

Haptoglobin polimorfizmus: a májcirrhosisban kialakuló bakteriális infekciók új rizikófaktorai

Tornai Dávid
DEOEC - Általános Orvosi Kar
III. évfolyam

Témavezető: Dr. Papp Mária
Egyetemi adjunktus
Debreceni EgyetemOEC
Belgyógyászati Intézet, Gasztroenterológiai Tanszék

Bírálatra való beküldéshez hozzájárulok:

Dr. Palatka Károly
egyetemi adjunktus

Prof. Dr. Boda Zoltán
intézetigazgató egyetemi tanár

Debrecen, 2011

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék	1
Absztrakt	2
Bevezetés	3
Betegek és módszerek.....	8
Eredmények	11
Megbeszélés	12
Köszönetnyilvánítás	15
Irodalomjegyzék	16
Függelékek	21

ABSZTRAKT

Háttér: A májcirrhosis az egyik leggyakoribb szerzett immundeficiens állapot. A bakteriális fertőzések a halálozás jelentős tényezői ezekben a betegekben. A haptoglobin (Hp) elsősorban a májban szintetizálódik. Az α -lánc 1-es és 2-es típusú alléljainak kodomináns kifejeződése 3 fenotípust eredményez, melyek biológiai szempontból jelentősen különböznek antioxidáns, immunmoduláns és scavenger tulajdonságaikban, és ezek alapján különböző hatást gyakorolhatnak a gyulladással járó betegségek lefolyására.

Betegek és módszerek: 336 különböző etiológiájú májcirrhotikus beteget vizsgáltunk és a kapott eredményeket 384 egészséges személy adataihoz viszonyítottuk. SDS-gélelektroforézissel határoztuk meg a Hp fenotípusokat, melyek egyértelműen tükrözték a genotípusokat is. Átlagosan 420 napos követéses vizsgálat során értékeltük az összefüggést a Hp fenotípusok és a klinikailag jelentős bakteriális infekciók kialakulása között.

Eredmények: A Hp fenotípusok megoszlása hasonló volt a beteg és a kontroll populációban (Hp1-1: 10,7% vs. 11,5%, Hp2-1:47,9% vs. 46,1% és Hp2-2:41,4% vs. 42,4%). Minden fenotípus esetén meghatároztuk a klinikailag jelentős bakteriális fertőzések előfordulási gyakoriságát (Hp1-1: 50,0%; Hp2-1:36,0% és Hp2-2:26,6%; $p=0,039$). Logisztikus regressziós analízis alapján a Hp1-1-es fenotípus ($p=0,015$; OR: 2,74; 95% CI: 1,22-6,13), a Child-Pugh stádium ($p=0,038$, OR: 1,40, 95% CI: 1,02-1,91) és a társbetegségek jelenléte ($p<0,001$, OR: 2,64, 95%CI: 1,63-4,27) az infekciók előfordulásának független kockázati tényezőinek bizonyultak. Cox regressziós analízissel a Hp1-1-es fenotípus ($p=0,014$), a Child-Pugh stádium ($p<0,001$) és a társbetegségek ($p=0,004$) szignifikáns összefüggést mutattak az első infekcióig eltelt idővel is.

Összegzés: A Hp polimorfizmus a klinikailag jelentős bakteriális fertőzések kialakulásának független prediktora volt és az első infekcióig eltelt időtartam független kockázati tényezőnek bizonyult. A fenotípus függő hatás oka vélhetően a szerkezeti és funkcionális eltérésekben keresendő.

BEVEZETÉS

A májcirrhosis és a fertőzések

A **májzsugor** a különböző etiológiájú krónikus májbetegségek végstádiuma. Népegészségügyi probléma szinte az egész világon. Magyarországon a legfontosabb etiológiai tényező az alkoholfogyasztás. Ha a májzsugor kialakult, már nincs lényeges különbség a lefolyásában a kiváltó októl függően. Enyhe formájában tünetmentes (kompenzált stádium), a szöveti átépülésen, a máj tapintási leletén kívül lényeges eltérést nem találunk. A folyamat előrehaladásával előtérbe kerülnek a máj funkcionális elégtelenségével és a portális hipertenzióval összefüggő tünetek, fizikális jelek (dekompenzált stádium). Ezek számszerű jellemzésére jól használható a Child-Pugh (Durand 2005) és a MELD (Kamath 2007) pont rendszer. Az utóbbi évtized kutatásai során egyre élesebben rajzolódik ki az infekciók szerepe a betegség lefolyásában.

A májzsugor a leggyakoribb szerzett immundeficiens állapot. A betegek fogékonyak a bakteriális fertőzésekre és azok súlyos formáinak kialakulására. Az infekciók súlyosbítják a májbetegséget: rontják a máj funkcionális működését, elősegítik a májbetegség szövödményeinek kialakulását (koagulációs zavar, hepatorenális szindróma, hepaticus encephalopathia, nyelőcső varixvérzés) és a mortalitás jelentős tényezői (Tandon 2008). Cirrhotikus betegek kórházi felvétele és kezelése során a betegek 32-34%-ában észleltek valamilyen fertőzést (Borzio 2001). Súlyosabb májbetegség (Child C stádium) (Yoshida 1993, Caly 1993), gasztrointesztinális vérzés (Bernard 1999) esetén gyakrabban alakul ki bakteriális infekció. Felső tápcsatornai vérzés miatti hospitalizáció során az infekciók előfordulási aránya 45%-ot elérheti (Bernard 1999). Fordítva is igaz, meggyőző adatok szólnak amellett, hogy fertőzés esetén négyszer nagyobb a veszélye a nyelőcső varixvérzés kialakulásának, nehezebben uralható a vérzések és magasabb az újravérzés kockázata is (Benavides 2003). A bakteriális infekció a varixrupturának tehát nem csak a következménye, de legalább részben a kiváltó oka is lehet (Thalheimer 2005). A fertőzés kialakulása önmagában is jelentős mértékben emeli a mortalitást. A fertőzéssel összefüggő halálozás több mint kétszerese azon cirrhotikus betegekének, akikben nem mutatható ki infekció (Borzio 2001, Caly 1993), a májzsugorban szenvedő betegek halálozásának 30-50%-áért tehető felelőssé a különféle infekciók. A már kialakult fertőzés kapcsán az előrehaladott májbetegséget, a

veseelégtelenség jelenlétét, és a hemodinamikai instabilitást egyértelműen rossz prognosztikai tényezőnek találták krónikus vírus hepatitis miatt kialakult májcirrrosisban (Khan 2009).

A legjellemzőbb kórokozók korábban a Gram-negatív baktériumok voltak, elsősorban a szokványos bélflóra tagjai, mely jelzi, hogy a leggyakoribb belépési kapu a fokozottan áteresztő bél. Az utóbbi időben a Gram-pozitív baktériumok előfordulási aránya jelentősen növekedett, részben az invazív diagnosztikus és terápiás beavatkozások következtében, részben a profilaktikus antibiotikum kezelések terjedése miatt. Napjainkban a két kórokozó csoport kb. 50-50%-ban okozza a cirrhotikus betegek bakteriális fertőzéseit (Fernández 2002, Campillo 2002). Figyelemreméltó az opportunisták gyakori megjelenése is (Vilstrup 2003).

A fertőzések az esetek mintegy felében tüneteizegényen vagy atípusos formában zajlanak (Borzio 2001). Az infekció egyetlen jele lehet a hepatikus encephalopathia, vagy a hepatorenális szindróma megjelenése. Cirrhotikus betegekben a hiperdinamias keringés miatt egyébként is alacsony a vérnyomás, ill. az ilyenkor többnyire jelenlévő encephalopathia légzésszám emelkedéssel jár, melyek miatt a sepsis felismerése szintén késik (Wong 2005).

Az infekcióknak tehát nagy jelentőségük van a májcirrhotikus betegek kezelése során. Tekintettel arra, hogy a mortalitást alapvetően meghatározzák megelőzésüknek kiemelt szerepe van. Tartós antibiotikum profilaxis bizonyítottan csökkenti az infekciók előfordulását, javítja a túlélést (Fernández 2007). Bár az adott betegcsoportban a túlélés javulásával kecsegtet, hosszútávon azonban számolni kell a rezisztens törzsek megjelenésével. Ezért nagyon fontos megtalálni azt a különösen veszélyeztetett betegcsoportot, amely az antibiotikumprofilaxisból biztosan profitál és elkerülni minden felesleges antibakteriális terápiát. A fertőzések kialakulásának eddig két reprodukálható, független kockázati tényezője ismert májcirrrosisban: a májbetegség súlyossága és a gasztrointesztinális vérzés (Soares-Weiser 2002). Munkacsoportunk nem rég megjelent tanulmányában bizonyította, hogy a mannóz-kötő lektin hiánya is hajlamosító tényező (Altörjay 2010). Új rizikófaktorok megismerése támpontot jelenthet a profilaxis tervezéséhez, és ezen keresztül lehetőséget nyújthat a fertőzés okozta halálozás csökkentésére.

