

Válasz Prof. Dr. Varga Gábor bírálatára

Ezúton is szeretném megköszönni Professzor Úr munkáját, a bírálatra szánt idejét, a részletes értékelést és az MTA Doktori értekezés pozitív bírálatát.

A felvetett kérdésekre, a válaszaim a következők:

1. Májcirrózisban a jelölt leírja, hogy a bakteriális fertőzések kialakulásában a kórképhez társuló immundiszfunkciós szindróma (CAID) fontos szerepet játszik. Állítása szerint a CAID kórfolyamatainak pontosabb megismerése elősegítheti nem-antibiotikum alapú új szupportív kezelési módok tervezését, a CAID komponenseinek korrekcióját. Milyen lehetséges korrekciós mechanizmusok lehetnek ezek, amelyek alkalmazása csökkentheti az infekciók kialakulásának gyakoriságát?

A cirrózis asszociált immundiszfunkciós szindróma (CAID) a májcirrózis kórlefolyásának kompenzált fázisában döntően pro-inflammatorikus fenotípust mutat, az immunrendszer krónikusan aktivált állapotban van, melyre mind a veleszületett, mind az adaptív immunitás sejtjeinek perzisztens és nem megfelelő stimulációja jellemző. Ennek nemcsak a bakteriális fertőzésekben van fontos szerepe, de a betegség progressziójában is. A gyulladásos alapállapot kialakulásának egyik oka a kórosan fokozott bakteriális transzlokáció, ugyanakkor a keringő endotoxinok, bakteriális termékek fokozva a porta nyomását hozzájárulnak a bélbarrier károsodásához, a transzlokáció további fokozódásához. Ezek a folyamatok a betegség súlyosbodásához vezetnek és a dekompenzált betegség stádium kialakulásával progresszív immundeficiencia alakul ki. A bélfalon nagy számban átjutó kórokozók, bakteriális termékek feldolgozása miatt a granulociták és a makrofágok állandó stimulusnak vannak kitéve, mely következtében fagocitáló kapacitásuk és reaktív oxigén gyök termelő képességük csökken, így egy nagyobb bakteriális terhelésre kellő aktivitással nem tudnak reagálni. Ezek a változások azonban reverzibilisnek tűnnek, ezért befolyásolásuk lehetőségeit intenzíven kutatják. Az immunrendszer befolyásolásának jelenleg ismert lehetséges támadáspontjait az **1. táblázat** foglalja össze.

Az alábbiakban szeretnék kiemelni néhány figyelemreméltó eredményt a legújabb irodalmi adatokból.

Egy francia kutatócsoport kimutatta, hogy alkoholos májcirrózisban a neutrofil granulociták károsodott oxidatív aktivitása a NOX2 (NADPH oxidáz 2) és a TLR7/8 szignalizációs útvonal egyik tagjának, az mTOR expressziójának hiányával van összefüggésben. TLR 7/8 agonisták (CL097 and R848) alkalmazásának hatására az mTOR útvonal aktivációja által indukálódik a gp91phox NADPH oxidáz komponens transzkripciója és szintézise, mely következtében a neutrofilek szuperoxid termelése javítható (*Rolas L. Gut. 2018;67:1505-1516*).

Egy másik potenciális terápiás célpont lehet az immunsejtek felszínén kifejeződő szabályozó molekulák (immune check point receptors) működésének befolyásolása. A májcirrózisos betegek immunsejtjei etanol és bakteriális endotoxin hatására fokozottan expresszálják a gátló szabályozó receptorokat, mint pl. PD-1 és TIM-3 molekulákat, mely az immunrendszer kimerüléséhez és immunparalízishez vezet. A folyamatos endotoxin expozíció következtében csökken ezen sejtek interferon gamma (INF- γ) termelése és emelkedik az anti-inflammatorikus citokinek, mint pl. az interleukin (IL)-10 szekretálása. A PD-1 és TIM-3 receptorok gátlásával visszaállítható az INF- γ / IL-10 egyensúly, valamint javítható a neutrofil granulociták fagocita

és oxidatív kapacitása. A TLR4/CD14 (endotoxin receptorok) blokkolás szintén gátolja a PD-1/TIM-3-at, valamint csökkenti az endotoxin által stimulált monocitákban az IL-10 és a tumor necrosis faktor alfa (TNF- α) termelést (*Markwick LJ. 2015;148:590-602.e10*).

