

A pneumonia eredetű sepsis kimenetelét befolyásoló genetikai tényezők vizsgálata

Doktori értekezés

Dr. Madách Krisztina

Semmelweis Egyetem
Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola



- Témavezető: Dr. Prohászka Zoltán, az MTA doktora
- Hivatalos bírálók: Dr. Bogár Lajos egyetemi tanár, az MTA doktora
Dr. Zima Endre egyetemi adjunktus, PhD
- Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Darvas Katalin egyetemi tanár
- Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Strausz János egyetemi tanár, az MTA doktora
Dr. Rónai Zsolt egyetemi adjunktus, PhD

Budapest
2011

TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések jegyzéke	5
1. Bevezetés	7
1. 1. A sepsis és a genetika kapcsolata	7
1. 2. A nomenklatúra, avagy a gének nyelve	11
1. 3. A betegségek genetikai hátterének vizsgálatervezési lehetőségei	16
1. 4. A sepsis pathomechanizmusa	18
1. 5. A plazminogén aktivátor inhibitor-1 szerepe sepsisben	22
1. 6. A humán fő hisztokompatibilitási komplex és a 8.1 ősi haplotípus szerepe gyulladáso folyamatokban	24
2. Célkitűzések	26
3. Módszerek	28
3. 1. A betegek és a meghatározások	28
3. 2. Az anyagok és a módszerek	30
4. Eredmények	33
4. 1. A betegjellemzők	33
4. 2. Az eredmények: A <i>PAI-1</i> gén 4G/5G polimorfizmusának pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára, a septicus shock, a szervi diszfunkció kialakulására és a mortalitásra kifejtett hatásának vizsgálata	36
4. 2. 1. A genotípus eloszlás	36
4. 2. 2. A PAI-1 4G/5G polimorfizmus klinikai összefüggései	36
4. 2. 3. A végpontokkal kapcsolatos tényezők többváltozós elemzése	38
4. 2. 4. A PAI-1 4G/5G polimorfizmus pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának vizsgálata COPD-s betegekben	40
4. 3. Az eredmények: A 8.1 ősi haplotípus pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának vizsgálata	42
4. 3. 1. Az <i>AGER</i> -429T>C, <i>C4A</i> *Q0, <i>HSP70-2</i> 1267A>G, <i>TNF</i> -308G>A, <i>LTA</i> 252A>G polimorfizmusok és a 8.1 haplotípus gyakorisága	42

4. 3. 2. A sepsis súlyossága	42
4. 3. 3. A sepsis mortalitása	46
4. 3. 4. Az AH8.1 klinikai összefüggései	46
5. Megbeszélés	48
5. 1. A <i>PAI-1</i> gén 4G/5G polimorfizmusának pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára, a septicus shock, a szervi diszfunkció kialakulására és a mortalitásra kifejtett hatásának vizsgálata	48
5. 1. 1. A <i>PAI-1</i> gén 4G/5G polimorfizmusának a sepsis lezajlásának súlyosságára kifejtett hatása	48
5. 1. 2. A <i>PAI-1</i> gén 4G/5G polimorfizmusának a szervi diszfunkcióra kifejtett hatása	50
5. 1. 3. A <i>PAI-1</i> gén 4G/5G polimorfizmusa és a DIC pontszám közötti összefüggés	51
5. 1. 4. A <i>PAI-1</i> gén 4G/5G polimorfizmusának a sepsis mortalitására kifejtett hatása	51
5. 1. 5. A <i>PAI-1</i> 4G/5G polimorfizmus pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának vizsgálata COPD-s betegekben	52
5. 2. A 8.1 ősi haplotípus pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának vizsgálata	54
5. 2. 1. A polimorfizmusok allél frekvenciáinak és a 8.1 ősi haplotípusnak gyakorisága	55
5. 2. 2. A 8.1 ősi haplotípus hatása pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára	55
5. 2. 3. A 8.1 ősi haplotípus hatása pneumonia eredetű sepsis mortalitására	56
5. 2. 4. A 8.1 ősi haplotípus pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának vizsgálata COPD-s betegekben	56
5. 2. 5. Klinikai jellemzők	56
5. 2. 6. Pathogenetikai magyarázat	57
5. 3. A vizsgálatok erősségei, illetve korlátai	59

6. Következtetések	61
6. 1. A pneumonia eredetű sepsis kimenetelét befolyásoló genetikai tényezők: saját eredményeink	61
6. 2. A sepsis genetikai hátterének kutatása: aktuális helyzetkép	63
6. 3. A genetika és a klinikai tanulmányok	64
6. 4. A genetika és a betegség prognosztikai modellek	65
6. 5. Milyen klinikai lehetőségeket teremt a genetikai polimorfizmusok ismerete a sepsis terápiájában?	66
7. Összefoglalás	68
8. Summary	69
9. Irodalomjegyzék	70
10. Saját publikációk jegyzéke	94
10. 1. A disszertációhoz kapcsolódó közlemények	94
10. 2. A disszertációtól független közlemények	95
11. Köszönetnyilvánítás	97

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ACE	angiotenzin-konvertáló enzim (Angiotensin Converting Enzyme)
AH	ősi haplotípus (Ancient Haplotype)
ALI	akut tüdő sérülés (Acute Lung Injury)
APACHE II	akut élettani és krónikus egészségügyi értékelés II pontszám (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II score)
APC	aktivált protein C
ARDS	akut respirációs distressz szindróma (Acute Respiratory Distress Syndrome)
CAP	közösségben szerzett pneumonia (Community Acquired Pneumonia)
CEACAM	karcinoembrionális antigénszerű sejtadhéziós molekula (CarcinoEmbryonic Antigen-related Cell Adhesion Molecule)
COPD	krónikus obstruktív tüdőbetegség (Chronic Obstructive Pulmonary Disease)
DIC	disszeminált intravaszkuláris koaguláció (Disseminated Intravascular Coagulation)
DNS	dezoxiribonukleinsav
Fc γ Rec-IIa	Fc gamma receptor IIa
HLA	Humán Leukocytá Antigén
HSP	hő sokk fehérje (Heat Shock Protein)
IFN γ	interferon-gamma
IGF1R	inzulin-szerű növekedési faktor receptor 1 (Insulin Like Growth Factor 1 Receptor)
I κ B	Kappa B inhibitor
IKKs	I κ B kinázok
IL	interleukin
IL-1RA	IL-1 receptor antagonist
IRAK	IL-1 receptor-asszociált kináz
LBP	LPS-kötő fehérje (Lipopolysaccharid Binding Protein)
LD	kapcsoltsági egyensúlytalanság (Linkage Disequilibrium)
LPS	lipopolysaccharid
MAP	artériás középnyomás (Mean Arterial Pressure)
MBL	mannóz-kötő lektin (Mannose-Binding Lectin)
MD2	myeloid differenciációs protein-2

MHC	fő hisztokompatibilitási komplex (Major Histocompatibility Complex)
MIF	macrophag gátló faktor (Macrophage migration Inhibitory Factor)
MODS	többszervi elégtelenség (Multiple Organ Dysfunction Syndrome)
mRNS	hírvivő (messenger) ribonukleinsav
MyD88	myeloid differenciációs primér válasz 88
NF- κ B	nukleáris faktor kappá B
PAI-1	plazminogén aktivátor inhibitor-1
PCR	polimeráz láncreakció (Polymerase Chain Reaction)
PEEP	pozitív végkilégzési nyomás (Positive End-Expiratory Pressure)
PGN	peptidoglikán
PIRO	predispozíció, infekció, válaszreakció, szervi diszfunkció (Predisposition, Infection, Response, Organ dysfunction)
RFLP	restrikciós fragmentum hossz polimorfizmus (Restriction Fragment Length Polymorphism)
RNS	ribonukleinsav
RT-PCR	valós idejű polimeráz láncreakció (Real Time PCR)
SBP	szisztolés vérnyomás (Systolic Blood Pressure)
SIRS	szisztémás gyulladáshoz vezető válaszreakció (Systemic Inflammatory Response Syndrome)
SNP	egyedi nukleotid polimorfizmus (Single-Nucleotide Polymorphism)
SOFA	sepsis következtében/sorozatban kialakuló szervelégtelenség súlyossági felmérés (Sepsis-related/ Sequential Organ Failure Assessment)
SSP	szekvencia specifikus primer (Sequence-Specific Primer)
TAFI	thrombin-aktiválható fibrinolízis inhibitor
TF	szöveti factor (Tissue Factor)
TGF	transzformáló növekedési faktor (Transforming Growth Factor)
TIFA	TRAF-interakciós protein (TRAF-interacting protein with a forkhead associated protein)
TIRAP	TIR domént tartalmazó adapter protein (MYD88 adapter proteinként is ismert)
TLR	Toll-like receptor
TNF α	tumor nekrozis faktor-alfa
TNF-R	TNF receptor
Tollip	Toll interakciós fehérje (Toll Interacting Protein)
TRAF6	TNF receptor asszociált 6-os faktor

1. BEVEZETÉS

1. 1. A sepsis és a genetika kapcsolata

A sepsis fertőzés triggerelte szisztémás gyulladáshoz vezető válaszreakció következtében kialakuló összetett klinikai szindróma [1]. A sepsis progressziójával shock, többszervi elégtelenség, végül halál következhet be.

Az orvosi technikák fejlődése (pl. beültethető idegen testek, kanülök, protézisek, ritmusszabályozó eszközök elterjedése), az immunosuppresszív terápiák kiterjedt használata, a populáció öregedése következtében a sepsis gyakorisága rohamosan növekszik. Az Egyesült Államokban évente 750 000 betegnél diagnosztizálják sepsis kialakulását, és 210 000-re tehető a sepsis következtében elhunytak száma [2-4]. Világviszonylatban évente megközelítően 18 millió ember kerül septicus állapotba, közülük naponta 1400 ember hal meg a becslések alapján [5]. A sepsis szupportív terápiájában és pathogenezisének kutatásában elért eredmények ellenére, a szindróma továbbra is a kritikus állapotú betegek vezető haláloka maradt, összesített mortalitása 30% körüli, septicus shockban és/vagy többszervi elégtelenségben szenvedő betegeknél a halálozás az 50%-ot is meghaladja [5, 6]. A pulmonalis infekciók kétszer olyan gyakran vezetnek sepsishoz, mint az abdominalis vagy a húgyúti fertőzések, ezáltal a területen szerzett tüdőgyulladás mind Európában, mind az Egyesült Államokban a halálozás egyik vezető oka [7].

Látszólag hasonló súlyosságú fertőzésben szenvedő, azonos általános állapotú betegek túlélési aránya merőben eltérő lehet. A betegség manifesztációjának egyéni különbségeit a beteg genetikai predispozíciója alapvetően befolyásolja, ezt erősíti meg a PIRO (predispozíció, infekció, válaszreakció, szervi diszfunkció – predisposition, infection, response, organ dysfunction) elmélet is (1. Táblázat) [8].

1. Táblázat. A sepsis osztályozásának PIRO elmélete [8, 9].

P	Prediszpozíciós tényező	Veleszületett: a veleszületett immunválaszt, alvadási rendszert, komplement-, Toll-like receptorokat és intracelluláris jelátvitelt befolyásoló immunválasz-gének polimorfizmusai és sérülései Szerzett: égés, trauma, szerzett immunbetegség
I	Infekció	Fertőzés helye, nagysága, virulenciája, lokális versus szisztémás kiterjedése, speciális mikrobiológiai pathogén
R	Válaszreakció (response)	Túlzott vagy csökkent, immunszupprimált válaszkészség; a válasz mértékét alkohol, életkor, nem, tápláltsági állapot, egyéb kísérő betegségek és egészségi állapot befolyásolják
O	Szervi (organikus) diszfunkció	Szisztémás fertőzés során kialakuló szervi funkciózavarok száma, súlyossága, mintázata; elsődleges vagy másodlagos szerv-sérülés; meglévő vagy sepsis következtében fellépő szerv-sérülés

Az evolúció kisselektálódó mutációk sorozata. Az emberiség történetének talán legerősebb szelekciós tényezői a járványok. Génjeink a fertőzések szempontjából védelmet vagy rizikót jelenthetnek. Kézenfekvő példaként a sarlósejtes anaemia, malária, familiáris komplement- és immunglobulin hiányok genetikai hátterét említhetjük. Sokan egyenesen úgy gondolják, hogy a fertőzés következtében kialakuló halálozás familiáris rizikója nagyobb, mint a tumoros- vagy cardiovascularis betegségeké [10].

A sepsis kialakulását és lefolyását meghatározó genetikai tényezők megértése fontos érdekünk. Az intenzív terápiában aktuálisan rendelkezésre álló, döntően szocio-demográfiai és klinikai rizikófaktorokra épülő prognosztikai modellek nem szolgálnak megfelelő magyarázattal arra, hogy hasonló adottságú betegek miért reagálnak merőben eltérő módon az adott fertőző betegségekre. A fertőzésre adott válaszreakció sokfélesége részben az immunválasz különböző fertőzések következtében kialakuló változatos genetikai hátterével magyarázható [11]. Az immunválaszban részt vevő gének a legnépesebbek és legkülönbözőbbek a humán genomban [12]. A genetika azáltal, hogy a betegség, így a sepsis biológiai háttérfolyamataiba betekintést enged, a betegség mechanizmusának pontosabb megértéséhez, a precízebb rizikó felméréshez és az egyénre szabott terápiák kialakításához segíthet hozzá.

A Humán Genom vázlatának 2000-ben, majd komplettált változatának 2003-ban történt közzétételét követően a sepsis genetikai meghatározóit kutató tanulmányok

robbanásszerűen megszorodtak [13, 14]. A lelkesedés nagyszámú, vegyes, sokszor nem helytálló módon megtervezett, ennek megfelelően egymásnak ellentmondó eredménnyel szolgáló vizsgálat megszületéséhez vezetett. Elég példaként vennünk a tumor necrosis faktor-1 gén promóter régióján belüli -308 guanin/adenin csere és a génextpresszió és sepsis lezajlásának kapcsolata közötti vitatott eredményeket [15, 16]. A vizsgálati eredmények ilyen, kissé kaotikus felszaporodása idézte elő, hogy a tudományos közösség már egyfajta szkepticizmussal kezeli ezeket az adatokat [17]. A sepsissel kapcsolatos egyedi nukleotid polimorfizmus kutatások szerteágazó eredményeinek részleges összefoglalását a 2. Táblázat tartalmazza.

2. Táblázat. A sepsissel kapcsolatos egyedi nukleotid polimorfizmus kutatások.

Funkció	Molekula (genetikai változó)	Hatása sepsisben	Irodalom
Kórokozó észlelése	TLR1 (I602S) (TLR2 alcsalád)	Nincs összefüggés sepsissel	[18, 19]
	TLR2 (Arg753Thr)	Összefüggés Gram-pozitív fertőzéssel	[20-22]
	TLR6 (TLR2 alcsalád)	Nincs összefüggés sepsissel; aspergillosis fokozott rizikója	[18]
	TLR4 (Asp299Gly, Thr399Ile)	Összefüggés Candida véráram fertőzéssel; sepsissel; Gram-negatív septicus shockkal	[23-25]
	TLR5 stop kodon	Legionella pneumoniára hajlamosít	[26]
	LBP (Pro436Leu), SNP 6878, SNP 17002, LBP (-788)	Nem-specifikus összefüggés sepsissel. Össejt átültetést követő bacteraemia és halálozás Gram-negatív bacteraemia miatt	[27, 28]
	CD14 (-159) LPS érzékelés	Magasabb mortalitási tendencia. Ellentmondó eredmények	[21, 24, 25]
	MD-2 (-103) LPS érzékelés	Csökkent citokin felszabadulás. Sepsisre kifejtett hatását nem tanulmányozták.	[29]
Jelátviteli út	IRAK-4 (mutáció)	Súlyos fertőzések gyermekkorban	[30]
	IRAK-1 (haplotípus)	Magasabb mortalitás sepsisben	[31]
	TIRAP/Mal (Ser180Leu)	Pneumococcus véráram fertőzéssel szemben heterozigótákban védelem	[32]
	I κ B	Két promóter SNP védő hatása	[33]
Citokin (pro-inflammatorikus)	TNF α (-308)	Nem egyértelmű kapcsolat. Korai tanulmányok szerint homozigótákban nagyobb rizikó	[15, 24, 34, 35]
	TNF α (-376)	Nem egyértelmű összefüggés	[36]
	TNF- α R	Nem egyértelmű összefüggés	[36]
	IL-1 β (-511)	Homozigóta hordozókban meningococcus sepsis magasabb mortalitása	[37, 38]

Funkció	Molekula (genetikai változó)	Hatása sepsisben	Irodalom
Citokin (pro-inflammatorikus)	IL-1 α	Nem írtak le összefüggést sepsissel	
	IL-6 (-174)	C-allél shock rizikóját növeli	[39, 40]
	MIF	Afro-amerikaiakban befolyásolja sepsis lezajlását	[41]
	IFN- γ	Összefügg sepsissel (DD allél, homozigóták)	[42]
	Lymphotoxin- α (+252 A/G)	Összefügg sepsis mortalitásával	[43]
	Nitrogén-monoxid szintáz 2	Nincs összefüggés pneumococcus sepsissel	[44]
Citokin (anti-inflammatorikus)	IL-10 (-592 és -1082)	Összefügg sepsissel (DD allél, homozigóták)	[45, 46]
	IL-1RA (intron 2, IL-1RN*)	Magasabb mortalitás a homozigóta hordozókban	[47]
	TGF β szupercsalád génjei és IGF1R SNP-k	Sarlósejtes anaemiában bacteraemia rizikójával összefügg	[48]
	HSP-70 komplex (-72 +1267)	Homozigótákban CAP esetén septicus shock rizikója fokozott	[49]
Alvadás	PAI-1 (4G/4G)	Meningitisben gyakoribb septicus shock	[50]
	TAFI (Thr325Ile)	Meningitisben magasabb halálozási rizikó	[51]
	Faktor V (506; 'Leiden')	Kisebb sepsis rizikó (heterozigóták)	[52]
	Fibrinogén- β	Protéktív haplotípus (GAA)	[53]
	Protein C (-1641AA)	Súlyos sepsisben szervelegtelenséggel és mortalitással mutat összefüggést	[54, 55]
Egyéb tényezők	ACE (I/D polimorfizmus)	Nincs összefüggés sepsissel	[56]
	Caspase-12 (Csp12-L)	Sepsis magasabb rizikója (Afro-amerikaiakban)	[57]
	Fc γ Rec-IIa	Összefüggés septicus shockkal	[58, 59]
	L-ficolin	Nincs összefüggés sepsissel	[60]
	I κ B	Két promóter SNP védő hatása	[33]
	HSP-70	Nincs összefüggés sepsissel	[61]
	MBL („csökkent-termelő” MBL2 kódoló allélek)	Összefüggés Candida véráram fertőzéssel	[21, 62]
	CEACAM1	Nincs összefüggés sepsissel	[63]

TLR: Toll-like receptor; LPS: lipopolysaccharid; LBP: LPS-kötő fehérje; TNF α : tumor nekrozis faktor-alfa; TNF-R: TNF receptor; IL: interleukin; MIF: macrophag gátló faktor; IFN γ , interferon-gamma; IL-1RA, IL-1 receptor agonista; TGF: transzformáló növekedési faktor; IGF1R: inzulin-növekedési faktor receptor 1; HSP: hő sokk protein; CAP: közösségben szerzett pneumonia; PAI-1: plazminogén aktivátor inhibitor 1; TAFI: thrombin-aktiválható fibrinolízis inhibitor; ACE: angiotenzin-konvertáló enzim; Fc γ Rec-IIa: Fc gamma receptor IIa; MBL: mannóz-kötő lektin; CEACAM: karcinoembrionális antigénszerű sejtadhéziós molekula.

