26,  $p = 0,04$ ,



rendre). Hasonló összefüggést az IgG izotípusú ANCA, hasonlóan az ASCA IgG-hez, szintén nem tudtunk kimutatni. Az ANCA IgA esetén az infekciók előfordulási gyakorisága összefüggést mutatott a szerológiai válasz nagyságával is és a legmagasabb arány az  $\geq 1:100$  titerértékeknél jelentkezett ( $p < 0,001$ ). Az ANCA IgA pozitív betegek 51,1%-a (90/176) tartozott ebbe a csoportba és a teljes betegkohorsz 26,1%-t (90/345) jelentette. A kvantitatív szerológiai válasz mellett az ANCA IgA mintázatok is összefüggést mutattak a bakteriális fertőzések kialakulásával. Az ANCA mintázatok közül a C-ANCA jelenléte esetén volt az infekciók kialakulásának a kockázata a legmagasabb (OR: 2,71; 95% CI: 1,54–4,75;  $p < 0,001$ ). A C-ANCA pozitív esetek mintegy 80,2%-ában volt az ANCA IgA titer  $\geq 100$  szemben a nem C-ANCA mintázatot mutató csoporttal, ahol az csak mintegy 25,8% volt ( $p < 0,001$ ).

Az ANCA patogenetikai szerepe a vaszkulitiszektől különböző betegségekben ellentmondásos. Májcirrózisban az ANCA-nak nagy valószínűség szerint, hasonlóan az egyéb anti-mikrobiális antitestekhez nincs patogenetikai szerepe a betegség progressziójában és a bakteriális fertőzések kialakulásában, azonban fokozott képződésük az anti-mikrobiális antitestekhez hasonlóan kóros BT-t jelez. Továbbá az ANCA IgA is májcirrózisban a bakteriális fertőzések új szerológia kockázati tényezője.

Az ANCA IgA antitestek antigén specificitásának meghatározása májcirrózisban fontos lenne, ugyanakkor ezt mi nem vizsgáltuk. Feltehetőleg azonban nem azok a klasszikus neutrofil granulocita fehérjék, melyek ellen vaszkulitiszben az IgG típusú ANCA-k kialakulnak. Ezt támasztja alá, hogy betegkohorszunkban az anti-PR3 és anti-MPO pozitívitas igen alacsonynak bizonyult ELISA módszerrel vizsgálva. A P-ANCA pozitív minták 4,9%-a volt pozitív anti-MPO antitestre, míg a C-ANCA pozitív mintáknak 16,5%-a anti-PR3-ra. Hasonló módon a miénkhez egy munkacsoport autoimmun májbetegségekben ELISA módszerrel vizsgálva szintén nem észlelt IgA típusú ANCA reaktivitását egyik ismert citoplazmatikus és granuláris neutrofil fehérje ellen sem. Sőt, teljes neutrofil sejt lizátumot alkalmazva Western blot analízisben azt találták, hogy az ANCA IgA reaktivitás heterogén fehérjékkel szemben alakul ki. Májcirrózisos betegeinkben az IgA izotípusú ANCA esetén mindhárom klasszikus ANCA mintázat előfordult, mely szintén arra utal inkább, hogy a képződés háttérében számos különböző antigén jelenléte állhat.

Korábban csak néhány tanulmányban vizsgálták az IgG izotípusú ANCA előfordulását májcirrózisban és annak esetleges összefüggését a betegség súlyossággal. Az ezzel kapcsolatos eredmények azonban meglehetősen ellentmondásosak. Saját betegkohorszunkban az ANCA IgG válasz és ennek változása nem mutatott párhuzamot az ANCA IgA válasszal. Alkoholos májcirrózisban az ANCA IgG előfordulása alacsonyabb volt, nagyjából az IgA-nak mintegy fele, még a legkevésbé súlyos betegségstádium esetében is. Nem-alkoholos májcirrózis esetén az ANCA IgG pozitívitas gyakorisága fokozatosan csökkent a betegség súlyosságával párhuzamosan és jelentősen csökkent szintet ért el. A kétféle izotípusú ANCA válaszban észlelt eltérések nagyon hasonló tendenciát mutatnak, a májcirrózisban észlelt vakcinációs vizsgálatok eredményeivel. Feltételezhetően egyrészt tükrözik az adaptív immunrendszer zavarát, mely elsősorban az előrehaladott betegségstádiumban kifejezett, másrészt az alkohol direkt gátló hatását is a T-sejt mediált immunitásra. *Pneumococcus* vakcinációt követően az anti-PPS (*pneumococcus* poliszaharid) IgA antitest szintek májcirrózisban szignifikánsan magasabbak voltak a kontroll csoporthoz képest, míg az IgG szintek alacsonyabbak. Májcirrózisban hepatitis B vakcinációt követően továbbá jelentősen csökkent immunogenitást észleltek és a specifikus, protektív IgG válasz gyors hanyatlását – különösképpen alkoholos etiológia esetén – a CLD-hez viszonyítva. Kompenzált májcirrózisos betegek hepatitis A vakcina hatásra ötször nagyobb valószínűséggel alakul ki protektív immunválasz, mint a dekompenzált májcirrózisban.

**Akut fázis fehérjék** emelkedett szintje, mint például az LBP, nyílt bakteriális infekció hiányában fokozott BT-t jelezhet. Egy korábbi vizsgálatban beszámoltak arról, hogy ascitisszel szövődött májcirrózisos betegeinkben amennyiben emelkedett LBP-szintet ( $>9,6$

mg/L) észleltek úgy, hogy a betegek bakteriális fertőzésben aktuálisan nem szenvedtek, egy soronkövetkező szisztémás bakteriális infekció kialakulásának valószínűsége jelentősen fokozott, mintegy négyszeres volt a normál LBP szinttel rendelkező betegekhez képest. Tanulmányunkban öt különféle APP egyidejű vizsgálatával, csak az emelkedett CRP szint (>10 mg/L) esetén tudtunk beszámolni hasonló eredményről. A bakteriális fertőzések előfordulásának kockázatát 3 hónapon belül háromszorosnak találtuk (39,7% vs. 18,4%, HR<sub>adj3</sub> h<sub>ó</sub>: 3,29, 95%CI: 1,09-9,95,  $p=0,035$ ). Hasonló összefüggést a többi vizsgált APP (PCT, sCD14, preszepszin) esetén, beleértve az LBP-t is, nem tudtunk igazolni. Bakteriális fertőzésben bizonyítottan nem szenvedő májcirrózisos betegekben az emelkedett CRP szint hátterében a BT-t, mint okot az is erősítheti, hogy a bazális CRP szint a májbetegség súlyosságával párhuzamosan emelkedett ( $p<0,001$ ). Eredményeink alapján májcirrózisos betegekben javasolható a CRP szint meghatározás rutinszerű alkalmazásának bevezetése a gondozása során. Emelkedett CRP-szint esetén a beteg szorosabb kontrollja és a jelenlegi klinikai gyakorlatnál gyakoribb utánkövetése indokoltnak látszik.

Májcirrózisban talált eredményeinkhez hasonlóan remisszióban lévő CD betegekben is hasznosnak találtuk az APP szintek meghatározást a BT előrejelzésére. A szigorúan értelmezett (CDAI >150,  $\Delta$ CDAI >100 és a gyógyszeres kezelés módosítása) klinikai relapszus előrejelzésében a legjobb individuális marker azonban az emelkedett LBP szint volt (> 22 650 ng/mL, OR: 6,5, 95%CI: 2,2-19,5,  $p=0,001$ ). A CRP-vel kapcsolatosan egy későbbi vizsgálatunkban igazoltuk, hogy annak aktuálisan emelkedett értéke (>10 mg/L) a betegek azon alcsoportjában jelzezte előre megfelelő pontossággal a relapszust, akikben a diagnóziskor emelkedett CRP érték volt jelen. A diagnóziskor normál CRP értékkel rendelkező betegek alcsoportjában azonban annak prediktív értéke korlátozott volt. Crohn-betegségben a markerek kombinációjának alkalmazásával (LBP, sCD14 és CRP) [436] még nagyobb valószínűséggel volt előrejelezhető a klinikai relapszus. Bármely két marker pozitivitása esetén az elkövetkezendő 12 hónapban bekövetkező klinikai relapszus esélye 11,8-szoros volt (95%CI: 3,4-41,2). Az APP szint emelkedések mechanizmusa CD-ben nem pontosan ismert. Feltételezhető, hogy a mezenterialis zsírszövet – mely az IL-6 és a TNF- $\alpha$  termelésének fontos helye – felszaporodása az egyik ok. További elképzelhető magyarázat az lehet, hogy a betegség fellángolás során a bélfal teljes vastagságára kiterjedő gyulladása miatt jelentős BT alakul ki. A következményes bakterémia, mint az APP-k erős stimulátora, pedig azok fokozott szintézisét eredményezi. A CD betegekben nem volt kimutatható aktív infekció vagy akut szövődmény (perforáció, tályog), így ezen eredmények alátámasztják, hogy a bél krónikus gyulladással folyamatosan kapcsolódóan annak strukturális és funkcionális zavara és a következményes BT, legalábbis részben kiváltó oka a CD-ben megfigyelhető endotoxémiának és az APP szintek emelkedésnek. Tovább erősíti ezt, hogy penetráló betegségben a szérum LBP szintet még klinikailag inaktív betegekben is magasabbnak találtuk, azaz ilyen betegség fenotípus esetén a fokozott BT valószínűleg folyamatosan jelen van, még klinikailag észlelhető aktivitás hiányában is.

## **Primér szklerotizáló kolangitiszben a progresszív betegségelfolyás előrejelzése**

Primér szklerotizáló kolangitiszben a progresszív epeúti gyulladás és fibrózis kialakulása miatt a betegek jelentős részénél idővel májtranszplantáció válik szükségessé a végstádiumú májbetegség és annak szövődményei miatt. Nem került azonosításra ezidáig olyan szerológia marker, mely betegség-specifikus lenne és így segítené az egyébként nehéz diagnosztikát. Nincs a betegségaktivitást, illetőleg a progresszív betegségelfolyást hatékonyan előrejelző szerológiai marker sem. A pontos kockázatbecslés, a betegség stratifikáció és az utánkövetési stratégia éppen ezért PSC-ben szintén nem megoldottak. A betegség patogenezisében fontos szerep jut a bél-máj kölcsönhatásnak, melyet számos klinikai tanulmány és kísérletes adat támaszt alá. A biliáris traktus és a bél párbeszédét jellemző biomarkerek kutatásával PSC-ben a klinikailag releváns alcsoportok kijelölésén túl a patogenezis szempontjából jelentős összefüggések feltárására is lehetőség nyílik, ami új kezelési módok felfedezését segítheti elő. Primér szklerotizáló kolangitiszben nincs ugyanis

olyan elérhető gyógyszeres terápia, mely kuratív lenne, vagy akárcsak képes lenne lassítani/megakadályozni a betegség progresszióját.

**A klinikai tényezők jelentősége** A teljes PSC kohorszból a követési időszak alatt hét beteg esett át májtranszplantáción (OLTx). Az indikáció minden esetben a végstadiumú májbetegség kialakulása volt. Hat beteget veszítettünk el májbetegséghez kapcsolódó szövödmények miatt, melyből három haláleset az OLTx után következett be. Az összetett végpontot (OLTx és/vagy májbetegséggel összefüggő halálozás) összesen 10 beteg érte el. A beválasztástól számított medián követési idő a PSC betegcsoportban 2632 (IQR: 286-3022) nap volt. Kaplan-Meier analízisben az OLTx és/vagy májbetegséghez kötődő halálozás bekövetkeztéig eltelt medián idő 490 (IQR: 49-1033) nap volt. A Mayo kockázati pontszám és a cirrózis jelenléte ( $p\text{LogRank}<0,001$  és  $=0,007$ ) szignifikáns kapcsolatot mutatott a gyorsabb betegség progresszióval, azonban nem találtunk ilyen összefüggést a nem ( $p\text{LogRank}=0,441$ ), a betegség felfedezéskori életkor ( $p\text{LogRank}=0,884$ ), a betegség lokalizációja ( $p\text{LogRank}=0,722$ ) és a társuló IBD jelenlétével ( $p\text{LogRank}=0,432$ ).

### Szerológia tényezők

#### **A veleszületett immunrendszer fehérjéi ellen irányuló autoantitestek előfordulási gyakoriságai és jellegzetességeik PSC-ben és gyulladásoz bélbetegségekben**

*Target specifikus pankreász ellenes antitestek (PABs) – glikoprotein 2 (GP2) és a CUB zona pellucida-szerű domain 1 (CUZD1) fehérjék ellen kialakuló antitestek és anti- $\beta$ 2-glikoprotein I [ $\beta$ 2-GPI] elleni antitest*

A PSC betegek 46,2%-ban (30/65) volt jelen legalább az egyik target specifikus PABs (anti-CUZD1 és anti-GP2) és az antitestek előfordulási gyakorisága szignifikánsan magasabb volt mind az IBD (CD: 26,8% és UC: 7,6%,  $p<0,001$  mindkét csoportra nézve), mind CLD kontroll csoportok (aLC: 6,7%, chrHCV: 4,2% és PBC: 4,9%,  $p<0,001$  az összes CLD csoportra nézve), mind pedig az egészséges egyénekéhez (0,0%,  $p<0,001$ ) képest. PSC-ben mindkét target specifikus PABs azonos előfordulást mutatott 30,8%-30,8% (20/65). Az antitest pozitív esetek mintegy harmada (10/30) mutatott dupla pozitivitást (anti-CUZD1 és anti-GP2 is). Az anti-GP2 antitestek kizárólag IgA izotípusúak, míg az anti-CUZD1 antitestek között mindkét Ig izotípus (IgA és IgG) előfordult, közel azonos arányban.

