

**Egyetemi Doktori (PhD) értekezés**

**A veleszületett és a szerzett immunitás humorális komponenseinek vizsgálata krónikus gyulladással járó gastroenterológiai kórképekben**

**Dr. Földi Ildikó**

**Témavezető: Dr. Papp Mária**



**DEBRECENI EGYETEM**

**LAKI KÁLMÁN DOKTORI ISKOLA**

**Debrecen, 2017**

# TARTALOMJEGYZÉK

<b>1. Rövidítések jegyzéke.....</b>	<b>3</b>
<b>2.Összefoglalás.....</b>	<b>4</b>
<b>3.Summary.....</b>	<b>7</b>
<b>4.Bevezetés.....</b>	<b>10</b>
<b>5. Irodalmi áttekintés.....</b>	<b>12</b>
5.1Coeliakia.....	12
5.1 Antitestek coeliakiában.....	13
5.1.2 Antimikrobiális antitestek.....	14
5.2 Májcirrhosis.....	16
5.2.1 Májcirrhosis és bakteriális infekciók.....	17
5.2.2 Komplement rendszer-lektin útvonal.....	18
<b>6.Célkitűzések.....</b>	<b>22</b>
<b>7. Betegek és módszerek.....</b>	<b>22</b>
7.1 Betegcsoportok.....	22
7.1.1 Coeliakiás betegek.....	22
7.1.2 Májcirrhosisos betegek.....	23
7.2 Módszerek.....	27
7.2 Laboratóriumi módszerek.....	27
7.2.1 Coeliakiás betegek.....	27
7.2.1.1 Antimikrobiális antitestek meghatározása.....	27
7.2.1.2 NOD2/CARD15 mutációk detektálása.....	27
7.2.2 Májcirrhosisos betegek.....	29
7.2.2.1 Lektin rendszer vizsgálata.....	29
7.3 Statisztikai elemzés.....	30
<b>8.Eredmények.....</b>	<b>32</b>
8.1 Antimikrobiális antitestek vizsgálata coeliakiában.....	32
8.2 Lektin útvonal molekuláinak vizsgálata májcirrhosisos betegekben.....	38
<b>9.Megbeszélés.....</b>	<b>46</b>
<b>10.Tárgyszavak.....</b>	<b>55</b>
<b>11.Köszönetnyilvánítás.....</b>	<b>55</b>
<b>12.Irodalomjegyzék.....</b>	<b>56</b>
<b>13. Hivatalos publikációs lista.....</b>	<b>63</b>
<b>14. A témához kapcsolódó tudományos előadások.....</b>	<b>66</b>
<b>15. Tudományos előadások egyéb témákban.....</b>	<b>66</b>
<b>16.Függelék.....</b>	<b>67</b>

### ***1.Rövidítések jegyzéke:***

ACCA IgA: chitobioside szénhidrát epitóp elleni IgG antitest

AD: acut decompensation (májcirrhosis akut dekompenzációja)

ALCA IgG: laminaribioside szénhidrát epitóp elleni IgG antitest

AMCA IgG: mannobioside szénhidrát epitóp elleni IgG antitest

Anti-OmpC/ Anti-Omp: anti-outer membrane porin protein C antibody of *Escherichia coli*  
(anti-*Escherichia coli* külső membrán porin C antitest)

CAID: cirrhosis asszociált immundeficiencia szindróma

CD: celiac disease, coeliakia

CI: konfidencia intervallum

CSI: clinically significant bacterial infection (klinikailag jelentős bakteriális fertőzés)

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay (enzimmel kapcsolt immunoszorbens assay)

EMA: endomysium antitest

FCN: fikolin

FCN-2: fikolin-2

FCN-3: fikolin-3

gASCA: glikán anti-*Saccharomyces cerevisiae* antitest

GMD: gluténmentes diéta

HCC: hepatocellularis carcinoma

HRP: horseradish peroxidase (torma peroxidáz)

IBD: inflammatory bowel diseases (gyulladásos bélbetegségek)

INR: international normalized ratio

IQR: interquartile range

MAC: membrane attack complex-(membránkárosító komplex)

MASP: mannóz-kötő lektin szerin proteáz

MELD: Model For End-Stage Liver Disease

NK sejt: natural killer sejt/természetes ölő sejt/

SBP: spontán bakteriális peritonitisz

SNP: single nucleotid polymorphism

sPRM: soluble pattern recognition molecules (szolubilis mintázatfelismerő molekulák)

TGA: szöveti transzglutamináz (TG2) ellenes antitest

## 2. Összefoglalás

### BEVEZETÉS

A veleszületett immunrendszert alkotó celluláris és humorális alkotóelemek működésének megváltozása jelentős szerepet tölt be a különféle, nagy betegpopulációt érintő krónikus gyulladással járó gastroenterológiai kórképek patogenezisében, mint például a gyulladós bélbetegségek (IBD) vagy a coeliakia. Elégtelen működésük számos betegcsoportban, így májcirrhosisban is gyakoribb, súlyosabb infekciók kialakulásához vezethet.

A coeliakiához vezető korai pathológiás történések magukba foglalják a veleszületett immunrendszer aktivációját is, mely elsősorban az epitheliumban zajlik. Emellett a coeliakia tipikus jellegzetessége a különböző antitestek jelenléte, habár ezek termelődésének hátterében álló mechanizmusok és a betegség patogenezisében betöltött tényleges szerepük egyelőre nem teljesen tisztázott. A szöveti transzglutamináz 2 (TG2) a fő autoantigénje az anti-endomysialis antitesteknek (EMA) és az anti-TG2/EMA vizsgálata gyakran használt módszer a CD szűrésében és diagnosztikájában. A különféle baktériumok sejtfalának szénhidrát epitópjai ellen termelődő antitestek a szövődényes Crohn-betegség markerei. Az anti-*Saccharomyces cerevisiae* antitest (ASCA) gyakoribb megjelenését coeliakiában is leírták. Ugyanakkor az IBD-ben észlelt egyéb antimikrobiális antitestek (ALCA, AMCA, ACCA, anti-OMP) előfordulásának gyakorisága illetve klinikai jelentősége coeliakiában nem tisztázott.

A májcirrhotikus betegek különösen fogékonyak a bakteriális fertőzések kialakulására, a cirrhosis asszociált immundeficiencia (CAID) szindróma jelenléte miatt, ennek azonban még nem minden komponense ismert. A komplement rendszer lektin útvonalának molekulái a veleszületett immunrendszerhez tartoznak, a májban képződnek és központi szerepet töltenek be a mikrobákkal szembeni védekezésben. A fikolinok (FCN) szolubilis mintázatfelismerő receptorként működnek, míg a mannóz-kötő lektin szerin proteázok (MASP) effektor molekulák. A funkcionális fehérjék alacsony szintje növeli a különféle fertőzés kialakulásának kockázatát, elsősorban immunszuppresszióval járó kórképek esetén. A májcirrhosishoz kapcsolódó bakteriális fertőzésekben betöltött szerepük kevésbé ismert.

### CÉLKITŰZÉSEK

Vizsgálataink során célul tűztük ki, hogy felnőtt coeliakias betegekben meghatározzuk a különféle glikán típusú antimikrobiális antitestek előfordulási gyakoriságát, a betegség klinikai fenotípusával való kapcsolatát, valamint azok jelenlétének lehetséges összefüggését a glutén expozícióval. Prospektíven követett, nagy esetszámú májcirrhotikus

betegcsoportban célul tűztük ki továbbá annak vizsgálatát, hogy a lektin útvonal egyes molekuláinak (FCN-2, FCN-3 és MASP-2) szérumszintje hogyan változik az egészséges populációhoz képest és mutat-e összefüggést a betegség-specifikus szövődmények jelenlétével. Ötéves utánkövetéses klinikai vizsgálatban elemeztük a fikolinok és a MASP-2 molekulák szérumszintjének összefüggését a klinikailag jelentős bakteriális infekciók kialakulásával és a halálozással.

### **MÓDSZEREK**

A coeliakiás betegcsoportban az antimikrobiális antitestek illetve a májcirrhotikus betegekben a lektin útvonal molekuláinak (FCN-2, FCN-3, MASP-2) meghatározása ELISA módszerrel történt, szérum mintákból.

### **EREDMÉNYEK**

*Coeliakiás* betegcsoportban elvégzett vizsgálataink eredményeit az alábbiakban foglalhatjuk össze: **(I)** A különféle glikán típusú antitestek közül a gASCA, AMCA, és ACCA az antitest előfordulási gyakorisága szignifikánsan magasabb volt a coeliakia diagnózisának felállításakor az egészséges és a gastrointestinalis kontrollokéhoz képest. Az ALCA IgG és anti-OMP esetén különbséget a vizsgált csoportok között nem találtunk. **(II)** Összefüggés volt kimutatható a glikán ellenes antitestek szintjei, illetve az EMA és TGA szintek között. **(III)** Szigorú gluténmentes diétát tartó betegekben kellő hosszúságú idő elteltével a glikán ellenes antitestek a szérumból teljesen eltűntek. **(IV)** Súlyos malabsorptios betegeknél jóval gyakrabban észleltünk többszörös antitest pozitivitást, míg a nem specifikus gastrointestinális tünetek vagy vashiányos anaemia esetén gyakoribb volt a szeroreaktivitás hiánya, vagy a csupán egy glikán komponens ellen kimutatható reaktivitás.

*Májcirrhotikus* betegcsoportban elvégzett vizsgálataink eredményeit az alábbiakban foglalhatjuk össze: **(I)** A FCN-2, FCN-3 és MASP-2 szintek szignifikánsan alacsonyabbak voltak cirrhotikus betegekben az egészséges kontrollokhoz képest, és a betegség súlyosságával összefüggően csökkentek. **(II)** Az alacsony individuális FCN-2 és FCN-3 szintek és méginkább a kombinált fikolin deficiencia jelenléte esetén szignifikánsan gyakrabban alakult ki klinikailag jelentős bakteriális infekció a követési idő alatt, MASP-2 deficiencia esetén ilyen összefüggést nem találtunk. Ez az összefüggés azonban nem volt független a májbetegség súlyosságától. **(III)** Ugyanakkor sem a FCN profil, sem pedig a MASP-2 deficiencia nem mutatott összefüggést az infekciófüggő mortalitással.

### **KÖVETKEZTETÉSEK**

*Coeliakiás* betegcsoportban végzett vizsgálatunk eredményei azt a feltételezést támasztják alá, hogy a gASCA és az egyéb glikán ellenes antitestek kialakulásának oka coeliakiában a

károsodott vékonybél nyálkahártyán történő fokozott antigénátjutás. Továbbá, a glikán ellenes antitest pozitivitás a coeliakia jelenlétének és a diétás compliance markereként is értelmezhető. *Májcirrhosisos* betegekben észlelhető alacsony fikolin szintek a CAID szindróma újonnan azonosított komponensének tekinthetők. Jelentőségük elsősorban az infekciók patogenezise, illetőleg a jövőben esetlegesen terápiás célpontként való figyelembevétel szempontjából lehet. Az infekciók prognosztikájában független kockázati tényezőként azonban nem alkalmazhatók, mert a májbetegség súlyosságával szignifikáns összefüggést mutatnak.

### **3. Summary**

#### **INTRODUCTION**

Changes in the functioning of the cellular and humoral components of the innate immune system play a significant role in the pathogenesis of various chronic inflammatory gastroenterological diseases (e.g. inflammatory bowel diseases (IBD) or coeliac disease) affecting a large patient population. Their insufficient function may lead to the more frequent development of severe infections in various patient groups, such as in cirrhosis.

Early pathologic events resulting in coeliac disease are also involved the activation of the innate immune system which mainly takes place in the epithelium. In addition, the presence of various antibodies is the typical characteristic of coeliac disease, even though the background mechanisms of their production and their actual role in the disease pathogenesis are not entirely clarified. Tissue transglutaminase 2 (TG2) is the main autoantigen of anti-endomysial antibodies (EMA) and the analysis of anti-TG2/EMA is a frequent method during the screening and diagnostics of CD. The antibodies produced against the carbohydrate epitopes of the cell walls of various bacteria are the markers of complicated Crohn's disease. The more frequent presence of anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibody (ASCA) was observed also in coeliac disease. At the same time, the frequency and CD-related clinical significance of other antimicrobial antibodies observed in IBD (ALCA, AMCA, ACCA, anti-OMP) is not clarified.

Cirrhosis patients are especially susceptible to bacterial infections due to the cirrhosis-associated immune deficiency syndrome (CAID). However, not all components of this syndrome is known. Lectin pathway molecules of the complement system are synthesised by hepatocytes and have pivotal role in innate host defense against infectious organisms. Ficolins (FCNs) act as soluble pattern recognition molecules, while mannan-binding lectin serine proteases (MASPs) are effective in elimination of pathogens. The low level of functional proteins increases the risk of various infections, especially in immunosuppressive diseases, while their role in bacterial infection related cirrhosis is less known.

#### **AIMS**

The objective of these analyses was to determine the prevalence of various glycan type antimicrobial antibodies in adult CD patients, as well as their correlation with the clinical disease phenotype and the possible connection between their presence and gluten exposition. In addition, a prospectively followed large study was performed in cirrhosis

patients with the aim to examine how the serum level of each molecule of the lectin pathway (FCN2, FCN3 and MASP2) changes in comparison with the healthy population and whether there is any correlation with the presence of disease-specific complications. A five-year-long follow-up clinical study was performed to analyse the correlation of the serum level of ficolins and MASP2 molecules with the development of clinically significant bacterial infections and mortality.

## **METHODS**

ELISA was used to determine the antimicrobial antibodies in coeliac patients and the lectin pathway molecules (FCN-2, FCN-3, MASP-2) in cirrhosis patients from serum samples.

## **RESULTS**

The results of analysis performed in the *coeliac* patient group is summarised as follows:

**(I)** Of the various glycan type antibodies, the prevalence of gASCA, AMCA and ACCA antibody was significantly higher than the healthy and gastrointestinal control at the time of setting up the coeliac diagnosis. No difference was found between the examined groups in the case of ALCA IgG and anti-OMP. **(II)** Correlation was found between the levels of anti-glycan antibodies and those EMA and TGA. **(III)** In the case of patients on strict gluten-free diet, anti-glycan antibodies totally disappeared from the serum. **(IV)** Multiple antibody positivity was observed significantly more frequently in the case of patients suffering from severe malabsorption. However, in the case of non-specific gastrointestinal symptoms or iron deficiency anaemia, the lack of seroreactivity or reactivity against a single glycan component were observed more frequently.

The results of analysis performed in the *cirrhosis* patient group is summarised as follows:

**(I)** FCN-2, FCN-3 and MASP-2 levels were significantly lower in cirrhosis patients in comparison with healthy controls and decreased in conformity with disease severity. **(II)** During the follow-up period, clinically significant bacterial infection developed significantly more frequently in the case of low individual FCN-2 and FCN-3 levels and especially combined ficolin deficiency. At the same time, no such correlation was found in the case of MASP-2 deficiency. However, this correlation was dependent on the severity of liver disease. **(III)** At the same time, neither the FCN profile, nor MASP-2 deficiency showed any correlation with infection-dependent mortality.

## CONCLUSIONS

The results of our study performed in a *coeliac* patient group confirmed the assumption that the reason for generation of gASCA and other anti-glycan antibodies is the increased antigen presentation through the impaired small bowel mucosa. In addition, anti-glycan antibody positivity can also be interpreted as the marker of coeliac disease and dietary adherence.

Low ficolin levels observed in *cirrhosis* patients can be regarded as the newly identified component of CAID syndrome. Their primary significance lies in the pathogenesis of infections, while they could also be considered as therapeutic target in the future. However, they cannot be used as independent risk factors in the prognosis of infections, because they show significant correlation with the severity of liver diseases.

#### **4. Bevezetés**

Az immunhomeosztázis fenntartását a veleszületett (innate) és a szerzett (adaptív) immunitás elemeinek szoros együttműködése teszi lehetővé. A veleszületett immunitás humorális (komplement rendszer, antimikrobiális peptidek, citokinek), és celluláris (fagociták, természetes ölő (NK) sejtek, dendritikus sejtek) komponensei képezik a szervezet első immunológiai védelmi vonalát a behatoló kórokozókkal szemben és kulcsszerepük van az adaptív immunválasz elindításában is. Az adaptív immunválasz humorális (citokinek, ellenanyagok) és celluláris elemei (T és B limfociták) ugyan bizonyos látenciaidő után aktiválódnak, de a két védekező rendszer nem egymástól függetlenül működik, hanem egymásra épülve és összefonódva biztosítják a gazdaszervezet védelmét. Az immunrendszer azonban „kétélű kardként” is működhet, a védekező mechanizmusok bizonyos körülmények között kóros folyamatokat is elindíthatnak. Fokozott aktiváció észlelhető például az autoimmun vagy allergiás betegségekben. Az immunrendszer számos alkotója közül egy-egy elem hibás vagy elégtelen működése az immunhomeosztázis felborulásához, fertőzésekkel szembeni csökkent védekezőképességhez vezet.

Az immunrendszer fokozott reaktivitása vagy csökkent működése számos gasztroenterológiai kórkép pathogenezisében kiemelt szerepet játszik. Klinikai kutatásunk során két olyan gasztroenterológiai betegcsoportot (coeliakiás betegek és májcirrhosisos betegek) választottunk ki, ahol a betegség pathogenezisében és a betegségfolyás során jelentkező szövődmények kialakulásában jelentős szerepet játszik a veleszületett immunrendszer működészavara. A két kórkép közös jellemzője, hogy a vékonybélfal gyulladása, strukturális és funkcionális károsodása következtében létrejövő fokozott permeabilitás és a megváltozott bélflóra együttesen krónikus bakteriális transzlokációhoz vezetnek. A különféle baktériumok jelenléte, illetve az ellenük kialakuló immunválasz befolyásolhatja a lokális vagy szisztémás gyulladás súlyosságát.

A coeliakia a glutén gliadin komponense által kiváltott, genetikailag fogékony egyéneknél kialakuló, extraintesztinális manifesztációt is mutató T sejt mediálta autoimmun enteropathia. Számos antitest képződése (pl: transzglutamináz ellenes antitest:TGA; endomysium ellenes antitest:EMA, gliadin ellenes antitest, deamidált gliadin peptid ellenes antitestek) jellemzi, habár ezek termelődésének hátterében álló mehanizmusok és a betegség pathogenezisében betöltött tényleges szerepük egyelőre nem teljesen ismert. A különféle baktériumok sejtfalának szénhidrát epitópjai ellen termelődő antitestek a szövődményes Crohn-betegség markerei. Az anti-*Saccharomyces cerevisiae* antitest (ASCA) gyakoribb megjelenését

coeliakiában is leírták. Ugyanakkor az IBD-ben észlelt egyéb anti-mikrobiális antitestek (ALCA, AMCA, ACCA, anti-OMP) előfordulásának gyakorisága illetve klinikai jelentősége coeliakiában nem tisztázott.

A májcirrhotikus betegek különösen fogékonyak a bakteriális fertőzések kialakulására, a májcirrhosis az egyik leggyakoribb szerzett immundeficiencia. Ennek hátterében azok az öröklött és szerzett immunitást is érintő mechanizmusok állnak, amiket összefoglaló néven a szakirodalomban a cirrhotishoz kapcsolt immundeficiencia (CAID) szindrómának neveznek.

Májcirrhotikus betegekben a bélnyálkahártya barrier számos okból károsodik, melynek következtében pathológiás bakteriális transzlokáció jön létre, az immunogén bakteriális termékek mennyisége emelkedik a keringésben. Ezek egyrészt fokozzák azokat a proinflammatorikus folyamatokat, amelyek a májszövet károsodásához vezetnek, másrészt a baktériumok felismerésben szerepet játszó szolubilis és celluláris receptorok elégtelen működése a fertőzésekre való fogékonyság fokozódásához vezethet.

A komplement rendszer a veleszületett immunitás fontos eleme. A lektin útvonal szolubilis mintázatfelismerő molekulái (sPRM) a patogének felszínén jelen lévő molekuláris mintázat egyes szénhidrát komponenseit ismerik fel, ezt követően a mannóz-kötő lektin asszociált szerin proteázok (MASP) aktiválódása indítja el a kaskádfolyamatot. A funkcionális fehérjék alacsony szintje növeli a különféle fertőzés kialakulásának kockázatát, elsősorban immunszuppresszióval járó kórképek esetén. A májcirrhotishoz kapcsolódó bakteriális fertőzésben betöltött szerepük eddig kevésbé ismert.

## ***5. Irodalmi áttekintés***

### **5.1 Coeliakia**

A coeliakia (celiac disease:CD; gluténszenzitív enteropathia, lisztérzékenység, sprue) genetikailag meghatározott autoimmun komponenseket tartalmazó krónikus gyulladásos állapot, melyet a gabonafélékben található glutén gliadin komponensének diétás expozíciója vált ki (1). A betegség megjelenése nagyon változó, keveset tudunk arról, milyen tényezők határozzák meg a tünetek típusait. A betegség klinikai manifesztációja lehet klasszikus, amikor jól észlelhetők a malabsorptio jelei és tünetei (hasmenés, fogyás, steatorrhoea, növekedési elmaradás) de jelentkezhethet nem klasszikus (gasztrointesztinális tünetek és/vagy extraintesztinális manifesztációk) és aszimptomatikus formában is. Az elmúlt években világszerte egyre több nem klasszikus és aszimptomatikus beteget diagnosztizálnak. Utóbbiak gyakran valamilyen hajlamosító állapot, betegség (pl. családi halmozódás, 1-es típusú diabetes mellitus, autoimmun pajzsmirigy vagy májbetegség, Down-szindróma) kapcsán végzett szűrővizsgálat során kerülnek felismerésre.

A coeliakia prevalenciája a világ nagy részén -így Magyarországon is- 1% feletti (2). A frissen diagnosztizált esetek száma világszerte nő, ez egyrészt az orvosok és betegek részéről a betegség iránti figyelem fokozódásának, a javuló és egyre pontosabb diagnosztikus lehetőségeknek köszönhető, de ismertek a betegség incidenciájának növekedésére utaló adatok is (1).