Haptoglobin

A Hp legnagyobb mennyiségben a vérben keringő akut fázis fehérje. Különböző gyulladásos folyamatok kapcsán citokinek hatására (proinflammatorikus citokinek, interleukin (IL)-1, tumornekrózis faktor (TNF)- α , IL-6 és a glükokortikoidok) (Wassell 2000) expressziója fokozódik, vérszintje emelkedik az infekció kialakulását, úgy a szöveti károsodást követően 1-2 napon belül (Huntoon 2008). Gyulladásgátló és szöveti regenerációt támogató hatást tulajdonítanak neki (Huntoon 2008). A Hp legrégebben ismert funkciója a vörösvértestek sérülése kapcsán szabaddá vált, rendkívül reaktív, szövetkárosító hatású hemoglobin (Hb) megkötése. A szabad Hb-nak a keringésbe kerülve súlyos endotél károsító hatása van. A vaszkuláris tónus kialakításában jelentős szerepet játszó *nitrogén oxidot* (NO) megköti. Emellett a nitrogénoxid szintetáz (NOS) gátlásával az NO pótlását megakadályozza. Az NO csökkenés hatására lokális vazokonstrikció, trombocita aktiváció és aggregáció jön létre. A szabad Hb pro-oxidáns hatású molekula, oxidatív és peroxidatív reakciókat katalizál, oxigéngyökök képződéséhez vezet. Fenton reakción ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}$) keresztül (Sadrzadeh 1984), a hem gyűrűben lévő ferro vas (II) hidroxil gyökök képződését provokálja. Ezek endotél- és szövetkárosító hatásuk. A Hb szabaddá válása fiziológias folyamat, mely bekövetkezhet az előregedett vörösvértestek destruálódása kapcsán, vagy az eritroblasztok denukleálódásakor. Bizonyos patológias folyamatok során (autoimmun betegségek, gyulladások, fertőzések) jelentősebb mértékűvé válhat a hemolízis (Polticelli 2008). A szabad Hb megkötésén, hatástalanításán keresztül a Hp-nak jelentős antioxidáns szerepe van. Ezen kívül a kialakuló komplex túl nagy ahhoz, hogy a vesén át filtrálódjon, így a hemolízist követő vasvesztés minimálisra csökken. A Hb-Hp kapcsolódás erős és irreverzibilis (McCromick 1990). A kötődést követően a Hb oxidáns hatása jelentősen mérséklődik, de teljesen nem szűnik meg, emiatt a komplex eltávolítása, clearance fontos (Rother 2005). Receptoraihoz történő kapcsolódást követően felvételre kerül a sejtekbe, ahol lebomlik.

A Hp termelődésének fő helye a máj, legnagyobb mennyiségben a keringésben, a limfában található, kisebb mennyiségben azonban jelen van az extravaszkuláris térben. Ide valószínűleg egyrészt az érfalon át történő migráció során jut ki az érpályából, másrészt a monociták és a granulociták a vérből felveszik, granulumaikban raktározzák, majd TNF- α hatására szekretálják azokat a gyulladás helyén (Arredouain 2005). Bizonyítható azonban, hogy ezek a sejtek a Hp de novo szintézisére is képesek. A hepatikus és nem hepatikus forma között, glikolizációs különbség van. Az extrahepatikus formát a vérből nem sikerült kimutatni, így feltételezhető, hogy ezek a gyulladás helyén kis mennyiségben felszabadulva

autokrin és parakrin módon hatva a gyulladásos és immunválasz lokális szabályozásában vesznek részt (Huntoon 2008).

A vérben keringő Hb-Hp eltávolítása 90 %-ban a májsejtek felszínén található nem pontosan definiált receptorokhoz kapcsolódva történik (Asleh 2005). A másik jelentős Hb-Hp receptor a Retikuloendotéliális rendszer (RES) sejtjein, a monocitákon, makrofágokon lévő CD163 receptor, valamint a granulociták, természetes ölő sejtek (NK) és a limfociták egy részének a felszínén elhelyezkedő CD11b. A B sejtek felszínén lévő CD22-höz is kötődik (Huntoon 2008).

A CD163 sejt felszíni glikoprotein receptor, mely a membránon keresztül kis farki régióval a citoplazmába lóg. A Hb-Hp komplex endocitotikus receptora, de jóval kisebb aktivitás mellett a szabad Hb-t és Hp-t is képes megkötni. Nagy számban található a lép vörös pulpájában, a máj RES sejtjeinek felszínén. A CD163 ezen kívül bakteriális szenzorként működve a lokális immunválasz elindításában játszik szerepet, az infekció lecsengő szakaszában a citokin termelés mérséklése révén szabályzó funkciója van (Fabriek 2009).

Az érpályán kívül található Hb-Hp a CD163 receptorokhoz kötődve eliminálódik. Endocitózis útján a lizoszómákba kerül, itt a komplex felbomlik, a hem leválik, a fehérje láncok lebomlanak. A hemoxidáz-1 enzim hatására a hem molekula szénmonoxiddá (CO), biliverdinné és ferro vas(II)-sá alakul. A CO vazodilatátor, anti-proliferatív, anti-inflammatorikus és antioxidáns tulajdonságú, mely révén ellensúlyozni tudja a szabad Hb NO scavenger, vasoconstrictiv, proliferatív, inflammatorikus és pro-oxidáns tulajdonságát (Moestrup 2004, Zuwala-Jagiello 2006). A biliverdin és az azt bilirubinná alakító biliverdin reduktáz szintén antioxidáns hatású. A felszabaduló ferritin pedig azonnal megköti a ferro vas(II)-t (Ryter 2002, **1. ábra**) A Hp szintén lebomlik. A Hb-Hp és a CD163 kötődését követően a makrofágból IL-6, IL-10 és TNF- α is felszabadul. A pro és anti-inflammatorikus citokinek indukciója azonban nem egyforma erős. Az IL-6 és IL-10 kb. 100x-os, még a TNF- α csupán 2-3x-os emelkedést jelent, így összességében a folyamat a gyulladásgátlás irányába tolódik (Guetta 2007). Ha szabad Hb kötődik a CD163-hoz, csak a TNF- α indukálódik, az anti-inflammatorikus citokinek nem. A CD163 expressziója a sérülés, gyulladás gyógyuló szakaszában, illetve a szövetgyógyulás idején a legmagasabb. A gyulladás során az IL-6, IL-10 és a glükokortikoidok hatására nemcsak a keringésben lévő monocitákon, hanem az érintett szövetek makrofágjain is fokozódik a CD163 receptor expressziója. Ugyanakkor a klasszikus makrofág-aktivációban szerepet játszó citokinek (interferon [INF]- γ , TNF- α) illetőleg a lipopoliszacharidok (LPS) csökkentik a CD163 receptor expresszióját (Moestrup

2004). Az alternatív úton aktivált, CD163+ makrofágok egy rendkívül heterogén csoportot jelentenek, melyek a különböző stimulusokra sokrétű, ugyanakkor testreszabott módon képesek válaszolni. Kulcsszerepük van mind az akut, mind pedig a krónikus gyulladásos folyamatok mérséklésében, a tolerancia indukcióban és a szöveti regenerációban (Langlois 1997).

A Hb-Hp *CD11b*- és a *CD22*-receptorokhoz való kötődésének inkább szabályzó funkciója van, a komplex eltakarítása szempontjából a jelentősége kisebb (Huntoon 2008). *CD22* receptorhoz kötődve a Hp blokkolja az NK és limfocita sejtek az endotélhez való kapcsolódását (Arredouani 2005), csökkenti a LPS indukálta T és B limfocita proliferációt (Arredouani 2005) és funkciót (Huntoon 2008). Ez által immunmoduláns hatása van, az optimális immunválasz kialakításáért felelős.

A Hb megkötése révén az arachidonsav oxidációjához szükséges hem vegyületek eltávolításra kerülnek, így a Hp gátolja a *prostaglandin szintézist*, melynek további anti-inflammatorikus hatása van (Jue 1983). Ezen kívül a Hp aktiválja az endotélialis sejtek növekedését és differenciálódását, új erek kialakulását serkenti. *Angiogenetikus* hatása van (Kleijn 2002). *Chaperon* aktivitása révén a megváltozott struktúrájú fehérjékhez kapcsolódva segíti azok eltávolítását (Wyatt 2009).

A Hp-nak tehát a gyulladást, szöveti károsodást követő regenerációban a homeosztázis helyreállításában van szerepe.

A Hp egy α -2 glikoprotein, a monomer két α és két meglehetősen konzervatív β fehérjeláncból áll. Az α -lánc exonjának két gyakori allélja van. Az ősből Hp1-es típus egyetlen kötőhellyel bír, mellyel egy másik monomerhez kapcsolódni képes. A Hp2 valószínűleg egy génszakasz duplikációja során jött létre, két monomer kötő hellyel rendelkezik (Carter 2007). Mivel a fehérje mindkét 16. kromoszómáról kodomináns módon átírásra kerül, 3 különböző fenotípus alakulhat ki, mely megegyezik a genotípussal. A Hp1-1 kis dimereket képez, a Hp2-1 hosszabb rövidebb egyenes láncok kialakulásához vezet, míg a Hp2-2-es genotípus esetén minimum 3 monomerből álló, de inkább nagyobb ciklikus polimerek keletkeznek (Langlois 2006, **2. ábra**). A strukturális különbség funkcionális eltérésekhez vezet. Általában elmondható, hogy a Hp1-1-s fenotípus majdnem minden tulajdonságában erősebb. A Hb-Hp1-1 komplex gyorsabban eliminálódik a keringésből és az extravaszkuláris térből (Asleh 2003), annak ellenére, hogy a Hb-Hp2-2 nagyobb affinitással kötődik receptoraihoz (Asleh 2005).

Hb-Hp2-2 komplexben lévő vas a leginkább elérhető a környezet számára, melynek következtében fokozott kelátképződési hajlam és kifejezettebb redoxaktivitás jellemzi a Hp1-1-Hb komplexben lévő vashoz képest. Ez az ún. labilis plazma vas (LPI) felelős a Hp2-2-Hb komplex esetén kimutatható fokozott szabadgyök képződésért (Asleh 2005). A Hp1-1 erősebben gátolja a proszttaglandin szintézist (Langlois 2006). Viszont a Hp2-2 erősebb angiogenetikus hatással bír, mint a Hp1-1 (Cid 1993). A heterozigóták valószínűleg intermedier tulajdonságúak, de kevés ezzel kapcsolatos vizsgálat történt.