Az IBD betegcsoportot tekintve, CD-ben szignifikánsan gyakoribb volt a különféle IgA/IgG típusú PAb-ok előfordulása, mint az UC betegek vagy a különféle CLD csoportok és az egészséges kontrollok esetén ( $p<0,01$  mindegyikre vonatkozóan). Ezzel szemben az UC betegek és a különféle CLD csoportok és az egészséges kontroll csoportok között nem volt szignifikáns különbség a PAb-ok előfordulási gyakoriságában. IBD betegekben még egy további veleszületett immunitás fehérje, a  $\beta$ 2-GPI, ellen kialakuló autoantitest képződés vizsgálatát is elvégeztük az anti-GP2 és az anti-CUZD1 mellett. Az anti- $\beta$ 2-GPI előfordulási gyakorisága azonban nem volt gyakoribb az egészséges kontrollokhoz viszonyítva (CD: 7,2%, UC: 9,7% és HC: 7,8%,  $p=NS$ ).

Primér szklerotizáló kolangitiszben a PABs jelenléte nem mutatott összefüggést a nemmel és a diagnóziskori életkorral. Számos olyan klinikai és laboratóriumi paraméter, mely súlyosabb betegségforma fennállására utalt, jelentősen emelkedett volt az anti-GP2 IgA antitesttel bíró betegekben. Az anti-GP2 IgA pozitív esetekben az anti-GP2 negatívokhoz képest a betegség fennállásának időtartama rövidebb (medián [IQR] 4 [2-7] vs. 7 [3-10] év,  $p=0,009$ ), a Mayo kockázati pontszáma pedig magasabb volt. Ezenfelül minden májenzim is jelentősen magasabb volt, az albumin szint pedig alacsonyabb. A májcirrózis előfordulása gyakoribb volt az anti-GP2 IgA pozitív betegekben (35% vs. 11,1%;  $p=0,022$ ). A CUZD1 IgA pozitivitás a rövidebb betegségfennállással és a magasabb ALP szintekkel mutatott összefüggést, míg a CUZD1 IgG pozitivitás az alacsonyabb albumin szinttel. Az anti-CUZD1 antitest státusz alapján a Mayo kockázati pontszám nem különbözött. A társuló IBD előfordulása és típusa a PAb státusztól függetlenül hasonló volt.

Crohn-betegségben ileális érintettség esetén az anti-GP2 IgA/IgG antitestek prevalenciája szignifikánsan magasabb volt a kizárólag vastagbél érintettséggel rendelkező csoporthoz képest (L1/3 vs. L2: 13,2% vs. 4,5%;  $p=0,032$ ). Ezzel szemben az anti-CUZD1 IgA/IgG pozitivitás a vastagbél érintettséggel (L2/L3 vs. L1: 23,7% vs. 10,5%;  $p=0,041$ ) és a perianális betegséggel (P1 vs. P0: 32,6% vs. 15,0%;  $p=0,001$ ) mutatott összefüggést. Colitis ulcerosában a target specifikus PAb-ok jelenléte és a betegség fenotípusa között nem volt összefüggés.

*A target specifikus pankreász ellenes antitestek (PAbs) jelentősége a progresszív betegséglefolyás előrejelezésében PSC-ben.* A Kaplan-Meier analízis során kizárólag az IgA izotípusú anti-GP2 antitest jelenléte mutatott összefüggést a betegség gyorsabb progressziójával, azaz az OLTx szükségességével és/vagy a májeredetű halálózással ( $p\text{LogRank}=0,008$ ), míg az IgA vagy IgG izotípusú anti-CUZD1 antitestek ( $p\text{LogRank}=0,335$  and  $0,998$ ) jelenléte nem. A betegségprogresszió szempontjából ismert jelentős klinikai tényezőkkel (Mayo kockázati pontszám) történő illesztést követően az anti-GP2 IgA továbbra is a kedvezőtlen betegségkimenetel független kockázati tényezője maradt (HR: 4,69 [1,05-21,04]  $p=0,043$ ). Hasonló tendencia volt kimutatható, amennyiben az illesztést a májcirrózis fennállását figyelembevéve végeztük (3,67 [0,88-15,30],  $p=0,074$ ). Alcsoport analízis során azt találtuk, hogy az anti-GP2 IgA pozitivitás a felnőttkorban kezdődő PSC betegek alcsoportjában ( $p\text{LogRank}=0,034$ ), illetve társuló IBD jelenlétében ( $p\text{LogRank}<0,001$ ) összefüggést mutatott a kedvezőtlen kimenetekkel. Ez az összefüggés azonban nem volt kimutatható a gyermekkori kezdetű PSC betegek ( $p\text{LogRank}=0,098$ ) vagy társuló IBD nélküli PSC ( $p\text{LogRank}=0,666$ ) alcsoportokban.

*A target specifikus pankreász ellenes antitestek (PAbs) jelentősége a progresszív betegséglefolyás előrejelzésében gyulladáisos bélbetegségekben.* A Kaplan-Meier analízis során az anti-CUZD1 IgA/IgG pozitív CD betegekben nagyobb valószínűséggel alakult ki perianális komplikáció szemben az antitest negatív betegcsoporttal ( $p\text{LogRank}=0,008$ ). Az összefüggés egyrészt erősebbnek bizonyult az IgA izotípusú antitest esetében ( $p\text{LogRank}<0,001$ ), másrészt kvantitatív összefüggést is találtunk az IgA antitest títtere szerint ( $p\text{LogRank}<0,001$ ). A belső penetráló és/vagy strikturizáló szövődményes betegségformával rendelkező betegeket (B2/3-p fenotípus) kizárva a teljes P0 csoportból ( $n=216$ ), és az alcsoport analízist a gyulladáisos fenotípusú betegekben elvégezve (B1-p,  $n=169$ ), a fentiekhez hasonló eredményt kaptunk ( $p\text{LogRank}<0,001$  az anti-CUZD1 IgA esetén). A klinikai tényezők közül a fiatalkori betegségkezdés ( $p\text{LogRank}=0,008$ ), a vastagbél érintettség ( $p\text{LogRank}=0,006$ ) és a súlyosabb betegségforma esetén ( $p\text{LogRank}<0,001$  a gyakori relapszusok esetén) alakult ki nagyobb valószínűséggel perianális komplikáció a követés során.

A rezekciós műtét szempontjából naív betegcsoportban ( $n=234$ ) az IgA izotípusú anti-GP2 antitest jelenléte pedig a későbbi sebészeti beavatkozás szükségessége szempontjából bizonyult kockázati tényezőnek ( $p\text{LogRank}=0,002$ ). A korábban már rezekciós műtéten átesett betegcsoportban ( $n=109$ ) azonban anti-GP2 IgA antitest nem jelezte előre a következő rezekciós műtétet. A klinikai tényezők közül a vékonybél érintettség ( $p\text{LogRank}=0,001$ ) és a szövődményes betegségforma jelenléte ( $p\text{LogRank}<0,001$  B2/3 fenotípus esetén) mutatott szignifikáns összefüggést a sebészeti beavatkozás szükségességével a betegséglefolyás során.

Crohn-betegségben a PAb markerek előrejelző értékét a különféle típusú szövődmények kialakulásában az ismert releváns klinikai tényezőket (diagnóziskor életkor, relapszus gyakoriság, betegségfenotípus) is tartalmazó többváltozós Cox-regressziós analízisben vizsgáltuk tovább. Az anti-CUZD1 IgA pozitivitás a perianális betegség kialakulása szempontjából független kockázati tényezőként azonosítottuk (HR: 3,67 95%CI: 1,77-7,62,  $p<0,001$ ) míg az anti-GP2 IgA pozitivitást a rezektív műtėti igény szempontjából nem (HR: 1,65 95%CI: 0,73-3,73,  $p=0,225$ ). Az anti-CUZD1 esetén a kvantitatív szerológiai válasz is kapcsolatot mutatott a klinikai kimenetellel, minél magasabb volt az antitest títtere, annál nagyobb volt a perianális betegség kialakulásának kockázata. Crohn-betegségben

(n=203) a követés során különböző időpontokban levett szérumminták vizsgálatával (medián idő [IQR]: 30,3 [15,3-48,7] hónap) elemeztük az anti-GP2 és az anti-CUZD1 antitestek jelenlétének időbeli stabilitását. A különféle PAb-ok státusza, mind az IgA és IgG szubtypusok esetében meglehetősen stabilnak bizonyult. A CD betegek kevesebb mint 5%-ban változott a PAb státusz (negatív – pozitív váltás: 0,4%, 1%, 3% és 1,5% az anti-GP2 IgA és IgG illetőleg az anti-CUZD1 IgA és IgG esetén; a pozitív – negatív váltás: 2%, 0,5%, 3,9% és 4,9% rendre az egyes antitestek esetén).

Colitis ulcerosában a PAb markerek előrejelző értékét vizsgálva a kedvezőtlen betegségkimenetel szempontjából azt találtuk, hogy a betegségaktivitás miatti hospitalizációs igény és a tartós immunszuppresszív kezelés szükségessége (azatioprin) is gyakoribb volt az anti-CUZD1 IgA antitest jelenlétében (63,6% vs. 29,7%,  $p\text{LogRank}=0,068$  és 84,1% vs. 36,8%,  $p\text{LogRank}=0,005$ ), hasonló összefüggést találtunk az anti-CUZD1 IgG pozitivitás esetén is (78,6% vs. 28,8%,  $p\text{LogRank}=0,031$  és 78,1% vs. 36,2%,  $p\text{LogRank}=0,008$ ). Az egyváltozós analízisben szignifikánsnak adódó összefüggéseket a kedvezőtlen betegségkimenetel szempontjából releváns klinikai tényezőket (életkor, férfi nem, maximális betegségkiterjedés) is tartalmazó többváltozós Cox-regressziós modellben értékelve az antitest pozitívítás nem bizonyult független kockázati tényezőnek. Az extenzív betegségforma kialakulása (E3 forma) sem mutatott összefüggést az anti-CUZD1 szerológiai státusszal. A kolektómia szükségességének értékelését az antitest pozitívítás függvényében az alacsony esetszám és antitest előfordulási gyakoriság nem tette lehetővé. Az IgA és IgG izotípusú anti-GP2 antitestek jelenléte nem mutatott összefüggést egyik kedvezőtlen betegségkimenetellel sem.

Az anti-GP2 antitest képződéssel kapcsolatos eredményeinkről, miszerint, hogy PSC-ben fokozott IgA izotípusú anti-GP2 antitest képződés észlelhető, egy németországi munkacsoporttal egyidőben, az irodalomban elsőként, számoltunk be. Mindketten ugyanazt a sejt alapú IIF teszt rendszert alkalmaztuk, amelyben az anti-GP2 jelenlétének kimutatása a HEK239 sejtek felszínén glikozilfoszfatidilinozitol (GPI)-hoz horgonyzott GP2-vel történt és a detektálás pozitív küszöbértéke is azonos volt. Ez a kapcsolat egy egyedi GP2 epitóp struktúra megjelenését eredményezi, mely különböző lehet a szilárd fázisú ELISA lemezhez kötött GP2-től. Saját klinikai eredményeinknek és a német munkacsoport által nemrégiben közölt eredményekkel való összehasonlítása során több különbség is megfigyelhető volt. Saját beteganyagunkban az IgA izotípusú anti-GP2 előfordulása alacsonyabb volt (30,8% vs. 48,7%), míg az anti-CUZD1 antitesteké magasabb (IgA: 18,5% vs. 9,4% és IgG: 20% vs. 6,3%). A különbség oka nem teljesen tisztázott, azonban nagy valószínűség szerint, a vizsgált beteg populáció összetételében észlelhető különbség állhat a háttérben: (1) a betegség súlyosságát tükröző Mayo pontszám az ő kohorszukban induláskor magasabb volt; (2) és az epeúti karcinóma előfordulás is (12,3% vs. 0%); (3) továbbá az ő tanulmányukban a beteg-kontroll csoportok adatai alapján anti-GP2 IgA pozitívítás jelenlétét nem kizárólagosan a PSC, hanem sokkal inkább a nagy epeúti betegségek biomarkereként értékelték, tekintet nélkül azok malignus vagy benignus voltára. Saját tanulmányunkban nagy esetszámú, a német munkacsoporttól jelentősen eltérő beteg-kontroll csoportot vizsgáltunk. A különböző etiológiájú CLD-ben nem találtuk gyakoribbnak a target specifikus PAb-ok előfordulást sem a kis epeutakat érintő autoimmun betegségben (primér biliáris kolangitisz, PBC n=102), sem a krónikus HCV-ben (n=119), sem pedig az alkoholos májcirrózisban (n=267). Ezen utóbbi eredmény különösen érdekes, mivel májcirrózisban bizonyos, elsősorban IgA izotípusú szerológiai antitestek gyakoribb előfordulásáról számoltunk be (ASCA: 38,5% [371] és ANCA: 52,2% [370]), melyek szintén gyakoriak PSC-ben.

