

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**KLINIKAI, SZEROLÓGIAI ÉS GENETIKAI TÉNYEZŐK A BAKTERIÁLIS
INFEKCIÓK ÉS TRANSZLOKÁCIÓ ELŐREJELZÉSÉNEK VIZSGÁLATÁRA
MÁJCIRRÓZISOS BETEGEK BEN**

Dr. Dinya Tamás Ákos

Témavezető: Dr. Papp Mária



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
LAKI KÁLMÁN DOKTORI ISKOLA**

Debrecen, 2021

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK	2
RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	3
ÖSSZEFOGLALÁS	5
SUMMARY	7
BEVEZETÉS.....	9
CÉLKITŰZÉSEK.....	19
BETEGANYAG ÉS MÓDSZEREK.....	20
KRÓNIKUS MÁJBETEGSÉGEK	20
KONTROLLCSOPORTOK.....	22
LABORATÓRIUMI MÓDSZEREK.....	23
STATISZTIKAI ANALÍZIS.....	24
ETIKAI ENGEDÉLYEK	24
TÁMOGATÁS	25
EREDMÉNYEK	26
MEGBESZÉLÉS.....	46
MELLÉKLET	52
FŐBB ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	55
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	56
KULCSSZAVAK.....	57
FÜGGELÉK.....	58
IRODALOMJEGYZÉK	63

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ACLF: krónikus májbetegségre rakódott akut májelégtelenség

AD: akut dekompenzáció

AIH: autoimmun hepatitisz

AMA: anti-mitokondriális antitest

APP: akut fázis fehérje

ASCA: anti-Saccharomyces cerevisiae antitest

AMCA: anti-mannobiozid antitest

ALCA: anti-laminaribiozid antitest

ACCA: anti-chitobiozid antitest

BT: bakteriális transzlokáció

BactDNA: bakteriális DNS

BPI: baktericid/permeabilitás-fokozó fehérje

CAID: cirrózishoz társuló immunműködési zavar

CI: megbízhatósági intervallum

CLD: krónikus májbetegség

CP: kumulatív valószínűség

CRP: C-reaktív protein

DNS: dezoxi-ribonukleinsav

EndoCab: endotoxin core antitest

ELISA: enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálat

ERCP: endoszkópos retrográd kolangiopankreatográfia

FRET: fluoreszcencia rezonancia energia transzfer

FCN: fikolin

GALT: bélhez kapcsolódó limfoid szövet

GBP: Gram-pozitív

GNB: Gram-negatív

HCC: hepatocelluláris karcinóma

HCV: krónikus hepatitis C

HR: kockázati hányados

IBD: gyulladásos bélbetegség

IL: interleukin

IQR: interkvartilis tartomány

kDa: kilodalton

LBP: lipopoliszaharid-kötő fehérje

LPS: lipopoliszaharid

MBL: mannózkötő lektin
MCP-1: monocita kemotaktikus protein-1
MELD: végstádiumú májbetegségek matematikai modellje
MRCP: mágneses rezonancia kolangiopankreatográfia
NAFLD: nem alkoholos zsírmáj
NDP52: nukleáris dot protein 52kDa
NOD2: nukleotid-kötő oligomerizációs domén 2
NSBB: nem-szelektív béta blokkoló
OR: esélyhányados
PBC: primér biliáris kolangitisz
PCT: prokalcitonin
PCR: polimeráz láncreakció
PPI: proton pumpa inhibitor
PPV: pozitív prediktív érték
PSC: primér szklerotizáló kolangitisz
RNS: ribonukleinsav
PRR: szolúbilis mintázatfelismerő receptor fehérjék
SBP: spontán bakteriális peritonitisz
SE: standard hiba
SIRS: szisztémás gyulladásos válasz szindróma
SNP: egy pontos nukleotid polimorfizmusok
sPRM: szolúbilis mintázatfelismerő molekuláival
TNF- α : tumor nekrozis faktor-alfa
TLR: toll-szerű receptor

ÖSSZEFOGLALÁS

Elméleti háttér: Májcirrózisban a különböző súlyosságú bakteriális fertőzések az átlagnál gyakrabban fordulnak elő. Az infekciók hatással vannak a májbetegségre is: gátolják a máj működését, hozzájárulnak a betegség-specifikus szövődmények kialakulásához (véralvadási zavar, nyelőcső varixvérzés, hepatikus enkefalopátia, hepatorenális szindróma, stb.), és egyúttal a halálozás jelentős rizikótényezői is. Az infekciók kialakulásában alapvetően két kórképet kell kiemelni: a cirrózishoz társuló immundiszfunkciós (CAID) szindróma és a patológiás bakteriális transzlokáció (BT) szerepe a májbetegség előrehaladtával egyre hangsúlyosabbá válik. A szövődmények megelőzéséhez és kezeléséhez, a kórlefolyás enyhítéséhez és a mortalitás csökkentéséhez elengedhetetlen a fertőzések kialakulásának minél pontosabb előrejelzése. A mintázatfelismerő receptorok (PRR) funkcionális polimorfizmusai befolyásolják az immunrendszer komplex működését, mely révén képes felismerni és eltávolítani a kórokozókat, ami aztán hatással lesz a gazdaszervezet veleszületett védekező mechanizmusaira is. Az öröklött PRR működéséhez köthető immunzavarok szerepe májcirrózisban a spontán bakteriális peritonitisz (SBP) kialakulásában igazolt, ugyanakkor átfogó elemzésükre a nem-SBP típusú bakteriális fertőzések kialakulásával kapcsolatosan nem került még sor, mint ahogyan arra sem, hogy vizsgálják jelentőségüket a progresszív betegséglefolyásban. A bélbaktériumok sejtfelszíni szénhidrát és fehérje antigénjei ellen kialakuló antitestképződés a szövődményes vékonybél Crohn-betegség szerológiai jellegzetességeként ismert, és hátterében - legalábbis részben - a NOD2/CARD15 mutációkkal mutatott kapcsolat miatt a genetikai alapon létrejövő bélflóra elleni toleranciavesztést feltételezik. Feltételezésünk szerint az IgA izotípusú antimikrobiális antitestképződés nem kórkép-specifikus, szerzett módon is kialakulhat és a kóros BT kór folyamatát jelzi. Májcirrózisban előfordulási gyakoriságukat és hatékonyságukat a bakteriális fertőzések kialakulásának előrejelzésében eddig még nem vizsgálták.

Célkitűzések: Nagy létszámú májcirrózisos betegpopuláción obszervációs klinikai tanulmány keretében vizsgáltuk különböző intracelluláris és sejtfelszíni PRR fehérjék (toll-szerű receptor [TLR2 és -4] és NOD2/CARD15) funkcionális következményekkel járó ismert genetikai polimorfizmusainak jelentőségét a bakteriális infekciók, valamint a progresszív betegségforma kialakulásában (dekompenzált májcirrózis és/ vagy a májbetegséghez kapcsolódó halálozás). Vizsgáltuk továbbá kapcsolatukat az endotoxin expozíció ismert szerológiai markereivel (lipopoliszaharid-kötő fehérje [LBP] és endotoxin core antitest [EndoCab]). Meghatároztuk májcirrózisban az IgA izotípusú antimikrobiális antitestek (anti-*Saccharomyces cerevisiae* [ASCA] és anti-OMP PlusTM) gyakoriságát, azok összefüggését a betegség klinikai megjelenésével és a PRR polimorfizmusokkal. Vizsgáltuk továbbá, hogy a különböző szerológiai antitestek mennyiben befolyásolják a fertőzések kialakulását és milyen összefüggést mutatnak a betegség-specifikus halálozással. A kontrollcsoport nagy létszámú

gyulladásos bélbetegekből (IBD), nem cirrózisos krónikus májbetegekből, valamint egészséges egyénekből állt.

Módszerek: Az antimikrobiális antitestek és az endotoxémia biomarkereinek meghatározását szérumból ELISA módszerrel végeztük. A *NOD2* gén esetén három (R702W, G908R és L1007PfsinsC), míg a *TLR2* (−16934T>A) és a *TLR4* (D299G) géneknél pedig 1-1 variáns genotipizálását végeztük el.

Eredmények: Májcirrózisos betegekben a bakteriális infekciók kialakulásának kockázati tényezőit vizsgálva a veseszűletett fogékonyságot reprezentáló genetikai tényezők közül csak a *NOD2* génvariánsok bizonyultak az SBP kockázati tényezőjének, míg a *TLR2* vagy *TLR4* variánsok nem. Aszciteszes betegekben az SBP kialakulásnak kumulatív valószínűsége magasabb volt a *NOD2* génvariánsok jelenléte esetén a vad típussal összehasonlítva ($76,9 \pm 19,9\%$ vs. $30,9 \pm 6,9\%$, $p\text{LogRank}=0,047$). Ugyanakkor a nem-SBP típusú fertőzések előfordulását tekintve a klinikai faktorok fontosabbnak bizonyultak és nem voltak összefüggésbe hozhatók sem az egyedi, sem pedig a kombinált PRR génprofilokkal. Az előrehaladott betegségstádium (HR [95% CI]: 2,11 [1,38-3,25]) és a megelőző fertőzéses epizód (HR: 2,42 [1,58-3,72]) voltak a későbbi bakteriális infekciók kialakulásának legfőbb klinikai kockázati tényezői. A nem-SBP típusú bakteriális fertőzés kockázata még magasabb volt mindkét klinikai tényező együttes jelenléte esetén (HR: 4,74 [2,68-8,39]). A PRR genotípusok májcirrózisban nem voltak képesek előrejelteni a hosszútávú betegséglefordulást sem.

A különféle antimikrobiális antitestképződést májcirrózisban gyakorinak találtuk (ASCA IgA/IgG: 38,5% és az anti-OMP PlusTM IgA: 62,6%) mind az egészséges (16% és 20%, $p<0,001$ mindkettő esetén), mind pedig a krónikus májbeteg kontroll csoporthoz képest (22,2% és 16,5%, $p<0,001$ mindkettő esetén). Kialakulásukban elsősorban szerzett faktorok, mint a májbetegség súlyossága és nem pedig a BT-ra hajlamosító genetikai tényezők, mint a *NOD2* génvariánsok játszottak szerepet. Az IgA izotípusú ASCA antitest a betegség súlyosságtól függetlenül a bakteriális fertőzések független kockázati tényezőjének bizonyult (HR: 2,18 [1,31-3,61]).

Következtetések: Sikertelenül megerősíteni, miszerint bizonyos gyakori *NOD2* génvariánsok fokozzák az SBP kialakulásának kockázatát. Az eredményeink szerint azonban a *NOD2*, illetve a *TLR2* és *TLR4* polimorfizmusok nem mutattak összefüggést a nem SBP-típusú bakteriális fertőzések kialakulásával. Egy korábbi fertőzéses epizód a betegség történetében a betegség súlyosságtól független, jelentős új klinikai rizikófaktornak bizonyult egy későbbi fertőzéses epizód kialakulása szempontjából. A PRR génvariánsok vizsgálata során nem találtunk összefüggést a transzlokáció szerológiai markereivel, a hosszútávú szövődmények kialakulásával vagy a májeredetű halálozással. Ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy májcirrózisban a PRR genotípusnak csupán korlátozott előrejelző értéke van a betegség lefordulását tekintve. Az IgA izotípusú antimikrobiális antitestek előfordulása gyakori

májcirrózisban és a kóros BT új szerológiai markerének tartható. Ezen felül, az IgA izotípusú ASCA antitestek a cirrózis-indukálta bakteriális infekciók kialakulásában játszanak fontos szerepet.

SUMMARY

Background: Development of bacterial infections – often in their more severe clinical forms – is frequently seen in liver cirrhosis. Infections make the liver disease worse by impairing hepatic function, provoking the onset of complications (e.g. coagulopathy, hepatorenal syndrome, hepatic encephalopathy, variceal bleeding, etc.), and are themselves important factors of mortality. The role of cirrhosis-associated immune dysfunction (CAID) syndrome and pathologic bacterial translocation (BT) in the development of infections is significant, and even more profound in more advanced disease stages. Reliable prediction of impending infections is necessary to be able to manage complications, slow disease progression and decrease mortality. The functional polymorphisms of pattern recognition receptors (PRR) affect their ability to detect and eliminate pathogens, thus impairing innate host defense mechanisms. The role of innate PRR-related immune deficiencies in liver cirrhosis is confirmed in spontaneous bacterial peritonitis (SBP). It must be noted, that neither their role in the development of non-SBP type infections, nor their importance regarding disease progression has not been thoroughly investigated. The antibody production against surface carbohydrate and other protein antigens of gut bacteria is a well-known serological process in complicated intestinal Crohn's disease, and due to its connection to NOD2/CARD15 mutations, it is considered to arise – at least partially – from a genetic loss of tolerance against the gut flora. We hypothesized that the production of IgA isotype antimicrobial antibodies is not disease specific, it can be acquired, and it can predict the onset of pathologic BT. Unfortunately, previous studies could not determine the prevalence of these antibodies in liver cirrhosis or assess their role in the prediction of future bacterial infections.

Aims: We completed a prospective observational study involving a large number of patients with liver cirrhosis and investigated the role of some clinically significant genetic polymorphisms of certain intracellular and surface pattern recognition receptor proteins (PRRs) which affect the immune system (toll-like receptors [TLR2 and 4] and NOD2/CARD15), with a special emphasize on the development of bacterial infections and disease progression. We also examined their connection with the known serological markers of endotoxin exposition (Lipopolysaccharide-Binding Protein [LBP] and endotoxin core antibody [EndoCab]). We determined the frequency of several isotypes of IgA antimicrobial antibodies (ASCA, anti-OMP PlusTM IgA), their correlation with the clinical manifestation and the various PRR polymorphisms. We determined the effect of the serological antibodies on bacterial infections and their correlation with infection-related mortality. The control group consisted of patients with inflammatory bowel disease (IBD), non-cirrhotic chronic liver disease, and also healthy individuals.

Methods: Evaluation of antimicrobial antibodies and biomarkers of endotoxemia was done from serum samples using ELISA assays. Three alleles of *NOD2* gene (R702W, G908R és L1007PfsinsC), and 1-1 allele of the *TLR2* (−16934T>A) and *TLR4* (D299G) genes was genotyped.

Results: When investigating the various risk factors of bacterial infections in cirrhotic patients, from generic factors representing innate susceptibility only *NOD2* gene variants proved to be risk factors of SBP, while *TLR2* or *TLR4* alleles were not. In ascitic patients the cumulative probability of SBP development was higher in the presence of *NOD2* gene variants than in those with the wild type. (76.9±19.9% vs. 30.9±6.9%, pLogRank=0.047). In the case of non-SBP type infections, the clinical factors proved to be more significant and did not show correlation either to the individual, or the combined PRR gene profiles. Disease severity (HR [95% CI]: 2.11 [1.38-3.25]) and previous bacterial infections (HR: 2.42 [1.58-3.72]) were the most directly linked clinical risk factors for the onset of a subsequent infection. Non-SBP type infections occurred more frequently when both clinical factors were present (HR: 4.74 [2.68-8.39]). The PRR genotypes proved insufficient for the prediction of long-term disease outcome in liver cirrhosis.

Certain antimicrobial antibodies are more frequently produced in liver cirrhosis (ASCA IgA/IgG: 38.5% and anti-OMP PlusTM IgA: 62.6%) compared to both the healthy controls (16% and 20%, $p < 0.001$ for both), and to the chronic liver patient control group (22.2% and 16.5%, $p < 0.001$ for both). Their formation was more likely determined by acquired factors, like disease severity, than genetic factors predisposing to BT, like *NOD2* gene variants. From the ASCA antibodies only the IgA isotype could be identified as an independent risk factor of bacterial infections, regardless of disease severity (HR: 2.18 [1.31-3.61]).

Conclusions: We could confirm that certain frequent *NOD2* alleles are indeed risk factors of SBP. The various polymorphisms of *NOD2* and *TLR2/4* did not correlate with the onset of non-SBP type bacterial infections. Previous bacterial infections were confirmed to be a significant, novel risk factor - regardless of disease severity – for subsequent infections. The investigated PRR alleles showed no correlation with the serological markers of BT, the long-term complication rate, or with disease-related mortality. These data confirmed our theory that the PRR genotype in cirrhosis has only a limited predictive value for disease severity. IgA isotype ASCA antimicrobial antibodies are often produced in liver cirrhosis, and thus can be considered as a novel serological marker of pathologic BT. The IgA isotype of ASCA antibodies are new serological risk factors of cirrhosis-related bacterial infections.

BEVEZETÉS

Májcirrózis epidemiológiája és betegségfolyása

A májcirrózis, régies nevén májzsugor, krónikus betegségek talaján kialakuló irreverzibilis folyamat, mely során – különböző mechanizmusok révén – a máj parenhimájában gyulladás, nekrózis, majd hegesedés lép fel. A máj regenerációs képessége miatt a májműködés egy ideig zavartalan marad (kompenzált fázis), majd fokozatosan romlásnak indul (dekompenzált fázis), végül pedig májelégtelenség alakul ki. A májcirrózisnak számos kiváltó oka lehet (krónikus vírusfertőzés és autoimmun folyamat, alkoholfogyasztás, epeúti elzáródás, vaszkuláris és kardiális okok, étrendi és életmódbeli tényezők, elhízás stb.). A kiterjedt kutatások ellenére a betegség etiopatológiájának számos aspektusa máig ismeretlen. Európában leggyakrabban a mértéktelen alkoholfogyasztás és az obezitás talaján kifejlődő nem alkoholos zsírmáj (NAFLD, non-alcoholic fatty liver disease) felelős a májcirrózis kialakulásáért. Arról sem szabad elfeledkezni, hogy maga a májcirrózis is számos betegség kialakulásáért tehető felelőssé; a primer májdaganat (hepatocelluláris karcinóma) miatt elhunyt személyeknél boncoláskor több mint 80%-ban megfigyelhető volt a májcirrózis [1]. A májcirrózis a morbiditási és mortalitási mutatókat tekintve egyaránt egyre fokozódó terhet ró az egészségügyi ellátórendszerre - világszerte és Európában egyaránt jelentős halálozási okként tartják számon. A mortalitási rátája az USA-ban körülbelül 34000 fő/év, míg Európában 170000 fő/év, látszik tehát, hogy a régiók – és a kultúrák - közötti eltérések igen jelentősek. Sajnálatos tény, hogy Európán belül Magyarországon a legmagasabb a májcirrózis okozta halálozási arány (2015-ben kb. 3500 fő/év). További aggodalomra ad okot, hogy míg globálisan a májcirrózis incidenciája és mortalitása öröndetesen csökkenő tendenciát mutat, a magyarországi mutatók stagnálnak, és a jövőben sem várható fordulat ezen a téren. Feltételezhető, hogy a közölt adatoknál lényegesen nagyobb a májcirrózisban szenvedő betegek száma, hiszen a betegség sokáig, akár még dekompenzált stádiumban is tünetmentes maradhat [2]. Korábban a májcirrózist végstádiumú betegségnek tekintették, mely májtranszplantáció hiányában elkerülhetetlenül a beteg halálához vezet. Újabban ez a hozzáállás sokat változott, ma a betegséget már egyre inkább egy befolyásolható, dinamikus folyamatként értelmezik. Az egyéves mortalitás stádiumtól függően 1 és 57% között változik, a halálozás legfőbb rizikótényezőjének a dekompenzációs epizódokhoz társuló szövődmények számítanak. A betegséget - az egyéves mortalitási rátát és a prognózist alapul véve - 4 stádiumra szokás osztani: 1. stádium (kompenzált, nincsenek nyelőcsővarixok; mortalitás 1% alatti), 2. stádium (kompenzált, nyelőcsővarixokkal; mortalitás 3-4%), 3. stádium (dekompenzált, aszcitesz jelenlétével; mortalitás kb. 20%) és 4. stádium (dekompenzált, gasztrointesztinális vérzéssel; mortalitás 57%). A betegség progressziója az egyes stádiumok között változó dinamikájú lehet az egyéni és környezeti kockázati tényezőktől függően [3, 4]. A betegség dinamikus lefolyását jelzi az is, hogy a kiváltó ok kezelésével akár egy dekompenzált májcirrózis is kompenzált stádiumba kerülhet vissza. A betegség klinikai stádiuma döntően befolyásolja a szövődmények megelőzésének és kezelésének eredményességét. A májcirrózis kezelése is egyre

inkább a megelőzés és a korai intervenció irányába tolódik el, aminek a legfőbb törekvése a klinikai dekompenzáció megelőzése vagy legalábbis késleltetése [1]. A májcirrózis lefolyására jellemző, hogy a klinikai állapotromlás gyakorlatilag bármelyik stádiumban hirtelen, akár napok alatt is bekövetkezhet. Ezt a jelenséget nevezzük akut dekompenzációnak [AD]), mely nagyban hozzájárul a betegség gyorsuló lefolyásához és akár a beteg halálához is vezethet. Újabban egyesek megkülönböztetnek ezért egy 5. stádiumot is (fertőzés jelenléte, veseelégtelenség; ahol a mortalitás 67%). A májelégtelenség további romlása, illetve egy vagy több extrahepatikus szerv (pl. agy, vese, tüdő, kardiovaszkuláris rendszer) elégtelensége esetén májbetegségekre rakódott akut májelégtelenség szindrómáról (*acute-on-chronic liver failure*, ACLF) beszélünk [5], mely körülbelül a betegek egyharmadában jelentkezik, és amelynek a rövidtávú mortalitása igen magas (>50%). A kiváltó okok között első helyen áll a bakteriális infekció, de egyéb károsító tényezők is fontos szerepet játszhatnak, mint például egyes vírusfertőzések, vaszkuláris tényezők (pl. iszkémia, v. portae trombózisa), alkoholos hepatitisz, vagy akár műtéti narkózisnál használt altatószerek. Az esetek mintegy 40%-ban azonban sosem derül fény a kiváltó okra [6].

Bakteriális fertőzések

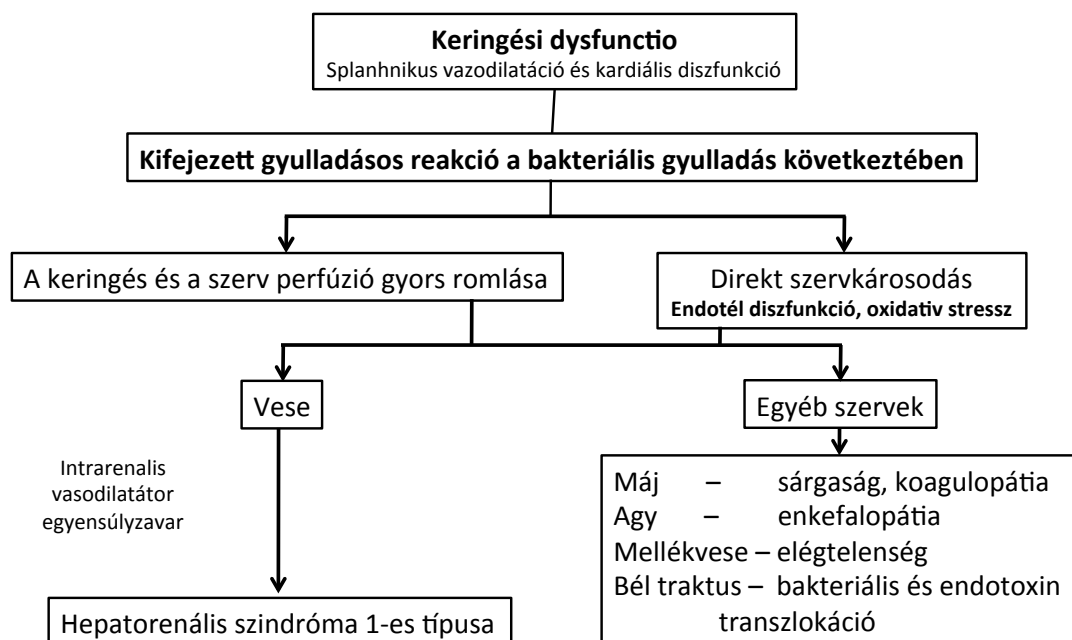
A májcirrózis egy gyakori, immundeficienciával társuló kórkép. Jellemző rá a bakteriális fertőzések, és ezen belül ezek súlyos klinikai manifesztációinak az előfordulása, ráadásul ezen epizódok a májbetegség súlyosbodásához vezethetnek [7, 8]. A bakteriális infekciók széles skálája képes rontani a hepatikus funkciókat, egyrészt közvetlen módon, másrészt gyulladásos mediátorokon keresztül (szisztémás gyulladásos válasz szindróma, SIRS), ezáltal pedig fokozza a betegség-specifikus szövődmények kockázatát (pl. véralvadási zavarok, májelégtelenség, hepatikus encefalopátia, nyelőcső varixvérzés), mely magas mortalitással jár [9,10]. Különösen igaz ez akkor, ha a fertőzés következtében ACLF szindróma alakul ki. A bakteriális fertőzés következtében kialakuló többszervi elégtelenség patogenetikai hátterét az **1. ábra** foglalja össze [11]. A statisztikák szerint a fertőzések jelenléte önmagában többszörösére növeli a mortalitási rátát. Az infekció kialakulását követően a 30 napon belüli halálozás kb. 30%-os, míg a betegek másik szintén kb. 30%-a egy éven belül hal meg [12]. Ismert továbbá, hogy cirrózisban a szeptikus kórképek mortalitása majdnem duplája a nem cirrótis betegekkel összehasonlítva [13]. Újabb irodalmi adatok szerint májcirrózisban a bakteriális infekciók kialakulása önálló, a betegség súlyosságától gyakorlatilag független prognosztikai tényezőnek tekinthető, amely alapvető hatással van a betegség természetes lefolyására [14, 15].