A betegség manifesztálódásához a fő hisztokompatibilitási génekben (MHC II) a humán leukocytá antigén (HLA)-DQ2 vagy DQ8 heterodimer jelenléte mindenképpen szükséges, hordozásuk azonban önmagában nem elegendő. A coeliakiához vezető korai pathológiás történések magukba foglalják a veleszületett immunrendszer aktivációját is, mely elsősorban az epitheliumban zajlik. Bizonyos glutén peptidek (p31-p43) fokozzák az aktivált dendritikus sejtek interleukin (IL)-15 szekrécióját, ami végső soron az intraepitheliális limfociták aktivációját eredményezi (NKG2D receptorokat expresszálnak). Ezek a sejtek citotoxikus lymphocytává alakulnak át és az enterocyták további károsodásához vezetnek (az NKG2D ligandja az enterocyták felszínén lévő MIC-A). Ez megelőzheti a lamina propriában a szöveti transzglutamináz által deaminált glutén peptidek és a HLA-DQ2 és DQ8 molekulák kapcsolódásával aktivált adaptív CD4+ T sejt válasz kialakulását, mely a coeliakia patogenezisének egyik kulcslépése, ahol is az interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) alapvető fontosságú [T-helper (Th)1 dominanciájú folyamat](3, 4).

A coeliakia tipikus jellegzetessége a különböző antitestek jelenléte, habár ezek termelődésének hátterében álló mehanizmusok és a betegség patogenezisében betöltött tényleges szerepük egyelőre nem teljesen tisztázott (5). A szöveti transzglutamináz 2 (TG2) a fő autoantigénje az anti-endomysialis antitesteknek (EMA) és az anti-TG2/EMA vizsgálata gyakran használt módszer a CD szűrésében és diagnosztikájában (6). A diagnózis a vékonybélben kialakuló boholykárosodás szövettani vizsgálatán és a transzglutamináz (TG) elleni immunreakció együttes kimutatásán alapul (7).

A gyulladt és károsodott vékonybél nyálkahártya gyógyul az érintett egyéneknél azt követően, hogy a glutént teljesen kivonják az étrendjükől. A gluténintolerancia azonban életreszóló, így jelenleg az egyetlen kezelési mód a szoros, élethosszig tartó gluténmentes diéta (8).

### **5.1.1 Antitestek coeliakiában**

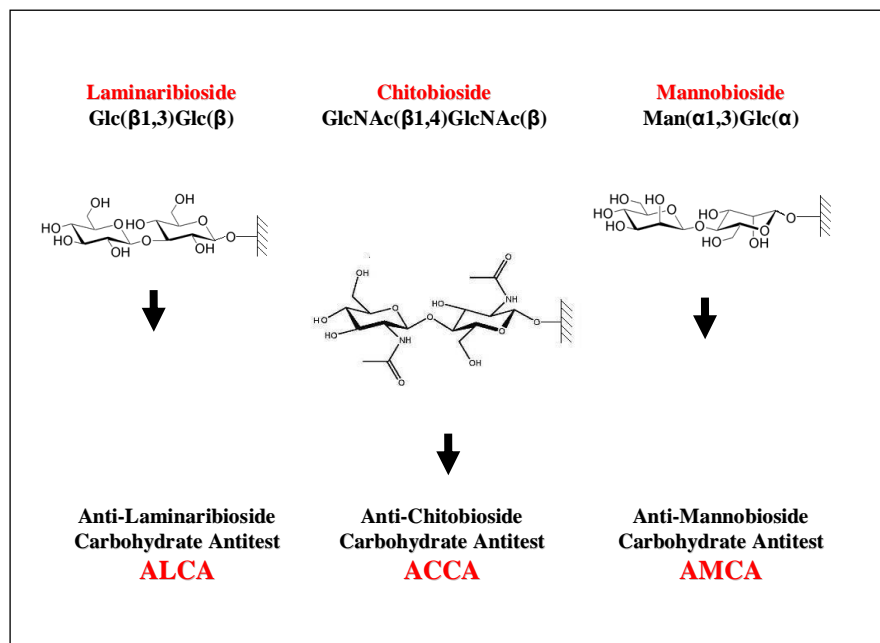
Autoantitestek képződése számos autoimmun betegség jellegzetessége, mely az autoantigénnel szembeni immuntolerancia elvesztését jelzi. Coeliakiában a transzglutamináz 2 (TG2)-vel szembeni autoantitest reaktivitás szoros összefüggést mutat a betegség akut fázisával. A legelőször felismert gliadin ellenes antitesteket majd később leírt retikulín ellenes antitesteket alacsony szenzitivitásuk és specifitásuk miatt ma már nem használjuk a CD diagnosztikájában. A legtöbb ajánlás az anti-TG2 és EMA meghatározást javasolja (9).

Újabban, bizonyos esetekben, a szintetikus deamidált gliadin peptidok elleni antitestek tűnnek valóban használható eszköznek a CD diagnosztizálásában (10, 11). Egyéb autoantigénnel - többek között transzglutamináz 3, aktin, gangliozid, kollagén, calreticulin és zonulin - szembeni immunreaktivitást is leírtak az irodalomban. Ezen antitestek klinikai jelentősége nem ismert, legtöbbjük nem tűnik sem magas szenzitivitásúnak, sem magas specifitásúnak CD-re, de összefügghetnek a specifikus klinikai tünetekkel és az extraintesztinális manifesztációkkal (9). A magas IgA anti-aktin antitest prevalencia szorosan összefüggött a boholyatrophia mértékével súlyosabb lefolyású betegség esetén, ami a citoszkeleton és intercelluláris tight junction érintettségének jele (12). Az anti-aktin antitestek termelődése glutén dependens volt. Szigorú gluténmentes diéta (GMD) után néhány hónapon belül kimutathatatlaná váltak, ami azt jelzi, hogy a megjelenésük a nyálkahártya sérülést követi (13, 14). Ehhez hasonlóan összefüggött a zonulin ellenes antitestek megjelenése az aktív CD-vel és eltűnt remisszió alatt (15).

### 5.1.2 Antimikrobiális antitestek

A glikánok glikozidkötéssel összekapcsolt, azonos monoszacharid egységekből felépülő oligoszacharidok. Jelen vannak a vörösvértestek, az immunsejtek és különféle mikroorganizmusok sejt felszínén. A humorális és celluláris immunrendszer fontos molekulái, mivel szerepet játszanak a sejtek közötti kapcsolat létrejöttében, az innate immunválaszban és az ellenük termelődő antitestek ismerik fel a patogének felszínén lévő szénhidrát komponensekből felépülő antigéneket. Ez magyarázza, hogy az a glikán ellenes antitesteket a gyulladásos és autoimmun betegségek lehetséges biomarkereként tartják számon.

A mannan ellenes antitestek közül a legtöbbet vizsgált antitest az anti-*Saccharomyces cerevisiae* antitest (ASCA IgG és IgA vagy gASCA), mely a sütő- és sörélesztőben található *Saccharomyces cerevisiae* sejt falában lévő oligomannóz struktúra ellen termelődik. Az ASCA és az egyéb mikrobiális antigének ellen termelődő antitestekről egyaránt elmondható, hogy kialakulásuk pontos mechanizmusa és jelentősége egyelőre nem tisztázott. Nem tudjuk, hogy az antitesteknek van-e szerepük a gyulladásos gastroenterológiai betegségek [mint pl. gyulladásos bélbetegségek (IBD) vagy coeliakia] immunopathogenesisében vagy megjelenésük csupán a gyulladt, áteresztő bélnyálkahártya következményének tartható.



1. ábra Glikán ellenes antitestek

A különböző mikrobiológia ágensekre adott szerológiai válasz jelenléte [pl. a *Saccharomyces cerevisiae* phosphopeptidomannan sejtfa komponense (ASCA), az *Escherichia coli* outer membrane porin C transport protein (OmpC) vagy a *Pseudomonas fluorescens* asszociált protein I2] jellegzetes Crohn-betegségben és ezen betegcsoportban intenzíven tanulmányozták az antitestek klinikai jelentőségét (16). A szeroreaktivitás jelenléte és mértéke összefüggött a szövődményes vékonybél betegséggel és a sebészi beavatkozás szükségességével (17, 18). Újabban antitest képződést mutattak ki ezen betegcsoportban a különböző glikánok ellen, amik a patogén élesztő és baktériumok glycolixának gyakori alkotóelemei (19). A mannan ellenes antitestek közé tartozik a mannobioside [Man( $\alpha$ 1,3) Man( $\alpha$ )] szénhidrát epitóp elleni IgG antitest vagy AMCA IgG is. További glikán-ellenes antitestek a laminaribioside [Glc( $\beta$ 1,3)Glc( $\beta$ )], valamint a chitobioside [GlcNAc( $\beta$ 1,4)GlcNAc( $\beta$ )] elleni antitest (ALCA IgG és ACCA IgA) (**1. ábra**).

Annak ellenére, hogy az antitestképződés háttérben álló mechanizmus vagy ezek lehetséges szerepe a patogenezisben további vizsgálatokat igényel, jelen adatok azt sugallják, hogy ezek a markerek nem a gyulladt, áteresztő bélnyálkahártya epifenoménei, hanem a bakteriális és gomba flórával szemben elvesztett toleranciát tükrözik (20). Továbbá az anti-mikrobiális antitestek megjelenése genetikai hajlamot mutathat, mert azon betegek, akiknek pozitív antitestjük van gyakran hordozzák a NOD2/CARD15 gén mutációit (19, 21, 22).

Antimikrobiális antitestképződést leírtak coeliakiában is. Az ASCA-k maradnak a legszélesebb körben vizsgált antitestek (23-27) ebben a betegcsoportban de növekvő kísérletes adatok elérhetők az újonnan felismert antitestekről is, mint pl. anti-I2 vagy anti-OmpW (*Bacteroides caccae* TonB- linked outer membrane protein) (27, 28). Az ASCA gyakorisága 27% és 59% között váltakozik a különböző tanulmányokban ami a betegek számának és életkorának valamint az antitest detektálására használható kereskedelmi assay-k közötti különbségeknek tulajdonítható.

## 5.2 Májcirrhosis

A májsejteket károsító különböző tényezők (leggyakrabban alkoholfogyasztás, vírusinfekció, nem-alkoholos steatohepatitis vagy autoimmun folyamat) hatására a májban jellegzetes szövettani elváltozások (necroinflammatio, fibrogenézis) alakulnak ki. Ezen folyamatok progressziója eredményeképp általában évek, évtizedek alatt kialakul a definitív májcirrhosis (májzsugor). A betegség előrehaladottságától függően különböző klinikai tünetek jelennek

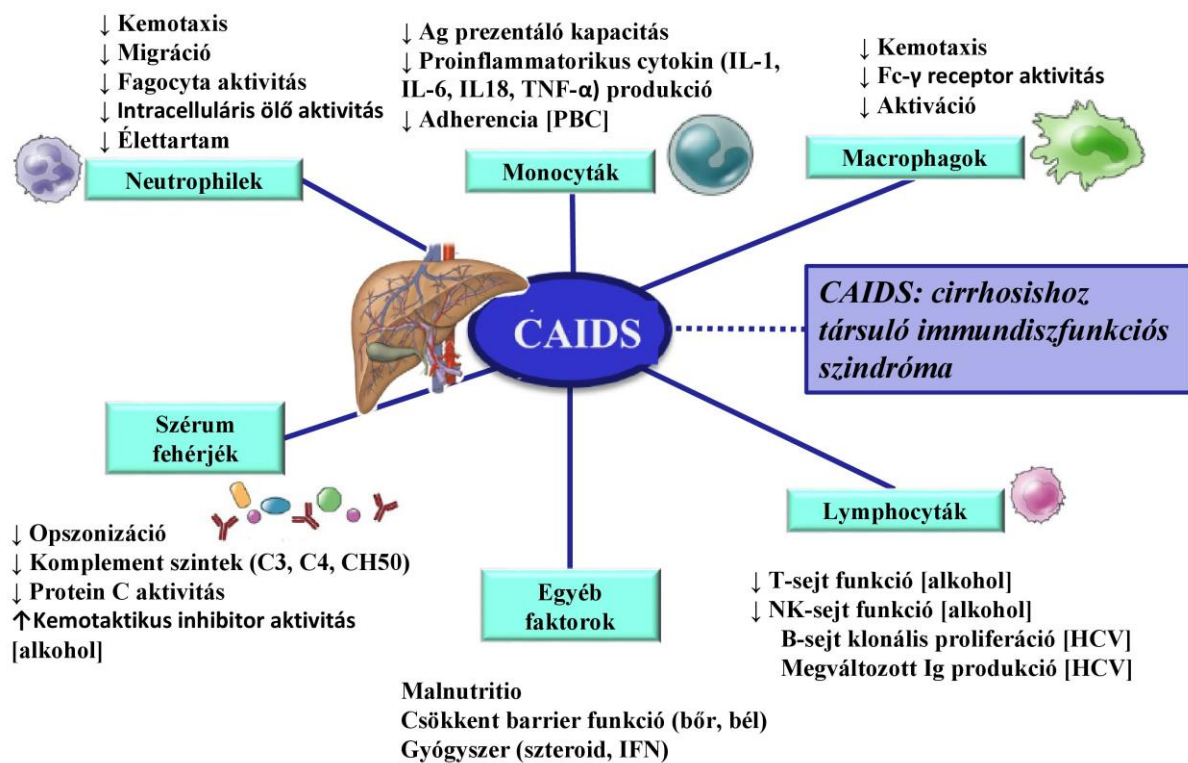
meg. Kezdeti, ún. kompenzált stádiumban a betegek tünetmentesek, klinikai jelek pl. palmáris erythema, csillagnaevusok, a máj tapintási lelete utalhatnak a májbetegségre. A cirrhosis súlyosbodásával a máj funkcionális elégtelenségének és a portális hipertenzió kialakulásának tünetei (nyelőcső varixvérzés, encephalopathia, ascites, icterus ) uralják a képet (dekompenzált stádium), míg végül kialakul a végstádiumú májelégtelenség, mely májtranszplantáció nélkül a beteg halálához vezet. A betegség előrehaladtának objektív megítélését a klinikusok által napi gyakorlatban is jól használható pontrendszerek (Child-Pugh score, MELD score) segítik (29). A krónikus progresszió alatt, gyakorlatilag bármely stádiumban jelentkezhet hirtelen, napok vagy hetek alatt kialakuló állapotrosszabbodás, azaz akut dekompenzáció (AD). Ezzel egy időben egy vagy több extrahepatikus szerv elégtelensége is kialakulhat, a mortalitás jelentősen emelkedik. Ezen klinikai szindróma a krónikus májbetegség talaján kialakult akut májelégtelenség (*acute-on-chronic liver failure*, [ACLF]). Az akut dekompenzáció leggyakoribb oka valamilyen bakteriális fertőzés, de kiválthatja alkoholfogyasztás, v.portae trombózis, gasztrointesztinális vérzés is (30).

A fejlett országokban májcirrhosis okozta morbiditás és mortalitás évről évre nő, világszerte a 14., Közép-Európában a 4. leggyakoribb halálok. Magyarországon a májcirrhosis miatti halálozás férfiaknál 103/100,000 fő/év, nőknél 32/100,000 fő/év, mely az európai országok között magasan az első helyen áll (31). Bár a vírushepatitisek kezelése során elért eredmények ezen statisztikát javíthatják, az alkoholfogyasztás mértékében nem észlelhető csökkenő tendencia, az elhízás prevalenciája is nő, ezért a krónikus májbetegségek illetve májzsugor továbbra is jelentős népegészségügyi problémát jelentenek (32).

### 5.2.1 Májcirrhosis és bakteriális infekciók

A cirrhotikus betegekben az immunrendszer több szintjén is ismert diszfunkció, ami fogékonytá teszi őket különféle bakteriális infekciókra (33). A szisztémás immunválasz majdnem minden komponense érintett (**2. ábra**). Ezen eltérések összességét a szakirodalomban cirrhotishoz társuló immundiszfunkciós szindrómának (CAID) nevezik (34).

Májcirrhotikus betegekben a klinikai állapotrosszabbodás gyakori okai különböző fertőzések (35), melyeknek alapvető szerepük van számos szövődmény kialakulásában, beleértve a varixvérzést, hepaticus encephalopathiát, veseelégtelenséget, és véralvadási zavarokat (36). Bakteriális fertőzés kialakulása a mortalitást négyszeresére növeli. A fertőzés kialakulását követő 1 hónapon belül a betegek 30%-a, 1 éven belül további 30%-uk hal meg (37). A bakteriális infekciók megelőzése kiemelkedően fontos, amihez szükséges azon betegek korai észlelése, akiknél nagy a veszély ilyen epizódok kialakulására. Hosszú idő óta csak néhány klinikai előrejelző faktor ismert, mint a Child-Pugh stádium szerint előrehaladott betegség (38), gasztrointesztinális vérzés jelenléte (39). Az utóbbi időben az immunrendszer különböző funkcióit érintő, számos genetikai polimorfizmust azonosítottak amelyeknek alapvető hatásuk van a bakteriális fertőzések kialakulására cirrhotikusban. Ezek a funkcionális eltérések tovább gyengítik a már jelenlévő immundiszfunkciót cirrhotikusban és szerológiai (40, 41), vagy single nukleotid polimorfizmuson (SNP) alapuló genetikai (42-45) módszerekkel kerültek meghatározásra. Habár a legtöbb tanulmány egy vagy két önálló markerre fókuszált és elsődlegesen a spontán bakteriális peritonitisz (SBP) kialakulásának esélyét becsülte csak meg a bakteriális fertőzések egyéb típusait nem.



2. ábra. Cirrhosishoz társuló immundiszfunkciós szindróma (CAIDS) elemei, mely egyaránt magában foglalja az innate és adaptív felismerő, effektor és szabályozó humorális és celluláris funkciókat (46)

### 5.2.2 Komplement rendszer-lektin útvonal

A komplement rendszer a veleszületett immunrendszer fontos eleme. A komplement rendszer proteolitikus kaszkádok révén végbemenő aktivációja számos immunológiai effektor funkcióhoz vezet. Gyulladásos sejtek toborzása, fagocitózis elősegítése, a sejtmembránokon membrán károsító komplex (MAC) képződése révén, valamint közvetlen módon segíti elő a későbbi adaptív immunválasz kialakulását (47).

A komplement rendszer három féle úton aktiválódhat, a klasszikus, az alternatív és a lektin útvonalon. A lektin útvonalat a mannóz –kötő lektin (MBL) vagy a fikolinok és a patogének felszínén lévő szénhidrátok közötti kötődés aktiválja (3. ábra) (48).

A lektin útvonal molekulái döntően a májban termelődnek (49) és kulcsszerepük van a gazdaszervezet természetes védelmében a kórokozókkal szemben. Mannóz-kötő lektin, a fikolinok (FCN) és a kollektinek szolubilis mintázatfelismerő molekulaként (sPRM) viselkednek, míg a mannóz-kötő lektin asszociált szerin proteázok (MASP) a patogének eliminálásának effektor molekulái (50).

A fikolinok az oligomer lektinek azon alcsoportjához tartoznak, amelyek kollagén-szerű és fibrinogén-szerű domént is tartalmaznak. A legtöbb fikolin, amit gerincesekben és gerinctelenekben azonosítottak N-acetyl glükózamint ismer fel. Az MBL-hez hasonlóan a plazmában a fikolinok is a MASP-okkal (MASP-1, MASP-2, MASP-3) és a hasított proteinjeikkel (MAP1, sMAP) alkotnak komplexet. A MASP-fikolin komplex kötődése a mikrobák felületén lévő acetylált részekhez elindítja a komplement aktivációt a lektin útvonalon. A lektin útvonal evolúciós szempontból meglehetősen konzervált, alkotóelemei számos fajban megtalálhatók, ez szintén a kiemelt jelentőségét támasztja alá (51). Humán vizsgálatok során eddig három fikolint azonosítottak: L-fikolin (**FCN-2**), H-fikolin (**FCN-3**), és M-fikolin (**FCN-1**) (4. ábra)

Az **L-fikolin** (más néven P35, fikolin-2, **FCN-2**, EBP-37 vagy hucolin) a májban termelődik és a vérben kering (52). Az L-fikolin felismeri az acetyl csoportot tartalmazó anyagokat, mint pl. N-acetyl-glükózamint (GlcNAC) és a béta-(1-3)-D-glucan-t is. Számos baktériumhoz kötődik, (pl. Salmonella typhimurium, E. coli, S. aureus, S. pneumoniae) felismerve a lipopoliszacharidjaikat, lipotheikolsavjukat és a tok poliszacharidjaikat (53).

A **H-fikolin** (más néven fikolin-3, **FCN-3**, Hakata antigén, béta<sub>2</sub> thermolabilis makroglikoprotein) mRNS-e a májban és a tüdőben expresszálódik. A májban a H-fikolin a hepatocytákban és az epevezeték epithelialis sejtjeiben keletkezik, az epébe és a szérumba szekretálódik (54). A tüdőben a bronchusok csillós epitheliális sejtjeiben és a II-es típusú alveoláris epitheliális sejtekben is termelődik és a bronchusokba és az alveolusokba szekretálódik. H-fikolin is felismeri az acetyl csoportot, csakúgy mint az L-fikolin, de az L-fikolinnal összevetve a H-fikolinnak kisebb a baktériumkötő specificitása (53).

Az **M-fikolin** (más néven fikolin-1,FCN-1, p35-related protein) mRNS-e expresszálódik a monocytákban, tüdőben, lépben (55-57). M-fikolin proteint találtak a monocyták és granulocyták felszínén, valamint a perifériás neutrofil sejtek citoplazmájában, monocytákban és a tüdő II-es típusú alveoláris sejtjeiben (58). A plazmában is jelen van alacsony koncentrációban (59). Egyelőre ismeretlen, hogy a plazma M-fikolin komplexet képez-e a MASP-pal (58).

Eddig két betegséggel hozták összefüggésbe a H-fikolin deficienciát. Munthe-Fog először írt le egy beteget ismétlődő infekciókkal, aki homozigóta volt a H-fikolin gén (FCN-3) mutációra (1637delC). Ez H-fikolin deficienciához vezetett a plazmában (60). Az FCN-3 génnek ugyanezt a mutációját H-fikolin deficienciával találták koraszülötteknél nekrotizáló enterocolitisben (61).