Az antibakteriális hatást tekintve is különbség van az egyes fenotípusok között. Sok kórokozónak vasra van szüksége alapvető anyagcsere folyamataihoz, melyet a Hb-Hp komplex bekebelezése útján vesz fel. A polimer szerkezetű Hp2-2-s fenotípus ezt lehetetlenné teszi, így akadályozza a baktérium szaporodását (Prokop 1979). Ráadásul a multimer szerkezetű Hp2-2 több baktériumkötő hellyel rendelkezve agglutinálja azokat, tovább gátolva szaporodásukat (Delanghe 1998). Ezt a jelenséget *Streptococcus*-szal végzett vizsgálatok során igazolták, de feltételezhető, hogy a Hp2-2 egyéb kórokozók esetén is hasonlóan viselkedik. Ez által a polimer formák egy természetes védelmet jelentenek számos kórokozóval szemben (Delanghe 1998).

A CD 163 receptorhoz történő kapcsolódást követő citokinindukció is különbözik a Hp1-1 a Hp2-2-es fenotípus esetén. Kimutatták erős IL-6 és IL-10 felszabadulást okozó hatását, és gyengébb TNF- α indukáló hatását. Ezen tulajdonságában is erősebb a Hp1-1 fenotípus, de míg az IL-6 és IL-10 termelődését 5-10x erősebben fokozza, addig a TNF- α indukciós képessége csak 2-3x olyan erős, mint a Hp2-2 fenotípusé. Így a Hp1-1 esetén az immunválasz Th2 irányba tolódik, még Hp2-2 esetén erőteljesebb lesz a Th1 válasz (Guetta 2007).

BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

Betegek kiválasztása

2006. május - 2008. április között a DEOEC II. Belklinika Gasztroenterológiai Tanszékén gondozott 336 különböző etiológiájú májcirrhotikus betegtől (férfi/nő: 188/148, kor: $56,5 \pm 10,8$ év) történt mintavétel. A klinikai adatokat az **1. táblázatban** összegeztük. Betegeink között 219 esetben (65,2%) az alkoholfogyasztás volt az etiológiai tényező, 97 betegünknek (28,9%) C-virus hepatitis talaján alakult ki a májsugor, 20-nak (5,9%) egyéb ok miatt. A májsugor diagnózisát a klinikai a biokémiai és az ultrahangos leletek, illetve ahol elérető volt, a májbiopszia eredménye alapján állítottuk fel. Pozitív klinikai jelnek tekintettük

a sárgaságot, erithema palmare-t, a szőrzetvesztést, férfiaknál a nőies szőrzet, a gynecomastia kialakulását, a csillagnévusok jelenlétét, az ascitest, az izomatrófiát, az encephalopathiat. Biokémiai pozitivitást jelentett a csökkent vérlemezke-szám, fehérvérsejt-szám, anémia, megnyúlt protrombin idő, emelkedett bilirubin szint, és májenzimek, csökkent koleszterin, albumin és kolinészteráz értékek. Ultrahang vizsgálat során a fokozott echogenitás, a noduláris felszín, a nagyobb lép, atrofizált jobb és hipertrofizált bal lebeny (Carey 2010), valamint a duplex technika során látott portális kollaterálisok szóltak májcirrrosis mellett. Felső panendoszkópia során ellenőriztük a nyelőcső varixok jelenlétét, állapotát, az esetleges portális gasztropátia jelenlétét (Escorsell 2001). Azokban az esetekben, ahol ezek alapján nem volt egyértelmű a diagnózis, májbiopszia történt (összesen 104 betegben). Alkoholos májzsugorban szenvedő betegeink alkohol fogyasztása meghaladta a napi 60 g-ot. A tanulmányba való beválasztás szempontjából kizáró kritériumnak tekintettük, ha a betegnek a megelőző 6 hétben gasztrointesztinális vérzése, vagy bakteriális infekciója volt, vagy profilaktikus antibiotikum terápiában részesült a megelőző 6 hónap alatt. A következő beteg adatokat rögzítettük: életkor, életkor a betegség felismerése idején, etiológia, a cirrhosis súlyossága, ascites megléte, foka, nyelőcső varikozitás és annak mértéke, megelőző varixvérzés(ek), társbetegségek jelenléte.

Társbetegségként figyelembe vettük a megelőző szívinfarktust, pangásos szívelégtelenséget, perifériás artériás érbetegséget, cerebrovaszkuláris betegséget, krónikus tüdőbetegséget, krónikus veseelégtelenséget, fekélybetegséget, diabetes mellitust és nem metasztatizáló, valamint metasztatizáló malignus daganatokat, ideértve a hepatocelluláris carcinoma-t is. A májcirrrosis súlyosságát a Child-Pugh klasszifikáció (Durand 2005), és a MELD pontrendszer (Kamath 2007) alapján számítottuk ki. A bevont betegeket 2009. április 1-ig vagy a halálukig követtük. Az átlagos követési idő 420 nap volt (IQR: 88-742). Ez alatt rögzítettük a klinikailag jelentős bakteriális infekciók előfordulását. Klinikailag jelentősnek akkor tekintettük a fertőzést, ha a beteg általános állapota, a májfunkció romlása, vagy szövődmények (encephalopathia, varixvérzés, hepatorenalis szindróma) kialakulása miatt kórházi felvételt igényelt. A követési időszak alatt betegeink profilaktikus antibiotikum kezelést nem kaptak.

Az infekciós epizódok értékelése során figyelembe vettük a fertőzésre utaló klinikai tüneteket, láz jelenlétét, gyulladásos laboratóriumi eredményeket, tenyésztési eredményeket (ha rendelkezésre álltak), valamint a képalkotó vizsgálatok eredményeit. A betegek halála (n=108) esetén a boncjegyzőkönyvek is áttekintésre kerültek. A bőr- és lágyrész, a szájüregi,

a felső és alsó légúti (akut bronchitis, pneumonia), az epeúti (cholangitis, cholecystitis, májtályog), a bél- (gastroenteritis), a húgyúti (cystitis, pyelonephritis) infekciók, az osteomyelitis és az endocarditis diagnózisának felállítása a konvencionális kritériumok alapján történt. Spontán bakteriális peritonitist akkor véleményeztünk, ha a hasüregben infekcióforrás nem volt észlelhető, de az ascites folyadékban a polimorfonukleáris leukocita szám nagyobb volt, mint $250/\text{mm}^3$, függetlenül attól, hogy volt-e pozitív ascites-tenyésztési eredmény.

A kontrollcsoport 384 korban és nemi megoszlásban a betegektől nem különböző (ffí/nő: 192/192, kor: $52,5 \pm 10,2$ év) egészséges emberből állt, akiknek sem gasztroenterológiai, sem májbetegségük nem volt.

Haptoglobin fenotípus analízis

A Hp gén mindkét 16. kromoszómáról egyaránt átírásra kerül, így α a szérumból meghatározható fenotípusok pontosan tükrözik a genotípust (Koch 2002, Wiest 2005). A meghatározás gélelektroforézissel lehetséges. A különböző betegcsoportok és kontroll egyének esetén a szérum mintákból történő Hp fenotípus meghatározáshoz a Yang és mtsai által ismertetett módszert használtuk laboratóriumunk által bevezetett módosítással (Papp 2007): nátrium-dodecil-szulfát poliakrilamid 5-10%-os lineáris gradiens gél elektroforézist (SDS-PAGE) követően polivinilidén-difluorid (PVDF) immobilion-P transfer membránra (Millipore, Bedford, MA) elektrotranszferrel átvittük (blottoltuk) a fehérjét. A detektálást Hp ellenes antitest (1:1000) (Polyclonal Rabbit Anti-Human Haptoglobin [Dako, Glostrup, Denmark]) és peroxidáz jelzett második antitest (1:2000) (Goat Anti-Rabbit-HRP, Dako), valamint diaminobenzidin [DAB] oldatok felhasználásával végeztük. A fenotípusokat minden vizsgálat során 1-1 és 2-2 típusú gyári Hp standardok (Sigma-Aldrich, Schnelldorf, Germany) segítségével állapítottuk meg.

A különböző Hp fenotípusok elektroforetikus mobilitásuk és sávmintázatuk alapján könnyen elkülöníthetőek (**3.ábra**).

Statisztikai analízis

A Hp polimorfizmus vizsgálatok esetén a normalitás vizsgálatot Shapiro Wilk's W teszt segítségével végeztük. A különböző beteg és kontroll csoportok, valamint az adott betegség esetén az alcsoportok adatainak összehasonlítására T-próbát különböző varianciájú

csoportokra, Fischer-exact-tesztet, illetőleg χ^2 -próbát alkalmaztunk helyenként Yates-korrekciónal.

A folyamatos változókat eloszlástól függően átlagértékkel jellemeztük, megadva a standard deviációt (SD), vagy kvartilisekre bontva azok mediánját adtuk meg (IQR). A folyamatos változókat Mann-Whitney U teszt vagy Student T teszt segítségével vetettük össze, Kaplan-Meier túlélési görbén ábrázoltuk és a különbségeket LogRank és Breslow analíziseket alkalmazva hasonlítottuk össze. Logisztikus regressziós és lépcsőzetes Cox-regressziós analíziseket alkalmazva vizsgáltuk meg az esetleges összefüggéseket a klinikai és laboratóriumi értékek valamint a klinikailag szignifikáns bakteriális infekciók kialakulásának kockázata illetőleg az első infekcióig eltelt időhossz között. Az esélyhányadost (odds ratiót [OR]) határoztunk meg 95% konfidencia intervallummal (95% KI). A $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikánsnak. Az adatokat SPSS13.0 programmal (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) értékeltük.