Májcirrótisos betegek körében a bakteriális infekció előfordulása 32-34%-ra tehető [7]. Előrehaladott májbetegség (Child-Pugh C stádium) [16, 17, 18], tápcsatornai vérzés [19, 20], vagy cukorbetegség együttes jelenléte esetén [21] gyakrabban alakulnak ki fertőzések, mint ezek hiányában. Kórházi kezelést igénylő tápcsatornai vérzések esetén az infekciók előfordulási aránya még magasabb, majdnem 45%. A májcirrótisban kialakuló fertőzések jellegzetessége a béleredetű kórokozók előfordulásának magas aránya [7, 17]. Aszcitesz jelenlétében a spontán bakteriális peritonitisz (SBP)

kialakulása a legvalószínűbb, de egyéb, nem-SBP típusú fertőzések is előfordulhatnak (pl. légúti vagy húgyúti infekciók) [22]. Amennyiben egy májcirrózisos beteg már átesett SBP-n, egy ismételt SBP epizód kialakulásának a kockázata magas, emiatt ezen betegcsoport esetében megfontolandó az antibiotikus profilaxis alkalmazása [23]. Ugyanakkor a nem-SBP típusú fertőzések esetén hasonló kockázatfokozó hatásról eddig nem számoltak be és az infekció lezajlását követő prevenciós stratégia sem ismert.

A májcirrózis az immunrendszer számos elemének működését károsíthatja. A cirrózishoz társuló immunműködési zavar (CAID) egyaránt befolyásolja a veleszületett és a szerzett immunitást, mivel nemcsak a máj lokális immunműködése károsodik, hanem a szisztémás immunfunkciók is. A retikuloendoteliális rendszer elégtelensége és a Kupffer-sejtek számának csökkenése a máj mikrobiális szűrőfunkciójának elégtelenségéhez vezethet. Emiatt aztán a béltraktusból átjutó baktériumok és különféle bakteriális termékek (pl. az endotoxinok) szűrési hatékonysága is romlik. Az esetleges portoszisztémás söntök tovább fokozzák a baktériumoknak és bakteriális termékeknek a szisztémás keringésbe való közvetlen bejutását. A megnövekedett bakteriális beáramlás az immunrendszer állandó aktiválásához és túlterheléséhez vezet.

1. ábra. A bakteriális fertőzés következtében létrejövő szervelegtelenység és a krónikus májbetegségre rakódott akut májelégtelenység szindróma patofiziológiája.



Az ábra eredeti szerzője: Jalan R [6].

A máj csökkent szintetikus funkciója miatt a májban termelődő fehérjék, köztük a veleszületett immunrendszer működésében fontos komplementrendszer fehérjék, a szolubilis mintázatfelismerő

receptor fehérjék [PRR] és az akut fázis fehérjék [APP]) szintézise is csökken, melyek szintén hozzájárulnak az immundeficienciához [24]. A CAID szindróma egy dinamikusan változó jelenség, mely egyaránt magába foglalja a szisztémás gyulladásos reakciókat és az immundeficienciát is. Társulhat hozzá immunparalízis, amelyet az anti-inflammatorikus citokinek szintjének emelkedése, míg a pro-inflammatorikus citokinek szintjének csökkenése jellemez [25]. Mindezekon felül a bélfal strukturális és funkcionális károsodása, a bélnyálkahártya lecsökkent védekezőképessége és a megváltozott összetételű bélbaktérium flóra fokozott bakteriális transzlokációhoz (BT) vezet [26].

A kóros BT elsősorban a májcirrózis előrehaladott stádiumában jellegzetes, és fontos szerepet játszik a betegség patogenezisében és a különféle szövődmények kialakulásában. A BT közvetlen klinikai következményei az SBP és a bakterémia kialakulása [27]. Az SBP-n kívül egyéb szisztémás fertőzések is összefügghetnek a BT-vel, de ez kevésbé bizonyított még. A kóros BT manifeszt fertőzés hiányában is, a bakteriális termékeknek a béltraktusból a hepato-szplanhnikus és a szisztémás keringésbe való tartós beáramlása következtében fokozott gyulladásos válaszreakció kiváltása révén egyértelműen káros hatású. Amennyiben a behatoló baktériumokat és/vagy azok termékeit nem sikerül feltartóztatni, a gazdaszervezet fokozott fogékonyságát is figyelembe véve bekövetkezhet a távoli szervek károsodása [10]. A következményes szervelégtelenség(ek) kialakulása pedig ebben a betegcsoportban a mortalitás egyik fontos meghatározó tényezője [28].

A kóros BT-nek a betegség patogenezisében játszott fontos szerepére világít rá az, hogy az orális antibiotikumokkal történő szelektív intesztinális dekontamináció csökkenti a fertőzések kialakulásának kockázatát májcirrózisban, és a magas kockázatú betegcsoportban a rövid távú túlélést javítja [29]. Manifeszt bakteriális infekciók hiányában is a norfloxacin normalizálja a pro-inflammatorikus citokin szinteket és növeli a vaszkuláris rezisztenciát azon aszciteszes betegekben, akiknél magas lipopoliszaharid-kötő fehérje (LBP) szint volt kimutatható [30, 31]. Egyre növekvő problémát jelent azonban az antibiotikum profilaxis következtében kialakuló bakteriális rezisztencia [32, 33].

Bakteriális fertőzések előrejelzésének lehetőségei

A kóros BT pontos detektálása és kialakulásának kockázatbecslése májcirrózisban nagymértékben segítheti a bakteriális fertőzések és egyéb szövődmények elleni kezelési stratégiák hatékonyságát. Emberekben mindeztidáig nem sikerült közvetlen módon igazolni, hogy a baktériumok ténylegesen bejutnának a mezenterialis nyirokcsomókba vagy ezeken keresztül a távolabbi szervekbe [34]. Egyelőre a mindennapi klinikai gyakorlatban megbízható és specifikus szerológiai módszerek nem állnak rendelkezésre a kóros BT megjelenésének és súlyosságának kimutatására. Az utóbbi időben több különböző szérumból, plazmából, aszciteszből vagy székletből kimutatható biomarker esetében sikerült bebizonyítani, hogy azok alkalmasak lehetnek a tartós bakteriális transzlokáció igazolására [35]. Még nem eldöntött, hogy az egyes biomarkereknél melyik a legoptimálisabb mintavételi forrás. Hasonlóképpen nem sikerült meghatározni azt a küszöbértéket, aminél egy adott marker szintje már

biztosan kóros mértékű BT-ra utal. Noha a szóba jövő biomarkerek száma egyre növekszik és a szerepükre vonatkozóan is egyre több közlemény jelenik meg az irodalomban, még mindig hiányzik az igazán specifikus és validált laboratóriumi marker, amely megbízhatóan jelezne a kóros BT-t májcirrózisban és annak kihatását a betegség lefolyására. Az **1. táblázat** foglalja össze a jelenleg elérhető BT biomarkerekkel kapcsolatos előnyöket és hátrányokat.

A bakteriális infekciók diagnosztikájában széleskörűen használt *akut fázis fehérjék (APP)*, mint a *C-reaktív protein (CRP)*, *prokalcitonin (PCT)* vagy *preszepszin* manifest fertőzés hiányában is utalhatnak kóros BT-re és alkalmasak lehetnek a bakteriális fertőzések előrejelzésére. Munkacsoportunk egy korábbi munkájában azon májcirrózisos betegeknél, ahol a CRP szint fertőzés klinikai jelei nélkül tartósan magas (≥ 10 mg/L) volt, kóros BT-t tételezett fel. Ezt alátámasztandó a bakteriális fertőzések kialakulásának valószínűségét mintegy háromszor gyakoribbnak találta a normál kiindulási CRP értékkel rendelkező csoportéhoz képest [36]. Ugyanakkor a vizsgálat kezdetén tartósan magas PCT és preszepszin esetén hasonló összefüggést nem tudtunk kimutatni. Ennek nagy valószínűség szerint az lehet a magyarázata, hogy az APP-k közül, bár nem specifikus, de a bakterémia legszenzitívebb markere mégis a CRP [37]. Ezen eredményeket támogathatják azon megfigyelések is miszerint dekompenzált májcirrózisos betegekben a perzisztálóan magas (≥ 29 mg/L) értéküket a rövidtávú mortalitás jelentős kockázatai tényezőjének találták a betegség súlyosságától és a SIRS klinikai tényezőitől függetlenül [38], [39]. A *lipopoliszaharid (LPS)* vagy *endotoxin* – mely a Gram-negatív baktériumok fő külső membrán komponense – volt a BT első felfedezett szerológiai markere, azonban ma már nem használatos [40]. Felezési ideje ugyanis nagyon rövid (2-3 óra), és számos tényező befolyásolja szintjét, melyek miatt alacsony a szenzitivitása [41]. A korai tanulmányokban a plazma LPS szint jelentősen magasabb volt alkoholos májcirrózisban a nem-alkoholos májcirrózishoz viszonyítva, és az emelkedés mértéke összefüggést mutatott mind a betegség Child-Pugh stádium szerinti súlyosságával, mind pedig a pro-inflammatorikus citokinek szintjével (tumor nekrosis faktor alfa [TNF- α] szint) [42, 43]. Az LBP-nek lényegesen hosszabb a felezési ideje, így még ma is ígéretes laboratóriumi markernek számít a BT igazolására. Ezt a hepatociták termelik a bakterémiára és az endotoxémiára adott immunológiai válasz során [44]. A magas LBP szintek májcirrózisban összefüggést mutattak a hemodinamikai instabilitással [45]. Egy európai munkacsoport igazoltan infekciómentes, de szövődményes májcirrózisos betegekben egyes bakteriális fertőzések előfordulásának kockázatát négyszeresnek találta [46]. Mi több, dekompenzált májcirrózisos betegekben esetén magas LBP szinteket lehet mérni olyan betegekben is, akikben nincs jelen manifest infekció, viszont a követési periódusban magas a mortalitási rátájuk [47]. Saját munkacsoportunk nagy esetszámú adatai ezen eredményeket azonban nem tudták megerősíteni [37]. Antibiotikumok és béta-blokkolók adása csökkenti az LBP szintet, ami a kórosan megváltozott BT javulására utal [48]. Az LBP meghatározás legfőbb korlátja a klinikai gyakorlatban a vizsgálat magas ára. Éppen ezért, a módszer komplexitása és költségvonzata miatt jelenleg még erősen kérdéses annak rutinszerű alkalmazhatósága. A *bakteriális DNS (BactDNA)* egy új vizsgálati marker BT-ben, amely a szérumban dokumentáltan

hosszú ideig kimutatható és a nem-infektív májcirrózisos betegek körülbelül egyharmadában van jelen [49]. A BactDNA jelenléte összefüggést mutatott az emelkedett gyulladásos paraméterekkel, a májcirrózis szövödményeivel, az ACLF szindróma kockázatával és a betegség súlyossági fokával. A BactDNA jobb markernek tűnik, mint az endotoxin meghatározás, mivel hosszabb ideig (1-3 nap) mutatható ki a szérumból, és egy immunaktivációs mechanizmussal hozható összefüggésbe [35]. Ez utóbbi arra utal, hogy a transzlokációs folyamat háttérében bakteriális termékek és nem élő mikroorganizmusok egyaránt állhatnak. Májcirrózisban fellépő BT laboratóriumi markereként alkalmazható még a plazma [50], az aszcitesz [51, 52, 53] és a széklet [54, 55] *kalprotektin* szintje vagy *baktericid/permeabilitás-fokozó fehérje [BPI]* [56], amely összefüggést mutat a szövödmények kialakulásával és a betegség rossz prognózisával. További vizsgálatok szükségesek ezen marker alkalmazhatóságának a pontosabb megítélésére.

Munkacsoportunk feltételezése szerint a mikrobák különféle szénhidrát és fehérjekomponensei ellen kialakuló szerológiai válasz (antimikrobiális antitestek megjelenése) háttérében is a kóros BT állhat [57]. Az antimikrobiális antitesteket, mint például az anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) és a többi anti-glikán (anti-*mannobiozid* [AMCA], anti-*laminaribiozid* [ALCA] és *anti-chitobiozid* [ACCA] antitestek) [58] vagy az anti-OMP antitesteket a szövödményes vékonybél Crohn-betegség [59, 60] szerológiai markereiként tartják számon. Ezen antitestek ugyanakkor kezeletlen cöliákiás betegekben is megjelennek, ráadásul mind a kvalitatív, minden pedig a kvantitatív szerológiai antitestválasz nagyon hasonló a Crohn-betegekéhez [61, 62]. Cöliákiában, akárcsak Crohn-betegségben, az antimikrobiális antitestek legmagasabb előfordulási arányai és titerei is azon betegekben észlelhetők, akiknél a betegség klinikai formája a legsúlyosabb (malabszorpció). Ez összhangban van azzal a klinikai megfigyeléssel, miszerint cöliákiás betegekben a bél jelentős károsodása esetén a betegség súlyos malabszorpció képében jelentkezik [63]. Májcirrózisban, hasonlóan ezen kórképekhez, megfigyelhető a vékonybél jelentős gyulladása [64], mely a betegség előrehaladtával egyre kifejezettebbé válik.

1. táblázat. A bakteriális transzlokáció (BT) markerei – pro és kontra

BT markerek	Érvek	Ellenérvek	Tanulmányok májcirrózisban
Lipopoliszaharid (LPS)	Az első BT marker Az eredmények korrelálnak a CRP-vel mért adatokkal	Rövid féléletidő	Hanck C. <i>Alcohol</i> . 1998 [42] Fukui H. <i>J Hepatol</i> . 1991 [43] Reiberger T. <i>J Hepatol</i> . 2013 [48]
C-reaktív protein (CRP)	A tartósan magas kiinduláskori értékek fertőzés hiányában a fokozott 3 hónapos mortalitási kockázat jó előrejelző paraméterei A magas kiinduláskori értékek manifest fertőzés hiányában a későbbi infekciók kialakulásának előrejelző paraméterei Olcsó	Leginkább akut-fázis fehérjeként, a fertőzés meglétének igazolására használatos BT markerként kevésbé specifikus Előrehaladott májbetegségben csökkent szintézis	Papp M. <i>Liver Int</i> . 2012 [37] Cervoni JP. <i>J Hepatol</i> . 2012 [38] Cervoni JP. <i>Eur J Gastroenterol Hepatol</i> . 2016 [39] Lazzarotto C. <i>Ann Hepatol</i> . 2013 [65] Dinic-Radovic V. <i>Med Arh</i> . 2012 [66] Ximenes RO. <i>Am J Emerg Med</i> . 2016 [67]
Aszcitesz CRP			Kadam N. <i>J Clin Diagn Res</i> . 2016 [68]
Prokalcitonin (PCT)	Olcsó	Leginkább a fertőzés meglétének vagy hiányának az elkülönítésére használatos BT markerként kevésbé specifikus	Papp M. <i>Liver Int</i> . 2012 [37] Lazzarotto C. <i>Ann Hepatol</i> . 2013 [69] Connert S. <i>Z Gastroenterol</i> . 2003 [70] Lesińska M. <i>Adv Med Sci</i> . 2014 [71] Viallon A. <i>Care Med</i> . 2000 [72]
Szolúbilis (s)CD14	Korrelál a gyulladásos paraméterekkel és a májbetegség aktivitásával	Kevésbé részletesen vizsgált marker	Papp M. <i>Liver Int</i> . 2012 [37]
Szérum lipopoliszaharid-kötő fehérje (LBP)	Féléletideje elnyújtott A magas kiinduláskori értékek manifest fertőzés hiányában a	Akut-fázis fehérje, és a szintje a gyulladásos epizódok során megnő Drága módszer	Papp M. <i>Liver Int</i> . 2012 [37] Albillos A. <i>Hepatology</i> . 2003 [45] Albillos A. <i>Lancet</i> . 2004 [46] Agiasotelli D. <i>Liver Int</i> . 2017 [47]

	későbbi infekciók kialakulásának előrejelző paraméterei Korrelál a májbetegség súlyosságával és a portális hipertenzióval		
Szérum és aszcitesz bakteriális DNS (bactDNA)	Pozitívan korrelál a pro- inflammatorikus citokinekkal Sokáig kimutatható a szérumban A jelenléte korrelál a májcirrózis talaján kialakuló szövődmenyekkel	Nem standardizált módszer BT-ben a klinikai relevanciája nem kellőképpen alátámasztott	Bruns T. <i>Liver Int.</i> 2016 [73] El-Nagger MM. <i>J Med Microbiol.</i> 2008 [74] Francés R. <i>Hepatology.</i> 2008 [75] Zapater P. <i>Hepatology.</i> 2008 [76] González-Navajas JM. <i>J Hepatol.</i> 2008 [77] Francés R. <i>Gut.</i> 2004 [78] Engelmann C. <i>Eur J Gastroenterol Hepatol.</i> 2016 [79]
Plazma, aszcitesz és széklet kalprotektin	A jelenléte korrelál a májcirrózis talaján kialakuló szövődmenyekkel és a rossz prognózissal	A szerepe leginkább csak IBD-ben validált BT-ben a klinikai relevanciája nem kellőképpen tisztázott	Homann C. <i>Hepatology.</i> 1995 [50] Homann C. <i>Scand J Gastroenterol.</i> 2003 [51] Burri E. <i>World J Gastroenterol.</i> 2013 [52] Lutz P. <i>Clin Chem Lab Med.</i> 2015 [53] Alempijević T. <i>Acta Gastroenterol Belg.</i> 2014 [54] Gundling F. <i>Liver Int.</i> 2011 [55]
Plazma baktericid/permeabilitás-fokozó fehérje [BPI]	Korrelál a májbetegség súlyosságával és a fokozott gyulladásos válasszal	A szerepe májcirrózis talaján kialakult BT-ben nem kellőképpen tisztázott	Guerra-Ruiz A. <i>Liver Int.</i> 2010 [56]

Kapszulás endoszkópián átesett májcirrózisos betegek mintegy kétharmadában számoltak be a bélnyálkahártya különféle gyulladásos eltéréseiről [80]. A vékonybél szövettani vizsgálata során májcirrózisban annak morfológiai eltérései is ismertek, mint például a részleges boholyatrófia és a lamina propria gyulladásos sejtes infiltrációja, valamint az intraepiteliális limfociták számának növekedése [81]. A vastagbél gyulladását jelző széklelet kalprotektin szintet, melyet széles körben használnak a gyulladásos bélbetegségek (IBD) diagnosztikájában és monitorozásában [82], májcirrózisos betegekben is emelkedettnek találták és az emelkedés mértéke összefüggést mutatott a gyulladás súlyosságával [83]. Ezek alapján logikus az a feltételezés, hogy az antimikrobiális antitestek májcirrózisos betegekben is előfordulnak, és kapcsolatot mutatnak a betegség klinikai lefolyásával. Ugyanakkor az antitestek előfordulási gyakoriságát és a bakteriális infekciók kialakulásával mutatott esetleges kapcsolatát eddig az irodalomban nem vizsgálták.

A szerológiai markerek mellett a kóros BT-vel szembeni érzékenységet szabályozó géneket is leírtak, mint például a monocita kemotaktikus protein-1 (MCP-1) gén vagy a farnezoid X receptor gén. Az MCP-1 esetén egy, a promóter régióban található polimorfizmus (A-2518G) mutatott kapcsolatot az SBP kialakulásával aszciteszes betegekben. Azonban míg az egyik tanulmányban az AG [84], addig egy másik tanulmányban az AA genotípus [85] esetén volt fokozott a kockázat. A farnezoid X receptor gén különféle polimorfizmusai közül pedig az rs56163822 GT genotípus fokozta az SBP kialakulásának kockázatát [86]. A PRR-k funkcionális polimorfizmusai befolyásolják az immunrendszer antimikrobiális felismerő és eliminálóképességét, ezáltal csökkentve a szervezet veleszületett védekezőmechanizmusait. Több klinikai tanulmány is igazolta, hogy a nukleotidkötő oligomerizációs domén 2 (NOD2) [87, 88] vagy a toll-szerű receptor 2 (TLR2) gén [89, 90] promóter és kódoló régiójában lévő különféle egy pontos nukleotid polimorfizmusok (SNP) az SBP kialakulásának a kockázatát emelik, de a tanulmányok eredményei nem teljesen egységesek. Hasonlóképpen a nukleáris dot protein 52kDa (NDP52) minor variánsa (rs2303015) is rizikótényezőnek bizonyult az SBP kialakulása szempontjából alkoholos májcirrózisban [91]. A NDP52 a TLR szignál útvonal az autofágia adaptor fehérje negatív regulátora. Az öröklött PRR működéséhez köthető immunzavarok májcirrózisban az SBP mellett egyéb szisztémás bakteriális fertőzések rizikóját is fokozhatják. Ugyanakkor ezen sejtfelszíni és citoplazmatikus PRR-ek átfogó elemzésére májcirrózisban a nem-SBP típusú bakteriális fertőzések kialakulásával kapcsolatosan nem került még sor, mint ahogyan arra sem, hogy vizsgálják szerepüket a progresszív betegség lefolyásában. Saját munkacsoportunk a lektin komplement útvonal szolúbilis mintázatfelismerő molekuláival (sPRM) kapcsolatosan beszámolt arról, hogy azok szérumszintjei összefüggést mutatnak a szisztémás bakteriális fertőzések kialakulásával májcirrózisban [92] [93]. Az sPRM-ek a patogének különféle felszíni szénhidrátmintázatait ismerik fel és a komplement-rendszer lektin útvonalán keresztül direkt opsonofagocitózist idéznek elő. A működésképes sPRM-ek alacsony szintje esetén a patogének felismerése és eradikációja egyaránt zavart szenved [94, 95]. Saját megfigyeléseink szerint a mannózkötő lektin (MBL) deficiencia és különféle fikolinok alacsony szintje [FCN-2 és -3], különösen, ha mindkét fikolin molekula

szérumszintje egyidejűleg csökken, májcirrózisban a szisztémás bakteriális fertőzések kialakulásának fokozott kockázatával jár. Míg az abszolút MBL deficiencia öröklött, addig a csökkent fikolinszint sokkal inkább a CAID eddig nem közölt, de jelentős komponensének tekinthető.

CÉLKITŰZÉSEK

Az alapvető célkitűzésünk az volt, hogy nagyméretű, prospektíven követett májcirrózisos betegpopulációban vizsgáljuk a különböző, bakteriális transzlokációhoz (BT) kapcsolódó szerológiai és genetikai tényezők lehetséges szerepét a bakteriális infekciók kialakulásának előrejelzésében.