Primer szklerotizáló kolangitiszben az anti-GP2 IgA jelenléte összefüggést mutatott a bevéasztáskori súlyosabb betegségforma jelenlétével. Ezzel összhangban anti-GP2 IgA pozitívítás gyorsabb betegség progressziót jelzett a prospektív követési időszak alatt, a Mayo kockázati pontszámmal vagy a cirrózis fennállásával, mint ismert kockázati tényezőkkel való illesztést követően is. Mind a máj eredetű halálozást, mind pedig a májátültetést azonos végpontnak tekintettük, mivel azok a progresszív fibrózis eredményeképpen kialakuló végstádiumú májbetegséget mutatják. A német munkacsoport párhuzamos tanulmányában,

az anti-GP2 IgA pozitivitás szintén egy magas halálozású betegség alcsoportot azonosított. Az ő betegcsoportjukban azonban az alacsony túlélés elsősorban a kolangiokarcinóma jelenlétéhez volt köthető, nem pedig a végstádiumú májbetegség kialakulásához. Saját betegcsoportunkban mindössze egy betegben (1,5%) alakult ki malignus epeúti betegség a követési időszak alatt, így a PAb-ok szerepének felmérése a kolangiokarcinóma kialakulásának vonatkozásában nem volt lehetőségünk. A magyar PSC betegcsoportban észlelt kolangiokarcinóma előfordulási gyakoriság azonos az Izraelből (2,1%) és Hollandiából közölt adatokkal, azonban alacsonyabb, mint más területeken (8-13,2%). Az IgA izotípusú anti-GP2 – fibrózis kapcsolatát támogató további klinikai bizonyíték lehet az a megfigyelés, miszerint az antitest előfordulását mások megfigyeléséhez hasonlóan mi is gyakoribbnak találtuk CD-ben sztenotizáló betegségforma esetén.

Az anti-GP2 antitestképződés, a GP2 fehérjével szembeni tolerancia elvesztését jelenti. A GP2 a veleszületett immunitáshoz tartozó fehérje, mely az exokrin pankreászból választódik ki a bélumenbe, de szintén jelen van az M-sejtek apikális membránjának felszínén. A fehérje a bélben hozzákapcsolódik a FimH-val (fimbriális-adhezin H) rendelkező bélbaktérium mozgását segítő 1-es típusú pilusaihoz. A GP2-mediált transzcitózis szükséges az antigén specifikus nyálkahártya immunválasz kialakításához ezen baktérium antigén típus ellen. Érdekes módon PSC-ben fokozott immunválasz jelenlétét tudtuk bizonyítani további bélbaktérium antigének széles spektrumával szemben is, a következők voltak: mannóz tartalmú foszfopeptid sejtfal molekula (ASCA, 28,1%), különböző endotoxinok (EndoCab) és több egyéb Gram-negatív és Gram-pozitív fehérje (OMP) (9,4% és 18,8%). Ugyanakkor sem ezen baktériális antigének, sem pedig az FtsZ/ TTB-5 (P-ANCA) ellen kialakuló szerológiai válasz nem mutattak összefüggést a progresszív betegségforma kialakulásával PSC-ben. Az ANCA elsősorban atípusos P-ANCA volt és elsősorban IgG izotípusú, nem pedig IgA (83,1% vs. 40%).

A mukózális immunitás és a súlyos fenotípusú PSC kialakulása közötti lehetséges kapcsolat vizsgálatára meghatároztuk a totál slgA szérum szinteket. Tanulmányunk egyik új felfedezése, hogy PSC-ben a totál slgA szintek jelentősen emelkedtek, egész pontosan háromszor magasabbak, mint az egészséges kontrollokban (medián [IQR], 96 [73-180] vs. 30 [21-42]  $\mu\text{g/ml}$ ,  $p < 0,001$ ). Ez arra utal, hogy PSC-ben a bél mukózális felszínéről fokozott retrográd slgA transzport zajlik. Tovább vizsgálva ezt a kérdést, azt találtuk, hogy a retrográd transzport jellegzetesen az anti-GP2 IgA-pozitív esetekre jellemző. A slgA szint emelkedés kétszerese volt az anti-GP2 IgA-pozitív esetekben az antitestre negatív esetekhez képest (149 [86-246] vs. 89 [71-118]  $\mu\text{g/ml}$ ,  $p = 0,021$ ), míg hasonló összefüggést nem tudtunk kimutatni más anti-mikrobiális antitest vagy ANCA jelenléte esetén. Az anti-GP2 pozitív minták áramlási citometriás karakterizálása megmutatta, hogy a SC az esetek 68,4%-ában jelen volt a molekulákon. A SC ilyen nagy arányú előfordulása arra enged következtetni, hogy az anti-GP2 antitest bélbe való szekréciója után az szintén visszaszívódik a mukózális felszínről. Az slgA molekulák azonban rendszerint antigénkapcsolt formában fordulnak elő: az anti-GP2 IgA antitestek GP2-fedett FimH-pozitív baktériumokat kötnek meg. Az slgA, amennyiben antigént köt meg magas affinitással kapcsolódik az epiteliális receptorokhoz. Az anti-GP2 IgA fokozott retrográd transzportja hozzájárulhat a mukózális kompartment mikrobiális túlterheléséhez, mely folyamatosan fenntartja az antigén indukálta jelátvitelt. A gyulladt bélben aktiválódott és rendellenes módon expresszált adhéziós molekulák segítségével az epeutakba bevándorló memória T-sejtek meghatározó szerepet játszanak a bélnyálkahártya gyulladásának a biliáris rendszerre való áttérjedésében. A FimH egy TLR4 ligand, míg a hosszantartó TLR4 aktiváció, a TGF-béta jelátviteli útvonalon keresztül a fibrózis fokozódásához vezet. Ezzel egyidejűleg a FimH elősegíti az 1-es típusú interferon fokozott termelődését is, amelynek egyértelmű szerepe van az autoimmun folyamatok felerősödésében. Ezek a mechanizmusok magyarázatként szolgálhatnak arra, hogy a GP2 elleni toleranciavesztése a bélben hogyan kapcsolódik össze a fokozott fibrózis kialakulásával, és így a betegség progressziójával a májban. A GP2 – FimH tengely további kutatása a PSC patogenezisének vonatkozásában mindenképpen figyelemt érdemel, ugyanakkor érdeklődésre tarthat számot terápiás szempontból is. A bélben előforduló GP2 szerkezete és funkciója nagy hasonlóságot mutat a húgyúti traktusban előforduló

uromodulinnal (Tamm-Horsfall fehérje). A FimH adhéziós fehérje elleni rekombináns vakcina fejlesztés alatt áll a visszatérő húgyúti fertőzések megelőzésére. A mannóz típusú FimH antagonisták szintén ígéretes új jelölteknek mutatkoznak a húgyúti fertőzések és a CD kezelésében.

### ***A bélbarrier károsodást jelző szerológiai markerek primér szklerotizáló kolangitiszben***

*Az anti-F-aktin (AAA) és anti-gliadin (AGA) antitestek előfordulási gyakorisága.* A citoszkeletális F-aktin az AIH szerológiai markereként azonosított simaizomsejt elleni antitest (SMA) target fehérjéje, és az IgG izotípusú AAA meghatározás – IIFT vagy ELISA – a betegség szerológiai diagnosztikájának fontos része. Ezen antitest gyakoribb előfordulását más autoimmun betegségben is megfigyelték (pl. cöliákia vagy kötőszöveti betegség). Primér szklerotizáló kolangitiszben az AAA előfordulási gyakoriságát és izotípus megoszlását azonban eddig nem vizsgálták. A rutin laboratóriumi gyakorlattól eltérően, az AAA kimutatás során nemcsak anti-IgG, hanem anti-IgA másodlagos antitestet is használtunk, lehetővé téve mindkét izotípusú AAA előfordulási gyakoriságának meghatározását. Ezen megközelítés lehetővé tette az AAA izotípus függő kapcsolatának feltárását a betegség klinikai jellemzőivel. A PSC betegek 40,3%-ában (27/67) volt jelen IgA vagy IgG izotípusú AAA, míg 22,4%-ában (15/67) IgA vagy IgG izotípusú AGA. Az antitestek előfordulási gyakorisága szignifikánsan magasabb volt, mind a colitis ulcerosás betegekhez (14,7% [25/170],  $p < 0,001$  az AAA és 11,6% [20/172],  $p = 0,042$  az AGA esetében), mind pedig az egészséges kontrollokhoz képest (6,2% [7/113],  $p < 0,001$  az AAA és 7,2% [11/153],  $p = 0,003$  az AGA esetén). A PSC betegekben az AGA pozitívitas főleg IgG izotípusú volt (20,9% vs. 9%), míg az AAA esetén IgG és az IgA izotípus egyaránt előfordult (25,4% vs. 28,4%) és nem volt jelentősebb átfedés az adott típusú antitest IgA és IgG izotípusai között. Hasonlóan, az AAA és AGA között sem volt megfigyelhető jelentősebb átfedés.

Az IgA-AAA jelenléte a Mayo kockázati pontszám és a különböző biokémiai paraméterek alapján súlyosabb betegséget jelzett, az IgG-AAA jelenléte azonban nem. Eredményeink összhangban vannak azzal a korábbi cöliákias betegekben végzett klinikai tanulmány eredményével, mely arról számolt be, hogy az IgA-AAA jelenléte szorosan összefüggött a bélnyálkahártya aktív szöveti károsodásának mértékével. A GFD bevezetését követően azonban, az IgA-AAA pozitívitas a nyálkahártya gyógyulással párhuzamosan eltűnt. Azon esetekben, ahol a GFD ellenére is perzisztált a bélnyálkahártya sérülés, az IgA-AAA pozitívitas is megmaradt. Az AAA IgG jelenléte magasabb volt PSC-átfedő szindróma esetén, amennyiben a PSC AIH-vel társult (55,6% [5/9] vs. 20,7% [12/58],  $p = 0,040$ ). Ezzel szemben, az AAA IgA gyakorisága nem különbözött a két csoportban (33,3% [3/9] vs. 27,6% [16/58],  $p = 0,706$ ). Sem az AGA IgA, sem pedig az AGA IgG antitestek jelenléte nem mutatott összefüggést a súlyosabb betegségfenotípust jelző klinikai vagy laboratóriumi jellemzőkkel.

*Az anti-F-aktin és anti-gliadin antitestek jelentősége a progresszív betegséglefolyás előrejelezésében PSC-ben.* A Kaplan-Meier analízis során kizárólag az IgA izotípusú antitestek jelenléte mutatott összefüggést a betegség gyorsabb progressziójával, azaz a májátültetés szükségességével és/vagy a májeredetű halálozással ( $p\text{LogRank} = 0,019$  az IgA-AAA és  $0,005$  az IgA-AGA), míg az IgG izotípusú AAA és AGA nem ( $p\text{LogRank} = 0,665$  és  $0,130$ ). A betegségprogresszió szempontjából jelentős klinikai tényezőkkel történő illesztést követően (májcirrózis fennállása vagy Mayo kockázati pontszám) az IgA-AAA továbbra is a kedvezőtlen betegségkimenetel független rizikótényezője maradt (HR: 5,15 [1,27-20,86],  $p = 0,022$  és HR: 4,24 [0,99-18,21],  $p = 0,052$ ), mely tanulmányunk új megállapítása. Hasonló eredményt kaptunk az IgA-AGA esetén is, amennyiben az illesztést a májcirrózis fennállásával végeztük (5,07 [1,25-20,54],  $p = 0,023$ ). A Mayo kockázati pontszámmal történő illesztést követően azonban IgA-AGA már nem bizonyult a kedvezőtlen betegségkimenetel független kockázati tényezőjének (3,67 [0,88-15,30],  $p = 0,074$ ).