A fentieknek megfelelően nincs egyszerű dolga annak a kutatónak, aki bele akar nyúlni ebbe a „darázs-fészekbe”. A tanulmányok korrekt értékeléséhez, illetve a megfelelő vizsgálat megtervezéséhez elengedhetetlen a genetikai nomenklatúra és a vizsgálati lehetőségek tisztázása, valamint a sepsis pathomechanizmusának ismerete. Ezeket a következő három alfejezetben kísérelem meg röviden összefoglalni.

1. 2. A nomenklatúra, avagy a gének nyelve

Steve Jones „A gének nyelve” című művében igen szemléletesen ismerteti a genetika alapjait. „Az öröklődés időben zajló párbeszéd, egy sor utasítás átadása generációról generációra. Saját szókincse van, amelyet maguk a gének alkotnak. Saját nyelvtana: az a mód, ahogyan az információ elrendeződik. Saját irodalma, amely az emberi lény létrehozásához szükséges több ezernyi utasítást jelenti. Alapja a DNS... A gének nyelvének egyszerű az ábécéje, nem negyvennégy, hanem mindössze négy betűből áll: ezek a betűk a DNS-bázisok – az adenin, a guanin, a citozin és a timin (röviden A, G, C és T). A betűk hárombetűs szavakká alakulnak, mint például CGA vagy TGG. Ezek többnyire aminosavak kódjai, amelyek maguk is összeállnak, és fehérjéket alkotnak, a test építőköveit... Mind a nyelv, mind a gének fejlődnek. Minden egyes generáció követ el hibákat az átadás során, s előbb vagy utóbb elég különbség halmozódik fel ahhoz, hogy új dialektus alakuljon ki – vagy az élet egy új formája”[64].

A mutáció a genetikai anyag örökletes megváltozása, amely molekuláris szinten lényegében a nukleotidok sorrendjét vagy számát érinti. Megállapodás szerint mutációról beszélünk, amennyiben a fenti változás a populáció <1 %-ánál figyelhető meg, és polimorfizmusról, amennyiben ennél nagyobb arányban. A polimorfizmusok nagyobb gyakorisággal jelentkeznek, mint azt új mutációk esetén várni lehetne, mivel ezek a genetikai változások a túlélés szempontjából előnyt hordozhatnak. A polimorfizmus tehát olyan mutációnak tekinthető, mely szelekciós előnyre tett szert az evolúció során. Amennyiben a polimorfizmus a genetikai kódon belül egy egyszeri nukleinsav csere eredménye, például a DNS szekvencia AACTGC-ről AGCTGC-re változik, egyedi nukleotid polimorfizmusról (SNP) beszélünk.

Bár egy adott faj genomjának jelentős része azonos, egyéni variációk a genom 0,01%-ában megfigyelhetők [9]. Minden egyes ember genomjában közelítően tízmillió SNP található [65]. A legtöbb SNP leírását már hozzáférhető adatbázisok tartalmazzák, azonban funkcionális analízis csak csekély hányaduknál történt eddig [66].

Az SNP-k a gén kódoló és nem-kódoló szakaszaira egyaránt eshetnek. A kódoló szakaszra eső SNP-k lehetnek szinonim SNP-k, melyek nem befolyásolják az adott aminosav kódját, vagy nem-szinonim polimorfizmusok, melyek megváltozott fehérje képződéshez vezethetnek (3. Táblázat). Néhány nem-szinonim változás a fehérje funkciójának elvesztését vagy változását eredményezheti (más néven funkcionális SNP), mely befolyásolhatja a betegségre adott válaszreakciót. Példaként az alvadási rendszer V. faktor génjének kódoló polimorfizmusát (közismertebb nevén Leiden mutációt), a +1691 helyen G-ről A-ra cserélődését említhetjük [67]. Ez a polimorfizmus az 56. aminosav pozícióban, mely az aktivált protein C egyik hasító helye, az arginin glutaminnal történő szubsztitúcióját eredményezi. A hasítóhely hiányában az V. faktor inaktivációja késik, ami hypercoagulatio állapotot idéz elő.

A nem-szinonim SNP-khez hasonlóan a promóter régió polimorfizmusai is fontosak. Bár nem változtatják meg a fehérje szerkezetét, azonban a transzkripció faktorok bekötődésének módosításával a protein termelés mértékét befolyásolják. Ilyen például a plazminogén aktivátor inhibitor-1 gén 4G/5G polimorfizmusa, mely 675 bázispár távolságra felfelé található a transzkripció kezdőhelyétől. Habár mindkét allél kötődik a transzkripció aktivátorhoz, az 5 G allél, azáltal, hogy egy repressor fehérjét is megköt, csökkenti az átírási mértékét, és a keringésben a PAI-1 alacsonyabb koncentrációját eredményezi [68, 69].

Az SNP-k többsége ugyanakkor - mivel vagy nem-kódoló szakaszon helyezkedik el vagy azonos aminosavat kódoló, szinonim SNP - nem befolyásolja a fenotípust. A nem-kódoló SNP-k közül azok, amelyek az 5' vagy 3' nem átíró régióban találhatóak, feltehetően fontosabbak, mint azok, amelyek az intronok - a DNS nem-kódoló szakaszai, melyek kezdetben átíródnak a ribonukleinsavba (RNS), de a végső RNS-ből már kivágásra kerülnek - területére esnek. Ezek az SNP-k a transzkripciót követő gén expresszió szabályozásában, az mRNA sejtmagba történő transzportjának irányításában és a fehérjeszerkezet stabilizálásában vehetnek részt [70].

Ezen jellemzők megértése alapvető fontosságú a megfelelő SNP kiválasztásakor az oki tényezőket vizsgáló kandidáns gén analízisek során. A promóter régió és a nem-szinonim SNP-k vizsgálata úgy tűnik fontosabb, mint a nem kódoló régióké.

Az adott elváltozásért valóban felelős SNP megtalálása sokszor nem egyszerű és nem egyértelmű. Előfordulhat, hogy amikor úgy gondoljuk, hogy sikerült az adott fenotípussal „összefüggő” SNP-t kimutatni, valójában csak egy „markert” és nem az oki génelváltozást találtuk meg. Az adott „marker”, mivel azonos génszakaszon helyezkedik el, együtt öröklődhet az oki variánssal. A jelenséget, amikor két genetikai variáns generációkon keresztül kapcsolatosan öröklődik, linkage disequilibrium-nak, kapcsoltsági egyensúlytalanságnak (LD) nevezzük. Adott génen belüli SNP-k LD térképei ma már nyilvánosan hozzáférhetőek, és jelentős segítséget jelentenek a kandidáns gén analízisek marker SNP-inek kiválasztásához.

A haplotípus egy kromoszómán elhelyezkedő, genetikailag kapcsolt öröklődést mutató SNP készlet, egyfajta genetikai ujjlenyomat [71]. Ezen erősen konzervált blokkok kialakulását, fennmaradását és elterjedését feltehetően evolúciós folyamatok irányítják. A kapcsolt öröklődés miatt a haplotípus blokk néhány, helyesen megválasztott, jellemző („tag”) alléljának azonosításával a régió összes többi polimorf helye is azonosítható. Amennyiben az adott kromoszómán a betegségre mutatott fogékonyság szempontjából több lehetséges allél is található, a haplotípus vizsgálatok számos előnyt jelenthetnek az egyéni SNP analízisekkel szemben. A haplotípusok egy teljes gén (vagy gének) kódoló és nem-kódoló régióinak szekvenciáit is tartalmazzák, ennek megfelelően pontosabban tükrözik a biológiai funkció szempontjából egységet képező génszakaszt. A haplotípus analízisek ismeretlen rizikót vagy védelmet jelentő variánsok feltérképezését is könnyítik, ezáltal az olyan összetett betegségekben, mint a sepsis, a fogékonyságra hajlamosító gén hatékonyabb azonosítását teszik lehetővé, mint az egyéni SNP vizsgálatok. Továbbá, a haplotípus-alapú analízisek segítenek a statisztikai összehasonlítások számának redukálásában, így a vizsgálat egyszerűsítésében is [72, 73].

A genetikai epidemiológiai fogalmak rövid összefoglaló nevezéktanát és magyarázatát a 3. Táblázat tartalmazza.

3. Táblázat. A genetikai epidemiológiai fogalmak nevezéktana és rövid magyarázata.

Kifejezés	Magyarázat
Allél	Egy gén alternatív formája
Egyedi nukleotid polimorfizmus (SNP)	Egyszeri nukleinsav csere következtében kialakult mutáció, mely a normál populáció $\geq 1\%$ -ában megtalálható
Exon	A DNS azon része, mely az adott gén fehérjének termeléséért felelős kódot tartalmazza
Haplotípus	Szorosan összefüggő variánsok, melyek egy egységként öröklődnek
Intron	A DNS nem-kódoló része, mely kezdetben átmásolódik az RNS-be, de a végső RNS átíratból már kivágásra kerül
Linkage disequilibrium (kapcsoltsági egyensúlytalanság)	Kapcsolt lókuszon elhelyezkedő allélek nem-random asszociációja
Mutáció	DNS szekvencia változása, gyakoriság $\leq 1\%$
Nem-szinonim vagy „missense” SNP	Az átírt protein aminosav változását eredményező SNP
Polimorfizmus	DNS változása, gyakoriság $\geq 1\%$
Szinonim SNP	Az átírt protein aminosav változását nem eredményező SNP
Tag (marker) SNP	Amennyiben az SNP-k egymással vagy egy haplotípuson belül linkage disequilibrium-ban találhatók, egy vagy több markerként szolgáló SNP segítségével az egész haplotípus blokk azonosítható, ezeket nevezik „tag” SNP-nek.

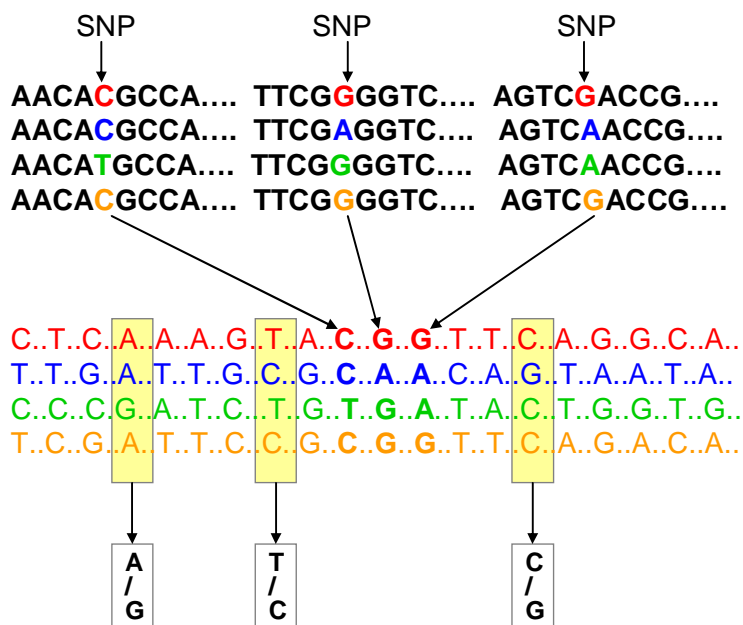
A fertőzéssel szembeni fogékonyságot és a sepsis súlyosságát befolyásoló gyulladáshoz vezető válaszreakcióban részt vevő kromoszóma szakaszok egyedi nukleotid polimorfizmusai és haplotípusai magyarázattal szolgálhatnak a hasonló fertőzések során megfigyelt klinikai variabilitásra [74-76]. Az 1. Ábra az egyedi nukleotid polimorfizmusok és haplotípusok sematikus képét mutatja.

SNP-k

1. kromoszóma
2. kromoszóma
3. kromoszóma
4. kromoszóma

Haplotípusok

1. haplotípus
2. haplotípus
3. haplotípus
4. haplotípus

Marker („tag”) SNP-k

1. Ábra. Az egyedi nukleotid polimorfizmusok (SNP), haplotípusok és marker SNP-k sematikus ábrázolása.

Adott kromoszómán elhelyezkedő adott rövid DNS szakasz négy emberben kimutatható négy variánsát vázolja az ábra.

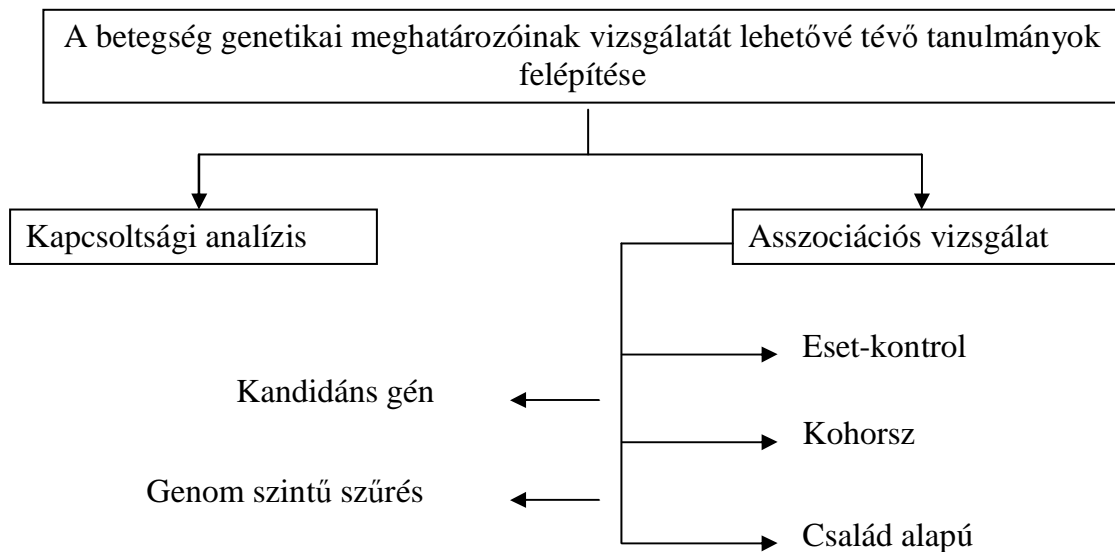
SNP-k: A DNS szekvencia legtöbb része azonos ezen a kromoszómán, azonban három bázisban variációk észlelhetők, ezek az SNP-k. Mindegyik SNP-nek két lehetséges allélja van, így az első blokkban szereplőknek például C vagy T.

Haplotípusok: A haplotípusok közeli SNP-k összetartozó alléljainak kombinációi. Jelen esetben egy több ezer bázis hosszú DNS szakaszból mindössze a különbséget jelentő 20 SNP-t ábráztuk.

Marker („tag”) SNP-k: a haplotípus blokkokból elegendő mindössze a három SNP -amennyiben ezek a blokkra jellemző marker SNP-k - azonosítása a haplotípusok meghatározásához, mivel ezek az SNP-k bizonyítottan kapcsolatos öröklődnek. Ekképpen, ha egy adott kromoszóma az A-T-C marker SNP kombinációval rendelkezik, úgy elmondható, hogy az 1. haplotípust hordozza.

1. 3. A betegségek genetikai hátterének vizsgálat tervezési lehetőségei

A genetikai variánsok betegségben játszott szerepének megítélésére alapvetően kétfajta megközelítés ismert: a kapcsoltsági analízis és az asszociációs vizsgálatok (2. Ábra) [77].



2. Ábra. Genetikai tanulmányok felépítésének áttekintése.

A kapcsoltsági analízis a meiotikus eseményeknek megfelelően, a betegségek és a genetikai variánsok megjelenését követi nyomon adott család több generációján keresztül. A krónikus betegségekkel szemben (például diabetes) a kritikus betegségek (mint például pneumonia esetén kialakult-e akut respirációs distressz szindróma) pontos, régmúltbeli kórtörténetének felvétele nehéz. Ez a megközelítés tehát kevésbé hasznos és nemigen használt az intenzív osztályos betegségek vizsgálatára. A kapcsoltsági analízissel szemben, az asszociációs vizsgálatok a genetikai változó és a betegség közötti kapcsolat fennállását nagy populációkban tanulmányozzák. A gén asszociációs vizsgálatok lehetnek kohorsz- vagy eset-kontrol tanulmányok. A kohorsz vizsgálatok (például nagy populáció hosszú távú megfigyelése, várva arra, hogy pneumonia és szövődményei kialakuljanak) időigényesek és drágák, nem praktikusak a ritkább betegségek esetén, míg az eset-kontrol tervezést (például allél frekvenciák

összehasonlítása pneumonia eredetű sepsis súlyosságának tekintetében egy adott kontrolcsoporttal) a kiválasztási kritériumok hibái befolyásolhatják.