A veleszületett immunrendszer különféle mikróbamintázatot felismerő intracelluláris és sejtfelszíni receptor fehérjéinek (PRR) (toll-szerű receptor [TLR2 és -4] és NOD2/CARD15) funkcionális következményekkel járó ismert genetikai polimorfizmusai esetén vizsgáltuk:

- prediktív értéküket a májcirrózishoz társuló bakteriális fertőzések és az ezzel összefüggő halálozás tekintetében
- előrejelző értéküket a progresszív betegséglefolyás (dekompenzált betegségforma kialakulása és/vagy májeredetű halálozás) előrejelzésében
- kapcsolatukat az endotoxin expozíció ismert szerológiai markereivel

Ezen túl, a májcirrózisban kimutatható különféle IgA izotípusú antimikrobiális antitestek esetén (ASCA, valamint anti-OMP PlusTM IgA):

- meghatároztuk azok előfordulási gyakoriságát és összefüggésüket a betegség klinikai és laboratóriumi súlyosságát jelző paraméterekkel, valamint a betegség-specifikus szövődmények meglétével
- elemeztük a különféle nem-cirrotikus krónikus májbetegségekhez képest a szerológiai válaszban észlelhető különbségeket
- elemeztük kapcsolatukat az ismert funkcionális PRR polimorfizmusokkal májcirrózisban és összevetettük azokat a gyulladásos bélbetegségekben észleltekkel
- vizsgáltuk azok klinikai összefüggését a bakteriális infekciók kialakulásával és a fertőzőes eredetű mortalitással

BETEGANYAG ÉS MÓDSZEREK

KRÓNIKUS MÁJBETEGSÉGEK

Májcirrózisos betegek

A Debreceni Egyetem Belgyógyászati Intézetének Gasztroenterológiai Tanszékén 2006. május 1-e óta folyik a májcirrózisos betegek klinikai adatainak és biológiai mintáinak a gyűjtése. 2010. december 31-ig összesen 404 beteg beválasztására került sor konszekutív módon (férfi/nő: 226/196, életkor: 56 év [IQR: 50-64], a betegség időtartama a diagnózistól kezdve: $3,9 \pm 4,2$ év) a gasztroenterológiai vagy hepatológiai járóbeteg-rendelésen keresztül, illetve a fekvő osztályokon akut dekompenzáció (AD) miatt kezelt betegek esetén (non-AD: n=286 és AD: n=118). A betegek beválasztását követően azokat 2013. december 31-ig prospektíven követtük. A betegkohorszban számos obszervációs klinikai tanulmány került elvégzése ezen időszak alatt. Ezekben a klinikai tanulmányokban a vizsgált betegszám és a követési idő aszerint változott, hogy az adott időszakban mennyi beteg mintája volt hozzáférhető, az elvégzendő különféle laboratóriumi vizsgálatokhoz, illetőleg, hogy csak a stabil járóbetegeket vizsgáltuk vagy az AD-ban szenvedő betegeket is. Akut dekompenzációként értékeltük a nemzetközileg elfogadott definíció szerint, ha az alábbi események közül egy vagy több egyidejűleg jelen volt: hirtelen felszaporodó nagy mennyiségű hasvíz (International Club of Ascites kritériumai szerint 2-es vagy 3-as stádium) [96]; akut hepatikus encefalopátia (neurológiai okkal nem magyarázható, újonnan kialakult idegrendszeri állapotromlás) [97]; gasztroszkópiával igazolt és nyelőcső eredetűnek véleményezett akut gasztrointesztinális vérzés [98], és/vagy szisztémás bakteriális infekció jelenléte. A terápiarefrakter aszciteszt és egyéb krónikus hepatikus eredetű szövődményeket nem minősítettük AD epizódnak. Kizárási kritériumnak számított, ha a beteg vagy törvényes képviselője előzetesen nem írta alá a beleegyező nyilatkozatot vagy ha a beteget alapvetően más intézetben gondozták és hozzánk csak eseti konzultáció céljából utalták be.

A májcirrózis diagnózisát a klinikai paraméterek, a laboratóriumi és képalkotó vizsgálatok eredménye [99] és - amennyiben rendelkezésre állt -, a májbiopszia szövettani lelete alapján állítottuk fel. A betegek fizikális vizsgálata, a releváns klinikai adatok rögzítése, illetve a rutin és egyéb tudományos célú vizsgálatokhoz szükséges vér, szérum és plazma minták levétele a vizsgálatba való beválasztáskor történt. A betegek anamnéziséből és jelen panaszaiból a számunkra fontos klinikai adatok kiszűrését és rögzítését előre meghatározott kérdéssor segítette. Az anamnézisre vonatkozóan a következő adatokat rögzítettük: életkor, a májzsugor etiológiája, nyelőcsővarixok jelenléte, korábbi akut dekompenzációs epizódok adatai, daganatos és egyéb társbetegségek fennállása, illetve a májbetegség miatt alkalmazott gyógyszeres terápia részletei. A májbetegség súlyossági fokát a klinikumban használt pontrendszerek segítségével határoztuk meg: Child-Pugh score [100] és MELD (Model for End-Stage Liver Disease) score [101], valamint megjelöltük, hogy kompenzált vagy

dekompensált betegségformáról van szó [4]. Akut dekompenzáció esetén feljegyeztük annak kiváltó okát is.

Jelen PhD értekezés alapját két tanulmány képezi. Az *antimikrobiális antitestekkel végzett klinikai tanulmány* esetén 286 stabil járóbeteg szérum mintáit vizsgáltuk és a prospektív klinikai adatok elemzésére a vizsgálat lezárása után (2009. április 30.) került sor. A *PRR funkcionális genetikai polimorfizmusai*val végzett *klinikai tanulmány* esetén 349 – melyek közül 243 stabil járóbeteg, míg 106 AD-ben szenvedő beteg – DNS mintáit vizsgáltuk meg és a prospektív klinikai adatok elemzésére a vizsgálat lezárása után (2013. december 31.) került sor. A két populációra vonatkozó fontosabb klinikai adatokat a **Kiegészítő 1.** és a **3. táblázat** tartalmazza.

A májzsugorban szenvedő betegek követése

A májcirrózisos betegek követése során a vizsgálatot végző szakorvos rögzítette a hospitalizációt igénylő AD shub paramétereit, illetve, hogy jelen van-e valamilyen bakteriális infekció. A bakteriális fertőzés meglétéhez a következő paramétereket vettük alapul: klinikai tünetek, laboratóriumi paraméterek (fehérvérsejtszám, CRP, PCT), vizeletüledék, hasi ultrahang és mellkasröntgen lelete, valamint aszcitesz esetén annak vizsgálata (neutrofil granulocita szám). A fenti vizsgálatok eredménye alapján adott esetben a fertőzésre specifikus helyről mintát vettünk és tenyésztést végeztünk. A laboratóriumi paraméterek közül az alábbiakat vettük figyelembe: magas fehérvérsejt szám (abszolút: $>10,8$ G/L vagy relatív: a korábbi stabil érték duplázódása) magas neutrofil granulocita szám mellett ($>76\%$), emelkedett szérum CRP ($>10,0$ mg/L) és/vagy PCT érték ($>0,15$ µg/L) [102], [103], [104], [105], [106]. A fentiek alapján az alábbi fertőzéstípusokat különböztettük meg:

- (1) SBP: emelkedett neutrofil granulocita sejtszám az aszciteszben: $>250/\text{mm}^3$ és/vagy pozitív aszcitesz tenyésztés, amennyiben egyéb hasúri fertőzésforrás kizárható volt.
- (2) Húgyúti infekció: vizeleti panaszok, vizelet fehérvérsejtszám $>10/\text{mm}^3$ és/vagy pozitív vizelettenyésztés.
- (3) Légúti infekció: köhögés, pozitív mellkasröntgen lelet, pozitív köpettenyésztés.
- (4) Egyéb: bőr- és lágyrészfertőzések, gastroenteritisz, oszteomyelitisz, endokarditisz, epeúti fertőzések.
- (5) Okkult bakteriális infekció: általános fertőzésesre utaló jelek, pozitív hemokultúra mellett sem identifikálható szerszám-specifikus góc.

A betegeket az esetleges májtranszplantációig, elhalálozásig vagy ha a beteg kiesett a követésből, az utolsó kontrollvizsgálat időpontjáig követtük. Ha a beteg halála függetlennek bizonyult a májbetegségtől, az esetet utólag cenzoráltuk. A medián követési idők az alábbiak voltak: 425 nap [IQR: 107-732] az antimikrobiális antitestekkel végzett klinikai tanulmány esetén, míg 1128 nap [IQR: 469-1825] a PRR funkcionális genetikai polimorfizmusai-val végzett klinikai tanulmány esetén. A klinikai adatokat Excel táblázatban rögzítettük és rendszereztük további statisztikai analízis céljából. A betegek egy részénél a követési idő alatt többször is vettünk mintákat.

KONTROLLCSOPORTOK

Autoimmun májbetegek

Tekintve az autoimmun betegségekre jellemző kis esetszámokat, a 266 beteg (férfi/nő: 102/164, átlagéletkor: $51,1 \pm 16,1$ év) bevonása hat társcentrum közreműködésével történt (Simmelweis Egyetem I.sz. Belgyógyászati Klinika és I.sz. Gyermekklinika, Pécsi Tudományegyetem, Szent Ferenc Kórház és Borsod-Abaúj-Zemplén Megyei Kórház, Miskolc, illetve az Otto-von-Guericke Egyetem, Magdeburg, Németország). Az alábbi betegségek fordultak elő: primér biliáris kolangitisz (PBC, $n=153$), primér szklerotizáló kolangitisz (PSC, $n=59$) és autoimmun hepatitisz (AIH, $n=54$). A PBC diagnózisa a laborértékeken, a szérum anti-mitochondriális antitest (AMA) és/vagy a PBC specifikus AMA-M2 pozitivitás meglétén, a PBC-re jellemző májbiopsziás leleten alapult, amennyiben extrahepatikus epeelfolyási akadály kizárható volt [107]. A PSC diagnózisához az emelkedett koleszterikus laboreltérések és az endoszkópos retrográd kolangiopankreatográfia (ERCP) vagy mágneses rezonancia kolangiopankreatográfia (MRCP) során észlelt morfológiai eltérések, illetve amennyiben rendelkezésre állt, a szövettani lelet szolgált alapul. Minden esetben kizártuk a szekunder szklerotizáló kolangitisz különféle okait [108]. Az AIH diagnózisához a májbetegség egyéb okainak (alkohol, vírusfertőzés, gyógyszer és toxin eredetű májkárosodás, és örökletes májbetegség) kizárása után az International AIH Group pontrendszerét használtuk [109].

Egyéb krónikus májbetegek (CLD)

A nem autoimmun CLD kontrollcsoport 124 krónikus hepatitisz C fertőzésben (férfi/nő: 49/75, átlagéletkor: $53,6 \pm 11,7$ év) szenvedő betegből állt. A krónikus HCV diagnózisát a HCV ribonukleinsav (RNS) polimeráz láncreakció (PCR) eredménye, az emelkedett szintetizáló májenzim értékek (a normálérték kétszeresét meghaladó enzimszintek legalább féleven keresztül), illetve amennyiben rendelkezésre állt, a májbiopsziás minta hisztopatológiai eltérései alapján állítottuk fel.

Gyulladásos bélbetegek (IBD)

A magyar IBD Study Group, melyhez gasztroenterológiai munkacsoportunk 2005-ben csatlakozott, által összegyűjtött IBD betegmintákból 513 Crohn-beteg szérum és dezoxi-ribonukleinsav (DNS) mintáit használtuk fel (férfi/nő: 211/302, életkor: $33,0 \pm 12,5$ év, betegség fennállási ideje: $8,5 \pm 7,1$ év). A gyulladásos bélbetegségeket a Lennard-Jones kritériumrendszer alapján diagnosztizáltuk, mely a következő paramétereket veszi alapul: klinikai kép, endoszkópos, radiológiai és kórszövettani eredmény [110]. Ezzel párhuzamosan a mintavételkor rögzítettük a betegség montreáli beosztás szerinti besorolását is [111].

Egészséges egyének

Az egészséges kontrolcsoportot 100, kor és nem szerint egyezett, véradásra jelentkező személy alkotta, akiknek nem volt ismert gasztrointesztinális vagy májbetegsége (férfi/nő: 47/53, kor: 48,1±15,5 év).

LABORATÓRIUMI MÓDSZEREK

A levett szérum, plazma és a teljes vérből szeparált DNS mintákat a későbbi felhasználásig előírás szerint -70°C-on hűtőben tároltuk.

Molekuláris genetikai vizsgálatok

A speciális szaktudást és műszerparkot igénylő molekuláris vizsgálatok elvégzéséhez külső intézményt vontunk be (Országos Vérellátó Szolgálat Molekuláris Diagnosztikai Labor).

NOD2, *TLR2* és *TLR4* génanalízis

A DNS izolálása teljes vérből történt Gentra Puregene Blood Kit segítségével, a gyártó cég által megadott protokoll szerint (Qiagen; Hilden, Germany). A *NOD2* gén három variánsának rs2066844, (p.R702W, NM_022162.2:c.2104C>T), rs2066845 (p.G908R; NM_022162.2:c.2722G>C) és rs2066847 (L1007Pfs; NM_022162.2:c.3019dupC) genotipizálása történt meg hibridizációs próbák segítségével, fluoreszcencia rezonancia energiatranszfer (FRET) módszerrel (Roche LightCycler 480 real-time PCR rendszer) [112]. A *TLR2* gén rs4696480 (NM_003264.4:c.-148 + 1614T>A) variánsának genotipizálását szintén elvégezték [113]. A *TLR4* gén rs4986790 (p.D299G; NM_138554.4:c.896A>G) variánsának genotipizálásához egyedi amplifikációs oligonukleotidokat használtak (TLR4-D299G F: CATCGTTTGGTTCTGGGAG és TLR4-D299G R: TTTACCCTTTCAATAGTCACACTCA), míg a FRET oligonukleotidok megegyeztek az irodalomban leírtakkal [114] (TLR4-D299G SENS: CTACTACCTCGATGGTATTATTGACTTATT-6FAM, TLR4-D299G ANCH: Cy5.5-AATTGTTTGACAAATGTTTCTTCATTTTCC- 3' phosph). A genotipizálás reprezentatív olvadási görbe eredményeit a **kiegészítő 1. ábra** tartalmazza. A *NOD2* genotipizálás 2 beteg, illetve a *TLR2* és *TLR4* analízis során 1 beteg mintája esetében technikai szempontból sikertelen volt.

Szerológiai vizsgálatok

Antimikrobiális antitest vizsgálatok: Az ASCA IgA és IgG, az *anti-OMP Plus™* IgA és az *endotoxin core IgA* antitestek (*EndoCab*) jelenlétét határoztuk meg. Kimutatásuk kereskedelmi forgalomban elérhető enzimköttött immunszorbens vizsgálattal (ELISA) történt (QUANTA Lite™ INOVA Diagnostics, San Diego, CA és Hycult Biotechnology, Uden, Hollandia). Az ASCA esetén a két különböző izotípusú antitest meghatározására külön-külön került sor. Az eredményeket a különböző antitestek vonatkozásában a gyártó által nyilvánosságra hozott formula segítségével számítottuk ki (küszöbértékek: ASCA és *anti-OMP Plus™*: 25 U, EndoCab: 195 U/ml), és abszolút érték, illetve pozitívítási arány szerinti lebontásban is megadtuk.

Az ASCA a *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgomba burkában elhelyezkedő mannóz antigén ellen termelt antitest, míg az anti-OMP PlusTM esetén az antigén egy Gram-negatív (GNB) és egy Gram-pozitív (GPB) baktériumokból kinyert gyártóspecifikus fehérjekeverék (INOVA Diagnostics, San Diego, CA, US). Az anti-OMP PlusTM és az anti-OmpC antitestek (Prometheus Laboratories Inc., San Diego, CA, US) antigénjei hasonlóképpen különböznek egymástól. Az EndoCab esetén az antitestképződés négyféle baktérium (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* és *Klebsiella aerogenes*) endotoxin fragmentumaiból álló antigén ellen jön létre.

Ezen antimikrobiális antitestek stabilitásának értékeléséhez a májcirrózisos betegcsoport egy részében (n=62) két különböző alkalommal nyert szérummintákból párhuzamosan is történtek mérések. A vérvételek között eltelt idő 204 nap [IQR, 71-245] volt.

Akut fázis fehérje (APP) meghatározás: A lipopoliszaharid-kötő fehérje [LBP] kereskedelmi forgalomban elérhető ELISA módszerrel (Hycult Biotechnology, Uden, Hollandia) került meghatározásra szérumból. Az alsó érzékenységi küszöbértéke 0,1 µg/L volt.

STATISZTIKAI ANALÍZIS

A statisztikai analízist külső statisztikus bevonásával Prism 5 (GraphPad Software Inc., San Diego CA, USA) és SPSS 13.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) analitikai programcsomagok segítségével végeztük. A normalitási vizsgálatokhoz a Shapiro-Wilk-féle W tesztet használtuk. A PRR polimorfizmusok esetében a genotípusmegoszlásokat Hardy-Weinberg egyensúly teszt felhasználásával értékeltük. Az egyes alcsoportok komparatív analíziséhez Fischer egzakt tesztet, illetve χ^2 -próbát használtunk, illetve minden esetben meghatároztuk az esélyhányadost (OR, odds ratio) és 95%-os küszöbérték mellett a megbízhatósági intervallumot (95%CI). Az APP, autoantitestek és az egyes szerológiai markerek esetén az alcsoportok vizsgálatához Welch-féle D-próbát és ANOVA tesztet használtunk post hoc Scheffe teszt alkalmazásával, illetve Pearson vagy Spearman korrelációt kalkuláltunk. Szükség esetén meghatároztuk a prevalenciaértéket is. A bináris paraméterek esetében a multivariancia analízist logisztikus regressziós tesztel végeztük, a különbségeket szokás szerint *p*-érték segítségével és OR-ben fejeztük ki. Annak vizsgálatára, hogy az egyes paraméterek korrelálnak-e a betegség időbeli lefolyásával Kaplan-Meier tesztet használtunk, az egyes alcsoportok szignifikanciáját *LogRank* és *Breslow* tesztek segítségével elemeztük. Az uni- és multivariációs analízis Cox regressziós modell segítségével történt. Amennyiben az nincs külön jelezve, a szignifikanciaszintet minden esetben *p*<0,05 értéken határoztuk meg. Az adatokat „átlag±szórás”, „medián (kvartilis)” illetve „esetszám” formában adtuk meg.

ETIKAI ENGEDÉLYEK

A vizsgálati protokollokat a Debreceni Egyetem Etikai és Tudományos Bizottsága és az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága is jóváhagyta. Etikai engedélyek számai:

DEOEC RKEB/IKEB 2006-2007, 2595-2007, 2735-2008, 2860-2008, 3515-2011, 3514-2011; ETT-TUKEB 321-81/2005-1018-EKU, 80/2007-EKU, 25403/2011-EKU, 26186/2011-EKU. A betegeket minden esetben előzetesen részletesen tájékoztattuk a vizsgálat céljáról és menetéről, és beleegyezésük esetén aláírtuk a betegtájékoztató beleegyezési nyilatkozatot.

TÁMOGATÁS

A munka a GINOP-2.3.2-15-2016-00048 és EFOP- 3.6.2-16-2017-00006 projektek támogatásával készült. Az EFOP projekteket részben az Európai Unió és az Európai Közöségi Alap finanszírozza.

Dr. Papp Mária az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíjában (BO/00232/17/5) és az Új Nemzeti Kiválósági Program (EMMI ÚNKP-18-4) támogatásában részesült.

EREDMÉNYEK

1. Sejtfelszíni és intracelluláris mintázatfelismerő receptorfehérjék (PRR) ismert, klinikailag szignifikáns genetikai polimorfizmusainak vizsgálata májzsugorban

A különféle funkcionális következményekkel járó PRR genotípusok előfordulási gyakorisága májcirrózisban

A *NOD2* (*R702W*, *G908R* és *L1007PfsinsC*), *TLR2* (*-16934T>A*) és *TLR4* (*D299G*) SNP-k előfordulásának megoszlását májzsugorban a **2. táblázat** foglalja össze. Az egyes genotípusok incidenciája érdemben nem különbözött a járóbeteg és az akut dekompenzáció miatt kórházi kezelésre szoruló betegek között.

A klinikai adatok, a laboratóriumi paraméterek és a különféle PRR genotípusok közötti összefüggéseket tovább vizsgáltuk a stabil állapotú járóbeteg populációban és azt találtuk, hogy az életkor, a nemi megoszlás, a társbetegségek és a HCC jelenléte, a májbetegség etiológiája vagy annak súlyossága nem különbözött az egyes PRR genotípusok szerint. A tanulmányba történő betegbevonáskori aktuális gyógyszeresedés, mint protonpumpa inhibitor (PPI), nem-szelektív bétablokkoló (NSBB) kezelés és a szekunder antibiotikum profilaxis (az SBP prevenciójaként adott norfloxacin vagy a hepatikus encefalopátia prevenciójaként adott rifaximin) szintén nem különbözött a betegekben az egyes *NOD2*, *TLR2* és *TLR4* variáns és vad genotípusok között (**3. táblázat**).

A nem-spontán bakteriális peritonitisz (SBP) típusú bakteriális fertőzések és kockázati tényezői

A vizsgált periódusban 85 májzsugorban szenvedő beteg esetén (35,0%) alakult ki legalább egy alkalommal valamilyen nem-SBP típusú infekció. A fertőzés kialakulásáig átlagosan 581 [medián: 207-803] nap telt el. A bakteriális fertőzés hátterében leggyakrabban húgyúti ok állt, amely az esetek 43,5%-ában jelentkezett (n=37).

2. táblázat. A különféle funkcionális következményekkel járó mintázatfelismerő receptor (PRR) genotípusok előfordulási gyakorisága májcirrózisban

	Teljes betegkohorsz		Járóbeteg		Akut dekompensáció	
	n	%	n	%	n	%
<i>NOD2</i> L1007fsinsC -/C, rs2066847 ^a						
-/-	326	93,9%	226	93,8%	100	94,3%
-/C	21	6,1%	15	6,2%	6	5,7%
<i>NOD2</i> R702W C>T, rs2066844 ^a						
CC	318	91,6%	220	91,3%	98	92,5%
CT	29	8,4%	21	8,7%	8	7,5%
<i>NOD2</i> G908R G>C, rs2066845 ^a						
GG	338	97,4%	238	98,8%	100	94,3%
GC	9	2,6%	3	1,2%	6	5,7%
<i>NOD2</i> polimorfizmus ^b						
vad típus	290	83,6%	204	84,6%	86	81,1%
variáns	57	16,4%	37	15,4%	20	18,9%
<i>TLR2</i> (-16934T>A), rs4696480						
TT	86	24,8%	64	26,4%	22	21,0%
TA	154	44,4%	104	43,0%	50	47,6%
AA	107	30,8%	74	30,6%	33	31,4%
<i>TLR4</i> D299G, rs4986790						
AA	323	93,1%	225	93,0%	98	93,3%
AG	23	6,6%	17	7,0%	6	5,7%
GG	1	0,3%	0	0,0%	1	1,0%

A *NOD2* genotipizálását 2, míg a *TLR2* és *TLR4* meghatározását 1-1 esetben technikai okokból nem lehetett elvégezni

^a homozigóta mutáns nem fordult elő

^b 2 beteg volt összetett heterozigóta

3. táblázat. Májcirrózisos betegek epidemiológiai és klinikai adatai a mintázatfelismerő receptorok (PRR) ismert genetikai polimorfizmusai szerint

		Járó- betegek	NOD2 polimorfizmus ^b			TLR2 16934T>A polimorfizmus rs4696480				TLR4 D299G polimorfizmus rs4986790 ^c		
			Vad típus	Rizikó allél	P- érték	TT	TA	AA	P- érték	AA	AG	P- érték
N		243*	204	37		64	104	74		225	17	
Életkor (év) ^a		56 (50-63)	55 (49-63)	59 (53-65)	0,082	55 (51-63)	57 (50-65)	55 (49-63)	0,172	56 (50-64)	53 (49-56)	0,151
Nem (ffi)		52,3% (127)	51,5% (105)	54,1% (20)	0,772	56,3% (36)	54,8% (57)	44,6% (33)	0,299	52,4% (118)	47,1% (8)	0,668
Alkoholos etiológia		62,6% (152)	61,3% (125)	67,6% (25)	0,468	65,6% (42)	66,3% (69)	54,1% (40)	0,205	62,7% (141)	58,8% (10)	0,752
Child- Pugh stádium	A	56,4% (137)	55,9% (114)	59,5% (22)	0,671	53,1% (34)	53,8% (56)	63,5% (47)	0,194	56,4% (127)	58,8% (10)	0,479
	B	37,9% (92)	37,7% (77)	37,8% (14)		37,5% (24)	43,3% (45)	29,7% (22)		38,2% (86)	29,4% (5)	
	C	5,8% (14)	6,4% (13)	2,7% (1)		9,4% (6)	2,9% (3)	6,8% (5)		5,3% (12)	11,8% (2)	
MELD pontszám ^a		11 (8-14)	11 (8-14)	10 (7-14)	0,249	11 (8-14)	11 (8-14)	11 (8-14)	0,689	11 (8-14)	13 (8-15)	0,513
Aszcitesz		36,2% (88)	36,3% (74)	35,1% (13)	0,894	35,9% (23)	39,4% (41)	31,1% (23)	0,520	35,6% (80)	41,2% (7)	0,641
Dekompenzált stádium		50,2% (122)	49,0% (100)	56,8% (21)	0,386	54,7% (35)	50,0% (52)	45,9% (34)	0,592	49,8% (112)	52,9% (9)	0,801
Megelőző VV		24,3% (59)	23,0% (47)	29,7% (11)	0,381	29,7% (19)	21,2% (22)	23,0% (17)	0,440	22,7% (51)	41,2% (7)	0,085
Megelőző BI		38,7% (94)	37,7% (77)	40,5% (15)	0,747	42,2% (27)	35,6% (37)	39,2% (29)	0,685	37,8% (85)	47,1% (8)	0,448
Megelőző SBP		9,5% (23)	8,8% (18)	13,5% (5)	0,372	6,3% (4)	13,5% (14)	6,8% (5)	0,189	9,3% (21)	11,8% (2)	0,742
Megelőző nem- SBP típusú BI		34,2% (83)	34,3% (70)	29,7% (11)	0,587	39,1% (25)	28,8% (30)	36,5% (27)	0,338	33,3% (75)	41,2% (7)	0,510
Társbetegség		53,9% (131)	52,5% (107)	59,5% (22)	0,432	62,5% (40)	53,8% (56)	45,9% (34)	0,151	55,1% (124)	35,3% (6)	0,114
HCC		9,9% (24)	9,3% (19)	13,5% (5)	0,433	10,9% (7)	8,7% (9)	10,8% (8)	0,849	10,2% (23)	5,9% (1)	0,564
NSBB használat		47,7% (116)	48,0% (98)	43,2% (16)	0,591	53,1% (34)	47,1% (49)	43,2% (32)	0,508	46,7% (105)	58,8% (10)	0,333
PPI használat		44,9%	44,6%	43,2%	0,878	46,9%	41,3%	47,3%	0,671	45,3%	35,3%	0,422