Az F-aktinnal szemben kialakuló immuntolerancia vesztés mechanizmusa és annak összefüggése a fokozott fibrogenezissel, és ezáltal a májbetegség progressziójával, egyelőre nem ismert. Érdekes módon, tanulmányunkban, az IgA-AAA pozitívítást mutató

betegek fokozott nyálkahártya immunválaszt mutattak a különféle mikrobiális antigénekre. Azon betegek esetén, akiknél IgA-AAA pozitívítás volt kimutatható szignifikánsan magasabb EndoCab IgA titert (medián [IQR]: 123 [93-215] vs. 58 [40-92] U,  $p < 0,001$ ) és gyakoribb anti-OMP Plus IgA antitest előfordulást (36,8% vs. 10,6%,  $p = 0,012$ ) tudunk igazolni. Az immunválasz feltehetőleg a bélnyálkahártyára korlátozódik, anélkül, hogy szisztémás reakcióhoz vezetne. Ugyanis a szérumban LBP koncentráció, mely a szisztémás LPS expozíció szerológiai jelzője, megegyezett az IgA-AAA pozitív és negatív esetekben (medián, IQR: 7374 [4348-12100] vs. 7132 [5150-9806]  $\mu\text{g/L}$ ,  $p = 0,931$ ). Ez az eredményünk összhangban van a korábbi tanulmányok megállapításaival, miszerint PSC-ben csak ritkán észlelhető bakterémia a portális vénás rendszerben. Az intesztinális és a biliáris epiteliális sejtek endotoxin expozíciója az enterociták és kolangiociták ún. szoros kapcsolódásainak ("tight junction") felbomlásához vezet TLR4 mediálta jelátvitellel, mely állatmodellben a PSC patogenezisének egyik fontos lépése. Ezt támogató adatként megfigyeltük, hogy az I-FABP szérumszintje szignifikánsan magasabbnak adódott az IgA-AAA pozitív betegek csoportjában az antitestre negatívakéhoz képest (medián, IQR: 365 [203-1079] vs. 166 [90-365]  $\text{pg/mL}$ ,  $p = 0,011$ ). Az I-FABP az enterocita károsodás markere. Az enterociták termelik és a gyulladási folyamatok során, amennyiben az sejt-károsodással jár, az I-FABP a sejtekből kikerülve a szisztémás keringésbe jut.

Az autoantitestek PSC-ben általában nem patogének és a biliáris sérülés súlyosságát nem elsősorban a humorális faktorok irányítják. Az AAA jelenléte azonban tükrözheti a limfociták környező szövet- és/vagy sejttermékekre adott fokozott immunválaszt. Megemlítenénk, hogy az AAA nem szervspecifikus, ugyanis a PSC-n kívül számos egyéb, korábban említett immunmediált betegségben is jelen van. Az IgG-AAA autoimmun hepatitiszben összefüggést mutatott a betegségaktivitással és a kedvezőtlen betegség kimenetellel. Az AAA-ra szeropozitív betegek általában HLA-DR3 pozitívak, míg a szeronegatív betegek inkább HLA-DR4 pozitívak voltak az egészséges egyénekhez képest. Ugyanezen tanulmányban az AAA pozitívítás HLA-B8 pozitívítással is társult. Érdekes módon, PSC-ben szintén bizonyították, hogy a HLA-DR3 és B8 progresszív betegségfolyással társul. A HLA-DR4 pozitív betegeknél viszont nem tapasztalható felgyorsult betegségprogresszió, továbbá a betegség visszatérésének is kisebb az esélye májátültetést követően. Ezen korábbi eredményeket alapul véve, azt feltételezzük, hogy PSC-ben az IgA-AAA képződés egy olyan fenotípust tükrözhet, mely jellegzetes immunológiai funkcióval és súlyosabb gyulladási folyamatokra való genetikai fogékonysággal bír, hasonlóan, mint autoimmun hepatitiszben. Egy közelmúltbeli beszámoló az autoantitestek, mint például az atípusos P-ANCA és a HLA státusz összefüggéséről PSC-ben, tovább támogatja ezt a feltevést. A feltételezett szerogenotípus kapcsolat az IgA-AAA pozitívítás és a betegségfolyás szempontjából agresszívabb HLA genotípus között további kutatást tesz indokolttá.

Tanulmányunkban az AGA előfordulása is szignifikánsan magasabb volt a PSC-ben szenvedő betegekben az UC-s betegekhez, illetve az egészséges kontroll egyénekhez képest. Az AGA IgA/IgG gyakorisága megfelelt az irodalomban korábban közölt eredménnyel (22,4% vs. 24%). Az izotípusmegoszlásban azonban eltérő eredményt találtunk. Jelen vizsgálatunkban csak az IgG-AGA előfordulása volt gyakoribb, míg az IgA-AGA nem. Az AGA gyakoribb előfordulása különféle betegségekben ismert, mint például cöliakia, neurodegeneratív betegségek, szisztémás lupusz eritematózus és autoimmun májbetegségek. Az AGA képződésében a bél lumenéből a nyálkahártyába történő fokozott peptid felvételnek tulajdonítanak szerepet, és az AGA-t magát pedig egy, a táplálékban előforduló peptiddel szemben kialakult, nem specifikus immunreakció markerének tartják. Májcirrózisban az AGA magas gyakoriságáról (~60%) számoltak be döntően alkoholos eredetű májcirrózisos betegekben. Az AGA pozitív betegekben magasabb volt a portális vénás nyomás és emelkedett a szukróz-laktulóz-mannitol teszttel mért béláteresztőképesség. Mindazonáltal, egy 22 beteget vizsgáló svéd tanulmányban nem sikerült megváltozott bélpermeabilitást kimutatni PSC-ben. A PSC-ben észlelhető béláteresztőképességet inkább immunológiai barrierműködési zavarnak lehet tekinteni. Saját betegkohorszunkban összefüggést találtunk az IgA-AGA és a felgyorsult



betegségprogresszió között, azonban a pozitív esetek alacsony száma miatt ezen eredményeket körültekintéssel kell értelmezni. Saját tanulmányunk korlátaként kell említenünk, hogy a pozitív esetek alacsony száma miatt nagyobb a fals pozitív eredmény esélye. Egy francia kutatócsoport korábbi vizsgálati eredményei lehetséges magyarázatként szolgálhatnak. Kimutatták, hogy az IgA-AGA a CD71-en keresztül elősegítette a gliadin peptid fokozott transzportját a bél lumenéből a bélnyálkahártyába. Ezen emésztetlen, toxikus peptid a szubepiteliális térben intesztinális gyulladást képes fenntartani. Saját tanulmányunk exploratív jellegű volt és nem tartalmazott olyan kísérleti módszereket, melyek pontos magyarázatot adhatnának arra, hogy a felgyorsult betegségprogresszió kockázata hogyan is alakul ki egyes targetspecifikus antitestek jelenlétében.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Nagyon hálás vagyok a sorsnak és mindazoknak, akik a PhD fokozat megszerzést követő időszakban társként, barátként, mentorként vagy tanítványként mellettem állva támogattak, hogy a folyamatos klinikai gyógyító munka nehéz, de gyönyörű hivatását gyakorolva részese lehessen annak a leírhatatlan élménynek, amit a kutatómunka jelent. És ezt nem lehet szebben megfogalmazni, mint ahogyan azt Freund Tamás Akadémikus Úr tette, akinek próbálom most szavait visszaidézni.

„...A tudomány szerelem, csak teljes szívből lehet és érdemes csinálni, a tudomány szerelmeseként nem tudom szebben megfogalmazni azt az érzést, amely a kutatáshoz fűz. A tudomány művelését, az ismeretlen felfedezését csak teljes odaadással érdemes csinálni. Állandó tanulással, folyamatos döntési helyzetekkel, sokszor kudarcokkal járó hivatás ez. A minket érdeklő tudományos kérdés nem mindennapi izgalmakat kínál. A megoldása érdekében kifejtett szellemi erőfeszítés, intenzív érzelmi reakciókra is ragadtatják az embert és olykor egy se veled, se nélküled helyzet vagy akár krízis is kialakul. A tudomány igazi szerelem, amiben kedvenc kutatási témáink nélkül nem tudunk és nem is érdemes élni...”

A viszontagságos, nehézségekkel teli, de sok örömet is hozó egy évtizede, amit kutatócsoportommal közösen a „tudomány-szerellemmel” töltöttünk számos értékes eredményt és jelentős fejlődést hozott számunkra. Nem ment könnyen, de mindennél jobban szerettük volna, dolgoztunk rendíthetetlenül és így megadatott. Régi utak értek véget és új perspektívák nyíltak meg. Mi pedig közben gyarapodtunk, erősödtünk, hitben, tudásban, kitartásban és összetartozásban. A tudománnyal szemben alázatot tanultunk. És megtanultuk azt is, hogyha nem állítunk magunk elé korlátokat, akkor azok valójában nem is léteznek. A legizgalmasabb dolgok pedig még csak most kezdődnek....

Ezúton szeretnék köszönetet mondani jelenlegi és volt kutatótársaimnak, valamint Családomnak: Édesanyámnak, Tamás férjemnek és gyermekeinknek, Tomikának, Gegőkének és Lucácskának.

Zakera Shums Prof. Dr. Veres Gábor  
Dinya Tamás Dániel Prof. Dr. Hegyi Péter  
Dr. Dinya Tamás Ákos Kai Fechner  
Gasztroenterológiai Tanszék  
Laboratóriumi Medicina Intézet  
Belgyógyászati Intézet Dr. Földi Ildikó  
Tornai Dávid Prof. Dr. Altorjay István Balogh Boglárka  
Prof. Dr. Antal-Szalmás Péter  
Suga Boglárka Dinya Gergely Dr. Sipeki Nóra  
Prof. Dr. Tordai Attila Dr. Tumpek Judit  
Prof. Dr. Dirk Roggenbuck Gary L. Norman Fábián Marika  
Dr. Lakatos Péter László Prof. Dr. Udvardy Miklós Dinya Laura Luca  
Prof. Dr. Hársfalvi Jolán Dr. Tornai Tamás  
Dr. Tornai István Dr. Vitális Zsuzsanna  
Dr. Firtkó Zsuzsanna és Simon György  
Édesanyám Tömöriné Évike

## ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

### Bakteriális fertőzések diagnosztikája és prognosztikája májcirrózisban

- 1) Májcirrózisban igazoltam, hogy a bakteriális fertőzések szerológiai diagnosztikájában a preszepszin, mint új pro-inflammatórikus akut fázis fehérje javítja a C-reaktív protein (CRP) diagnosztikus hatékonyságát. Előrehaladott betegségstádiumban azonban a preszepszin diagnosztikus hatékonysága csökken. Ennek oka egyrészt a patológiás bakteriális transzlokáció és a tartósan fennálló gyulladásos állapot, másrészt pedig bizonyos betegség-specifikus szövődmények – mint például veseelégtelenség – jelenléte.
- 2) A preszepszinről bizonyítottam továbbá, hogy önmagában a súlyos, szervelelgtelenséggel szövődött bakteriális infekciók azonosításában hatékony májcirrózisban és diagnosztikus pontossága ebben a vonatkozásban megegyezik a prokalcitoninével (PCT) és egyértelműen jobb mint a CRP.
- 3) Prospektív klinikai tanulmányban igazoltam, hogy a májcirrózishoz társuló bakteriális fertőzések során a makrofág eredetű, szolúbilis (s)CD163 molekula akutan kialakuló, jelentős megemelkedése (>7000 ng/mL) túlzott mértékű anti-inflammatórikus állapotot jelez és kedvezőtlenül befolyásolja a túlélést. A magas sCD163 szintről bizonyítottam továbbá, hogy a betegség súlyosság és az extenzív pro-inflammatórikus válasz mellett a rövidtávú halálozás független kockázat tényezője.
- 4) A bakteriális infekció jelenlétének hiányában fennálló emelkedett CRP szint (>10 mg/L) májcirrózisban prospektív klinikai vizsgálatban igazoltam, hogy a patológiás bakteriális transzlokáció jelenlétét reprezentálja és a fertőzéses epizódok kialakulásának rövidtávú előrejelzésére alkalmas új, a betegség súlyosságától független szerológiai markere.

### Bakteriális fertőzések előrejelzése májcirrózisban

- 5) Májcirrózisban a bakteriális infekciók kialakulása szempontjából a beteg kórtörténetében szereplő megelőző fertőzéses epizód tényét új, a betegség súlyosságától független, és azzal megegyező fajsúlyú klinikai kockázati tényezőként azonosítottam. A korábbi fertőzés és a betegség súlyosság hatásukat tekintve additívak.
- 6) Megállapítottam, hogy a májcirrózishoz társuló immundiszfunkciós szindróma (CAID) szerzett hajlamosító tényezői mind a kezdeti, mind pedig az előrehaladott betegségstádiumok esetén nagyobb jelentőséggel bírnak a bakteriális fertőzések kialakulásában, mint a veleszületett fogékonyságot reprezentáló celluláris mintázatfelismerő receptor (PRR) gének funkcionális polimorfizmusai.
- 7) Májcirrózisban prospektív klinikai vizsgálatban bizonyítottam, hogy a kóros bakteriális transzlokáció folyamatához az ismert *NOD2* rizikó variánsok [L1007fsinsC -/C, R702W C>T vagy G908R G>C] és a *TLR2* [-16934T>A] vagy *TLR4* [D299G] polimorfizmusok nem járulnak hozzá jelentős mértékben. Ez tükröződik egyrészt a PRR génpolimorfizmusok és a bakteriális transzlokáció ismert szerológiai markerei, másrészt pedig annak klinikai megnyilvánulásai, mint a dekompenzált betegségstádium kialakulása vagy a májbetegséghez kapcsolódó halálozás, közötti kapcsolat hiányában.
- 8) Májcirrózisban a szolúbilis PRR-k közül a komplement rendszer lektin molekuláinak csökkent szintjeit a CAID szindróma új alkotóelemeiként azonosítottam. A mannóz-kötő lektin (MBL) és a fikolin molekulák (FCN-2 és FCN-3) szérumszintjei előrehaladott májcirrózisban jelentősen csökkennek, mely állapotról igazoltam, hogy bakteriális

fertőzések kialakulására hajlamosít. Májcirrózisban az infekciók kialakulásának kockázata szempontjából a FCN-2 és FCN-3 deficienciák szinergista hatásúak. A lektin molekulák csökkent szintjei pedig a májsejtek szintetikus kapacitás-károsodásának következményei.