A genetikai variációk vizsgálatára két módszertani lehetőség van: a genom szintű- és a kandidáns gén asszociációs vizsgálat.

A genom szintű asszociációs vizsgálatoknál a kutató nem tudja, hogy melyik lókuszt felel az adott betegségre mutatott fogékonyságért, így megpróbálja a vizsgált betegséggel kapcsolatos kromoszóma régiót azonosítani [78]. Ez a hipotézis-generáló megközelítés komoly technikai háttérrel, jelentős munkát és anyagi befektetést igényel.

A kandidáns gén megközelítés azon egy vagy több gén variánsainak vizsgálata, melyek a betegségre jellemző biológiai folyamatban nagy valószínűséggel részt vesznek. Ehhez a megközelítéshez már szükséges a betegség, jelen esetben a sepsis kórélettani hátterének, biológiájának ismerete (lásd részletesen a következő fejezetben). A kandidáns gén megközelítést elterjedten használják, mert a genom szintű asszociációs vizsgálathoz képest egyszerűbb és relatív olcsó.

A populáción belüli al-populációk az eltérő etnikai eredet miatt egyedi genetikai felépítéssel rendelkezhetnek, a genetikai változók más összetételét hordozhatják. A vizsgálatokban résztvevő egyének csoportosításánál a rasszt általában önbevallás alapján állapítják meg, hogy a kényes etikai kérdéseket megbolygató etnikai besorolást elkerüljék. Az etnikai tévesztés sokkal gyakoribb az afrikai, amerikai saját bevallás esetén, mint a kaukázusi etnikai csoportban [79]. Egyelőre nem tisztázott, hogy a populációs keveredés milyen mértékben befolyásolja a genetikai asszociációs vizsgálatok eredményeit. A populációs besorolások korrigálására újabb, a nem-kapcsolt markerek tipizálásával dolgozó technikákat fejlesztettek ki [80, 81]. Hogy ez a megközelítés megfelelő-e, egyelőre kérdéses [82].

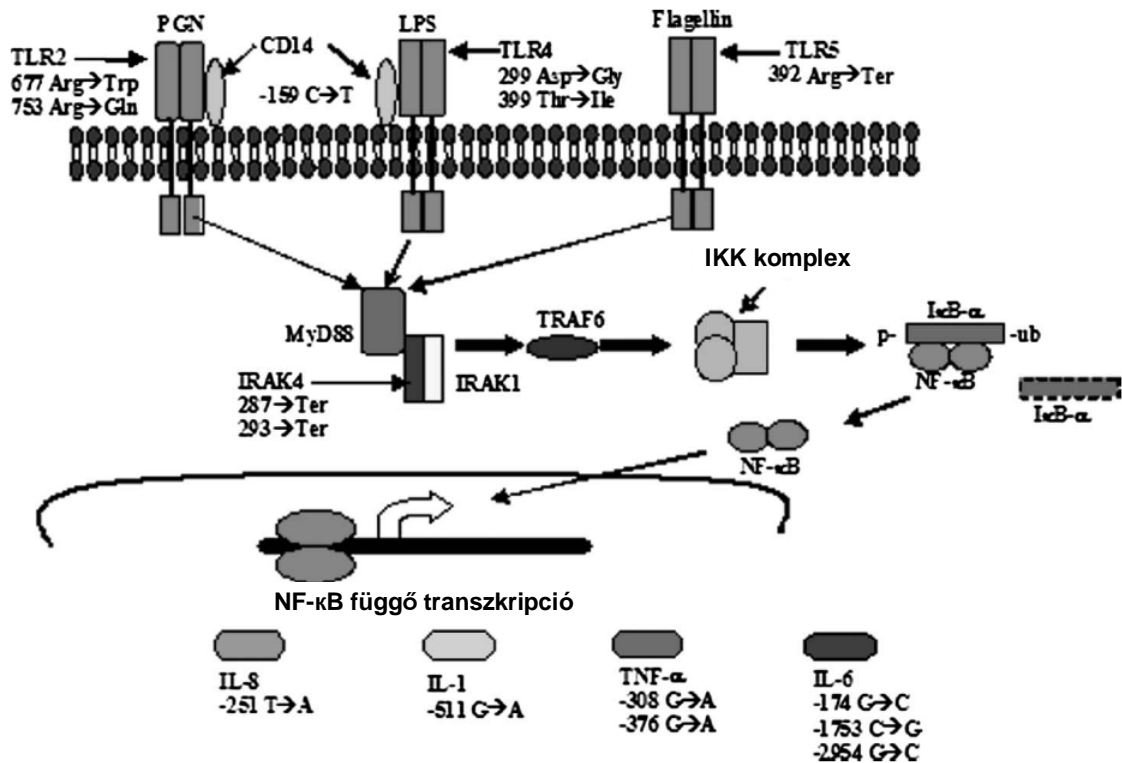
1. 4. A sepsis pathomechanizmusa

A sepsis pathogenezeise igen összetett, a kórokozó és a gazdaszervezet számtalan tényezőjének interakciójából kialakuló, bonyolult folyamat. Mind a baktériumok, mind a macrophagok több mint 1000 gén (és protein) termelődését fokozzák, és bő 300 gén működését szorítják vissza, az eredmény ezen tényezők összefüggő interakciójának a következménye [83]. A sepsis genetikai hátterének kutatása során alkalmazott kandidáns gén megközelítésnél a biológiai folyamatban fontos szerepet játszó fehérjék génpolimorfizmusait vizsgálják, ehhez a sepsis pathomechanizmusának alapismerete elengedhetetlen.

A fertőzés során az adott egyed túlélése a kórokozók gyors felismerésén és a mielőbbi válaszreakción múlik. A fertőző mikroorganizmus elleni védekező mechanizmusok a veleszületett és a szerzett immunitásrészei. Az immunrendszer a kórokozók biokémiai mintáinak felismerésére és gyors reagálásra van programozva. A szerzett immunitás celluláris (T-sejtes) és humorális (B-sejtes) ága kétségtelenül fontos lehet a sepsis kialakulásában, azonban ennek vizsgálata sepsisben nehezen megoldható és objektivizálható, így e téren igen korlátozott az ismeretanyag. A veleszületett immunrendszer tekintetében több információval rendelkezünk. Bár a pontos pathophysiologiai sort még nem tudjuk felrajzolni, az biztos, hogy a komplement rendszernek, a monocytáknak, a macrophagoknak és a neutrophileknek fontos szerepe van a sepsis pathogenesisében, hiszen ezek aktiválódása ismert [84, 85]. Bár a veleszületett immunrendszer tagjai nem rendelkeznek az antigének olyan fokú precíz felismerésével, mint a szerzett immunitásban résztvevő immunglobulinok és T sejt receptorok, mégis hatékonyan képesek felismerni a mikrobiális kórokozókat a felszínükön elhelyezkedő patogén asszociált mintázatok (PAMP) alapján. A PAMP-okat biokémiai szempontból mikrobiális cukrok, peptidoglikánok, glikolipidek és egyéb általában repetitív struktúrák alkotják. Az egyik legátfogóbban tanulmányozott ilyen molekula a lipopolysaccharid (LPS), vagy bakteriális endotoxin a Gram-negatív baktériumok külső membránjának alkotója, és a sepsisben érintett egyik legfontosabb bakteriális termék [84]. Az ember egyike az endotoxin erős immunstimuláns hatásaira legérzékenyebben reagáló fajoknak. Az LPS egy akut fázis plazma proteinhez, az LPS-kötő proteinhez (LBP) kapcsolódik, mely az LPS-t a monocyták, macrophagok és

neutrophil sejtek felszínén elhelyezkedő CD14 sejt felszíni receptorhoz szállítja [85]. Az LPS indukálta jelátvitel a Toll-like receptorok CD-14 mediálta aktiválásával kezdődik (3. Ábra) [5].

A Toll-like receptorok (TLR) egy ősi és az evolúció során konzervált receptorcsalád tagjai. Tíz, széles ligand-specifitással (LPS, peptidoglikán, lipoteikolsav és különböző patogének lipoproteinjei) rendelkező TLR-t ismerünk, ezek elengedhetetlenek a veleszületett immunválasz aktiválásához [86]. A TLR4 az LPS receptor, a TLR2 elsősorban a Gram-pozitív sejtek fali struktúráit észleli, a TLR5 a flagellinek és a TLR9 a bakteriális DNS elemeit ismeri fel. Mind a TLR, mind az IL-1 receptor a nukleáris faktor κ B (NF- κ B) család aktiválását előidéző szignálutakat indít be. A TLR4 aktiválásához egy plusz sejt felszíni molekulára, az MD-2-re is szükség van. A TLR számos kinázt aktivál, melyek végül az I κ B foszforilációjához vezetnek. Utóbbi következtében NF- κ B szabadul fel, mely a sejtmagba vándorol, ahol a gyulladássos- és immunválasz génjeinek széles tárházát aktiválja (3. Ábra) [74, 84].



3. Ábra. Toll-like receptorok jelátviteli útja és a citokin polimorfizmusok. Arcaroli és munkatársai [74] után módosítva.

PGN: peptidoglikán; LPS: lipopolysaccharid; TLR: Toll-like receptor; IRAK: IL-1 receptor-asszociált kináz; MyD88: myeloid differenciációs primér válasz 88; TRAF6: TNF receptor asszociált 6-os faktor; IKK: IκB kináz; NF-κB: nukleáris faktor kappa B; IκB: kappa B inhibitor; IL: interleukin; TNF-α: tumor nekrozis faktor-alfa

A kórokozó felismerését követően a veleszületett immunválasz kiterjedt aktiválódása figyelhető meg, ennek célja a humorális és celluláris összetevőjű védekező válaszmechanismusok koordinálása. Központi szerep jut a mononukleáris sejteknek, melyek a klasszikus proinflammatorikus citokineken – IL-1, IL-6, tumor nekrozis faktor-alfa (TNF- α) – kívül számos más citokint (IL-8, IL-12, IL-15, IL-18) is kibocsátanak. Ahhoz, hogy az idegen antigéntől a gazdaszervezet károsítása nélkül lehessen megszabadulni, anti-inflammatorikus mediátorok (IL-10, IL1RA, TGFβ) termelése is szükséges. A pro- és anti-inflammációs út aktiválása szoros kontrol és szabályozás alatt áll. Ezek az utak más, homeosztázist szabályozó útvonalakhoz kapcsolódnak, mint az alvadási-fibrinolitikus rendszer, lipid mediátorok, akut fázis- és

hősokek fehérjék, neutrophil-endotheliális sejt aktiváció, a hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely, immun- és nem-immunsejt apoptosis, fokozott nitrogén-monoxid termelés, oxidáns/antioxidáns út. Ezek az utak összetett pozitív és negatív visszacsatolásokon keresztül kapcsolódnak. A sepsis progressziójakor kialakuló súlyos septicus, septicus shockos állapot hátterében e szorosan integrálódott homeosztatisz rendszerek kisiklását feltételezik [87].

A homeosztatisz szabályozó útvonalak közül az alvadási-fibrinolítikus rendszer megbolydulása - a prokoaguláns utak aktiválódása és az antikoaguláns mechanizmusok csökkent hatékonysága - kulcsszerepet játszik a többszervi elégtelenség és a következményes halálozás kialakulásában [88, 89]. Az alvadási- és gyulladási rendszer aktivációja szorosan összekapcsolódik, és kölcsönösen függ egymástól sepsisben [90]. A TNF- α és az IL-1 fokozza az erősen thrombogén szöveti faktor (TF) termelődését. Sepsisben valószínűleg a keringő monocyták és granulocyták a TF termelés fő forrásai [91]. A TF generálta fokozott alvadási egy természetes alvadásgátló a szöveti faktor út inhibitor (TFPI) gátolja [92], illetve a szervezet két igen hatékony alvadásgátlójának a protein C-thrombomodulin útnak és az antithrombin III-nak jut itt szerep [89]. A már szisztémásan kialakult fibrin thrombusokat, a sepsis kezdeti szakaszában fokozott mértékben termelődő szöveti- és urokináz típusú plazminogén aktivátor következtében felszaporodott, plazmin bontja el. Azonban néhány órával a sepsis kialakulását követően, a plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1) szintje megemelkedik, ezzel párhuzamosan a plazminogén aktivátor és így a plazmin szintje is esik. A proinflammatorikus citokinek, mint a TNF- α és az IL-1 fokozzák a PAI-1 termelődését [93]. A sepsis kezdetekor gyorsan, de csak átmeneti ideig aktiválódó fibrinolítikus rendszert a plazma PAI-1 szintjének jelentős és tartós emelkedése bizonyos mértékig működésképtelenné teszi [94]. A PAI-1 igen hatékonyan távolítja el a szöveti típusú plazminogén aktivátort, a microvascularis fibrin lerakódások már nem oldódnak fel, és ez szervelégtelenség kialakulásához vezet. A fibrin termelés és bontás közötti egyensúly kisiklásának eredményeként disszeminált intravaszkuláris koaguláció (DIC) és többszervi elégtelenség (MODS) alakulhat ki [94]. A PAI-1 szintje a kimenetellel fordítottan korrelál [50, 69, 95-97].

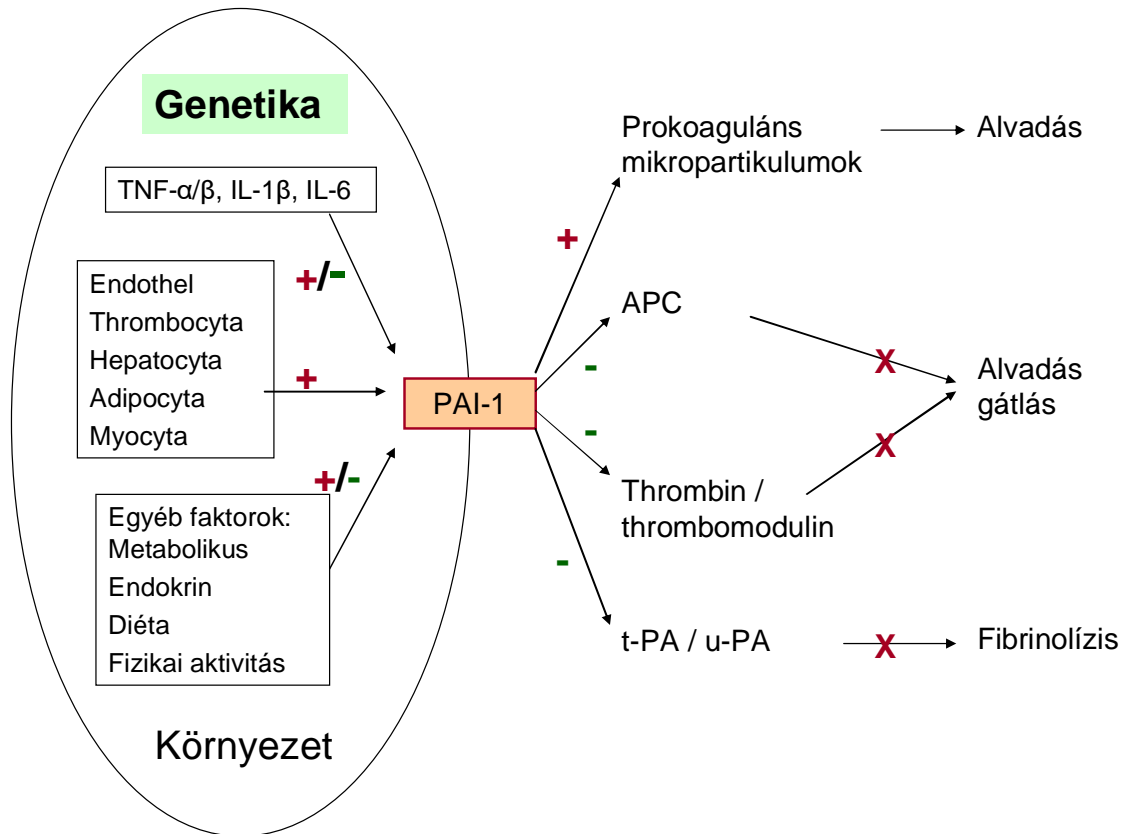
A sepsis pathomechanizmusának alábbi rövid áttekintése révén tematizálhatóvá és rendszerezhetővé váltak az eddigi kandidáns gén vizsgálatok, melyeket a 2.

Táblázatban tüntettem fel. A következő két fejezetben a septicus kórfolyamatot két szempontból közelítem meg:

- a többszervi elégtelenségért és halálozásért felelős sérült fibrinolitikus rendszer, illetve
- az immunválaszt átfogón érintő humán fő hisztokompatibilitási komplex régió oldaláról.