## **Fikolin deficiencia**

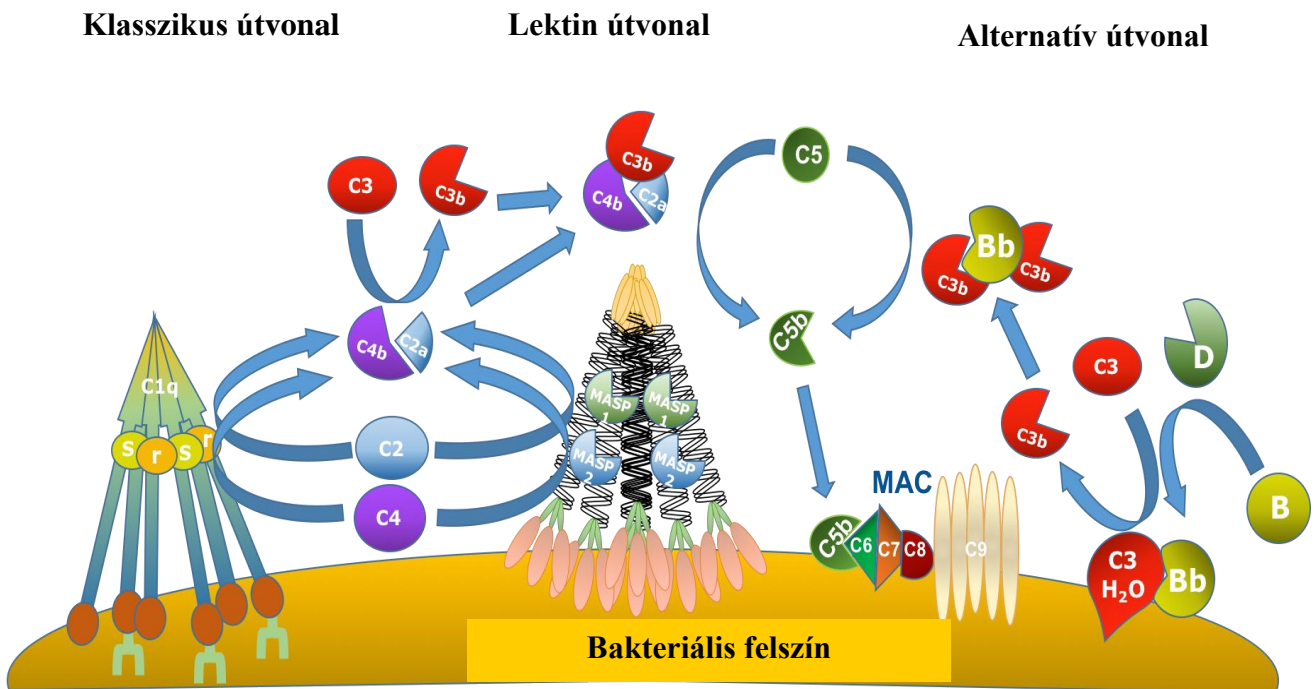
AZ MBL-hez hasonlóan a szérumban a fikolin szintek is nagy változékonyságot mutatnak egészséges emberekben. Eddigi vizsgálatok alapján ennek egyrészt genetikai okai lehetnek, minden egyes humán fikolin génnek számos single nucleotid polimorfizmusa (SNP) ismert melyek eredményeként a szérumszintek, illetve a ligand kötő aktivitások változhatnak. Másrészt egyéb faktorok, pl. infekciók vagy autoimmun betegségek is befolyásolhatják a szérumban a fikolin szinteket (62).

## **MASP**

A mannóz kötő lektin (MBL)- asszociált szerin proteázok (MASP) közé tartoznak a MASP-1, MASP-2, MASP-3 valamint a hasított proteinjeik (MAP1 és sMAP). A lektin rendszer fő aktivátora a MASP-2, mely az MBL-lel, a H-és L-fikolinnal komplexet képezve kering a plazmában. A MASP-2 akkor aktiválódik, ha az MBL vagy a fikolinok kötődnek a patogén asszociált molekuláris mintázathoz, ezt követően a MASP-2 tudja hasítani a C2 és C4-et, ezáltal létrejön a C3 konvertáz, C4bC2b. A MASP-1 a MASP-2 aktivációját segíti elő, a MASP3 szerepe még nem teljesen tisztázott. A MAP1 és sMAP nem rendelkezik enzimatis aktivitással, pontos funkciójuk még kevésbé ismert, feltehetően regulatorikus szerepük van. A MASP-2 főként a májban szintetizálódik (63). Öröklött MASP-2 deficiencia ritka állapot, különböző fertőzésekkel való összefüggését kis esetszámon írták le (64, 65).

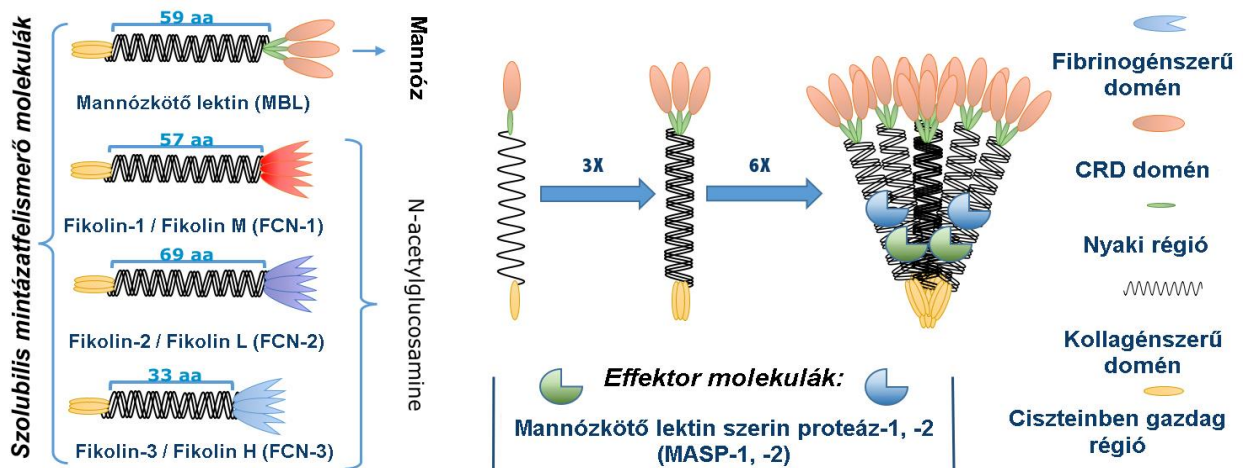
A lektin rendszer funkcionális proteinjeinek alacsony szintje növeli a különböző fertőzések kialakulásának veszélyét, főképp immundeficiens állapotokban (62, 66, 67). A lektin útvonalat alkotó molekulák deficienciájának és a cirrhotikus betegek fertőzőes epizódjainak összefüggése meglehetősen logikusnak tűnik, de eddig alig vizsgálták. Munkacsoportunk korábban bemutatta, hogy az abszolút MBL deficiencia rizikófaktor a klinikailag jelentős bakteriális infekciók (CSI) kialakulására nézve függetlenül a betegség súlyosságától és a társbetegségek előfordulásától (41). Továbbá Chong és mtsai kis tanulmányában az MBL2 deficiens genotípus hajlamosította a betegeket a hepatitis B vírus indukálta cirrhosis esetén SBP kialakulására (68).

Munkánk során a lektin rendszer elemei közül a FCN-2 és FCN-3-t, valamint a MASP-2-t vizsgáltuk, azért mert az eddigi irodalmi adatok alapján a lektin útvonal aktivációjában főszerepet töltenek be, illetve ezen molekulák főképp a májban termelődnek.



3. ábra A komplement rendszer részei és aktiválódása

A lektin útvonalon a lektin-MASP komplex kötődik a pathogénekhez, ami a C4 és C2 aktivációját eredményezi, ezáltal létrehozza a C3 konvertázt, ami képes a C3-at aktiválni. Ezt követően közös kaskádútvonalon folytatódik az aktiváció, mely végül a MAC (mebrane attack complex) létrejöttéhez és a pathogén líziséhez vezet



4. ábra A lektin rendszer mintázatfelismerő molekuláinak szerkezete

A ficolinok az oligomer lektinek azon alcsoportjához tartoznak, amelyek kollagén-szerű és fibrinogén-szerű domént is tartalmaznak.

**CRD:** cysteine-rich domain, az MBL molekula N-terminális doménja

A 3. és 4.-es ábra saját szerkesztésű, felhasznált irodalom:(48, 65)

## **6. Célkitűzések**

### **Coeliakiás betegcsoport**

Feltételeztük, hogy az újonnan felismert, IBD asszociált antimikrobiális antitestek (magában foglalva a glikán-ellenes és anti-OMP antitesteket) fontosak coeliakiában és célul tűztük ki ezen antitestek előfordulási gyakoriságának meghatározását egy felnőtt magyar betegcsoportban, vizsgálva az összefüggést a klinikai megjelenéssel, a gluténmentes diétával és a NOD2/CARD15 mutációval.

### **Májcirrhosisos betegcsoport**

Jelen vizsgálatban célul tűztük ki a lektin útvonal különböző molekuláinak szérumszint meghatározását stabil cirrhosisos járóbetegek nagy kohorsz vizsgálatában és kerestük a betegség specifikus jellemzőkkel való összefüggéseket. Ezen felül 5 éves utánkövetéses vizsgálatban célunk volt értékelni, hogy a lektin útvonal különböző molekuláinak szérumszintjei cirrhosisban a klinikailag szignifikáns bakteriális infekciók kialakulására nézve kockázati tényezőnek tekinthetők-e.

## **7. Betegek és módszerek**

### **7.1 Betegcsoportok**

#### **7.1.1 Coeliakiás betegek**

190 nem rokon, felnőtt, magyar, duodenum biopsziával igazolt coeliakiás beteget (férfi/nő: 71/119, átlagéletkor: 39,9 év, SD: 14,1) és ezen betegek 66 első fokú rokonát (testvérek, átlagéletkor: 37,7 év, SD:13,9) vizsgáltunk. A coeliakia diagnózisa súlyos boholyatrophiát és crypta hyperplasiát (Marsh III típusú lézió) mutató vékonybél biopszián és emelkedett szérumszintű transzglutamináz (TGA) és endomysium (EMA) elleni antitestszinteken alapult.

IgA és IgG osztályú EMA-t vizsgáltunk human köldökzsinór szubsztráton a korábban már leírt indirekt immunfluoreszcens módszer használatával (69). A TGA mérése enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) módszerrel történt humán rekombináns *Escherichia coli* (70, 71) által expresszált antigén segítségével.

A 190 betegből 82 beteg szérumát a diagnózis idejében gyűjtöttük (CD1 csoport) és ezek közül további 30 beteg szérumszintjét újraértékeltek ugyanezen antitestekre hosszantartó gluténmentes diéta után. A medián követési idő ezek között a mintagyűjtések között 28,5 hónap volt [interquartile range (IQR):18-52]. A fennmaradó 108 esetben a coeliakia diagnózisát korábban megállapították, vizsgálatunk előtt a betegek szoros gluténmentes diétát tartottak. Ezt a 108 beteget további két külön csoportra osztottuk a jelenlegi TGA és EMA

státusnak és a mintagyűjtés alatti diétás compliance-nek megfelelően. 33 betegnek továbbra is pozitív volt az EMA és TGA eredménye (CD2 csoport) a medián átlagos 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 titere volt (CD3 csoport), medián követési idő: 21 hónap (IQR: 6-85).

Részletes klinikai adatokat gyűjtöttünk a betegség diagnózisakor észlelt klinikai megjelenési formájáról amit az alábbiak szerint osztályoztunk: (1) súlyos, generalizált malabsorptio ( legalább négy tünet jelenléte az alábbi ötből: hasmenés, hasfeszülés, fogyás, anaemia, hypoproteinaemia); (2) nem specifikus gastrointestinális tünetek, amik nem befolyásolták az általános állapotot (hasmenés, székrekedés, puffadás, visszatérő hasi fájdalom vagy hányás, nyelőcső reflux); (3) vashiányos anaemia jelentős hasi panaszok nélkül; (4) dermatitis herpetiformis; (5) tünetmentes betegség (populációs szűrés); (6) egyéb (autoimmun betegségek, csökkent csontsűrűség, májbetegség, idegrendszeri betegség). A betegeket ezen prezentációs csoportokhoz rendeltük hozzá prospektív módon a diagnózis során klinikai és rutin laboratóriumi módszerek felhasználásával.

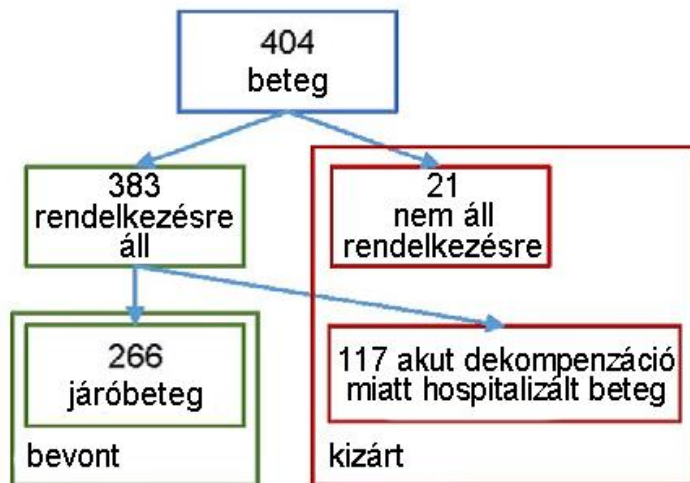
A kontroll csoport 100 egészséges, etnikailag egyező véradó egyénből állt ( férfi/nő: 47/53, átlagéletkor: 36,6 év, SD: 9,1) A kontroll egyének esetén részletes belgyógyászati fizikális vizsgálat, vérnyomásmérés és rutin laboratóriumi vizsgálatok történtek az esetleges rejtett betegségek kizárására. Egy második- nem coeliakiás, de egyéb gastrointestinalis betegségben szenvedő- kontroll csoportot is összeállítottunk. Ez 48 irritábilis bél szindrómában vagy gyulladás nélküli diverticulosisban szenvedő betegből állt (férfi/nő arány: 22/26, átlagéletkor:  $40,4 \pm 16,1$  év). A coeliakia kizárása a controlok esetében EMA és TGA negativitáson alapult. A kontroll személyek egyikének sem volt coeliakiára pozitív családi anamnézise. További összehasonlításokat végeztünk a korábban publikált Crohn-beteg csoporttal, akikben ugyanezen antitesteket korábban vizsgáltuk (72).

### **7.1.2 Májcirrhosisos betegek**

Kohorsz vizsgálatot végeztünk különböző etiológiájú definiált cirrhosisos felnőtt betegek körében magyarországi, terciér ellátási szintű központban (Debreceni Egyetem Klinikai Központ, Gasztroenterológiai Tanszék). A cirrhosis diagnózisa klinikai, biokémiai, képalkotó, és amennyiben elérhető volt szövettani adatokon alapult.

Jelen tanulmányba bevont betegek munkacsoportunk azon 404 fős betegcsoportjának részét képezik, akiket 2006. május 1. és 2010. december 31. között járóbeteg szakrendelésen rendszeres vagy rendkívüli követéses vizit alkalmával valamint akut dekompenzációs (AD)

epizód miatt osztályon vizsgáltunk. (73). Kizárási kritériumok voltak (1) ha a beteg, vagy a törvényes képviselője elutasították a vizsgálatban való részvételt és nem írták alá a beleegyező nyilatkozatot (2), ha a beteget csak konzultáció céljából küldték szakrendelésre, és egyébként valahol máshol követik. Jelen vizsgálathoz 378 beteg szérummintája volt elérhető (266 járóbetegé és 117 AD epizód miatt hospitalizált betegé). További szerológiai értékelés során a stabil járóbetegeket vontuk be a vizsgálatba, míg az AD-s betegeket kizártuk (**5. ábra**). Akut dekompenzációnak definiáltuk a megszokott kritériumok szerint az alábbi események közül egy vagy több kombinációját: nagy mennyiségű ascites kifejlődése (II/III stádium) (74), akut hepatikus encephalopathia (75), akut gasztrointesztinális vérzés (76) és/vagy szisztémás bakteriális infekció jelenléte. Refrakter asciteses betegek sem kerültek bevonásra.



### 5. ábra A vizsgálatba bevont cirrhotikus betegek

A vizsgálatba bevont betegek klinikai jellemzői az **1. táblázat**ban láthatók. A vérminták levételét követően rutin laboratóriumi adatok és részletes klinikai fenotípus meghatározás a vizsgálatba bevonáskor megtörténtek. A klinikai adatokat strukturált interjú elvégzésével, a betegek orvosi eseteinek részletes összefoglalásával határoztuk meg. Az orvosi dokumentációt, -ami tartalmazta a diagnóziskori életkort, etiológiát, nyelőcső varixvérzés, korábbi AD epizódok, hepatocelluláris carcinoma előfordulását, extrahepatikus társbetegségek jelenlétét-, illetve cirrhotishoz kapcsolódó gyógyszeres kezelést retrospektív módon elemeztük a követéses tanulmány előtti időszakra vonatkozóan. Beválasztáskor a betegség súlyosságának megállapítása májspecifikus pontrendszerek (Child-Plug és MELD) segítségével történt, valamint meghatároztuk a klinikai stádiumot is (kompenzált/dekompenzált) (77).

## **A betegek fenotípusának jellemzése a követés során**

Olyan betegeket vontunk be a követéses vizsgálatba, ahol a kezelő gasztroenterológus regisztrálta a kórházi felvételt igazoló AD időpontját és típusát. A követési időszak 5 évig vagy halálozásig/követésből kiesésig tartott. 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 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.

Klinikailag szignifikáns bakteriális infekció (CSI) megjelenése gondosan elvégzett vizsgálatokon alapult. Értékeltek a megfelelő klinikai jeleket és tüneteket, laboreredményeket (leukocytá szám, nagy érzékenységű C-reaktív protein [CRP] és procalcitonin [PCT]) vizelet(üledék) vizsgálat eredményét illetve képalkotó vizsgálatokat végeztünk (hasi ultrahang és mellkas röntgen). Ha ascites jelen volt, a diagnosztikus paracentesis (neutrofil szám és ascites tenyésztés) eredményeit minden AD epizód esetén figyelembe vettük. A fenti vizsgálatok eredményein alapulva a különböző specifikus helyekről levett tenyésztések (köpet, vizelet, sebváladék) is rendelkezésre álltak az infekció lokalizációjának igazolására. Haemokultúrát vettünk szepszis esetén, vagy ha az infekcióforrás helye világosan nem volt azonosítható. A laboratóriumi eredményeket tekintve emelkedett fehérvérsejt szám (abszolút: >10,8 G/L vagy relatív [azon betegeken akik leukopeniások]: a korábbi vizitthez képest kétszeres mennyiség) emelkedett neutrophil aránnyal (>76%) és emelkedett szérum CRP (>10,0 mg/L) és/vagy PCT (>0,15 µg/L) (78) infekcióban a diagnózist támogatják. A bakteriális infekciók jellemzése a továbbiakban a hagyományos kritériumok szerint történt (79-82).

- (1) Spontán bakteriális peritonitisz: ascitesben neutrophil sejtszám >250/mm<sup>3</sup> és/vagy pozitív haemokultúra egyéb intra-abdominális fertőzésforrás nincs jelen.
- (2) Húgyúti fertőzés: dysuria, pyuria jelenléte (leukocytá >10/mm<sup>3</sup>) és pozitív vizelettenyésztés
- (3) Tüdőgyulladás: köhögés és köpet jelenléte, pozitív mellkas röntgen, pozitív köpettenyésztés.
- (4) Egyéb: bőr és lágyrész, epeúti, szájüregi és emésztőszervi fertőzések, osteomyelitis, endocarditis.
- (5) Ismeretlen eredetű bakteriális infekció: pozitív haemokultúra elhelyezkedés- specifikus fertőzés nélkül.

Az egészséges kontroll csoport 160 egészséges kor és nem szerint illesztett egyénből állt

(férfi/nő: 72/88, életkor: 51,5±16,9 év) akiket véletlenszerűen választottak ki Debrecenben. A kontroll egyéneknek nem volt semmiféle gasztrointesztinális vagy májbetegsége.

**1. táblázat. A májcirrhotikus betegek klinikai jellemzői**

	<b>Összes</b>	<b>Alkoholos eredetű cirrhosis</b>	<b>Nem-alkoholos eredetű cirrhosis</b>
<b>Betegek</b>	266	170	96
<b>Nemek (férfi/ nő)</b>	133/133	91/79	42/54
<b>Életkor (évek)<sup>a</sup></b>	56 (49-64)	53 (47-64)	57 (51-63)
<b>Child-Pugh stádium, n(%)</b>			
<b>A</b>	148 (55,6)	83 (48,8)	65 (67,7)
<b>B</b>	101 (38,0)	75 (44,1)	26 (27,1)
<b>C</b>	17 (6,4)	12 (7,1)	5 (5,2) <sup>#</sup>
<b>MELD score (pontok)<sup>a</sup></b>	11 (8-14)	12 (9-14)	10 (7-13) <sup>#</sup>
<b>Serum bilirubin (µmol/L)<sup>a</sup></b>	27 (16-42)	28 (18-44)	22 (13-37) <sup>#</sup>
<b>Serum albumin (g/L)<sup>a</sup></b>	38 (33-42)	37 (32-42)	39 (34-44) <sup>#</sup>
<b>INR<sup>a</sup></b>	1,2 (1,1-1,3)	1,2 (1,1-1,3)	1,1 (1,1-1,3) <sup>#</sup>
<b>Ascites , n(%)</b>	96 (38,1)	74 (43,5)	22 (22,9) <sup>#</sup>
<b>Dekompenzált stádium n (%)</b>	133 (50)	103 (60,6)	30 (31,3) <sup>#</sup>
<b>Társbetegségek, n(%)</b>	136 (51,1)	91 (53,5)	45 (46,9)
<b>HCC, n(%)</b>	26 (9,8)	16 (9,4)	10 (10,4)
<b>Korábbi CSI, n(%)</b>	97 (36,5)	71 (41,8)	26 (27,1) <sup>#</sup>

CSI:(clinically significant bacterial infection) klinikailag jelentős bakteriális infekciók ; HCC: hepatocellularis karcinoma; INR: international normalized ratio; <sup>a</sup>median, IQR (legalacsonyabb 25% - legmagasabb 25%)

<sup>#</sup>p<0,01 alkoholos és nem-alkoholos eredetű cirrhotikus betegek között

p értékeket Mann-Whitney U-test, Fisher's exact teszttel vagy  $\chi^2$ -teszttel Yates korrekcióval számoltuk

## **7.2 Laboratóriumi módszerek**

### **7.2.1 Coeliakiás betegek**

#### **7.2.1.1 Antimikrobiális antitestek meghatározása**

##### ***A gASCA IgG, AMCA IgG, ALCA IgG, ACCA IgA ellenanyag meghatározása***

A vizsgálatokhoz perifériás vérből nyert szérummintákat használtunk, melyeket a felhasználásig  $-80^{\circ}\text{C}$ -on tároltunk. Az antimikrobiális antitestek jelenlétének meghatározásához kereskedelmi forgalomban kapható kiteket használtunk a gyártó útmutatása szerint a gASCA IgG, AMCA IgG, ALCA IgG, ACCA IgA (IBDX®, Glycominds Ltd., Lod, Israel) meghatározásra. Ltd., Lod, Israel) meghatározásra.