Saját eredményeink alapján a szolúbilis mintázatfelismerő molekulák (sPRM) szintén a nem-antibiotikum alapú infekció profilaxis célpontjai lehetnek májcirrózisban. Betegeinkben MBL deficiencia, valamint csökkent fikolin (FCN) 2 és -3 szintek esetén is magas volt a bakteriális infekciók kialakulásának kumulatív valószínűsége. Az alacsony fikolin szinteknek a bakteriális infekciók kialakulásával való összefüggése nem volt független a májbetegség súlyosságától, ami arra utal, hogy a csökkent fikolin szintek előrehaladott májcirrózisban a májsejtek szintetikus kapacitás-károsodásának következményei, és nincs olyan jelentős helyettes, ami ezt a funkciójukat pótolni tudja. Az MBL deficiencia a CAID újonnan azonosított genetikai, míg a csökkent fikolin szintek fontos, szerzett alkotóelemének tekinthetők tekinthetők. 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 és így hozzájárulhatna a várólistán a túlélés javításához. 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 hatékonynak bizonyult (*Keizer MP. Mol Immunol. 2014;61:174-84.*). 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. (*Brouwer N. J Immunol. 2009;183:3496-504; Frakking FN. Eur J Cancer. 2009;45:505-12.*) Hasonló vizsgálatok végzése fikolin deficiencia esetén is jelentőséggel bírhat.

1.táblázat Jelenleg rendelkezésre álló, az immunrendszer befolyásolásának lehetséges támadáspontjai - Összefoglalás

	Feltételezett mechanizmus	Bizonyíték
Nem-szelektív béta-blokkolók	Hemodinamika javulása, a BT csökkenése	Magas szintű bizonyítékok, de speciális betegcsoportokban a mellékhatásokat illetően vannak kétségek.
Interleukin-22	A bélbarrier javulása, a májregeneráció támogatása	A megerősítő vizsgálatok folyamatban vannak.
G-CSF	A májregeneráció támogatása és a kóros immunfunkció javítása	Kisebbségi tanulmányok szerint túlélési előny, de a nagyobb esetszámú tanulmányok folyamatban vannak.
Antikoagulánsok (enoxaparine és egyebek)	A bél és a máj mikrocirkulációjának javítása, a BT csökkentése	Ígéretes adatok, melyek még megerősítést igényelnek, tanulmányok folyamatban vannak.

Obetikólsav	A dysbiosis javulása, a gyulladás csökkenése és a bél barrier funkció rendeződése	Többségében állatkísérletes vizsgálatok; biztonságosságát dekompenzált májcirrózisos betegekben jelenleg még ellenőrzik
Albumin	Hemodinamikai javulás, immunmoduláció	Magas szintű bizonyítékok a HRS és a bakteriális infekció megelőzésében
Plazmacsere	PAMP-ok, DAMP-ok, citokinek stb. eltávolítása a keringésből	Előzetes és heterogén vizsgálatok, a túlélési előny további megerősítés szükséges.

BT: bakteriális transzlokáció, DAMP: sejtkárosodással összefüggő molekuláris mintázat, G-CSF: granulocita kolónia stimuláló faktor, HRS: hepatorenális szindróma, PAMP: kórokozó-asszociált molekuláris mintázat

2. A jelölt saját megállapítása szerint vizsgálatuk egyik hiányossága, hogy az ANCA IgA antitestek jelenlétét nem vizsgálták közvetlenül a különböző mukózális kompartmentekben, illetve azokban a szervekben ahová baktériumok transzlokációja feltételezhető. Kérdésem, hogy ilyen vizsgálatok jelenleg folynak-e, illetve tervezik-e ezek kivitelezését a közeljövőben?

Válasz:

A bakteriális transzlokációban érintett mucosalis felszíneken és a különféle szervrendszerekben az ANCA IgA antitestek vizsgálatára egyelőre még nem került sor. Az antitestek szövetekben történő vizsgálata ugyanis nehézségekbe ütközik. Mivel – ahogy kutatómunkánk során igazoltuk – májcirrózisban az ANCA IgA antigénje(i) nem a klasszikus antigén(ek) (PR3 és MPO), és egyelőre nem is ismertek, azok szövetekben történő vizsgálata immunhisztokémiai vagy immunfluoreszcens módszerekkel nem lehetséges.

