

**Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei**

**A BAKTERIÁLIS INFEKCIÓK DIAGNOSZTIKÁJÁNAK ÉS A KÓRLEFOLYÁS  
ELŐREJELZÉSÉNEK VIZSGÁLATA MÁJCIRRHOSISOS BETEGEKBEN**

**Dr. Tornai Tamás**

**Témavezető: Dr. Papp Mária**



**DEBRECENI EGYETEM  
LAKI KÁLMÁN DOKTORI ISKOLA  
DEBRECEN, 2017**

## **A bakteriális infekciók diagnosztikájának és a kórlefolyás előjelezésének vizsgálata májcirrhotikus betegekben**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében a klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Tornai Tamás okleveles általános orvos

Készült a Debreceni Egyetem Laki Kálmán doktori iskolája (Trombózis, hemosztázis és vaszkuláris biológia programja) keretében

Témavezető: Dr. Papp Mária, PhD

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Muszbek László, akadémikus  
tagok: Prof. Dr. Sipka Sándor, az MTA doktora  
Dr. Gervain Judit, PhD

A doktori szigorlat időpontja:

Debreceni Egyetem ÁOK, Laboratóriumi Medicina Intézet, Klinikai Laboratóriumi Kutató Tanszék, Könyvtár  
2017.május 19. 11:00

Az értekezés bírálói:

Dr. Harangi Mariann, PhD  
Dr. Lengyel Gabriella, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Muszbek László, akadémikus  
tagok: Prof. Dr. Sipka Sándor, az MTA doktora  
Dr. Gervain Judit, PhD  
Dr. Harangi Mariann, PhD  
Dr. Lengyel Gabriella, PhD

Az értekezés védésének időpontja:

Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet, „A” épület tanterme  
2017. május 19. 13:00

## BEVEZETÉS

Magyarországon a májcirrhosis kialakulásának háttérében leggyakrabban a túlzott mértékű alkoholfogyasztás, a vírusos eredetű krónikus májgyulladás, illetve az elhízás áll. Kevésbé gyakran azonosítunk a háttérben autoimmun folyamatokat, anyagcsere betegséget, vagy más ritka kórképet. Ez a betegség napjainkban a hatodik vezető halálok hazánkban. Bár a vírushepatitiszek gyógyítása területén elért sikereknek köszönhetően a májbetegségekkel összefüggő halálozás abszolút értéke csökkenést mutat, az alkoholfogyasztás és az elhízás gyakoribbá válása miatt az várható, hogy az eddigi csökkenő májspecifikus halálozási trend megáll, vagy esetleg meg is fordul. A krónikus májbetegség kezdeti, szövődménymentes formája az esetek többségében tünetmentes, így a betegek leggyakrabban már az előrehaladott betegség valamilyen szövődményével (tápcsatornai vérzés, tudatzavar, hasvíz termelődés, sárgaság, májrák) kerülnek az egészségügyi ellátórendszerbe, és ilyenkor születik meg a diagnózis.

A krónikus májbetegség tehát általában nem egy stabil állapot, hanem egy dinamikus folyamat egyik állomása és a betegség progressziója során egymást követő stádiumokon keresztül jut a kompenzált cirrhosis, majd a dekompenzált cirrhosis állomásaival a végstádiumú májelégtelenség állapotába, mely májtranszplantáció nélkül a beteg halálához vezet. A krónikus rosszabbodás folyamata során, annak bármelyik klinikai stádiumában kialakulhat napok vagy hetek alatt bekövetkező hirtelen állapotromlás. Ekkor beszélünk akut dekompenzációról (AD), mely kórházi felvételt tesz szükségessé. A betegek egy jelentős részében az állapotromlás során krónikus májelégtelenségük tovább romlik és ehhez társultan egy, vagy akár több extrahepatikus szerv működése is elégtelenné válhat, melynek kialakulása esetén a rövid-távú halálozás meghaladja az 50%-ot. Ez a klinikai jelenség a krónikus májbetegségekre rakódott akut májelégtelenség (*acute-on-chronic liver failure*, [ACLF]) néven vált ismertté a nemzetközi irodalomban. A heveny rosszabbodás háttérében számos kiváltó tényező állhat, leggyakrabban ezek közül bakteriális fertőzéssel kell számolnunk. A bakteriális fertőzéseknek tehát kiemelt jelentősége van a kórházi felvételt igénylő májcirrhosisos betegek akut állapotromlásában, ráadásul a halálozás négyszeres emelkedésével is járhat, függetlenül a májbetegség súlyosságától.

Mindezek miatt a bakteriális fertőzések felismerése májzsugoros betegeinkben kiemelt jelentőséggel bír. Az infekciók diagnosztikája sokszor jelent kihívást klinikai és laboratóriumi szempontból egyaránt. Cirrhosisos betegeinkben a bakteriális fertőzések

akár az esetek 50%-ában nem a szokásos klinikai képüket mutatják, aspecifikus tünetek jelentkezhetnek, és sokszor csak a szervégtelenség(ek) kialakulása hívja fel rájuk a figyelmet. A betegek gyakran nem-szelektív bétablokkolót szednek, esetleg hiperdinám keringésük van, a csökkent szisztémás vaszkuláris rezisztencia miatt alacsonyabb a vérnyomásuk, illetve jóval ritkább a láz kialakulása. Ezek miatt a szisztémás gyulladós válaszreakció (systemic inflammatory response syndrome, [SIRS]) és a szepszis diagnosztikájának felállítása is nehézségekbe ütközik.