EREDMÉNYEK

Haptoglobin polimorfizmus vizsgálata

A Hp fenotípusának és genotípusának megoszlását vizsgáltuk egy nagy magyar májcirrhosisos betegpopulációban. A cirrhosisos betegek Hp fenotípus megoszlása megegyezett az egészségesben talált arányokkal. **(2.táblázat)** Az értékek a Hardy-Weinberg szerint számított egyensúlynak megfeleltek, az eltérő csoportok nem különböztek kor és nemek szerinti megoszlásban.

A vizsgált 336 cirrhosisos betegben összesen 248 infekciós epizódot észleltünk a hospitalizációk során. A betegeknek 33,6%-ban fordult elő valamilyen fertőzés a követési idő alatt **(1.táblázat)**, és ezen betegek 54,9%-ában több mint egy fertőzőes epizód zajlott. Az infekciók 32,5%-a húgyúti fertőzés volt, 20,4%-ban SBP, 15,5%-ban pneumonia, 8,7%-ban bőr vagy lágyrész infekciók, 3,4%-ban bakteriémia, 2,4%-ban epeúti fertőzés, 0,5%-ban osteomyelitis volt igazolható. A fertőzés lokalizációját 16,5%-ban nem tudtuk meghatározni.

Pozitív tenyésztési eredmény 138 esetben állt rendelkezésre, ami a fertőzőes epizódok 55,6%-t jelentette. A kórokozók 57,2%-ban Gam-negatív, 42,8%-ban Gram-pozitív baktériumok voltak, gyakoriságuk sorrendjében a következők: *Escherichia coli* (23,2%), *Enterococcus faecalis* (15,9%), *Klebsiella pneumoniae* (15,2%), *Pseudomonas aeruginosa*

(13,8%), *Staphylococcus aureus* (11,6%), *Streptococcus pneumoniae* (8,7%), *Proteus mirabilis* (2,9%), *Staphylococcus epidermis* (1,4%), egyéb (7,2%).

Nem találtunk különbséget a kórokozókat és az infekciók lokalizációit tekintve az egyes Hp fenotípusok között (az adatokat nem mutatjuk). Nem különbözött a nemek megoszlása, sem a cirrhosis súlyossága, sem a társbetegségek előfordulása fenotípustól függően, a csoportokon belül az átlagéletkor is hasonlóan bizonyult. **(3.táblázat)**

Univariációs analízist (χ^2 -teszt vagy χ^2 -teszt Yates szerinti korrekcióval) alkalmazva a klinikai tényezők közül a májzsugor Child-Pugh stádium alapján jellemzett súlyossága ($p=0,035$), az ascites jelenléte (OR: 2,45; 95% CI: 1,52-4,00; $p<0,001$) és a társbetegségek (OR: 2,70; 95% CI: 1,70-4,30; $p<0,001$) bizonyultak a klinikailag szignifikáns bakteriális fertőzések kialakulásában kockázati tényezőknek.

A Hp fenotípus szoros összefüggést mutatott a bakteriális infekciók megjelenésének gyakoriságával. **(3.táblázat)** Univariációs analízis alapján (χ^2 -teszt Yates szerinti korrekcióval) az Hp1-1-s fenotípusú betegekben szignifikánsan gyakrabban fordultak elő fertőzések, mint egyéb fenotípusok esetén (OR_{Hp1-1 vs. egyéb}: 2,16; 95% CI: 1,07-4,33). Nem találtunk összefüggést a Hp koncentráció kvartilisek és az infekciók kialakulása között. **(4.táblázat)**

Logisztikus regressziós analízissel a betegség Child-Pugh stádium szerinti súlyossága, a társbetegségek és a Hp fenotípus az infekciók kialakulásának független kockázati tényezőinek bizonyultak. **(5.táblázat)**

Kaplan-Meier túlélési görbén ábrázolva Breslow és LogRank tesztet alkalmazva a Child-Pugh stádium, az ascites jelenléte és a társbetegségek mutattak összefüggést az első klinikailag jelentős infekció megjelenéséig eltelt idővel. Hp1-1-s fenotípusú betegek esetén az első fertőzés kialakulásáig eltelt idő rövidebb volt, mint Hp2-2-s fenotípus esetén (median, 492 vs. 965 nap; HR: 2,31 95% CI: 1,86-4,51, $p_{\text{Breslow}}=0,014$ és $p_{\text{LogRank}}=0,017$).

Cox-regresszióval a Child-Pugh C ($p<0,001$) stádium, a társbetegségek jelenléte ($p=0,004$) és a Hp1-1-s fenotípus ($p=0,014$) bizonyultak független tényezőknek az első infekció korábbi kialakulásában. **(6.táblázat)**

MEGBESZÉLÉS

Májcirrhotikus betegekben a bakteriális infekciók kialakulásának lehetséges további kockázati tényezőit kerestük a korábbi ismert előrehaladott májbetegség és

gasztrointesztinális vérzések provokáló szerepe mellett. Ennek jelentősége nem egyszerűen abban áll, hogy a legveszélyeztetettebb csoport kiválasztása, szorosabb követése, illetve profilaktikus antibiotikum terápiája révén javíthatjuk a mortalitási mutatókat, de további betekintést enged a bakteriális infekciókkal szembeni védekező folyamatok részleteibe, lehetővé teszi az egyes részfolyamatok klinikai jelentőségének feltárását is.

A Hp molekulát választottuk ki, melynek az alap kutatások eredményei alapján a bakteriális infekciók kialakulásában szerepe lehet. Nem volt különböző az egyes Hp fenotípusok gyakorisága a májcirrhosisos betegek és az egészséges egyének között. A Hp polimorfizmus tehát a májsugor kialakulásában nem játszik szerepet.

Követéses vizsgálat során felmértük májsugorban szenvedő betegeink bakteriális infekcióra való hajlamát (az első infekcióig eltelt idő, az infekciók gyakorisága), és annak összefüggését értékeltük különböző klinikai jellemzőkkel, valamint a Hp polimorfizmussal.

A korábbi tanulmányokkal egybeesően a mi vizsgálatunkban is megerősíthető volt, hogy az előrehaladott májbetegség (Child-Pugh C stádium) a kialakuló bakteriális fertőzések fontos meghatározó tényezője (Yoshida 1993, Caly 1993).

Multivariációs analízis során súlyos társbetegség jelenléte is az infekciós epizódok független rizikó faktorának bizonyult. Erre egyértelmű korábbi adat tudomásunk szerint nincsen.

Eredményeink alapján az ascites jelenléte esetén is nagyobb valószínűséggel fordult elő fertőzés.

Ennek egyik oka, hogy a hasúri folyadék jelenléte súlyosabb májbetegséget jelent. Emellett kísérletek bizonyítják, hogy ascites jelenléte esetén a BT jelentősebb mértékű (Garcia-Tsao 1995). A hasúri folyadék jelenléte multivariációs analízis során azonban nem bizonyult független kockázati tényezőnek.

Tekintve, hogy a Hp molekula fenotípus függő módon befolyásolja a „veszületett” és „szerzett” immunválaszt, azt feltételeztük, hogy befolyással lehet az infekciók kialakulására májcirrhosisos betegekben. A követéses vizsgálat során azt találtuk, hogy a három Hp fenotípus különböző módon befolyásolja a fertőzések előfordulását. Munkánk első részének legfontosabb új eredménye volt, hogy az Hp I-I-es fenotípus a bakteriális infekciók független kockázati tényezője májsugor esetén. A fertőzés ezekben a betegekben több alkalommal és rövidebb észlelési időn belül jelentkezett. Ismereteink szerint ez az első olyan klinikai vizsgálat, mely a Hp polimorfizmus szerepét igazolja ebben a vonatkozásban. Mindössze egy olyan kis tanulmány jelent meg, ahol az életet veszélyeztető *Staphylococcus* infekció előfordulását Hp I-I-es fenotípus esetén gyakoribbnak találták (Wasserzug 2007) egészséges

katonákban. Valószínű, hogy a mutációt követően kialakult Hp2-es allél gyors elterjedését az magyarázza, hogy szelektív előnyt biztosít a behatoló kórokozókkal szembeni rezisztencia révén (Bowman 1982). A molekulaszervezetéből adódóan gátolja a bakteriális vASFelvételt, agglutinálja a kórokozó sejteket. A Hp1-1 kevésbé serkenti a B és CD4-T limfocitákat a keringésben (Langlois 1997) és erősebben gátolja a proszttaglandin szintézist (Saeed 2007). A Th1 válasz szükséges a patogének megfelelő eliminálásához (Couper 2008), a Th2 válasz a gyulladásos folyamat lecsengéséhez, a szöveti gyógyuláshoz nélkülözhetetlen. A mutációt követően kialakult Hp2-2 a Th2 válasz gyengébb induktoraként az immunválaszt Th1 irányba tolja, ami a bakteriális infekciókkal szembeni védekezést kedvezően befolyásolja, de pl. a diabeteses érszövödmények kialakulásának szempontjából hátrányos következményekkel jár (Asleh 2005). A fenotípusok között lévő funkcionális különbségek magyarázzák az infekcióra való fokozott fogékonyságot Hp1-1 fenotípusú cirrhotikus betegeinkben.

A T sejt válasz egyensúlyának különös jelentősége lehet lokálisan az extravaszkuláris térben. A Hp szignifikáns lokális szerepére utal, hogy a legkülönbözőbb testfolyadékokban megtalálták, pl. az ascitesben is (Elg 1993). Felszabadul a granulocitákból a gyulladás helyén (Theilgaard 2006), meghatározott stimulusokra különböző szövetekben expresszálódik (Yang 1995, Harvey 2009). A Gasztroenterológia Tanszék kutatócsoportja azt találta, hogy a haptoglobin mRNS fokozott mennyiségben van jelen különböző vékony- és vastagbélgyulladásban szenvedő betegek bélbiopsziás mintáiban (nem közölt adat). Cirrhotisban ismert a vékonybél gyulladásos állapota (Norman 2008), mely hozzájárul a bakteriális transzlokáció fokozódásához. Feltételezhető, hogy a Hp2-2 fenotípus lokálisan egy erőteljesebb védelmi vonalat hozva létre akadályozza a fertőzések szisztémássá válását.