- 9) Májcirrózisban az abszolút mannóz-kötő lektin hiányról (< 100 ng/mL) és a haptoglobin 1-1 fenotípusról – melyekről ismert, hogy genetikailag meghatározottak – prospektív klinikai tanulmányban bebizonyítottam, hogy a bakteriális fertőzések új szerológia kockázati tényezői.

### **Bakteriális transzlokáció előrejelzése és szerepe a progresszív betegségforma kialakulásában**

- 10) Különböző, krónikus vékony- és vastagbélgyulladással járó kórképek (májcirrózis, primér szklerotizáló kolangitisz, gyulladós bélbetegségek és cöliákia) egyidejű vizsgálatával igazoltam, hogy a bélbaktériumok sejt felszíni glikán komponensei és fehérjéi ellen kialakuló szerológiai válasz nem egy adott kórképre, hanem a bakteriális transzlokáció kórfolyamatára specifikus. Az IgA izotípusú anti-mikrobiális antitestek a kóros bakteriális transzlokáció általánosan azonosított szerológiai markerei.
- 11) Az IgA izotípusú anti-mikrobiális antitestképződésben a bélhez kapcsolt limfoid szövet (GALT) részvételét és a kóros mukózális transzlokáció szerepét a szekretoros komponens jelenlétével bizonyítottam.
- 12) Igazoltam továbbá, hogy az IgA izotípusú anti-mikrobiális antitestek, mint az anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), az anti-OMP Plus™ és az anti-neutrofil citoplazmatikus antitestek [ANCA], előfordulása májcirrózisban gyakori és kapcsolatot mutat az előrehaladott betegségstádiummal, valamint a portális hipertenzió jelenlétével. Májcirrózis hiányában az antitestek előfordulási gyakorisága krónikus májbetegségekben, a primér szklerotizáló kolangitist kivéve, nem különbözik az egészségesekben észleltétől.
- 13) Prospektív klinikai vizsgálatban az IgA izotípusú ASCA és ANCA antitestek jelenlétét a májcirrózishoz társuló bakteriális fertőzések új szerológia kockázati tényezőiként azonosítottam.
- 14) Igazoltam, hogy primér szklerotizáló kolangitiszben (PSC) a bél veleszületett immunrendszeréhez tartozó glikoprotein 2 (GP2) és a citoskeletális filamentózus (F) aktin fehérjék ellen fokozott IgA izotípusú antitestképződés észlelhető. Az anti-GP2 IgA kialakulásában a GALT és a kóros mukózális transzlokáció szerepét a szekretoros komponens jelenlétével bizonyítottam.
- 15) Az anti-GP2 IgA-t ról igazoltam továbbá azt is, hogy a krónikus májbetegségek differenciál diagnosztikájában a PSC betegség-specifikus markere.
- 16) Prospektív klinikai vizsgálatban az IgA izotípusú anti-GP2 és anti-F-aktin antitestek jelenlétét a progresszív betegség-lefolyás új szerológia kockázati tényezőiként azonosítottam, mely a betegség-súlyosságtól független és a kórkép patogenezisében kulcsfontosságú bél-máj kölcsönhatás új aspektusait tárja fel.

## AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI JELENTŐSÉGE

Májcirrózisban a bakteriális fertőzések gyakoriak és kulcsfontosságúak a betegség kórlefolyása során. Egyrészt különféle akut szövődmények kialakulásához vezetnek, másrészt elősegítik a betegség krónikus progresszióját. A bakteriális fertőzések ezért a májcirrózis okozta halálozás jelentős kockázati tényezői. Az infekciós epizódok korai és hatékony diagnosztikája elengedhetetlenül fontos. A megváltozott anti-inflammatórikus válasz helyreállítása pedig ígéretes jövőbeni terápiás célpont lehet.

- A plazma preszepszin szint meghatározása javítja az infekciók szerológiai diagnosztikáját. A preszepszin és a szolubilis (s)CD163 szérumszint meghatározása pedig már a diagnózis fellállításának időpontjában hatékonyan azonosítja a súlyos eseteket, amelyeknél jelentősen magasabb halálozás várható. Májcirrózisban ezen biomarkereknek az infekciók szerológiai labordiagnosztikájába való beépítése számottevően javíthatja a betegellátást, lehetővé téve azon betegcsoport korai azonosítását, melynek intenzív osztályos elhelyezése és ellátása indokolt.
- A makrofág eredetű sCD163 molekula akut kialakuló jelentős megemelkedésének és a kedvezőtlen túlélésnek a betegség súlyosságától és az extenzív pro-inflammatórikus választól független kapcsolata prognosztikai jelentősége mellett kórélettani szempontból is fontos. A túlzott mértékű anti-inflammatórikus válasz helyreállítása a monocita-makrofág sejtpopuláció befolyásolásán keresztül jövőbeni terápiás lehetőséget hordoz magában.

Májcirrózisban a bakteriális fertőzések kialakulásában a kórképhez társuló immundiszfunkciós (CAID) szindróma fontos szerepet játszik. A CAID kórfolyamatainak pontosabb megismerése betekintést enged a bakteriális infekciókkal szembeni megváltozott védekező folyamatok részleteibe, lehetővé téve az egyes részfolyamatok klinikai jelentőségének felmérését. Ez egyrészt elősegítheti nem-antibiotikum alapú új szupportív kezelési módok tervezését. Előrehaladott betegségstádium esetén ugyanis, amikor a májműködés javulása májtranszplantáció nélkül már nem lehetséges, a CAID komponenseinek korrekciója csökkentheti a kialakuló, és döntően halálhoz vezető infekciók gyakoriságát és így hozzájárulhat a várólistán a túlélés javulásához. Másrészt lehetővé teszi a mindennapi klinikai gyakorlat számára olyan új biomarkerek bevezetését, melyekkel a fertőzéses epizódok megbízható előrejelzése lehetővé válik. Ezáltal kiválasztható lesz az infekciók szempontjából leginkább veszélyeztetett betegcsoport, melynek szorosabb követése, illetőleg szupportív kezelésben és/vagy profilaktikus antibiotikum terápiában történő részesítése leginkább indokolt. Az antibiotikum profilaxis hatékonyabb tervezésének fontosságát májcirrózisban az egyre növekvő bakteriális rezisztencia problémája támasztja alá.

- A komplement rendszer lektin molekuláinak (mannóz-kötő lektin [MBL] és a fikolin molekulák [FCN-2 és FCN-3]) csökkent szintjei májcirrózisban a májsejtek szintetikus kapacitás-károsodásának következményei és bakteriális fertőzések kialakulására hajlamosítanak, mely miatt a CAID szindróma szerzett módon kialakuló alkotóelemeinek tekintendők. A csökkent lektin szintek szupplementációjának lehetőségét klinikai tanulmányok igazolják, így májcirrózisban a nem-antibiotikum alapú infekció profilaxis jövőbeni terápiás célpontjai lehetnek.
- Az általunk azonosított klinikai és szerológiai kockázati tényezők alkalmasak a májcirrózishoz társuló bakteriális infekciók előrejelzésére szolgáló kockázatbecslő mátrix modellbe való bevonásra. Ezek a májcirrózisban új biomarkerek egyrészt a veleszületett immunrendszernek a kórokozók elleni, genetikai módon meghatározott, csökkent működését reprezentálják (abszolút mannóz-kötő lektin hiány és

haptoglobin-1-1 polimorfizmus), másrészt a kóros bakteriális transzlokáció folyamatát szerzett módon kialakuló tényezők segítségével azonosítják (IgA izotípusú anti-mikrobiális antitestek [anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) és anti-neutrofil citoplazmatikus antitestek (ANCA)], valamint emelkedett C-reaktív protein szint].

Primér szklerotizáló kolangitiszben (PSC) a progresszív epeúti gyulladás következtében fibrózis alakul ki és a betegek jelentős részénél idővel májtranszplantáció válik szükségessé a végstádiumú májbetegség és annak szövődményei miatt. Nem került azonosításra ezidáig olyan szerológia marker, mely betegség-specifikus lenne és így segítené az egyébként nehéz diagnosztikát. Nincs a betegség-aktivitást, illetőleg a progresszív betegség-lefolyást hatékonyan előrejelző szerológiai marker sem. A pontos kockázatbecslés, a betegség-stratifikáció és az utánkövetési stratégia éppen ezért PSC-ben szintén nem megoldottak. A biliáris traktus és a bél párbeszédét jellemző biomarkerek kutatásával PSC-ben a klinikailag releváns alcsoportok kijelölésén túl a patogenezis szempontjából jelentős összefüggések feltárására is lehetőség nyílik, ami új kezelési módok felfedezését segítheti elő. Primér szklerotizáló kolangitiszben nincs ugyanis olyan elérhető gyógyszeres terápia, mely kuratív lenne, vagy akárcsak képes lenne lassítani/ megakadályozni a betegség progresszióját.

- Primér szklerotizáló kolangitiszben a bél veleszületett immunrendszeréhez tartozó glikoprotein 2 (GP2) és a citoskeletális filamentózus (F) aktin fehérjék ellen fokozott IgA izotípusú antitestképződés észlelhető, melyek a progresszív betegség-lefolyás új szerológia kockázati tényezői. Az antitestek képződésének mechanizmusai a kórkép patogenezisében kulcsfontosságú bél-máj kölcsönhatás újabb aspektusait tárják fel. A GP2-vel szemben kialakuló fokozott IgA válasz PSC-re nézve specifikusabb. Egyrészt a krónikus májbetegségek differenciál diagnosztikájában a betegség specifikus markerének tartható. Másrészt a fimbriális-adhezin H-val rendelkező bélbaktériumok fokozott, GP2-mediálta mukozális retrográd transzportjának lehetséges szerepét veti fel a fibrogenézisben, mely a TLR4 jelátviteli útvonalon keresztül valósul meg. Az F-aktinnal szemben kialakuló fokozott IgA termelődés ugyanakkor a szervezet részéről sokkal inkább egyetemesebb válaszreakciónak tartható, mely nagy valószínűség szerint felfokozott veszély kapcsolt molekuláris mintázat (DAMP) jelenlétére utal, melyben fontos szerepe van a bélbarrier károsodásnak és a béltraktus felől fokozottan érkező kórokozó-asszociált molekuláris mintázatnak (PAMP).

## A DISSZERTÁCIÓ ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

### Májcirrózis

Sipeki, N., Antal-Szalmás, P., Lakatos, P., **Papp, M.**: Immune dysfunction in cirrhosis. *World J. Gastroenterol* 20 (10), 2564-2577., 2014. **IF: 2,369**

**Papp, M.**: Response to Low L-Ficolin associated with disease severity during sepsis in adult ICU patients. *Liver Int* 37 (9), 1410., 2017. **IF: -**

Dinya, T., Tornai, T., Vitális, Z., Tornai, I., Balogh, B., Tornai, D., Antal-Szalmás, P., Sümegi, A., Andrikovics, H., Bors, A., Tordai, A., **Papp, M.**: Functional polymorphisms of innate immunity receptors are not risk factors for the non-SBP type bacterial infections in cirrhosis. *Liver Int* 38 (7), 1242-1252., 2018. **IF: 4,116 (2016)**

Földi, I., Tornai, T., Tornai, D., Sipeki, N., Vitális, Z., Tornai, I., Dinya, T., Antal-Szalmás, P., **Papp, M.**: Lectin-complement pathway molecules are decreased in patients with cirrhosis and constitute the risk of bacterial infections. *Liver Int* 37 (7), 1023-1031., 2017. **IF: 4,116 (2016)**

**Papp, M.**, Tornai, T., Vitális, Z., Tornai, I., Tornai, D., Dinya, T., Sümegi, A., Antal-Szalmás, P.: Presepsin teardown: Pitfalls of biomarkers in the diagnosis and prognosis of bacterial infection in cirrhosis. *World J. Gastroenterol* 22 (41), 1-14., 2016. **IF: 3,365**

Tornai, T., Vitális, Z., Sipeki, N., Dinya, T., Tornai, D., Antal-Szalmás, P., Karányi, Z., Tornai, I., **Papp, M.**: Macrophage activation marker, soluble CD163 is an independent predictor of short-term mortality in patients with cirrhosis and bacterial infection. *Liver Int* 36 (11), 1628-1638., 2016. **IF: 4,116**

**Papp, M.**, Sipeki, N., Vitális, Z., Tornai, T., Altorjay, I., Tornai, I., Udvardy, M., Fechner, K., Jacobsen, S., Teegen, B., Sümegi, A., Veres, G., Lakatos, P., Kappelmayer, J., Antal-Szalmás, P.: High prevalence of IgA class anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) is associated with increased risk of bacterial infection in patients with cirrhosis. *J. Hepatol* 59 (3), 457-466., 2013. **IF: 10,401**

**Papp, M.**, Vitális, Z., Altorjay, I., Tornai, I., Udvardy, M., Hársfalvi, J., Vida, A., Kappelmayer, J., Lakatos, P., Antal-Szalmás, P.: Acute phase proteins in the diagnosis and prediction of cirrhosis associated bacterial infections. *Liver Int* 32 (4), 603-611., 2012. **IF: 3,87**