A vizsgálathoz részlegesen tisztított *S. cerevisiae* antigénnel, mannobiosiddal, laminarbiosiddal, illetve chitobiosiddal bevont mikrotiter ELISA lemezt használtunk. A betegek mintáit 1:101-es arányban hígítottuk IBDX™ mintahígító oldattal, majd duplikátumok formájában vittük fel. gASCA IgG, AMCA IgG, ACCA IgA, ALCA IgG kalibrátor, pozitív és negatív oldatokat használtunk minden futtatás során. A vizsgálatokat szobahőmérsékleten végeztük. A minták felvitelét követően a lemezeket 30 percig inkubáltuk, majd háromszori mosást követően anti-humán, HRP (horseradish peroxidase) IgA illetve IgG konjugátumot adtunk hozzá, mellyel 30 percig inkubáltuk. A szín előhívásához TMB (tetrametil-benzidin-dihidroklorid) kromogén szubsztrátot használtunk, a reakció terminálása HRP stop oldattal történt. Az optikai denzitási értékek leolvasását 450 nm-en végeztük Labsystem Multiscan MS készülékkel (Thermo Scientific, Budapest, Magyarország) a leállítás után azonnal.

Az eredményeket tapasztalati egységekben fejeztük ki, amit a minta és a kalibrátor optikai denzitásából (OD) számoltunk ki. Az eredményeket önkényes egységben a gyártó által megadott egyenlet segítségével fejeztük ki. A pozitív küszöbértékeket a saját és korábbi vizsgálatok ROC (=Receiver Operating Characteristic) analíziséből határoztuk meg a gyártó cég közreműködésével. A küszöb (cut-off) érték gASCA IgG esetén 50U/ml, AMCA IgG esetén 100U/ml, ALCA IgG esetén 60U/ml és ACCA IgA esetén 90U/ml volt. Ezen értékek alatt mért mintákat negatívnak tekintettük. Az eredményeket mind abszolút értékben, mind pedig a pozitivitás gyakoriságában megadtuk.

##### ***Anti-OMP ellenanyag meghatározás***

Az anti-OMP IgA meghatározás ELISA módszerrel történt szintén kereskedelmi forgalomban kapható kittel a gyártó útmutatása szerint (QUANTA Lite OMP PLUS ELISA, INOVA Diagnostics, San Diego, CA). A vizsgálathoz OMP-Plus antigénnel bevont polisztrén

mikrotiter ELISA lemez-t használtunk. A betegek mintáit 1:101-es arányban hígítottuk HRP mintahígító oldattal, majd duplikátumok formájában vittük fel. Előhígított alacsony OMP pozitív, magas OMP pozitív és OMP negatív gyári kontrollokat használtunk minden futtatás során. A minták felvitelét követően a lemezeket 30 percig inkubáltuk szobahőmérsékleten. Háromszori mosást követően kecske, anti-humán, HRP IgA konjugátumot adtunk hozzá, majd ismételten 30 percig szobahőmérsékleten, majd TMB kromogén hozzáadása után sötétben 30 percig inkubáltuk, a reakciót 0.344M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> oldattal termináltuk. Az optikai denzitási értékek leolvasását 450 nm-en végeztük Labsystem Multiscan MS készülékkel (Thermo Scientific, Budapest, Magyarország) a leállítás után azonnal.

Az eredményeket itt is tapasztalati egységekben (U/ml) fejeztük ki, a pozitív cut-off érték 25 U/ml volt. Ezen értékek alatt mért mintákat negatívnak tekintettük. Az eredményeket mind abszolút értékben, mind pedig a pozitívitás gyakoriságában megadtuk.

### ***NOD2/CARD15 mutációk detektálása***

134 CD beteg és 100 egészséges egyén volt alkalmas a NOD2/CARD15 mutáció analízisre. Major NOD2/CARD15 mutációk (SNP8, 12 és 13) a korábban leírtak szerint lettek meghatározva (18) denaturáló nagy teljesítményű folyadék kromatográfiával (dHPLC, Wave DNA Fragment Analysis System, Transgenomic Limited, UK). A dHPLC profilban észlelt szekvencia-variáció szekvenálása mindkét szálon elvégzésre került a módosulás igazolásának céljából. A szekvenálási reakciókat az ABI BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit v1,1 (Applied Biosystems, Foster City, CA) segítségével végeztük el, míg a minták szekvenálásához az ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) eszközt alkalmaztuk. A vizsgálatok az Országos Vérellátó Szolgálat Molekuláris Diagnosztikai Laboratóriumában történtek Dr. Andrikovics Hajnalka és Dr. Tordai Attila segítségével.

## **7.2.2 Cirrhotikus betegek**

### **7.2.2.1 Lektin rendszer vizsgálata**

Vérmintákat vettünk minden egyes betegtől a bevételekor és  $-70^{\circ}\text{C}$ -on fagyaszttva tároltuk a vizsgálatokig. A MASP-2 szérumszintjét solid-phase enzyme-linked immunoassay (ELISA)-vel határoztuk meg, a gyártó utasításainak megfelelően. (Hycult Biotechnology, Uden, Netherlands). A mintákat ugyanazon a lemezen duplikátumokként mértük, és az átlagértékeket használtuk fel. A futtatások között a variációs koefficiens (CV) 8% volt. A detektálás határa  $1,6\text{ ng/mL}$  volt. Irodalmi adatok alapján a  $<100\text{ng/mL}$  MASP-2 szintet tekintettük MASP-2 deficiensnek (83).

### **Az L-fikolin (FCN-2) és H-fikolin (FCN-3) szérumszintjének meghatározása**

A Fikolin-L és Fikolin-H koncentrációk meghatározására szendvics ELISA módszereket állítottunk be. A lapos aljú, nagy kötőkapacitású mikrotiter lemezeket (Greiner Bio-One Hungary, Mosonmagyaróvár, Magyarország) karbonát/bikarbonát pufferben ( $\text{pH}=9,6$ ) hígított,  $0,75\text{ }\mu\text{g/mL}$  koncentrációjú monoklonális egér anti-humán Fikolin-L (GN4 klón) és Fikolin-H (4H5 klón) antitestekkel (HyCult Biotechnology, Uden, Hollandia) fedtük, és  $37^{\circ}\text{C}$ -on inkubáltuk 6 órán keresztül. A beteg, illetve kontroll mintákat a Fikolin-L esetében 10-szeres, a Fikolin-H esetében 1000-szeres hígításban, duplikátumok formájában vittük fel. Standardként rekombináns human Fikolin-L-ből és Fikolin-H-ből (R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA) készült hígítási sort használtunk. A felvitel után a lemezt egy éjszakán át inkubáltuk  $+4^{\circ}\text{C}$ -on nedves kamrában. Háromszori mosást követően  $0,15\text{ }\mu\text{g/mL}$  koncentrációjú biotinált poliklonális kecske anti-humán Fikolin-L és Fikolin-H antitesteket (R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA) vittünk a lemezekre, melyeket 0,1%-os borjú szérum albumint (BSA) tartalmazó PBS-pufferrel ( $\text{pH } 7,4$ ) hígítottunk, és 2,5 órán keresztül inkubáltunk, nedves kamrában, szobahőmérsékleten. Újabb mosás után 1000-szeres hígítású Avidin-Biotin- peroxidáz konjugátummal (Vectastain, Vector Laboratories Inc., Burlingame, CA) inkubáltuk a lemezt 30 percen keresztül nedves kamrában. A szín előhívására tetrametil-benzidin-dihidroklorid (Sigma–Aldrich, Schnellendorf, Németország) oldatot használtunk, és a reakciót  $2\text{M H}_2\text{SO}_4$  oldattal termináltuk. Az optikai denzitási értékek leolvasását  $450\text{ nm}$ -en végeztük Labsystem Multiscan MS készülékkel (Thermo Scientific, Budapest, Magyarország) a leállítás után azonnal. Az eredmények kiszámítását a Genesis program segítségével végeztük négy pontos logisztikus görbeillesztés felhasználásával.

Duplikált minták esetén amennyiben a koefficiens variáció (CV)>20%, ismételt mérés történt. Futtatások között a CV 17% FCN-2 és 14% volt FCN-3-ra nézve. A detektálás határának a legalacsonyabb standard koncentrációkat tekintettük. Mivel a fikolin deficienciának nincs definíciója jelen vizsgálatban FCN-2 (<427ng/ml) és FCN-3 (<4857ng/ml) alacsony szintek meghatározása önkényesen a betegek szérum szintjének 25%-ának megfelelően történt.

A méréseket a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Laboratóriumi Medicina Intézetben vakon végeztük, az egyes betegek klinikai adatainak és pontosabb diagnózisainak ismerete nélkül.

### **7.3 Statisztikai elemzés**

#### **Coeliakiás betegcsoport**

A normalitás vizsgálatot Shapiro Wilk's W teszt segítségével végeztük. A coeliakiás betegek és a kontrollok, valamint az egyes coeliakia alcsoportok adatainak összehasonlítására T-próbát különböző varianciájú csoportokra, illetőleg  $\chi^2$ -próbát alkalmaztunk helyenként Yates-korrekcióval, valamint valószínűségi változó (LR) meghatározást is végeztünk. Szenszitivitást, specificitást, pozitív (LR+) és negatív valószínűségi változót (LR-) számoltunk 95%-os konfidencia intervallummal (95%CI), hogy meghatározzuk a gASCA IgG, AMCA IgG, ALCA IgG, ACCA IgA és anti-OMP antitestek és azok kombinációjának prediktív értékét a coeliakiás betegek és a kontrollok elkülönítésére. Spearman féle korrelációs analízist alkalmaztunk annak eldöntésére, hogy van-e összefüggés a coeliakia specifikus antitestek és az antimikrobiális antitestek szintje között. Különböző becsült varianciával rendelkező független változókon végzett kétmintás t próbát, illetve varianciaanalízist és post-hoc Scheffé-próbát alkalmaztunk a glikán ellenes antitest titerek és a diagnózis klinikai tünetei közötti összefüggés elemzésére. A  $p < 0,05$  értéket tekintettük szignifikánsnak. A statisztikai analízis SPSS13,0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) programmal.

#### **Májcirrhosisos betegcsoport**

A folyamatos változók eloszlását Shapiro-Wilk W-teszt segítségével vizsgáltuk. Az adatok bemutatása eloszlás szerint medián (25-75 percentilis tartomány), átlag  $\pm$  szórás illetve esetszám (%) formában történt.

Kategorikus változókat hasonlítottunk össze a Fisher exact teszttel vagy  $\chi^2$  teszttel Yates korrekcióval. Folyamatos változók összehasonlítására Mann-Whitney U tesztet vagy  $>2$

csoport esetén a Kruskal Wallis H-tesztet használtuk Dunn post-hoc teszttel. A párminták összehasonlítását Wilcoxon féle rang teszttel végeztük. A folyamatos változók közötti összefüggés megállapításához Spearman korrelációt használtunk.

A kategorikus klinikai változók vagy a lektin útvonal molekuláinak szérum szintjei és a követési idő alatti kedvezőtlen betegségkimenetek közötti összefüggéseket Kaplan-Meier analízissel és univariációs Cox regressziós analízissel vizsgáltuk. A különböző alcsoportok szignifikanciáját log-rank teszttel értékeltük. A független rizikófaktorok azonosításához multivariációs analízist végeztünk backward eliminációval és valószínűségi arány teszttel (LRT). Az összefüggéseket kockázati hányadokként [hazard ratio-HR] 95% konfidencia intervallummal [CI] adtuk meg

A statisztikai elemzésekhez az SPSS Statistics 22,0 [SPSS, Chicago, IL] az adatok ábrázolásához a GraphPad Prism 6 [San Diego, CA programokat használtuk.

A különbséget statisztikailag szignifikánsnak akkor tekintettük, ha a kétszemponos p érték $<0,05$  volt.

### **Etikai engedélyek**

A vizsgálatokat a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Regionális és Intézményi Kutatásetikai Bizottságának engedélyével végeztük (DEOEC RKEB/IKEB: 2600-2007 és DEOEC RKEB/IKEB 5306-9/2011, 3885/2012/EKU [60/PI/2012]). A betegek és a kontroll személyek a vizsgálatokról részletes szóbeli és írásbeli tájékoztatást kaptak és aláírták a beleegyező nyilatkozatot.

## 8. Eredmények

### 8.1 Antimikrobiális antitestek vizsgálata coeliakiában

#### *Glikán ellenes és anti-OMP antitestek jelenléte a coeliakia diagnózisának felállításakor*

A gASCA, AMCA és ACCA ellenanyagok gyakorisága szignifikánsan magasabb volt a coeliakia diagnózisának felállításakor, mint az egészséges és a gastrointestinalis kontrollokban (2. táblázat, 6. ábra). Az ALCA IgG és anti-OMP esetén azonban a kontroll csoportokhoz hasonló eredményeket kaptunk. Mivel az antitestek előfordulási gyakoriságának tekintetében nem találtunk különbséget az egészséges és a gastrointestinalis kontrollok között, ezért a későbbi összehasonlításokhoz csak az egészséges kontroll személyek adatait használtuk. A javasolt cut-off értékeket alapul véve kiszámítottuk a különböző markerekre vonatkozó specificitást és szenzitivitást. A coeliakiás betegek 65,9%-a volt pozitív legalább egy vizsgált ellenanyagra a diagnózis időpontjában. Az ALCA-t kivéve az összes glikán kezeletlen coeliakiára specifikusnak mutatkozott. A szenzitivitás összességében azonban alacsony maradt (gASCA: 39%, AMCA: 35,4%, ACCA: 37,8%).

**2. táblázat Antimikrobiális antitestek gyakorisága coeliakiás betegekben és egészséges kontroll csoportban n(%)**

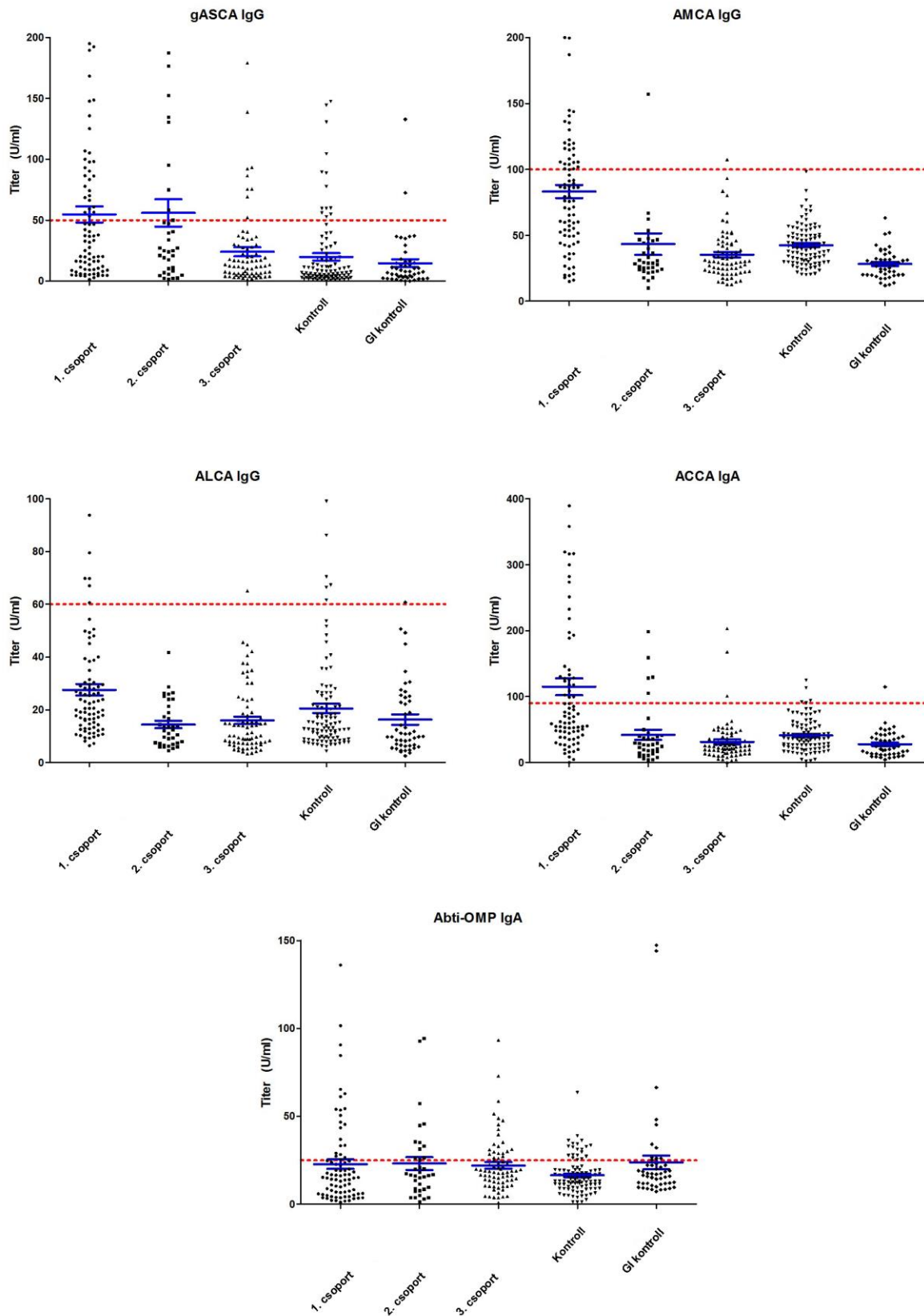
	CD1 csoport	CD2 csoport	CD3 csoport	Egészséges kontroll csoport	GI kontroll
n	82	33	75	100	48
TGA IgA (U/mL) (median; IQR)	54,3 (20,2-100)	32,2 (9,9-73,1)	2,7 (2,2-3,7)	-	-
gASCA IgG	32 (39,0) <sup>b,f,j</sup>	12 (36,3) <sup>d,f,l</sup>	10 (13,3)	14 (14)	2 (4,2)
AMCA IgG	29 (35,4) <sup>b,f,j,n</sup>	3 (9,1)	1 (1,3)	0 (0)	0 (0)
ALCA IgG	7 (8,5)	0 (0)	0 (0)	6 (6)	1 (2,1)
ACCA IgA	31 (37,8) <sup>b,f,j,n</sup>	4 (12,1)	3 (4,2)	6 (6)	1 (2,1)
bármely glikán pozitív	54 (65,9) <sup>b,f,j,p</sup>	15 (45,4) <sup>d,f,l</sup>	15 (20)	21 (21)	4 (8,4)
anti-OMP IgA	22 (26,8)	11 (33,3)	23 (30,7)	20 (20)	11 (22,9)

CD1: újonnan diagnosztizált coeliakiás betegek CD2: nem kellően hosszú ideje vagy eredménytelenül diétázó coeliakiás betegek CD3: szigorú diétát tartó coeliakiás betegek

<sup>b</sup>P<0,001, <sup>d</sup>P<0,001, CD1 vagy CD2 vs egészséges kontroll csop.;

<sup>f</sup>P<0,001 CD1 vagy CD2 vs GI kontroll; <sup>j</sup>P<0,001, <sup>l</sup>P<0,01 CD1 vagy CD2 vs CD3;

<sup>n</sup>P<0,001, <sup>p</sup>P<0,003 CD1 vs CD2  $\chi^2$  tesztet használva Yates korrekcióval



6. ábra Antimikrobiális antitestek szintjei 190 coeliakiás betegben és a kontroll csoportokban

A fenti összefüggést tovább vizsgáltuk LR teszt segítségével. A szenzitivitás, specificitás, pozitív és negatív prediktív érték CD-ben diagnóziskor és a kontroll csoportban a **3. táblázat**ban látható. Mind a gASCA, mind az AMCA, mind pedig az ACCA jelenléte a coeliakia előfordulásának mérsékelten fokozott kockázatával járt a kontroll csoporthoz képest. Bármely glikán-ellenes antitest pozitivitás is a coeliakia előfordulásának fokozott kockázatával járt.

**3. táblázat A különböző szerológiai markerek prediktív értéke coeliakiás betegek és a különböző kontroll csoportok esetén**

	Szenzitivitás (%)	Specificitás (%)	LR+	LR-
<b>Coeliakiások vs. egészséges kontrollok</b>				
<b>gASCA</b>	39	86	2,73 95%CI: 1,57-4,76	0,71 95%CI: 0,59-0,86
<b>AMCA</b>	35	100	-	-
<b>ACCA</b>	38	94	6,36 95%CI: 2,76-14,4	0,66 95%CI: 0,56-0,79
<b>Bármelyik glikán</b>	66	79	3,13 95%CI:2,08-4,73	0,43 95%CI: 0,31-0,59
<b>Coeliakiások vs. GI kontrollok</b>				
<b>gASCA</b>	39	96	9,36 95%CI: 2,35-37,4	0,64 95%CI: 0,53-0,76
<b>AMCA</b>	35	100	-	-
<b>ACCA</b>	38	98	13,7 95%CI: 1,86-101	0,73 95%CI: 0,60-0,89
<b>Bármelyik glikán</b>	66	92	7,43 95%CI: 2,82-19,6	0,42 95%CI: 0,28-0,62

A coeliakia diagnóziskor észlelt tünetekre vonatkozó részletes klinikai adatok a CD1 csoportban 82 betegből 78-ban voltak elérhetők.

A 78 betegből 32-nél (41%) jelentkezett súlyos malabsorptio, 34-nél (43,6%) nem specifikus enyhébb gasztrointesztinális tünetek, 9-nél (11,5%) vashiányos anaemia, és 3-nál (3,9%) egyéb tünetek. A glikán ellenes antitestek titere a prezentáló tüneteknek megfelelően változott (**4. táblázat**) a különböző becsült varianciával rendelkező független változókon végzett kétmintás t próba alapján. Ha a fenti összefüggést ANOVA és post hoc Scheffe-teszttel

vizsgáltuk, az összefüggés csak a gASCA ( $P = 0,027$ ) és AMCA ( $P = 0,03$ ) esetében maradt szignifikáns. A coeliakia prezentációs tüneteit további csoportokba osztottuk a szerológia válasznak megfelelően (7. ábra, 5. táblázat). Súlyos malabsorptios betegeknél sokkal gyakrabban észleltünk többszörös antitest pozitivitást ( $P=0,019$ ) míg a nem specifikus gastrointestinális tünetek vagy vashiányos anaemia esetén gyakoribb volt a szeroreaktivitás hiánya, vagy a csupán egy glikán komponens ellenében mutatott reaktivitás (5. táblázat). Azon coeliakiás betegek között, akikben többszörös antitest pozitivitást észleltünk, az esetek 63%-ában a diagnóziskor a vezető tünet a malabsorptio volt, mely érték szignifikánsan magasabb, mint egyéb szerotípusú CD csoportban. (0 = 25%, vagy 1 = 34,8%,  $P = 0,019$ ) (7. ábra).