Az első vérvételkor vett mintákban a Hp koncentrációja széles határok között változott. Mivel egy akut fázis fehérjéről van szó, melynek legfontosabb induktorai az infekciók és a szöveti sérülés, csak azokat a betegeket választottuk be, akiknek a CRP-je normális volt, infekcióra utaló jelük nem volt, közelmúltban nyelőcső varixvérzés nem zajlott. A koncentrációk között észlelt nagy különbségeket az magyarázhatja, hogy a molekula vérszintjét számos tényező befolyásolja. Kissé változik fenotípustól függően, legalacsonyabb a Hp2-1 esetén (van Rijn 1987). Befolyásolja a hemolízis szintje is (Carter 2007). Tekintettel arra, hogy nagyrészt a májban termelődik, az lenne várható, hogy a májbetegség súlyosságával párhuzamosan csökken a nyugalmi szérumszint és romlik az akut fázis válasz. Ezzel szemben vannak adatok arra, hogy a cirrhosis maga bizonyos fokig indukálhatja a Hp szintézist, indukciót követően pedig jó Hp válasz észlelhető, mivel a cirrhotikus máj a többi

metabolikus folyamat kárára is biztosítja a Hp szint emelkedését (Nielsen 2006). Ráadásul vannak társbetegségek, melyek során infekció nélkül is magasabb Hp koncentráció mérhető (pl. HCC (Ang 2006))

Nem találtunk összefüggést az infekciómentes időszakban mért koncentrációk és a későbbiekben kialakuló infekciók valószínűsége között sem. Ennek magyarázata az lehet, hogy a vérben keringő Hp-t nagyobbára a máj szintetizálja. A „veleszületett” és a „szerzett” immunválasz szabályozásában pedig a monociták, granulociták által termelt (Theigaard 2006), az extravaszkularisan autokrin és parakrin módon ható Hp-nak lehet jelentősebb szerepe. Ennek termelése, felszabadulása független a máj funkcionális kapacitásától. Lokálisan a Hp strukturális, ebből következően funkcionális különbségeinek nagyobb jelentősége lehet a vérben mért nyugalmi koncentrációknál. A Hp és annak fenotípusainak pontos szerepe, még felderítésre vár.

Összefoglalva: a Hp fenotípusok adataink alapján nem befolyásolják a májzsugor kialakulását. A Hp1-1 fenotípus, az előrehaladott májbetegség és a társbetegségek jelenléte a bakteriális infekciók kialakulásának független kockázati tényezői májcirrhotikus betegekben. Vizsgálataink során bizonyítottuk, hogy a Hp molekulák szabályzó funkciójának, a veleszületett immunitásban betöltött szerepének klinikai jelentősége van. Az eddig ismert két rizikótényező mellé (májbetegség súlyossága, gasztrointesztinalis vérzés) sikerült még egy olyan eltérést találni, mely a bekövetkező infekció valószínűségét előre jelezheti cirrhotikus betegekben.

A Hp polimorfizmus szerepének pontosabb tisztázása még további kutatásokat tesz szükségessé.

Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőmnek, Dr. Papp Máriának, aki a tudomány területén tett első lépéseimet egyengette. Hálával tartozom neki, hogy kutató csoportjába fogadott, megbízott bennem és segítette munkámat.

Köszönöm Dr. Hársfalvi Jolánnak, aki lehetővé tette laboratóriumi tevékenységemet és átsegített a kezdeti nehézségeken.

Köszönttel tartozom Dr. Pályu Eszternek, aki megtanított a haptoglobin elektroforézis módszerére.

Irodalomjegyzék

Altörjay I, Vitalis Z, Tornai I, Palatka K, Kacska S, Farkas G, Udvardy M, Harsfalvi J, Dinya T, Orosz P, Lombay B Jr, Par G, Par A, Csak T, Osztovits J, Szalay F, Csepregi A, Lakatos PL, Papp M. Mannose-binding lectin deficiency confers risk for bacterial infections in a large Hungarian cohort of patients with liver cirrhosis. *J Hepatol.* **2010**;53:484-91.

Ang IL, Poon TC, Lai PB, Chan AT, Ngai SM, Hui AY, Johnson PJ, Sung JJ. Study of serum haptoglobin and its glycoforms in the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a glycoproteomic approach. *J Proteome Res.* **2006**; 5:2691-700.

Arredouani MS, Kasran A, Vanoirbeek JA, Berger FG, Baumann H, Ceuppens JL. Haptoglobin dampens endotoxin-induced inflammatory effects both in vitro and in vivo. *Immunology.* **2005**;114:263-71.

Asleh R, Marsh S, Shilkrut M, Binah O, Guetta J, Lejbkiewicz F, Enav B, Shehadeh N, Kanter Y, Lache O, Cohen O, Levy NS, Levy AP. Genetically determined heterogeneity in hemoglobin scavenging and susceptibility to diabetic cardiovascular disease. *Circ Res.* **2003**;92:1193-1200.

Benavides J, Fernandez N, Colombato L: Further evidence linking bacterial infection and upper G.I. bleeding in cirrhosis. Results from a large multicentric prospective survey in Argentina. *J. Hepatol*, **2003**, 38(suppl 2), A176.

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** ;29:1655-1661.

Borzio M, Salerno F, Piantoni L, Cazzaniga M, Angeli P, Bissoli F, Boccia S, Colloredo-Mels G, Corigliano P, Fornaciari G, Marengo G, Pistrà R, Salvagnini M, Sangiovanni A. Bacterial infection in patients with advanced cirrhosis: a multicentre prospective study. *Dig Liver Dis* **2001**;33:41-8.

Bowman BH, Kurosky A. Haptoglobin: the evolutionary product of duplication, unequal crossing over, and point mutation. *Adv Hum Genet* **1982**; 12: 189-261.

Caly WR, Strauss E. A prospective study of bacterial infections in patients with cirrhosis. *J Hepatol.* **1993** Jul;18(3):353-8.

Campillo B, Richardet JP, Kheo T, Dupeyron C. Nosocomial spontaneous bacterial peritonitis and bacteremia in cirrhotic patients: impact of isolate type on prognosis and characteristics of infection. *Clin Infect Dis* **2002**;35:1-10.

Carey E, Carey WD. Noninvasive tests for liver disease, fibrosis, and cirrhosis: Is liver biopsy obsolete? *Cleve Clin J Med.* 2010;77:519-27.

Carter K, Worwood M. Haptoglobin: a review of the major allele frequencies worldwide and their association with diseases. *Int J Lab Hematol.* **2007**;29: 92-110.

Cid MC, Grant DS, Hoffman GS, Auerbach R, Fauci AS, Kleinman HK. Identification of haptoglobin as an angiogenic factor in sera from patients with systemic vasculitis. *J Clin Invest.* **1993**;91:977-985.

Couper KN, Blount DG, Riley EM. IL-10: the master regulator of immunity to infection. *J Immunol.* **2008**;180:5771-5777.

Delanghe J, Langlois M, Ouyang J, Claeys G, De Buyzere M, Wuyts B. Effect of haptoglobin phenotypes on growth of streptococcus pyogenes. *Clin Chem Lab Med* **1998**; 36: 691e6.

Durand F, Valla D. Assessment of the prognosis of cirrhosis: Child-Pugh versus MELD. *J Hepatol.* **2005**;42 Suppl(1):S100-7.

Elg SA, Carson LF, Fowler JM, Twiggs LB, Moradi MM, Ramakrishnan S. Ascites levels of haptoglobin in patients with ovarian cancer. *Cancer* **1993**; 71: 3938-41.

Escorsell A, Garcia-Pagán JC, Bosch J. Assessment of portal hypertension in humans. *Clin Liver Dis.* 2001;5:575-89.

Fabrick BO, van Bruggen R, Deng DM, Ligtenberg AJ, Nazmi K, Schornagel K, Vloet RP, Dijkstra CD, van den Berg TK. The macrophage scavenger receptor CD163 functions as an innate immune sensor for bacteria. *Blood* **2009**; 113: 887-892.

Fernández J, Navasa M, Gómez J, Colmenero J, Vila J, Arroyo V, Rodés J. Bacterial infections in cirrhosis: epidemiological changes with invasive procedures and norfloxacin prophylaxis. *Hepatology* **2002**;35:140-8.

Fernández J, Navasa M, Planas R, Montoliu S, Monfort D, Soriano G, Vila C, Pardo A, Quintero E, Vargas V, Such J, Ginès P, Arroyo V. Primary prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis delays hepatorenal syndrome and improves survival in cirrhosis. *Gastroenterology* **2007**;133:818-24.

Guetta J, Strauss M, Levy NS, Fahoum L, Levy AP. Haptoglobin genotype modulates the balance of Th1/Th2 cytokines produced by macrophages exposed to free hemoglobin. *Atherosclerosis* **2007**; 191: 48 –53.

Harvey S, Kohga S, Sait SN, Markus G, Hurd TC, Martinick M, Geradts J, Saxena R, Gibbs JF. Co-expression of urokinase with haptoglobin in human carcinomas. *J Surg Res* **2009**; 152:189-97.

Huntoon KM, Wang Y, Eppolito CA, Barbour KW, Berger FG, Shrikant PA, Baumann H. The acute phase protein haptoglobin regulates host immunity. *J Leukoc Biol.* **2008**;84:170-81.

Jue DM, Shim BS, Kang YS. Inhibition of prostaglandin synthase activity of sheep seminal vesicular gland by human serum haptoglobin. *Mol Cell Biochem.* **1983**;51:141-7.

Kamath PS, Kim WR. The model for end-stage liver disease (MELD). *Hepatology* **2007**; 45: 797–805.