Vitális, Z., Altorjay, I., Tornai, I., Palatka, K., Kacska, S., Pályu, E., Tornai, D., Udvardy, M., Hársfalvi, J., Dinya, T., Veres, G., Lakatos, P., **Papp, M.**: Phenotypic polymorphism of haptoglobin: A novel risk factor for the development of infection in liver cirrhosis. *Hum. Immunol* 72 (4), 348-354., 2011. **IF: 2,837**

Altörjay, I., Vitális, Z., Tornai, I., Palatka, K., Kacska, S., Farkas, G., Udvardy, M., Hársfalvi, J., Dinya, T., Orosz, P., Lombay, B., Pár, G., Pár, A., Csak, T., Osztoivits, J., Szalay, F., Csepregi, A., Lakatos, P., **Papp, M.**: Mannose-binding lectin deficiency confers risk for bacterial infections in a large Hungarian cohort of patients with liver cirrhosis. *J. Hepatol* 53 (3), 484-491., 2010. **IF: 9,334**

**Papp, M.**, Norman, G., Vitális, Z., Tornai, I., Altörjay, I., Földi, I., Udvardy, M., Shums, Z., Dinya, T., Orosz, P., Lombay, B., Pár, G., Pár, A., Veres, G., Csak, T., Osztoivits, J., Szalay, F., Lakatos, P.: Presence of Anti-Microbial Antibodies in Liver Cirrhosis: A Tell-Tale Sign of Compromised Immunity?. *PLoS One* 5 (9), e12957-1-e12957-9., 2010. **IF: 4,411**

### Primér szklerotizáló kolangitisz

Tornai, T., Pályu, E., Vitális, Z., Tornai, I., Tornai, D., Antal-Szalmás, P., Norman, G., Shums, Z., Veres, G., Dezsőfi, A., Pár, G., Pár, A., Orosz, P., Szalay, F., Lakatos, P., **Papp, M.**: Gut barrier failure biomarkers are associated with poor disease outcome in patients with primary sclerosing cholangitis. *World J. Gastroenterol* 23 (29), 5412-5421., 2017. **IF: 3,365** (2016)

Tornai, T., Tornai, D., Sipeki, N., Tornai, I., Alsulaimani, R., Fechner, K., Roggenbuck, D., Norman, G., Veres, G., Pár, G., Pár, A., Szalay, F., Lakatos, P., Antal-Szalmás, P., **Papp, M.**: Loss of tolerance to gut immunity protein, glycoprotein 2 (GP2) is associated with progressive disease course in primary sclerosing cholangitis. *Sci. Rep* 8 (1), 1-11., 2018. **IF: 4,259** (2016)

### Gyulladásos bélbetegségek

**Papp, M.**, Lakatos, P.: Serological studies in inflammatory bowel disease: how important are they?. *Curr. Opin. Gastroenterol* 30 (4), 359-364., 2014. **IF: 4,289**

Kovács, G., Sipeki, N., Suga, B., Tornai, T., Fechner, K., Norman, G., Shums, Z., Antal-Szalmás, P., **Papp, M.**: Significance of serological markers in the disease course of ulcerative colitis in a prospective clinical cohort of patients. *PLoS One* 13 (3), 1-18., 2018. **IF: 2,806** (2016)

Lakatos, P., Sipeki, N., Kovács, G., Pályu, E., Norman, G., Shums, Z., Golovics, P., Lovász, B., Antal-Szalmás, P., **Papp, M.**: Risk matrix for prediction of disease progression in a referral cohort of patients with Crohn's disease. *J. Crohns. Colitis* 9 (10), 891-898., 2015. **IF: 6,585**

Sipeki, N., Dávida, L., Pályu, E., Altörjay, I., Hársfalvi, J., Antal-Szalmás, P., Szabó, Z., Veres, G., Shums, Z., Norman, G., Lakatos, P., **Papp, M.**: Prevalence, significance and predictive value of antiphospholipid antibodies in Crohn's disease. *World J. Gastroenterol* 21 (22), 6952-6964., 2015. **IF: 2,787**

**Papp, M.**, Sipeki, N., Tornai, T., Altörjay, I., Norman, G., Shums, Z., Roggenbuck, D., Fechner, K., Stocker, W., Antal-Szalmás, P., Veres, G., Lakatos, P.: Rediscovery of the anti-



pancreatic antibodies and evaluation of their prognostic value in a prospective clinical cohort of Crohn's patients: The importance of specific target antigens (GP2 and CUZD1).

*J. Crohns Colitis* 9 (8), 659-668., 2015.

**IF: 6,585**

Kiss, L., **Papp, M.**, Lovász, B., Végh, Z., Golovics, P., Janka, E., Varga, É., Szathmári, M., Lakatos, P.: High-sensitivity C-reactive protein for identification of disease phenotype, active disease, and clinical relapses in Crohn's disease: A marker for patient classification?.

*Inflamm. Bowel Dis* 18 (9), 1647-1654., 2012.

**IF: 5,119**

Lakatos, P., Kiss, L., Palatka, K., Altorjay, I., Antal-Szalmás, P., Pályu, E., Udvardy, M., Molnár, T., Farkas, K., Veres, G., Hársfalvi, J., Papp, J., **Papp, M.**: Serum lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 are markers of disease activity in patients with Crohn's disease.

*Inflamm. Bowel Dis* 17 (3), 767-777., 2011.

**IF: 4,855**

**Papp, M.**, Lakatos, P., Hársfalvi, J., Farkas, G., Palatka, K., Udvardy, M., Molnár, T., Farkas, K., Nagy, F., Veres, G., Lakatos, L., Kovács, Á., Dinya, T., Kocsis, K., Papp, J., The Hungarian IBD Study Group, Altorjay, I.: Mannose-binding lectin level and deficiency is not associated with inflammatory bowel diseases, disease phenotype, serology profile, and NOD2/CARD15 genotype in a large Hungarian cohort.

*Hum. Immunol* 71 (4), 407-413., 2010.

**IF: 2,872**

Lakatos, P., Altorjay, I., Szamosi, T., Palatka, K., Vitális, Z., Tumpek, J., Sipka, S., Udvardy, M., Dinya, T., Lakatos, L., Kovács, Á., Molnár, T., Tulassay, Z., Miheller, P., Barta, Z., Stocker, W., Papp, J., Veres, G., **Papp, M.**, The Hungarian IBD Study Group: Pancreatic autoantibodies are associated with reactivity to microbial antibodies, penetrating disease behaviour, perianal disease, and extraintestinal manifestations, but not with NOD2/CARD15 or TLR4 genotype in a Hungarian IBD cohort.

*Inflamm. Bowel Dis* 15 (3), 365-374., 2009.

**IF: 4,643**

**Papp, M.**, Altorjay, I., Dotan, N., Palatka, K., Földi, I., Tumpek, J., Sipka, S., Udvardy, M., Dinya, T., Lakatos, L., Kovács, Á., Molnár, T., Tulassay, Z., Miheller, P., Norman, G., Szamosi, T., Papp, J., The Hungarian IBD Study Group, Lakatos, P.: New serological markers for inflammatory bowel disease are associated with earlier age at onset, complicated disease behavior, risk for surgery, and NOD2/CARD15 genotype in a Hungarian IBD cohort.

*Am. J. Gastroenterol* 103 665-681., 2008.

**IF: 6,444**

## **Cöliakia**

**Papp, M.**, Földi, I., Altorjay, I., Pályu, E., Udvardy, M., Tumpek, J., Sipka, S., Korponay-Szabó, I., Nemes, É., Veres, G., Dinya, T., Tordai, A., Andrikovics, H., Norman, G., Lakatos, P.: Anti-microbial antibodies in celiac disease: Trick or treat?.

*World J. Gastroenterol* 15 (31), 3891-3900., 2009.

**IF: 2,092**

## EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

### 1., A Ph.D fokozat megszerzése óta lektorált tudományos folyóiratban megjelent közlemények

Pályu, E., Hársfalvi, J., Tornai, T., **Papp, M.**, Udvardy, M., Szekeres-Csiki, K., Pataki, L., Vanhoorelbeke K., Feys, H., Deckmyn, H., Tornai, I.: Major changes of von Willebrand factor multimer distribution in cirrhotic patients with stable disease or acute decompensation. *Thromb. Haemost* 2018 Jul 4 doi: 10.1055/s-0038-1661393. [Epub ahead of print]

**IF: 5,627** (2016)

Márta, K., Szabó, A., Pécsi, D., Varjú, P., Bajor, J., Gódi, S., Sarlós, P., Mikó, A., Szemes, K., **Papp, M.**, Tornai, T., Vincze, Á., Márton, Z., Vincze, P., Lankó, E., Szentesi, A., Molnár Tímea, Hágodorn, R., Faluhelyi, N., Battyáni, I., Kelemen, D., Papp, R., Miseta, A., Verzár, Z., Lerch, M., Neoptolemos, J., Sain-Tóth, M., Petersen, O., Hegyi, P.: High versus low energy administration in the early phase of acute pancreatitis (GOULASH trial): Protocol of a multicentre randomized double-blind clinical trial. *BMJ Open* 7 (9), 1-9., 2017.

**IF: 2,369** (2016)

Gönczi, L., Gecse, K., Végh, Z., Kürti, Z., Rutka, M., Farkas, K., Golovics, P., Lovász, B., Banai, J., Bene, L., Gasztonyi, B., Kristóf, T., Lakatos, L., Miheller, P., Nagy, F., Palatka, K., **Papp, M.**, Patai, Á., Salamon, Á., Szamosi, T., Szepes, Z., Tóth, G., Vincze, Á., Szalay, B., Molnár, T., Lakatos, P.: Long term efficacy, safety and immunogenicity of biosimilar infliximab after one year in a prospective nationwide cohort.

*Inflamm. Bowel Dis* 23 (11), 1908-1915., 2017.

**IF: 4,525** (2016)

Gönczi, L., Végh, Z., Golovics, P., Rutka, M., Gecse, K., Bor, R., Farkas, K., Szamosi, T., Bene, L., Gasztonyi, B., Kristóf, T., Lakatos, L., Miheller, P., Palatka, K., **Papp, M.**, Patai, Á., Salamon, Á., Tóth, G., Vincze, Á., Bíró, E., Lovász, B., Kürti, Z., Szepes, Z., Molnár, T., Lakatos, P.: Prediction of short- and medium-term efficacy of biosimilar infliximab therapy. Do trough levels/antidrug antibody levels or clinical/biochemical markers play a more important role? *J. Crohns Colitis* 11 (6), 697-705., 2017.

**IF: 5,813** (2016)

Radnay, Z., Udvardy, M., **Papp, M.**, Hársfalvi, J., Rejtő, L., Pál, I., Illés, Á., Kiss, A.: Evaluation of Mannose-Binding Lectin is a Useful Approach to Predict the Risk of Infectious Complications Following Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation.

*Transplant. Proc* 48 3397-3405., 2016.

**IF: 0,908**

Papp, R., **Papp, M.**, Tornai, I., Vitális, Z.: A hepatocellularis carcinoma előfordulása és kezelésének tanulságai az észak-kelet magyarországi régióban.

*Orvosi Hetilap* 157 (45), 1793-1801., 2016.

**IF: 0,349**

Gecse, K., Lovász, B., Farkas, K., Banai, J., Bene, L., Gasztonyi, B., Golovics, P., Kristóf, T., Lakatos, L., Csontos, Á., Juhász, M., Nagy, F., Palatka, K., **Papp, M.**, Patai, Á., Lakner, L., Salamon, Á., Szamosi, T., Szepes, Z., Tóth, G., Vincze, Á., Szalay, B., Molnár, T., Lakatos, L.: Efficacy And Safety Of The Biosimilar Infliximab CT-P13 Treatment In Inflammatory Bowel Diseases: A Prospective, Multicentre, Nationwide Cohort. *J. Crohns Colitis* 10 (2), 133-140., 2016.

**IF: 5,813**

Kocsis, D., **Papp, M.**, Tornai, T., Tulassay, Z., Herszényi, L., Tóth, M., Juhász, M.: Intestinalis zsírsavkötő fehérje: Az enterocytakárosodás markere akut és krónikus gastroenterológiai kórképekben.

*Orv. Hetilap* 157 (2), 59-64., 2016.

**IF: 0,349**

Müller, K., Lakatos, P., Kovács, J., Arató, A., Várkonyi, Á., Nemes, É., Tárnok, A., Tóth, G., **Papp, M.**, Sólyom, E., Horváth, Á., Guthy, I., Kovács, M., Hungarian IBD Registry Group (HUPIR), Veres, G.: Baseline Characteristics and Disease Phenotype In Inflammatory Bowel Disease.

*J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr* 62 (1), 50-55., 2016.