**4. táblázat Az antimikrobiális antitestek titere és a coeliakia diagnózisakor észlelhető prezentációs tünetek közötti összefüggés (CD1 csoportban, n=78)**

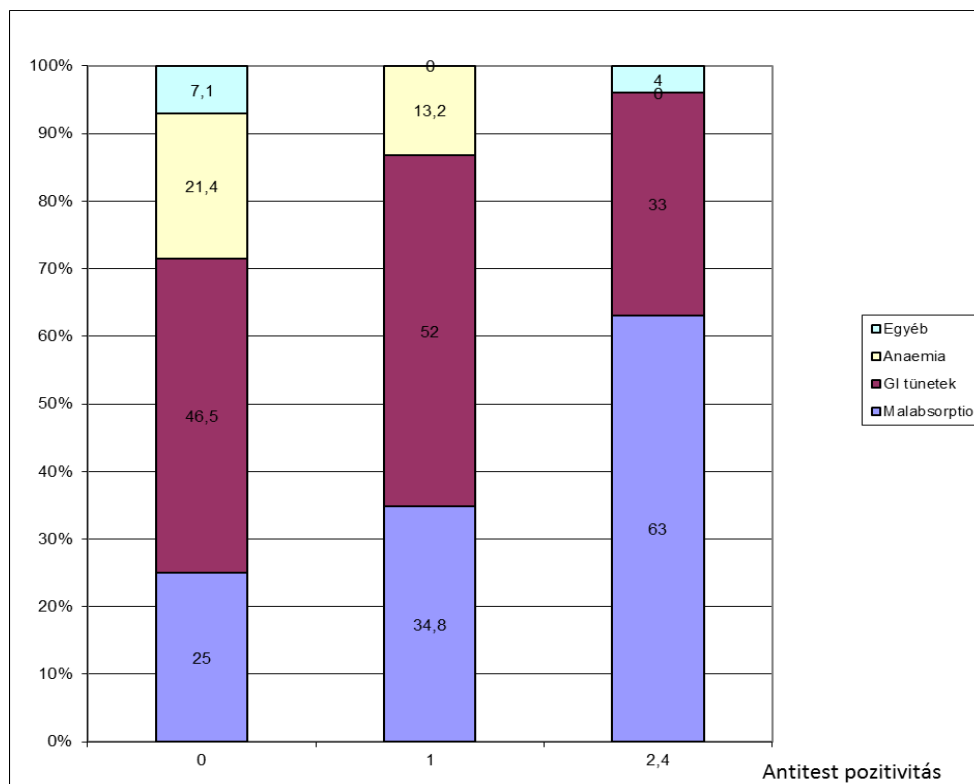
	Malabsorptio	Nem specifikus GI tünetek	Anaemia
<b>n</b>	32	34	9
<b>gASCA IgG</b>	54,8 (16,4-99,4) <sup>b</sup>	21,3 (7,1-76,5)	12,2 (8,8-36,7)
<b>AMCA IgG</b>	90,3 (59,5-115,9) <sup>b</sup>	73,8 (52,3-104,4) <sup>a</sup>	44,1 (25,1-55,0)
<b>ALCA IgG</b>	20,6 (16,7-31,2) <sup>b</sup>	23,7 (16,5-39,1) <sup>a</sup>	12,8 (9,9-15,2)
<b>ACCA IgA</b>	103,8 (53,3-192,1) <sup>b</sup>	57,3 (37,4-100,5) <sup>a</sup>	26,8 (12,7-53,6)
<b>OMP IgA</b>	14,8 (5,2-33,2)	15,2(8,2-24,2)	16,2 (2,9-34,1)

<sup>a</sup> $P<0,005$ , <sup>b</sup> $P<0,01$  (nem specifikus gastrointestinális tünetekkel rendelkező, malabsorptios és anaemiás betegek között különböző becült varianciával rendelkező független változókon végzett kétmintás t próba)

**5. táblázat Kezeletlen coeliakiás betegekben észlelt antimikrobiális antigénekre adott válasz a pozitív antitestek számának függvényében n (%) (n=78)**

	0	1	2-4	Összesen
<b>súlyos malabsorptio</b>	7 (22)	8 (25)	17 (53)	32 (40)
<b>nem specifikus GI tünetek</b>	13 (38)	12 (35)	9 (27)	34 (44)
<b>Vashiányos anaemia</b>	6 (67)	3 (33)	0	9 (21)
<b>Egyéb</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>3 (4)</b>
<b>Összes</b>	<b>28 (36)</b>	<b>23 (29)</b>	<b>27 (35)</b>	<b>78 (100)</b>

$P=0,019$   $\chi^2$  teszt



**7. ábra A coeliakia klinikai megjelenési formája szerológiai válaszok szerint**

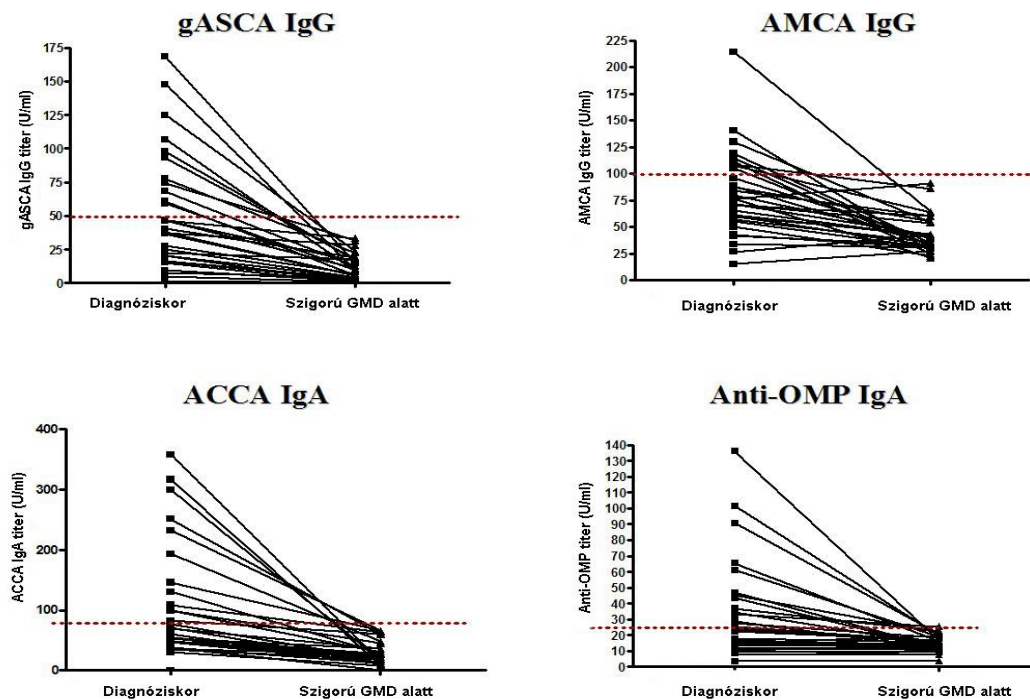
### ***A glikán ellenes és anti-OMP antitestek valamint a coeliakia specifikus TGA és EMA közötti összefüggés***

Szignifikáns korrelációt találtunk a glikán ellenes antitestek és a TGA szintje között (pASCA < 0,001, R = 0,39; pAMCA = 0,01, R = 0,28; pALCA = 0,006, R = 0,23; pACCA < 0,0001, R = 0,53; p anti-OMP = 0,001, R = 0,25 Spearman féle korrelációs analízist alkalmazva). Ehhez hasonlóan pozitív összefüggés mutatkozott az EMA IgA és gASCA (p < 0,001), AMCA (p < 0,001), ACCA (p < 0,0001), vagy bármely glikán (p < 0,0001) antitest között, anti-OMP esetén azonban nem.

### ***A gluténmentes diéta hatása a glikán ellenes és anti-OMP antitestek jelenlétére***

Azon 30 fős betegcsoportban, akiket vizsgáltunk a diagnóziskor, illetve a hosszútávú gluténmentes diéta során (CD1 alcsoport) a glikán ellenes antitestek pozitivitása a szigorú hosszas GMD mellett (gASCA 12, AMCA 9 és ACCA 11 betegben) teljesen eltűnt. Minden egyes ellenanyag koncentrációja is szignifikánsan csökkent a gluténmentes diéta után. (p < 0,001 minden esetben). Az anti-OMP ellenanyag a 14 betegből egy esetben pozitív maradt az EMA és TGA negatívvá válása ellenére, de a titer ebben a betegben is jelentősen csökkent a 135 hónapos gluténmentes diéta alatt (33,2 U/ml-ről 25,4 U/ml-re; vö. pozitív

cut-off 25 U/ml). A **8. ábra** mutatja az individuális glikán-ellenes és anti-OMP antitest szinteket a diagnóziskor és változásukat a sikeres gluténmentes diéta után.



Cut-off értékek gASCA IgG esetén 50U/ml, AMCA IgG esetén 100U/ml, ACCA IgA esetén 90U/ml, anti-OMP IgA esetén 25U/ml

**8.ábra A coeliakiás betegek (n=30) glikán ellenes és anti-OMP ellenanyag titerének változása gluténmentes diéta mellett**

A glikán és OMP ellenes antitestek gyakorisága és az átlagos antitest titer szignifikánsan alacsonyabb volt azon betegekben, akik kellően hosszú ideig tartó sikeres gluténmentes diétát tartottak (CD3 csoport), mint a nem kezelt betegek esetében (CD1 csoport) (2.táblázat, 6.ábra) és statisztikailag nem különbözött az egészséges kontrolltól.

***A NOD2/CARD15 mutációk prevalenciája és összefüggésük az antitest szintekkel és a prezentációs tünetekkel***

Coeliakiában a NOD2/CARD15 mutáció jelenléte (19/134, 14,2%) nem különbözött a kontroll csoporttól (16/100, 16%). Nem találtunk továbbá semmilyen összefüggést a prezentációs tünetek, a glikán ellenes antitest pozitivitás és a NOD2/CARD15 variánsok között.

## 8.2 Lektin útvonal molekuláinak vizsgálata májcirrhotikus betegekben

### *A lektin útvonal molekuláinak szérumszintjei cirrhotikusban*

A lektin útvonal molekuláinak szérumszintjei cirrhotikus betegekben és a kontroll csoportban a **6. táblázat**ban láthatók. FCN-2 és FCN-3 szintek szignifikánsan alacsonyabbak voltak a cirrhotikus betegekben a kontroll csoporthoz képest. Hasonlóan a MASP-2 deficiencia, -ami <100 ng/ml szérumszintnek felelt meg-, gyakrabban fordult elő cirrhotikus betegekben.

Cirrhotikusban a lektin útvonal mindhárom molekulájának a szintje fokozatosan csökkent a betegség súlyosságának Child-Pugh stádiumok szerinti előrehaladásával. Továbbá a MASP-2 szintekkel ellentétben mindkét típusú fikolin szintje szignifikánsan alacsonyabb volt az asciteses betegekben (**6. táblázat**).

A fikolin szintek bizonyos fokig összefüggtek a betegség etiológiájával. Mindkét típusú fikolin szint szignifikánsan alacsonyabb volt alkoholos cirrhotikusban a nem alkoholos eredethez képest, de csak Child A stádium esetén (FCN-2: 505 [440 – 562] vs. 548 [489 – 679] ng/ml,  $p=0,001$  és FCN-3: 7509 [5508 – 10897] vs. 10596 [7065 – 15379] ng/ml,  $p<0,001$ ), vagy azokban, akiknek nem volt ascitesük. MASP-2 esetén nem találtunk hasonló összefüggést (**6. táblázat**).

**6. táblázat A lektin útvonal vizsgált molekuláinak szérumszintjei májcirrhotikus betegekben és egészséges kontroll egyénekben**

	Esetszám	FCN-2 szint (ng/ml) <sup>a</sup>	FCN-3 szint (ng/ml) <sup>a</sup>	MASP-2 szint (ng/ml) <sup>a</sup>	MASP-2 deficiencia ( $< 100$ ng/ml), n(%)
<b>Egészséges kontrollok</b>	160	769 (629 – 1145)	10797 (9017 – 13867)	412 (285 – 586)	3 (2,0)
<b>Cirrhotikus betegek (különböző etiológia)</b>	266	505 (426 – 596) <sup>#</sup>	7301 (4857 – 10601) <sup>#</sup>	212 (126 – 359) <sup>#</sup>	52 (19,5) <sup>#</sup>
<b>Etiológia</b>					
<b>Alkoholos eredetű</b>	170	492 (398 – 564)	6593 (4532 – 9569)	206 (127 – 357)	35 (20,6)
<b>Nem-alkoholos eredetű</b>	96	536 (470 – 652) <sup>×</sup>	9498 (6318 – 13614) <sup>+</sup>	234 (123 – 363)	17 (17,7)
<b>Child-Pugh stádium</b>					
<b>A</b>	148	527 (455 – 618)	8962 (6064 – 12872)	250 (159 – 372)	22 (14,9)
<b>B</b>	101	486 (391 – 583)	6032 (4416 – 8714)	194 (106 – 320)	23 (22,8)
<b>C</b>	17	427 (314 – 499) <sup>□</sup>	5487 (3986 – 8139) <sup>□</sup>	134 (56 – 295) <sup>§</sup>	7 (41,2) <sup>§</sup>
<b>Ascites</b>					
<b>Nincs</b>	170	528 (453 – 625)	8110 (5764 – 12006)	239 (133 – 370)	29 (17,1)
<b>Van</b>	96	472 (392 – 550) <sup>±</sup>	6314 (4094 – 8917) <sup>±</sup>	195 (103 – 335)	23 (24,0)
<b>Klinikai stádium</b>					
<b>Kompenzált</b>	133	537 (461-647)	9415 (6054- 13189)	241 (132-366)	22 (16,5)
<b>Dekompenzált</b>	133	478 (396-551) <sup>†</sup>	6314 (4231- 8624) <sup>†</sup>	205 (112-348)	30 (22,6)

FCN: fikolin; MASP: mannan-binding lectin serine protease; <sup>a</sup>median, IQR (legalacsonyabb 25% - legmagasabb 25%)

<sup>#</sup>p< 0,001 cirrhotikus és egészséges kontrollok között; <sup>+</sup>p< 0,001 és <sup>×</sup>p< 0,01 nem alkoholos és alkoholos között

<sup>□</sup>p< 0,001, <sup>□</sup>p< 0,01 és <sup>§</sup>p< 0,05 a három különböző Child stádium között

<sup>±</sup>p< 0,01 ascites jelenléte és hiánya között

<sup>†</sup>P<,001 kompenzált és dekompenzált cirrhotikus betegek között

p értékeket Mann-Whitney U-test, Fisher's exact teszttel vagy  $\chi^2$ -teszttel Yates korrekcióval számoltuk ki

Szignifikáns összefüggést észleltünk a lektin útvonal molekulái és a máj orientált pontrendszerek (Child-Pugh és MELD), valamint a portális hipertenzió laboratóriumi paraméterei, ill. a csökkent máj és vesefunkció között. A nem-parametrikus összefüggéseket a **7. táblázatban** foglaltuk össze.

Stabil járóbetegek alcsoportjában (n=65) vizsgáltuk a szérumszintek szekvenciális változásait. Először 33 beteg szérummintáit vizsgáltunk későbbi járóbeteg kontroll alkalmával is. (A két mintavétel között eltelt idő 655 [IQR: 246-1090] nap volt). Egyik vizsgált molekula szérumszintjében sem találtunk szignifikáns változást (FCN-2: 504 [458-600] vs. 479 [423-543], p=0,092; FCN-3: 9449 [5934-13070] vs. 8814 [5999-11006], p=0,837; MASP-2: 221 [129-369] vs. 208 [119-324], p=0,313). Ezen időszak alatt a Child-Pugh stádiumok között sem észleltünk szignifikáns változást (p=1,000 Wilcoxon rank tesztet alkalmazva).

Egy másik, 32 betegből álló alcsoportban AD epizód idején is elvégeztünk lektinszint méréseket. Egyik molekula szintjében sem találtunk szignifikáns eltérést (FCN-2 164 [107-284] vs. 178 [102-314], p=0,772; FCN-3: 6455 [3877-9204] vs. 5978 [3723-8751], p=0,400; MASP-2: 183 [106-329] vs. 167 [78-276], p=0,140). A két mintavétel között eltelt medián idő 555 nap [133–955] volt.

#### ***A lektin útvonalat alkotó molekulák szérumszintjének jelentősége a klinikailag jelentős bakteriális infekciók kialakulásában***

A vizsgálatba bevont betegek közül 95 (35,7%) betegben alakult ki klinikailag jelentős bakteriális infekció (CSI) legalább egy alkalommal a követési idő alatt. Az első infekció kialakulásáig eltelt medián idő 626 [169-799] nap volt. A leggyakrabban diagnosztizált infekció a húgyúti infekció volt ami 33,7%-ot tett ki, ezt a spontán bakteriális peritonitisz (24,2%) és pneumónia (12,6%) követte. Az esetek 5,3%-a multifokális eredetű volt. Egyéb bakteriális infekciók között észleltünk még orbáncot (4,2%), cholangitist (2,1%), bacteriaemiát (2,1%), akut bronchitist (3,2%) és az infekció helyét nem tudtuk meghatározni 12 esetben (12,6%). A lektin útvonal molekuláinak szérumszintjeiről elmondható, hogy a normál molekula szinthez képest az alacsony FCN-2 és FCN-3 szintek összefüggtek a klinikailag jelentős bakteriális infekciók növekvő kumulatív incidenciájával (FCN-2 esetében 62,6% vs. 46,7% HR: 1,55, 95%CI: 1,00-2,39, p=0,047 és FCN-3 esetén 59,3% vs. 48,2% HR: 1,61, 95%CI: 1,05-2,47, p=0,029) (**7. táblázat**).

**7. táblázat Nem-parametrikus összefüggések a lektin útvonal molekulái és a májcirrhotikus betegek laboratóriumi jellemzői között**

	FCN-2		FCN-3		MASP-2	
	Spearman's rho	p-érték	Spearman's rho	p-érték	Spearman's rho	p-érték
életkor	-0,014	0,815	0,007	0,915	0,05	0,415
kreatinin	0,087	0,168	0,066	0,293	0,094	0,137
bilirubin	<b>-0,292</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>-0,441</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,249</b>	<b>&lt;0,001</b>
albumin	<b>0,184</b>	<b>0,003</b>	<b>0,317</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>-0,300</b>	<b>&lt;0,001</b>
INR	<b>-0,300</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>-0,442</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>-0,240</b>	<b>&lt;0,001</b>
CPS	<b>-0,263</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>-0,390</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>-0,205</b>	<b>0,001</b>
MELD	<b>-0,193</b>	<b>0,002</b>	<b>-0,404</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>-0,256</b>	<b>&lt;0,001</b>
AST	<b>0,143</b>	<b>0,020</b>	<b>0,177</b>	<b>0,004</b>	0,031	0,620
ALT	<b>0,200</b>	<b>0,001</b>	<b>0,299</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,104	0,089
Thrombocytaszám	0,086	0,168	<b>0,127</b>	<b>0,038</b>	0,090	0,143

FCN: fikolin, MASP: mannan-binding lectin serine protease; CPS: Child-Pugh score; INR: international normalized ratio, AST: aspartate aminotransferase; ALT: alanine aminotransferase

A szérumban a fikolin profil, amely esetén mindkét fikolin molekula szintjét egyidejűleg figyelembe vettük- lépcsőzetesen növekvő kumulatív incidenciát mutatott a klinikailag jelentős bakteriális fertőzés kialakulására nézve az alacsony fikolin szintek számának növekedésével: 45,7% volt mindkét fikolin normál szintje esetén, 57,2% ha két fikolin közül az egyiknek volt alacsony a szintje és 63,8% volt azokban, akiknél mindkét fikolin szint alacsonyabbnak bizonyult (HR: 2,00, 95%CI: 1,15-3,47, p=0,016) (**8. táblázat és 9A ábra**). Nem találtunk hasonló összefüggést sem az individuális (**8. táblázat és 9B ábra**) sem a fikolinokkal kombinált MASP-2 deficiencia esetén.

### **Kovariációk**

A klinikailag jelentős bakteriális fertőzések kialakulásával összefüggő klinikai faktorok univariációs Cox regressziós analízise látható a **8.táblázatban**. Alkoholos betegségtaniológia (HR: 1,68, 95%CI: 1,07-2,66, p=0,024), előrehaladott betegségstádium (Child-Pugh stage B/C [HR: 2,42, 95%CI: 1,61-3,64,p<0,001] vagy az ascites jelenléte [HR: 2,31, 95%CI: 1,54-3,46,p<0,001]) és korábbi CSI epizód (HR: 2,64, 95%CI: 1,76-3,96, p<0,001) szignifikánsan összefüggtek a klinikailag jelentős bakteriális fertőzések kialakulásának valószínűségével.

### **Multivariációs analízis**

A Cox regressziós analízisben, mely mind a lektin útvonal molekuláinak szérumszintjeit, mind pedig a klinikai változókat számításba vette, azt mutatta, hogy csak a klinikai faktorok, mint az előrehaladott betegségstádium és korábbi CSI epizód bizonyultak a klinikailag szignifikáns bakteriális fertőzések kialakulására nézve független kockázati tényezőnek, azonban ez nem állt fenn sem az egyes fikolinok, sem pedig a fikolin profil esetén. (**8. táblázat**).