1. 5. A plazminogén aktivátor inhibitor-1 szerepe sepsisben

A szerin proteáz inhibitor családkhoz (serpine) tartozó plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1) a fibrinolízis gátlásának egyik kulcsfigurája. Ez az 50 kDa nagyságú glikoprotein a rokon proteázával irreverzibilis szoros komplexet alkotva gátolja annak működését [94]. A PAI-1 elsődleges szerepe *in vivo* a szöveti- és urokináz-típusú plazminogén aktivátorok gyors gátlása. Az endothélium és a trombociták által termelt PAI-1 vitronectinhez kapcsolt állapotban található, ez a kötődés 2-4-szeresére növeli a PAI-1 féléletidejét a keringésben. A PAI-1-vitronectin komplex az aktivált protein C és thrombin leghatékonyabb gátlója, amennyiben heparin nincs jelen [98]. A PAI-1 a thrombomodulinnal verseng a thrombinhoz való kötődésért [99]. Ez és az aktivált protein C gátló hatása együttesen a PAI-1-et igen erős helyi alvadást fokozó anyaggá teszik, egyben felhívják a figyelmet arra, hogy a PAI-1 központi szerepet játszik a sepsis és trauma során kialakuló akut fázis válaszban. PAI-1 termelését számos sejtben (endothel sejtek, trombocyták, hepatocyták, adipocyták, myocyták) kimutatták már *in vitro*, de nem egyértelmű, hogy mely sejtek felelősek a glikoprotein *in vivo* termeléséért [100, 101]. PAI-1 a trombocyták α -granulumaiban is tárolódik, az itt raktározott, döntően inaktív forma érsérülést követően szabadul fel [102]. A PAI-1 gyulladás, sérülés során egyszersmind akut fázis proteinként is funkcionál [103, 104]. Plazmaszintjét genetikai, metabolikus, endokrin, táplálkozással- és a fizikai aktivitással összefüggő faktorok befolyásolják, szintje gyulladás vagy sérülés hatására jelentősen megemelkedik [102, 105-109] (4. Ábra). A PAI-1-et a keringésből a máj, illetve az endotheliális inaktiváció távolítja el [102].



4. Ábra. A PAI-1 hatásai és termelődésének mértékét befolyásoló faktorok. Hermans és munkatársai [112] után módosítva.

APC: aktivált protein C; t-PA: szöveti típusú plazminogén aktivátor; u-PA: urokináz típusú plazminogén aktivátor

Az alveoláris kompartment a PAI-1 termelés és aktivitás fontos helye. Számos tanulmány rosszabb kimenetelt igazolt azon akut tüdősrülés, akut respirációs distressz szindróma és súlyos pneumonia miatt hospitalizált betegeknél, akiknél a PAI-1 emelkedett szintje volt mérhető a bronchoalveoláris mosófolyadékban és a plazmában [110, 111]. Septicus betegeknél a PAI-1 szintje a rosszabb kimenetellel, a betegség súlyosabb lefolyásával, különböző citokinek, akut-fázis proteinek és koagulációs paraméterek emelkedett szintjével mutatott pozitív összefüggést [112].

A PAI-1-t kódoló gén számos polimorf lókusszal rendelkezik, ezek közül a legtöbbet a 4G/5G inszerció/deléción polimorfizmust (rs1799768) vizsgálták. Ez a polimorfizmus négy vagy öt (4G/5G) guanin bázist tartalmaz -675-nél a humán *PAI-1*

(*SERPINE1*) gén promóter régiójában [113]. Ezen SNP mindkét allélja transzkripció aktivátorokat képes megkötni, azonban az 5G allél egy átfedő területen egy represszor proteint köt meg. Ennek okán a 4G allél homozigótákban ez a negatív regulátor működésképtelenné válik, ami a *PAI-1* gén nagyobb mértékű átíródását eredményezi, míg a heterozigóták köztes fenotípust mutatnak [68, 94]. A 4 G allél homozigóták esetében a PAI-1 transzkripciója és következésképp plazma szintje 25%-kal magasabb, mint az 5G allél homozigótákban [114]. A 4G allél prothromboticus hatását számos klinikai körülmény között vizsgálták már. Úgy tűnik minden szervet érint, kivéve talán egyet, agyi thrombosisoknál nem igazolták oki szerepét [115]. Ugyanakkor szignifikáns összefüggést mutatott a myocardialis infarctus mortalitásával [116, 117]. A 4G/5G polimorfizmus 4G allélja közösségben szerzett pneumoniával szembeni fokozott fogékonysággal, és súlyos pneumoniában szenvedő betegek magasabb mortalitásával volt kapcsolatba hozható [118, 119]. A 4G allél hordozása esetén fokozott rizikót írtak le meningococcus sepsis, valamint trauma súlyos szövődményei és magasabb mortalitása tekintetében [50, 97, 120-122].

1. 6. A humán fő hisztokompatibilitási komplex és a 8.1 ősi haplotípus szerepe gyulladási folyamatokban

A humán fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) a gyulladási-, fertőző-, autoimmun folyamatokkal és a szervtranszplantációval kapcsolatos rendellenességek tekintetében az egyik legfontosabb (150-200 gént érintő) genetikai régió [123]. Az MHC régió közös, távoli őstől származó, erősen konzervált dezoxiribonukleinsav (DNS) szekvenciák relatív hosszú szakaszait tartalmazza, melyeket más néven ősi haplotípusoknak (AH) nevezünk. A kaukázusi populációban az egyik ilyen legelterjedtebb (~ 10%) haplotípus az AH8.1. Az AH8.1 – többek között - HLA-DQB1*0201 (DQ2), HLA-DRB1*0301 (DR3), *AGER* (korábban RAGE néven ismert) - 429C, C4A*Q0, C4B1, BfS, *HSP70-2* (*HSPA1B* néven is hivatkozott) 1267G, *TNF* - 308A, *LTA* 252G, HLA-B*0801 (B8), HLA-Cw*0701 és HLA-A*0101 (A1) allélekkel jellemezhető [123].

Az AH8.1 számtalan immunpatológiai rendellenességgel, immun-mediált betegséggel és colorectalis carcinomával hozható összefüggésbe [124-126]. Az AH8.1-gyel kapcsolatba hozható betegségek jelentős száma arra enged következtetni, hogy ez a haplotípus számos vonatkozásban befolyásolhatja az immunválaszt. Mitogén stimulációra adott válaszreakció során megváltozott citokin termelést írtak le az AH8.1 hordozókban [127]. Az AH8.1 hordozókban a vér lymphocytáinak fokozott spontán apoptosist és a különböző autoantitestek megnövekedett termelését mutatták ki, ami feltehetően fontos szerepet játszik az autoimmun folyamatokban [123, 128]. A számos immunológiai paramétert befolyásoló, TNF- α fokozott spontán termelődése az AH8.1 egyik legjellemzőbb tulajdonsága [129]. A keringő immunkomplexek megváltozott kezelése, az antigén prezentálás és feldolgozás sajátosságai, és az AH8.1 hordozókban észlelt egyéb immunválasz változások, feltehetően a haplotípusra jellemző speciális genetikai variációk kombinált hatásának következményei [123, 130]. Az AH8.1 hordozókban leírt immunpatológiai változások ugyanakkor a gazdaszervezet különböző mikroorganizmusokkal szembeni védekezésének hatékonyságát is befolyásolhatják. Az AH8.1 nemrégiben leközölt bakteriális kolonizációt késleltető hatása, melyet cysticus fibrosisban szenvedő betegek esetén észleltek, lényeges lehet egyéb fertőző betegségek, így a sepsis szempontjából is [131].

2. CÉLKITŰZÉSEK

A fenti tanulmányok tükrében azt vizsgáltuk, hogy a sepsis kimenetelét mely genetikai tényezők befolyásolhatják pneumonia eredetű, súlyos sepsisben szenvedő, kaukázusi betegekben.

A vizsgálatok kandidáns gén megközelítéssel történtek. A kandidáns gén megközelítés azon egy vagy több gén variánsainak vizsgálata, melyek a betegségre jellemző biológiai folyamatban nagy valószínűséggel részt vesznek.

Mivel a sepsis progressziójának, a többszervi elégtelenség kialakulásának, illetve a halálozásnak hátterében a fibrin termelés és bontás közötti egyensúly kisiklása feltételezhető, és a PAI-1 szintje a kimenetellel fordítottan korrelál [50, 69, 95-97], a *PAI-1* gén 4G/5G polimorfizmusának hatását vizsgáltuk pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságát, illetve kimenetelét illetően.

Az első hipotézisünk szerint a *PAI-1* polimorfizmus 4G alléljának hordozása a pneumonia eredetű sepsis rosszabb kimenetelére hajlamosíthat. Ennek megfelelően az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

1. A *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus genotípus megoszlása és allél frekvenciája mutat-e összefüggést a sepsis súlyosabb lefolyásával, septicus shock, többszervi elégtelenség kialakulásával?
2. A felvételi DIC pontszám mutat-e összefüggést a *PAI-1* 4G/5G allél frekvenciájával?
3. A *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus genotípus megoszlása és allél frekvenciája befolyásolja-e az intenzív osztályos mortalitást?

A humán fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) a gyulladáso-, fertőzőes folyamatokkal kapcsolatos rendellenességek tekintetében az egyik legfontosabb genetikai régió. Az itt található erősen konzervált blokkok kialakulását, fennmaradását

és elterjedését feltehetően evolúciós folyamatok irányítják. A haplotípusok egy teljes gén (vagy gének) kódoló és nem-kódoló régióinak szekvenciáit is tartalmazzák, ennek megfelelően az SNP-knél pontosabban tükrözik a biológiai funkció szempontjából egységet képező génszakaszt. A kaukázusi populációban az egyik ilyen legelterjedtebb (~ 10%) haplotípus az AH8.1 [123]. A sepsis poligénes szindróma. Az AH8.1 a sepsis lezajlásával kapcsolatban eddig vizsgált kandidáns gének közül többet is tartalmaz. Ennek megfelelően az AH8.1 hordozó állapotnak a pneumonia eredetű sepsis súlyosságára és mortalitására kifejtett hatása került elemzésre.

A második hipotézisünk alapján az AH8.1 hordozók betegségének kimenetele kedvezőbb lehet pneumonia eredetű sepsisben. Ennek megfelelően az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

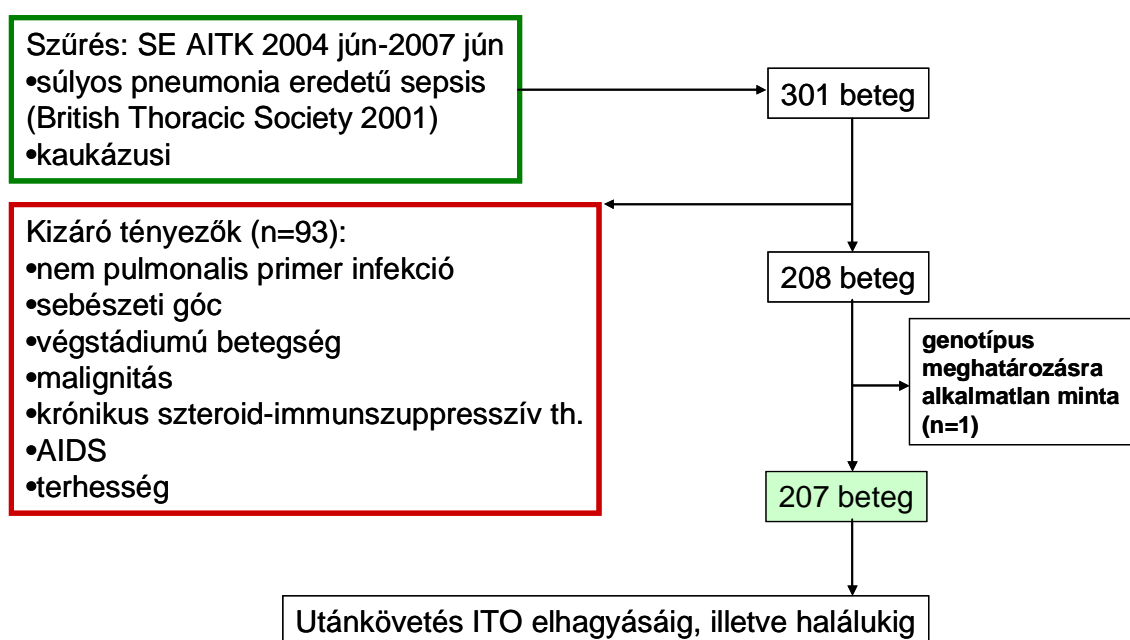
1. Milyen hatással van az AH8.1 a pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára, septicus shock kialakulására?
2. Milyen hatással van az AH8.1 a pneumonia eredetű sepsis mortalitására?

Amikor a sepsis egyéni, eltérő lezajlását befolyásoló SNP-k hatásait tanulmányozzuk, figyelembe kell venni, hogy klinikai tényezők, mint a fertőzés eredete, a pathogén virulenciája, a sebészeti góctalanítás elmaradása, a tünetek megjelenésétől a kórházi felvételig és megfelelő kezelésig eltelt idő, kísérő betegségek jelenléte, az etnikai eredet és nemi megoszlásbeli különbségek zavarhatják az eredmények megfelelő értelmezését. Ezen zavaró – a korábbi tanulmányokban gyakran figyelmen kívül hagyott - tényezők minimalizálásával, egy relatív homogén kohorszban, kaukázusi, pneumonia eredetű, súlyos sepsisben szenvedő betegekben történtek a vizsgálatok.

3. MÓDSZEREK

3. 1. A betegek és a meghatározások

A vizsgálatok 2004. június 1. és 2007. június 30. között történtek. A Semmelweis Egyetem Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Klinikájára sorozatban sepsis iránydiagnózissal felvett 301 beteg közül 208 súlyos, pneumonia eredetű sepsisben szenvedő beteg felelt meg a vizsgálat kritériumainak, és került bevonásra a kutatásba az intenzív osztályra történt felvételt követő 24 órán belül (5. Ábra). A *PAI-1* gén 4G/5G polimorfizmusának a szervi diszfunkcióra, a betegség lezajlásának súlyosságára és a mortalitásra kifejtett hatásának vizsgálata, valamint a 8.1 ősi haplotípus a betegség lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának vizsgálata egyazon betegkohorszban történt. A kizárási kritériumok a következők voltak: nem pulmonalis eredetű primer infekció, eltávolíthatlan sebészeti septicus góc, malignitás, krónikus betegség végstádiuma, krónikus szteroid- vagy immunszuppresszív kezelés, AIDS, terhesség. A vizsgálatok a betegek vagy hozzátartozójuk írásos beleegyezésével és a helyi etikai bizottság engedélyével történtek.



5. Ábra. A szűrt és a vizsgálatba bevont betegek számának alakulása.

A betegek kezelése a Surviving Sepsis Campaign súlyos sepsis és septicus shock kezelését leíró irányelveinek megfelelően történt [132]. A betegek a valószínűsíthető pathogén várható érzékenységeinek megfelelő empirikus széles spektrumú antibiotikum terápiában részesültek. Pozitív tenyésztési eredmények birtokában (alsólégúti minta vagy haemokultúra) a kórokozó érzékenységeinek megfelelő célzott, lehetőség szerint deescalatio antibiotikum terápia (a kezdeti empirikus széles spektrumú antibiotikum terápiának a kimutatott pathogén érzékenységeinek megfelelő, szűkebb spektrumú antibiotikumra váltása) történt. A betegek anaemiájának rendezése céljából restriktív transzfúziós politikát követtünk, a transzfundált vörösvérsejt koncentrátumok nem voltak fehérvérsejt-mentesítettek. A betegek utánkötése az intenzív osztály elhagyásáig, illetve halálukig történt.

A vizsgálat végpontjai a *PAI-1* gén 4G/5G polimorfizmusának a szervi diszfunkcióra, a betegség lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának analízise során, többszervi elégtelenség (Multiple Organ Dysfunction Syndrome, MODS), septicus shock és bármilyen okból történt halálozás voltak. A betegség lefolyását jellemző folyamatos változókat, mint az intenzív osztályos kezelés hosszát, az invazív lélegeztetés- és a septicus shock nélkül töltött napok számát az első 28 napon szintén elemeztük.

A vizsgálat végpontjai a 8.1 ősi haplotípus a betegség lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának elemzésekor septicus shock és sepsis következtében fellépő halálozás voltak.

Pneumonia diagnózisa köhögés vagy láz fennállása esetén, a mellkasröntgenen megjelent új infiltrátum alapján történt. Minden beteg megfelelt a British Thoracic Society által definiált súlyos pneumonia kritériumoknak [133]. Súlyos sepsisnek a 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS Nemzetközi Sepsis Definíciók Konferencia alapján a fertőzés következtében kialakult akut szervi diszfunkciót, és septicus shocknak az adekvát folyadékterápia ellenére hypotóniával járó súlyos sepsist tekintettük [1]. Sepsis következtében kialakult hypotóniáról beszélünk, amennyiben a systoles vérnyomás kevesebb, mint 90 Hgmm, az artériás középnyomás kevesebb, mint 60 Hgmm, vagy a systoles vérnyomás több, mint 40 Hgmm-rel csökken, és a hypotonia egyéb okai kizárhatóak. A definíció szerint MODS-ról akkor beszélünk, amennyiben „akut betegség esetén kialakult szervfunkció változás észlelhető, melynek következtében a

homeostasis nem tartható fenn beavatkozás nélkül” [134]. Klinikai értelemben MODS-nak tekintettük a kritikus betegség kapcsán két vagy több szervrendszerben egymást követően vagy egyidejűleg kialakult szignifikáns funkciózavart. A disszeminált intravaszkuláris koaguláció (DIC) pontszámot a Nemzetközi Thrombosis és Haemostasis Társaság meghatározása alapján a betegek felvételekor számoltuk [135]. A krónikus obstruktív tüdőbetegségben (COPD) szenvedő betegek azonosítása az American Thoracic Society (ATS) és az European Thoracic Society (ETS) 2004-ben pontosított kritériumainak megfelelően történt [136].