További kutatásainkban elsőként az ANCA IgA antigén(ek) azonosítását tervezzük, ANCA IgA pozitív betegek szérumból 2D elektroforézissel és Western-blott vizsgálattal PMN-lizátumon (I). Amennyiben sikerül az autoimmune májbetegségekhez hasonlóan egy vagy több adott ANCA antigént azonosítani, az antitestek jelenlétének vizsgálata lehetségessé válik a különféle kompartmentekhez tartozó szöveti mintákban. Az ANCA antigén(ek) azonosításával párhuzamosan *in vitro* vizsgálatokat is tervezünk azon hipotézisünk alátámasztására, mely szerint különböző bakteriális komponensek (TLR ligandok, mint LPS, FimH adhesin, bakteriális DNS CpG-ODN) a B-sejt proliferációra és differenciációjára kifejtett hatásuk révén képesek fokozott IgA, részben IgA típusú ANCA képződést indukálni májcirrózisban (II).

Tekintve, hogy munkacsoportunk egyik kiemelt érdeklődési területe a májcirrózisban észlelt fokozott IgA válasz kialakulásának és klinikai jelentőségének megértése, így jelenleg is aktív kutatómunka zajlik ezen a területen, a 2019-ben az European Foundation for Study of Chronic Liver Disease (EF-CLIF)-vel közösen elnyert H2020 pályázat támogatásával (*MICROBiome-based biomarkers to PREDICT decompensation of liver cirrhosis and treatment response* Project Number: 825694). Munkacsoportunk a pályázatban a bél barrier károsodás szerepének vizsgálatával foglalkozik a krónikus májbetegségekre rakódott akut májelégtelenség (ACLF) kialakulásában. A PREDICT tanulmány során májcirrózis akut dekompenzációjában szenvedő betegektől endoszkópos vizsgálatok révén nyert intesztinális szöveti mintákon (gyomor, vékony- és vastagbél, n=100) immunhisztokémiai és immunfluoreszcens módszerekkel

jellemezzük (1) a bélnyálhártya B sejt populációját. Igazolni tervezzük továbbá, (2) hogy a betegek bélnyálkahártyájában az IgA termelő plazmasejtek mennyisége felszaporodik. Jellemezzük a lokális IgA alosztály típusokat (IgA1 és IgA2 arány), illetve a J-lánc ezzel párhuzamos celluláris expresszióját, mely kulcsfontosságú a di- és polimer Ig képződésben. Vizsgáljuk továbbá a szekretoros komponens (SC, polimer Ig receptor) fokozott epiteliális expresszióját is.

Az irodalmi adatok és saját szerológia eredményeink tükrében kiemelten fontosnak tartjuk az immunoszuppresszív IgA+ B-sejtek vizsgálatát a szisztémás keringésben és ezzel párhuzamosan a különféle szöveti kompartmentekben (béltraktus, máj) is. A májcirrózis kórlefolyása során a szisztémás gyulladáshoz vezető válasz és az immundeficiencia dinamikus együttes jelenléte jellemző, mely cirrózis-asszociált immundiszfunkciós (CAID) szindrómaként ismert. A májelégtelenség súlyosbodásával a bakteriális transzlokáció proinflammatorikus immunválaszok kialakulásához vezet, ugyanakkor a folyamatos és növekvő bakteriális expozíció miatt az immunrendszer kimerül és az immundeficiens CAID fenotípus kerül előtérbe, melyet anti-inflammatorikus citokinek (mint pl. IL-10) termelésének és negatív regulátorok (mint pl. PD-L1) expressziójának növekedése kísér. Ezeknek a folyamatoknak egyik szereplője lehet a *Shalapour S. és mtsai* által vizsgált regulatórikus tulajdonságokat mutató B-sejt populáció. Humán és egérmodellben végzett vizsgálatainkban IgA termelő B-sejtek akkumulációját mutatták ki nem alkoholos zsírmájban (NASH), mely sejtek PD-L1-t és IL-10-t is expresszálnak, így közvetlenül gátolják a tumorelles citotoxikus T-sejtek működését és elősegítik a hepatocelluláris karcinóma (HCC) kialakulását. A jól ismert mikrobiális homeosztázist fenntartó intesztinális B-sejtektől elkülönült populációt képező, a krónikus májgyulladás során képződő immunoszuppresszív IgA+ B-sejtek eliminálásával vagy PD-L1 gátlással a daganatképződés csökkenthető (*Shalapour S és mtsai. Nature 2017;551:340-*). Egy másik tanulmányban, szepszisben szenvedő betegek perifériás vérében B-sejtek PD-L1+ expressziójának emelkedését mutatták ki (*Wilson et al. Critical Care 2018; 22:95*). Ezen irodalmi adatok alapján feltételezhetjük, hogy primer szklerotizáló kolangitiszes (PSC) és alkoholos májcirrózisos betegek esetén is kimutatható az immunoszuppresszív B-sejtek számának emelkedése a béltraktusban, a májszövetben és a szisztémás keringésben. Jelenlétük pedig egyrészt összefüggést mutathat kolangiocelluláris karcinóma (CCA) kialakulásával PSC-ben, másrészt pedig a HCC, valamint a szisztémás infekciók gyakoribb kialakulásával alkoholos májcirrózisban. Ez utóbbit támogathatja, az a megfigyelés miszerint a szepszis során is, hasonlóan a májcirrózisban észlelt CAID-hoz, az immunrendszer aktivációját immunoszuppresszió követi. A jövőben akár az immunoszuppresszív IgA+ B-sejtek eliminálásával vagy PD-L1 gátlással a daganatképződés és a szisztémás infekciók kialakulása csökkenthető lesz az immunrendszer homeosztázisának visszaállításával.