Jelenleg a C-reaktív protein (CRP) és a procalcitonin (PCT) a legszélesebb körben használt laboratóriumi paraméterek a bakteriális fertőzések korai felismerésében. Májcirrhosisban azonban ezek a klasszikus markerek több ok miatt is máshogy viselkednek a nem cirrhosisos betegpopulációhoz képest. Először is, ha a molekula fő forrása a máj, mint a CRP esetében, akkor annak képződését befolyásolja a májelégtelenség és annak súlyossága. Emiatt a májban képződő akut fázis fehérjék (APP) diagnosztikus pontossága előrehaladott cirrhosisban csökken. Emellett a markerek emelkedésének mértéke nem tükrözi a fertőzés súlyosságát, hiszen minél súlyosabb a májelégtelenség, annál kevésbé tud megemelkedni a CRP infekció esetén. Másrészt bizonyos molekulák kiválasztását a vesefunkció befolyásolhatja. Az akut vesekárosodás gyakori cirrhosisos betegekben, különösen bakteriális fertőzések esetén. Míg a CRP molekulásúlya nagy (115 kDa) és a vesén keresztül gyakorlatilag nem választódik ki, addig a PCT molekulásúlya alig 13 kDa és a kiürülés döntően renális útvonalon zajlik. Végül pedig, a bakteriális transzlokáció (BT) által fenntartott gyulladós állapot infekció nélkül is elegendő lehet ahhoz, hogy a gyulladós markerek szintje megemelkedjen.

A CRP és a PCT esetén az optimális küszöb értékére vonatkozóan, mellyel azonosítani lehetne a bakteriális fertőzéseket májcirrhosisban nem egységesek az adatok. Valószínűleg nem is lenne helyénvaló ugyanazt a küszöbértéket használni a diagnosztika felállításához, illetve a fertőzéses epizódok súlyosságának megítéléséhez. A fenti célok optimálisabb meghatározásához májcirrhosisban további biomarkerekre van szükség.

## **IRODALMI ÁTTEKINTÉS**

A presepsin egy 13 kDa súlyú, a CD14 receptor hasadásával keletkező molekula, mely a keringésben úgy is felfogható, mint a patogének által aktivált monociták/makrofágok

jele. Számos új klinikai tanulmány igazolta, hogy a presepsin egy specifikus és érzékeny új marker a szeepszis diagnosztikájában, a szeepszis súlyosságának megítélésében és kimenetelének előrevetítésében. Egyelőre nem tisztázott, hogy a presepsin mennyiben képes hozzájárulni a cirrhisishoz társuló bakteriális fertőzések diagnózisához és a kórlefolyás előrejelzéséhez.

A jelenleg használt CRP és egyéb APP-k elsősorban a pro-inflammatórikus folyamatokat reprezentálják. Ugyanakkor ismert, hogy párhuzamosan a pro-inflammatórikus folyamatokkal szinte kivétel nélkül anti-inflammatórikus folyamatok is működnek, melyek szabályozzák az inflammáció mértékét, illetve az általa kiváltott szövetkárosodás eltakarításához vezetnek. A szisztémás gyulladással válaszreakció (SIRS) mellett jelentkező folyamatokat kompenzatórikus anti-inflammatórikus válaszreakciónak nevezik (CARS). Túlzott CARS esetén a betegek pro-inflammatórikus válasza elégtelenné válik és ezáltal csökkenhet a bakteriális fertőzések eliminálásának képessége. A CARS mértéke tehát szerepet játszhat az AD és az ACLF prognózisában.

A máj szöveti makrofágjai, a Kupffer-sejtek központi módon szabályozzák a pros és az anti-inflammatórikus reakciót. A gyulladással folyamat során a hemoglobin-haptoglobin scavenger receptor (CD163) lehasad a makrofágok felszínéről, és oldható formája a szolúbilis CD163 (sCD163) mérhetővé válik a keringésben. A CD163 a máj M2-típusú makrofágjainak (anti-inflammatórikus, pro-reszolúciós) felszínén expresszálódik lokális mikrokörnyezeti és anti-inflammatórikus faktorok (pl. interleukin [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 májcirrhiszban az AD és az ACLF patogenezisében is.

Nem cirrhiszban betegekben korábban már beszámoltak arról, hogy bakteriális fertőzések során emelkedett a szérum sCD163 szint mérhető és ez összefüggést mutatott a magasabb halálozással is. Ismert az is, hogy cirrhiszban a magas sCD163 szérum szintért egyértelműen a máj makrofágjai felelősek. Nincs azonban adat arra nézve, hogy a sCD163 szérumszintje által jelzett makrofág aktiváció milyen jelentőséggel bír májcirrhiszban bakteriális fertőzés esetén.

## CÉLKITŰZÉSEK

Célul tűztük ki, hogy egy nagyszámú, prospektíven követett májcirrhosisos beteganyagot vizsgálva meghatározzuk, hogy a

1. presepsin mint akut fázis fehérje:
  - 1.1 alkalmazható-e a bakteriális fertőzések diagnózisában a rutinszerűen használt akut fázis fehérjékkel (C-reaktív protein, procalcitonin) összehasonlítva.
  - 1.2 mentes-e a hagyományos akut fázis fehérjék cirrhosisban tapasztalt korlátjaitól.
  - 1.3 használható-e prognosztikus biomarkerként bakteriális fertőzéssel járó akut dekompenzáció során.
2. szolúbilis CD163, mint anti-inflammatórikus biomarker
  - 2.1 használható-e prognosztikus biomarkerként a májcirrhosis akut dekompenzációja során.

## BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

### *Betegpopuláció*

A Debreceni Egyetem Belgyógyászati Intézetének Gasztroenterológiai Tanszékén 2006. május 1-e óta zajlik prospektív módon a májcirrhotikus betegek klinikai adatainak és biológiai mintáinak gyűjtése. A betegek beválasztása a gasztroenterológiai vagy hepatológiai járóbeteg rendelésen történt, illetve a fekvő osztályon AD miatti hospitalizáció esetén.

Jelen vizsgálatokhoz a 2006.05.01 és 2011.04.30 között beválogatott betegek klinikai adatait és biológiai mintáit (szérum, plazma) használtuk fel. A májcirrhosis diagnózisának felállítása klinikai, biokémiai és képalkotó vizsgálatok, illetve adott esetekben szövettani lelet alapján történt. A betegek részletes klinikai adatainak összegyűjtése a vizsgálatban való beválasztáskor történt meg. Az ekkor elvégzett rutin laborvizsgálatokkal egyidőben történt meg a szérum- és plazmaminták gyűjtése is. A klinikai paramétereket a betegek dokumentációjának alapos átnézése után előre meghatározott kérdéssor segítségével rögzítettük. A beválasztáskor a májbetegség súlyosságát a Child-Pugh osztályozás és a MELD pontrendszer alapján határoztuk meg. AD esetén rögzítettük annak típusát, mely a következők közül egy vagy több lehetett egyidejűleg: hirtelen felszaporodó ascites, gasztrointesztinális vérzés, hepatikus encefalopátia és bakteriális fertőzés. A bakteriális fertőzések diagnosztikája körültekintően történt minden esetben a megfelelő klinikai tünetek, laboratóriumi paraméterek, a vizelet üledék-, és képalkotó vizsgálatok, valamint ascites esetében diagnosztikus punkció elvégzésével.

A következő bakteriális fertőzéseket diagnosztizáltuk: (1) Spontán bakteriális peritonitis: ascites neutrofil sejt-szám:  $>250/\text{mm}^3$  és/vagy pozitív eredményű ascites tenyésztés, másodlagos abdominális fertőzésforrás hiányában. (2) Húgyúti fertőzés: dysuriás panaszok, pyuria, (vizelet fehérvérsejtszám:  $>10/\text{mm}^3$ ) és/vagy pozitív vizelettenyésztési lelet. (3) Tüdőgyulladás: köhögés, pozitív mellkas röntgen vizsgálat, pozitív köpettenyésztés esetén. (4) Vegyes: bőr- és lágyrész fertőzések, epeúti fertőzések, osteomyelitis, endocarditis. (5) Ismeretlen eredetű bakteriális fertőzés: fertőzéses tünetek, haemokultúrával igazolt bacteraemia mellett sem egyértelműen azonosítható szervspecifikus góc. A szervelégtelenségek meghatározása a vonatkozó szakmai irányelveknek megfelelően történt.

**Kontroll csoport:** A kontroll csoportot 150 kor és nem szerint egyeztetett egészséges véradó alkotta (férfi/nő: 72/78, kor: 51,5±16,9 év).

### ***Kimenetel***

A betegek rövid távú halálózását 28 napnál határoztuk meg, tekintettel arra, hogy az ezt követő halálozás a legtöbb esetben már egy ismételt klinikai felvételhez, vagy más eseményhez köthető.

### ***A presepsin, a sCD163 és egyéb laborparaméterek mérése***

A bevásárláskor a rutin laboratóriumi paramétereket (májenzimek, májfunkciós tesztek, vesefunkció, vérkép, CRP és PCT szint) közvetlenül a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében kerültek meghatározásra. Az ezzel egyidőben vett natív és citráttal alvadásgátolt mintákat azonnal lecentrifugáltuk (3000G, 10 perc) és a plazmát illetve a szérumot felhasználásig -70 °C-on tároltuk a további szerológiai vizsgálatokig.

A presepsin meghatározása PATHFAST® presepsin analízátor (Mitsubishi Chemical Medience Corporation, Tokió, Japán) segítségével történt vérplazmából. A módszer alapja kemilumineszcens enzim immunoassay; a detektálási küszöbérték 20 pg/mL volt.

A sCD163 meghatározása ELISA módszer segítségével történt (IQProducts, Groningen, Hollandia), a gyártó instrukcióinak megfelelően, a detekciós küszöbérték 0,23ng/mL volt. A mintákat duplikátumok formájában mértük le ugyanazon a lemezen, a variációs koefficiens 8% volt, ezt követően a minták átlagát használtuk.

A szerológiai vizsgálatok a klinikai adatok ismerete nélkül történtek a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében.

### ***Etikai engedélyek***

A Debreceni Egyetem regionális és intézményi kutatásetikai bizottsága és a Nemzeti Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (DEOEC RKEB/IKEB 5306-9/ 2011, 3885/2012/EKU [60/PI/2012]) jóváhagyta a vizsgálati protokollokat. Minden beteg, vagy törvényes képviselője felvilágosítást kapott a vizsgálat természetéről és a vizsgálatban való részvételhez írásos beleegyező nyilatkozat aláírásával járultak hozzá.