**IF: 2,799**

Káplár, M., Sweni, S., Kulcsár, J., Cogoi, B., Esze, R., Somodi, S., **Papp, M.**, Oláh, L., Magyar, M., Szabó, K., Czuriga-Kovács, K., Hársfalvi, J., Paragh, G.: Mannose-binding lectin levels and carotid intima-media thickness in type 2 diabetic patients.  
*J. Diabetes Res* 2016 (8132925), 1-8., 2016. **IF: 2,717**

Szabó, D., Hosszú, É., Arató, A., Müller, K., Béres, N., Lakatos, P., **Papp, M.**, Dezsőfi, A., Szabó, A., Szűcs, D., Veres, G.: Seasonal variability of vitamin D and bone metabolism in infliximab-treated paediatric Crohn's disease.  
*Dig Liver Dis* 47 (5), 652-657., 2015. **IF: 2,719**

Pavlidis, P., Shums, Z., Koutsoumpas, A., Milo, J., **Papp, M.**, Uemurea, T., Lakatos, P., Smyk, D., Bogdanos, D., Forbes, A., Norman, G.: Diagnostic and clinical significance of Crohn's disease-specific anti-MZGP2 pancreatic antibodies by a novel ELISA.  
*Clin. Chim. Acta* 441 176-181., 2015. **IF: 2,799**

Páll, A., Czifra, Á., Vitális, Z., **Papp, M.**, Paragh, G., Szabó, Z.: Pathophysiological and clinical approach to cirrhotic cardiomyopathy.  
*J. Gastrointestin. Liver Dis* 23 (3), 1-10., 2014. **IF: 2,202**

Kovács, M., Müller, K., **Papp, M.**, Lakatos, P., Csöndes, M., Veres, G.: New serological markers in pediatric patients with inflammatory bowel disease.  
*World J. Gastroenterol* 20 (17), 4873-4882., 2014. **IF: 2,369**

Müller, K., Lakatos, P., **Papp, M.**, Veres, G.: Incidence and Paris Classification of Pediatric Inflammatory Bowel Disease.  
*Gastroenterol. Res. Pract* 2014 10, 2014. **IF: 1,749**

Szabó, D., Kökönyei, G., Arató, A., Dezsőfi, A., Molnár, K., Müller, K., Lakatos, P., **Papp, M.**, Lovász, B., Golovics, P., Cseh, Á., Veres, G.: Autoregressive cross-lagged models of IMPACT-III and Pediatric Crohn's Disease Activity indexes during one year infliximab therapy in pediatric patients with Crohn's disease.  
*J. Crohns Colitis* 8 (8), 747-755., 2014. **IF: 6,234**

Farkas, K., Lakatos, P., Nagy, F., Szepes, Z., Miheller, P., **Papp, M.**, Palatka, K., Bálint, A., Bor, R., Wittmann, T., Molnár, T.: Predictors of relapse in patients with ulcerative colitis in remission after one-year of infliximab therapy.  
*Scand. J. Gastroenterol* 48 (12), 1394-1398., 2013. **IF: 2,329**

Kiss, L., Lovász, B., Golovics, P., Végh, Z., Farkas, K., Molnár, T., Palatka, K., **Papp, M.**, Mohás, A., Szilágyi, B., Fekete, S., Mandel, M., Lakatos, P.: Levels of anti-double-stranded DNA but not antinuclear antibodies are associated with treatment efficacy and adverse outcomes in Crohn's disease patients treated with anti-TNF $\alpha$ .  
*J. Gastrointestin. Liver Dis* 22 (2), 135-40., 2013. **IF: 1,849**

Müller, K., Lakatos, P., Arató, A., Kovács, J., Várkonyi, Á., Szűcs, D., Szakos, E., Sólyom, E., Kovács, M., Polgár, M., Nemes, É., Guthy, I., Tokodi, I., Tóth, G., Horváth, Á., Tárnok, A., Csoszánzky, N., Balogh, M., Vass, N., Bodi, P., Dezsőfi, A., Gardos, L., Micskey, É., **Papp, M.**, Cseh, Á., Szabó, D., Vörös, P., Hungarian IBD Registry Group (HUPIR), Veres, G.: Incidence, paris classification and follow-up in a nationwide, incident cohort of pediatric patients with inflammatory bowel disease.  
*J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr* 57 (5), 576-582., 2013. **IF: 2,873**

Müller, K., Arató, A., Lakatos, P., **Papp, M.**, Veres, G.: Foreign body impaction in the sigmoid colon: A twenty euro bet.  
*World J. Gastroenterol* 19 (25), 1-3., 2013. **IF: 2,433**

Molnár, T., Lakatos, P., Farkas, K., Nagy, F., Szepes, Z., Miheller, P., Horváth, G., **Papp, M.**, Palatka, K., Nyári, T., Bálint, A., Lőrinczy, K., Wittmann, T.: Predictors of relapse in patients with Crohn's disease in remission after 1 year of biological therapy.  
*Aliment. Pharmacol. Ther* 37 (2), 225-233., 2013. **IF: 5,478**

Horváth, G., Farkas, K., Hollósi, R., Nagy, F., Szepes, Z., **Papp, M.**, Palatka, K., Miheller, P., Lakatos, L., Szamosi, T., Nyári, T., Wittmann, T., Molnár, T.: Is there any association between impaired health-related quality of life and non-adherence to medical therapy in inflammatory bowel disease?. *Scand. J. Gastroenterol* 47 (11), 1298-1303., 2012. **IF: 2,156**

Kovács, M., Lakatos, P., **Papp, M.**, Jacobsen, S., Nemes, É., Polgár, M., Sólyom, E., Bodi, P., Horváth, Á., Müller, K., Molnár, K., Szabó, D., Cseh, Á., Dezsőfi, A., Arató, A., Veres, G.: Pancreatic autoantibodies and autoantibodies against goblet cells in pediatric patients with inflammatory bowel disease (IBD). *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr* 55 (4), 429-435., 2012. **IF: 2,196**

Molnár, K., Vannay, Á., Szebeni, B., Bánki, N., Sziksz, E., Cseh, Á., Györffy, H., Lakatos, P., **Papp, M.**, Arató, A., Veres, G.: Intestinal Alkaline Phosphatase in the colonic mucosa of children with inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol* 18 (25), 3254-3259., 2012. **IF: 2,547**

Kovács, M., Müller, K., Arató, A., Lakatos, P., B. Kovács, J., Várkonyi, Á., Sólyom, E., Polgár, M., Nemes, É., Guthy, I., Tokodi, I., Tóth, G., Horváth, Á., Tárnok, A., Tomsits, E., Csoszánzsky, N., Balogh, M., Vass, N., Bodi, P., Dezsőfi, A., Gardos, L., Micskey, É., **Papp, M.**, Szűcs, D., Cseh, Á., Molnár, K., Szabó, D., Veres, G., the Hungarian IBD Registry Group: Diagnostic yield of upper endoscopy in paediatric patients with Crohn's 10 disease and ulcerative colitis. Subanalysis of the HUPIR registry. *J. Crohn. Col* 6 (1), 88-94., 2012. **IF: 3,385**

Póliska, S., Penyige, A., Lakatos, P., **Papp, M.**, Palatka, K., Lakatos, L., Molnár, T., Nagy, L.: Association of peroxisome proliferator-activated receptor gamma polymorphisms with inflammatory bowel disease in a hungarian cohort. *Inflamm. Bowel Dis* 18 (3), 472-479., 2012. **IF: 5,119**

Vaiopoulos, G., Lakatos, P., **Papp, M.**, Kaklamanis, F., Economou, E., Zevgolis, V., Sourdis, J., Konstantopoulos, K.: Serum anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in Greek patients with Behcet's disease. *Yonsei Med. J* 52 (2), 347-350., 2011. **IF: 1,137**

Lakatos, P., **Papp, M.**, Rieder, F.: Serologic Antiglycan Antibodies in Inflammatory Bowel Disease. *Am. J. Gastroenterol* 106 (3), 406-412., 2011. **IF: 7,282**

Kiss, L., Szamosi, T., Molnár, T., Miheller, P., Lakatos, L., Vincze, A., Palatka, K., Barta, Z., Gasztonyi, B., Salamon, A., Horváth, G., Tóth, G., Farkas, K., Banai, J., Tulassay, Z., Nagy, F., Szenes, M., Veres, G., Lovász, B., Végh, Z., Golovics, P., Szathmári, M., **Papp, M.**, Lakatos, P.: Early clinical remission and normalisation of CRP are the strongest predictors of efficacy, mucosal healing and dose escalation during the first year of adalimumab therapy in Crohn's disease. *Aliment. Pharmacol. Ther* 34 (8), 911-922., 2011. **IF: 3,769**

Veres, G., Korponay-Szabó, I., Maka, E., Glasz, T., Mamula, P., **Papp, M.**, Dezsőfi, A., Arató, A.: Duodenal ulceration in a patient with celiac disease and plasminogen I deficiency: Coincidence or cofactors?. *Pediatrics* 128 (5), e1301-1307., 2011. **IF: 5,437**

Csongrádi, É., Nagy, B., Fülöp, T., Varga, Z., Karányi, Z., Magyar, M., Oláh, L., **Papp, M.**, Facskó, A., Kappelmayer, J., Paragh, G., Káplár, M.: Increased levels of platelet activation markers are positively associated with carotid wall thickness and other atherosclerotic risk factors in obese patients. *Thromb. Haemost* 106 (4), 683-692., 2011. **IF: 5,044**

Meskó, B., Póliska, S., Szegedi, A., Szekanecz, Z., Palatka, K., **Papp, M.**, Nagy, L.: Peripheral blood gene expression patterns discriminate among chronic inflammatory diseases and healthy controls and identify novel targets. *BMC Med. Genomics* 3 (1), 15., 2010. **IF: 3,766**

Meggyesi, N., Kiss, L., Koszarska, M., Bortlik, M., Duricova, D., Lakatos, L., Molnár, T., Leniček, M., Viték, L., Altorjay, I., **Papp, M.**, Tulassay, Z., Miheller, P., Papp, J., Tordai, A., Andrikovics, H., Lukas, M., Lakatos, P.: NKX2-3 and IRGM variants are associated with disease susceptibility to IBD in Eastern European patients.

*World J. Gastroenterol* 16 (41), 5233-5240., 2010.

**IF: 2,24**

Lakatos, P., Czeglédi, Z., Dávid, G., Kispál, Z., Kiss, L., Palatka, K., Kristóf, T., Nagy, F., Salamon, Á., Demeter, P., Miheller, P., Szamosi, T., Banai, J., **Papp, M.**, Bene, L., Kovács, Á., Rácz, I., Lakatos, L.: Association of adherence to therapy and complementary and alternative medicine use with demographic factors and disease phenotype in patients with inflammatory bowel disease.

*J. Crohns Colitis* 4 (3), 283-290., 2010.

**IF: 2,628**

Nagy Szakál, D., Gyórfy, H., Arató, A., Cseh, Á., Molnár, K., **Papp, M.**, Dezsőfi, A., Veres, G.: Mucosal expression of claudins 2, 3 and 4 in proximal and distal part of duodenum in children with coeliac disease.

*Virchows Arch* 456 (3), 245-250., 2010.

**IF: 2,336**

Szamosi, T., Banai, J., Lakatos, L., Czeglédi, Z., Dávid, G., Zsigmond, F., Pandúr, T., Erdélyi, Z., Gemela, O., **Papp, M.**, Papp, J., Lakatos, P.: Early azathioprine/biological therapy is associated with decreased risk for surgery and delays time to surgery but not reoperation in both smokers and nonsmokers with Crohn's disease, while smoking decreases the risk of colectomy in ulcerative colitis.

*Eur. J. Gastroenterol. Hepatol* 22 (7), 872-879., 2010.

**IF: 1,598**

Szamosi, T., Lakatos, P., The Hungarian IBD Study Group, Szilvási, A., Lakatos, L., Kovács, Á., Molnár, T., Altorjay, I., **Papp, M.**, Szabó, O., Sántori, A., Tulassay, Z., Miheller, P., Horváth, H., Papp, J., Tordai, A., Andrikovics, H.: The 3'UTR NFKBIA variant is associated with extensive colitis in Hungarian IBD patients.

*Dig. Dis. Sci* 54 (2), 351-359., 2009.

**IF: 1,838**

Miheller, P., Lakatos, L., Horváth, G., Molnár, T., Szamosi, T., Czeglédi, Z., Salamon, Á., Czimmer, J., Rumi, G., Palatka, K., **Papp, M.**, Jakab, Z., Szabó, A., Gelley, A., Lakatos, P., Barta, Z., Balázs, C., Rácz, I., Zeher, M., Döbrönte, Z., Altorjay, I., Hunyady, B., Simon, L., Papp, J., Banai, J., Nagy, F., Lonovics, J., Újszászy, L., Múzes, G., Herszényi, L., Tulassay, Z.: Efficacy and safety of infliximab induction therapy in Crohn's disease in Central Europe: A Hungarian nationwide observational study.

*BMC Gastroenterol* 9 (6), 66-73., 2009.

**IF: 1,886**

Lakatos, P., Altorjay, I., Mándi, Y., Lakatos, L., Tumpek, J., Kovács, Á., Molnár, T., Tulassay, Z., Miheller, P., Palatka, K., Szamosi, T., Fischer, S., Papp, J., The Hungarian IBD Study Group, **Papp, M.**: Interaction between seroreactivity to microbial antigens and genetics in Crohn's disease: Is there a role for defensins?