3. A jelölt munkája során felveti, hogy saját tanulmányukban „a szérum mannóz-kötő lektin asszociált szerin proteáz (MASP-2) szintek nem függték össze a bakteriális fertőzések kialakulásának gyakoriságával májcirrózisban. 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.” Hogyan tervezi a jelölt ennek a nyitott kérdésnek a megválaszolását?

Válasz:

A patogének eliminálásában részt vevő komplement rendszer lektin útvonal aktivációjának első lépése, hogy a MBL-asszociált szerin proteázokkal (MASP-1 és MASP-2) komplexet képző mannóz kötő lektin (MBL) kötődik a patogének felszínén található szénhidrátokhoz vagy

acetilált csoportokhoz (PAMP). Fiziológias körülmények között a MASP-1 aktiválja a MASP-2-t, ezt követően a C4 és C2 komplement komponensek hasításával létrejön a C3b konvertáz (C4bC2b). Az MBL-MASP-2 aktivitás mérését *Cedzynski M és mtsai.* által alkalmazott vizsgálat alapján tervezzük elvégezni (*Clin Exp Immunol.* 2004; 136: 304-311). A komplement rendszer lektin útvonal aktivitásának meghatározása során a C4b kikötődés képességét mérjük ELISA módszerrel. Mivel a komplement aktiváció kezdeti lépéseiben a klasszikus és lektin útvonal közös molekulákat használ (C4 és C2) fontos a klasszikus útvonal gátlása, ezért a szérum mintákat olyan pufferben szükséges hígítani (magas ionerősségű puffer), mely gátolja a C1 komplex kialakulását. Az így kezelt szérum mintákat a mikrotiter lemezek aljához előzetesen lekötött mannózhhoz adjuk, majd tisztított C4 komplement komponenst adunk az egyes mintákhoz. A kimutatáshoz használt elsődleges ellenanyag anti-humán C4 nyúl szérum, a szekunder ellenanyag pedig peroxidázzal konjugált nyúl specifikus Ig, szubsztrátként ABTS-t (2,2'-azino-bisz-[3-etilbenzotiazolin-6-szulfonsav]) használunk. A lemezek aljára kitapasztott mannózhhoz kötődött C4b komponens mennyisége korrelál a MBL-MASP-2 aktivitás szintjével.

4. A jelölt felveti, hogy primer szklerotizáló kolangitiszben az F-aktinnal szemben kialakuló fokozott IgA termelődés a szervezet részéről egyetemes válaszreakciónak tartható, amely nagy valószínűség szerint felfokozott veszély kapcsolt molekuláris mintázat (DAMP) jelenlétére utal. Ebben feltételezése szerint fontos szerepe van a bél barrier funkciója károsodásnak és a béltraktus felől fokozottan érkező kórokozó-asszociált molekuláris mintázatnak (PAMP). Milyen bizonyítékokkal rendelkezik erre vonatkozólag?