### **Statistikai módszerek**

A folyamatos változók eloszlását Shapiro-Wilk W-teszt segítségével vizsgáltuk. Az adatok bemutatása medián (25-75 percentilis tartomány), átlag  $\pm$  szórás illetve esetszám (%) formában történt. Csoportok összehasonlításához  $\chi^2$ -próbát, Fisher féle tesztet, Mann-Whitney U- és Kruskal Wallis H-tesztet használtuk a csoportok elemszámától és a változók tulajdonságaitól függően. A folyamatos változók közötti összefüggés megállapításához Spearman korrelációt használtunk, diszkriminációs képességüket ROC analízissel végeztük, valamint Youden módszerre szerint határoztuk meg a csoportokat legnagyobb hatékonysággal elválasztó küszöbértéket. Szenzitivitást, specificitást, pozitív prediktív értéket (PPV) és negatív prediktív értéket (NPV) is számoltunk. A ROC görbék összehasonlítása DeLong módszere szerint történt. A túlélés becsléséhez Kaplan-Meier módszert használtunk, az összehasonlítást log-rank teszttel végeztük. A folyamatos és kategorikus változóknak a halálozás idejére gyakorolt hatásának megállapításához Cox-regressziót használtunk backward eliminációs stratégiával. Amennyiben a rövidtávú halálozást bináris változóként értelmeztük, úgy logisztikus regressziót használtuk. A regressziós számításokhoz a folyamatos változókat logaritmikusan transzformáltuk. Az összefüggéseket Cox-regresszió esetében kockázati hányadosként (hazard ratio, [HR]), logisztikus regresszió esetében esélyhányadosként (odds ratio, [OR]) adtuk meg a 95%-os megbízhatósági tartomány (confidence interval, [CI]) megjelölésével. A statisztikai elemzésekhez az SPSS Statistics (V.22, IBM, Armonk, NY, USA) és SAS (V9.1 SAS Institute Inc. Cary, NC, USA), az adatok ábrázolásához a Prism 5 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) programokat használtuk statisztikus ellenőrzése mellett (Karányi Zsolt).

## EREDMÉNYEK

### ***Vizsgált betegcsoport – Presepsin***

Ebbe a vizsgálatba összesen 216 beteget tudtunk bevonni. Betegeink átlagéletkora 58,1 év volt, 118 volt közülük férfi. A Child-Pugh és MELD pontszámok mediánja 8 (interquartilis tartomány [IQR]: 6-10), illetve 14 (IQR: 10-17) volt. A cirrhosis többségében alkoholos (n=159, 73,6%) és vírusos (n=46, 21,3%) eredetű volt, 7 esetben (3,2%) állt a háttérben autoimmun májbetegség és 4 esetben egyéb ritka, krónikus májbetegség. 117 (54,2%) derült fény extrahepatikus társbetegsége. Veseelégtelenség 33 esetben (15,3%) fordult elő; a kreatinin küszöbértéke  $\geq 133 \mu\text{mol/L}$  volt. A bevonáskor 15 betegnek (6,9%) volt már kifejlődött hepatocelluláris karcinómája. Összesen 101 esetben (46,8%) AD miatti hospitalizációra volt szükség, közülük 27 betegnek (26,7%) volt legalább egy szervi elégtelensége.

Dokumentált bakteriális fertőzés 75 betegnél került felfedezésre, akik közül 9-nél többgócú fertőzés igazolódott. Leggyakrabban húgyúti fertőzés (n=25), spontán bakteriális peritonitis (n=20), és tüdőgyulladás (n=18) fordultak elő. Az infekatív és non-infekatív betegcsoportok nem különböztek a nem, kor és a társbetegségek tekintetében. Fertőzés esetén gyakoribb volt a szervelektelenségek előfordulása (37,5% vs. 8,1%,  $p=0,001$ ), melynek többségét veseelégtelenség jelentette (29,3% vs. 7,8%,  $p<0,001$ ).

### ***A presepsin-szint és a bakteriális fertőzések összefüggése***

A presepsin értéke a teljes beteg kohorszban 142 és 5950 pg/mL közötti értéket vett fel (medián [IQR]: 576 pg/mL [376–972]), és szignifikánsan magasabbnak bizonyult azokban a betegekben, akiknek bakteriális fertőzése volt (1002 pg/mL [575-2149] vs. 477 [332-680] pg/mL,  $p<0,001$ ). Ez a különbség megfigyelhető volt a betegség Child-Pugh szerinti súlyossága, vagy az ascites jelenléte szerinti alcsoportokban is. Veseelégtelen betegekben számszerűen szintén magasabb volt a presepsin szint bakteriális fertőzés esetén, azonban ez nem érte el a statisztikailag szignifikáns mértéket (2162 [1311-2813] vs. 1011 [667-228],  $p=0,082$ ). Ezekon felül megállapítottuk, hogy a presepsin szint bakteriális fertőzés hiányában is egyre magasabb értéket mutat az előrehaladott betegség stádiumoknak megfelelően (Child-Pugh stádiumok, vagy ascites jelenléte), illetve veseelégtelenség társulásakor is ( $p<0,001$  mindhárom esetben).

A presepsin szintje pozitívan korrelált a klasszikus gyulladási markerekkel

( $Rho_{CRP}$ : +0,63,  $Rho_{PCT}$ : +0,53,  $Rho_{\text{fehérvérsejt}}$ : +0,27), illetve a májspecifikus tesztekkel ( $Rho_{CPs}$ :+0,42,  $Rho_{MELD}$ : +0,45) is.

A presepsin szintje nem különbözött a fertőzés helye és a baktériumok Gram-specificitása szerint (Gram-negatív: 1240 [871-1884] vs. Gram-pozitív: 852 [661-2467],  $p=0,76$ ). 24 betegnél (32%) a fertőzést legalább egy szerv elégtelensége kísérte. A presepsin-szint szignifikánsan magasabb volt a súlyos fertőzésekben, azaz társuló szervelégtelenség esetén, mint annak hiányában (2358 pg/mL [1398-3666] vs. 710 pg/mL [533-1277],  $p<0,001$ ).