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: 694-8.

Kleijn DP, Smeets MB, Kemmeren PP, Lim SK, Van Middelaar BJ, Velema E, Schoneveld A, Pasterkamp G, Borst C. Acute-phase protein haptoglobin is a cell migration factor involved in arterial restructuring. *FASEB J.* **2002**;16:1123-5.

Koch W, Latz W, Eichinger M, et al. Genotyping of the common haptoglobin Hp $\frac{1}{2}$ polymorphism based on PCR. *Clin Chem* **2002**; 48:1377– 82

Langlois MR, Delanghe JR: Biological and clinical significance of haptoglobin polymorphism in humans. *Clin Chem.* **1996**; 42:1589-600.

Langlois M, Delanghe J, Philippe J, Ouyang J, Bernard D, De Buyzere M, Van Nooten G, Leroux-Roels G. Distribution of lymphocyte subsets in bone marrow and peripheral blood is associated with haptoglobin type. Binding of haptoglobin to the B-cell lectin CD22. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* **1997**;35: 199-205.

McCormick DJ, Atassi MZ. Hemoglobin binding with haptoglobin: delineation of the haptoglobin binding site on the alpha-chain of human hemoglobin. *J Protein Chem.* **1990**;9:735-42. .

Moestrup SK, Moller HJ. CD163: a regulated hemoglobin scavenger receptor with a role in the anti-inflammatory response. *Ann Med.* **2004**;36: 347-54.

Nielsen SS, Grøfte T, Tygstrup N, Vilstrup H. Synthesis of acute phase proteins in rats with cirrhosis exposed to lipopolysaccharide. *Comp Hepatol.* **2006**; 5:3.

Norman K, Pirlich M. Gastrointestinal tract in liver disease: which organ is sick? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **2008**;11: 613-619.

Papp M, Lakatos PL; Hungarian IBD Study Group, Palatka K, Foldi I, Udvardy M, Harsfalvi J, Tornai I, Vitalis Z, Dinya T, Kovacs A, Molnar T, Demeter P, Papp J, Lakatos L, Altörjay I. Haptoglobin polymorphisms are associated with Crohn's disease, disease behavior, and extraintestinal manifestations in Hungarian patients. *Dig Dis Sci.* **2007**;52: 1279-84.

Polticelli F, Bocedi A, Minervini G, Ascenzi P. Human haptoglobin structure and function—a molecular modelling study. *FEBS J.* **2008**;275:5648-56.

Prokop O, Köhler W. Haptoglobins act similar to antibodies. Steps of discovery. Analogous conclusions from pure preparations, umbilical cord sera and animal sera. *Zentralbl Gynakol.* **1979**;101):1111-1116.

Rother RP, Bell L, Hillmen P, Gladwin MT. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. *JAMA.* **2005** Apr 6;293(13):1653-62. Review. PubMed PMID: 15811985.

Ryter SW, Otterbein LE, Morse D, Choi AM. Heme oxygenase/carbon monoxide signaling pathways: regulation and functional significance. *Mol Cell Biochem.* 2002;234-235: 249-63.

Sadrzadeh SM, Graf E, Panter SS, Hallaway PE, Eaton JW. Hemoglobin. A biologic fenton reagent. *J Biol Chem.* **1984**;259:14354-6..

Saeed SA, Ahmad N, Ahmed S. Dual inhibition of cyclooxygenase and lipoxygenase by human haptoglobin: its polymorphism and relation to hemoglobin binding. *Biochem Biophys Res Commun* **2007** ; 353 :915-20.

Soares-Weiser K, Brezis M, Tur-Kaspa R, Leibovici L. Antibiotic prophylaxis for cirrhotic patients with gastrointestinal bleeding. *Cochrane Database Syst Rev* **2002**;CD002907.

Tandon P, Garcia-Tsao G. Bacterial infections, sepsis, and multiorgan failure in cirrhosis. *Semin Liver Disc.* **2008**;28:26-42.

Thalheimer U, Triantos CK, Samonakis DN, Patch D, Burroughs AK. Infection, coagulation, and variceal bleeding in cirrhosis. *Gut* **2005**;54:556-63.

Theilgaard-Mönch K, Jacobsen LC, Nielsen MJ, Rasmussen T, Udby L, Gharib M, Arkwright PD, Gombart AF, Calafat J, Moestrup SK, Porse BT, Borregaard N. Haptoglobin is synthesized during granulocyte differentiation, stored in specific granules, and released by neutrophils in response to activation. *Blood* **2006**; 108: 353-361.

van Rijn HJ, van der Wilt W, Strees JW, Schrijver J. Is the turbidimetric immunoassay of haptoglobin phenotype-dependent? *Clin Biochem.* **1987**; 20:245-8.

Vilstrup H. Cirrhosis and bacterial infections. *Rom J Gastroenterol* **2003**;12:297-302

Wassell J. Haptoglobin: function and polymorphism. *Clin Lab.* **2000**;46: 547-52.

Wasserzug O, Blum S, Klement E, Lejbkowitz F, Miller-Lotan R, Levy AP. Haptoglobin 1-1 genotype and the risk of life-threatening Streptococcus infection: evolutionary implications. *J Infect* **2007**; 54: 410.

Wiest R, Garcia-Tsao G. Bacterial translocation (BT) in cirrhosis. *Hepatology* 2005;41:422-33.

Wong F, Bernardi M, Balk R, Christman B, Moreau R, Garcia-Tsao G, Patch D, Soriano G, Hoefs J, Navasa M. International Ascites Club. Sepsis in cirrhosis: report on the 7th meeting of the International Ascites Club. *Gut*. **2005** May;54(5):718-725.

Wyatt A, Yerbury J, Poon S, Dabbs R, Wilson M. Chapter 6: The chaperone action of Clusterin and its putative role in quality control of extracellular protein folding. *Adv Cancer Res*. **2009**;104:89-114.

Yang F, Friedrichs WE, Navarajo-Ashbaugh AL, deGraffenried LA, Bowman BH, Coalson JJ. Cell type-specific and inflammatory-induced expression of haptoglobin gene in lung. *Lab Invest* **1995**; 73:433-40.

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**;88:2067-71.

Zuwala-Jagiello J. Haemoglobin scavenger receptor: function in relation to disease. *Acta Biochim Pol*. **2006**;53: 257-68.