	(109)	(91)	(16)		(30)	(43)	(35)		(102)	(6)	
Szekunder antibiotikum profilaxis											
Norfloxacin SBP prevenció	9,5% (23)	8,8% (18)	13,5% (5)	0,372	6,3% (4)	13,5% (14)	6,8% (5)	0,189	9,3% (21)	11,8% (2)	0,742
Rifaximin HE prevenció	5,8% (14)	5,4% (11)	8,1% (3)	0,457	7,8% (5)	3,8% (4)	6,8% (5)	0,515	5,8% (13)	5,9% (1)	0,986

VV: nyelőcső varixvérzés; BI: bakteriális infekció; SBP: spontán bakteriális peritonitisz; HCC: hepatocelluláris karcinóma; NSBB: nem-szelektív bétablokkoló; PPI: protonpumpa inhibitor; HE: hepatikus encefalopátia; TLR: toll-szerű receptor; NOD2: nukleotidkötő oligomerizációs domén 2

3. táblázat. (folytatás) Májcirrózisos betegek laboratóriumi adatai a mintázat felismerő receptorok (PRR) ismert genetikai polimorfizmusai szerint

	Járó- betegek	NOD2 polimorfizmus ^b			TLR2 16934T>A polimorfizmus rs4696480				TLR4 D299G polimorfizmus rs4986790 ^x		
		Vad típus	Rizikó allél	P- érték	TT	TA	AA	P- érték	AA	AG	P- érték
N	243*	204	37		64	104	74		225	17	
Kreatinin (μmol/L) ^a	67 (54-84)	66 (55-82)	71 (52-98)	0,513	66 (57-89)	64 (53-83)	70 (56-84)	0,872	66 (54-83)	72 (55-85)	0,680
Bilirubin (μmol/L) ^a	26 (16-41)	27 (16-43)	22 (15-34)	0,278	27 (16-43)	23 (14-43)	28 (17-39)	0,529	26 (16-41)	29 (13-42)	0,693
INR ^a	1,2 (1,1-1,3)	1 (1,1-1,3)	1 (1,1-1,2)	0,074	1 (1,1-1,4)	1 (1,1-1,3)	1 (1,1-1,3)	0,514	1 (1,1-1,3)	1 (1,1-1,4)	0,204
Albumin (g/L) ^a	38 (33-42)	37 (32,5-42)	39 (34-43)	0,332	37 (33-42)	37 (32-42)	38 (34-42)	0,261	37 (33-42)	37 (29,5-44,5)	0,944
Leukocita (G/L) ^a	5,4 (4,3-7,1)	5,4 (4,3-7,2)	5 (4,1-6,3)	0,246	6 (4,3-7,1)	5 (4,3-7,3)	5 (4-6,9)	0,452	5 (4,3-7,1)	5 (4,1-7,6)	0,868
Trombo- cita (G/L) ^a	116 (76-171)	114 (75-172)	116 (93-158)	0,787	125 (80-170)	112 (76-182,5)	112 (72-163)	0,504	117 (78,5-170)	87 (66-171)	0,258

TLR: toll-szerű receptor; NOD2: nukleotidkötő oligomerizációs domén 2; INR: international normalized ratio

* A NOD2 genotipizálását 2, míg a TLR2 és TLR4 meghatározását 1-1 esetben technikai okokból nem lehetett elvégezni

^a medián, IQR (25-75 percentilis tartomány)

^b NOD2 rizikó variánsoka következők voltak: R702W C>T, rs2066844; G908R G>C, rs2066845 és L1007fsinsC -/C, rs2066847; ^x A TLR4 D299G polimorfizmus esetén GG genotípus a májcirrózisos járóbeteg csoportban nem volt

Az egyéb lokalizációjú fertőzések az alábbiak voltak: pneumónia (18,8%), orbánc (10,6%), akut bronhitisz (5,9%), kolangitisz (3,5%), bakterémia (3,5%), gasztroenteritisz (1,2%). Kilenc esetben (10,6%) nem sikerült pontosan azonosítani a bakteriális fertőzés forrását. Az esetek 2,4%-ában egyidejűleg többféle lokalizációjú infekció zajlott. Mikrobiológiai tenyésztések 35 esetben (41,2%) történtek. A tenyésztési eredmények alapján (n=17), amelyek az esetek mintegy felében voltak pozitívak, a kórokozók az esetek 76,5%-ban GNB, míg 23,5%-ban GBP baktériumok voltak. Az izolált kórokozók megoszlása az alábbi volt: *Escherichia coli* (n=6), *Enterococcus faecalis* (n=3), *Klebsiella pneumoniae* (n=5), *Citrobacter freundii* (n=1) és *Pseudomonas aeruginosa* (n=1). Gombafertőzés egyetlen esetben sem fordult elő.

Funkcionális PRR génpolimorfizmusok, mint a nem-SBP típusú bakteriális fertőzések kockázati tényezői májcirrózisban

Az utánkövetés során a vizsgált (*NOD2*, *TLR2* vagy *TLR4*) rizikóálléleket hordozó betegek esetében akkor sem találtuk szignifikánsan magasabbnak a nem-SBP típusú bakteriális fertőzések kumulatív kockázatát (**2.A ábra**), ha a különböző súlyosságú betegségecsoportokat egymástól függetlenül is értékeltük (kompenzált vs. dekompenzált májcirrózis) (**2.B ábra**). A dekompenzált betegséget az aszcitesz jelenléte jelentette. Azon 10 beteg esetében, akik a *TLR2* mellett legalább az egyik *NOD2* variánst egyszerre hordozták, nem mutatkozott szignifikáns különbség a csak egy variánst hordozó betegekkel összehasonlítva (LogRank=0,397). Tekintve, hogy csupán egyetlen betegnél igazolódott, hogy a *TLR4* mellett mindkét *NOD2* genotípussal rendelkezik, ebben az esetben a nem-SBP típusú fertőzések vonatkozásában további rizikóelemzést nem végeztünk.

A nem-SBP típusú infekcióknál a patogének Gram eloszlásában és a fertőzések eredetét tekintve sem volt szignifikáns a különbség a *NOD2*, *TLR2* és *TLR4* variánsokra lebontva.

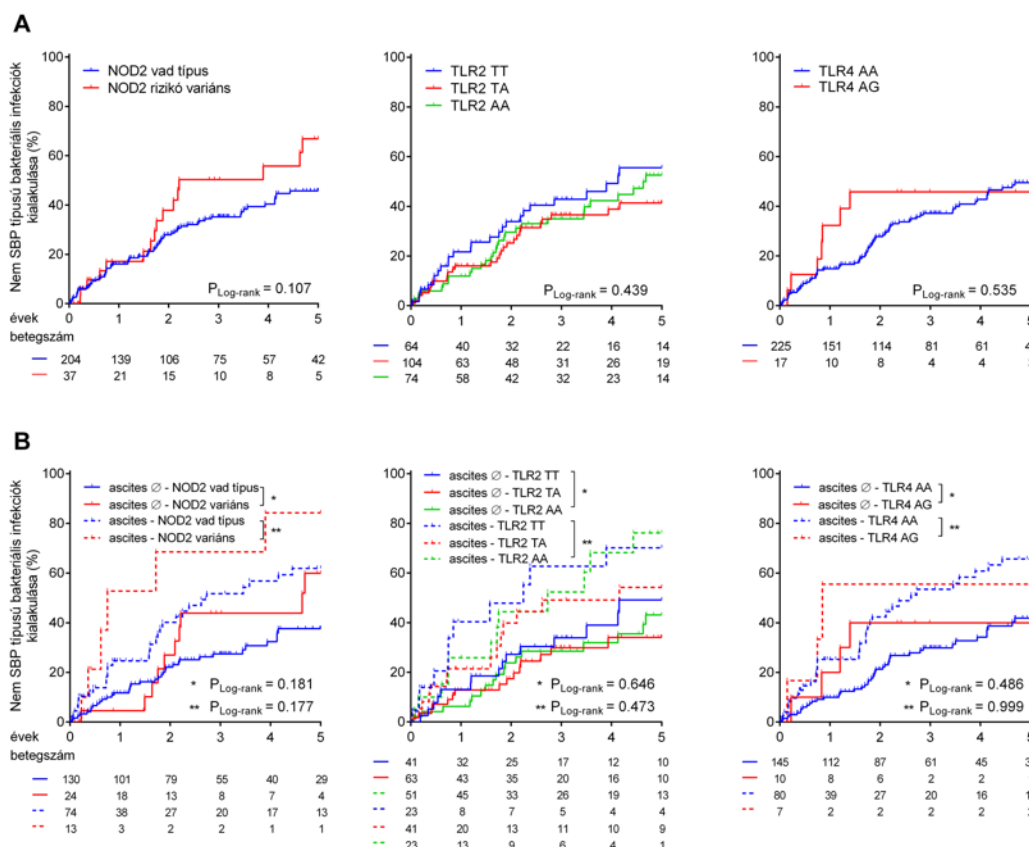
A *NOD2*, *TLR2* és *TLR4* genotípusok nem mutattak összefüggést a fertőzéshez kapcsolódó halálozás kockázatával (**4. táblázat**).

4. táblázat. A nem-SBP típusú bakteriális fertőzésekkel összefüggésbe hozható halálozás kapcsolata a *NOD2* allélokkal (L1007fsinsC -/C, R702W C>T vagy G908R G>C) (A) és a *TLR2* (-16934T>A) (B) vagy *TLR4* (D299G) (C) polimorfizmussal májcirrózisban.

		Bináris logisztikus regressziós analízis				
		30-napos			90-napos	
		OR	95% CI	<i>P</i> -érték	OR	95% CI
<i>NOD2</i> polimorfizmus (jelenléte)		0,14	(0,02-1,1)	0,061	0,24	(0,05-1,14)
<i>TLR2</i>	TT	Ref.		0,804	Ref.	
	TA	0,67	(0,2-2,22)	0,509	0,43	(0,13-1,37)
	AA	0,85	(0,27-2,63)	0,773	0,64	(0,22-1,88)
<i>TLR4</i> (AG)		4,07	(0,83-19,84)	0,082	3,13	(0,65-15,11)

TLR: toll-szerű receptor; NOD2: nukleotidkötő oligomerizációs domén 2; OR: esélyhányados; CI: konfidencia intervallum

2. ábra. Májzsugorban a nem-SBP típusú fertőzések előfordulása a különböző mintázatfelismerő receptorok genetikai polimorfizmusai szerint (*NOD2* rizikóvariánsok [L1007fsinsC -/C, R702W C>T vagy G908R G>C] és *TLR2* [-16934T>A] vagy *TLR4* [D299G]) (A) a teljes betegkohorszban és (B) a különböző betegség alcsoportokra lebontva (kompenzált/dekompenzált stádium)



Klinikai kockázati tényezők a nem-SBP típusú bakteriális fertőzések kialakulásában májcirrózisban

A klinikai tényezők közül a társbetegségek jelenléte, a beválasztáskori PPI használat, a megelőző bakteriális fertőzés az anamnézisben és az előrehaladott májcirrózis volt az, amelyek esetében a nem-SBP típusú infekciók kialakulásának valószínűsége a követés időtartama alatt fokozottnak bizonyult (**5. táblázat**).

Azon betegeknek, akiknek az anamnézisében megelőző bakteriális fertőzés szerepelt, $66,5 \pm 6,3\%$ -ban (kumulatív valószínűség [CP] és standard hiba [SE]) alakult ki a későbbiek során egy újabb fertőzések epizód, összehasonlítva azokkal, akiknek korábban még egyáltalán nem volt bakteriális fertőzésük ($39,7 \pm 5,1\%$, $pLogRank < 0,001$). Előrehaladott betegségstádium jelenléte esetén a fertőzések kumulatív valószínűsége egyformának adódott, akár az aszcitesz ($65,2 \pm 6,6\%$ vs. $42,0 \pm 5,1\%$, $pLogRank < 0,001$), akár a Child-Pugh B/C stádium ($68 \pm 6,1\%$ vs. $38,1 \pm 5,2\%$, $pLogRank < 0,001$), akár a dekompenzált klinikai stádium ($58,8 \pm 5,7\%$ vs. $40,8 \pm 5,8\%$, $pLogRank = 0,01$) szerint definiáltuk azt, és szignifikánsan magasabb volt a nem előrehaladott betegségformához képest.

Ezen két jelentős klinikai faktor, azaz a megelőző bakteriális infekció és az előrehaladott betegségstádium kombinálásával fontos összefüggéseket tudtunk kimutatni. Egyrészt a megelőző bakteriális infekció a betegsúlyosságtól független kockázati tényezőnek bizonyult egy későbbi fertőzés kialakulása szempontjából. Meg kell említeni, hogy kompenzált májsugorban - ha a betegnél korábban már lezajlott valamilyen bakteriális infekció -, a későbbi fertőzések kialakulásának kumulatív kockázata megegyezett azon dekompenzált stádiumú betegek hasonló értékével, akiknél még nem jelentkezett előzetesen bakteriális fertőzés ($57,3 \pm 8,7\%$ és $51,0 \pm 9,9\%$). Amennyiben mindkét klinikai rizikófaktor (hasi folyadék jelenléte és korábbi fertőzés) fennállt, a fertőzések kialakulásának kockázata még fokozottabbnak bizonyult ($80,3 \pm 7,7\%$, HR: 5,57, 95%CI: 3,23-9,59, $p < 0,001$) (**3. ábra** és **5. táblázat**).

Multivariációs analízis

Multivariációs Cox-regressziós analízist végezve, mely magában foglalta az összes olyan klinikai tényezőt, mely az univariációs analízisben jelentős kockázati tényezőnek bizonyult, az aszcitesz jelenlétét (HR [95% CI]: 1,71 [1,08- 2,7], a magas MELD pontszámot (1,08 [1,02-1,15]) és a megelőző bakteriális fertőzést (2,02 [1,3-3,14]) azonosítottuk független kockázati tényezőnek a nem-SBP típusú bakteriális fertőzések kialakulásában.

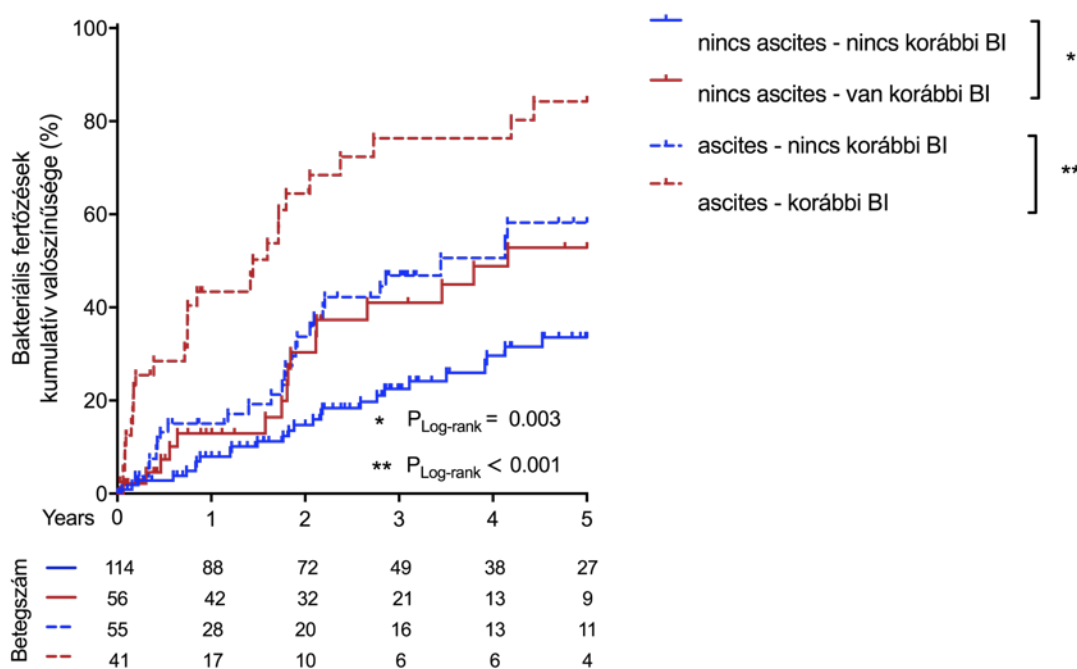
5. táblázat. Klinikai tényezők kapcsolata a nem-spontán bakteriális peritonitisz (nem-SBP) típusú bakteriális fertőzések kialakulásával májcirrózisban

		Nem-SBP típusú BI kialakulása				Univariációs Cox regresszió		
		Esetszám	Esemény száma	CP± SE (%)	<i>pLogRank érték</i>	HR	95%CI	<i>P-érték</i>
Teljes betegkohorsz		243	85	49,6±4,1				
Életkor	<65 év	198	65	46,1±4,5	<i>Ref.</i>			
	≥65 év	45	20	66,9±10,2	<i>0,039</i>	1,02	1 – 1,04	<i>0,045</i>
Nemek	Férfi	116	39	44,8±5,6	<i>Ref.</i>			
	Nő	127	46	54,7±6,0	<i>0,486</i>	1,16	0,76 – 1,78)	<i>0,487</i>
Társbetegség	Nincs	112	34	41,5±5,8	<i>Ref.</i>			
	Van	131	51	57,8±5,8	<i>0,038</i>	1,58	(1,02 – 2,44)	<i>0,04</i>
HCC	Nincs	219	79	49,2±4,2	<i>Ref.</i>			
	Van	24	6	40,8±15,6	<i>0,542</i>	1,3	(0,56 – 3)	<i>0,543</i>
Etiológia	Egyéb	91	25	40,5±6,8	<i>Ref.</i>			
	Alkoholos	152	60	54,6±5,1	<i>0,083</i>	1,51	(0,94 – 2,4)	<i>0,085</i>
Klinikai stádium	Kompenzált	121	35	40,8±5,8	<i>Ref.</i>			
	Dekompenzált	122	50	58,8±5,7	<i>0,01</i>	1,76	(1,14 – 2,71)	<i>0,011</i>
Child-Pugh stádium	A	137	38	38,1±5,2	<i>Ref.</i>			
	B/C	106	47	68,0±6,1	<i><0,001</i>	2,6	(1,68 – 3,98)	<i><0,001</i>
Aszcitesz	Nincs	155	47	42,0±5,1	<i>Ref.</i>			
	Van	88	38	65,2±6,6	<i><0,001</i>	2,11	(1,38 – 3,25)	<i>0,001</i>
MELD pontszám (/1 pont növekedés)		-	-	-	-	1,12	(1,06-1,19)	<i><0,001</i>
Korábbi BI	Nincs	149	38	38,5±5,2	<i>Ref.</i>			
	Van	94	47	66,4±6,2	<i><0,001</i>	2,42	(1,58 – 3,72)	<i><0,001</i>
Aszcitesz + Korábbi BI	Egyik sem	100	24	33,7±6		ref.		
	Valamelyik	104	37	54,6±6,5		1,86	(1,11-3,11)	<i>0,018</i>
	Mindkettő	39	24	80,3±7,7	<i><0,001</i>	4,74	(2,68-8,39)	<i><0,001</i>
Korábbi SBP	Nincs	220	75	49,0±4,3	<i>Ref.</i>			

	Van	23	10	52,5±12,0	0,108	1,71	(0,88 – 3,31)	0,112
Korábbi non-SBP típusú BI	Nincs	160	42	39,7±5,1	Ref.			
	Van	83	43	66,5±6,3	<0,001	2,26	(1,48 – 3,46)	<0,001
NSBB használat	Nem	127	39	44,0±5,7	Ref.			
	Igen	116	46	55,9±5,8	0,084	1,45	(0,95 – 2,23)	0,086
PPI használat	Nem	134	37	40,2±5,5	Ref.			
	Igen	109	48	60,5±5,9	0,006	1,81	(1,18 – 2,78)	0,007
Szekunder antibiotikum profilaxis								
Norfloxacin SBP prevenció	Nem	220	75	49,0±4,3	Ref.			
	Igen	23	10	52,5±12,0	0,108	1,71	(0,88 – 3,31)	0,112
Rifaximin HE prevenció	Nem	229	78	48,3±4,2	Ref.			
	Igen	14	7	80,4±16,1	0,109	1,86	(0,86- 4,04)	0,115

BI: bakteriális infekció; CP: kumulatív valószínűség (Kaplan-Meier analízis); CI: konfidencia intervallum; HE: hepatikus encefalopátia; HCC: hepatocelluláris karcinóma; HR: kockázati hányados; NSSB: nem-szelektív bétablokkoló; PPI: protonpumpa gátló; ref.: referencia; SBP: spontán bakteriális peritonitisz; SE: standard hiba

3. ábra. A nem-spontán bakteriális peritonitisz (nem-SBP) típusú bakteriális fertőzések kialakulásában májcirrózisban a klinikai tényezők szerint.



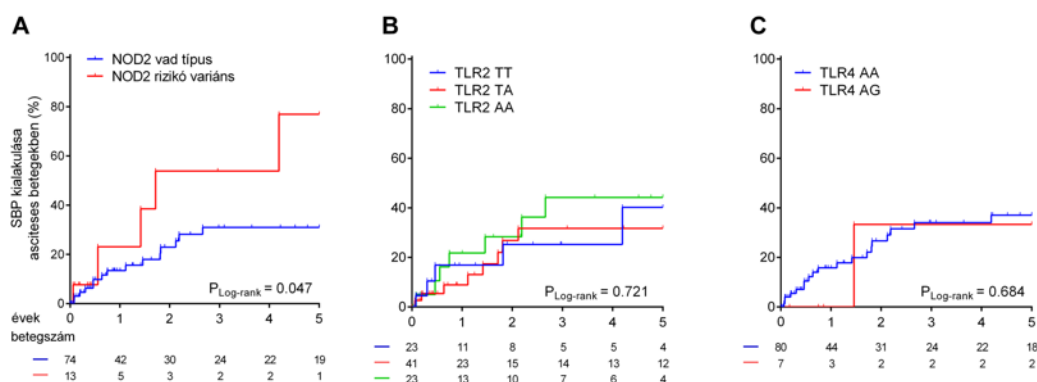
A spontán bakteriális peritonitisz (SBP) típusú bakteriális fertőzések és kockázati tényezői

Az asciteses betegek 22,7% (20/88) esetén alakult ki közösségben szerzett SBP a követési periódus során. A mikrobiológiai vizsgálatnak alávetett esetek (55%, 11/20) 36,4%-ában (4/11) tenyésztett ki a hasvíz folyadékból valamilyen kórokozó (tenyésztés pozitív esetek), míg az esetek 63,6%-ában nem (7/11) (tenyésztés negatív esetek). A kitenyésztett kórokozók az alábbiak voltak: *Klebsiella pneumonia* (n=1), *Enterococcus faecalis* (n=1) és *Citrobacter freundii* (n=2). Gram specifitás szerint 75% GNB és 25% GPB baktériumnak felelt meg. Az SBP kialakulásáig eltelt medián idő 340 (126-662) nap volt. Az általunk vizsgált PRR génvariánsok közül egyedül a *NOD2* rizikó allélek valamelyikével rendelkező asciteses betegek esetén emelkedett meg egy későbbi fertőzés kialakulásának kumulatív kockázata ($76,9 \pm 19,9\%$ vs. $30,9 \pm 6,9\%$, $p\text{LogRank}=0,047$). A *NOD2* rizikó allélt hordozó illetőleg nem hordozó egyének MELD pontszáma nem különbözött lényegesen (medián [IQR]: 14 [9-16] vs. 13 [10-15], $p=0,874$). Az SBP vonatkozásában egy korábban már fellépő fertőzőes epizód szintén rizikótényezőnek bizonyult ($p\text{LogRank}=0,048$). Érdekes módon nem találtunk különbséget a későbbi SBP kialakulását tekintve az alapján, hogy a betegnél a *TLR2* vagy *TLR4* genotípus volt kimutatható (4. ábra).

A funkcionális PRR génpolimorfizmusok és a bakteriális transzlokáció (BT) szerológiai markereinek összefüggése

A szérumból mért LBP értékek és a különféle enterális baktériumok sejtfelszíni antigénjei ellen termelődő IgA típusú antitestek (EndoCab) gyakoriságában nem találtunk szignifikáns különbséget a különféle PRR genotípusok tekintetében (6. táblázat).