### ***A presepsin-szint diagnosztikus értéke bakteriális fertőzés esetén***

Annak érdekében, hogy megállapítsuk a presepsin diagnosztikus pontosságát a bakteriális fertőzések elkülönítésében, ROC analízist végeztünk, és összehasonlítottuk a CRP-vel, valamint a PCT-vel. Összességében a presepsin hasonló eredményt adott, mint a PCT (AUROC, [95%CI]: 0,79 [0,73-0,84] vs. 0,77 [0,71-0,83],  $p=0,668$ ), de alulmaradt a CRP-vel szemben (0,86 [0,80-0,90],  $p=0,057$ ). A presepsin esetén a leghatékonyabb küszöbérték 844pg/ml volt mely elkülönítette a bakteriális fertőzésben szenvedőket. Ehhez a küszöbértékhez 60%-os szenzitivitás, 84,4%-os specificitás tartozott. A többi APP leghatékonyabb küszöbértékeinek meghatározását követően (CRP: 10,8mg/L, PCT: 0,39 $\mu$ mol/L) megvizsgáltuk, hogy kombinációk használatával javítható-e a bakteriális fertőzések elkülönítése. Azt találtuk, hogy a CRP-vel összehasonlítva a CRP és a presepsin kombinációjával a szenzitivitás 9 százalékponttal (Szenzitivitás  $_{CRP}$  vs.  $_{CRP + Presepsin}$ : 78,7% vs. 87,5%) növekedett. Ezzel szemben, ha csak a bakteriális fertőzőes betegcsoportot vizsgálatuk, a presepsin diagnosztikus pontossága a a súlyos infekciók elkülönítésében elérte a PCT-ét (AUROC [95%CI]: 0,85 [0,74-0,92] vs. 0,85 [0,74-0,92],  $p=0,994$ ), és jobb volt a CRP-nél (0,66 [0,54-0,77],  $p<0,01$ ).

### ***A presepsin-szint összefüggése a fertőzőes epizódok rövidtávú halálozásával***

A 75 bakteriális fertőzőesben szenvedő beteg közül 20 beteg (27,4%) halt meg az első 28 napban. A nem-túlélőkben a kiindulási plazma presepsin-szint szignifikánsan magasabb volt, mint a túlélőkben (2323 [1172-3688] vs. 852 [549-1451] pg/mL,  $p<0,001$ ). A presepsin hatékonyan azonosította a nem-túlélő betegcsoportot (AUROC [95%CI]: 0,76 [0,64-0,85]), a legjobb küszöbérték 1277 pg/mL volt. A 28 napos halálozási arány szignifikánsan magasabb volt azon betegekben, akiknél a presepsin-szint meghaladta

ezt az értéket (46,9% vs. 11,6%,  $p < 0,001$ ).

Egyváltozós logisztikus regressziós vizsgálattal az emelkedett presepsin-szintet bakteriális fertőzés jelenlétében – a CRP-hez és PCT-hez hasonlóan - a rövidtávú halálozás rizikótényezőjének találtuk (OR [95%CI]: 3,59 [1,65–7,84],  $p = 0,001$ ). A többváltozós logisztikus regresszióban azonban a presepsin már nem bizonyult független rizikótényezőnek, miután korrigáltunk a MELD pontszámra és a fehérvérsejt-számra (OR: 1,61 [0,65–3,97],  $p = 0,303$ ).

### ***Vizsgált betegpopuláció – sCD163***

Klinikai adatbázisunkat és a rendelkezésre álló szérummintákat használva összesen 193 ambuláns és 185 AD miatt hospitalizált betegünk esetét tudtuk bevonni ebbe a vizsgálatba. Jellemző klinikai adataik megegyeztek a Presepsin vizsgálatba bevont betegekével. A teljes beteg kohorszban a sCD163 szérumszintjének terjedelme két nagyságrendet ölelt fel (279-28818 ng/ml) és magasabb volt az egészségesekben mért értékekhez képest (medián [IQR]: 3852 ng/ml [2265–6542] vs. 1104 ng/ml [863–1438],  $p < 0,001$ ). A sCD163 emelkedő tendenciát mutatott a Child-Pugh stádiumoknak megfelelően (Child-Pugh A: 2984 [1839–4999], Child-Pugh B: 3838 [2392–6432] és Child-Pugh C: 5917 [3235–8266] ng/ml,  $p < 0,001$ ).

A sCD163 emellett számos gyulladást jelző, valamint vese- és májfunkciós laboratóriumi paraméterrel mutatott szignifikáns korrelációt. Ezek közül a legjelentősebb a GPT (Rho: 0,35), a MELD pontszám (Rho: 0,30), a Child-Pugh pontszám (Rho: 0,32) voltak.

### ***sCD163 az akut dekompenzáció során***

A sCD163 szintje magasabb volt AD során, mint ambuláns betegekben, de csak bakteriális fertőzés jelenlétében (medián, [IQR]: ambuláns: 3538 [2128-5876], AD-noninf: 3792 [2165-6389], AD-inf: 4586 [2854-8066]). A sCD163 továbbá magasabb értéket mutatott a szervéltelenséggel, azaz ACLF-rel komplikált fertőzésekben (INF-ACLF: 7233 [3864–11643] vs. INF-NON-ACLF: 3864 [2700–7031],  $p = 0,003$ ).