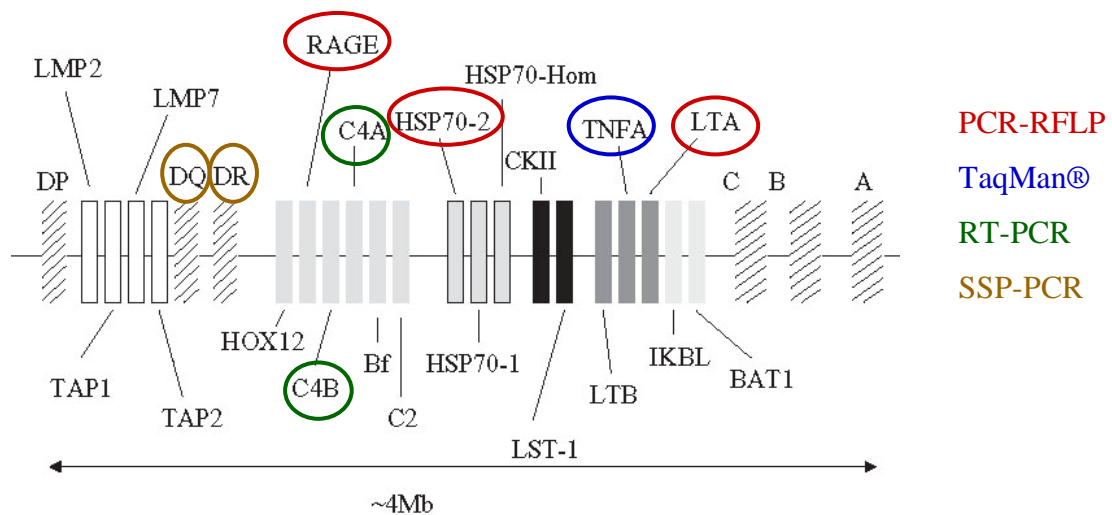
3. 2. Az anyagok és a módszerek

A genomiális DNS-t Miller és munkatársai által leírt „kisózásos módszer” alapján fehérvérsejtekből nyertük ki [137]. Az eljárás során a fehérvérsejteket EDTA-val (etilén-diamin-tetraecetsav) alvadásgátolt vérből, centrifugálást és hipotóniás oldattal történő mosást követően szeparáltuk. A fehérvérsejtek biológiai membránjait proteináz K (a fehérjék nem specifikus emésztéséért felel) és detergens (a lipideket oldja fel) segítségével bontottuk. Ezt követően, a fehérjéket precipitáló, telített NaCl oldattal a mintát fehérje-mentesítettük. Az így visszamaradó DNS-t etanollal kicsaptuk, mosással tisztítottuk, majd beszárítás és desztillált vízben történő feloldás után, mínusz 20 fokon tároltuk.

A *PAI-1* -675 lókuszt a forward 5'-CACAGAGA GAGTCTGGCCACGT-3' és reverz 5'-CCAACAGAGGACTCTTGGTCT-3' primerek alapján amplifikáltuk. Az amplifikált DNS-t *Bs**II* restrikciós enzimmel inkubáltuk és a hasított fragmentumokat 2%-os ethidium bromid gélben analizáltuk elektroforézis segítségével [138].

Az AH8.1 haplotípus vizsgálata során alkalmazott genotipizálási eljárásokat a 6. Ábra mutatja. A *HSP70-2* 1267A>G (rs1061581) [139], *AGER* -429T>C (rs1800625) [140] és *LTA* 252A>G (rs909253) [141] polimorfizmus meghatározás polimeráz láncreakció-restrikciós fragmentum hossz polimorfizmus (PCR-RFLP) és a *TNF* -308G>A SNP (rs1800629) genotipizálás TaqMan[®] próba (Applied Biosystems) alapú

allél diszkriminációval történt [142]. Negatív (nincs DNS) és pozitív (ismert genotípusú minta) kontrolokat használtunk minden mérés során. Az eredményeket a minták körülbelül 10%-ában random re-genotipizálással ellenőriztük. A *C4A* és *C4B* gének kópia számait Szilagyi és munkatársai módszere szerint határoztuk meg [143]. Azokat a személyeket, akik a *C4A* gén kevesebb, mint két kópiáját hordozták *C4A*Q0* hordozóknak tekintettük. A *C4A*Q0*, *TNF -308A*, *AGER -429C*, *HSP70-2 1267G* és *LTA 252G* allélek szimultán hordozása esetén feltételeztük az AH8.1 hordozó állapotot, melyet HLA meghatározással igazoltunk. Azon betegeket tekintettük AH8.1 hordozóknak, akik legalább egy HLA-B8, HLA-DR3 és HLA-DQ2 alléllal rendelkeztek. Mivel a HLA B8/DR3/DQ2 együttes előfordulása külön kromoszómákon igen kicsi valószínűséggel következik be, egy ilyen konstelláció jelenléte gyakorlatilag 100%-os valószínűséggel csak kapcsoltan, egy kromoszómán fordulhat elő, azaz valóban az AH8.1 markere. A HLA-B szerológiai tipizálása standard microlymphocytotoxicitási módszerrel történt (Innotrain Diagnostik GmbH, Kronberg, Germany). A HLA-DQB1 és HLA-DRB1 alléleket HLA-DQB1 és HLA-DRB1 kiték segítségével (Olerup SSP TM DQ kit, Olerup SSP AB, Saltsjöbaden, Sweden), szekvencia specifikus primer (SSP-) PCR módszer használatával mutattuk ki.



6. Ábra. Az AH8.1 meghatározás módszerei. Részletes magyarázat a szövegben.

PCR-RFLP: polimeráz láncreakció-restrikciós fragmentum hossz polimorfizmus;
RT-PCR: valós idejű (real time) polimeráz láncreakció; **SSP-PCR:** szekvencia specifikus primer polimeráz láncreakció

Az adatokat az MS Excel 2003-mal (Microsoft, Redmond, WA, USA) gyűjtöttük és az SPSS 13.0 for Windows (SPSS, Chicago, IL, USA) software segítségével elemeztük. A kategorikus adatokat abszolút számokban és százalékokban, illetve a folyamatos változókat medián és interquartilis tartományokban ábráztuk. A kategorikus adatokat Pearson Chi-négyzet teszt vagy Fisher exact teszt alkalmazásával elemeztük; a folytonos változók és kategorikus adatok összehasonlítása nem paraméteres Mann-Whitney U teszttel és Kruskal-Wallis teszttel történt. Minden feltüntetett p érték kétoldalas és $p < 0,05$ -t tekintettük szignifikánsnak. A Hardy-Weinberg egyensúly analízist a vizsgált genotípusok észlelt és az allél-frekvencia alapján becsült eloszlásának összehasonlítása alapján végeztük. A végpontok független prediktorainak elemzésére többszörös logisztikus regressziós analízist használtunk. Az intenzív osztályon belüli, genotípusokkal és más független változókkal összefüggő mortalitás rizikóját Cox regressziós analízissel becsültük. A *Post-hoc* power analízist Statistica software-rel (Tulsa, OK, USA) készítettük a chi-négyzet teszthez. Az AH8.1 vizsgálatban a pneumonia tüneteinek megjelenési időpontjától, a halálozás vagy az utánkövetés utolsó időpontjáig a túlélés becslésére Kaplan-Meier analízist végeztünk. Log-rank tesztet használtunk a túlélési arányok összehasonlításához.

4. EREDMÉNYEK

4. 1. Betegjellemezők

A vizsgálatból a 208 bevont beteg közül egyet, a genotípus meghatározásra alkalmatlan minőségű DNS minta miatt, kizártunk. A 207 vizsgált beteg medián életkora 65 év volt (interquartilis tartomány: 53-75), a nemek aránya 50,2% férfi és 49,8% nő volt.

Mindegyik betegben legalább egy szervégtelenség (légzési elégtelenség) állt fenn, és 121 (58,5%) szenvedett MODS-ban. Nyolcvankilenc (43%) beteg felelt meg a septicus shock kritériumának és 78 (37,7%) beteg halt meg az intenzív osztályos kezelés során. A halál oka MODS következtében fellépő cardiovascularis collapsus volt. Összesen 163 (78,7%) beteg igényelt invazív gépi lélegeztetést és 44-nek (21,3%) volt szüksége non-invazív lélegeztetésre az intenzív kezelés során. A kórokozó mikroorganizmust 86 (41,5%) esetben nem sikerült azonosítani.

A végpontok alapján kialakított csoportok függvényében vizsgálva a különbségeket, kitűnt, hogy a rosszabb kimenetelű (MODS, septicus shock, nem-túlélő) betegek medián életkora szignifikánsan magasabb volt (4. Táblázat). A nőkben tendenciózusan alacsonyabb mortalitás volt megfigyelhető, mint a férfiakban ($p=0,051$). A kísérőbetegségek incidenciája nem különbözött a három végpont tekintetében, kivéve a jelen ITO kezelést megelőző 2 évben történt pulmonológiai hospitalizációk számát, mely, érdekes módon, ritkább volt a septicus shockos, mint a súlyos sepsises csoportban, valamint a nosocomialis infekciókat, melyek szignifikánsan gyakoribbak voltak MODS és septicus shock, mint nem-MODS és súlyos sepsis esetén. Mint az várható volt, a rosszabb kimenetelű betegek felvételtkor magasabb APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II) és DIC (Disseminated Intravascular Coagulation) pontszámmal rendelkeztek. MODS ($p < 0,001$) és septicus shock ($p = 0,011$) szignifikánsan gyakrabban fordult elő ismert tenyésztési eredmények és célzott antibiotikum terápia esetén, mint az empirikus kezelésben részesült, nem azonosított kórokozójú esetekben.

4. Táblázat. Több szervi elégtelenség, sepsis súlyosság és mortalitás alapján csoportosított betegjellemzők összefoglalása.

Beteg jellemzők Medián (quartilis) vagy %	Több szervi elégtelenség		Sepsis súlyosság		ITO halálozás	
	Nem- MODS (n=86)	MODS (n=121)	Súlyos sepsis (n=118)	Septicus shock (n=89)	Túlélők (n=129)	Nem- túlélők (n=78)
Demographia						
Kor (évek)	58.5 (48-68)	70 (59-77)*	61 (51-71)	72 (59-77)*	61 (50-70)	72.5 (61-79)*
Férfi nem, %	45,3	53,7	46,6	55,1	45,0	59,0
Korábbi vagy aktuálisan fennálló körülmények						
Felvételt megelőző panaszos napok száma, (napok)	4 (2-7)	4 (1-10)	4 (2-8)	4 (1-9)	4 (1-7.5)	4 (2-10)
Pulmonológiai hospitalisatio az elmúlt két évben, %	27,9	24,8	31,4	19,1*	27,9	23,1
Malnutritio felvételtkor, %	12,8	17,4	12,7	19,1	14,0	17,9
Nosocomialis pneumonia, %	25,6	44,6*	30,5	44,9*	32,6	43,6
Ischémiás szívbetegség, %	33,7	43,8	37,3	42,7	36,4	44,9
COPD, %	43,0	33,1	42,4	30,3	39,5	33,3
Hypertonia, %	55,8	62,8	59,3	60,7	58,1	62,8
Diabetes mellitus, %	24,4	27,3	26,3	25,8	24,0	29,5
Aktív vagy korábbi dohányos (>15 év), %	46,5	42,1	46,6	40,4	46,5	39,7
Alkohol fogyasztás >1 pohár/nap, %	9,3	13,2	9,3	14,6	10,9	12,8
ITO paraméterek						
28 napos mortalitás, %	0,0	62,8*	9,3	73,0*	0,0	97,4*
ITO mortalitás, %	0,0	64,5*	9,3	75,3*	-	-
ITO tartózkodás hossza, (napok)	8 (5-12)	8 (5-16,5)	8 (5-12)	8 (4,5-16,5)	9 (5-15)	8 (4-12)
APACHE II pontszám felvételtkor	18 (14-22)	24 (18,5- 30,5)*	19 (15-23)	25 (20-31)*	19 (15-23)	25 (22-31)*
DIC pontszám felvételtkor	0 (0-2)	3 (0-4)*	0 (0-2)	3 (2-5)*	0 (0-2)	3 (2-4)*
Fehérvérsejt szám (x10E/ul)	13,3 (8,8-16,8)	13,1 (8,5-17,7)	13,5 (9,2-16,8)	12,7 (7,8-18,0)	13,3 (9,8-16,8)	13,1 (6,9-18,8)

Beteg jellemzők	Többszervi elégtelenség		Sepsis súlyosság		ITO halálozás	
	Nem-MODS (n=86)	MODS (n=121)	Súlyos sepsis (n=118)	Septicus shock (n=89)	Túlélők (n=129)	Nem-túlélők (n=78)
Medián (quartilis) vagy %						
ITO paraméterek						
Artériás középnyomás (Hgmm)	90,0 (73,0-107,0)	63,3 (50,0-83,0)*	87,0 (70,0-103,0)	60,0 (43,2-78,0)*	83,0 (66,6-100,5)	63,3 (47,8-83,0)*
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	120,0 (100,0-150,0)	100,0 (80,0-120,0)*	120,0 (100,0-150,0)	90,0 (70,0-110,0)*	110,0 (90,0-140,0)	95,0 (70,0-120,0)*
Invazív lélegeztetés, %	52,3	97,5*	62,7	100,0*	65,9	100,0*
Invazív lélegeztetés hossza, (napok)	5(3,5-7,5)	8 (4-13,3)*	5,5 (4-10,3)	7 (4-14)	6 (4-13)	7 (4-12)
Invazívan lélegeztetett betegek Horowitz kvóciense (paO ₂ /FiO ₂)	269,0 (161,3-342,3)	179,6 (126,2-232,4)*	222,0 (149,9-335,4)	175,2 (119,7-229,7)*	197,5 (139,1-305,5)	188,3 (124,2-241,6)
ARDS, %	7,0	24,0*	8,5	28,1*	11,6	25,6*
PEEP (H ₂ Ocm)	0 (0-8)	7 (5-10)	10 (7-10)	10 (8-10)*	10 (8-10)	10 (8-10)
Tracheostoma, %	5,8	14,9*	10,2	12,4	10,9	11,5
Haemodialysis, %	7,0	17,4*	9,3	18,0	9,3	19,2*
Transzfúzió, %	19,8	52,1*	25,4	55,7*	30,2	51,9*
Fertőzés fajtája,						
Nem igazolt, %	55,8	31,4*	49,2	31,5*	45,0	35,9
Igazolt, %						
Gram pozitív, %	10,5	19,3	11,7	21,3	15,5	18,0
Gram negatív, %	52,6	57,8	60,0	52,5	52,1	62,0
Atipusos pneumonia (Chlamydia, Mycoplasma, Legionella), %	23,7	14,5	18,3	16,4	21,1	12,0
Kevert, %	13,2	8,4	10,0	9,8	11,3	8,0

*Statisztikai szignifikancia (p< 0,05) MODS vs. nem-MODS, septicus shock vs. súlyos sepsis és nem-túlélők vs. túlélők csoportjainak Mann-Whitney vagy Pearson Chi-négyzet teszttel történő összehasonlításakor.

APACHE II: acute physiology and chronic health evaluation II (akut élettani és krónikus egészségügyi értékelő) pontszám; ARDS: akut respirációs distressz szindróma; COPD: krónikus obstruktív tüdőbetegség; DIC: disszeminált intravaszkuláris koaguláció; ITO: intenzív terápiás osztály; MODS: többszervi diszfunkció szindróma

4. 2. Az eredmények: A *PAI-1* gén 4G/5G polimorfizmusának pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára, a septicus shock, a szervi diszfunkció kialakulására és a mortalitásra kifejtett hatásának vizsgálata

4. 2. 1. A genotípus eloszlás

A *PAI-1* genotípus SNP eloszlását az 5. Táblázat mutatja. A vizsgált populációban a genotípus frekvencia a következő megoszlást mutatta: 4G/4G = 30,4% (n = 63); 4G/5G = 50,7% (n = 105); és 5G/5G = 18,8% (n = 39). A genotípus frekvenciák Hardy-Weinberg equilibriumban voltak ($p = 0,92$). A számított allél frekvencia 0,56 volt a 4G és 0,44 az 5G allél esetén.

5. Táblázat. A többszervi elégtelenség (MODS), septicus shock és halálozás incidenciája a *PAI-1* 4G/5G különböző genotípusainak hordozóiban.

Genotípus	N	MODS (%)	Septicus shock (%)	Nem-túlélők (%)
4G/4G	63	39 (61,9%)	32 (50,8%)	27 (42,9%)
4G/5G	105	67 (63,8%)	47 (44,8%)	41 (39,0%)
5G/5G	39	15 (38,5%)	10 (25,6%)	10 (25,6%)

4. 2. 2. A *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus klinikai összefüggései

A MODS, a septicus shock és a halálozás incidenciája hasonló, és egyben magasabb volt a 4G/4G és a 4G/5G genotípus esetén, mint az 5G/5G genotípust hordozó betegekben. Ennek megfelelően ezt a két genotípust a további elemzések során összevontuk (5. Táblázat).

A *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus genotípus megoszlása és allél frekvenciája a MODS, a sepsis súlyossága és az ITO mortalitás függvényében a 6. Táblázatban került feltüntetésre. A 4G/4G és a 4G/5G genotípusok szignifikánsan gyakrabban fordultak elő MODS és septicus shock, mint nem-MODS és súlyos sepsis esetén. Következésképpen,

a MODS rizikója 2,74-szer (esélyhányados (OR) = 2,74; 95% konfidencia intervallum (CI) = 1,335-5,604; $p = 0,006$) és a septicus shock rizikója 2,57-szer (OR = 2,57; 95% CI = 1,180-5,615; $p = 0,018$) magasabb volt a *PAI-1* 4G/4G és 4G/5G genotípus, mint az 5G/5G genotípus hordozása esetén. Ennek megfelelően, a *PAI-1* 4G allél gyakorisága a MODS (OR = 1,495; 95% CI = 1,008-2,217; $p = 0,045$) és a septicus shock (OR = 1,601; 95% CI = 1,077-2,381; $p = 0,019$) csoportokban szignifikánsan eltért a nem-MODS és a súlyos sepsis csoportokétól.

6. Táblázat. *PAI-1* 4G/5G genotípus- és allél-megoszlás többszervi elégtelenség, sepsis súlyosság és mortalitás szerint.