Válasz:

Feltételezésünkre egyelőre csak indirekt bizonyítékok vannak. Korábbi irodalmi adatok szerint a citoskeletális filamentózus (F) aktin ellen termelődő IgA típusú antitestek (AAA-IgA) jelenléte cöliákias betegeknél szoros összefüggést mutatott a bélnyálkahártya aktív szöveti károsodásának mértékével (igazolt totális vagy szubtotális boholyatrófia). Mindemellett az AAA-IgA jelenléte a glutén-mentes étrend (GFD) bevezetését követően, a nyálkahártya gyógyulással párhuzamosan megszűnt. Azon betegeknél, ahol a GFD ellenére is perzisztált a bélnyálkahártya sérülés, az AAA-IgA pozitívitás is megmaradt (*Schirru E. Biomed Res Int.* 2013;2013:630463; (Clemente MG, *Am J Gastroenterol.* 2004;99:1551-6). Ezen adatok támogatják az antitestképződés hátterében a bél barrier károsodás szerepét.

Ezen eredményekkel összhangban saját PSC kohorszunkban a bakteriális transzlokáció és az enterocita károsodás különféle szerológiai markereit az AAA szerológiai státusz szerint vizsgálva azt találtuk, hogy azon betegek esetén, akiknél AAA-IgA pozitívitás volt kimutatható szignifikánsan magasabb EndoCab IgA titert (medián [IQR]: 123 [93-215] vs. 58 [40-92] U, $p < 0,001$), gyakoribb anti-OMP Plus IgA antitest előfordulást (36,8% vs. 10,6%, $p = 0,012$), valamint szignifikánsan magasabb I-FABP szinteket mértünk (medián [IQR]: 365 [203-1079] vs. 166 [90-365] pg/mL, $p = 0,011$). A szérum LBP szintek azonban nem különböztek az AAA-IgA pozitív és negatív betegeknél. Az IgG izotípusú AAA esetén az antitestre pozitív és negatív betegek esetén nem találtunk különbséget a BT markerek és az enterocita károsodást jelző I-FABP szintjei között (**2. táblázat**).

2 . táblázat A bakteriális transzlokáció és az enterocita károsodás markereinek szérumszintje a különböző szerológiai antitestek jelenlétének függvényében

	Anti-F-Aktin IgA		<i>P-érték</i>
	Negatív (n=48)	Pozitív (n=19)	
Medián, IQR			
LBP (µg/L)	7132 (5150-9806)	7374 (4348-12100)	0,931
EndoCab IgA (U)	58 (40-92)	123 (93-215)	<0,001
OMP Plus IgA (U)	10,6% (5)	36,8% (7)	0,012
I-FABP (pg/mL)	166 (90-365)	365 (203-1079)	0,011

LBP: lipopoliszacharid [LPS]-kötő fehérje, EndoCab: endotoxin core antitest, I-FABP: intesztinális zsírsav-kötő fehérje, IQR: interkvartilis tartomány

Összefoglalva tehát tanulmányunkban, az AAA-IgA pozitivitást mutató betegek fokozott nyálkahártya immunválaszt mutattak a különféle mikrobiális antigénekre. Az immunválasz feltehetőleg a bélnyálkahártyára korlátozódik, anélkül, hogy szisztémás reakcióhoz vezetne, hiszen a szérumszint LBP koncentráció, mely a szisztémás LPS expozíció szerológiai jelzője, nem különbözött az AAA-IgA pozitív és negatív esetekben. 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 (*Eaton JE. Gastroenterology. 2013;145:521-36; Guo S. Am J Pathol. 2013;182:375-87.*). Ezt támogató adatként megfigyeltük, hogy az I-FABP szérumszintje szignifikánsan magasabbnak adódott az AAA-IgA pozitív betegek csoportjában az antitestre nézve negatív esetekhez képest. Az I-FABP az enterocita károsodás markere. Az enterociták termelik és a gyulladásos folyamatok során, amennyiben az sejtkárosodással jár, az I-FABP a sejtekből kikerülve a szisztémás keringésbe jut (*Kocsis D. Orv Hetil. 2016;157:59-64.*).

5. A jelölt munkájának igen nagy értéke klinikailag is hasznosítható markerek felfedezése, azonosítása. Ugyanakkor, különösen a primer szklerotizáló kolangitisz esetén a betegségre ritka előfordulása miatt az alkalmazott esetszámok viszonylag alacsonyak, s döntő többségükben egy vizsgálati centrumból származnak. Ennek kapcsán felmerül, hogy saját vizsgálatainak milyen mértékűek a korlátai? Tervezi-e multicentrikus regiszterek kialakítását, illetve multicentrikus, randomizált klinikai vizsgálatok véghezvitelét a kapott eredmények megerősítésére?

Válasz:

A primer szklerotizáló kolangitiszrel kapcsolatos munkánk publikálása során a *J Hepatology*-ból visszakapott review során a *Bírálóhoz* nagyon hasonló módon az akkori *Bíráló #1* rámutatott a munka korlátaira.