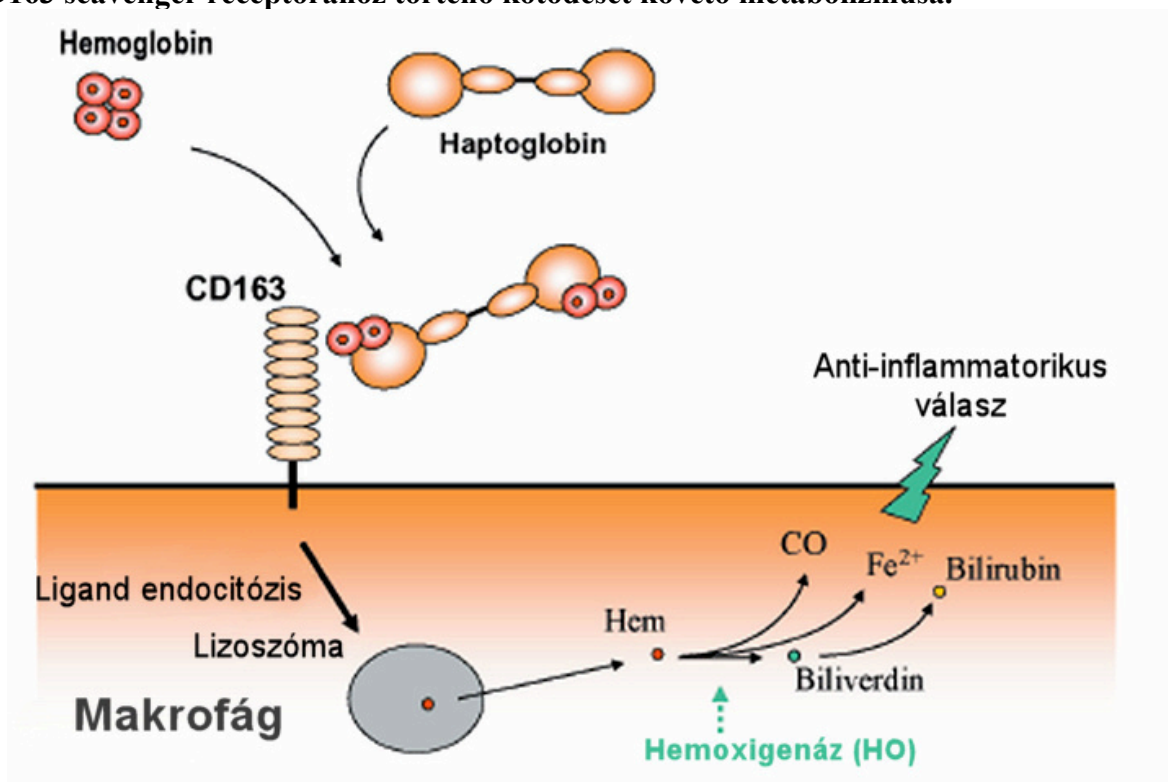
Függelékek

Saját munkám

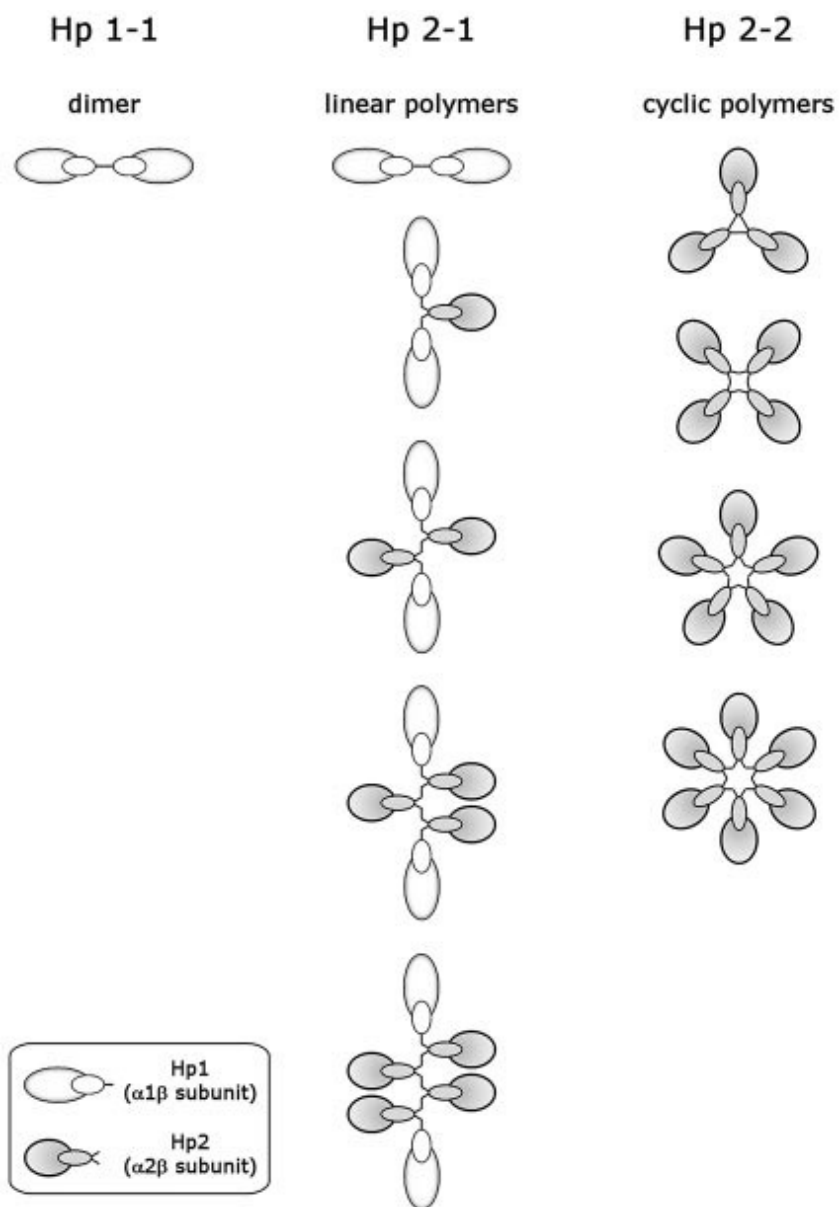
- Haptoglobin polimorfizmus meghatározása SDS-page elektroforézis és Western blot segítségével.
- Klinikai adatok gyűjtése és rendszerezése.

Ábrák

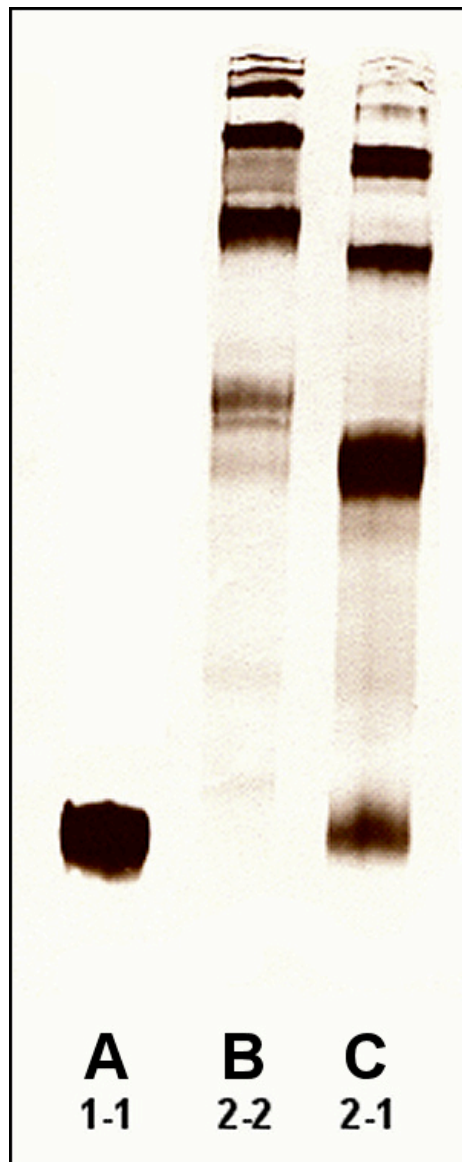
1. ábra A hemoglobin haptoglobinhoz való kötődése és a komplexnek a makrofágok CD163 scavenger receptorához történő kötődését követő metabolizmusa.



2. ábra A haptoglobin (Hp) polimerek kialakulása a genotípus függvényében

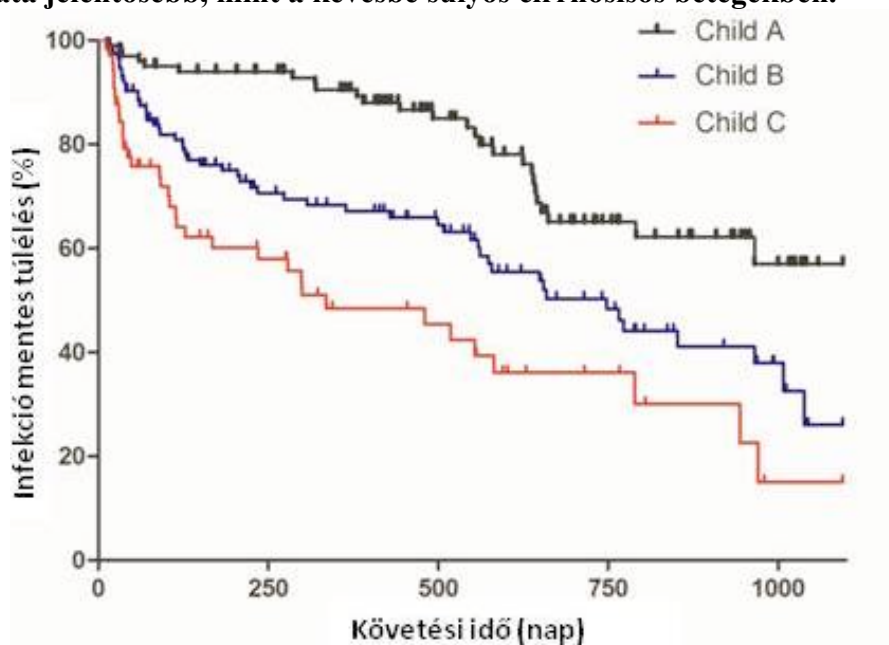


3. ábra Különböző haptoglobin (Hp) fenotípusok elektroforetikus képe.



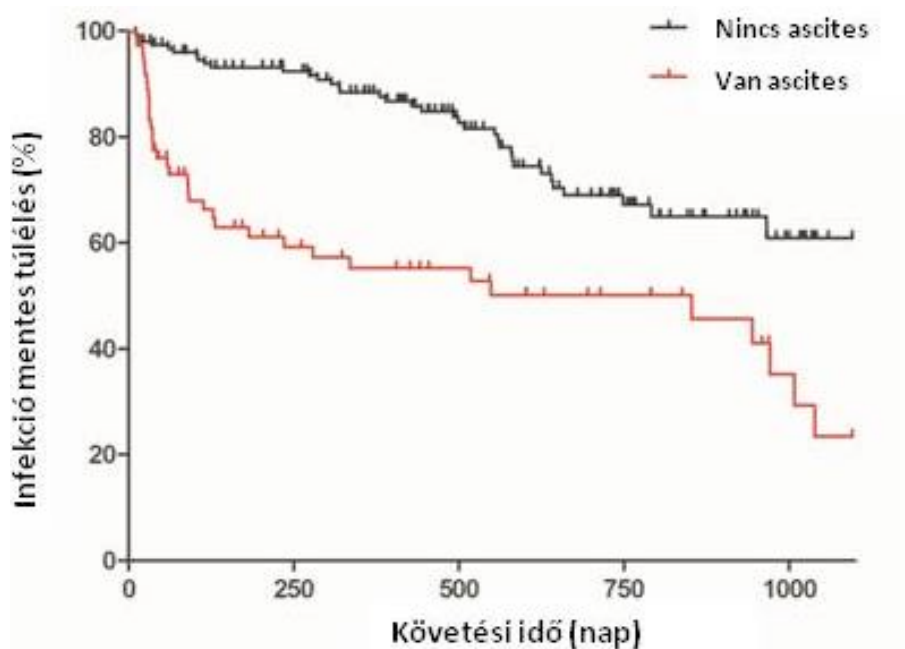
A Hp 1-1 fenotípus esetén egyetlen, kis molekulatömegű, gyorsan vándorló sáv látható (A). A Hp 2-2-t számos, nagy molekulatömegű, lassan vándorló sáv jellemzi (B). A Hp 2-1 fenotípusban pedig mind a Hp 1-1-nek megfelelő sáv, mind pedig számos lassabban vándorló sáv is megfigyelhető (C).

4. ábra Child C stádiumú cirrhotikus betegekben a bakteriális infekció kialakulásának kockázata jelentősebb, mint a kevésbé súlyos cirrhotikus betegekben.