### ***A sCD163-szint összefüggése a fertőzések epizódok rövidtávú halálozásával***

A 99 bakteriális fertőzésben szenvedő beteg közül 25 beteg (25%) halt meg az első 28 napban. A felvételkor mért sCD163 szint jelentősen magasabb volt azokban, akik

28 napon belül elhunytak, mint a túlélőkben (7233 ng/ml [3594–10337] vs. 4045 [2700–7355],  $p=0,029$ ). Hasonló különbséget figyeltünk meg a MELD pontszám (24 [20–33] vs. 16 [12–20],  $p<0,001$ ), a CRP (51 mg/L [33–93] vs. 26 mg/L [13–47]  $p=0,001$ ) és a fehérvérsejt szám (12,1 G/L [6,3–15,4] vs. 7,2 G/L [5,1–10,1],  $p=0,014$ ) esetében is. Youden módszere szerint 7000 ng/mL-nél határoztuk meg azt a küszöbértéket, mely legjobban azonosította a nem-túlélő betegcsoportot. A 28 napos halálozás 17% volt 7000ng/mL alatt, míg 44% 7000ng/mL felett (HR: 3,04 [1,38–6,71],  $p=0,006$ ).

Többváltozós Cox regresszióval korrigáltunk a halálozással összefüggő klinikai tényezőkre (etiológia, MELD pontszám, CRP, fehérvérsejtszám) és azt találtuk, hogy a magas sCD163 szint így is a rövid távú halálozás rizikótényezője maradt (HR: 2,96 [1,27–6,95],  $p=0,012$ ).

## MEGBESZÉLÉS

A vizsgálatunk első célja egy nemrég felismert, új gyulladáshoz társuló biomarker, a presepsin hatékonyságának vizsgálata volt a májcirrhosishoz társuló bakteriális fertőzések diagnosztikájában. Emellett annak összehasonlítása a rutinszerűen használt többi akut fázis fehérjével (CRP, PCT) egy, a mindennapos klinikai gyakorlatot tükröző betegpopulációban. Legjobb tudásunk szerint ez az első olyan vizsgálat, amely a presepsin gyakorlati értékét vizsgálja ilyen körülmények között. Nagy betegpopulációt vizsgáltunk, amelyben az enyhétől a súlyosig számos fertőzéstípus előfordult. A betegek egyharmadának volt enyhe lefolyású fertőzése, ami döntően a húgyutakra lokalizálódott, míg a betegek egy másik alcsoportjának (32%) súlyos bakteriális fertőzése volt, azaz egy-vagy több hepatikus/extrahepatikus szervéltelenséggel társult. Tanulmányunkban a bakteriális fertőzések diagnosztikájához a 844 pg/ml-es presepsin szint volt az ideális. Ez a diagnosztikus érték más betegcsoportokban némileg különbözik, a legtöbb közlemény nagyjából 400–600 pg/ml között határozta meg ezt az értéket. Eredményeink szerint a presepsin meghatározása önmagában valószínűleg nem lesz alkalmas a fertőzések detektálására, azonban a CRP-vel kombinálva mégis klinikailag hasznosnak tűnik két ok miatt is. Egyrészt ez a kombináció hatékonyabban azonosította a bakteriális fertőzéseket, mint a CRP önmagában (a szenzitivitás 9 százalékponttal növekedett). Másrészt a presepsin pontosabban tudta elkülöníteni a súlyos fertőzéseket az enyhébbektől, mint a CRP (AUROC: 0,85 vs. 0,66). Az utóbbi eredmény megfelel az irodalmi adatoknak, pl. *Zheng és mtsai.* által újonnan közölt metaanalízis végeredményének (8 tanulmány, 1757 eset), miszerint nem cirrhotikus betegekben a presepsin összesített AUROC értéke 0,82-nek adódott.

A vizsgálatunk második célja annak felmérése volt, hogy a presepsin mentes-e a klasszikus APP-re jellemző korlátoktól cirrhotikus betegekben. Munkacsoportunk egy korábbi tanulmányában arról számolt be, hogy a CRP és PCT diagnosztikus pontossága a fertőzések felderítésében egyértelműen lecsökkent előrehaladott májcirrhosisban. Jelen tanulmányban a presepsin is ennek megfelelően viselkedett. Mivel a presepsin nem elsősorban a májban termelődik, ezért ez a jelenség nem magyarázható a máj csökkent szintetikus képességével. A májcirrhosis egyik jellegzetessége a bakteriális transzlokáció miatt tartósan fennálló gyulladáshoz vezető állapot, amely fertőzés hiányában is kiválthatja az APP-k megemelkedését, emiatt csökken azok diagnosztikus értéke előrehaladott

májbetegség esetén.

Egy másik fontos szempont a vesefunkció hatása az APP-k szintjére. Az akut vesekárosodás gyakori szövödménye a cirrhotikus infekcióknak. A presepsin pontos kiürülési mechanizmusa ugyan nem ismert, de tekintetbe véve alacsony molekulásúlyát, valószínűleg glomeruláris filtrációt követően a proximális tubulus sejtei által szívódik vissza és metabolizálódik. *Nagata és mtsai.* arról számoltak be, hogy a presepsin szintje a glomeruláris filtrációs ráta csökkenésével arányosan növekedett, és ez a jelenség a krónikus vesebetegek és a dialízisre szorulóknak esetében volt a legkifejezettebb. Ennek megfelelően mi is szignifikáns összefüggést találtunk a presepsin és a szérumban lévő kreatinin szintje között (Spearman's rho: 0,36,  $p < 0,001$ ). Emellett veseelégtelen betegeink presepsin szintje akkor is jelentősen emelkedett volt, ha nem volt bakteriális fertőzésük. Mindez arra utal, hogy a presepsin szint interpretációja külön odafigyelést igényel a veseelégtelenséggel járó AD során. Ezeknél a betegekkel valószínűleg külön küszöbértéket kell meghatározni a fertőzések diagnosztizálásához.