4. ábra. Spontán bakteriális peritonitisz (SBP) kialakulása dekompenzált májzsugorban a különböző mintázatfelismerő receptorok genetikai polimorfizmusait tekintve (*NOD2* rizikó variánsok [L1007fsinsC -/C, R702W C>T vagy G908R G>C] és *TLR2* [-16934T>A] vagy *TLR4* [D299G])



6. táblázat. A mintázatfelismerő receptorok polimorfizmusainak összefüggése a bakteriális transzlokáció szerológiai markereivel.

	<i>NOD2</i> polimorfizmus ^a			<i>TLR2</i> 16934T>A polimorfizmus rs4696480				<i>TLR4</i> D299G polimorfizmus rs4986790		
	Vad típus	Rizikó allél	<i>p</i> -érték	TT	TA	AA	<i>p</i> -érték	AA	AG	<i>p</i> -érték
Esetszám	204	37		64	104	74		225	17	
EndoCab IgA	50,0% (96)	46,9% (15)	0,743	59,7% (37)	48,5% (47)	42,4% (28)	0,140	49,0% (102)	58,8% (10)	0,438
LBP (mg/L) ^b	17,5 (12,4-24,3)	17,9 (12,7-34,6)	0,454	17,8 (12,1-27)	18,6 (12,8-25)	17,1 (12,2-27,6)	0,977	17,8 (12,8-27)	15,92 (9,4-23)	0,378

LBP: lipopoliszaharid-kötő fehérje; TLR: toll-szerű receptor; NOD2: nukleotidkötő oligomerizációs domén 2

^a *NOD2* rizikóvariánsok: R702W C>T, rs2066844; G908R G>C, rs2066845 and L1007fsinsC -/C, rs2066847

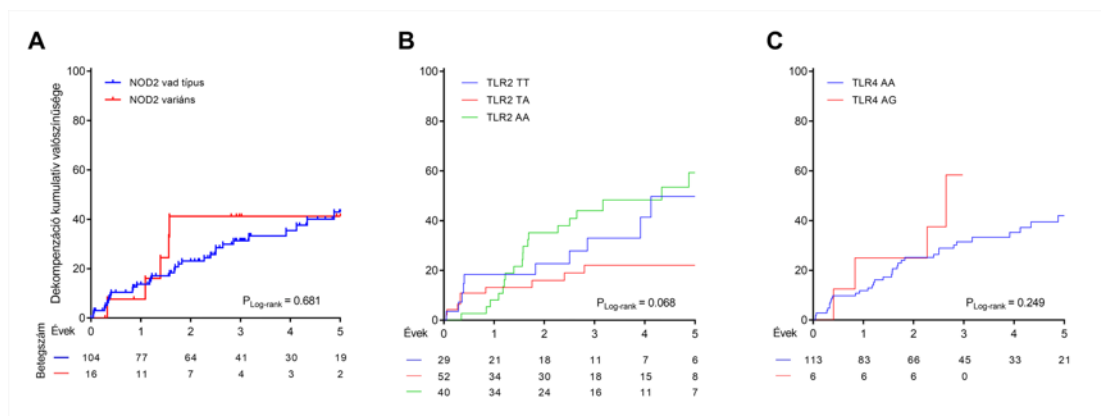
^b medián, IQR (25-75 percentilis tartomány);

A *NOD2* genotipizálását 2, míg a *TLR2* és *TLR4* meghatározását 1-1 esetben technikai okokból nem lehetett elvégezni

Funkcionális PRR génpolimorfizmusok prediktív értéke a dekompenzált betegségstádium kifejlődését tekintve

Azon betegeknél, akiket a bevételekor kompenzált stádiumúnak minősítettünk, 31,4%-ban (38/121) alakult ki a vizsgálat során valamilyen dekompenzációra utaló szövődmény (aszцитесз jelenléte, hepatikus enkefalopátia vagy varixruptúra). A fenti szövődmények észleléséig átlagosan 540 nap (IQR, 140-913) nap telt el. A dekompenzált stádium kialakulására nézve sem a *NOD2* rizikóvariánst (pLogRank=0,681), sem pedig a *TLR2* és a *TLR4* polimorfizmusokat (pLogRank=0,068 és 0,249) nem találtuk egyértelmű rizikófaktornak (**5. ábra**).

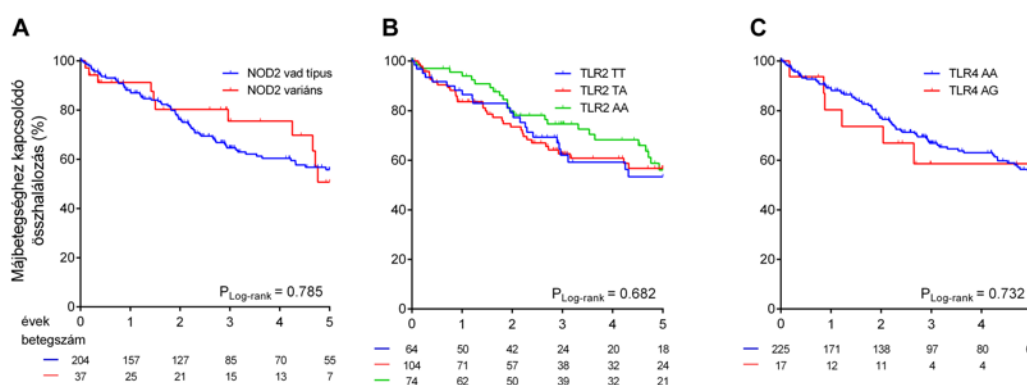
5. ábra. A kompenzált és dekompenzált betegségstádium közti átmenet (hasi folyadék megjelenése, varixruptúra, hepatikus enkefalopátia kialakulása) rizikótényezői az egyes mintázatfelismerő receptorok polimorfizmusainak vonatkozásában (*NOD2* rizikóvariánsok [L1007fsinsC -/C, R702W C>T vagy G908R G>C] és *TLR2* [-16934T>A] vagy *TLR4* [D299G])



Funkcionális PRR génpolimorfizmusok szerepe a májbetegséggel összefüggő mortalitás előrejelzésében

Az általunk vizsgált betegcsoportban a cirrózissal összefüggő mortalitási ráta 33,7% volt (82/243). A túlélés tekintetében az elsődleges rizikótényezők a betegsége előrehaladott stádiuma (Child-Pugh B vagy C, vagy aszcitesz jelenléte, pLogRank<0,001 mindkét esetben) vagy egy korábban már lezajlott bakteriális fertőzés (pLogRank=0,033) voltak. Sem a *NOD2* variáns genotípusok (pLogRank=0,785), sem a *TLR2* és a *TLR4* polimorfizmusok nem bizonyultak szignifikáns rizikófaktornak az összehalálást tekintve (pLogRank=0,682 és =0,732) (**6. ábra**).

6. ábra. A májsugorhoz kapcsolódó összesített mortalitási ráta összefüggése az egyes mintázatfelismerő receptorok genetikai polimorfizmusaival (*NOD2* variánsok [L1007fsinsC -/C, R702W C>T vagy G908R G>C] (A) és *TLR2* [-16934T>A] (B) vagy *TLR4* [D299G] (C)



2. Antimikrobiális antitestek vizsgálata májcirrózisban

Az anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA) és az anti-OMP PlusTM antitestek jelenléte májzsugorban

Az ASCA IgA és IgG, illetve az anti-OMP PlusTM is szignifikánsan gyakrabban volt kimutatható májzsugorban, mint a kontrollcsoportban ($OR_{ASCA\text{either}}: 3,28$, 95%CI: 1,83-5,89; $OR_{\text{anti-OMP Plus}^{TM}}: 6,69$, 95%CI: 3,88-11,55) vagy a nem cirrótis os eredetű májbetegék körében ($p<0,001$ mindkettő esetén). Az autoimmun májbetegeket együttes csoportként tekintve, az ASCA és az anti-OMP PlusTM antitestek előfordulási gyakorisága nem különbözött az egészséges kontrollcsoportétól. A PBC, PSC és AIH betegcsoportokat külön-külön is értékelve azonban azt találtuk, hogy az ASCA IgA és/vagy IgG előfordulási gyakorisága PSC-ben magasabb volt, mint az egészséges kontrollcsoportban ($p=0,04$). Primér biliáris kolangitiszben vagy AIH-ben azonban nem ez az eredmény adódott. Az anti-OMP PlusTM antitestek esetén hasonló különbséget az autoimmun májbeteg csoporton belül nem találtunk. Cirrótisban nem találtunk szignifikáns különbséget az ASCA és az anti-OMP PlusTM szeropozitivitásban a kiváltó ok (alkoholos vagy nem alkoholos etiológia) tekintetében (7. táblázat).

A májcirrótis os betegek 10,4%-ában fordult elő mindhárom vizsgált antimikrobiális antitest egyidejűleg, mely arány mindössze 1% volt az egészséges kontrollcsoportban ($p<0,001$). Az AIH csoportban 1 beteg, míg a krónikus HCV csoportban egyetlen beteg esetén sem észleltünk egyidejű pozitivitást az ASCA IgA, ASCA IgG és az anti-OMP PlusTM IgA antitestekre.

7. táblázat. Antimikrobiális antitestek jelenléte a különböző betegcsoportokban és az egészséges kontrollokban

		ASCA	Anti-OMP Plus TM
	Szám	IgA és/vagy IgG	IgA
Különböző etiológiájú májzsugor	286	110 (38,5%)*	179 (62,6%)*
Krónikus HCV májzsugor nélkül	124	11 (8,9%) [#]	3 (2,4%) [#]
Autoimmun májbetegségek májzsugor nélkül	266	59 (22,2%)	44 (16,5%)
PBC	153	31 (20,3%)	26 (17,0%)
PSC	59	18 (30,5%)&, ϕ	9 (15,3%) $\perp$
AIH	54	10 (18,5%)	9 (16,7%)
Egészséges kontroll	100	16 (16%)	20 (20%)

AIH: autoimmun hepatitisz; HCV: C vírusos hepatitisz; HC: egészséges kontroll; PBC: primér biliáris kolangitisz;

PSC: primér szklerotizáló kolangitisz; ASCA: *anti-Saccharomyces cerevisiae* antitest

* $p < 0,001$ májcirrózis és krónikus HCV, autoimmun májbetegségek, valamint HC között

[#] $p < 0,001$ krónikus HCV és autoimmun májbetegségek, valamint HC között

& $p = 0,04$ PSC vs. HC

ϕ $p < 0,001$ PSC vs. krónikus HCV

$\perp$ $p < 0,01$ PSC vs. krónikus HCV

Antimikrobiális antitestek korrelációja a betegség stádiumával és a cirrózis indukálta szövődmények kialakulásával

Mindkét izotípusú ASCA és az anti-OMP PlusTM IgA antitestek előfordulási gyakorisága fokozatosan nőtt ($p < 0,001$) a betegség előrehaladtával, melyet a Child-Pugh beosztás szerint határoztunk meg (**8. táblázat**). A Child C stádiumú betegek 18,4%-a volt mindhárom vizsgált antimikrobiális antitestre nézve pozitív, míg ez az arány Child A stádiumban 4,2%, Child B stádiumban pedig 10,3% volt ($p < 0,01$, mindkettőre nézve). Hasonló összefüggés volt kimutatható, amennyiben a betegség súlyosságát a MELD pontrendszerrel jellemeztük (MELD pontszám interkvartilis tartományok szerint, 1. kvartilis: 1,7%; 2. kvartilis: 6,6%; 3. kvartilis: 13,3% és 4. kvartilis: 20,3%, $p < 0,01$).

8. táblázat. ASCA és anti-OMP PlusTM antitestek előfordulása májzsugorban a betegség stádiuma alapján (Child-Pugh stádium és aszcitesz jelenléte)

	Child-Pugh stádium			Aszcitesz	
	A	B	C	Igen	Nem
	96	107	76	150	136
ASCA IgA és/vagy IgG	23 (24,0%)	42 (39,3%)	45 (59,2%)*	46 (30,7%)	63 (46,3%)#
ASCA IgA	15 (15,6%)	37 (34,6%)	43 (56,6%)*	39 (26,0%)	58 (42,6%)#
ASCA IgG	14 (14,6%)	16 (15,0%)	18 (23,7%)*	25 (16,7%)	24 (17,6%)
anti-OMP Plus TM IgA	38 (39,6%)	77 (72,0%)	64 (84,2%)*	75 (50,0%)	103 (75,7%)**
Többszörös szeropozitivitás	18 (17,7%)	38 (35,5%)	44 (57,9%)*	39 (26,0%)	60 (44,1%)#

ASCA: *anti-Saccharomyces cerevisiae* antitest

* $p < 0,001$ mindhárom Child stádiumra nézve

** $p < 0,001$ és # $p < 0,01$ aszcitesz jelenléte vs. hiánya esetében

7 beteg esetében nem volt adat a Child stádiumra nézve

A szeropozitivitáson túl, egyértelmű összefüggést találtunk a betegség súlyossága és az emelkedett ASCA IgA és anti-OMP PlusTM IgA szintek között, míg az ASCA IgG titerek esetében nem találtunk hasonló összefüggést a betegség stádiumával (7. ábra).

Az ASCA és az anti-OMP PlusTM antitestek megjelenése, mint ahogyan a többszörös antitest pozitivitás is összefüggést mutatott az aszcitesz kialakulásával ($OR_{ASCA\text{e}ither}: 1,93$; 95%CI: 1,19-3,14 és $OR_{anti-OMP}: 3,08$; 95%CI: 1,86-5,11, $p < 0,001$ mindkettőre nézve). A szeropozitivitás mellett, májzsugorban szignifikánsan magasabb volt az ASCA IgA és az anti-OMP PlusTM IgA titer ($p < 0,001$, mindkettőre nézve), mint cirrózis hiányában. Az ASCA IgG titerek nem különböztek aszerint, hogy jelen volt-e aszcitesz ($p = 0,14$).

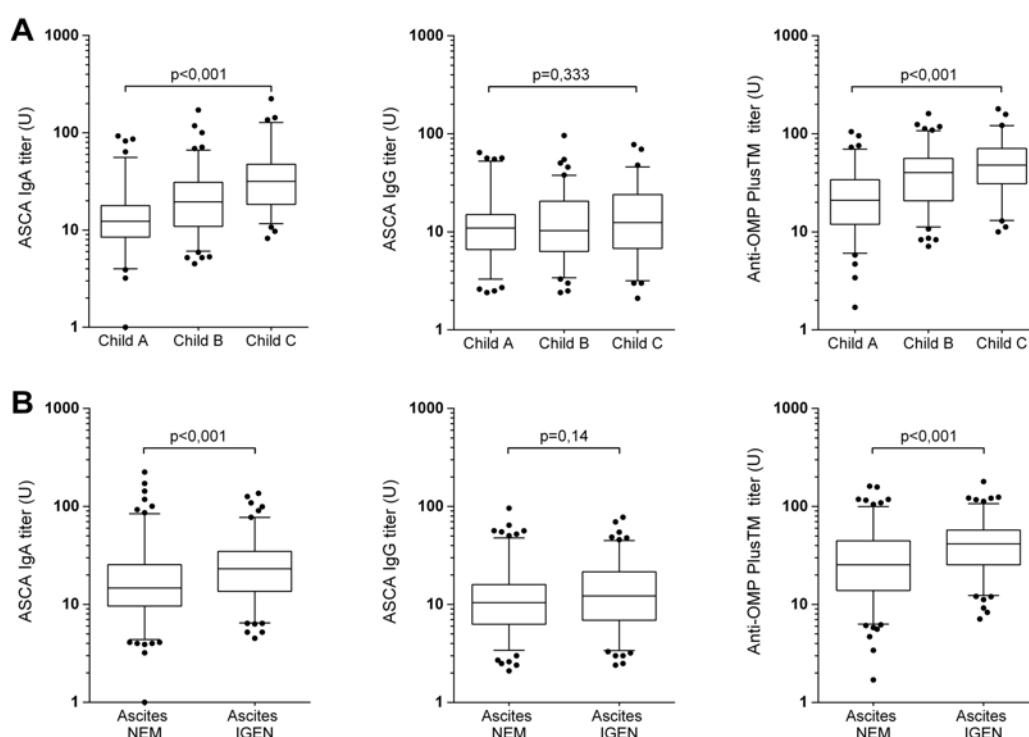
A májcirrózisos betegcsoportban mért medián szérumban LBP-szintek nem különböztek az egészséges kontrollcsoport értékeitől (21,860 vs. 19,333 ng/mL, $p = 0,08$). Nem találtunk összefüggést az LBP szint és a betegség súlyosság vagy az aszcitesz jelenléte alapján. Továbbá az LBP szintek nem különböztek az ASCA IgA/IgG vagy az anti-OMP PlusTM antitestek jelenléte alapján.

Az antimikrobiális antitestképződés összefüggése a NOD2 rizikó variánsokkal

Májcirrózisban sem az egyes ASCA izotípusok, sem pedig az anti-OMP PlusTM antitestképződés nem mutattak összefüggést a NOD2 rizikó variánsok jelenlétével (9. táblázat). Ez lényegesen

különbözött a Crohn-betegséghez képest. A Crohn-betegség a májcirrózishoz hasonlóan fokozott krónikus BT-val járó kórkép és jellegzetesen fokozott antimikrobiális antitestképződéssel is jár. Crohn-betegségben mind az ASCA IgA (58,6% vs. 35,8%, $p=0,002$), mind pedig az ASCA IgG (64,5% vs. 41,7%, $p<0,001$) gyakrabban fordult elő *NOD2* rizikó allél megléte esetén, a vad típussal összehasonlítva. Az anti-OMP PlusTM esetén is hasonló tendencia megfigyelhető volt (35,5% vs. 24,6%, $p=0,061$).

7. ábra. Antimikrobiális antitest szintek májcirrózisban a betegsúlyosság szerint (A. Child-Pugh stádium és B. MELD pontszám)



Vonalak: a medián értékek, dobozok: 25-75 percentilis tartományok, bajuszok: 5-95 percentilis tartományok. A pozitív küszöbérték 25U volt minden antitest esetében.

9. táblázat. Az antimikrobiális antitestképződés és a NOD2 polimorfizmusok közötti összefüggés májcirrózisban

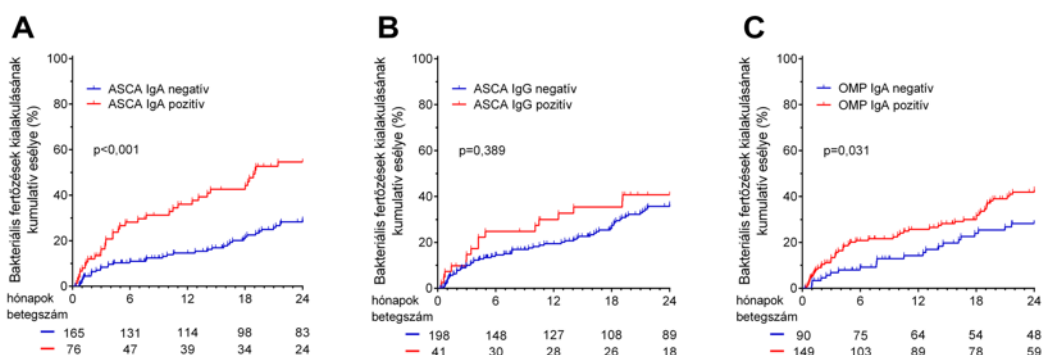
NOD2 polimorfizmus R702W C>T, rs2066844; G908R G>C, rs2066845 és L1007fsinsC -/C, rs2066847			
	Májzsugor (n=234*)		
	Vad típus	Rizikó allél	p-érték
ASCA IgA	63 (36,2%)	8 (30,8%)	0,589
ASCA IgG	31 (17,8%)	3 (11,5%)	0,427
Anti-OMP Plus TM IgA	106 (60,9%)	16 (61,5%)	0,952

ASCA: *anti-Saccharomyces cerevisiae* antitest; NOD2: nukleotid-kötő oligomerizációs domén 2

Az antimikrobiális antitestek prediktív értéke a májzsugorhoz társuló infekciók kialakulását tekintve

Az IgA ASCA és az anti-OMP PlusTM antitestek jelenléte együtt járt a bakteriális fertőzések gyakoribb előfordulásával (ASCA IgA: $54,6 \pm 6,3\%$ vs. $29,1 \pm 3,9\%$, $p < 0,001$ mindkettőre nézve; és anti-OMP PlusTM IgA: $42,9 \pm 4,5\%$ vs. $28,2 \pm 5,2\%$, $p = 0,033$). Az IgG izotípusú ASCA vonatkozásában az antitest jelenléte vagy hiánya esetén azonban nem észleltünk különbséget a bakteriális fertőzések kialakulásának kumulatív valószínűsége között ($38,5 \pm 3,5\%$ vs. $34,4 \pm 5,0\%$, $p = 0,466$) (8. ábra).

8. ábra. A bakteriális fertőzések gyakorisága májzsugorban a különféle antimikrobiális antitestek esetén: anti-*Saccharomyces cerevisiae* antitestek (ASCA) (A, B), és anti-OMP PlusTM antitest (C).

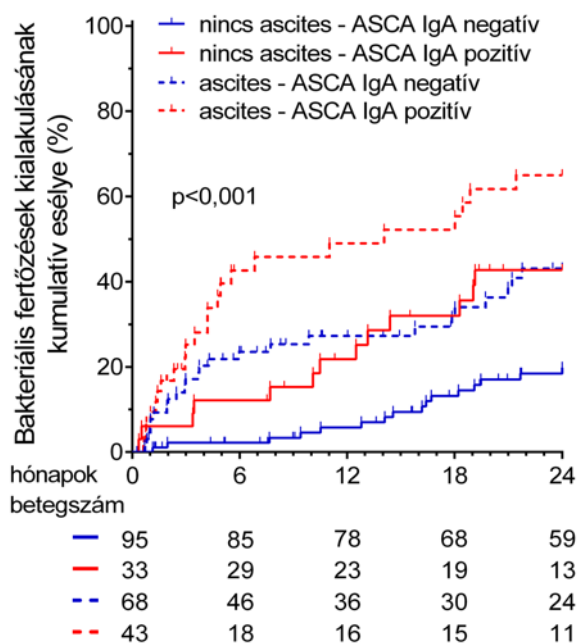


A pozitív küszöbérték az ASCA és az anti-OMP PlusTM antitestre nézve is 25 U.

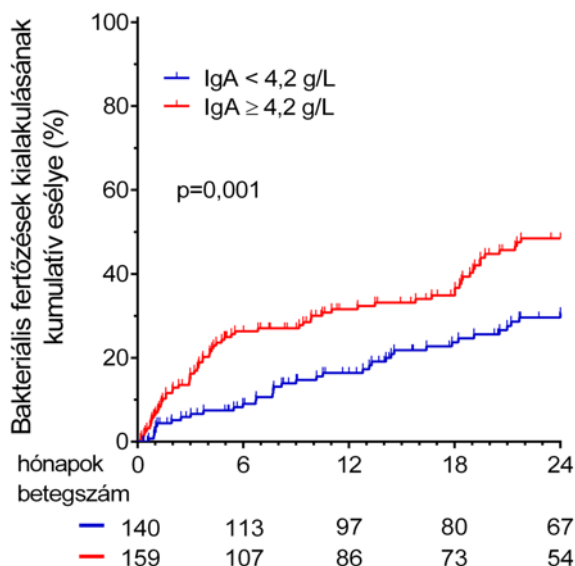
Kompenzált májzsugorban az ASCA IgA antitest jelenléte esetén a későbbi infekciók kialakulásának valószínűsége megegyezett azon betegek hasonló értékével, akinek a betegség már dekompenzált stádiumú volt, de nem termelődtek bennük ASCA IgA típusú antitestek ($42,7 \pm 9,1\%$ és $43,1 \pm 6,9\%$). Dekompenzált betegségstádium és ASCA pozitivitás együttes megléte esetén a későbbi infekció rizikója még magasabbnak bizonyult ($68,5 \pm 6,0\%$, HR: 6,03, 95%CI: 3,11-11,68, $p < 0,001$) (9. ábra).

Hasonló összefüggést találtunk a magas szérumszintű IgA szint esetén is, mint az IgA izotípusú antimikrobiális antitestek esetében ($70,7 \pm 10,1\%$ vs. $63,4 \pm 6,0\%$; HR: 1,75, 95%CI: 1,06-2,9, $p = 0,030$) (10. ábra).

9. ábra. A bakteriális infekciók kialakulásának aránya májzsugorban az ASCA IgA és a betegségstádiumot tekintve



10. ábra. A bakteriális infekciók rizikójának összefüggése májzsugorban a különböző szérum totál IgA szintekkel



Amikor multivariációs Cox regressziós modell segítségével az IgA izotípusú antimikrobiális antitestek és a totál IgA szintek korrelációját vizsgáltuk a bakteriális fertőzések kialakulásának rizikójával, a betegségstádium mellett az IgA antitestek közül egyedül az ASCA IgA antitestek jelenléte bizonyult független kockázati tényezőnek (**10. táblázat**).