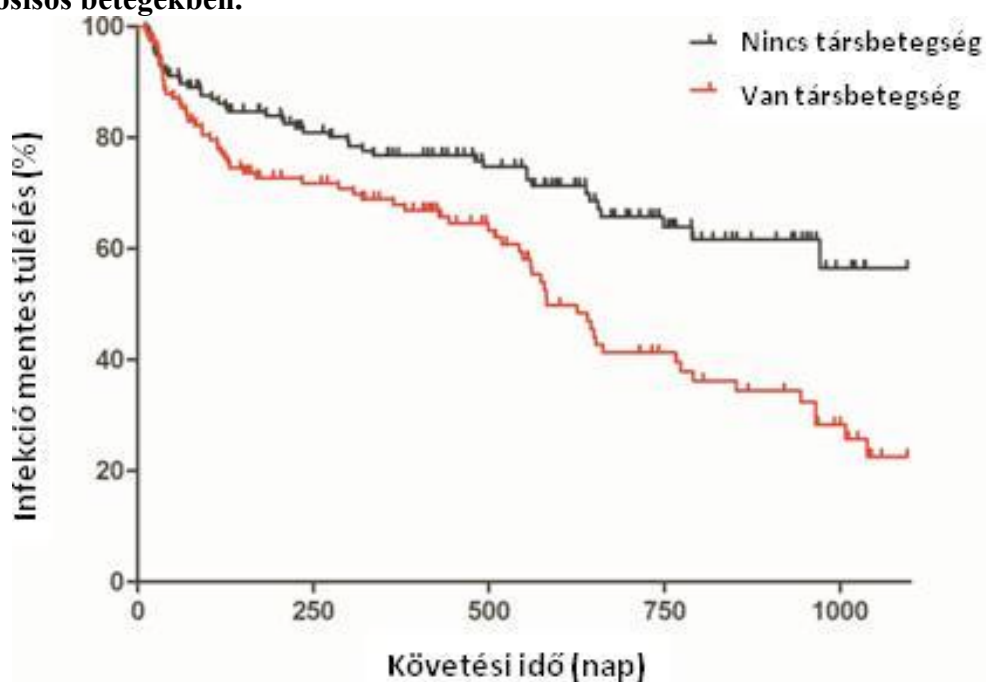
A betegek infekciós kockázata	0	250	500	750	1000 nap
Child A	110	85	54	28	11
Child B	126	64	48	25	9
Child C	102	28	16	8	2

5. ábra. Ascites jelenléte növeli a bakteriális infekciók valószínűségét cirrhotikus betegekben.

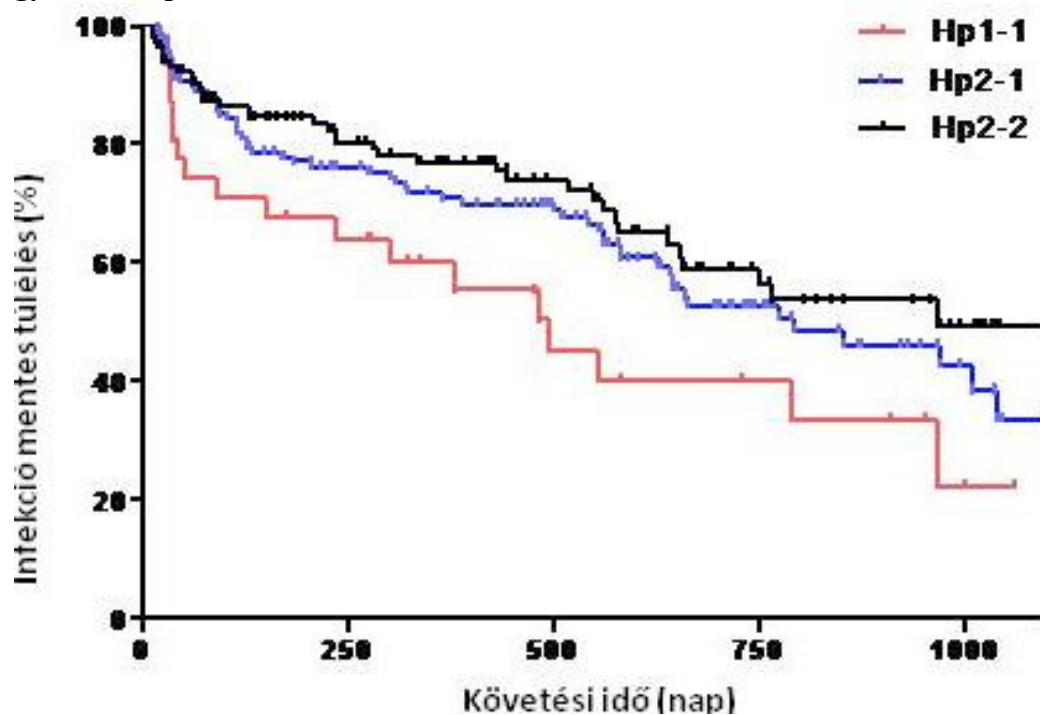


A betegek infekciós rizikója	0	250	500	750	1000
Nincs ascites	169	92	83	67	61
Van ascites	169	59	55	50	29

6. ábra A társbetegségek jelenléte növeli a bakteriális infekciók kialakulásának rizikóját cirrhotikus betegekben.



7. ábra Hp1-1 fenotípus mellett nagyobb a fertőzések kialakulásának valószínűsége, mint egyéb fenotípusok esetén.



Táblázatok

1. táblázat A Hp polimorfizmus vizsgálatba bevont betegek adatai

Májcirrhosisban szenvedő betegek, n	336
Nemek (ff/nnő), n	188/144
Kor (±SD)	56,5± 10.8 év
Etiológia, n (%)	
Alkoholos	219 (65,2%)
HCV	97 (28,9%)
Egyéb	20 (5,9%)
Child A/B/C, n	110/128/98
Társbetegségek, n (%)	149 (44,3%)
egy	99
kettő	31
Három, vagy több	9
Hepatocellularis carcinoma, n(%)	36 (10,7%)
Betegek, akiknek fertőzése volt, n (%)	113 (33,6%)
Egy	51
Kettő	31
Három	31
Egészséges kontrollok, n	384
Nemek (ff/nnő), n	192/192
Kor (±SD)	52,5± 10,2 év

2. táblázat Haptoglobin (Hp) fenotípus és Hp¹ allél frekvenciák cirrhotikus betegekben és egészséges kontrollokban

	Esetek	Hp(1-1)	Hp(2-1)	Hp(2-2)	Hp¹ allél
Gyakoriság cirrhotikus betegekben, n (%)	336 (100,0%)	36 (10,7%)	161 (47,9%)	139 (41,4%)	0,3467
Gyakoriság egészséges kontrollokban, n (%)	384 (100,0%)	44 (11,5%)	177 (46,1%)	163 (42,4%)	0,3451

Nincs statisztikai különbség

3. táblázat A Hp fenotípusok megoszlása cirrhotikus betegeinkben

	Total N= 336	Hp1-1 n= 36	Hp2-1 N= 161	Hp2-2 n= 139
Nem (ffi/nő), n	188/144	15/21	85/76	88/51
Kor (átlag ± SD, év)	56,5 ± 10,8	57,5 ± 13,1	56,7 ± 10,2	55,9 ± 10,9
Child-Pugh score	8,14 ± 2,5	8,4 ± 2,7	8,3 ± 2,4	7,9 ± 2,4
MELD score	14,7 ± 6,3	14,4 ± 5,1	15,0 ± 7,0	14,3 ± 5,7
Társbetegségek jelenléte, n (%)	149 (44,3%)	19 (52,8%)	70 (43,5%)	60 (43,2%)
Átlagos követés ±SD (nap)	443 ± 363	428 ± 374	476 ± 369	410 ± 353
Átlagos követés, IQR (nap)	420 (88-742)	325 (67-761)	472 (120-767)	371 (62-711)
A betegek száma, akikben infekció jelentkezett a követés alatt, n (%)	113 (33,6%)	18* (50,0%)	58* (36,0%)	37* (26,6%)
Az első infekcióig eltelt idő, medián, (IQR) nap	182 (42-554)	121** (34-483)	175** (61-556)	224** (50-554)

*p=0.039

**p=0.02

4.táblázat Klinikailag szignifikáns bakteriális infekciók előfordulása Hp koncentráció kvartilisek szerint

Hp koncentráció (g/L)	Q1 (0-0,14)	Q2 (0,15-0,51)	Q3 (0,52-1,06)	Q4 (1,07-3,52)
Betegek, akiknek infekciója volt	32,9%	31,3%	36,9%	33,3%

5.táblázat. Logisztikus regresszió: A bakteriális infekciók prediktív tényezői májcirrhotikus betegekben

Faktor	Koefficiens	<i>P</i> érték	OR	95%KI
Női nem	0,316	0,21	-	-
Child-Pugh stádium	0,334	0,038	1,40	1,02-1,91
Társbetegségek	0,969	<0,001	2,64	1,63-4,27
Haptoglobin fenotípusok	-	0,039	-	-
Hp2-2	<i>Referencia</i>			
Hp2-1	0,427	0,11	-	-
Hp1-1	1,006	0,015	2,74	1,22-6,14

A koefficiens az OR természetes logaritmus; *p* érték: szignifikancia szint; OR: odds ratio; 95%KI: 95% konfidencia intervallum

6.táblázat A Cox modell összegzése: Az első bakteriális infekcióig eltelt idő hosszát befolyásoló tényezők

	<i>p</i>	Hazard Ratio	95%CI
Női nem	0,16	-	-
Child-Pugh stádium	<0,001		
Child A	<i>Referencia</i>		
Child B	0,02	2,16	1,33-3,51
Child C	<0,001	4,43	2,60-7,56
Társbetegségek	0,004	1,79	1,21-2,65
Haptoglobin fenotípusok (Hp)	0,05		
Hp2-2	<i>Referencia</i>		
Hp2-1	0,412	-	-
Hp1-1	0,014	2,03	1,15-3,61

p érték: szignifikancia szint; 95%CI: 95% Konfidencia intervallum