A vizsgálatunk harmadik célja az volt, hogy megállapítsuk, a presepsin képes-e előrejelezni a halálozást bakteriális fertőzés esetén. Ilyen irányú vizsgálatok cirrhotikusban csak a CRP és a PCT vonatkozásában állnak rendelkezésre, és eredményeik 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 ezeket a különböző tulajdonságú betegcsoportokat, ami megnehezíti az adatok közvetlen összehasonlítását és a következtetések levonását. Saját adataink megerősítették, hogy azokban a betegekben, akiknél emelkedett PCT, CRP és presepsin értékeket találtunk, a halálozás szignifikánsan magasabb volt. Amikor azonban a betegség súlyossági fokát és a fehérvérsejtszámot is számításba vettük, az összefüggés csak a PCT vonatkozásában maradt szignifikáns, a CRP-re és a presepsinre nézve nem. Ennek az lehet a magyarázata, hogy a PCT egy külön molekulacsaládnak, az ún. „hormonkinak” közé tartozik. Döntően különböző szervek neuroendokrin sejteiben termelődik, és a jelenléte azt tükrözi, hogy a pro-inflammatorikus válaszban nem csak egy, hanem számos szerv érintett. A procalcitonin a gyulladásos és fertőző állapot során a citokinekhez hasonlóan viselkedik, számos toxikus hatása van, mely káros lehet a szervezetre nézve. Ezzel szemben a presepsin termelődése a gyulladásos reakció során a monocita/makrofág rendszer aktiválódásának a jele. A makrofágok élettani hatása pedig

kettős: egyrészt a túlzott mértékű gyulladáshoz vezető citokintermeléssel szövethelyettesítést 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 (pl. IL-10) jelenlétében.

Éppen az utóbbi, M2 típusú makrofágokról hasad le aktivációjuk során a sCD163, a CD163 scavenger receptor szolúbilis formája. A sCD163 vérszintje jól korrelál bizonyos egyéb makrofág aktivációs markereivel, úgy mint a szolúbilis urokináz plazminogén aktivátor receptor (suPAR) vagy a szolúbilis mannóz receptor. Más makrofág aktivációs markerekkel, mint a szolúbilis CD14 azonban nem mutat összefüggést. A sCD163 szerepét csak az elmúlt években kezdték vizsgálni cirrhosisban. A sCD163 fokozott termelődése már ismert jelenség és a néhány rendelkezésre álló tanulmány szerint a molekula szintje összefügg a betegség előrehaladott állapotával és a portális hipertóniával.

Mindemellett a sCD163 szérumszintjének változása a különböző AD epizódok során kevésbé ismert, és az sem teljesen tisztázott, hogy a molekula milyen prediktív értékkel bír a betegséggel összefüggő szövődények, illetve a halálozás előrejelzésében. Beteganyagunk vizsgálata során azt találtuk, hogy a sCD163 szintje bakteriális fertőzések során emelkedett. Kimutattuk, hogy a bakteriális fertőzés jelenléte az egyetlen olyan tényező, amely szignifikánsan befolyásolja a sCD163 szintjét AD epizódok során, illetve azt is, hogy a fertőzéses epizód súlyossága egyenes arányban állt a sCD163 szintjével. Vizsgálatunkban elsőként mutattuk be, hogy cirrhosisban bakteriális fertőzés esetén az emelkedett sCD163 szint (>7000 ng/mL) összefüggésben áll a rövid-távú halálozással. Ezen felül a sCD163 független rizikótényezőnek bizonyult, akkor is, ha korrigáltunk a betegség súlyosságára (MELD pontszám), és a pro-inflammatórikus válasz mértékére (CRP, fehérvérsejtszám) is. A miénkhez hasonló következtetésre jutottak *Albillos és mtsai.* egy nemrég publikált összefoglaló közleményben. Ezek szerint a fokozott anti-inflammatórikus válasz – melyet azokban a tanulmányokban az interleukin-10, interleukin-6, a szolúbilis tumor nekrozis faktor- $\alpha$  receptor (sTNFR) és a csökkent monocita HLA-DR expresszió jelzett -, jelentős módon rontja a túlélést májcirrhosisban. 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. *Bernsmeier és mtsai.* egy friss közleményben világítottak rá arra, hogy az anti-inflammatórikus (CD163<sup>high</sup>-MERTK pozitív) monociták/makrofágok modulálásával helyreállítható a kórokozókkal szembeni csökkent immunválasz.

Bakteriális fertőzés során a legesendőbb, intenzív osztályos ellátást és monitorozást igénylő betegek pontos és korai kiszűrése életbevágóan fontos a mindennapi klinikai gyakorlatban. Saját és más munkacsoportok eredményeit is figyelembe véve, 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 (n=99), valamint a vizsgálat egycentrumos mivolta nem tette lehetővé ilyen modell létrehozását. Cirrhosisban a jelenleg használt rövidtávú halálozási modellek többcentrumos, nagy betegszámú vizsgálatok alapján születtek.