10. táblázat. Multivariációs Cox modell – IgA izotípusú antimikrobiális antitestek, a totál IgA szint és a bakteriális fertőzések rizikójának összefüggése

		<i>p-érték</i>	HR	95%CI
Életkor (/év növekedés)		<i>0,07</i>	1,02	1,00-1,04
Alkoholos betegségetiológia		<i>0,294</i>	1,31	0,79-2,15
Társbetegség jelenléte		<i>0,04</i>	1,52	1,02-2,26
Child-Pugh stádium	A	<i>ref.</i>		
	B	<i>0,052</i>	1,65	1,00-2,74
	C	<i><0,001</i>	3,00	1,75-5,16
Aszcitesz		<i><0,001</i>	2,40	1,60-3,58
MELD pontszám (/1 pont növekedés)		<i><0,001</i>	1,08	1,04-1,11
ASCA IgA szeropozitivitás	<i>Modell 1</i>	<i>0,014</i>	1,92	1,14-3,24
	<i>Modell 2</i>	<i>0,003</i>	2,18	1,31-3,61
	<i>Modell 3</i>	<i>0,006</i>	2,10	1,24-3,56
anti-OMP Plus TM IgA antitest	<i>Modell 1</i>	<i>0,908</i>	0,97	0,53-1,76
	<i>Modell 2</i>	<i>0,670</i>	0,88	0,47-1,62
	<i>Modell 3</i>	<i>0,348</i>	0,74	0,40-1,39
Emelkedett totál IgA szint	<i>Modell 1</i>	<i>0,443</i>	1,19	0,76-1,88
	<i>Modell 2</i>	<i>0,204</i>	1,32	0,86-2,04
	<i>Modell 3</i>	<i>0,596</i>	1,13	0,72-1,76

Az egyes regressziós modellek esetén az alábbi betegstádiumtól függő paramétert használtuk az illesztéshez:

Modell 1: Child-Pugh score, *Modell 2:* Aszcitesz, *Modell 3:* MELD pontszám

MEGBESZÉLÉS

Májcirrózisban az aszciteszes betegekben jellegzetes infekciótípus, az SBP mellett a nem-SBP típusú bakteriális fertőzéseknek is egyértelmű prognosztikus jelentősége van [12]. Éppen ezért a bakteriális fertőzések kockázatának egyénenkénti felmérése klinikai szempontból nagyon fontos. Amennyiben a nagykockázatú betegek pontosabb identifikálása lehetővé válna, ezen csoportban az antibiotikus vagy nem-antibiotikum típusú megelőző kezelési stratégia és/vagy rutinszerű szorosabb utánkövetési protokoll bevezetésével csökkenthető lenne a morbiditás és a mortalitás. A korábbi, funkcionális PRR génvariánsokkal foglalkozó tanulmányok döntően az SBP kialakulására fókuszáltak májcirrózisos, aszciteszes betegek körében [87, 88, 89, 90]. Jelen tanulmányban ezzel szemben átfogó módon, egyidejűleg elemeztük a három PRR gén különféle funkcionális SNP-inek a hatását – különös tekintettel a nem-SBP jellegű bakteriális infekciókra – egy nagy, prospektív kohorszt vizsgálva, mely a májcirrózis betegség súlyosságának teljes spektrumát átfogja.

A beteganyagunkban a PRR génvariánsok előfordulása megfelelt az egyéb májcirrózisos betegkohorszokban korábban leírtaknak, illetve az egészséges kaukázusi típusú kontroll csoportnak [115, 116].

A legtöbb korábbi tanulmányhoz hasonlóan [87, 88, 89] a *NOD2* allélvariánsok jelenléte a mi betegkohorszunkban is az SBP rizikófaktorának bizonyult. Egy nemrég közzétett átfogó tanulmány ettől eltérően azonban dekompenzált májcirrózisos betegekben azt találta, hogy a *NOD2* variáns jelenléte nincs hatással az SBP kialakulásának valószínűségére [117]. Jelen tanulmányunkban az SBP gyakorisága nem különbözött azon betegek között, akik *TLR2* (-16934 T>A, rs4696480) vagy *TLR4* (D299G, rs4986790) polimorfizmussal rendelkeztek. A *TLR4* (D299G)-vel kapcsolatos megállapítás újdonságnak tekinthető, korábban az irodalomban nem vizsgálták. Az SBP kialakulásának összefüggése a *TLR2* genotípusokkal a megjelent közlemények alapján ellentmondásos. Több tanulmány eredményei szerint [89], [118] a *TLR2* (-16934 TT) genotípus korrelációt mutat az SBP kialakulásának gyakoriságával, míg a *TLR2* R753Q és a P631H mutációk nem. Ezzel szemben *Bruns és mtsai.* [90] úgy találták, hogy a *TLR2* R753Q polimorfizmus emelte az SBP rizikóját, míg a *TLR2* (-16934 T>A) nem. A korábbi kohorszokkal összehasonlítva jelen vizsgálatban csak kis számban (n=88) fordultak elő olyan betegek, akiknél már aszcitesz alakult ki, ez pedig kétségtelenül a vizsgálat hiányosságának tekinthető. Emiatt nem is volt lehetőségünk részletesen elemezni a PRR variánsok korrelációját az egyes SBP fajtákkal (tenyésztés negatív, tenyésztés pozitív SBP vagy bakteraszcitesz). Az utánkövetés során húsz esetben alakult ki SBP, és ezen eseteknek csak mintegy felében történt mikrobiológiai vizsgálat.

Az általunk vizsgált PRR génvariánsokról már korábban megjelentek adatok nem-cirrózisos beteganyagban, miszerint szerepet játszanak a bakteriális fertőzések kialakulásában és a szeptikus állapotokkal szembeni fogékonyságban (pl. akut leukémiában vagy allogén őssejt transzplantációt

követően) [119,120]. Szintén ismert tény, hogy súlyos állapotú betegekben a *NOD2/TLR4* variánsok együttes jelenléte esetén a bakterémia előfordulási gyakorisága magasabbnak bizonyult [121]. Egy 111 beteg adatait feldolgozó tanulmány arról számolt be, hogy előrehaladott májcirrózis esetén a *TLR4* (D299G, rs4986790) variáns fokozza a bakteriális fertőzések előfordulási gyakoriságát [122]. Egy nemrég megjelent, nagy esetszámú (n=336) retrospektív tanulmány adatai szerint ugyanakkor egy másik *TLR4* variáns (c.+1196C/T, rs4986791) jelenléte nem fokozta a bakteriális fertőzések kialakulásának kumulatív rizikóját [123]. Saját tanulmányunkban azt találtuk, hogy a vizsgált PRR variánsok egyike sem fokozta szignifikáns mértékben a nem-SBP típusú bakteriális fertőzések gyakoriságát.

A PRR családba tartozó TLR-ok és NOD-szerű receptorok szinergista módon szerepet játszanak a bakteriális infekciókkal szembeni veleszületett immunválasz kiváltásában [124]. Ennek ellenére a saját beteganyagunkban a vizsgált *NOD2*, *TLR2* és *TLR4* génvariánsok egyetlen kombinációja esetén sem tudtuk igazolni, hogy összefüggést mutatnának a fertőzésekkel szembeni hajlammal. Azt is meg kell említeni azonban, hogy az általunk vizsgált betegpopuláció relatíve kis mérete miatt nem volt értelme elemezni a bakteriális fertőzések és a *TLR4* polimorfizmusok kapcsolatát. A *TLR4* és a nem-SBP típusú bakteriális fertőzések közötti esetleges kapcsolat kimutatása így további, a mienkénél nagyobb esetszámú kohorszon további vizsgálatokat igényelne (**kiegészítő 2. táblázat**). Vizsgálatunkban hét különböző lokalizációjú infekciót különítettünk el, az egyes alcsoportokban előforduló alacsony esetszámok miatt azonban nem volt lehetséges pontosabban vizsgálni a PRR variánsok lehetséges szerepét az egyes fertőzéstípusok kialakulásában.

A tanulmányunk erősségének tekinthető viszont, hogy az a májcirrózis stádiumainak teljes spektrumát felöleli, ezáltal a különböző súlyossági fokú betegeket reprezentáló alcsoportokban lehetővé vált a PRR génvariánsok és a bakteriális infekciók kialakulása közötti interakciók pontosabb elemzése. A májcirrózishoz társuló CAID szindróma egy dinamikusan változó folyamat, amely fokozatosan kifejlődve és súlyosbodva végigkíséri a májbetegséget annak végstádiumáig [25]. Éppen ezért a bakteriális fertőzésekkel szembeni veleszületett fogékonyság akár más-más kihatással lehet a kezdeti és az előrehaladott stádiumú májcirrózisban, figyelembe véve, hogy a kompenzatórikus mechanizmusok a betegség előrehaladtával egyre inkább kimerülnek. Saját betegkohorszunkban azonban a PRR génvariánsok egyik betegség súlyossági alcsoportban sem mutattak összefüggést a nem-SBP típusú bakteriális infekciók kialakulásának fokozott kockázatával. Ezek az eredmények megerősítik, hogy májcirrózisban a szerzett immundeficiens állapot sokkal inkább rizikótényezőnek számít a bakteriális fertőzések kialakulását tekintve, mint az öröklött módon jelenlévő funkcionális genetikai polimorfizmusok.

Tanulmányunk figyelemreméltó új klinikai megállapítása, hogy a beteg kórtörténetében szereplő korábbi fertőzőes epizód ténye jelentős kockázati tényezőnek tekinthető a későbbi bakteriális infekciók kialakulására nézve. Ebből az eredményből az következik, hogy feltehetően léteznek még olyan egyéb tényezők is, amelyek szignifikánsan befolyásolják az infekciókkal szembeni egyéni fogékonyság

kialakulását. Ez az összefüggés mind a korai, mind a késői betegségstádiumban egyértelműen megfigyelhető volt. Egy korábbi lezajlott fertőzőes epizód és az előrehaladott betegségstádium nagyjából megegyező mértékben emelte a későbbi fertőzések kialakulásának kockázatát.

Ismert tény, hogy a patológiás BT és a májsugorban fellépő számos gyakori szövődmény korrelál egymással [26]. Bizonyítékok vannak arra nézve is, hogy Crohn-betegségben a *NOD2* gén bizonyos variánsai [125, 126] és egyes *TLR* polimorfizmusok [127] szintén fokozhatják a BT kialakulásának rizikóját. Egy másik közlemény arról számolt be, hogy előrehaladott májsugorban a szerzők által vizsgált *NOD2* kockázati variáns (p.G908R) jelenléte esetén a betegek hasúri folyadékában nagyobb számban lehetett kimutatni BT-re utaló bakteriális DNS fragmentumokat [128]. Ugyanez a *NOD2* variáns ráadásul szignifikáns mértékben fokozta igazolt SBP gyakoriságát [129, 130]. Egy európai nagy betegszámú vizsgálat eredményei szerint a *TLR2* (-16934 T>A, rs4696480) és a *TLR4* (D299G, rs4986790) polimorfizmusok szintén fokozták a patológiás BT előfordulását, melyet a szérum lipoteikonsav, LPS és bakteriális DNS kimutatásával igazoltak [131].

Jelen vizsgálat keretei között nemcsak szerológiai, hanem klinikai szempontból is tanulmányoztuk az egyes PRR génvariánsok szerepét. Egyrészt igyekeztünk felmérni, hogy a *NOD* és *TLR* SNP-k milyen hatással van a BT-vel szemben kialakuló szerológiai válaszra, azonban mi eltérő szerológiai markereket használtunk, mint *Piñero és mtsai.* [129]. Azt tapasztaltuk, hogy az IgA típusú antimikrobiális antitestek gyakorisága és az LBP szintek sem a teljes betegpopulációban, sem pedig az egyes betegségstádium alcsoportokban nem változtak szignifikáns mértékben az egyes PRR genotípusok függvényében. Azt a feltételezést is igazolni próbáltuk, miszerint az egyes PRR génvariánsok nemcsak a BT kialakulásával, hanem ebből fakadóan a felgyorsult betegségprogresszióval – pl. korábbi dekompenzáció vagy fokozott mortalitási ráta – is összefüggést kell, hogy mutassanak. A *NOD2* és a *TLR2* illetőleg *TLR4* gének különböző polimorfizmusai nem befolyásolták ezen szövődmények kialakulását. Saját tanulmányunk az első az irodalomban, mely vizsgálta a PRR génvariánsok és a májcirrózishoz társuló dekompenzációs események összefüggését.

A PRR génvariánsok és a halálozás közti összefüggést már több korábbi tanulmányban is vizsgálták, de a közölt adatok nem egyértelműek. Miközben például *Appenrodt és mtsai.* [88] azt találták, hogy a *NOD2* rizikóallélek mintegy négyszeresére növelik a mortalitást, ezt az összefüggést sem mi, sem például *Bruns és mtsai.* nem tudták igazolni [87].

A kóros BT folyamatát specifikusan jelző szerológiai markerek, mint például a PRR-ok által felismert bakteriális alkotórészek ellen termelődő antitestek, feltételezésünk szerint szintén előrejelezhetik a bakteriális fertőzéseket májcirrózisban. A szövődményes vékonybél Crohn-betegség jellegzetes antimikrobiális szerológiai választ elsőként vizsgáltuk az irodalomban komplex módon nagyszámú krónikus májbetegségben szenvedő nem-cirrotikus és cirrotikus betegcsoportban.

Igazoltuk, hogy májcirrózissal szövődött krónikus májbetegekben az antimikrobiális antitestképződés, mint az ASCA és az anti-OMP PlusTM gyakori és független a betegség etiológiájától. Májcirrózis hiányában azonban CLD-ben nem észleltünk fokozott antitestképződést az egészséges kontroll csoporthoz képest. Az általunk talált ASCA pozitívítási arány megegyezett a korábbi, elsősorban alkoholos májbetegekben és krónikus HCV-ben szenvedő egyéneken végzett tanulmányok adataival [132], [133], [134]. Az antimikrobiális antitestek, elsősorban az ASCA, képződésének hátterében Crohn-betegségben a genetikai fogékonyság szerepét tartják fontosnak. Az ASCA képződés ugyanis összefüggést mutat egyes PRR polimorfizmusok jelenlétével, mint például a *NOD2*. Ezen összefüggést saját nagy esetszámú Crohn-betegségben beteganyunkban is meg tudtuk erősíteni. Ha a bélbaktériumokból származó fragmentumok felismerése elégtelen, ez állandó antigén expozíciót fog eredményezni, amely pedig fokozott antitest termelésre készíti az immunrendszert. Ez a jelenség jobbra független a betegség aktivitásától és a bélnyálkahártya gyulladásától [135]. Hozzá kell tenni azonban, hogy számos tanulmány adatai szerint az ASCA előfordulási gyakorisága a *NOD2/CARD15*-re vad típusú betegcsoportban hasonlóképpen magas [136]. Ez arra enged következtetni, hogy a genetikai alapon létrejövő bélflóra elleni toleranciavesztés nem az egyetlen és még csak nem is a legfőbb mechanizmus, mely az antimikrobiális antitestképződés hátterében áll. Májcirrózisos betegekben az ASCA és az anti-OMP PlusTM antitestképződés nem mutatott összefüggést a PRR genotípusokkal. További támogató adat, hogy kezeletlen cöliákiában is magas az ASCA előfordulási aránya, míg a *NOD2/CARD15* variáns allél előfordulása nagyjából megfelel a kontrollcsoporténak [57].

Feltételezésünk szerint májzsugorban az antimikrobiális antitestek képződésében a szerzett módon, a betegség súlyosságával fokozódó BT [35, 36] játszhat központi szerepet, azaz a bél mikroflóra alkotóinak állandó transzlokációja a bélből a szisztémás keringésbe, az emelkedett bélpermeabilitás és a csökkent nyálkahártya immunitásnak köszönhetően. Ezt a feltételezésünket támasztja alá, hogy az saját tanulmányunkban az antimikrobiális antitestek előfordulási gyakorisága és a titerszintek egyértelműen összefüggést mutattak a betegség súlyossági fokával és a portális hipertenzió kialakulásával. Előrehaladott májbetegségben – különösen, ha hasúri folyadék is megjelenik - a Gram negatív baktériumok transzlokációja dominál [26]. A részben Gram negatív baktériumok fehérjéi ellen termelődő anti-OMP PlusTM IgA antitest a betegek 62,6%-ában jelen volt májzsugorban. Egy másik, szintén Gram negatív baktériumok sejtfelszíni antigénje ellen termelődő antitestről bebizonyosodott, hogy a májbetegség etiológiájától függetlenül pozitívan korrelál az előrehaladott fibrózissal ($\geq$ III. stádium). Ennek az anti-gal nevű antitestnek a pozitívítása esetén magasabb endotoxin szinteket észleltek, illetőleg egyéb, a bakteriális expozíciót jelző markerek előfordulása is gyakoribbnak bizonyult [137]. Saját adataink alapján a CLD csoporton belül mindössze a PSC esetén észleltünk magasabb antimikrobiális antitest gyakoriságot (35%). A PSC ismert patogenetikai mechanizmusai szintén támogatják azon feltételezésünket, hogy az antimikrobiális antitestképződés a patológiás BT következménye. PSC-ben ugyanis az epeutakban kialakuló sztenotikus léziók miatt az enterális, GNB

által okozott fertőzések előfordulása gyakori. A kolangitiszek gyakorisága szignifikáns összefüggést mutatott a sztenotikus léziók jelenlétével [138].

Korábban LBP-t a BT szerológiai markereként javasolták [30], ugyanakkor jelen vizsgálatunkban ezt nem tudtuk megerősíteni. Az LBP szintek nem különböztek a stabil állapotú májcirrózisos betegekben és az egészséges kontrollokban. Továbbá saját munkacsoportunk beszámolt arról is, hogy cirrózisban az LBP, elsősorban a CRP-hez és PCT-hez hasonlóan a bakteriális infekciók kimutatásában használható inkább, bár diagnosztikus hatékonysága elmarad a másik két APP-hez képest [37]. Az LBP szintek és az antimikrobiális antitest pozitivitás között sem volt összefüggés.

Az antimikrobiális antitestek közül az IgA izotípusúak jelenléte előrejelezte a májcirrózishoz társuló szisztémás bakteriális fertőzések kialakulását a követéses klinikai vizsgálatban. Az ASCA IgA jelenléte esetén az infekciók kialakulása szignifikánsan gyakoribb volt, és az anti-OMP PlusTM IgA esetén is ugyanez a tendencia volt megfigyelhető, bár a különbség az utóbbi esetben nem bizonyult szignifikánsnak. Ezen adataink újabb bizonyítékot szolgáltathatnak arra, hogy egyértelmű összefüggés van a szisztémás keringésbe tartósan bejutó baktériumok és/vagy bakteriális termékek és a fokozott, elsősorban IgA izotípusú antimikrobiális antitestek képződése között. A B-sejtek a bélhez kapcsolt limfoid szövetekben (GALT: gut-associated lymphoid tissue) IgA jellegű antitesteket választanak ki, majd antigén expozíciót követően aktiválódnak és IgA izotípus váltáson („switch-rekombináció”) esnek át [139, 140, 141] [142]. Ezek az aktivált B-sejtek a nyirokutakon keresztül bejutnak a szisztémás keringésbe, majd pedig hamarosan visszajutnak a nyálkahártya felszínre. Mivel ezek az aktivált mukózális eredetű B-sejtek bejutnak a szisztémás keringésbe, így a patológiás BT következtében kialakuló fokozott lokális IgA képződés a perifériás vérben is kimutatható.

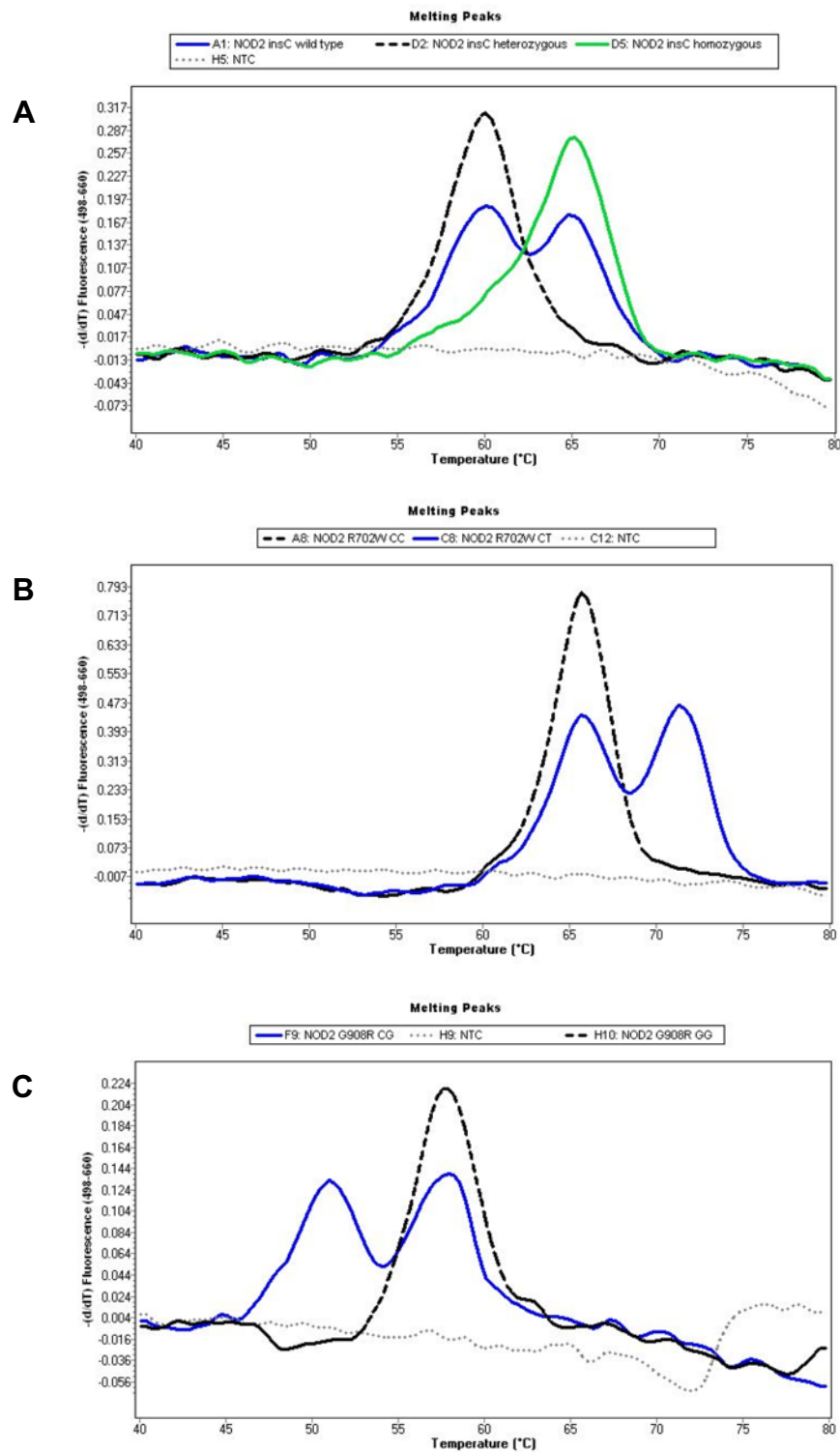
Kimondható tehát, hogy a bélbaktériumok sejtfelszíni komponensei ellen kialakuló immunválasz nem egy adott kórképre, hanem magára a BT kórfolyamatára specifikus. Bebizonyítottuk, hogy az IgA izotípusú antimikrobiális antitestek a kóros bakteriális transzlokáció szerológiai markereinek tekinthetők. Az ASCA IgA és a bakteriális fertőzések összefüggését vizsgálva megállapítható az is, hogy ez a szeropozitivitás független a betegség súlyosságától vagy éppen a társbetegségek jelenlététől, amely nagyban megnöveli annak prediktív értékét.