**8. táblázat Univariációs és multivariációs Cox-regresszió analízis, melynek célja a lektin útvonal molekuláinak szérumszintjei és a klinikai faktorok jelentőségének értékelése májcirrhotikus betegekben a klinikailag jelentős bakteriális fertőzés kumulatív előfordulásában**

		CSI kialakulása		CP CSI %	p érték*	Univariációs analízis		Multivariációs analízis	
		esetszám	esemé- nyek száma			HR (95% CI)	p érték	HR (95% CI)	p érték
Összes beteg		266	95	50,6%					
Életkor	<65 év	216	74	47,9%					
	>65 év	50	21	64,2%	0,173	1,40 (0,86- 2,28)	0,175		
Nemek	férfi	133	48	48,7%					
	nő	133	47	53,0%	0,676	1,09 (0,73- 1,63)	0,676		
Társbetegsé- gek	nincsenek	130	42	44,5%					
	vannak	136	53	57,4%	0,132	1,37 (0,91- 2,05)	0,136		
Etiológia	egyéb	96	25	41,6%					
	alkohol	170	70	55,5%	0,024	1,68 (1,07- 2,66)	0,025	1,36 (0,85- 2,15)	0,196
Korábbi CSI	nem volt	169	42	38,8%					
	volt	97	53	68,7%	<0,001	2,64 (1,76- 3,96)	<0,001	2,48 (1,65- 3,73)	<0,001
Klinikai stádium	Kompenzált	133	38	39,6%					
	Dekompenzált	133 0,002	57	61,9%	0,001	1,95 (1,29- 2,93)			
Child-Pugh stádium	Child A	148	43	40,1%					
	Child B/C	118	52	66,8%	<0,001	2,42 (1,61- 3,64)	<0,001	2,27 (1,51- 3,41)	<0,001
Ascites	nincs	170	52	42,3%					
	van	96	43	67,9%	<0,001	2,31 (1,54- 3,46)	<0,001		

### 8. táblázat folytatása

		CSI kialakulása		CP CSI %	p érték*	Univariációs analízis		Multivariációs analízis	
		esetszám	események száma			HR (95% CI)	p érték	HR (95% CI)	p érték
Összes beteg		266	95	50,6%					
PPI használat	nem	148	43	41,8%					
	igen	118	52	61,3%	0,005	1,76 (1,18- 2,64)	0,006	1,25 (0,81- 1,91)	0,317
Nem szelektív béta-blokkoló használata	nem	139	42	43,1%					
	igen	127	53	58,7%	0,033	1,55 (1,03- 2,32)	0,034	1,08 (0,67- 1,74)	0,753
MASP2	normál	214	74	48,6%					
	deficiens	52	21	59,6%	0,306	1,29 (0,79- 2,09)	0,307		
FCN-2	normál szint	200	65	46,7%					
	alacsony szint	66	30	62,6%	0,047	1,55 (1,00- 2,39)	0,049	1,09 (0,69- 1,72)	0,715
FCN-3	normál szint	200	64	48,2%					
	alacsony szint	66	31	59,3%	0,029	1,61 (1,05- 2,47)	0,030	1,00 (0,63- 1,58)	0,985
Kombinált FCN	normál	167	51	45,7% ref.					
	egy FCN szintje alacsony	66	27	57,2%	0,160	1,39 (0,87- 2,22)	0,164	0,97 (0,59- 1,59)	0,908
	két FCN szintje alacsony	33	17	63,8%	0,016	2,00 (1,15- 3,47)	0,014	1,09 (0,60- 1,99)	0,770

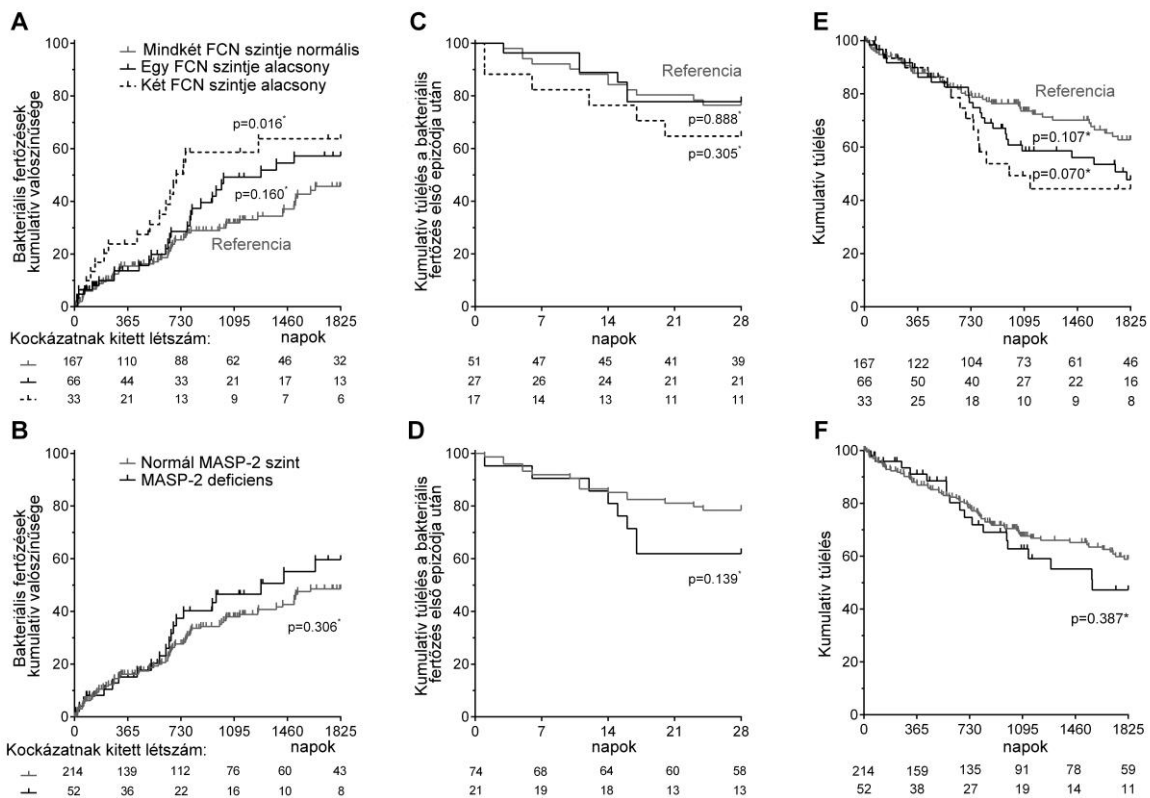
\*log-rank teszt p értékei

CP: cumulative probability/kumulatív valószínűség; CI: confidence interval; CSI: clinically significant bacterialinfections; FCN: ficolin; HR: hazard ratio; MASP: mannan-binding lectin serine protease;

PPI: proton-pump inhibitor; ref.: reference

## Halálozás

Vizsgáltuk a szérumban lévő fikolin profil és a MASP-2 deficiencia lehetséges hatását a fertőzéshez kapcsolódó halálra (n=95). Az első bakteriális fertőzés lezajlása alatt 19 beteg (20,0%) halt meg. Sem a bevételekor észlelt fikolin szérumban lévő profil sem a MASP-2 deficiencia nem volt összefüggésben a halál rizikójával a Kaplan-Meier túlélési analízisben (9C – D ábra). Az egész vizsgált cirrhotikus betegcsoportban a májbetegséghez kapcsolódó halál 85 esetben következett be (32,0%). Kaplan-Meier túlélési analízis megmutatta, hogy jelentősen rosszabb a túlélés azokban a betegekben, akiknél a betegség előrehaladott a Child-Pugh stádiumnak megfelelően (p<0,001), akiknél volt ascitese (p<0,001) vagy megelőző már zajlott CSI epizódja (p=0,035). MASP-2 deficiencia (p=0,387) vagy szérumban lévő fikolin profil (p=0,093) nem függött össze a teljes túléléssel. (9E és F ábra).



### 9. ábra Májcirrhotikus betegekben bakteriális fertőzések kialakulása (A,B) (n=266), az fertőzéshez kapcsolódó halál (C,D) (n=95), és a májbetegséghez kapcsolódó összhalál a fikolinok (FCN) vagy a mannoz kötő lektin szerin proteáz 2 (MASP2) szérumszintjének megfelelően (E,F) (n=266)

Azon betegeknél, akikben mindkét fikolin szintje alacsony volt a klinikailag szignifikáns bakteriális fertőzések kumulatív előfordulási valószínűsége szignifikánsan gyakoribb volt, mint azokban akiknél normál volt a fikolin szintjük, vagy csak az egyik fikolin szintjük volt alacsonyabb.

MASP-2 deficiencia nem függött össze a klinikailag jelentős bakteriális fertőzés kialakulásának a valószínűségével. Sem a fikolin profil sem a MASP-2 deficiencia nem függött össze az fertőzéshez kapcsolódó vagy a májbetegséghez kapcsolódó összhalálással. MASP-2 deficiencia:<100 ng/mL, alacsony FCN-2:<427 ng/mL és FCN-3:<4857 ng/m

\*Log\_Rank teszt

## **9. Megbeszélés**

### ***Antimikrobiális antitestek vizsgálata coeliakiában***

Munkánk az első az irodalomban, mely relatíve nagy coeliakiás beteganyagban komplexen vizsgálta az összefüggéseket az új szerológiai marker panelek, a betegség klinikai tünetei és a NOD2/CARD15 státusz között. Hasonlóan a korábban vizsgált Crohn-beteg csoporthoz (18), az antimikrobiális antitestképződés folyamatának vizsgálata coeliakiás betegekben az antitestképződés megismerésének újabb eleme lehet.

Vizsgálatunkban bemutattuk, hogy a glikán ellenes antitestek (gASCA, ACCA, és AMCA) összefüggnek a coeliakiával a diagnózis felállításakor. Azonban az ALCA és az anti-OMP előfordulási gyakorisága nem különbözött a kontroll csoport eredményeitől. A gASCA pozitivitás aránya (39%) coeliakiás betegekben diagnóziskor összevethető volt korábbi coeliakiás betegcsoportban vizsgált eredményekkel (23-27).

A *Candelli* (27) és *Barta* (84) által közltekeltől eltérően, a coeliakiás betegek adatait saját IBD-s beteganyagunkéval (28) összehasonlítva az ASCA IgG prevalenciájában a két betegcsoport között nem tudtunk szignifikáns különbséget kimutatni. Az ASCA IgG gyakrabban fordult elő IBD-ben (50,5%), mint coeliakiában (35,7%), a különbség azonban nem bizonyult szignifikánsnak ( $p=0,091$ ). Jelen vizsgálatban az ALCA kivételével a glikán ellenes antitestek előfordulása és a medián titerük coeliakiában a diagnózis felállításakor hasonló volt a korábban Crohn-betegség esetén leírtakhoz (18, 85) (coeliakia gASCA: 33,1 U/mL, AMCA 79,3 U/mL, ALCA 21,5 U/mL, ACCA 68,4 U/mL vs Crohn-betegség gASCA: 48,3 U/mL, AMCA 55,5 U/mL, ALCA 25,4 U/mL, ACCA 46,2 U/mL). Rádásul a pozitivitás aránya bármely antitest esetén összehasonlítható ezen betegcsoportokban (coeliakia vs Crohn betegség 65,9% vs 59,4%,  $p = NS$ ). Továbbá a szenzitivitás, specificitás, pozitív és negatív prediktív érték coeliakiában összevethető volt a Crohn-betegségben megfigyeltekkel. Gasztrointesztinális tünetekkel rendelkező betegek esetén ASCA, AMCA vagy ACCA jelenléte nem csak fennálló Crohn-betegségre utalhat, hanem összefügghet kezeletlen coeliakiával is. Ugyanakkor eredményeink alapján az ALCA és az anti-OMP specifikus, de kevésbé szenzitív markernek bizonyult Crohn-betegségben.

Jelen adatok az támasztják alá, hogy mind coeliakiában, mind Crohn-betegekben elsődleges defektus van a bél permeabilitásban, amely a rokonok alcsoportjaiban is észlelhető. Coeliakiában az antitestek megjelenése a glutén által provokált gyulladás és következményes szövetkárosodás miatt kialakuló megnövekedett intestinális permeabilitásnak tulajdonítható, míg a glutén étrendből történő eliminálása jelentősen csökkenti vagy normalizálja a fokozott

intestinális permeabilitást (86, 87). 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 markerek és a TGA vagy EMA között összefüggést tudtunk kimutatni, továbbá az, hogy az antitest státusz alapvetően megváltozott a gluténmentes diéta bevezetését követően. A gASCA és egyéb glikán ellenes antitestek teljesen eltűntek a vizsgált coeliakiás betegekben a szigorú, hosszú távú gluténmentes diéta után. Ezek az eredmények megegyeznek korábbi vizsgálatok eredményeivel (21, 23). Mallant-Hent és munkatársai (25) 111 coeliakiás betegből álló vizsgálati csoportjában a gluténmentes diéta 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 átlagos követési idő gluténmentes diéta után 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.

Jelen vizsgálatban megállapítottuk, hogy az antitestek eltűnésének kinetikája változóan érzékeny a gluténmentes diéta hosszára. A glikán ellenes antitestek közül az AMCA és ACCA csökkent leggyorsabban, közvetlenül amint a TGA titer elkezdett csökkenni. A CD2 csoportban az antitestek prevalenciája szintén megváltozott a CD1 csoporthoz hasonlóan, kb. 36%-ról 11%-ra, miközben az gASCA és anti OMP változatlan maradt. Azon coeliakiás betegek között, akik szigorú gluténmentes diétán voltak, a diéta időtartama ebben a csoportban volt a legrövidebb. Azon betegcsoportban, akik sikeresen reagáltak a gluténmentes diétára (CD3) a gASCA csakúgy, mint az AMCA és ACCA gyakorisága alacsonyabb volt. Ugyanakkor az anti-OMP összfrekvenciája nem változott sem a CD2 sem a CD3 csoportban (**2 táblázat**). Mindamelllett azt találtuk, hogy az anti-OMP szintek egyértelműen a normál szintre csökkentek a CD1 csoportban 14 betegből 13 esetében. (**8. ábra**). A feltételezhető ellentmondás magyarázata az, hogy az átlagos követési idő mindkét CD2 és CD3 csoportban szignifikánsan rövidebb, mint a CD1 csoportban, akik részt vettek az intra-individuális longitudinális monitorozásban, ami azt sugallja, hogy az anti-OMP teljes eltűnéséhez szükséges a legtöbb idő és ez a jóval a TGA és EMA normalizálódása után történik. Az anti-OMP és glikán ellenes antitestek kialakulása közötti különbségeket IBD-ben korábbi vizsgálatunkban is igazoltuk (72).

Vizsgáltuk a lehetséges összefüggést a szerológiai válasz és a betegség klinikai tünetei között. Azon betegek, akikben a glikánokkal szemben többszörös szeroreaktivitást észleltünk gyakrabban mutattak súlyos malabsorptios tüneteket, mint azok, akiknél egyáltalán nem észleltünk egyik glikánnal szemben sem reaktivitást (63% vs 22%,  $P = 0,019$ ), és körülbelül a malabsorptios esetek 53%-át tették ki. Az összes 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 malabsorptio jelentkezett, mely szintén arra utal, hogy a fokozott intestinális permeabilitás az antitest képződés valószínűsíthető komponense. Jól ismert, hogy az intestinális károsodás malabsorptió esetekben a legkifejezettebb és a TGA a szöveti sérülés jó markere (88). Meg kell azonban jegyeznünk, hogy a különböző klinikai prezentációs csoportokban az esetek száma alacsony volt, ezért további vizsgálatok szükségesek nagyobb coeliakiás betegcsoportba az eredmények megerősítésére.

Legutóbbi adatok felvetik annak a lehetőségét, hogy az anti-mikrobiális antitestek jelenléte, legalábbis részben genetikai hajlamhoz kapcsolható. Crohn-betegekben összefüggést találtak az antimikrobiális antitestképződés és a veleszületett immunitás receptor génjeiben észlelt mutációk hordozása között (NOD2/ CARD15 vagy toll-like receptor) (72). Továbbá a Crohn-betegcsoportunkban NOD2 variáns hiányában a gASCA és a glikán ellenes antitest pozitívitas meglehetősen magas volt (43,5% és 53,7%). Jelen vizsgálatban azt találtuk, hogy az coeliakiás betegekben ezen antitestek ugyanolyan mennyiségben és gyakorisággal fordultak elő, mint a Crohn-betegekben, holott a NOD2/CARD15 mutáció megjelenése szignifikánsan alacsonyabb volt. Ezen felismerések –azon tények alapján, hogy nincs összefüggés a TLR4 variánsok és a coeliakia között (89, 90) nem erősítik meg a genetikai hajlam szerepét az antitestképződésben. Mindemellett a NOD2/CARD15 jelenléte Crohn-betegségben nyilvánvaló és kapcsolatot írtak le a fokozott bélpermeabilitás és a NOD2/CARD15 3020insC mutáció között (91). Coeliakiásokban mi nem figyeltünk meg semmilyen összefüggést a glikán ellenes antitestek és a NOD2/CARD15 variáns jelenléte között. A NOD2/CARD15 mutációt hordozó egyének alacsony létszáma nem teszi lehetővé a szerológiai válaszban lévő szignifikáns különbségek felismerését ezen betegcsoportban. Coeliakiában az antimikrobiális antitestképződésben örökletes vonás nem valószínű, mivel nem találtuk magasabbnak az ASCA (9,1% vs 14%) és az anti-OMP (12,1% vs 20%) prevalenciát ezen vizsgálatban a 66 első fokú, nem érintett rokon (testvér) esetében.

A két betegcsoportban észlelt minőségi és mennyiségi szerológiai válasz közötti szignifikáns hasonlóság alapján feltételezzük az anti mikrobiális antitest képződése is hasonló mechanizmussal mehet végbe coeliakiában és Crohn-betegségben. A szerológiai válasz jelenléte

feltehetőleg a bél mikroflóra elemeinek tartós jelenléte miatt kialakuló reakció, mely a megnövekedett bakteriális transzlokáció következtében alakul ki. A bakteriális transzlokáció ismert prediszponáló tényezői, mint pl. a bakteriális túlnövekedés a vékonybélben (másodlagosan az intestinalis dysmotilitás miatt) (92-94), a bél nyálkahártya integritásának károsodása (másodlagosan a lokális bél mikrokeringésének megváltozása miatt) (95, 96), amely csökkent oxigénszállítást és az oxigényökök képződésének a fokozódását eredményezi (97) csakúgy, mint a proinflammatorikus cytokinek upregulációja (TNF $\alpha$ , interleukin-17 vagy IFN-gamma) az aktív léziókban (98), és a hiányos mukózális védelem (22, 99) mind tipikus jellegzetességei mindkét klinikai állapotnak. A vékonybélből származó fokozott bakteriális transzlokáció jelentőségét az antimikrobiális antitestképződésben továbbá alátámasztja az a tény is, hogy Crohn-betegekben a szerológiai válasz jelenléte főképp a komplikált (strikturáló vagy penetráló) vékonybél érintettségben jellemző és ritkábban észlelt izolált colon betegség vagy colitis ulcerosás betegek esetében. Ugyanakkor a gyógyult bélfal véd a mikrobák, illetve azok komponenseinek inváziójától és ez az antimikrobiális antitest képződés megszűnéséhez vezet. Coeliakiában ez a folyamat igazolható annak megfigyelésével, hogy az antitestképződés csak átmeneti jelenség. A gliadin expozíció megszűnése és az ezt követő nyálkahártya gyógyulás eredményeképp az antitestek teljesen eltűnnek. A feltételezésünk ezen szempontjának megerősítése sokkal bonyolultabb Crohn-betegség esetén. Mindenekelőtt a patogenetikai folyamat nemcsak sokoldalúbb, hanem kevésbé is jellemzett a coeliakiához képest. A kiváltó ágens teljes eliminálása nem lehetséges. Továbbá nem érhető el olyan megbízható szerológiai markerek, amik a bél kiterjedt gyulladását tükrözik, mint coeliakiában a TGA és az anti-actin IgA antitestek. Végül a mikrobiális szeroreaktivitás teljes megszűnése szempontjából a hosszú távú teljes remisszió (nyálkahártyagyulladás nélkül) szükséges, de ritkán érhető el Crohn-betegekben összehasonlítva azon coeliakiás betegekkel, akik szigorú gluténmentes diétát tartanak.

A biológiai kezelések megérkezése megválaszolhatja ezt a megoldatlan kérdést. A nyálkahártya teljes gyógyulása ezen kezeléssel Crohn-betegségben a betegek nagyobb hányadában érhető el, mint a klasszikus immunszuppresszív gyógyszerekkel. Jelen pillanatban nincsenek elérhető adatok prospektív vizsgálatokról, amik a biológiai terápia hatékonysága és az antitestek stabilitása közötti összefüggést értékelné. Adataink ezenfelül szükségessé tesznek kiegészítő alaputatásokat, hogy feltárják a kommenzális bélbaktériumokra adott immunválasz pontos mechanizmusait, csakúgy, mint a bakteriális transzlokáció lehetséges klinikai jelentőségét a betegség vagy a szövődmények kialakulásában,

ami már kellően megalapozott egyéb kórállapotokban, mint pl. májcirrhosis, akut pancreatitis vagy szepszis (100).

Következésképp elmondhatjuk, hogy az eredményeink alapján az ASCA és egyéb glikán ellenes antitestek tekinthetők a coeliakia és a gluténmentes diéta compliance kiegészítő markereinek. A mikrobiális komponensekre adott válasz jelenléte és mértéke összefüggött a súlyosabb betegségfolyással, de nem találtunk összefüggést a NOD2/CARD15 mutációval. Ez a szeroreaktivitás feltehetőleg a károsodott vékonybél nyálkahártyán történő fokozott bakteriális transzlokáció következménye.

### **Májcirrhosisos betegek**

Jelen tudásunk szerint vizsgálatunk a legnagyobb tanulmány, ami komplex összefüggéseket vizsgál a lektin útvonal molekuláinak szérumszintjei a betegség etiológiája és súlyossága között májcirrhosisos betegek nagy esetszámú csoportjában.

Vizsgáltuk a lektin útvonal két mintázatfelismerő molekuláját (FCN-2 és FCN-3) és egy effektor molekuláját (MASP-2).

A lektin útvonal komponenseinek szérumszintje egészséges egyénekben is nagy egyének közötti variabilitást mutat (101). Jelen vizsgálatban median MASP-2 szint (102) és a MASP-2 deficiencia jelenléte (83) megegyezett a korábban közöltekkel, míg FCN-2 és FCN-3 szintek alacsonyabbak voltak. Az eltérés feltehetőleg a módszerek és a kutatáshoz felhasznált különféle anyagok sokfélesége miatt van. MASP-2 esetében kereskedelemben elérhető assay-t alkalmaztunk, ami a komplement/lektin tanulmányokban széles körben használt (83). A FCN-2 és FCN-3 szintek méréséhez azonban in-house kettős antitest sandwich ELISA-t használtunk.

A fikolin szintekkel kapcsolatosan a különféle irodalmi adatokban is észlelhető eltérések feltehetőleg a vizsgálatok során felhasznált anyagok és metodikák sokféleségének tulajdonítható, ami a protein standardokra is érvényes. A kalibrációs görbe alapján kalkulált értékek különbözőségét írták le attól függően, hogy a fikolin standardok frissen preparálták vagy nem. A tisztított fikolin a szérumban lévőől eltérően jelentős labilitást mutat (103).