	Többszervi elégtelenség			Sepsis súlyosság			ITO mortalitás		
	Nem-MODS (n=86)	MODS (n=121)	p érték*	Súlyos sepsis (n=118)	Septicus shock (n=89)	p érték*	Túlélők (n=129)	Nem-túlélők (n=78)	p érték*
Genotípus									
4G/4G és 4G/5G	62 (72,1%)	106 (87,6%)		89 (75,4%)	79 (88,8%)		100 (77,5%)	68 (87,2%)	
5G/5G	24 (27,9%)	15 (12,4%)	0,005	29 (24,6%)	10 (11,2%)	0,015	29 (22,5%)	10 (12,8%)	0,085
Allél									
4G	86 (50,0%)	145 (59,9%)		120 (50,8%)	111 (62,4%)		136 (52,7%)	95 (60,9%)	
5G	86 (50,0%)	97 (40,1%)	0,045	116 (49,2%)	67 (37,6%)	0,019	122 (47,3%)	61 (39,1%)	0,104

*Pearson Chi-négyzet teszt

ITO: intenzív terápiás osztály; MODS: többszervi elégtelenség

A túlélő és nem-túlélő betegek genotípus megoszlásának összehasonlításakor a 4G/4G és 4G/5G genotípusok tendenciózusan ($p = 0,085$) gyakrabban fordultak elő a nem-túlélőkben, és bár nem szignifikáns mértékben, de hasonló tapasztalhattunk a 4G allél gyakoriságát tekintve is.

A különböző *PAI-1* genotípusok hordozóinak felvételi DIC pontszámát összehasonlítva, a 4G allél hordozóinál szignifikánsan magasabb DIC pontszám volt regisztrálható, mint az 5G/5G homozigótáknál {2 (0-3) vs. 0 (0-2), $p < 0,007$ }.

A *PAI-1* polimorfizmus és az ITO tartózkodás hosszának, az invazív lélegeztetés nélküli- és a septicus shock nélkül töltött napok számának kapcsolatát is vizsgáltuk az ITO tartózkodás első 28 napja folyamán. Az ITO tartózkodás hossza nem különbözött a 4G allél hordozói és a nem-hordozók között ($p = 0,858$). Mindazonáltal, a nem-túlélők ITO tartózkodásának hossza több, mint két nappal rövidebb volt a 4G allélt hordozó betegekben, szemben az 5G/5G betegekkel {6 (4-11) vs. 8,5 (6-18), $p = 0,091$ }. A 4G allél hordozóinál szignifikánsan kevesebb volt az invazív lélegeztetés nélküli napok száma az első 28 napban, mint az 5G/5G genotípusú betegekben {0 (0-0) vs. 0 (0-6), $p = 0,008$ }. Az első 28 nap septicus shock nélküli napjainak mediánja alacsonyabb volt a 4G/4G és 4G/5G genotípust hordozók esetén, mint a 5G/5G genotípusnál {4 (0-9) vs. 6 (5-9), $p = 0,095$ }.

4. 2. 3. A végpontokkal kapcsolatos tényezők többváltozós elemzése

A többváltozós regressziós analízis alapján a MODS és a sepsis súlyossága tekintetében három faktor független prediktornak bizonyult: az életkor, a nosocomialis pneumonia gyakorisága és a pozitív mikrobiológiai tenyésztés. Ennek megfelelően, mindhárom paramétert beépítettük a MODS és a sepsis súlyosság logisztikus regressziós modelljeibe. Az adjusztált modell alapján a *PAI-1* 4G/5G és 4G/4G genotípusok független asszociációt mutattak MODS és septicus shock kialakulásával (7. Táblázat).

A kiindulási változók és az ITO mortalitás közötti lehetséges összefüggést többváltozós regressziós analízissel vizsgáltuk. A multikolinearitás miatt, az ITO mortalitás tekintetében csak az APACHE II pontszám bizonyult független prediktornak. Ennek megfelelően, csak ezt az egy paramétert építettük be a statisztikai modellbe. Adjusztálást követően, a 4G/4G és 4G/5G genotípusok hordozóinál tendenciózusan magasabb volt a halálozás rizikója (7. Táblázat). Ezt az eredményt az APACHE II

pontszámra adjusztált Cox regressziós analízis is megerősítette (4G/4G és 4G/5G esélyhányados = 1,866; 95% CI = 0,897-3,882; $p = 0,095$).

7. Táblázat. A többszervi elégtelenség (MODS), a septicus shock és az ITO mortalitás többváltozós logisztikus regressziós analízise.

	MODS		Septicus shock		ITO mortalitás	
	Esélyhányados (95% confidencia intervallum)	p érték	Esélyhányados (95% confidencia intervallum)	p érték	Esélyhányados (95% confidencia intervallum)	p érték
Életkor (év)	1,048 (1,027-1,069)	<0,001	1,032 (1,013-1,052)	0,001	-	-
Nosocomialis fertőzés	3,029 (1,503-6,102)	0,002	2,047 (1,104-3,797)	0,023	-	-
Pozitív mikrobiológiai tenyésztés	3,642 (1,876-7,069)	<0,001	2,365 (1,275-4,386)	0,006	-	-
APACHE II	-	-	-	-	1,158 (1,101-1,217)	<0,001
<i>PAI-I</i>						
5G/5G	Referencia csoport		Referencia csoport		Referencia csoport	
4G/5G és 4G/4G	2,957 (1,306-6,698)	0,009	2,603 (1,137-5,959)	0,024	1,998 (0,879-4,540)	0,098

APACHE II: akut élettani és krónikus egészségügyi értékelés II pontszám; ITO: intenzív terápiás osztály; MODS: többszervi elégtelenség

4. 2. 4. A PAI-1 4G/5G polimorfizmus pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának vizsgálata COPD-s betegekben

Mivel egy fennálló pulmonális betegség, a genetikai faktorok hatásával interferálva, szignifikáns mértékben módosíthatja a sepsis súlyosságát, és betegeink 37,2%-a (n=77) krónikus obstruktív tüdőbetegségben (COPD) szenvedett, a betegeket COPD alapján is csoportosítottuk. Az alcsoport analízis indokoltságát támasztották alá azon adatok is, melyek szerint a COPD-s csoportban a megelőző két évben szignifikánsan magasabb volt a pulmonológiai eredetű hospitalizációk száma ($p < 0,001$), továbbá szintén szignifikánsan nagyobb volt az APACHE II pontszám ($p = 0,044$), a hipertónia ($p = 0,001$) és a dohányzás ($p < 0,001$) gyakorisága, valamint tendenciózan magasabb volt az ischémiás szívbetegség incidenciája ($p = 0,056$).

Az alcsoport analízis során, a 4G/4G és a 4G/5G genotípusok megoszlása MODS tekintetében a COPD-s és nem COPD-s csoportokban hasonló maradt az összes betegben megfigyelt eloszláshoz. A COPD-s betegekben a 4G/4G és 4G/5G hordozó állapot kapcsolata a septicus shockkal kifejezettebb volt, mint az összes beteg esetén, azonban az alacsony esetszám miatt ez az eredmény csak korlátozottan értékelhető. A túlélő és nem-túlélő betegek genotípus megoszlásának összehasonlításakor szignifikáns különbség nem volt kimutatható egyik alcsoportban sem (8. Táblázat).

8. Táblázat. PAI-1 4G/5G genotípus megoszlás többszervi elégtelenség, sepsis súlyosság és mortalitás tekintetében a COPD szerinti alcsoportokban.

Genotípus	Többszervi elégtelenség			Sepsis súlyosság			ITO mortalitás		
	Nem-MODS (n=86)	MODS (n=121)	p érték*	Súlyos sepsis (n=118)	Septicus shock (n=89)	p érték*	Túlélők (n=129)	Nem-túlélők (n=78)	p érték*
Minden beteg									
4G/4G és 4G/5G (n = 168)	62 (72,1%)	106 (87,6%)		89 (75,4%)	79 (88,8%)		100 (77,5%)	68 (87,2%)	
5G/5G (n = 39)	24 (27,9%)	15 (12,4%)	0,005	29 (24,6%)	10 (11,2%)	0,015	29 (22,5%)	10 (12,8%)	0,085
Nem COPD-s betegek									
4G/4G és 4G/5G (n = 107)	36 (73,5%)	71 (87,7%)		53 (77,9%)	54 (87,1%)		62 (79,5%)	45 (86,5%)	
5G/5G (n = 23)	13 (26,5%)	10 (12,3%)	0,040	15 (22,1%)	8 (12,9%)	0,172	16 (20,5%)	7 (13,5%)	0,302
COPD-s betegek									
4G/4G és 4G/5G (n = 61)	26 (70,3%)	35 (87,5%)		36 (72,0%)	25 (92,6%)		38 (74,5%)	23 (88,5%)	
5G/5G (n = 16)	11 (29,7%)	5 (12,5%)	0,063	14 (28,0%)	2 (7,4%)	0,034	13 (25,5%)	3 (11,5%)	0,154

*Pearson Chi-négyzet teszt vagy Fisher's exact teszt

ITO: intenzív terápiás osztály; MODS: többszervi elégtelenség; COPD: krónikus obstruktív tüdőbetegség

4. 3. Az eredmények: A 8.1 ősi haplotípus pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának vizsgálata

4. 3. 1. Az *AGER* -429T>C, *C4AQ0, *HSP70-2* 1267A>G, *TNF* -308G>A, *LTA* 252A>G polimorfizmusok és a 8.1 haplotípus gyakorisága**

A genotípus frekvenciák a következőképp alakultak a vizsgált populációban: *AGER* -429 T/T = 67,1%, T/C = 29,5%, C/C = 3,4%; *C4A**Q0 (-) = 79,2%, (+) = 19,8%; *HSP70-2* 1267 A/A = 37,2%, A/G = 46,4%, G/G = 16,4%; *TNF* -308 G/G = 72,0%, G/A = 25,6%, A/A = 2,4% and *LTA* 252 A/A = 46,9%, A/G = 44,9%, G/G = 8,2%. Minden genotípus eloszlás Hardy-Weinberg egyensúlyban volt. Az adott variánsok hordozása alapján, harminckettő hipotetikus 8.1 haplotípus hordozót azonosítottunk. Miután meghatároztuk a HLA alléleket a betegek ezen csoportjában, huszonöt egyénben igazoltuk a B8, DR3 és DQ2 allélek további hordozását, őket tekintettük AH8.1 heterozigótáknak (12,1%) – homozigóta hordozó nem volt. A számított haplotípus frekvencia 6,04% volt.

4. 3. 2. A sepsis súlyossága

A vizsgált genetikai faktorok megoszlásában nem lehetett különbséget kimutatni a súlyos sepsis és a septicus shockos csoport között. Az *AGER* -429, *HSP70-2* 1267, *TNF* -308 és *LTA* 252 polimorfizmusok, csakúgy, mint a *C4A**Q0 incidenciája nem különbözött a két eltérő súlyosságú csoportban (az adatokat nem tüntettük fel). Továbbá a septicus shock előfordulása nem különbözött szignifikánsan az AH8.1 hordozók és nem hordozók között (9.Táblázat).

9. Táblázat. Az AH8.1 haplotípus megoszlása a sepsis súlyosság és a mortalitás tekintetében.

	Súlyosság			Mortalitás		
	Nincs septicus shock	Septicus shock	P érték*	Túlélő	Nem-túlélő	p érték*
Összes beteg						
AH8.1 - (182)	101 (85,6%)	81 (91,0%)		114 (88,4%)	68 (87,2%)	
AH8.1 + (25)	17 (14,4%)	8 (9,0%)	0,236	15 (11,6%)	10 (12,8%)	0,799
Nem COPD-s beteg						
AH8.1 - (111)	54 (79,4%)	57 (91,9%)		66 (84,6%)	45 (86,5%)	
AH8.1 + (19)	14 (20,6%)	5 (8,1%)	0,043	12 (15,4%)	7 (13,5%)	0,761
COPD-s beteg						
AH8.1 - (71)	47 (94,0%)	24 (88,9%)		48 (94,1%)	23 (88,5%)	
AH8.1 + (6)	3 (6,0%)	3 (11,1%)	0,659	3 (5,9%)	3 (11,5%)	0,400

* Pearson Chi-négyzet teszt vagy Fisher's exact teszt

Mivel egy fennálló pulmonális betegség, a genetikai faktorok hatásával interferálva, szignifikáns mértékben módosíthatja a sepsis súlyosságát, a betegeket COPD alapján is csoportosítottuk. Az alsóport analízis indokoltságát alátámasztó adatokat a 4. 2. 4. alfejezetben már részleteztük. A keresztábra elemzés nem mutatott szignifikáns összefüggést a vizsgált polimorfizmusok és a sepsis súlyossága között a két csoportban a COPD szerinti csoportosításban sem (az adatokat nem tüntettük fel). Ugyanakkor a nem COPD-s betegek között a 8.1 haplotípust hordozóknál kisebb volt a septicus shock kialakulásának rizikója, mint a nem hordozókban (OR = 0,3383; 95% CI = 0,1141-0,995; p = 0,043). A COPD-s betegcsoportban az AH8.1 incidenciája a sepsis súlyosságával nem mutatott összefüggést.

A sepsis súlyosságának logisztikus modelljében a COPD, mint pulmonális kísérőbetegség, az APACHE II pontszám és az akut respirációs distressz szindróma (ARDS) kialakulása bizonyultak független prediktoroknak a teljes betegcsoport

tekintetében. Mivel a PAI-1 4G/5G polimorfizmus (rs1799768) 4G alléljának hordozása a septicus shock prediktora volt, ez a tulajdonság is beépítésre került a regressziós modellekbe. Egyik vizsgált polimorfizmus sem bizonyult a septicus shock független prediktorának a teljes betegcsoport logisztikus modelljében. Ugyanakkor, a haplotípus analízis során, adjusztálást követően, septicus shock kialakulásának alacsonyabb rizikója igazolódott az AH8.1 haplotípus hordozói között (10. Táblázat). Mi több, ez az adjusztált hatás a nem COPD-s betegekben még sokkal erősebb volt. A COPD-s betegek csoportjában a logisztikus modellek nem igazolták az AH8.1 protektív szerepét a septicus shock tekintetében.

10. Táblázat. A septicus shock többváltozós logisztikus regressziós analízise minden betegben és a COPD szerinti alcsoportokban.

	Septicus shock	
	Esélyhányados (95% confidencia intervallum)	p érték*
Minden beteg		
COPD	0,450 (0,220-0,920)	0,029
APACHE II felvételtkor	1,180 (1,117-1,247)	<0,001
ARDS	7,275 (2,733-19,363)	<0,001
PAI-1 4G/4G és 4G/5G	2,503 (0,998-6,277)	0,050
AH8.1		
Nem-hordozók (n =182)	referencia csoport	
Hordozók (n = 25)	0,315 (0,100-0,992)	0,048
Nem COPD-s betegek		
APACHE II felvételtkor	1,196 (1,113-1,284)	<0,001
ARDS	9,496 (2,870-31,420)	<0,001
PAI-1 4G/4G és 4G/5G	-	-
AH8.1 Nem-hordozók (n = 111)		
Hordozók (+) (n = 19)	0,117 (0,025-0,554)	0,007
COPD-s betegek		
APACHE II felvételtkor	1,183 (1,078-1,297)	0,001
ARDS	-	-
PAI-1 4G/4G és 4G/5G	5,886 (0,976-35,484)	0,053
AH8.1 Nem-hordozók (n = 71)		
Hordozók (+) (n = 6)	2,439 (0,325-18,301)	0,386

4. 3. 3. A sepsis mortalitása

A vizsgált genetikai faktorok túlélők és nem-túlélők közötti összehasonlításakor, csak az *LTA 252* polimorfizmus mutatott szignifikáns összefüggést ($p = 0,036$) a halálózással. A COPD szerinti csoportosítást követően, az *LTA 252* genotípus eloszlása csak a COPD-s betegcsoportban különbözött szignifikánsan ($p = 0,039$) a túlélők és nem-túlélők között. A többváltozós logisztikus regressziós analízis alapján két tényező bizonyult a mortalitás független prediktorának: az APACHE II pontszám és az ARDS kialakulása. Ennek megfelelően mindkét paraméter beépítésre került az ITO halálózás logisztikus regressziós modelljébe. A prediktorokkal történő adjusztálást követően, a logisztikus regressziós analízis már nem mutatott szignifikáns összefüggést az *LTA 252* polimorfizmus és a halálózás között.

A haplotípus analízis során, a mortalitás incidenciája sem a teljes kohorszban, sem az alcsoportokban nem különbözött szignifikáns mértékben az AH8.1 hordozók és a nem-hordozók között. A prediktorokkal adjusztált logisztikus regressziós modellek nem mutatták ki a 8.1 haplotípus védő szerepét a mortalitás tekintetében. A haplotípus hordozók és nem-hordozók túlélési mintájának összehasonlítására a Kaplan-Meier analízist szintén elvégeztük, de szignifikáns különbség nem volt igazolható ($p = 0,715$).

4. 3. 4. Az AH8.1 klinikai összefüggései

Végül, az AH8. 1 és a klinikai paraméterek közötti összefüggéseket vizsgáltuk meg a teljes kohorszban és az alcsoportokban is. Négy paraméter különbözött szignifikáns mértékben az AH8.1 hordozók és nem-hordozók között (11. Táblázat). A fehérvérsejtszám magasabb volt a 8.1 haplotípust hordozókban, mint a nem-hordozókban, mind a teljes kohorszban, mind a nem-COPD-s betegekben. A nem COPD-s betegek csoportjában szignifikánsan magasabb artériás középnyomás (MAP) és szisztolés vérnyomás (SBP), valamint alacsonyabb pozitív végkilégzési nyomás (PEEP) volt regisztrálható az AH8.1 hordozókban, szemben a nem-hordozókkal. A COPD-s betegek csoportjában ezek a paraméterek nem mutattak összefüggést a 8.1 haplotípussal.