Nagy valószínűséggel kimondható, hogy az ASCA-nak nincs közvetlen patogenetikai szerepe a betegség progresszióját és a bakteriális fertőzések kialakulását tekintve, azonban a fokozott képződésük valamilyen háttérben zajló kórfolyamatra utal, mint amilyen maga a bakteriális transzlokáció is. Az IgA izotípusú antimikrobiális antitestek jelenléte nem csak a krónikus gyulladás kísérőjelensége, hanem egyben kórjelző is ezáltal. Az irodalmi adatok beszámolnak a B-sejtek egy újonnan azonosított populációjáról, az ún. immunszuppresszív IgA+ B-sejtekről. A májzsugor kórlefolyására jellemző a szisztémás gyulladásos válasz és az immundeficiencia együttes jelenléte, melyet CAID szindrómának nevezünk. A tartósan fennálló BT és az ezzel járó egyre növekvő bakteriális expozíció pro-inflammatorikus immunmechanizmusok kialakulásának sorához vezet. Ennek következtében egy idő után az immunrendszer kimerül, fellép az immundeficienciával járó CAID szindróma, melyet már az

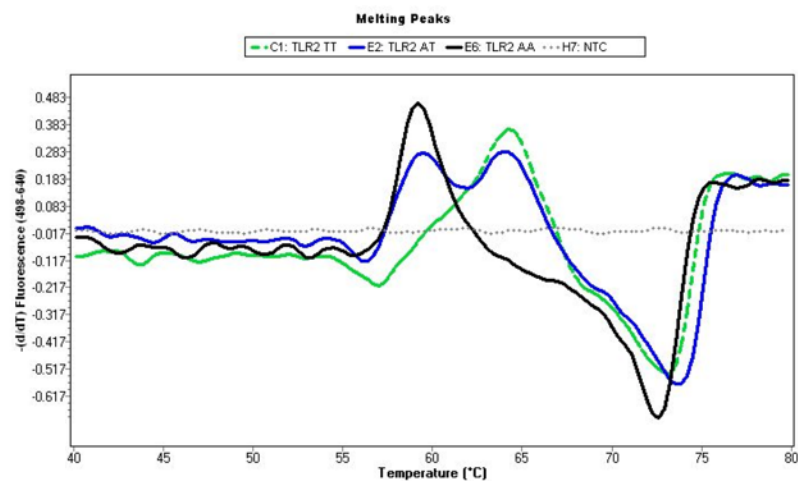
anti-inflammatorikus citokinek és negatív regulátorok termelődése jellemez. *Shalapour S. és mtsai.* [143] humán és egérmodellben végzett vizsgálataikban IgA termelő B-sejtek felhalmozódását mutatták ki nem alkoholos zsírmájban (NASH), mely sejtek PD-L1-t és IL-10-t is expresszálnak, ezáltal gátolva a tumorellenes citotoxikus T-sejtek működését, mely viszont bizonyos daganatok fokozott előfordulásával jár. Májcirrózisban számos irodalmi adat áll rendelkezésre a megváltozott B-sejt aktivitásra vonatkozóan [144,145,146,147,148,149,150], mely alapján feltételezhető, hogy hogy alkoholos eredetű májzsugorban szenvedő betegek esetén is kimutatható az immunszuppresszív B-sejtek számának emelkedése a béltraktusban, a májban és a szisztémás keringésben, ami pedig a szisztémás fertőzés rizikóját fokozza. Ez utóbbit támogatja az a megfigyelés is, miszerint szepszisben az immunrendszer aktivációját immunszuppresszió követi. Eredményeink alapján fontos lenne az ún. immunszuppresszív IgA+ B-sejtek vizsgálata a szisztémás keringésben és a különféle szövetekben (béltraktus, máj), továbbá összevetésük az antimikrobiális antitestképződéssel.

MELLÉKLET

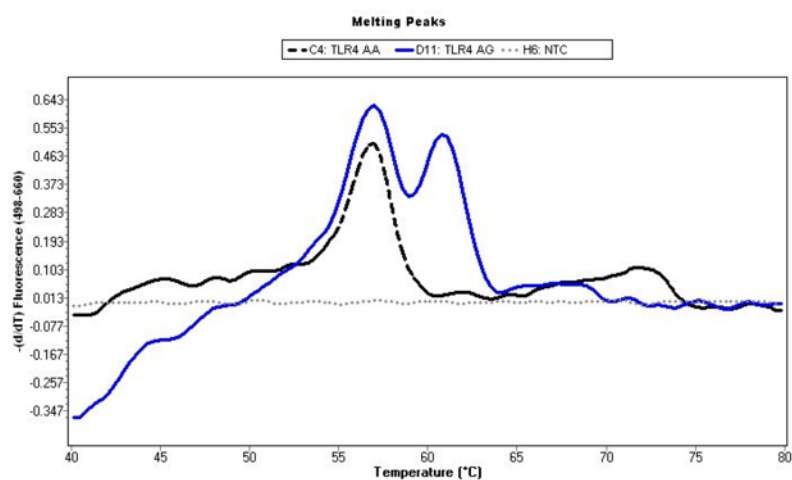
Kiegészítő 1. ábra. LightCycler 480 rendszeren végzett genotipizálás reprezentatív olvadási görbe eredményei



D



E



A: NOD2 L1007fsinsC -/C, B: NOD2 R702W C>T, C: NOD2 G908R G>C, D: *TLR2* (-16934T>A) E: *TLR4* (D299G)]. NTC= "no template control": kontroll", "melting peaks": olvadási csúcsok

Kiegészítő 1. táblázat. Az antimikrobiális antitestekkel végzett klinikai tanulmányban szereplő cirrózisos betegek klinikai jellemzői.

	Májcirrózis (n = 286)
Nem (férfi/nő)	161/125
Kor (átlag $\pm$ SD, évek) (medián /IQR/, évek)	56,3 $\pm$ 10,7 56 (50-64)
Child-Pugh stádium, n	
A	96
B	107
C	76
NA	7
Meld score (pont)	14,6 $\pm$ 6,5
Szérum bilirubin (μ mol/L)	65,8 $\pm$ 97,4
Szérum albumin (g/L)	33,5 $\pm$ 7,8
Trombocita (G/L)	121,1 $\pm$ 69,2
Társbetegségek jelenléte, n (%)	123 (43,1%)
Egy	93
Kettő	24
Három vagy több	6
HCC, n (%)	33 (11,5%)
Átlagos követési idő $\pm$ SD (napok)	440 $\pm$ 347
Követési idő mediánja, IQR (napok)	425 (107-732)
A követési idő alatt	
Betegek bakteriális infekcióval, n (%)	94 (32,9%)
Betegek szisztémás bakteriális infekcióval, n (%)	81 (28,3%)
Egy	45
Kettő	22
Három	14

SD: standard deviáció, IQR: inter-kvartilis tartomány

HCC: hepatocelluláris karcinóma

NA: nem alkalmazható

Kiegészítő 2. táblázat. A mintázatfelismerő receptorok genetikai polimorfizmusainak és a bakteriális fertőzés kockázatának post-hoc power analízise

Rizikó- variáns	Van/ nincs	Ese- mény	Az infekció valószínűsége: rizikóvariáns nincs	Az infekció valószínűsége: rizikóvariáns van	HR	Alfa	Power
<i>NOD2</i>	206/37	106	0,4	0,64	2	0,05	0,892
<i>TLR2</i>	182/61	112	0,4	0,64	2	0,05	0,956
<i>TLR4</i>	225/18	102	0,4	0,64	2	0,05	0,700

FŐBB ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Májcirrózisban a bakteriális infekciók kialakulásnak klinikai kockázati tényezőit vizsgálva igazoltuk, hogy a beteg kórtörténetében szereplő korábbi fertőzéses epizód a betegség súlyosságától független és azzal megegyező fajsúlyú új faktor. Hatásukat tekintve pedig ez a két klinikai kockázati tényező additív.

Májcirrózisban a bakteriális fertőzések kialakulásában a veleszületett fogékonyságot reprezentáló celluláris mintázatfelismerő receptor (PRR) gének funkcionális polimorfizmusainál a cirrózishoz társuló immundeficiencia szindróma (CAID) szerzett hajlamosító tényezői nagyobb jelentőséggel bírnak, a betegség stádiumától függetlenül.

Májzsugorban a fokozott bakteriális transzlokáció nem függ össze a vizsgált *NOD2* rizikó variánsok [L1007fsinsC -/C, R702W C>T vagy G908R G>C] és *TLR2* [-16934T>A] vagy *TLR4* [D299G] polimorfizmusokkal. Hasonlóképpen nincs összefüggés a PRR génpolimorfizmusok, valamint a BT ismert szerológiai markerei, és patológiás BT klinikai manifesztációja (pl. dekompenzált stádium kialakulása, halálozás) között sem.

Gyulladásos bélbetegségekben (IBD) és májcirrózisban egyidejűleg vizsgálva a bélbaktériumok sejtfelszíni szénhidrát komponensei és fehérjéi ellen kialakuló szerológiai választ igazoltuk, hogy az nem egy adott kórképre, hanem magára a BT kórfolyamatára specifikus. Az IgA izotípusú antimikrobiális antitestek (az anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) és az anti-OMP PlusTM) így a kóros BT általunk újonnan azonosított szerológiai markerei.

Az IgA izotípusú antimikrobiális antitestek előfordulási gyakorisága májcirrózisban magas és egyértelmű összefüggést mutat a betegség stádiumával, valamint a portális hipertenzió jelenlétével. Egyéb krónikus májbetegségben - a primér szklerotizáló kolangitist leszámítva -, az antitestek előfordulása megfelel az egészséges populációnak.

Igazoltuk, hogy májcirrózisban az IgA izotípusú ASCA antitestek jelenléte a betegséghez kapcsolódó bakteriális fertőzések új szerológiai rizikófaktorának tekinthető.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni mindazoknak a segítségét, akik hozzájárultak a doktori értekezésem megírásához, még ha név szerint nem is tudok itt mindenkit megemlíteni.

Mindenekelőtt köszönöm témavezetőmnek, Dr. Papp Máriának, hogy segítőszándékú és szakavatott útmutatásával, türelmével és támogatásával lehetővé tette és motiválta munkámat az évek során.

Köszönöm a Debreceni Egyetem Gasztroenterológiai Tanszékének munkatársainak, hogy részt vehettem a gasztroenterológiai munkacsoport életében, a klinikai adatok feldolgozásában és elemzésében, ami nélkül a dolgozat nem valósulhatott volna meg.

Köszönet illeti Dr. Bors Andrást és Prof. Dr. Tordai Attilát a genetikai vizsgálatok elvégzéséért.

A statisztikai elemzésekben nyújtott segítségért hálámat fejezem ki Dr. Dinya Eleknek.

Köszönöm továbbá közleményeim társszerzőinek, hogy egyöntetűen hozzájárultak a közlemények megírásához.

Végül pedig köszönöm családomnak a szüntelen türelmét és szeretetét, mellyel egyszerre támogattak és inspiráltak.

KULCSSZAVAK

Kulcsszavak: bakteriális infekció, májcirrózis, szövődmények, bakteriális transzlokáció, anti-inflammatorikus válasz, génpolimorfizmusok, mintázatfelismerő receptorok

Keywords: bacterial infection, liver cirrhosis, complications, bacterial translocation, anti-inflammatory response, genetic polymorphisms, pattern recognition receptors

FÜGGELÉK

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények



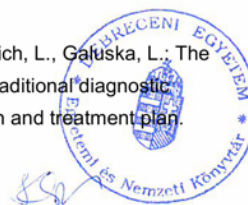
**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

További közlemények

4. Jenei, A., Dajnoki, Z., Medgyesi, B., Gáspár, K., Béke, G., Kinyó, Á., Méhes, G., Hendrik, Z.,
Dinya, T., Töröcsik, D., Zouboulis, C. C., Prens, E. P., Bíró, T., Szegedi, A., Kapitány, A.:
Apocrine Gland-Rich Skin Has a Non-Inflammatory IL-17-Related Immune Milieu, that Turns
to Inflammatory IL-17-Mediated Disease in Hidradenitis Suppurativa.
J. Invest. Dermatol. 139 (4), 964-968, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jid.2018.10.020>
IF: 7.143
5. Földi, I., Tornai, T. I., Tornai, D., Sipeki, N., Vitális, Z., Tornai, I., **Dinya, T.**, Antal-Szalmás, P.,
Papp, M.: Lectin-complement pathway molecules are decreased in patients with cirrhosis and
constitute the risk of bacterial infections.
Liver Int. 37 (7), 1023-1031, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/liv.13368>
IF: 4.5
6. Tornai, T. I., Vitális, Z., Sipeki, N., **Dinya, T.**, Tornai, D., Antal-Szalmás, P., Karányi, Z., Tornai, I.,
Papp, M.: Macrophage activation marker, soluble CD163 is an independent predictor of
short-term mortality in patients with cirrhosis and bacterial infection.
Liver Int. 36 (11), 1628-1638, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/liv.13133>
IF: 4.116
7. Papp, M., Tornai, T. I., Vitális, Z., Tornai, I., Tornai, D., **Dinya, T.**, Sümegi, A., Antal-Szalmás, P.:
Presepsin teardown: pitfalls of biomarkers in the diagnosis and prognosis of bacterial
infection in cirrhosis.
World J. Gastroenterol. 22 (41), 1-14, 2016.
IF: 3.365
8. Kósa, C., Garami, Z., **Dinya, T.**, Fülöp, B.: Az invazivitás prediktív faktora hengerbiopsziával in
situ ductalis carcinomának diagnosztizált emlődagaganatokban.
Magyar Seb. 65 (4), 216-219, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/MaSeb.65.2012.4.8>
9. Garami, Z., Hascsi, Z., Varga, J., **Dinya, T.**, Tanyi, M., Garai, I., Damjanovich, L., Galuska, L.: The
value of 18-FDG PET/CT in early-stage breast cancer compared to traditional diagnostic
modalities with an emphasis on changes in disease stage designation and treatment plan.
EJSO. 38 (1), 31-37, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejso.2011.09.002>
IF: 2.614





10. Lazányi, K., Molnár, P., Bugán, A., Kiss, C., Szántó, J., Gonda, A., Tóth, Z., Hernádi, Z., Hadjiev, J., Remenyik, É., Damjanovich, L., **Dinya, T.**, Flaskó, T., Bágyi, P., Szluha, K.: Az onkológusok érzelmei.
Magyar Onkol. 55 (3), 205-212, 2011.
11. Vitális, Z., Altörjay, I., Tornai, I., Palatka, K., Kacska, S., Havasiné Pályu, E., Tornai, D., Udvardy, M., Hársfalvi, J., **Dinya, T.**, Veres, G., Lakatos, P. L., Papp, M.: Phenotypic polymorphism of haptoglobin: a novel risk factor for the development of infection in liver cirrhosis.
Hum. Immunol. 72 (4), 348-354, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2011.01.008>
IF: 2.837
12. Altörjay, I., Vitális, Z., Tornai, I., Palatka, K., Kacska, S., Farkas, G., Udvardy, M., Hársfalvi, J., **Dinya, T.**, Orosz, P., Lombay, B., Pár, G., Pár, A., Csak, T., Osztoivits, J., Szalay, F., Csepregi, A., Lakatos, P. L., Papp, M.: Mannose-binding lectin deficiency confers risk for bacterial infections in a large Hungarian cohort of patients with liver cirrhosis.
J. Hepatol. 53 (3), 484-491, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2010.03.028>
IF: 9.334
13. Bartha, I., **Dinya, T.**, Seres, I., Paragh, G., Ross, C., Hayden, M. R., Biró, S., Vargha, G.: Acute hypertriglyceridemic pancreatitis during pregnancy due to homozygous lipoprotein lipase gene mutation.
Clin. Chim. Acta. 400 (1-2), 137-138, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2008.10.016>
IF: 2.535
14. Papp, M., Földi, I., Altörjay, I., Havasiné 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>
IF: 2.092
15. Papp, M., Altörjay, I., Lakos, G., Tumpek, J., Sipka, S., **Dinya, T.**, Palatka, K., Veres, G., Udvardy, M., Lakatos, P. L.: Evaluation of the Combined Application of Ethanol-Fixed and formaldehyde-fixed neutrophil substrates for identifying atypical perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease.
Clin. Vaccine Immunol. 16 (4), 464-470, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/CVI.00002-09>
IF: 2.373





16. Lakatos, P. L., Altorjay, I., Szamosi, T., Palatka, K., Vitális, Z., Tumpek, J., Sipka, S., Udvardy, M., **Dinya, T.**, Lakatos, L., Kovács, Á., Molnár, T., Tulassay, Z., Miheller, P., Barta, Z., Stocker, W., Papp, J., Veres, G., Papp, M., The Hungarian IBD Study Group: Pancreatic autoantibodies are associated with reactivity to microbial antibodies, penetrating disease behaviour, perianal disease, and extraintestinal manifestations, but not with NOD2/CARD15 or TLR4 genotype in a Hungarian IBD cohort.
Inflamm. Bowel Dis. 15 (3), 365-374, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ibd.20778>
IF: 4.643
17. Papp, M., Nemes, É., Földi, I., Udvardy, M., Hársfalvi, J., Altorjay, I., Máté, I., **Dinya, T.**, Várölggyi, C., Barta, Z., Veres, G., Lakatos, P. L., Tumpek, J., Tóth, L., Szathmári, E., Kapitány, A., Gyetvai, Á., Korponay-Szabó, I.: Haptoglobin-polimorfizmus: új genetikai kockázati tényező a coeliakia kialakulásában és klinikai megjelenési formáiban.
Gyermekegyógyászat. 59 (5), 264-270, 2008.
18. Papp, M., Földi, I., Nemes, É., Udvardy, M., Hársfalvi, J., Altorjay, I., Máté, I., **Dinya, T.**, Várölggyi, C., Barta, Z., Veres, G., Lakatos, P. L., Tumpek, J., Tóth, L., Szathmári, E., Kapitány, A., Gyetvai, Á., Korponay-Szabó, I.: Haptoglobin 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
19. 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
20. 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





21. 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.
22. Tóth, C., Olvasztó, S., **Dinya, T.**: Femurcondylus exostosis okozta arteria poplitea sérülés ritka
esete: (Esetismertetés).
Magyar Seb. 54, 115-117, 2001.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 71,719

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
12,825**

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

Debrecen, 2020.11.16.



IRODALOMJEGYZÉK

- [1] Tsochatzis EA, Bosch J, Burroughs AK. Liver cirrhosis. *Lancet*. 2014;383(9930):1749-61.
- [2] 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. *J Hepatol*. 2013;58(3):593-608.
- [3] D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol*. 2006;44(1):217-31.
- [4] Garcia-Tsao G, Friedman S, Iredale J, Pinzani M. Now there are many (stages) where before there was one: In search of a pathophysiological classification of cirrhosis. *Hepatology*. 2010;51(4):1445-9.
- [5] Bernal W, Jalan R, Quaglia A, Simpson K, Wendon J, Burroughs A. Acute-on-chronic liver failure. *Lancet*. 2015;386(10003):1576-87.
- [6] Jalan R, Yurdaydin C, Bajaj JS, Acharya SK, Arroyo V, Lin HC, et al.; World Gastroenterology Organization Working Party. Toward an improved definition of acute-on-chronic liver failure. *Gastroenterology*. 2014;147(1):4-10.
- [7] Borzio M, Salerno F, Piantoni L, Cazzaniga M, Angeli P, Bissoli F, et al. Bacterial infection in patients with advanced cirrhosis: a multicentre prospective study. *Dig Liver Dis*. 2001;33(1):41-8.
- [8] Tandon P, Garcia-Tsao G. Bacterial infections, sepsis and multiorgan failure in cirrhosis. *Semin Liver Dis*. 2008;28(1):26-42.
- [9] Thalheimer U, Triantos CK, Samonakis DN, Patch D, Burroughs AK. Infection, coagulation, and variceal bleeding in cirrhosis. *Gut*. 2005;54(4):556-63.
- [10] Garcia-Tsao G, Wiest R. Gut microflora in the pathogenesis of the complications of cirrhosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2004;18(2):353-72.
- [11] Jalan R, Fernandez J, Wiest R, Schnabl B, Moreau R, Angeli P, et al. Bacterial infections in cirrhosis: a position statement based on the EASL Special Conference 2013. *J Hepatol*. 2014;60(6):1310-24.
- [12] 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.
- [13] Foreman MG, Mannino DM, Moss M. Cirrhosis as a risk factor for sepsis and death: Analysis of the National Hospital Discharge Survey. *Chest*. 2003;124:1016–1020.
- [14] Dionigi E, Garcovich M, Borzio M, Leandro G, Majumdar A, Tsami A, et al. Bacterial Infections Change Natural History of Cirrhosis Irrespective of Liver Disease Severity. *Am J Gastroenterol*. 2017;112(4):588-596.
- [15] Nahon P, Lescat M, Layese R, Bourcier V, Talmat N, Allam S, et al.; ANRS CO12 CirVir and Microcir Groups. Bacterial infection in compensated viral cirrhosis impairs 5-year survival (ANRS CO12 CirVir prospective cohort). *Gut*. 2017;66(2):330-341.

-
- [16] Yoshida H, Hamada T, Inuzuka S, Ueno T, Sata M, Tanikawa K. Bacterial infection in cirrhosis, with and without hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol.* 1993;88(12):2067-71.
- [17] Caly WR, Strauss E. A prospective study of bacterial infections in patients with cirrhosis. *J Hepatol.* 1993;18(3):353-8.
- [18] Khan R, Abid S, Jafri W, Awan S, Hamid S, Shah H, Pervez S. Model for end-stage liver disease (MELD) score as a useful prognostic marker in cirrhotic patients with infection. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2009;19(11):694-8.
- [19] Bernard B, Grangé 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.* 1999;29(6):1655-61.
- [20] Chavez-Tapia NC, Barrientos-Gutierrez T, Tellez-Avila F, Soares-Weiser K, Mendez-Sanchez N, Gluud C, et al. Meta-analysis: antibiotic prophylaxis for cirrhotic patients with upper gastrointestinal bleeding - an updated Cochrane review. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;34(5):509-18.
- [21] Elkrief L, Rautou PE, Sarin S, Valla D, Paradis V, Moreau R. Diabetes mellitus in patients with cirrhosis: clinical implications and management. *Liver Int.* 2016;36(7):936-48.
- [22] Jalan R, Fernandez J, Wiest R, Schnabl B, Moreau R, Angeli P, et al. Bacterial infections in cirrhosis: a position statement based on the EASL Special Conference 2013. *J Hepatol.* 2014;60(6):1310-24.
- [23] Velkey B, Vitális E, Vitális Z. [Spontaneous bacterial peritonitis]. *Orv Hetil.* 2017;158(2):50-57.
- [24] Noor MT, Manoria P. Immune Dysfunction in Cirrhosis. *J Clin Transl Hepatol.* 2017;5(1):50-58.
- [25] Albillos A, Lario M, Álvarez-Mon M. Cirrhosis-associated immune dysfunction: distinctive features and clinical relevance. *J Hepatol.* 2014;61(6):1385-96.
- [26] Wiest R, Garcia-Tsao G. Bacterial translocation (BT) in cirrhosis. *Hepatology.* 2005;41(3):422-33.
- [27] Dever JB, Sheikh MY. Review article: spontaneous bacterial peritonitis--bacteriology, diagnosis, treatment, risk factors and prevention. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;41(11):1116-31.
- [28] Moreau R, Jalan R, Gines P, Pavesi M, Angeli P, Cordoba J, et al.; CANONIC Study Investigators of the EASL–CLIF Consortium. Acute-on-chronic liver failure is a distinct syndrome that develops in patients with acute decompensation of cirrhosis. *Gastroenterology.* 2013;144(7):1426-37.
- [29] Saab S, Hernandez JC, Chi AC, Tong MJ. Oral antibiotic prophylaxis reduces spontaneous bacterial peritonitis occurrence and improves short-term survival in cirrhosis: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2009;104(4):993-1001.
- [30] Albillos A, de la Hera A, González M, Moya JL, Calleja JL, Monserrat J, et al. Increased lipopolysaccharide binding protein in cirrhotic patients with marked immune and hemodynamic derangement. *Hepatology.* 2003;37(1):208-17.

-
- [31] Fernández J, Navasa M, Planas R, Montoliu S, Monfort D, Soriano G, et al. Primary prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis delays hepatorenal syndrome and improves survival in cirrhosis. *Gastroenterology*. 2007;133(3):818-24.
- [32] Singh N, Wagener MM, Gayowski T. Changing epidemiology and predictors of mortality in patients with spontaneous bacterial peritonitis at a liver transplant unit. *Clin Microbiol Infect*. 2003;9(6):531-7.
- [33] Fernández J, Navasa M, Planas R, Montoliu S, Monfort D, Soriano G, et al. Primary prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis delays hepatorenal syndrome and improves survival in cirrhosis. *Gastroenterology*. 2007;133(3):818-24.
- [34] Rosero O, Kovács T, Onody P, Harsányi L, Szijártó A. [Bacterial translocation: gap in the shield]. *Orv Hetil*. 2014;155(8):304-12.
- [35] Alexopoulou A, Agiasotelli D, Vasilieva LE, Dourakis SP. Bacterial translocation markers in liver cirrhosis. *Ann Gastroenterol*. 2017;30(5):486-497.
- [36] Papp M, Tornai T, Vitalis Z, Tornai I, Tornai D, Dinya T, et al. Presepsin teardown - pitfalls of biomarkers in the diagnosis and prognosis of bacterial infection in cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2016;22(41):9172-9185.
- [37] Papp M, Vitalis Z, Altörjay I, Tornai I, Udvardy M, Harsfalvi J, et al. Acute phase proteins in the diagnosis and prediction of cirrhosis associated bacterial infections. *Liver Int*. 2012;32(4):603-11.
- [38] Cervoni JP, Amorós À, Bañares R, Luis Montero J, Soriano G, Weil D, et al.; EASL-CLIF Consortium. Prognostic value of C-reactive protein in cirrhosis: external validation from the CANONIC cohort. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2016;28(9):1028-34.
- [39] Cervoni JP, Thévenot T, Weil D, Muel E, Barbot O, Sheppard F, et al. C-reactive protein predicts short-term mortality in patients with cirrhosis. *J Hepatol*. 2012;56(6):1299-304.
- [40] Lin RS, Lee FY, Lee SD, Tsai YT, Lin HC, Lu RH, et al. Endotoxemia in patients with chronic liver diseases: relationship to severity of liver diseases, presence of esophageal varices, and hyperdynamic circulation. *J Hepatol*. 1995;22(2):165-72.
- [41] Opal SM. The clinical relevance of endotoxin in human sepsis: a critical analysis. *J Endotoxin Res*. 2002;8(6):473-6.
- [42] Hanck C, Rossol S, Böcker U, Tokus M, Singer MV. Presence of plasma endotoxin is correlated with tumor necrosis factor receptor levels and disease activity in alcoholic cirrhosis. *Alcohol Alcohol*. 1998;33(6):606-8.
- [43] Fukui H, Brauner B, Bode JC, Bode C. Plasma endotoxin concentrations in patients with alcoholic and non-alcoholic liver disease: reevaluation with an improved chromogenic assay. *J Hepatol*. 1991;12(2):162-9.
- [44] Tobias PS, Soldau K, Gegner JA, Mintz D, Ulevitch RJ. Lipopolysaccharide binding protein-mediated complexation of lipopolysaccharide with soluble CD14. *J Biol Chem*. 1995;270(18):10482-8.