„Bíráló #1: jól kivitelezett monocentrikus kohorsz vizsgálta. Megjegyzéseim: 1. A publikálás nehézségét az adja, hogy a talált eredményeket nem validálták egy független kohorszban. 2. Az eredmények meggyőzők és érthetően lettek prezentálva, azonban diagnosztikai/prognosztikai

markereket vizsgáló kéziratokból nem hiányozhatnak a replikációs/validációs adatok sem, különben fennáll az irodalomban a fals pozitív eredmények megjelenésének kockázata. Noha a validálás kétségtelenül kihívást jelenthet olyan ritka betegségekben, mint a PSC, ez továbbra is elengedhetetlen ahhoz, hogy valóban helytálló megfigyelések kerüljenek leközlésre.

Saját klinikai eredményeink externális validálásának és így eredményeink helytállóságának igazolása tulajdonképpen megtörtént. Egy német munkacsoport a saját megfigyeléseinkkel egyidőben hasonló eredményeket közölt PSC-ben. *Jendrek ST és mtsai. (Gut. 2017;66:137-144.)* vizsgálatuk során az IgA izotípusú anti-GP2 antitest meghatározásra ugyanazt a sejt alapú indirekt immunfluoreszcens vizsgálati teszt rendszert alkalmazták, és a detektálási pozitív küszöbérték is azonos volt a miénkkel. Ugyanakkor jóval nagyobb beteganyagot teszt kohorsz (norvég, n=138) és validációs kohorsz (német, n=180) felhasználásával tudták vizsgálni az anti-GP2 IgA antitest prediktív értékét a progresszív betegséglefolyás előrejelzésében PSC betegekben. Saját eredményeinkkel összhangban ők is arról számoltak be, hogy PSC-ben az anti-GP2 IgA antitest jelenléte egyértelműen összefüggött a súlyosabb betegségforma jelenlétével, illetőleg a prospektív követési időszakban a gyorsabb betegség progresszióval és magasabb halálozással (norvég/német kohorsz: *pLog Rank=0.016/0.018*).

Saját adataink alapján a PSC-ben történő megfelelő klinikai vizsgálatok (obszervációs vagy intervenciós) tervezésének feltételeivel kapcsolatos kalkuláció volt a multicentrikus regiszter létrehozásának kiinduló gondolata (amelyről majd a *Bíráló* kérdésének megfelelően az alábbiakban be is számolunk). Kb. 2500 betegévet kellene vizsgálnunk ahhoz, hogy biztosan helytálló eredményeket kapjunk. Ezzel szemben saját PSC-vel kapcsolatos tanulmányainkban a medián követési idő: 7,2 (0,8-8,5) év volt, mely mindössze 363 betegévnél felelt meg. A jövőbeni vizsgálat tervezéséhez a statisztikai erőelemzés az alábbiakban foglalható össze.

Esemény ráta	3-4%
Esély hányados	0,5
Placebo – aktív ágens	1-2
Cenzorált ráta	0,1
Béta hiba	0,2
Alfa hiba	0,05

A multinacionális és multicentrikus vizsgálatok szolgáltatják a legértékesebb kutatási eredményeket, saját esetünk azonban azt is jól példázza, hogy egy egycentrumos vizsgálat elérése publikációs eredmény átlagos impakt faktora < 5, míg a multicentrikus vizsgálatokkal ez átlagosan 19 (*Tornai T/ Papp M. Sci Rep. 2018;8:399. IF: 4.011 vs. Jendrek ST. Gut. 2017;66:137-144.; IF: 17.016*).

A Debreceni Egyetem Belgyógyászati Intézetének Gasztroenterológiai Tanszéke 2019 márciusa óta az Európai Referencia Hálózat (ERN) Ritka Májbetegségekkel foglalkozó Tagozatának (ERN Rare-Liver) akkreditált centruma (Nemzeti Társult Centrum jog; a teljes jogú tagsági pályázat elbírálása jelenleg folyamatban van). ERN tagként lehetőségünk volt 2019 szeptemberében csatlakozni a hálózat hivatalos prospektív, nemzetközi, multicentrikus regiszterhez (*ERN R-Liver Registry*, UKE, Hamburg), mely a különféle autoimmun betegséggel újonnan diagnosztizált betegek diagnóziskori adatainak összegyűjtését és hosszú távú követését tűzte ki célul. Ezidáig saját centrumunkból 50 beteg klinikai adatai kerültek feltöltésre. A programhoz centrumunkon keresztül a PTE I. sz. Belgyógyászati Klinikája és a SOTE I. és II. sz. Belgyógyászati Klinika csatlakoztak. További két centrum csatlakozásának ETT-TUKEB engedélyeztetése folyamatban van (Fejér Megyei Szent György Egyetemi Oktató Kórház, I.