*Tissue Antigens* 71 (6), 552-559., 2008.

**IF: 2,076**

Lakatos, P., Szamosi, T., Szilvási, A., Molnár, E., Lakatos, L., Kovács, Á., Molnár, T., Altorjay, I., **Papp, M.**, Tulassay, Z., Miheller, P., Papp, J., Tordai, A., Andrikovics, H., The Hungarian IBD Study Group: ATG16L1 and IL23 receptor (IL23R) genes are associated with disease susceptibility in Hungarian CD patients.

*Dig. Liver Dis* 40 (11), 867-873., 2008.

**IF: 2,577**

## **2., Egyéb, tudományos folyóiratban megjelent közlemények**

Tornai, T., **Papp, M.**: A bél működésének változása és annak jelentősége májcirrhosisban. *Magyar Belorv. Arch* Megjelenés alatt 2017.

**Papp, M.**, Tornai, T., Vitális, Z., Tornai, I., Sipeki, N., Balogh, B., Antal-Szalmás, P., Trebica, J.: PREDICT (Predicting Acute-on-Chronic Liver Failure in Cirrhosis) multicentrikus európai prospektív obszervációs tanulmány: EASL-CLIF Consortium, 2017-2018.

*CEU-JGH* 3 (2), 151-154., 2017.

Palatka, K., Kacska, S., **Papp, M.**, Dávida, L., Altorjay, I.: Kettős ballon enteroszkópia helye, szerepe, hazai realitásban.  
*CEU-JGH 2* (1), 22-26., 2016.

Tornai, T., **Papp, M.**: Krónikus májbetegségre rakódott akut májelégtelenség: Egy újraértelmezett klinikai entitás a hepatológiában.  
*CEU-JGH 2* (3), 404-409., 2016.

Tornai, T., **Papp, M.**: A krónikus májbetegségre rakódott akut májelégtelenség.  
*Med. Tribune 14* (1), 11-12., 2016.

Tornai, I., Tornai, T., Vitális, Z., **Papp, M.**: Bakteriális infekciók májcirrhosisban.  
*Gasztroenterol. Hepatol. Szle.* 1 (1), 19-23., 2015.

Pár, A., Pár, G., Tornai, I., Szalay, F., Várszegi, D., Fráter, E., **Papp, M.**, Lengyel, G., Fehér, J., Varga, M., Gervain, J., Schuller, J., Nemes, Z., Péterfi, Z., Tusnádi, A., Hunyady, B., Haragh, A., Szinku, Z., Vincze, Á., Szereday, L., Kisfali, P., Melegh, B.: IL28B and IL10R-1087 polymorphisms are protective for chronic genotype 1 HCV infection and predictors of response to interferon-based therapy in an East-Central European cohort.  
*BMC Res Notes* 7 (1), 7, 2014.

Müller, K., Lakatos, P., **Papp, M.**, Veres, G.: Granulomák előfordulási gyakorisága és szerepe 368 Crohn-beteg gyermekben.  
*Orvosi Hetilap* 154 (43), 1702-1708., 2013.

Pár, A., Pár, G., Tornai, I., Szalay, F., Várszegi, D., Fráter, E., **Papp, M.**, Lengyel, G., Fehér, J., Varga, M., Gervain, J., Schuller, J., Nemes, Z., Péterfi, Z., Tusnádi, A., Hunyady, B., Haragh, A., Szinku, Z., Pálkás, L., Berki, T., Vincze, Á., Kisfali, P., Melegh, B.: IL28B CC genotípus: Védő tényező és az interferonválasz prediktora krónikus hepatitis C-vírus-infekcióban.  
*Orv. Hetil* 154 (32), 1261-1268., 2013.

Radnay, Z., Kiss, A., **Papp, M.**, Rejtő, L., Hársfalvi, J., Udvardy, M.: Mannose-binding lectin ELISA is a new approach to predict the chance of infectious complications during autologous haematopoietic stem cell transplantation.  
*Bone Marrow Transplant* 46 (Suppl. 1), S213-S214., 2011.

Pár, A., Kisfali, P., Melegh, B., Tornai, I., Gervain, J., Szalay, F., Varga, M., **Papp, M.**, Schuller, J., Tusnádi, A., Fehér, J., Lengyel, G., Nemes, Z., Péterfi, Z., Hunyady, B., Vincze, Á., Pár, G.: Cytokine (IL-10, IL-28B and LT-A) gene polymorphisms in chronic hepatitis C virus infection.  
*Clinical and Experimental Medical Journal* 5 (1), 9-19., 2011.

**Papp, M.**: Adalimumab sikeres alkalmazása gyermekkori Crohn-betegség kezelésében infliximab hatásvesztését követően.  
*Praxis* 20 (9), 33-35., 2011.

Molnár, K., Vannay, Á., Szebeni, B., Györffy, H., Sziksz, E., Cseh, Á., Bánki, N., Dezsőfi, A., Lakatos, P., **Papp, M.**, Arató, A., Tulassay, T., Veres, G.: Intesztinális alkalikus foszfatáz vizsgálata krónikus bélgyulladásban (IBD) szenvedő gyermekek bélnyálkahártyájában.  
*Gyermekgyógyászat* 62 (3), 125-129., 2011.

Kiss, L., Szamosi, T., Molnár, T., Miheller, P., Lakatos, L., Vincze, Á., Palatka, K., Barta, Z., Gasztonyi, B., Salamon, Á., Horváth, G., Tóth, G., Farkas, K., Banai, J., Tulassay, Z., Nagy, F., Szenes, M., Veres, G., Lovász, B., Végh, Z., Golovics, P., Szathmári, M., **Papp, M.**, Lakatos, P.: A klinikai hatékonyság, a nyálkahártya-gyógyulás és a dózisemelés prediktorai az adalimumabkezelés első évében Crohn-betegségben szenvedő betegekben Magyarországon.  
*Orv. Hetil* 152 (36), 1433-1442., 2011.

Lakatos, L., Czeglédi, Z., Dávid, G., Kispál, Z., Kiss, L., Palatka, K., Kristóf, T., Molnár, T., Salamon, Á., Demeter, P., Miheller, P., Szamosi, T., Banai, J., **Papp, M.**, Bene, L., Kovács, Á., Rácz, I., Lakatos, P.: A terápiás adherencia, valamint a komplementer és alternatív gyógymódok használata gyulladásoos bélbetegek kezelésében.

*Orv. Hetil* 151 (7), 250-258., 2010.

Farkas, K., **Papp, M.**, Nyári, T., Nagy, F., Szepes, Z., Wittmann, T., Molnár, T.: Red Blood Cell Distribution Width in Combination with Serological Markers can Help in the Differentiation between Crohn's Disease and Ulcerative Colitis.

*Open Gastroent. J* 4 1-4., 2010.

Molnár, K., **Papp, M.**, Szőnyi, L., Lakatos, P., Tornai, I., Földi, I., Arató, A., Dezsőfi, A., Veres, G.: Haptoglobin polimorfizmus vizsgálata gyermekkori és felnőttkori primer szklerotizáló cholangitisben.

*Gyermekgyógyászat* 59 (5), 277-281., 2008.

**Papp, M.**, Nemes, É., Földi, I., Udvardy, M., Hársfalvi, J., Altorjay, I., Máté, I., Dinya, T., Várvölgyi, C., Barta, Z., Veres, G., Lakatos, P., Tumpek, J., Tóth, L., Szathmári, E., Kapitány, A., Gyetvai, Á., Korponay-Szabó, I.: Haptoglobin-polimorfizmus: Új genetikai kockázati tényező a coeliakia kialakulásában és klinikai megjelenési formáiban.

*Gyermekgyógyászat* 59 (5), 264-270., 2008.

**Papp, M.**: Vascularis, immunológiai és genetikai tényezők lehetséges patogenetikai szerepe néhány gasztroenterológiai kórképben.

*Orv. Hetil* 149 (48), 2269-2276., 2008.

### **3., Könyvfejezet**

Vitális, Z., **Papp, M.**: Bacterial Infections in Cirrhosis. In: Cirrhosis : Causes, Treatment Options and Potential Complications / eds. Ryan M. Blackwell, Arthur P. Tyson, Nova Science Publishers Inc., New York, 1-26, 2013.

Veres, G., Nagy-Szakál, D., Győrffy, H., Molnár, K., Müller, K., **Papp, M.**, Arató, A.: Mucosal expression of claudins in children with celiac disease. In: Pathophysiology to Advanced Therapies / eds. Peter Kruzliak, Govind Bhagat, In Tech, [s.l.], 3-16, 2012.

**Papp, M.**, Norman, G., Altorjay, I., Lakatos, P.: The utility of serological markers in inflammatory bowel diseases: Gadget or magic?.

In: Crohn's Disease: Etiology, Pathogenesis and Intervention / ed. Jack N. Cadwallar, Nova Science Publishers Inc., New York, 171-193, 2008.

## SZCIENTOMETRIAI ADATOK

Papp Mária tudományos és oktatási munkásságának összefoglalása MTA V. Orvostudományi Osztály (2018.06.14.)

Tudományos és oktatási közlemények	Száma		Hivatkozások <sup>1</sup>	
	Összesen	Részletezve	Független	Összes
<b>I. Folyóiratcikk<sup>2</sup></b>	87	---	---	---
szakcikk, nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű	---	43	622	740
szakcikk, hazai idegen nyelvű	---	0	0	0
szakcikk, magyar nyelvű	---	7	1	2
szakcikk, sokszerzős, érdemi szerzőként <sup>3</sup>	---	21	512	638
összefoglaló közlemény	---	13	183	216
rövid közlemény	---	3	9	12
<b>II. Könyv</b>	0	---	---	---
<b>a) Szakkönyv, kézikönyv</b>	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	0	0
magyar nyelvű	---	0	0	0
aa) Felsőoktatási tankönyv	---	0	0	0
<b>b) Szakkönyv, tankönyv szerkesztőként</b>	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	---	---
magyar nyelvű	---	0	---	---
bb) Felsőoktatási tankönyv	---	0	---	---
<b>III. Könyvrészlet</b>	3	---	---	---
idegen nyelvű	---	3	0	0
magyar nyelvű	---	0	0	0
cc) Felsőoktatási tankönyvfejezet	---	0	0	0
<b>IV. Konferenciaközlemény<sup>4</sup></b>	0	---	0	0
<b>Oktatási közlemények összesen (II.aa,bb-III.cc)</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Tudományos közlemények összesen (I-IV.)</b>	---	<b>90</b>	<b>1327</b>	<b>1608</b>
<b>Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)</b>	90	---	1327	1608

<b>V. További tudományos művek</b>	10	---	---	---
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikkeket és a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikkeket is	---	9	3	4
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok	---	1	0	0

<b>VI. Idézett absztraktok<sup>5</sup></b>	10	---	14	23
--	----	-----	----	----

<b>Idézettség száma<sup>1</sup></b>	---	---	1344	1635
-------------------------------------	-----	-----	------	------

<b>Hirsch index<sup>6</sup></b>	26	---	---	---
<b>g index<sup>6</sup></b>	39	---	---	---



Speciális tudományometriai adatok	Száma	Összes hivatkozás
Első szerzős folyóiratcikkek száma <sup>2*</sup>	20	485
Utolsó szerzős folyóiratcikkek száma <sup>2*</sup>	13	118
Az utolsó tudományos fokozat (Habilitált doktor) elnyerése utáni (2012 - ) teljes tudományos folyóiratcikkek	38	400
Az utolsó 10 év (2008-2018) tudományos, teljes, lektorált folyóiratcikkeinek száma	75	1327
A legmagasabb idézettségű közlemény idézettsége (az összes idézettség százalékában)	110	6,73%
További, az MTMT-ben nyilvántartott idézetek száma, amelyek nem szerepelnek a WOS és/vagy Scopus rendszerben	124	
Jelentés, guideline	0	0
Csoportos (multicentrikus) közleményben kollaborációs közreműködő <sup>7</sup>	0	0

\*Az MTMT nem tudja szolgáltatni a megosztott első és megosztott utolsó szerzőség adatokat. Ezeket a kérelmezőnek a doktori eljárás folyamán a 3. sz. adatlapon kell feltüntetnie.

Megjegyzések:

<sup>1</sup> kizárólag a WOS és/vagy Scopus rendszerben nyilvántartott idézetek száma az egyéb adatbázisokból, egyéb típusú idézőkből, valamint disszertációkból az MTMT-be feltöltött, azonosítószámmal rendelkező idézők nélkül

<sup>2</sup> lektorált, tudományos folyóiratban

<sup>3</sup> a szerző írásban nyilatkozik, hogy érdemi szerzői hozzájárulásával készültek szerzőként jegyzett közleményei, és az érdemi hozzájárulást dokumentálni tudja

<sup>4</sup> konferenciaközlemény folyóiratban, könyvben vagy egyéb konferenciakötetben

<sup>5</sup> nem idézett absztrakt itt nem kerül az összesítésbe

<sup>6</sup> a disszertáció és egyéb típusú idéző nélküli összes idézővel számolva

<sup>7</sup> közreműködés esetén a csoportos szerzőségű közlemények idézettsége külön értékelendő, és nem számítható be az összesített idézetek közé