-
- [45] Albillos A, de la Hera A, González M, Moya JL, Calleja JL, Monserrat J, et al. Increased lipopolysaccharide binding protein in cirrhotic patients with marked immune and hemodynamic derangement. *Hepatology*. 2003;37(1):208-17.
- [46] Albillos A, de-la-Hera A, Alvarez-Mon M. Serum lipopolysaccharide-binding protein prediction of severe bacterial infection in cirrhotic patients with ascites. *Lancet*. 2004;363(9421):1608-10.
- [47] Agiasotelli D, Alexopoulou A, Vasilieva L, Hadziyannis E, Goukos D, Daikos GL, et al. High serum lipopolysaccharide binding protein is associated with increased mortality in patients with decompensated cirrhosis. *Liver Int*. 2017;37(4):576-582.
- [48] Reiberger T, Ferlitsch A, Payer BA, Mandorfer M, Heinisch BB, Hayden H, et al.; Vienna Hepatic Hemodynamic Lab. Non-selective betablocker therapy decreases intestinal permeability and serum levels of LBP and IL-6 in patients with cirrhosis. *J Hepatol*. 2013;58(5):911-21.
- [49] Bellot P, García-Pagán JC, Francés R, Abraldes JG, Navasa M, Pérez-Mateo M, et al. Bacterial DNA translocation is associated with systemic circulatory abnormalities and intrahepatic endothelial dysfunction in patients with cirrhosis. *Hepatology*. 2010;52(6):2044-52.
- [50] Homann C, Garred P, Graudal N, Hasselqvist P, Christiansen M, Fagerhol MK, et al. Plasma calprotectin: a new prognostic marker of survival in alcohol-induced cirrhosis. *Hepatology*. 1995;21(4):979-85.
- [51] Homann C, Christensen E, Schlichting P, Philipsen EK, Graudal NA, Garred P. Ascites fluid and plasma calprotectin concentrations in liver disease. *Scand J Gastroenterol*. 2003;38(4):415-20.
- [52] Burri E, Schulte F, Muser J, Meier R, Beglinger C. Measurement of calprotectin in ascitic fluid to identify elevated polymorphonuclear cell count. *World J Gastroenterol*. 2013;19(13):2028-36.
- [53] Lutz P, Pfarr K, Nischalke HD, Krämer B, Goeser F, Glässner A, et al. The ratio of calprotectin to total protein as a diagnostic and prognostic marker for spontaneous bacterial peritonitis in patients with liver cirrhosis and ascites. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(12):2031-9.
- [54] Alempijević T, Štulić M, Popovic D, Culafić D, Dragasevic S, Milosavljevic T. The role of fecal calprotectin in assessment of hepatic encephalopathy in patients with liver cirrhosis. *Acta Gastroenterol Belg*. 2014;77(3):302-5.
- [55] Gundling F, Schmidtler F, Hapfelmeier A, Schulte B, Schmidt T, Pehl C, et al. Fecal calprotectin is a useful screening parameter for hepatic encephalopathy and spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis. *Liver Int*. 2011;31(9):1406-15.
- [56] Guerra-Ruiz A, Casafont F, Cobo M, Terán A, de-la-Peña J, Estebanez A, et al. Increased bactericidal/permeability increasing protein in patients with cirrhosis. *Liver Int*. 2010;30(1):94-101.
- [57] Papp M, Foldi I, Altorjay I, Palyu E, Udvardy M, Tumpek J, et al. Anti-microbial antibodies in celiac disease: trick or treat? *World J Gastroenterol*. 2009;15(31):3891-900.
- [58] Lakatos PL, Papp M, Rieder F. Serologic antiglycan antibodies in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(3):406-12.

-
- [59] Mow WS, Vasilias 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.
- [60] Papp M, Altorjay I, Norman GL, Shums Z, Palatka K, Vitalis Z, et al.; Hungarian IBD Study Group. 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*. 2007;13(8):984-92.
- [61] Toumi D, Mankai A, Belhadj R, Ghedira-Besbes L, Jeddi M, Ghedira I. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in coeliac disease. *Scand J Gastroenterol*. 2007;42(7):821-6.
- [62] 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.
- [63] Hill PG, Holmes GK. Coeliac disease: a biopsy is not always necessary for diagnosis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;27(7):572-7.
- [64] Saitoh O, Sugi K, Lojima K, Matsumoto H, Nakagawa K, Kayazawa M, et al. Increased prevalence of intestinal inflammation in patients with liver cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 1999;5(5):391-396.
- [65] Lazzarotto C, Ronsoni MF, Fayad L, Nogueira CL, Bazzo ML, Narciso-Schiavon JL, et al. Acute phase proteins for the diagnosis of bacterial infection and prediction of mortality in acute complications of cirrhosis. *Ann Hepatol*. 2013;12(4):599-607.
- [66] Dinic-Radovic V, Nagorni A, Brzacki V, Ristic L, Radovic M. Importance of certain pro-inflammatory indices in patients with liver cirrhosis and bacterial infection on prognosis and course of the disease. *Med Arh*. 2012;66(1):19-23.
- [67] Ximenes RO, Farias AQ, Scalabrini Neto A, Diniz MA, Kubota GT, Ivo MM, et al. Patients with cirrhosis in the ED: early predictors of infection and mortality. *Am J Emerg Med*. 2016;34(1):25-9.
- [68] Kadam N, Acharya S, Shukla S, Gupta K. Ascitic Fluid High Sensitive C-Reactive Protein (hs-CRP). A Prognostic Marker in Cirrhosis with Spontaneous Bacterial Peritonitis. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(4): OC20-4.
- [69] Lazzarotto C, Ronsoni MF, Fayad L, Nogueira CL, Bazzo ML, Narciso-Schiavon JL, et al. Acute phase proteins for the diagnosis of bacterial infection and prediction of mortality in acute complications of cirrhosis. *Ann Hepatol*. 2013;12(4):599-607.
- [70] Connert S, Stremmel W, Elsing C. Procalcitonin is a valid marker of infection in decompensated cirrhosis. *Z Gastroenterol*. 2003;41(2):165-70.
- [71] Lesińska M, Hartleb M, Gutkowski K, Nowakowska-Duława E. Procalcitonin and macrophage inflammatory protein-1 beta (MIP-1β) in serum and peritoneal fluid of patients with decompensated cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis. *Adv Med Sci*. 2014;59(1):52-6.
- [72] Viallon A, Zeni F, Pouzet V, Lambert C, Quenet S, Aubert G, et al. Serum and ascitic procalcitonin levels in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis: diagnostic value and relationship to pro-inflammatory cytokines. *Intensive Care Med*. 2000;26(8):1082-8.

-
- [73] Bruns T, Reuken PA, Stengel S, Gerber L, Appenrodt B, Schade JH, et al. The prognostic significance of bacterial DNA in patients with decompensated cirrhosis and suspected infection. *Liver Int.* 2016;36(8):1133-42.
- [74] El-Naggar MM, Khalil el-SA, El-Daker MA, Salama MF. Bacterial DNA and its consequences in patients with cirrhosis and culture-negative, non-neutrocytic ascites. *J Med Microbiol.* 2008;57(Pt 12):1533-8.
- [75] Francés R, Zapater P, González-Navajas JM, Muñoz C, Caño R, Moreu R, et al. Bacterial DNA in patients with cirrhosis and noninfected ascites mimics the soluble immune response established in patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology.* 2008;47(3):978-85.
- [76] Zapater P, Francés R, González-Navajas JM, de la Hoz MA, Moreu R, Pascual S, et al. Serum and ascitic fluid bacterial DNA: a new independent prognostic factor in noninfected patients with cirrhosis. *Hepatology.* 2008;48(6):1924-31.
- [77] González-Navajas JM, Bellot P, Francés R, Zapater P, Muñoz C, García-Pagán JC, et al. Presence of bacterial-DNA in cirrhosis identifies a subgroup of patients with marked inflammatory response not related to endotoxin. *J Hepatol.* 2008;48(1):61-7.
- [78] Francés R, Muñoz C, Zapater P, Uceda F, Gascón I, Pascual S, et al. Bacterial DNA activates cell mediated immune response and nitric oxide overproduction in peritoneal macrophages from patients with cirrhosis and ascites. *Gut.* 2004;53(6):860-4.
- [79] Engelmann C, Krohn S, Prywerek D, Hartmann J, Herber A, Boehlig A, et al. Detection of molecular bacterascites in decompensated cirrhosis defines a risk with decreased survival. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2016;28(11):1285-92.
- [80] De Palma GD, Rega M, Masone S, Persico F, Siciliano S, Patrone F, et al. Mucosal abnormalities of the small bowel in patients with cirrhosis and portal hypertension: a capsule endoscopy study. *Gastrointest Endosc.* 2005;62(4):529-34.
- [81] Bhonchal S, Nain CK, Prasad KK, Nada R, Sharma AK, Sinha SK, et al. Functional and morphological alterations in small intestine mucosa of chronic alcoholics. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008;23(7 Pt 2):e43-8.
- [82] Walsham NE, Sherwood RA. Fecal calprotectin in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Gastroenterol.* 2016;9:21-9.
- [83] Yagmur E, Schnyder B, Scholten D, Schirin-Sokhan R, Koch A, Winograd R, et al. [Elevated concentrations of fecal calprotectin in patients with liver cirrhosis]. *Dtsch Med Wochenschr.* 2006;131(36):1930-4.
- [84] Salama MK, Sabry D, Al-Ghussein MA, Ahmed R, AbdAllah S, Taha FM, et al. Molecular detection of monocyte chemotactic protein-1 polymorphism in spontaneous bacterial peritonitis patients. *World J Gastroenterol.* 2014;20(33):11793-9.

-
- [85] Gäbele E, Mühlbauer M, Paulo H, Johann M, Meltzer C, Leidl F, et al. Analysis of monocyte chemotactic protein-1 gene polymorphism in patients with spontaneous bacterial peritonitis. *World J Gastroenterol.* 2009;15(44):5558-62.
- [86] Lutz P, Berger C, Langhans B, Grünhage F, Appenrodt B, Nattermann J, et al. A farnesoid X receptor polymorphism predisposes to spontaneous bacterial peritonitis. *Dig Liver Dis.* 2014;46(11):1047-50.
- [87] Bruns T, Peter J, Reuken PA, Grabe DH, Schuldes SR, Brenmoehl J, et al. NOD2 gene variants are a risk factor for culture-positive spontaneous bacterial peritonitis and monomicrobial bacterascites in cirrhosis. *Liver Int.* 2012;32(2):223-30.
- [88] Appenrodt B, Grünhage 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.* 2010;51(4):1327-33.
- [89] Nischalke HD, Berger C, Aldenhoff K, Thyssen L, Gentemann M, Grünhage 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. *J Hepatol.* 2011;55(5):1010-6.
- [90] Bruns T, Reuken PA, Fischer J, Berg T, Stallmach A. Further evidence for the relevance of TLR2 gene variants in spontaneous bacterial peritonitis. *J Hepatol.* 2012;56(5):1207-8.
- [91] Lutz P, Krämer B, Kaczmarek DJ, Hübner MP, Langhans B, Appenrodt B, et al. A variant in the nuclear dot protein 52kDa gene increases the risk for spontaneous bacterial peritonitis in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Dig Liver Dis.* 2016;48(1):62-8.
- [92] 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. *J Hepatol.* 2010;53(3):484-91.
- [93] Foldi I, Tornai T, Tornai D, Sipeki N, Vitalis Z, Tornai I, et al. Lectin-complement pathway molecules are decreased in patients with cirrhosis and constitute the risk of bacterial infections. *Liver Int.* 2017;37(7):1023-1031.
- [94] Worthley DL, Bardy PG, Gordon DL, Mullighan CG. Mannose-binding lectin and maladies of the bowel and liver. *World J Gastroenterol.* 2006;12(40):6420-8.
- [95] Endo Y, Matsushita M, Fujita T. New insights into the role of ficolins in the lectin pathway of innate immunity. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2015;316:49-110.
- [96] 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.* 2003;38(1):258-66.
- [97] 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.* 2002;35(3):716-21.

-
- [98] Grace ND, Grossmann RJ, Garcia-Tsao G, Burroughs AK, Pagliaro L, Makuch RW, et al. Portal hypertension and variceal bleeding: an AASLD single topic symposium. *Hepatology*. 1998;28(3):868-80.
- [99] Carey E, Carey WD. Noninvasive tests for liver disease, fibrosis, and cirrhosis: Is liver biopsy obsolete? *Cleve Clin J Med*. 2010;77(8):519-27.
- [100] Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg*. 1973;60(8):646-9.
- [101] Kamath PS, Kim WR; Advanced Liver Disease Study Group. The model for end-stage liver disease (MELD). *Hepatology*. 2007;45(3):797-805.
- [102] 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 Int*. 2012;32(4):603-11.
- [103] Cadranel JF, Denis J, Pauwels A, Barbare JC, Eugène C, di Martino V, et al. Prevalence and risk factors of bacteriuria in cirrhotic patients: a prospective case-control multicenter study in 244 patients. *J Hepatol*. 1999;31(3):464-8.
- [104] Fernández J, Navasa M, Gómez J, Colmenero J, Vila J, Arroyo V, et al. Bacterial infections in cirrhosis: epidemiological changes with invasive procedures and norfloxacin prophylaxis. *Hepatology*. 2002;35(1):140-8.
- [105] European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *J Hepatol*. 2010;53(3):397-417.
- [106] Mohan P, Ramu B, Bhaskar E, Venkataraman J. Prevalence and risk factors for bacterial skin infection and mortality in cirrhosis. *Ann Hepatol*. 2011;10(1):15-20.
- [107] Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 2005;353:1261-1273.
- [108] Martins EB, Chapman RW. Sclerosing cholangitis. *Curr Opin Gastroenterol*. 2001;17(5):458-62.
- [109] Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, et al. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol*. 1999;31(5):929-38.
- [110] Lennard-Jones JE. Classification of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 1989;170:2-6.
- [111] Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott ID, Bernstein CN, Brant SR, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol*. 2005;19 Suppl A:5A-36A.
- [112] Ferreiros-Vidal I, Garcia-Meijide J, Carreira P, Barros F, Carracedo A, Gomez-Reino JJ, et al. The three most common CARD15 mutations associated with Crohn's disease and the chromosome 16 susceptibility locus for systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2003;42(4):570-4.

-
- [113] Oh DY, Schumann RR, Hamann L, Neumann K, Worm M, Heine G. Association of the toll-like receptor 2 A-16934T promoter polymorphism with severe atopic dermatitis. *Allergy*. 2009;64(11):1608-15.
- [114] Hamann L, Hamprecht A, Gomma A, Schumann RR. Rapid and inexpensive real-time PCR for genotyping functional polymorphisms within the Toll-like receptor -2, -4, and -9 genes. *J Immunol Methods*. 2004;285(2):281-91.
- [115] Exome Aggregation Consortium. [Internet]. 2017; <http://exac.broadinstitute.org/variant/9-120475302-A-G>. Accessed August 3, 2017.
- [116] The Human Genomic Variant Search Engine [Internet]. 2017; <https://varsome.com/variant/hg19/rs4696480>. Accessed August 3, 2017.
- [117] Mai M, Stengel S, Al-Herwi E, Peter J, Schmidt C, Rubio I, et al. Genetic variants of TRAF6 modulate peritoneal immunity and the risk of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: A combined prospective-retrospective study. *Sci Rep*. 2017;7(1):4914.
- [118] Lutz P, Krämer B, Kaczmarek DJ, Hübner MP, Langhans B, Appenrodt B, et al. A variant in the nuclear dot protein 52kDa gene increases the risk for spontaneous bacterial peritonitis in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Dig Liver Dis*. 2016;48(1):62-8.
- [119] Jaskula E, Lange A, Kyrz-Krzemien S, Markiewicz M, Dzierzak-Mietla M, Jedrzejczak WW, et al.; Polish Donor-Recipient Matching Group. NOD2/CARD15 single nucleotide polymorphism 13 (3020insC) is associated with risk of sepsis and single nucleotide polymorphism 8 (2104C>T) with herpes viruses reactivation in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20(3):409-14.
- [120] Schnetzke U, Spies-Weissbart B, Yomade O, Fischer M, Rachow T, Schrenk K, et al. Polymorphisms of Toll-like receptors (TLR2 and TLR4) are associated with the risk of infectious complications in acute myeloid leukemia. *Genes Immun*. 2015;16(1):83-8.
- [121] Henckaerts L, Nielsen KR, Steffensen R, Van Steen K, Mathieu C, Giulietti A, et al. Polymorphisms in innate immunity genes predispose to bacteremia and death in the medical intensive care unit. *Crit Care Med*. 2009;37(1):192-201, e1-3.
- [122] Guarner-Argente C, Sánchez E, Vidal S, Román E, Concepción M, Poca M, Sánchez D, Juárez C, Soriano G, Guarner C. Toll-like receptor 4 D299G polymorphism and the incidence of infections in cirrhotic patients. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010;31(11):1192-9.
- [123] 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. *J Hepatol*. 2014;60(4):773-81.
- [124] Foley NM, Wang J, Redmond HP, Wang JH. Current knowledge and future directions of TLR and NOD signaling in sepsis. *Mil Med Res*. 2015;2:1.
- [125] Maeda S, Hsu LC, Liu H, Bankston LA, Limura M, Kagnoff MF, et al. Nod2 mutation in Crohn's disease potentiates NF-kappaB activity and IL-1beta processing. *Science*. 2005;307(5710):734-8.

-
- [126] Kosovac K, Brenmoehl J, Holler E, Falk W, Schoelmerich J, Hausmann M, et al. Association of the NOD2 genotype with bacterial translocation via altered cell-cell contacts in Crohn's disease patients. *Inflamm Bowel Dis*. 2010;16(8):1311-21.
- [127] Piñero P, Juanola O, Caparrós E, Zapater P, Giménez P, González-Navajas JM, et al. Toll-like receptor polymorphisms compromise the inflammatory response against bacterial antigen translocation in cirrhosis. *Sci Rep*. 2017;7:46425.
- [128] Harputluoglu MM, Dertli R, Otlu B, Demirel U, Yener O, Bilgic Y, et al. Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-Containing Protein 2 Variants in Patients with Spontaneous Bacterial Peritonitis. *Dig Dis Sci*. 2016 ;61(6):1545-52.
- [129] Bruns T, Reuken PA, Stengel S, Gerber L, Appenrodt B, Schade JH, et al. NOD2 Risk Variants and Pathological Bacterial Translocation in Decompensated Cirrhosis. *Dig Dis Sci*. 2016;61(7):2142-4.
- [130] Bruns T, Reuken PA, Stengel S, Gerber L, Appenrodt B, Schade JH, et al. The prognostic significance of bacterial DNA in patients with decompensated cirrhosis and suspected infection. *Liver Int*. 2016;36(8):1133-42.
- [131] Piñero P, Juanola O, Caparrós E, Zapater P, Giménez P, González-Navajas JM, et al. Toll-like receptor polymorphisms compromise the inflammatory response against bacterial antigen translocation in cirrhosis. *Sci Rep*. 2017;7:46425.
- [132] Muratori P, Muratori L, Guidi M, Maccariello S, Pappas G, Ferrari R, et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA) and autoimmune liver diseases. *Clin Exp Immunol*. 2003 J;132(3):473-6.
- [133] Reddy KR, Colombel JF, Poulain D, Krawitt EL. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in autoimmune liver disease. *Am J Gastroenterol*. 2001;96(1):252-3.
- [134] Sakly W, Jeddi M, Ghedira I. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in primary biliary cirrhosis. *Dig Dis Sci*. 2008;53(7):1983-7.
- [135] Papp M, Lakatos PL. Serological studies in inflammatory bowel disease: how important are they? *Curr Opin Gastroenterol*. 2014;30(4):359-64.
- [136] Papp M, Norman GL, Altorjay I, Lakatos PL. Utility of serological markers in inflammatory bowel diseases: gadget or magic? *World J Gastroenterol*. 2007;13(14):2028-36.
- [137] Mehta A, Loarca L, Long RE, Comunale M, Block TM. Discovery of an antibody in patients with liver disease that promotes bacterial growth and is associated with markers of endotoxin exposure. *AASLD MON-A*. 1089 p, 2009.
- [138] Pohl J, Ring A, Stremmel W, Stiehl A. The role of dominant stenoses in bacterial infections of bile ducts in primary sclerosing cholangitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2006;18(1):69-74.
- [139] Suzuki K, Fagarasan S. How host-bacterial interactions lead to IgA synthesis in the gut. *Trends Immunol*. 2008;29(11):523-31.

-
- [140] Corthésy B. Secretory immunoglobulin A: well beyond immune exclusion at mucosal surfaces. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2009;31(2):174-9.
- [141] Fagarasan S. Evolution, development, mechanism and function of IgA in the gut. *Curr Opin Immunol*. 2008;20(2):170-7.
- [142] Blaas SH, Stieber-Gunckel M, Falk W, Obermeier F, Rogler G. CpG-oligodeoxynucleotides stimulate immunoglobulin A secretion in intestinal mucosal B cells. *Clin Exp Immunol*. 2009;155(3):534-40.
- [143] Shalapour S, Lin XJ, Bastian IN, Brain J, Burt AD, Aksenov AA, et al. Inflammation-induced IgA+ Cells Dismantle Anti-Liver Cancer Immunity. *Nature*. 2017;551(7680):340-345.
- [144] Doi H, Hayashi E, Arai J, Tojo M, Morikawa K, Eguchi J, Ito T, Kanto T, Kaplan DE, Yoshida H. Enhanced B-cell differentiation driven by advanced cirrhosis resulting in hyperglobulinemia. *J Gastroenterol Hepatol*. 2018 Feb 10;10.1111/jgh.14123. doi: 10.1111/jgh.14123. Epub ahead of print.
- [145] Jhun JY, Kim HY, Byun JK, Chung BH, Bae SH, Yoon SK, Kim DG, Yang CW, Cho ML, Choi JY. B-cell-associated immune profiles in patients with decompensated cirrhosis. *Scand J Gastroenterol*. 2015 Jul;50(7):884-91. doi: 10.3109/00365521.2014.907335. Epub 2015 Apr 10.
- [146] Thapa M, Chinnadurai R, Velazquez VM, Tedesco D, Elrod E, Han JH, Sharma P, Ibegbu C, Gewirtz A, Anania F, Pulendran B, Suthar MS, Grakoui A. Liver fibrosis occurs through dysregulation of MyD88-dependent innate B-cell activity. *Hepatology*. 2015 Jun;61(6):2067-79. doi: 10.1002/hep.27761. Epub 2015 Mar 25.
- [147] Cardoso CC, Mاتيollo C, Pereira CHJ, Fonseca JS, Alves HEL, Silva OMD, Menegassi VS, Schiavon LL, Santos-Silva MC. B-cell compartment abnormalities are associated with ACLF and mortality in patients with liver cirrhosis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2021 Jul;45(4):101698. doi: 10.1016/j.clinre.2021.101698. Epub 2021 Apr 20.
- [148] Chang LY, Li Y, Kaplan DE. Endotoxemia contributes to CD27+ memory B-cell apoptosis via enhanced sensitivity to Fas ligation in patients with Cirrhosis. *Sci Rep*. 2016 Nov 18;6:36862.
- [149] Massonnet B, Delwail A, Ayrault JM, Chagneau-Derode C, Lecron JC, Silvain C. Increased immunoglobulin A in alcoholic liver cirrhosis: exploring the response of B cells to Toll-like receptor 9 activation. *Clin Exp Immunol*. 2009 Oct;158(1):115-24.
- [150] Matos LC, Batista P, Monteiro N, Ribeiro J, Cipriano MA, Henriques P, Girão F, Carvalho A. Lymphocyte subsets in alcoholic liver disease. *World J Hepatol*. 2013 Feb 27;5(2):46-55