Stabil cirrhosisos járóbetegek nagy csoportjában (n=266) azt találtuk, hogy mindhárom molekula szérumszintjei szignifikánsan alacsonyabbak voltak az egészséges kontroll csoporthoz képest.

Két korábbi tanulmány megerősíti a vizsgálatunk eredményeit. *Laursen és mtsai (104)*. vizsgálatában kis betegcsoportban (n=20) a FCN-2 és FCN-3 stabil, alkoholos eredetű

májcirrhotikus betegekben alacsonyabbnak bizonyult egészséges kontrollokéhoz képest. Ehhez hasonlóan *Hoang és munkatársai* (105) szignifikánsan alacsonyabb FCN-2 szinteket írtak le krónikus hepatitis B vírus fertőzés talaján kialakult májcirrhotikus betegekben (n=120). Ezzel ellentétben egyetlen, krónikus hepatitis C vírussal fertőzött betegekben (n=21) elvégzett vizsgálat (106), szignifikánsan magasabbnak találta a szérumban a FCN-2 szinteket cirrhotikus betegekben a kontroll csoporthoz, illetve egyéb betegcsoportokhoz képest, amik magukban foglalták a krónikus aktív és krónikus inaktív hepatitiszeket. Ennek oka, hogy a lektin szérumszintjei a cirrhotikus betegekben miért csökkennek további magyarázatokat igényel. Egy lehetséges magyarázat lehet az, hogy cirrhotikusban hepatocyták szintetikus kapacitása károsodott és feltehetőleg a vérkeringés a szervben gátolt ami a molekulák csökkent termelését vagy a perifériás vérbe való kijutását eredményezi. Ezt a feltételezést támasztja alá az eredményünk, hogy a FCN-2, FCN-3 és MASP-2 szintek fokozatosan csökkentek a betegség súlyosságának megfelelően. Szignifikáns összefüggés volt a máj szintetikus funkciójának laboratóriumi jellemzői (szérumban albumin szint és INR) és a különböző lektin szintek között, melyek a betegség súlyosságának megfelelő fokozatos csökkenést mutattak.

Jelen vizsgálatban a lektin szintek intra-individuálisan hosszú távon is stabilak voltak, és változatlanok maradtak az akut dekompenzáció (AD) korai fázisában is, ami lehetővé teszi, hogy szerológiai biomarkerekként használjuk őket hosszú távon is. Eredményeink megegyeznek *Laursen és mtsai.* eredményeivel. Vizsgálatukban 75 akut májelégtelenségben szenvedő betegben az első és a harmadik napon, azaz a betegség korai fázisában vizsgált keringő fikolin L (FCN-2) és fikolin H (FCN-3) szintek nem változtak (104).

Tanulmányunkban végeztünk továbbá egy követéses vizsgálatot is, melyben vizsgáltuk, hogy fikolinok alacsony szintje vagy a MASP-2 deficiencia kockázati tényezőnek tekinthető-e a cirrhotikus betegekben a klinikailag jelentős infekciók kialakulás szempontjából. A szerzett immunitás éretlensége vagy károsodása esetén az veleszületett immunrendszer szerepe a bakteriális infekciók kialakulásával szembeni védekezésben még nagyobb jelentőséggel bír.

Ismertek azon gyakori FCN-2 (103) FCN-3 (62) és MASP-2 (64) funkcionális gén polimorfizmusok, melyek hatással vannak az adott protein összetételére, szerkezetére és működésére, és fokozott kockázatot jelentenek a károsodott immunrendszerű betegekben a különböző bakteriális infekciók kialakulására.

A *FCN-2* és *MASP2* gén promotor és a kódoló régiói számos SNP-t foglalnak magukba, ami a fehérje koncentrációra hatással van, de relatíve kevés SNP-t azonosítottak az FCN-3 génen (62, 67). Figyelembe véve kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanságot a promóter és strukturális

kromoszómákon lévő gének együttes hatása között, megtévesztő lehet az allél expresszió és a protein koncentráció közötti összefüggés vizsgálata (103). Egyértelműen alátámasztott, hogy a genotípusnak nagyon kevés befolyása van az átlagos protein koncentrációra (107). A gén polimorfizmusoktól eltekintve ezen gének up/downregulációja és a szérumban lévő proteinek csökkenése/növekedése úgy tűnik összefüggésben van a különféle gyulladásos és fertőzős betegségekkel (62). Továbbra is megállapításra vár, hogy a nem genetikai befolyás van-e annyira erős, mint a genotípus, vagy annál is erősebb. Ezen limitáló tényezők miatt elemeztük a lektin útvonal molekuláinak szérumban lévő szintjeit a genotípizálás helyett. Amennyiben szerológiai markert használunk hosszú távú előrejelzésre, akkor fontos, hogy ezen molekula szérumszintjeinek stabilnak kell lenniük legalább bizonyos időperiódus alatt és bizonyos körülmények között. Ennek megfelelően meghatároztuk a FCN-2, FCN-3 és MASP-2 szérumban lévő szintek stabilitását a betegek egy alcsoportjában. A mintavételek között eltelt medián idő összevethető volt az első klinikailag jelentős bakteriális fertőzés megjelenéséig eltelt idővel. Ezen molekulák egyikének szérumszintje sem mutatott szignifikáns változást az idő elteltével. Nem volt észlelhető szignifikáns változás a betegség súlyosságában sem ezen észlelhető periódus alatt.

Ha a szerzett immunválasz éretlen vagy gyengült a veleszületett immunrendszer jelenti a fő védelmi vonalat a fertőzésekkel szemben. A cirrhosis egy szerzett immunhiányos szindrómának tekinthető (46). A mintázatfelismerő molekulák alacsony szintje a mikrobák elégtelen felismeréséhez és csökkent komplement aktivációhoz, opszonizációhoz, gyulladásos citokin szekrécióhoz vezet, ami az infekciókra való fokozott fogékonyságot eredményez. Ezért ésszerű feltételezni, hogy a lektin útvonal molekuláinak szérumszintjei összefügghetnek a cirrhotikus betegek bakteriális fertőzős epizódjaival, azonban ezt eddig még nem vizsgálták. Az általunk vizsgált betegcsoportban a klinikailag szignifikáns bakteriális fertőzések kumulatív valószínűsége szignifikánsan magasabb volt azon egyéneknél, akiknél vagy a FCN-2 vagy a FCN-3 csökkent, ez tovább fokozódott, ha mindkét lektin esetén alacsony szinteket mértünk. Ez az összefüggés nem volt független a betegség súlyosságától. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a csökkent fikolin szintek előrehaladott cirrhosisban a májsejtek szintetikus kapacitás-károsodásának következményei, és nincs olyan jelentős helyettesítő, ami ezt a funkciójukat pótolni tudja. Ezért a lektindeficienciák a cirrhosishoz kapcsolódó immundeficiencia fontos, szerzett alkotóelemeinek tekinthetők. Nem zárható azonban az ki, hogy egyéb, az alternatív útvonalat hasonlóképpen aktiváló, de más epitópokat felismerő szolubilis mintázatfelismerő molekulák (MBL, M-fikolin, kollektin 10 és 11) azért valamelyest képesek enyhíteni a FCN deficiencia immunológiai hatásait.

Prognosztikai szempontból az eredményeink nem hordoztak új információt a jelenleg elérhető klinikai prognosztikai faktorokhoz képest és nem alkalmasak rizikóbecslés mátrix modelljébe való bevonásra. Azonban pathológiai szempontból ezek az új felismerések figyelemre méltók. A szolubilis mintázatfelismerő molekulák (sPRMs) a nem antibiotikum alapú infekció profilaxis célpontjai lehetnek. Előrehaladott májcirrhosisban, amikor májfunkció javulása májtranszplantáció nélkül nem lehetséges, a cirrhosishoz társuló immundiszfunkciós szindróma komponenseinek korrekciója csökkenthetné a kialakuló, és döntően halálhoz vezető infekciók gyakoriságát. MBL deficiencia esetén az MBL szint helyreállítása javította a túlélést, biztonságosnak és hatékornynak bizonyult mind pre-klinikai, mind a korai fázis II. vizsgálatokban (108). Hasonló vizsgálatok végzése fikolin deficiencia esetén is jelentőséggel bírhat.

A MASP-2-t a lektin útvonal központi, de nem egyetlen aktivátora. Miután a lektin típusú mintázatfelismerő molekulák kötődnek a célmolekulájukhoz, MASP-ok hasítása megtörténik, így az aktiválódik és elindítja a proteolitikus kaszkádot, ami a membrán károsító komplex létrehozásához és a patogének líziséhez vezet (67). Jelen vizsgálatunkban a MASP-2 szintek nem függttek össze a klinikailag szignifikáns infekciók gyakoriságával. Kétségtelenül vizsgálatunk limitáló tényezője az, hogy nem végeztünk funkcionális analízist. Így nem zárhatjuk ki, hogy a MASP-2 aktivitás összefügghet a vizsgált klinikai kimenetekkel.

A lektin útvonal molekuláinak a betegek bevéasztásakor vizsgált szérumszintje nem mutattak összefüggést az infekcióval összefüggő halálozással. Mivel a komplement rendszernek a betegségekre való fogékonyságban kettős szerepe van, feltételezhetjük, hogy inkább a gyulladáson folyamat során túlzott aktiváció következtében létrejövő szövetkárosodás tűnik ártalmasabbnak, mint a működés hiánya. Ebből következően további értékelések és tanulmányok elvégzése indokolt a jövőben a lektin útvonal vizsgálatára cirrhosisos betegekben.

## **FŐBB ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK**

### **Coeliakia**

1. Coeliakiában a glikán ellenes antitestek előfordulása gyakori a diagnózis felállításakor, a kezelés megkezdése előtt.
2. Az antitestek prevalenciája és azok titer értékei nagyon hasonlóak a Crohn-betegségben észleltékéhez és kapcsolatot mutatnak a betegség klinikai megjelenésével, a NOD2/CARD15 mutáció jelenlétével azonban nem.
3. A legmagasabb glikán ellenes antitest prevalencia és titer értékek a legsúlyosabb klinikai formában jelentkező betegség, a malabszorpció esetén észlelhető.
4. Kellő hosszúságú és megfelelő gluténmentes diéta hatására az antitestek a szérumból teljesen eltűnnek.
5. A glikán ellenes antitestek előfordulása coeliakiás betegek egészséges elsőfokú hozzátartozóiban nem gyakoribb.
6. Eredményeink alapján az ASCA és egyéb glikán ellenes antitestek a coeliakia és a gluténmentes diéta compliance kiegészítő markereinek tekinthetők

### **Májcirrhosis**

1. Elsőként számoltunk be nagyszámú májcirrhotikus beteganyagban a lektin komplement útvonal molekuláiról komplex módon. A szérum lektin szintek összefüggést mutatnak a májbetegség súlyosságával és a portális hipertenzió jelenlétével. A lektinszintek nem mutattak összefüggést a májcirrhosis etiológiájával.
2. Vizsgálatunkban a szérum lektin szintek intra-individuálisan hosszú távon is stabilak, és változatlanok maradtak a májcirrhosis akut dekompenzációjának korai fázisában, ami lehetővé teszi, hogy szerológiai biomarkerekként használjuk őket hosszú távon is.
3. Eredményeink arra utalnak, hogy a csökkent fikolin szintek előrehaladott cirrhosisban a májsejtek szintetikus kapacitás-károsodásának következményei, és nincs olyan jelentős helyettes, ami ezt a funkciójukat pótolni tudja. Ezért az észlet lektin deficiencia a cirrhosishoz társuló immundiszfunkciós szindróma új alkotóelemének tekinthető.
4. Prognosztikai szempontból az eredményeink nem hordoztak új információt a jelenleg elérhető klinikai prognosztikai faktorokhoz képest és nem alkalmasak a rizikóbecslés mátrix modelljébe való bevonásra, mert az infekciók prognosztikájában független kockázati tényezőként nem alkalmazhatók.
5. A lektinek nem antibiotikum típusú infekcióprofilaxis célmolekulái lehetnek a májcirrhotikus betegekben.

## ***10. Tárgyszavak***

Coeliakia; glikánok; Anti- *Saccharomyces cerevisiae* antitestek; Anti-outer membrane protein antitestek, NOD2/CARD15; gluténmentes diéta, bakteriális transzlokáció, Crohn betegség májcirrhosis, fikolin, mannoz-kötő szerin proteáz, cirrhosis, bakteriális infekciók, mortalitás

Celiac disease; Glycans; Anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies; Anti-outer membrane protein antibody; Gluten-free diet; Presenting symptoms; Bacterial translocation; Crohn's disease liver cirrhosis, ficolin, mannan-binding lectin serine protease, cirrhosis, bacterial infection, mortality

## ***11. Köszönetnyilvánítás***

Köszönetet mondok témavezetőmnek, Dr. Papp Mária egyetemi docensnek, aki ötödéves orvostanhallgató korom óta segíti és irányítja szakmai és kutató tevékenységemet és nélkülözhetetlen tanácsokat adott a munkaterv, a kéziratok és a Ph.D dolgozat elkészítéséhez. Nemcsak témavezetőként irányította munkámat, hanem bevezetett a belgyógyászat és a gasztroenterológia izgalmas világába és felkeltette az érdeklődésem a hepatológia, a gyulladásos bélbetegségek és a coeliakia iránt. Magas színvonalon végzett kutató munkája és gyógyító orvosi tevékenysége, soha nem szűnő lendülete és kíváncsisága egyaránt példa számomra.

Köszönettel tartozom szerzőtársaimnak, Dr. Korponay-Szabó Ilmának, Dr. Tumpek Juditnak, Dr. Antal-Szalmás Péternek, Dr. Tornai Dávidnak a laboratóriumi munkában, valamint Dr. Tornai Tamásnak az eredmények statisztikai elemzésében és az adatok interpretálásában nyújtott segítségéért. Köszönöm továbbá a Gasztroenterológiai Tanszék, a Laboratóriumi Medicina Intézet és a Regionális Immunológiai Laboratórium minden munkatársának támogatását, mellyel nagyban hozzájárultak gyakorlati és elméleti tudásom bővítéséhez.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm egész családomnak, főképpen szüleimnek, férjemnek és gyermekeimnek a kitartást, türelmet, szeretetet, amellyel a nehéz periódusokban is mellettem álltak és a mindennapi teendőket és gondokat levéve a vállamról a nyugodt munkavégzéshez szükséges feltételeket biztosították számomra.

## ***12.Irodalomjegyzék***

1. Kelly CP, Bai JC, Liu E, Leffler DA. Advances in diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology*. 2015;148(6):1175-86.
2. Korponay-Szabo IR, Kovacs JB, Czinner A, Goracz G, Vamos A, Szabo T. High prevalence of silent celiac disease in preschool children screened with IgA/IgG antiendomysium antibodies. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 1999;28(1):26-30.
3. Kim SM, Mayassi T, Jabri B. Innate immunity: actuating the gears of celiac disease pathogenesis. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2015;29(3):425-35.
4. Koning F, Schuppan D, Cerf-Bensussan N, Sollid LM. Pathomechanisms in celiac disease. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2005;19(3):373-87.
5. Shaoul R, Lerner A. Associated autoantibodies in celiac disease. *Autoimmunity reviews*. 2007;6(8):559-65.
6. Rostom A, Dube C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C, et al. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterology*. 2005;128(4 Suppl 1):S38-46.
7. Internal Clinical Guidelines T. National Institute for Health and Care Excellence: Clinical Guidelines. Coeliac Disease: Recognition, Assessment and Management. London: National Institute for Health and Care Excellence (UK) Copyright (c) 2015 Internal Clinical Guidelines Team.; 2015.
8. Plugis NM, Khosla C. Therapeutic approaches for celiac disease. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2015;29(3):503-21.
9. Alaedini A, Green PH. Autoantibodies in celiac disease. *Autoimmunity*. 2008;41(1):19-26.
10. Rashid M, Lee J. Serologic testing in celiac disease: Practical guide for clinicians. *Canadian family physician Medecin de famille canadien*. 2016;62(1):38-43.
11. de Chaisemartin L, Meatchi T, Malamut G, Fernani-Oukil F, Hosking F, Rault D, et al. Application of Deamidated Gliadin Antibodies in the Follow-Up of Treated Celiac Disease. *PloS one*. 2015;10(8):e0136745.
12. Clemente MG, Musu MP, Frau F, Brusco G, Sole G, Corazza GR, et al. Immune reaction against the cytoskeleton in coeliac disease. *Gut*. 2000;47(4):520-6.
13. Carroccio A, Brusca I, Iacono G, Alessio MG, Sonzogni A, Di Prima L, et al. IgA anti-actin antibodies ELISA in coeliac disease: a multicentre study. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2007;39(9):818-23.
14. Achour A, Thabet Y, Sakly W, Mankai A, Sakly N, Ayadi A, et al. IgA anti-actin antibodies in celiac disease. *Gastroenterologie clinique et biologique*. 2010;34(8-9):483-7.
15. Fasano A, Not T, Wang W, Uzzau S, Berti I, Tommasini A, et al. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *Lancet (London, England)*. 2000;355(9214):1518-9.
16. Papp M, Norman GL, Altorjay I, Lakatos PL. Utility of serological markers in inflammatory bowel diseases: gadget or magic? *World journal of gastroenterology*. 2007;13(14):2028-36.
17. Mow WS, Vasiliauskas EA, Lin YC, Fleshner PR, Papadakis KA, Taylor KD, et al. Association of antibody responses to microbial antigens and complications of small bowel Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2004;126(2):414-24.
18. Papp M, Altorjay I, Norman GL, Shums Z, Palatka K, Vitalis Z, et al. Seroreactivity to microbial components in Crohn's disease is associated with ileal involvement, noninflammatory disease behavior and NOD2/CARD15 genotype, but not with risk for

- surgery in a Hungarian cohort of IBD patients. *Inflammatory bowel diseases*. 2007;13(8):984-92.
19. Dotan I, Fishman S, Dgani Y, Schwartz M, Karban A, Lerner A, et al. Antibodies against laminaribioside and chitobioside are novel serologic markers in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2006;131(2):366-78.
  20. Vermeire S, Vermeulen N, Van Assche G, Bossuyt X, Rutgeerts P. (Auto)antibodies in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology clinics of North America*. 2008;37(2):429-38, vii.
  21. Henckaerts L, Pierik M, Joossens M, Ferrante M, Rutgeerts P, Vermeire S. Mutations in pattern recognition receptor genes modulate seroreactivity to microbial antigens in patients with inflammatory bowel disease. *Gut*. 2007;56(11):1536-42.
  22. Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2007;448(7152):427-34.
  23. Toumi D, Mankai A, Belhadj R, Ghedira-Besbes L, Jeddi M, Ghedira I. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies in coeliac disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2007;42(7):821-6.
  24. Granito A, Muratori L, Muratori P, Guidi M, Lenzi M, Bianchi FB, et al. Anti-*saccharomyces cerevisiae* antibodies (ASCA) in coeliac disease. *Gut*. 2006;55(2):296.
  25. Mallant-Hent R, Mary B, von Blomberg E, Yuksel Z, Wahab PJ, Gundy C, et al. Disappearance of anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies in coeliac disease during a gluten-free diet. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2006;18(1):75-8.
  26. Damoiseaux JG, Bouten B, Linders AM, Austen J, Roozendaal C, Russel MG, et al. Diagnostic value of anti-*Saccharomyces cerevisiae* and antineutrophil cytoplasmic antibodies for inflammatory bowel disease: high prevalence in patients with celiac disease. *Journal of clinical immunology*. 2002;22(5):281-8.
  27. Candelli M, Nista EC, Carloni E, Pignataro G, Rigante D, Gasbarrini A. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies and coeliac disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2003;38(11):1191-2.
  28. Ashorn S, Valineva T, Kaukinen K, Ashorn M, Braun J, Raukola H, et al. Serological responses to microbial antigens in celiac disease patients during a gluten-free diet. *Journal of clinical immunology*. 2009;29(2):190-5.
  29. Tsochatzis EA, Bosch J, Burroughs AK. Liver cirrhosis. *Lancet (London, England)*. 2014;383(9930):1749-61.
  30. Hernaez R, Sola E, Moreau R, Gines P. Acute-on-chronic liver failure: an update. *Gut*. 2017.
  31. Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla DC, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *Journal of hepatology*. 2013;58(3):593-608.
  32. Guirguis J, Chhatwal J, Dasarathy J, Rivas J, McMichael D, Nagy LE, et al. Clinical impact of alcohol-related cirrhosis in the next decade: estimates based on current epidemiological trends in the United States. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 2015;39(11):2085-94.
  33. Leber B, Mayrhauser U, Rybczynski M, Stadlbauer V. Innate immune dysfunction in acute and chronic liver disease. *Wiener klinische Wochenschrift*. 2009;121(23-24):732-44.
  34. Bunchorntavakul C, Chamroonkul N, Chavalitdhamrong D. Bacterial infections in cirrhosis: A critical review and practical guidance. *World journal of hepatology*. 2016;8(6):307-21.
  35. Tandon P, Garcia-Tsao G. Bacterial infections, sepsis, and multiorgan failure in cirrhosis. *Seminars in liver disease*. 2008;28(1):26-42.