A mi egyszeri mérésen alapuló vizsgálataink nem tették lehetővé, hogy a sCD163, vagy akár a presepsin időbeli kinetikájának jelentőségét elemezzük, akár a bakteriális fertőzések diagnosztikájában, akár ezen epizódok prognózisában. Ez kétségtelenül korlátja vizsgálatainknak.

Összességében adataink arra utalnak, hogy a presepsin egy ígéretes biomarker a májcirrhosisban szenvedő betegek bakteriális fertőzéseinek diagnosztikájában, melynek használata javíthatja a CRP diagnosztikus képességét és hozzásegíthet a fertőzések súlyosságának pontosabb megítéléséhez. A presepsin hatékonysága a fenti klinikai környezetben megegyezett a PCT-ével. A presepsin diagnosztikus pontossága azonban a betegség előrehaladottabb stádiumaiban vagy veseelégtelenség jelenlétében lecsökken. Mindezekén túl a presepsin nem alkalmas a májcirrhosishoz társuló bakteriális fertőzések rövidtávú kórlefolyásának előrejelzésére. Ezzel ellentétben a sCD163 ebben a betegpopulációban a korai halálozás rizikótényezőjének bizonyult, függetlenül a betegség súlyosságától és a gyulladással válaszreakció mértékétől, mely támogatja azt a nézetet, miszerint a túlzott mértékű anti-inflammatórikus immunválasznak összességében káros hatása van.

## FŐBB ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

- 1) Májcirrhosisban szenvedő betegekben először számoltunk be az irodalomban a presepsinről, mint lehetséges biomarkerről, a bakteriális fertőzések diagnosztikájában.
- 2) A presepsin bakteriális fertőzések során májcirrhosisban megemelkedik és emelkedésének mértéke összefüggést mutat a fertőzés súlyosságával. Szerveletelenséggel szövődött fertőzések során a presepsin szint szignifikánsan magasabb, mint annak hiányában.
- 3) A presepsin a C-reaktív protein diagnosztikus hatékonyságát javítja a bakteriális fertőzések során májcirrhosisban.
- 4) A presepsin diagnosztikus hatékonysága a súlyos fertőzések azonosításában megegyezik a PCT-vel és egyértelműen jobb a CRP-hez képest.
- 5) A presepsin diagnosztikus hatékonysága előrehaladott májbetegségben és egyes betegség-specifikus szövődmények jelenlétében, mint például veseelégtelenség csökken.
- 6) A makrofág eredetű, anti-inflammatórikus szolúbilis CD163 molekula emelkedett szintje, bakteriális fertőzések során a rövidtávú halálozás független kockázati tényezője.

## KUTATÁSI ÖSZTÖNDÍJAK

Tornai Tamás az Emberi Erőforrások Minisztériuma Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásában részesült (2016 IV/3). A kutatási tervek támogatásban részesültek: Belső Kutatási Pályázat (Debreceni Egyetem OEC, [RH/885/2013]) és OTKA Kutatási Pályázat (Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal, [K115818/2015/1]) által.



Nyilvántartási szám: DEENK/291/2016.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Tornai Tamás  
Neptun kód: V7F7GN  
Doktori Iskola: Laki Kálmán Doktori Iskola

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **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.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/liv.13133>  
IF: 4.47 (2015)
2. 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.  
\* These authors contributed equally to the work and both should be considered as first authors.  
IF: 2.787 (2015)

### További közlemények

3. Kocsis, D., Papp, M., **Tornai, T.**, Tulassay, Z., Herszényi, L., Tóth, M., Juhász, M.: Intestinalis zsírsavkötő fehérje: az enterocytakárosodás markere akut és krónikus gasztroenterológiai kórképekben.  
*Orv. Hetil.* 157 (2), 59-64, 2016.  
IF: 0.291 (2015)
4. **Tornai, T.**, Papp, M.: Krónikus májbetegségre rakódott akut májelégtelenség: egy újraértelmezett klinikai entitás a hepatológiában.  
*CEU-JGH.* 2 (3), 404-409, 2016.
5. Tornai, I., **Tornai, T.**, Vitális, Z., Papp, M.: Bakteriális infekciók májcirrhosisban.  
*Gasztroenterol. Hepatol. Szle.* 1 (1), 19-23, 2015.





6. Papp, M., Sipeki, N., **Tornai, T.**, Altorjay, I., Norman, G. L., Shums, Z., Roggenbuck, D., Fechner, K., Stocker, W., Antal-Szalmás, P., Veres, G., Lakatos, P. L.: 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.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjv087>  
IF: 6.585
7. Papp, M., Sipeki, N., Vitális, Z., **Tornai, T.**, Altorjay, I., Tornai, I., Udvardy, M., Fechner, K., Jacobsen, S., Teegen, B., Sümegei, A., Veres, G., Lakatos, P. L., 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.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2013.04.018>  
IF: 10.401

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 24,534**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 7,257**

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

Debrecen, 2016.11.02.



## **Köszönetnyilvánítás**

Mindenek előtt köszönöm Dr. Papp Mária témavezetőmnek, hogy segítségével megismerkedhettem a tudományos élet folyamatosan alakuló világával, az laboratóriumi adatok klinikai gyakorlatban való elhelyezésével, illetve azok értékével.

Köszönöm édesapámnak, hogy megszerettette velem a hepatológia izgalmas világát.

Köszönöm a Gasztroenterológiai Tanszék munkatársainak támogató hozzáállását, mellyel mind gyakorlati, mind elméleti tudásom bővítéséhez járultak hozzá.

Köszönöm családomnak, és barátaimnak türelmét, szeretetét, mellyel támogattak az eddig vezető úton.