11. Táblázat. A 8.1 haplotípussal összefüggést mutató klinikai paraméterek a teljes kohorszban és az alcsoportokban.

Betegek jellemzői Medián (quartilisek)	AH8.1 –	AH8.1 +	p érték*
Minden beteg	(n=182)	(n=25)	
Fehérvérsejtszám (x10E/μl)	12,9 (8,2-16,2)	16,1 (12,9-21,3)	0,006
Artériás középnyomás (Hgmm)	73,0 (53,3-94,0)	87,0 (70,0-100,0)	0,107
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	100 (80-130)	125 (100-140)	0,066
PEEP (H ₂ Ocm)	10 (8-10)	8 (7-10)	0,127
Nem-COPD-s betegek	(n=111)	(n=19)	
Fehérvérsejtszám (x10E/μl)	12,7 (7,96-16,8)	14,9 (12,4-21,2)	0,024
Artériás középnyomás (Hgmm)	73,0 (53,0-93,3)	87,0 (70,0-100,0)	0,046
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	100,0 (80,0-130,0)	130,0 (100,0-140,0)	0,024
PEEP (H ₂ Ocm)	10 (8-10)	8 (6,5-10)	0,042
COPD-s betegek	(n=71)	(n=6)	
Fehérvérsejtszám (x10E/μl)	13,1 (8,6-16,2)	18,7 (11,6-21,5)	0,117
Artériás középnyomás (Hgmm)	73,0 (60,0-97,0)	82,0 (30,0-101,8)	0,872
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	100,0 (80,0-130,0)	112,5(45,0-142,5)	0,767
PEEP (H ₂ Ocm)	10 (8-10)	10 (8-10,5)	0,689

* Mann-Whitney U teszt

5. MEGBESZÉLÉS

5. 1. A *PAI-1* gén 4G/5G polimorfizmusának pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára, a septicus shock, a szervi diszfunkció kialakulására és a mortalitásra kifejtett hatásának vizsgálata

Jelen vizsgálat, mely a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmusának a MODS-t, a sepsis súlyosságát és mortalitását befolyásoló hatását elemzi, több szempontból is új keletű. A vizsgálatban azonos etnikumú, relatív homogén beteg-kohorsz vett részt. Továbbá, ismereteim szerint, ez az első olyan tanulmány, mely genetikai összefüggést mutatott ki a 4G/5G polimorfizmus 4G allélja és a MODS, valamint a septicus shock kialakulása között pneumonia eredetű sepsisben.

A vizsgált betegpopuláció és más egészséges kaukázusi egyének mintáinak *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus allél gyakoriságának összehasonlításakor (a 4G allél gyakorisága 0,51 és 0,55 között változott) nem mutatkozott különbség [69, 121].

Figyelembe véve a *PAI-1* genotípus eloszlását a vizsgálat három végpontja tekintetében, a 4G/4G és a 4G/5G csoportok a további vizsgálatokhoz összevonásra kerültek. A korábbi tanulmányok egyformán éltek a 4G hordozók versus 5G/5G és az 5G hordozók versus 4G/4G betegek összehasonlításának lehetőségével [118, 144]. Figyelembe véve a heterozigóták köztes PAI-1 szintjét, mindkét osztályozás korrekt lehet [145].

5. 1. 1. A *PAI-1* gén 4G/5G polimorfizmusának a sepsis lezajlásának súlyosságára kifejtett hatása

Mind az adjusztált, mind a nem-adjusztált modellek a septicus shock magasabb rizikóját támasztották alá a *PAI-1* 4G allélt hordozók esetében.

Ezek az eredmények egybevágtak Westendorp és munkatársai vizsgálatával, miszerint azon meningococcus fertőzött betegek esetében, akiknek a hozzátartozói a 4G/4G genotípust hordozták, hatszor magasabb volt septicus shock kifejlődésének

rizikója, mint a többi genotípus esetén [50]. Ugyanakkor, Garcia-Segarra és munkatársai, valamint Jessen és munkacsoportja arról számoltak be, hogy vegyes eredetű sepsis és Gram-negatív sepsis esetén a *PAI-1* gén nem mutat összefüggést septicus shock kialakulásával [24, 120].

A sepsis súlyosságának alakulását jelző folyamatos változók, mint az intenzív osztályon töltött napok, az invazív lélegeztetés nélküli napok és a septicus shock nélküli napok száma az első 28 nap során, a genotípusoknak megfelelően szintén elemzésre kerültek. A nem-túlélők ITO napjainak és a másik két változónak tekintetében a 4G allélt hordozók fulminánsabb betegség progressziót mutattak, mint az 5G/5G homozigóták. A 4 G allél hordozók között kevesebb volt az invazív lélegeztetés nélküli napok száma az első 28 napban, mint az 5G/5G genotípusú betegekben. Ezek az eredmények összecsengenek Sapru és munkatársai vizsgálatával, akik súlyos pneumoniában szenvedő, a *PAI-1* gén 4G allélját hordozó betegekben a betegség súlyosabb lezajlását, illetve kevesebb lélegeztetés nélküli napot regisztráltak, mint az 5G hordozókban [118].

A 4G allél hordozóinál megfigyelt, szignifikánsan kevesebb invazív lélegeztetés nélkül töltött nap a PAI-1 direkt pulmonológiai hatásaival is magyarázható. Pneumonia eredetű septicus betegek esetében, a PAI-1-nek sepsisben kimutatott szisztémás hatásai mellett kiemelendő annak specifikusan a tüdőben kifejtett, lokális hatása is. Pneumoniában szenvedő betegek alveolusaiban fokozódik a prokoaguláns és csökken az antikoaguláns, illetve fibrinolitikus aktivitás [146]. Az intraalveoláris fibrin lerakódás számos akut gyulladásos tüdőbetegségben, így pneumonia esetén is megfigyelhető [147]. A fibrin lerakódás a sérült kapilláris endothel és alveoláris epithel gát tömítetlenségeit korrigálhatja, azonban, amennyiben ez a folyamat tartóssá és túlzottá válik, káros hatást fejthet ki. A túlzott fibrin lerakódás az endothel sejtek aktiválásával proinflammatorikus mediátorok felszabadulását, fokozott gyulladásos válaszreakciót eredményez, továbbá fokozza az érpermeabilitást. A pneumonia során megfigyelhető, csökkent mértékű fibrinolízis elsősorban a fokozott PAI-1 aktivitás következménye [148]. A gyulladás során aktiválódó PAI-1 magas szintjét mutatták ki a betegek alveolusaiban lélegeztetőgép-asszociált pneumoniában, aspirációs pneumoniában és akut tüdőszérülésben (Acute Lung Injury, ALI) is [94, 149-151]. Pneumoniás betegekben a bronchoalveoláris mosófolyadékban (BAL) mérhető PAI-1 koncentráció magasabb

volt azok tüdejében, akik gépi lélegeztetésre szorultak, mint azokban, akik nem [110, 150]. Lélegeztetőgép-asszociált pneumoniában, illetve ALI/ARDS-ben szenvedő betegek plazma és (BAL) PAI-1 koncentrációja direkt korrelációt mutatott a betegség súlyosságával, a kevesebb lélegeztetés nélkül töltött nappal és a mortalitással [110, 111, 152]. A PAI-1-nek nem csak antifibrinolitikus, de immunválaszt moduláló tulajdonságát is leírták [153]. Az urokináz-plazminogén aktivátor alapvető szerepet játszik a légúti infekciók elleni védelemben, a gyulladással sejtek migrációját szabályozza [154]. A PAI-1 azáltal, hogy az urokináz plazminogén aktivátort gátolja, a fehérvérsejtek mozgását befolyásolva módosítja az immunválaszt [153-156]. A PAI-1 az integrin-mediált sejt migrációt közvetlenül is gátolhatja [157].

A PAI-1 szintjét, mint azt korábban már részleteztem, számos környezeti faktor befolyásolja, azonban a genetikai háttér szerepe vitathatatlan. Bár a genetikai variációk a PAI-1 szintjét nyugalmi állapotban csak kis mértékben változtatják, azonban stressz esetén ez a különbség jelentősen felerősödik [94, 101].

A fentieknek megfelelően, a vizsgálat során a *PAI-1* 4G allélt hordozóknál észlelt nagyobb progresszió hajlam és az invazív lélegeztetés nélkül töltött napok kisebb száma feltehetően két okra vezethető vissza. Egyrészt szerepet játszik benne a 4G allélt hordozókra jellemző magasabb plazma PAI-1 szint szisztémás hatása, másrészt az emelkedett BAL PAI-1 szint lokális hatásának következménye lehet.

5. 1. 2. A *PAI-1* gén 4G/5G polimorfizmusának a szervi diszfunkcióra kifejtett hatása

Eredményeink alapján a pneumonia eredetű sepsis következtében kialakuló MODS rizikója majdnem háromszor nagyobb volt a *PAI-1* 4G/5G és 4G/4G genotípust, mint az 5G/5G genotípust hordozó betegek esetén. A nemre, korra és nosocomialis pneumoniára adjusztált többváltozós logisztikus regressziós analízis szintén alátámasztotta azt a hipotézist, hogy a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus a MODS független prediktora.

A MODS kialakulásának végleges magyarázatát egyelőre még nem találták meg; pathogeneziséről pillanatnyilag számos feltételezés létezik. Ezek egyike, a

microvascularis elégtelenség elmélete szerint, a MODS kifejlődéséért microvascularis thrombosisok lehetnek felelősek [158]. A plazma PAI-1 fontos szerepet játszik sepsis során a microvascularis fibrin lerakódásban, ennek megfelelően hozzájárulhat MODS kialakulásához és ronthatja a túlélést ezen betegekben [159]. Ráadásul, Menges és munkatársai a *PAI-1* 4G allél és a MODS kapcsolatát mutatták ki súlyos traumás betegekben [97], míg Garcia-Segarra és munkacsoportja ugyanezt a hatást találták vegyes eredetű septicus shockos betegekben [120].

5. 1. 3. A *PAI-1* gén 4G/5G polimorfizmusa és a DIC pontszám közötti összefüggés

A *PAI-1* genotípus és a DIC pontszám közötti összefüggést is megvizsgáltuk. A 4G allél hordozói esetén felvételnél magasabb pontszám igazolódott, mint az 5G/5G genotípusnál, ami alátámasztja a feltételezést, hogy ez a polimorfizmus az alvadási rendszer megzavarásával befolyásolhatja a sepsis kimenetelét. Ez az eredmény egybecsengett Binder és munkatársai vizsgálatával, akik a *PAI-1* 4G/5G genotípus és a DIC kialakulása között találtak összefüggést meningococcus fertőzés esetén [122].

5. 1. 4. A *PAI-1* gén 4G/5G polimorfizmusának a sepsis mortalitására kifejtett hatása

Végül elemeztük a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus mortalitásra kifejtett hatását. A 4G/4G és 4G/5G hordozók között a halálozás tendenciózusan magasabb aránya volt megfigyelhető a zavaró változókra történt adjusztálással vagy a nélkül is. Ez a megfigyelés egybecsengett más tanulmányok eredményeivel, miszerint a 4G/5G polimorfizmus befolyásolja a mortalitást meningococcus meningitis sepsis, trauma és égési sérülés esetén [69, 97, 120, 121, 138, 160]. Ugyanakkor más tanulmányok nem mutattak ki a polimorfizmus és a mortalitás között kapcsolatot meningococcus sepsis és Gram-negatív sepsis esetén [24, 50].

Egyelőre még egyetlen boncolás sem tudta egyértelműen kimutatni, hogy miért, illetve pontosan miben halnak meg a septicus betegek. Szembetűnő a sepsis miatt

elhunyt betegek pathológiai leleteiben leírt szövettani eredmények és a szervi elégtelenségek súlyossága közötti eltérés [161]. A szívben, vesében, májban és tüdőben leírt sejtelhalás viszonylag kis mértékű, és nem magyarázza a sokkal súlyosabb fokú szervi működési zavart. Bizonyos esetekben a betegek terápia refrakter septicus shockban halnak meg, de ez általában kivételes. Bár a sepsis során súlyos fokú myocardium depresszió alakulhat ki, a perctérfogatot a szív dilatatioja és a tachycardia általában fenntartja [162]. Bár akut respirációs distressz szindróma gyakran alakul ki septicus betegekben, mégis ezen betegek ritkán halnak meg hypoxia vagy hypercapnia következményeként [163]. A veseelégtelenség is gyakori szövődmény, azonban önmagában, mivel dialysis kezelés használható, nem halálos. A májelégtelenség ritkán progrediál hepaticus encephalopathiáig. A boncolási tanulmányok nem tudtak kiterjedt necrosist kimutatni. Egyes elméletek szerint, a septicus betegekben a szervelégtelenség egyfajta „sejt hibernációval” magyarázható, hasonlóan a myocardialis ischemia következtében kialakuló jelenséghez [164]. A sepsis feltehetően olyan védekező mechanizmusokat aktivál, melyek a sejtekben az önfenntartó funkcióra korlátozzák a működést [165]. Ekképpen a septicus betegek haláloka nem egyértelmű, leginkább többszervi elégtelenség következményeként fogható fel [3]. Figyelembe véve, hogy vizsgálatunkban a pneumonia eredetű sepsis következtében kialakuló MODS rizikója majdnem háromszor nagyobb volt a *PAI-1* 4G/5G és 4G/4G genotípust, mint az 5G/5G genotípust hordozó betegek esetén, feltételezhető, hogy a polimorfizmus mortalitást befolyásoló hatása nagyobb esetszámú vizsgálatban már kimutatható lenne.

5. 1. 5. A *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának vizsgálata COPD-s betegekben

Mivel a sepsis minden betegnél pulmonális infekció következtében alakult ki, az elemzés során krónikus, a sepsis kimenetelét befolyásoló tüdőbetegség egyidejű fennállását is figyelembe vettük. A vizsgált betegek közül 77-nek (37,2%) krónikus obstruktív tüdőbetegsége (COPD) volt.

A betegségre jellemző ventilációs zavar általában progresszív, és a tüdő ártalmas ingerekre adott rendellenes gyulladáshoz vezető válaszreakciójával függ össze [136]. A COPD

természetes lefolyását a krónikus légúti tünetek időszakos, hirtelen rosszabbodása (akut exacerbációk kialakulása) jellemzi, melyek többségéért fertőzések felelősek. A COPD több-komponensű betegség, mely nem csak pulmonális, de szisztémás következményekkel is jár. Azon betegekben, akikben gyakoriak az exacerbációk – különösen, ha ezek súlyosak és kórházi felvételt tesznek szükségessé – a tüdő-funkciók jelentős romlása, rosszabb általános állapot és magasabb mortalitás figyelhető meg [166, 167]. Továbbá, COPD akut exacerbációja során a gyulladáisos-endotheliális-koagulációs rendszer aktivációját figyelték meg, melynek következtében átmeneti prothrombogén állapot alakulhat ki [168, 169].

A COPD-s betegeknel megfigyelt, a kimenetelt befolyásolni képes, fentebb részletezett jellemzők miatt, alcsoport analíziseket végeztünk aszerint, hogy a betegeknek volt-e COPD-je vagy sem. Az alcsoport analízis során, a 4G/4G és a 4G/5G genotípusok megoszlása MODS tekintetében a COPD-s és nem COPD-s csoportokban hasonló maradt az összes betegben megfigyelt eloszláshoz. A COPD-s betegekben a 4G/4G és 4G/5G hordozó állapot kapcsolata a septicus shockkal kifejezettebb volt, mint az összes beteg esetén, azonban az alacsony esetszám miatt ez az eredmény csak korlátozottan értékelhető. A túlélő és nem-túlélő betegek genotípus megoszlásának összehasonlításakor szignifikáns különbség nem volt kimutatható egyik alcsoportban sem.

Polosa és munkatársai a COPD akut exacerbációja (Acute Exacerbation of COPD, AECOPD) során az IL-6, a von Willebrand faktor, a D-dimer és a prothrombin fragmentum 1 és 2 szintjének átmeneti emelkedését figyelték meg [169]. Ez a prothrombogén állapot elméletileg a thromboembóliás történések gyakoriságát növelhetné AECOPD esetén, azonban ezt a feltételezést a klinikai megfigyelések eddig még nem támasztották alá [170]. A PAI-1 szintjében AECOPD kapcsán nem mutattak ki emelkedést a klinikailag kompenzált állapothoz képest [169]. A fibrinolitikus rendszer megtartott aktivitása így feltehetően kompenzálhatja az akut exacerbáció során kialakuló prothrombogén állapotot, és magyarázattal szolgálhat arra, hogy az adott betegcsoportban miért nem gyakoribb a vénás thromboembóliás szövődmények előfordulása. A *PAI-1* gén 4G/5G polimorfizmusa jelentős mértékben alterálhatja a PAI-1 plazmaszintjét és eképpen, feltételezhetően az AECOPD kapcsán kialakuló thromboembóliás szövődmények gyakoriságát is. További nagyobb esetszámú

tanulmányok eredményei értékes adatokkal szolgálhatnának a jövőben *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus és a COPD akut exacerbációja során kialakuló thromboembóliás szövődmények kapcsolatáról.

5. 2. A 8.1 ősi haplotípus pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának vizsgálata

Jelen vizsgálat alapján, pneumonia eredetű, súlyos sepsisben szenvedő, nem COPD-s betegek csoportjában a 8.1 ősi haplotípust hordozóknál septicus shock kialakulásának rizikója szignifikánsan kisebb, mint a nem-hordozóknál. Többváltozós – többek között a COPD-t is tartalmazó – logisztikus regressziós analízis alapján, ez a haplotípus független védő szereppel bír septicus shock kialakulásával szemben a teljes kohorsz tekintetében is. Ez a vizsgálat egyedi a tekintetben, hogy egy ősi haplotípus hatásait septicus betegek azonos etnikai eredetű, relatív homogén kohorszában méri fel. Továbbá, tudomásom szerint, ez az első olyan tanulmány, mely genetikai evidenciával szolgál a septicus shock kialakulása és az AH8.1 közti kapcsolatra pneumonia eredetű sepsisben.