Belgyógyászat és Dr. Réthy Pál Kórház-Rendelőintézet Békéscsaba, III. Belgyógyászat - Gasztroenterológia – Hepatológia). Az *ERN R-Liver Regiszter*hez való csatlakozás jelentőségét abban látjuk, hogy Magyarországról jelentős számú újonnan diagnosztizált autoimmun májbetegről tudunk adatot szolgáltatni és így lehetővé válik a magyar betegeknek az észak- és nyugat-európai betegek adataival való összehasonlítása. Másrészt jelentős segítség lehet a nemzetközi kutatói kapcsolatok megerősödésében, illetőleg a későbbiekben H2020 pályázatokban való részvételben. Magyarországtól az *ERN R-Liver Regiszter*hez való csatlakozás az autoimmun májbeteg regiszterekhez történő első nemzetközi kapcsolódás. A különféle nemzetközi regiszterekben (mint pl. International PSC Study Group, IPSCSG, The Global PBC Study Group és International AIH Study Group, IAIHG) ugyanis korábban aktivitás térségünkben nem volt.

A közép-kelet európai régióból az ERN Rare-Liver Konzorciumnak a Debreceni Egyetem mellett mindössze egy lengyel centrum a tagja. Az akkreditációs folyamatot az Európai Unió a 2019-es évben előzetes információk alapján valószínűleg lezárja, azaz a későbbiekben új centrumok csatlakozására nem lesz lehetőség. Ezek alapján a közép-kelet európai régióban történő átfogó adatgyűjtés az *ERN R-Liver Regiszter*ben nem lehetséges. Emiatt az idei évben a Pécsi Tudományegyetem Transzlációs Medicina Intézetével (PTE TMI) együttműködve létrehoztuk az Autoimmun MájBETegségek Regiszter (*AMBER*)-t. Az regiszter megalapítása a magyar és a közép-kelet európai régió autoimmun májbetegségekkel kapcsolatos kutatásaiban mérföldkő lehet. Az *AMBER* az autoimmun májbetegségek epidemiológiáját, a progressziót befolyásoló tényezőit és a különböző gyógyszeres kezelések hatékonyságát fogja vizsgálni. Az R-Liver Regisztertől eltérően az újonnan diagnosztizált betegek mellett, az elmúlt 15 év magyar beteganyagának rögzítését is tervezzük (kombinált retrospektív/ prospektív regiszter). Ez a vizsgálati módszer lehetőséget ad – az új és korábban diagnosztizált esetek összehasonlító elemzésével – annak felmérésére is, hogy az elmúlt évtizedekben, az autoimmun májbetegségekkel kapcsolatosan milyen változások következtek be. Ilyen adatok egyelőre nem állnak rendelkezésre sem Magyarországon, sem pedig a közép-kelet európai régió vonatkozásában. A regiszterhez kapcsolódóan biobank létrehozását is tervezzük. Az *AMBER* egyik fontos célkitűzése, hogy elősegítse a magyar hepatológiai centrumok közötti kollaboráció erősödését és egy magas szintű, közös nemzeti kutató munka vehesse kezdetét az autoimmun májbetegségek területén. Reményeink szerint az *AMBER*-hez kapcsolódó tudományos aktivitás a jövőben segíthet felszámolni azt a „tudományos vasfüggőnyt”, mely az autoimmun májbetegségekkel kapcsolatos kutatások területén továbbra is létezik. Előzetes PubMed felméréseink eredményei alapján az elmúlt 25 évben (1993-2018) a tudományos közleményeknek kevesebb mint 2%-a származik ebből a régióból, és gyakorlatilag csak szórványosan vannak multinacionális és multicenterikus tanulmányok, amelyek a legmagasabb szintű tudományos evidenciákat tudják biztosítani.

Ezen regiszterek segítségével a primér szklerotizáló kolangitiszben megkezdett biomarker kutatásainkat multicentrikus nagy esetszámú vizsgálatokban folytathatjuk. Randomizált klinikai kutatást azonban egyelőre nem tervezünk.