36. Thalheimer U, Triantos CK, Samonakis DN, Patch D, Burroughs AK. Infection, coagulation, and variceal bleeding in cirrhosis. *Gut*. 2005;54(4):556-63.
37. Arvaniti V, D'Amico G, Fede G, Manousou P, Tsochatzis E, Pleguezuelo M, et al. Infections in patients with cirrhosis increase mortality four-fold and should be used in determining prognosis. *Gastroenterology*. 2010;139(4):1246-56, 56.e1-5.
38. Caly WR, Strauss E. A prospective study of bacterial infections in patients with cirrhosis. *Journal of hepatology*. 1993;18(3):353-8.
39. Bernard B, Grange JD, Khac EN, Amiot X, Opolon P, Poynard T. Antibiotic prophylaxis for the prevention of bacterial infections in cirrhotic patients with gastrointestinal bleeding: a meta-analysis. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 1999;29(6):1655-61.
40. Vitalis Z, Altorjay I, Tornai I, Palatka K, Kacska S, Palyu E, et al. Phenotypic polymorphism of haptoglobin: a novel risk factor for the development of infection in liver cirrhosis. *Human immunology*. 2011;72(4):348-54.
41. Altorjay I, Vitalis Z, Tornai I, Palatka K, Kacska S, Farkas G, et al. Mannose-binding lectin deficiency confers risk for bacterial infections in a large Hungarian cohort of patients with liver cirrhosis. *Journal of hepatology*. 2010;53(3):484-91.
42. Appenrodt B, Grunhage F, Gentemann MG, Thyssen L, Sauerbruch T, Lammert F. Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 (NOD2) variants are genetic risk factors for death and spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2010;51(4):1327-33.
43. Guarner-Argente C, Sanchez E, Vidal S, Roman E, Concepcion M, Poca M, et al. Toll-like receptor 4 D299G polymorphism and the incidence of infections in cirrhotic patients. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2010;31(11):1192-9.
44. Nischalke HD, Berger C, Aldenhoff K, Thyssen L, Gentemann M, Grunhage F, et al. Toll-like receptor (TLR) 2 promoter and intron 2 polymorphisms are associated with increased risk for spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis. *Journal of hepatology*. 2011;55(5):1010-6.
45. Senkerikova R, de Mare-Bredemeijer E, Frankova S, Roelen D, Visseren T, Trunecka P, et al. Genetic variation in TNFA predicts protection from severe bacterial infections in patients with end-stage liver disease awaiting liver transplantation. *Journal of hepatology*. 2014;60(4):773-81.
46. Sipeki N, Antal-Szalmas P, Lakatos PL, Papp M. Immune dysfunction in cirrhosis. *World journal of gastroenterology*. 2014;20(10):2564-77.
47. Bajic G, Degn SE, Thiel S, Andersen GR. Complement activation, regulation, and molecular basis for complement-related diseases. *The EMBO journal*. 2015;34(22):2735-57.
48. Merle NS, Church SE, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement System Part I - Molecular Mechanisms of Activation and Regulation. *Frontiers in immunology*. 2015;6:262.
49. Beltrame MH, Catarino SJ, Goeldner I, Boldt AB, de Messias-Reason IJ. The lectin pathway of complement and rheumatic heart disease. *Frontiers in pediatrics*. 2014;2:148.
50. Yongqing T, Drentin N, Duncan RC, Wijeyewickrema LC, Pike RN. Mannose-binding lectin serine proteases and associated proteins of the lectin pathway of complement: two genes, five proteins and many functions? *Biochimica et biophysica acta*. 2012;1824(1):253-62.
51. Nonaka M, Kimura A. Genomic view of the evolution of the complement system. *Immunogenetics*. 2006;58(9):701-13.
52. Endo Y, Matsushita M, Fujita T. Role of ficolin in innate immunity and its molecular basis. *Immunobiology*. 2007;212(4-5):371-9.
53. Krarup A, Mitchell DA, Sim RB. Recognition of acetylated oligosaccharides by human L-ficolin. *Immunology letters*. 2008;118(2):152-6.

54. Akaiwa M, Yae Y, Sugimoto R, Suzuki SO, Iwaki T, Izuhara K, et al. Hakata antigen, a new member of the ficolin/opsonin p35 family, is a novel human lectin secreted into bronchus/alveolus and bile. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society.* 1999;47(6):777-86.
55. Lu J, Le Y, Kon OL, Chan J, Lee SH. Biosynthesis of human ficolin, an Escherichia coli-binding protein, by monocytes: comparison with the synthesis of two macrophage-specific proteins, C1q and the mannose receptor. *Immunology.* 1996;89(2):289-94.
56. Lu J, Tay PN, Kon OL, Reid KB. Human ficolin: cDNA cloning, demonstration of peripheral blood leucocytes as the major site of synthesis and assignment of the gene to chromosome 9. *The Biochemical journal.* 1996;313 ( Pt 2):473-8.
57. Teh C, Le Y, Lee SH, Lu J. M-ficolin is expressed on monocytes and is a lectin binding to N-acetyl-D-glucosamine and mediates monocyte adhesion and phagocytosis of Escherichia coli. *Immunology.* 2000;101(2):225-32.
58. Honore C, Rorvig S, Munthe-Fog L, Hummelshoj T, Madsen HO, Borregaard N, et al. The innate pattern recognition molecule Ficolin-1 is secreted by monocytes/macrophages and is circulating in human plasma. *Molecular immunology.* 2008;45(10):2782-9.
59. Liu Y, Endo Y, Iwaki D, Nakata M, Matsushita M, Wada I, et al. Human M-ficolin is a secretory protein that activates the lectin complement pathway. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950).* 2005;175(5):3150-6.
60. Munthe-Fog L, Hummelshoj T, Honore C, Madsen HO, Permin H, Garred P. Immunodeficiency associated with FCN3 mutation and ficolin-3 deficiency. *The New England journal of medicine.* 2009;360(25):2637-44.
61. Schlapbach LJ, Thiel S, Kessler U, Ammann RA, Aebi C, Jensenius JC. Congenital H-ficolin deficiency in premature infants with severe necrotising enterocolitis. *Gut.* 2011;60(10):1438-9.
62. Endo Y, Matsushita M, Fujita T. New insights into the role of ficolins in the lectin pathway of innate immunity. *International review of cell and molecular biology.* 2015;316:49-110.
63. Sorensen R, Thiel S, Jensenius JC. Mannan-binding-lectin-associated serine proteases, characteristics and disease associations. *Springer seminars in immunopathology.* 2005;27(3):299-319.
64. Stengaard-Pedersen K, Thiel S, Gadjeva M, Moller-Kristensen M, Sorensen R, Jensen LT, et al. Inherited deficiency of mannan-binding lectin-associated serine protease 2. *The New England journal of medicine.* 2003;349(6):554-60.
65. Garred P, Genster N, Pilely K, Bayarri-Olmos R, Rosbjerg A, Ma YJ, et al. A journey through the lectin pathway of complement-MBL and beyond. *Immunological reviews.* 2016;274(1):74-97.
66. Heitzeneder S, Seidel M, Forster-Waldl E, Heitger A. Mannan-binding lectin deficiency - Good news, bad news, doesn't matter? *Clinical immunology (Orlando, Fla).* 2012;143(1):22-38.
67. Beltrame MH, Boldt AB, Catarino SJ, Mendes HC, Boschmann SE, Goeldner I, et al. MBL-associated serine proteases (MASPs) and infectious diseases. *Molecular immunology.* 2015;67(1):85-100.
68. Chong WP, To YF, Ip WK, Yuen MF, Poon TP, Wong WH, et al. Mannose-binding lectin in chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology (Baltimore, Md).* 2005;42(5):1037-45.
69. Ladinser B, Rossipal E, Pittschieler K. Endomysium antibodies in coeliac disease: an improved method. *Gut.* 1994;35(6):776-8.

70. Ambrus A, Banyai I, Weiss MS, Hilgenfeld R, Keresztessy Z, Muszbek L, et al. Calcium binding of transglutaminases: a <sup>43</sup>Ca NMR study combined with surface polarity analysis. *Journal of biomolecular structure & dynamics*. 2001;19(1):59-74.
71. Sulkanen S, Halttunen T, Laurila K, Kolho KL, Korponay-Szabo IR, Sarnesto A, et al. Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. *Gastroenterology*. 1998;115(6):1322-8.
72. Papp M, Altorjay I, Dotan N, Palatka K, Foldi I, Tumpek J, et al. 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. *The American journal of gastroenterology*. 2008;103(3):665-81.
73. Tornai T, Vitalis Z, Sipeki N, Dinya T, Tornai D, Antal-Szalmas P, et al. Macrophage activation marker, soluble CD163, is an independent predictor of short-term mortality in patients with cirrhosis and bacterial infection. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2016;36(11):1628-38.
74. Moore KP, Wong F, Gines P, Bernardi M, Ochs A, Salerno F, et al. The management of ascites in cirrhosis: report on the consensus conference of the International Ascites Club. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2003;38(1):258-66.
75. Ferenci P, Lockwood A, Mullen K, Tarter R, Weissenborn K, Blei AT. Hepatic encephalopathy--definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: final report of the working party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2002;35(3):716-21.
76. Grace ND, Groszmann RJ, Garcia-Tsao G, Burroughs AK, Pagliaro L, Makuch RW, et al. Portal hypertension and variceal bleeding: an AASLD single topic symposium. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 1998;28(3):868-80.
77. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *Journal of hepatology*. 2006;44(1):217-31.
78. Papp M, Vitalis Z, Altorjay I, Tornai I, Udvardy M, Harsfalvi J, et al. Acute phase proteins in the diagnosis and prediction of cirrhosis associated bacterial infections. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2012;32(4):603-11.
79. Cadranet JF, Denis J, Pauwels A, Barbare JC, Eugene C, di Martino V, et al. Prevalence and risk factors of bacteriuria in cirrhotic patients: a prospective case-control multicenter study in 244 patients. *Journal of hepatology*. 1999;31(3):464-8.
80. Fernandez J, Navasa M, Gomez J, Colmenero J, Vila J, Arroyo V, et al. Bacterial infections in cirrhosis: epidemiological changes with invasive procedures and norfloxacin prophylaxis. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2002;35(1):140-8.
81. EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Journal of hepatology*. 2010;53(3):397-417.
82. Mohan P, Ramu B, Bhaskar E, Venkataraman J. Prevalence and risk factors for bacterial skin infection and mortality in cirrhosis. *Annals of hepatology*. 2011;10(1):15-20.
83. Messias-Reason I, Bosco DG, Nisihara RM, Jakobsen LH, Petzl-Erler ML, Jensenius JC. Circulating levels of mannan-binding lectin (MBL) and MBL-associated serine protease 2 in endemic pemphigus foliaceus. *Clinical and experimental dermatology*. 2008;33(4):495-7.
84. Barta Z, Csipo I, Szabo GG, Szegedi G. Seroreactivity against *Saccharomyces cerevisiae* in patients with Crohn's disease and celiac disease. *World journal of gastroenterology*. 2003;9(10):2308-12.

85. Ferrante M, Henckaerts L, Joossens M, Pierik M, Joossens S, Dotan N, et al. New serological markers in inflammatory bowel disease are associated with complicated disease behaviour. *Gut*. 2007;56(10):1394-403.
86. Arrieta MC, Bistritz L, Meddings JB. Alterations in intestinal permeability. *Gut*. 2006;55(10):1512-20.
87. Meddings J. The significance of the gut barrier in disease. *Gut*. 2008;57(4):438-40.
88. Hill PG, Holmes GK. Coeliac disease: a biopsy is not always necessary for diagnosis. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2008;27(7):572-7.
89. Santin I, Castellanos-Rubio A, Hualde I, Castano L, Vitoria JC, Bilbao JR. Toll-like receptor 4 (TLR4) gene polymorphisms in celiac disease. *Tissue antigens*. 2007;70(6):495-8.
90. Dezsofi A, Szebeni B, Hermann CS, Kapitany A, Veres G, Sipka S, et al. Frequencies of genetic polymorphisms of TLR4 and CD14 and of HLA-DQ genotypes in children with celiac disease, type 1 diabetes mellitus, or both. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2008;47(3):283-7.
91. Buhner S, Buning C, Genschel J, Kling K, Herrmann D, Dignass A, et al. Genetic basis for increased intestinal permeability in families with Crohn's disease: role of CARD15 3020insC mutation? *Gut*. 2006;55(3):342-7.
92. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti G. High prevalence of small intestinal bacterial overgrowth in celiac patients with persistence of gastrointestinal symptoms after gluten withdrawal. *The American journal of gastroenterology*. 2003;98(4):839-43.
93. Rubio-Tapia A, Barton SH, Rosenblatt JE, Murray JA. Prevalence of small intestine bacterial overgrowth diagnosed by quantitative culture of intestinal aspirate in celiac disease. *Journal of clinical gastroenterology*. 2009;43(2):157-61.
94. Castiglione F, Rispo A, Di Girolamo E, Cozzolino A, Manguso F, Grassia R, et al. Antibiotic treatment of small bowel bacterial overgrowth in patients with Crohn's disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2003;18(11-12):1107-12.
95. Deban L, Correale C, Vetrano S, Malesci A, Danese S. Multiple pathogenic roles of microvasculature in inflammatory bowel disease: a Jack of all trades. *The American journal of pathology*. 2008;172(6):1457-66.
96. Myrsky E, Syrjanen M, Korponay-Szabo IR, Maki M, Kaukinen K, Lindfors K. Altered small-bowel mucosal vascular network in untreated coeliac disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2009;44(2):162-7.
97. Rezaie A, Parker RD, Abdollahi M. Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause? *Digestive diseases and sciences*. 2007;52(9):2015-21.
98. Bethune MT, Khosla C. Parallels between pathogens and gluten peptides in celiac sprue. *PLoS pathogens*. 2008;4(2):e34.
99. Koning F. Celiac disease: sandwiched between innate and adaptive immune responses induced by gluten. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2008;46 Suppl 1:E8-9.
100. Balzan S, de Almeida Quadros C, de Cleve R, Zilberstein B, Ceccanello I. Bacterial translocation: overview of mechanisms and clinical impact. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2007;22(4):464-71.
101. Thiel S. Complement activating soluble pattern recognition molecules with collagen-like regions, mannan-binding lectin, ficolins and associated proteins. *Molecular immunology*. 2007;44(16):3875-88.
102. Sallenbach S, Thiel S, Aebi C, Otth M, Bigler S, Jensenius JC, et al. Serum concentrations of lectin-pathway components in healthy neonates, children and adults: mannan-binding lectin (MBL), M-, L-, and H-ficolin, and MBL-associated serine protease-2 (MASP-2). *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*. 2011;22(4):424-30.

103. Kilpatrick DC, Chalmers JD. Human L-ficolin (ficolin-2) and its clinical significance. *Journal of biomedicine & biotechnology*. 2012;2012:138797.
104. Laursen TL, Sandahl TD, Stoy S, Schiodt FV, Lee WM, Vilstrup H, et al. Circulating mannan-binding lectin, M-, L-, H-ficolin and collectin-liver-1 levels in patients with acute liver failure. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2015;35(3):756-63.
105. Hoang TV, Toan NL, Song le H, Ouf EA, Bock CT, Kremsner PG, et al. Ficolin-2 levels and FCN2 haplotypes influence hepatitis B infection outcome in Vietnamese patients. *PloS one*. 2011;6(11):e28113.
106. Liu J, Ali MA, Shi Y, Zhao Y, Luo F, Yu J, et al. Specifically binding of L-ficolin to N-glycans of HCV envelope glycoproteins E1 and E2 leads to complement activation. *Cellular & molecular immunology*. 2009;6(4):235-44.
107. Garred P, Honore C, Ma YJ, Rorvig S, Cowland J, Borregaard N, et al. The genetics of ficolins. *Journal of innate immunity*. 2010;2(1):3-16.
108. Keizer MP, Wouters D, Schlapbach LJ, Kuijpers TW. Restoration of MBL-deficiency: redefining the safety, efficacy and viability of MBL-substitution therapy. *Molecular immunology*. 2014;61(2):174-84.

## 13. Hivatalos publikációs lista



DEBRECENI EGYETEM  
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/30/2017.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Földi Ildikó  
Neptun kód: C98QK7  
Doktori Iskola: Laki Kálmán Doktori Iskola

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **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. [Epub ahead of print]*, 2017.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/liv.13368>  
IF: 4.47 (2015)
2. 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. L., Lakatos, P. L.: Anti-microbial antibodies in celiac disease: trick or treat?  
*World J. Gastroenterol.* 15 (31), 3891-3900, 2009.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.1515.383891>  
\* Megosztott első szerzős közlemény.  
IF: 2.092



Cím: 4032 Debrecen, Egyetem tér 1. □ Postacím: 4010 Debrecen, Pf. 39. □ Tel.: (52) 410-443  
E-mail: [publikaciok@lib.unideb.hu](mailto:publikaciok@lib.unideb.hu) □ Honlap: [www.lib.unideb.hu](http://www.lib.unideb.hu)



További közlemények

3. Papp, M., Norman, G. L., Vitális, Z., Tornai, I., Altorjay, 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. L.: Presence of Anti-Microbial Antibodies in Liver Cirrhosis: a Tell-Tale Sign of Compromised Immunity?  
*PLoS One*. 5 (9), e12957-1-e12957-9, 2010.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0012957>  
IF: 4.411
4. Molnár, K., Papp, M., Szőnyi, L., Lakatos, P. L., Tornai, I., **Földi, I.**, Arató, A., Dezsőfi, A., Veres, G.: Haptoglobulin polimorfizmus vizsgálata gyermekkori és felnőttkori primer szklerotizáló cholangitisben.  
*Gyermekgyógyászat*. 59 (5), 277-281, 2008.
5. Papp, M., **Földi, I.**, Nemes, É., Udvardy, M., Hársfalvi, J., Altorjay, I., Máté, I., Dinya, T., Várólygi, C., Barta, Z., Veres, G., Lakatos, P. L., Tumpek, J., Tóth, L., Szathmári, E., Kapitány, A., Gyetvai, Á., Korponay-Szabó, I.: Haptoglobulin polymorphism: a novel genetic risk factor for celiac disease development and its clinical manifestations.  
*Clin. Chem*. 54 (4), 697-704, 2008.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2007.098780>  
IF: 5.579
6. Papp, M., Nemes, É., **Földi, I.**, Udvardy, M., Hársfalvi, J., Altorjay, I., Máté, I., Dinya, T., Várólygi, C., Barta, Z., Veres, G., Lakatos, P. L., Tumpek, J., Tóth, L., Szathmári, E., Kapitány, A., Gyetvai, Á., Korponay-Szabó, I.: Haptoglobulin-polimorfizmus: új genetikai kockázati tényező a coeliakia kialakulásában és klinikai megjelenési formáiban.  
*Gyermekgyógyászat*. 59 (5), 264-270, 2008.
7. 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. L., Szamosi, T., Papp, J., The Hungarian IBD Study Group, Lakatos, P. L.: 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.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2007.01652.x>  
IF: 6.444





8. Papp, M., Lakatos, P. L., Palatka, K., **Földi, I.**, Udvardy, M., Hársfalvi, J., Tornai, I., Vitális, Z., Dinya, T., Kovács, Á., Molnár, T., Demeter, P., Papp, J., Lakatos, L., Altorjay, I.: Haptoglobin polymorphisms are associated with Crohn's disease, disease behavior, and extraintestinal manifestations in Hungarian patients.  
*Dig. Dis. Sci.* 52 (5), 1279-1284, 2007.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10620-006-9615-1>  
IF: 1.319
9. Papp, M., Altorjay, I., Norman, G. L., Shums, Z., Palatka, K., Vitális, Z., **Földi, I.**, Lakos, G., Tumpek, J., Udvardy, M. L., Hársfalvi, J., Fischer, S., Lakatos, L., Kovács, Á., Bene, L., Molnár, T., Tulassay, Z., Miheller, P., Veres, G., Papp, J., Lakatos, P. L.: Seroreactivity to microbial components in Crohn's disease is associated with ileal involvement, noninflammatory disease behavior and NOD2/CARD15 genotype, but not with risk for surgery in a Hungarian cohort of IBD patients.  
*Inflamm. Bowel Dis.* 13 (8), 984-992, 2007.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ibd.20146>  
IF: 4.705
10. Papp, M., Lakatos, P. L., Palatka, K., **Földi, I.**, Udvardy, M., Hársfalvi, J., Tornai, I., Vitális, Z., Dinya, T., Kovács, Á., Molnár, T., Demeter, P., Papp, J., Lakatos, L., Altorjay, I.: Haptoglobin polimorfizmus vizsgálata gyulladásos bélbetegségekben.  
*Orv. Hetil.* 147 (36), 1745-1750, 2006.

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 29,02**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre): 6,562**

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

Debrecen, 2017.02.17.



#### ***14. A témához kapcsolódó tudományos előadások***

1. **A lektin komplement rendszer molekuláinak szérumszintje döntően nem befolyásolja a bakteriális fertőzések kialakulásának kockázatát májcirrhosisos betegekben** MGT 58. Nagygyűlése Siófok (2017)

2. **A lektin komplement rendszer molekuláinak szérumszintje döntően nem befolyásolja a bakteriális fertőzések kialakulásának kockázatát májcirrhosisos betegekben**

Laki Kálmán Doktori Iskola hallgatóinak PhD Konferenciája; Debrecen, 2017.)

#### ***15. Tudományos előadások egyéb témákban***

1. **Ritka kórkép egy fiatal nő májcirrhosisának hátterében** Hepatológia Iskola (2008) Tata

2. **Sikeres TIPS implantáció primer szklerotizáló kolangitiszos beteg akut, uralhatatlan varixvérvése során** FIGAMU (Fiatal Gastroenterológusok Munkacsoportja) II. Kongresszusa (2007) Kecskemét

3. **Krónikus B-vírus hepatitis reaktivációja Non-Hodgkin-Lymphomás betegen kemoterápia után** FIGAMU (Fiatal Gastroenterológusok Munkacsoportja) I. Kongresszusa (2006) Harkány

4. **Haptoglobin polimorfizmus szerepe a diabeteses angiopathia pathogenezisében** Magyar Hematológiai és Transzfúziológiai Társaság XX. Kongresszusa, (2005) Budapest

5. **Haptoglobin polimorfizmus szerepe a diabeteses angiopathia pathogenezisében** Magyarországi Belgyógyász Társaság Északkelet- Magyarországi Szakcsoportjának Tudományos Ülése (2005) Budapest

**Poszterek:** 2 angol és 2 magyar nyelvű poszter kongresszusokon:

1. **Haptoglobin polymorphism: a novel genetic risk factor for celiac disease development and its clinical manifestation** (13th International Celiac Disease Symposium, Amsterdam 2009,04. 06.-08.)

2. **Anti-glycan antibodies in celiac disease: is there an association with gluten-free diet?**(13th International Celiac Disease Symposium, Amsterdam 2009,04,6–8.)

3. **Glikán ellenes antitestek vizsgálata coeliakiában: Van-e összefüggés a gluténmentes étrenddel?** (MGT 50. Nagygyűlése, Tihany 2008,06,06.-11.)

**4. Haptoglobin polimorfizmus és a coeliakia klinikai megjelenésének kapcsolata (MGT 49. Nagygyűlése Tihany, 2007,06,01.-06.)**

### **16. Függelék**

*Javítások a bírálók javaslata alapján*

Dr. Gasztonyi Beáta észrevétele:

„A 7. számú ábra kétszer szerepel a dolgozatban, a 36. és a 45. oldalon is. A 45. oldalon található ábra hibásan került a 7-es számmal feltüntetve, sorszámát tekintve ez a 9. ábra, a szövegben is 9.-ként hivatkozik rá a jelölt.”

A táblázat számozását a 45. oldalon 7.-ről 9.-re javítottam.