A MICROB-PREDICT (*MICROBiome-based biomarkers to PREDICT decompensation of liver cirrhosis and treatment response* Project Number: 825694) H2020 kutatási és innovációs program keretében centrumunk részt fog venni a 2022 júniusában induló, 7 európai ország 8 centrumának részvételével zajló Alb-Trial nevű multicentrikus, randomizált, kettős vak, placebo kontrollált klinikai vizsgálatban. Ismert, hogy a dekompenzált májcirrózisban szenvedő betegek a humán albumin pótlásra adott terápiás válasz alapján két csoportba oszthatóak. A betegek egy részében hatékony a kezelés, míg másokban nem kielégítő a terápiás válasz. A vizsgálat célja a dekompenzált májbetegségben alkalmazott humán albumin terápiás hatékonyságának előrejelzése biomarkerek segítségével, és így az egyénre szabott orvosi

kezelés megvalósítása. Ez pedig remélhetőleg javítani fogja a jelenleg magas halálozású betegség kimenetelét. Kutatócsoportunk a biomarker azonosításnak és validálásnak is aktív résztvevője a programban, a bél barrier károsodás markereinek vizsgálatával foglalkozik.

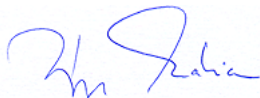
6. A jelölt májcirrózishoz és primer szklerotizáló kolangitiszhez kapcsolódó vizsgálataihoz kapcsolódóan végeztek-e metaanalízis vizsgálatokat a bakteriális fertőzések bekövetkeztének kockázati tényezői tekintetében, illetve terveznek-e ilyen kutatásokat eddigi megfigyeléseik megerősítésére?

Válasz:

Májcirrózisban a bakteriális fertőzések klinikai kockázati tényezőivel kapcsolatosan már végeztünk (diabetes mellitus) és tervezünk további (malnutrició) meta-analízist is. A rendelkezésre álló klinikai tanulmányok alapján májcirrózisban az egyidejűleg fennálló diabetes mellitus összefüggésben áll a májcirrózis súlyosabb lefolyásával és a kedvezőtlen betegség kimenetellel, többek között a bakteriális fertőzések gyakoribb kialakulásával. Ugyanakkor a tanulmányok eredményei nem egybehangzóak, meta-analízist pedig ebben a témában még nem végeztek. Meta-analízisünk 26 közlemény felhasználásával készült, és a következő adatok kerültek szisztematikus kigyűjtésre: demográfiai adatok, májcirrózis etiológia, dekompenzációs események (ascites, hepatikus encephalopathia, varixvérzés), bakteriális infekció (különös tekintettel a spontán bakteriális peritonitisz [SBP] kialakulására), HCC, mortalitás (máj eredetű és nem-máj eredetű halálozás), valamint a betegség súlyosságát jelző Child-Pugh pontszám. A betegség progressziót (dekompenzációs esemény kialakulása, HCC, halálozás) vizsgáltuk annak függvényében, hogy társbetegségként fennáll-e diabetes mellitus vagy sem. Azt találtuk, hogy az SBP, varixvérzés és hepatikus encephalopathia kialakulása, valamint a halálozás szignifikánsan gyakoribb volt azokban a betegekben, akik a májcirrózis mellett diabetes mellitusban is szenvedtek. Eredményeinket publikálása folyamatban van.

A különféle klinikai tényezők, köztük a diabetes mellitus és a malnutrició jelentőségét a bakteriális fertőzések kialakulásában prospektív multicentrikus regiszter adatbázisunkban (Dekompenzált májcirrózis regiszter [DELIVER-IT: DEcompensated LIVER (Cirrhosis) Research and IT system]) tervezzük tovább vizsgálni. A regiszterhez biobank is kapcsolódik, mely lehetővé teszi a korábban azonosított biomarkereink mellett új biomarkerek azonosítását is. Ezáltal remélhetőleg lehetőségünk lesz olyan kockázatbecslő matrix modell kidolgozására, mely alkalmas lesz a mindennapi gyakorlatban való használatra az infekciók kialakulásának szempontjából legveszélyeztetettebb betegek megtalálásához és a bakteriális infekciók fennállásnak hatékonyabb azonosításához.

Még egyszer szeretném megköszönni Professzor Úr részletes értékelését és az MTA Doktori értekezés pozitív bírálatát.



Dr. Papp Mária
egyetemi docens

Debrecen, 2019. november 08.