Az elmúlt években növekvő számú tanulmány törekedett rá, hogy meghatározza a *HSP70-2* 1267, *TNF* -308 és *LTA* 252 polimorfizmusok pathomechanikai szerepét sepsisben, azonban ezen önálló polimorfizmusokat kutató vizsgálatok ellentmondó eredményekkel zárultak [74, 75]. Ezen ellentmondásokra több lehetséges magyarázat is van. Ezek egyike, a 6. kromoszómán elhelyezkedő polimorfizmusok közötti linkage disequilibrium (kapcsoltsági egyensúlytalanság: két vagy több lókuszon elhelyezkedő allélek nem-random asszociációja).

Számos tanulmány próbálkozott már az AH8.1-et alkotó polimorfizmusok haplotípus analízisével septicus betegekben, azonban többnyire csak két vagy három alléles haplotípusokat vizsgáltak. Waterer és munkatársai vizsgálatában a *TNF* -308A: *LTA* 252G allélek kombinációja nem bizonyult protektívnek septicus shock tekintetében a területen szerzett pneumoniában szenvedő, eltérő etnikumú betegekben [34]. A következő tanulmányban, melyet ugyanezen szerzők egy kiterjesztett betegcsoportban

végeztek, kapcsolatot fedeztek fel a *HSP70-2* 1267A és az *LTA* 252A (allélok, melyek nem az AH8.1 összetevői) szimultán hordozása és a sepsis súlyosabb lezajlása között [49]. Az AH8.1 szekvenciája a *HLA-B* és *HLA-DRB1,-DQB1* régiók között konzervált, de számos adat arra utal, hogy telomerikusan a *HLA-A*-ig, vagy még azon is túlnyúlik [171]. Mira és munkatársai kimutatták, hogy a *HLA-A1/B8/DR3* haplotípus valószínűleg nem függ össze a septicus shockkal szembeni fogékonysággal és a rosszabb kimenetel gyakoriságával különböző primer infekció-forrású septicus betegekben [15].

5. 2. 1. A polimorfizmusok allél frekvenciáinak és a 8.1 ősi haplotípusnak gyakorisága

Az *AGER* -429, *HSP70-2* 1267, *TNF* -308, és *LTA* 252 polimorfizmusok allél frekvenciáinak és a *C4* gén kópiaszám gyakoriságának összehasonlítása az általunk vizsgált és a más kaukázusi, egészséges populációk gyűjtött mintái között, nem mutatott különbséget [126, 143, 172]. A megjelölt polimorfizmusok és a *HLA* tipizálás alapján meghatározott AH8.1 gyakoriság hasonló volt a haplotípus magyar populációban korábban leírt gyakoriságához (5-10%) [126, 172].

5. 2. 2. A 8.1 ősi haplotípus hatása pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára

Vizsgálatunkban nem tudtunk összefüggést kimutatni a *C4A* kópiaszám, *AGER* -429, *HSP70-2* 1267, *TNF* -308 és *LTA* 252 polimorfizmusok, valamint a septicus shock között. Ugyanakkor a COPD-vel, APACHE II pontszámmal, ARDS-sel és PAI-1 4G/5G polimorfizmussal adjusztált többváltozós logisztikus regressziós analízis kimutatta, hogy a 8.1 haplotípus a septicus shock független prediktora. Mi több, ez a hatás az adjusztálást követően még erősebb volt a nem COPD-s betegekben. Ezen eredmények és az önálló polimorfizmusok, illetve rövidebb haplotípusok vizsgálata során észlelt asszociációk hiánya közötti ellentmondás szembetűnő, ugyanakkor nem

logikátlan, mivel ezen polimorfizmusok hordozóinak mindössze tört része tartozott egyben az AH8.1 hordozók közé is.

5. 2. 3. A 8.1 ősi haplotípus hatása pneumonia eredetű sepsis mortalitására

A tanulmányozott genetikai faktorok és az ITO mortalitás lehetséges kapcsolatát is megvizsgáltuk. Az *LTA* 252 polimorfizmus kivételével, nem tudtunk összefüggést kimutatni az SNP-k genotípus frekvenciái, a 8.1 haplotípus gyakorisága és a túlélés között. Ugyanakkor egyik vizsgált változó sem mutatott összefüggést a mortalitással az adjusztált modellekben.

5. 2. 4. A 8.1 ősi haplotípus pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának vizsgálata COPD-s betegekben

Az 5.1.5. alfejezetben már részletesen kifejtett okok miatt a sepsis kimenetelét befolyásoló krónikus obstruktív tüdőbetegség egyidejű fennállását is figyelembe vettük. Ennek tükrében, al csoport analíziseket végeztünk aszerint, hogy a betegeknek volt-e COPD-je vagy sem. A nem-COPD-s betegekben a 8.1 haplotípusnak védő szerepe volt a septicus shockkal szemben, ugyanakkor a COPD-s betegekben ezt a hatást nem lehetett kimutatni, ami arra utal, hogy ennek a genetikus vonásnak a hatása csak adott körülmények között nyilvánul meg.

5. 2. 5. Klinikai jellemzők

Végül megpróbáltuk feltárni az észlelt összefüggések klinikai hátterét, és azt találtuk, hogy a fehérvérsejtszám magasabb volt az AH8.1 hordozókban, mind a teljes beteg kohorszban, mind a nem COPD-s betegekben. Az egészséges AH8.1 hordozók immunválasz változásait már vizsgálták, ugyanakkor, legalábbis tudomásunk szerint, az AH8.1 hordozók immunválasz során mutatott fehérvérsejtszám emelkedéséről eddig

még nem számoltak be. A nem-COPD-s betegcsoportban, ahol a 8.1 ősi haplotípus erős protektív hatást mutatott septicus shock tekintetében, magasabb vérnyomás (MAP, SBP) és alacsonyabb PEEP értékek voltak mérhetőek az AH8.1 hordozókban a nem-hordozókkal szemben. Adekvát folyadékpótlás ellenére perzisztáló hypotonia a septicus shock fő kritériuma. A pozitív végkilégzési nyomást a tüdőterületek PEEP toborzására és az oxigenizáció növelésére használják a hypoxiás légzési elégtelenség során. Alacsonyabb PEEP értékek stabilabb légzőrendszerre utalnak. Mindazonáltal az észlelt magasabb vérnyomás és alacsonyabb PEEP értékek kevésbé súlyos sepsist is jelezhetnek az AH8.1 hordozókban.

5. 2. 6. Pathogenetikai magyarázat

A vizsgálatban leírt eredmények lehetséges pathogenetikai magyarázata azon kevés adatra épül, melyet az AH8.1 hordozók LPS stimuláció esetén mutatott eltérő immunpathológiai viselkedéséről és citokin profiljáról tudunk. In vitro mérések alapján a HLA-B8, DR3 pozitív egészséges egyének (AH8.1) perifériás vérében a mononuclearis sejtek IFN- γ , IL-2 és IL-5 termelő képessége korlátozott mitogén stimuláció esetén [127]. Továbbá, egy kisebb tanulmány kimutatta, hogy bár a TNF- α és IL-1 termelés fokozottabb az egészséges AH8.1 hordozók vérmintáinak nem-stimulált leukocytáiban, mint a nem hordozókéban, ugyanakkor, LPS stimulációt követően sokkal magasabb TNF- α és IL-1 termelés mérhető a nem-hordozókban, mint a hordozókban. A nem-hordozókban a stimuláció hatására a TNF- α és IL-1 termelés 7-szeresére, illetve 3-szorosára emelkedett, szemben az AH8.1 hordozókban mért 5-szörös, illetve 2-szeres emelkedéssel [123].

Septicus betegekben a TNF- α az elsőként kibocsátott proinflammatorikus citokin, melyet az IL-1, IL-6 és IL-8 követ [173, 174]. A TNF- α és az IL-1 a legfontosabb proinflammatorikus citokinek, biológiai szempontból szorosan összefüggnek, szinergikusan hatnak és nagyban felelősek a sepsis klinikai manifesztációjáért [175-177]. A TNF- α és IL-1 celluláris receptoraikhoz kötődve számos jelátviteli út aktivációját idézik elő, melyek részei, többek között a G proteinek, az adenilcikláz, a foszfolipáz A₂ és C, az oxigén szabadgyökök és az NF- κ B. Ennek

következményeként számos gén íródik át, mint az intracellularis adhéziós molekula-1 (ICAM-1) és az endotheliális-leukocyta adhéziós molekula (ELAM) génjei, az alvadási és fibrinolitikus rendszer fehérjéinek génjei (szöveti faktor, urokináz-típusú plazminogén aktivátor és plazminogén aktivátor inhibitor-1), a proinflammatorikus- (IL-4, IL-6, IL-8) és antiinflammatorikus (IL-4, IL-10, IL1RA) citokinek génjei, a szekretoros foszfolipáz A₂ (PLA₂), az indukálható nitrogén-monoxid szintetáz és a ciklooxygenáz génjei [87, 173]. Kiemelendő a TNF- α és IL-1 géntranszkripciót fokozó hatása következtében jelentősen megemelkedő szérumban PAI-1 szerepe [104], mely DIC és MODS kialakulásában játszik közre és melynek szintje a sepsis kimenetelével fordítottan korrelál [97, 178, 179].

Sepsisben a proinflammatorikus citokinek túlzott termelődése, az immunválasz normál szabályozását megzavarva és pathológiás gyulladást előidéző folyamatokat elindítva, még az eredeti stimulusnál is veszélyesebb lehet. Az antiinflammatorikus citokinek fontos szerepe, hogy kontrol alatt tartásuk a gyulladást előidéző választ. Amennyiben sikerül egyensúlyt elérni, úgy a homeosztázis helyreáll, amennyiben nem, úgy a proinflammatorikus folyamat elszabadulásával szisztémás gyulladást előidéző válaszreakció (SIRS), MODS és septicus shock alakul ki. A rendelkezésre álló, fent részletezett, korlátozott megfigyelések alapján feltételezhető, hogy a pneumonia eredetű sepsisnek az AH8.1 hordozókban megfigyelt enyhébb lefolyása, a kevésbé kifejezett proinflammatorikus reakció következménye lehet, bár ennek hátterében álló molekuláris mechanizmusok ezideig döntő részt ismeretlenek.

Az AH8.1 hordozók genetikusan kódolt immunválasz változása, bár hátránnyá válhat egyéb körülmények (mint például tumoros és autoimmun betegségek) esetén, fertőzésekkel szemben hatékony lehet. Ezt az ősi haplotípust több mint 10 millió európai hordozza. Az észak-európaiak ősei az emberi élet afrikai bölcsőjétől távolra eső területeket népesítették be. Ez a környezetváltozás az átvándorolt népeket a szélsőséges időjárási viszonyoknak megfelelő szelekciónak tette ki, ami feltehetően csökkentette a fertőzésekre mutatott fogékonyságukat [180]. Ez a viszonylagos védelem pozitív szelekciós előnyként hozzájárulhatott az AH8.1 fennmaradásához és elterjedéséhez a kaukázusi populációban.

5. 3. A vizsgálatok erősségei, illetve korlátai

Vizsgálatainknak számos erőssége, ugyanakkor gyenge pontjai is vannak.

A vizsgálatok erőssége, hogy a prospektív tervezés segítséget jelentett a fenotípusos téves besorolások csökkentésében.

A lehetséges torzításokat a bevételi kritériumok pontosításával igyekeztünk minimalizálni: csak pneumonia eredetű, súlyos sepsisben szenvedő betegek kerültek a vizsgálatokba, akiknek a kórházi felvételt megelőzően hasonló ideig álltak fenn panaszaik, és nem zavarta az értékelést esetlegesen sebészileg eliminálható septicus góc. Az etnikum tekintetében homogén kohorsznak köszönhetően az etnikai heterogenitás következtében fennálló zavaró genetikai faktorok limitálhatóak voltak.

A független prediktorok befolyásának kiküszöbölésére, többváltozós logisztikus regressziós modelleket alkalmaztunk.

A 8.1 ősi haplotípus vizsgálat során nyert adataink kiemelik a haplotípus vizsgálatok értékét, melyek a szorosan kapcsolt polimorfizmusok hatásának teljesebb elemzését teszik lehetővé, mint ezen variánsok különálló vizsgálata.

A vizsgálatok fent leírt erősségei mellett, néhány korlátjukról is említést kell tenni.

Először, nagyobb esetszám feltehetően tovább erősítené a statisztikai eredményeket, ennek megfelelően még nagyobb betegszámmal végzett vizsgálatok szükségesek az eredmények további validálására.

Másodszor, jelen munkánk során a *PAI-1* gén mindössze egyetlen polimorfizmusát vizsgáltuk és a vizsgált populáció viszonylag idősebb egyénekből állt. A 4G/5G polimorfizmussal kimutatott összefüggés a *PAI-1* gén más funkcionális polimorfizmusával fennálló linkage disequilibrium következménye is lehetett. Erre utalna, hogy Kathiresan és munkatársai, a *PAI-1* gén 18 SNP-je közül két genetikai variánst (az rs2227631 és a 4G/5G polimorfizmust) azonosítottak, melyek egymással linkage disequilibriumban vannak és a *PAI-1* plazmaszintjével szoros összefüggést mutatnak [181]. Jelen vizsgálatban azért került sor a 4G/5G inszerciós/deléciós polimorfizmus analízisére, mert ez a *PAI-1* gén mind egészséges egyénekből, mind különböző betegségekben sokat tanulmányozott, jól jellemzett variációja. Az eddigi vizsgálatok alapján a *PAI-1* gén ezen polimorfizmusa diktálja elsősorban a *PAI-1*

expressziójának mértékét [112]. Eriksson és munkatársai kimutatták, hogy a PAI-1 szintje szignifikánsan magasabb a 4G allél homozigótákban, mint az 5G allél homozigótákban [68]. Dawson és munkatársai vizsgálata alapján, Il-1 stimulálás után a 4G allél hordozók HepG2 sejtjeinek mRNS termelése 6-szor magasabb volt, mint az 5G allélt hordozóké [101].

Harmadszor, nem tudunk adatokkal szolgálni a PAI-1 szérumszintjeit illetően, és a DIC pontszám is csak a betegek felvételekor került rögzítésre. Ezen paraméterek utánkövetése további adatokkal szolgálhat a PAI-1 és az alvadási rendszer pneumonia eredetű sepsis progressziójában játszott szerepéről.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

6. 1. A pneumonia eredetű sepsis kimenetelét befolyásoló genetikai tényezők: saját eredményeink

A sepsis szupportív terápiájában és molekuláris pathomechanizmusának megértésében elért eredmények ellenére, a sepsis szindróma továbbra is világszerte magas mortalitással járó kórkép és megoldásra váró probléma maradt. Vizsgálataink célja a pneumonia eredetű sepsis lezajlását és kimenetelét befolyásoló genetikai háttértényezők jobb megismerése volt.

A sepsis progressziójának, a többszervi elégtelenség kialakulásának, illetve a halálzásnak hátterében a fibrin termelés és bontás közötti egyensúly kisiklása feltételezhető, ezért a *PAI-1* gén 4G/5G polimorfizmusának hatását vizsgáltuk pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságát, illetve kimenetelét illetően. A célkitűzéseinkben szereplő kérdésekre az alábbi válaszokat kaptuk.

1. A *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus genotípus megoszlása és allél frekvenciája mutat-e összefüggést a sepsis súlyosabb lefolyásával, septicus shock, többszervi elégtelenség kialakulásával?

Eredményeinkből arra következtethetünk, hogy a *PAI-1* polimorfizmus 4G alléljának hordozói pneumonia eredetű, súlyos sepsisben szenvedő, kaukázusi betegekben magasabb rizikóval rendelkeznek MODS és septicus shock kialakulásának tekintetében, az adjusztált és a nem-adjusztált elemzések alapján egyaránt.

A *PAI-1* polimorfizmus 4G alléljának hordozóiban a betegség lefolyása fulminánssabb, amit a *PAI-1* genotípusnak a folyamatos klinikai változókkal – mint az ITO napok száma a nem-túlélőkben, az invazív lélegeztetés nélküli napok száma és a septicus shock nélküli napok száma az első 28 napban - kimutatott kapcsolata is bizonyít.

2. A felvételi DIC pontszám mutat-e összefüggést a *PAI-1* 4G/5G allél frekvenciájával?

A *PAI-1* polimorfizmus 4G alléljának hordozóiban felvételnél magasabb DIC pontszám volt mérhető, ami megerősíti azt a feltételezést, hogy ez a polimorfizmus az alvadási rendszer megzavarásával befolyásolhatja a sepsis kimenetelét.

3. A *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus genotípus megoszlása és allél frekvenciája befolyásolja-e az intenzív osztályos mortalitást?

A *PAI-1* polimorfizmus 4G alléljának hordozói között a halálozás tendenciózan magasabb aránya volt megfigyelhető az adjusztált és a nem-adjusztált elemzések alapján egyaránt.

Másik vizsgálatunk célja - a gyulladással- és fertőzéssel kapcsolatos rendellenességek tekintetében az egyik legfontosabb genetikai régió, az MHC területén található, erősen konzervált, a kaukázusi populációban igen elterjedt - 8.1 ősi haplotípus hordozó állapot pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának tanulmányozása volt. A célkitűzéseinkben szereplő kérdésekre az alábbi válaszokat kaptuk.

1. Milyen hatással van az AH8.1 a pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára, septicus shock kialakulására?

A 8.1 ősi haplotípus hordozása esetén ritkábban fejlődött ki septicus shock pneumonia eredetű, súlyos sepsisben szenvedő, nem COPD-s kaukázusi betegekben, mint az AH8.1-t nem hordozókban.

A többváltozós regresszió-analízis alapján septicus shock tekintetében az AH8.1 az összes betegben független védő szereppel bírt, ez a protektív hatás a nem COPD-s betegekben még kifejezettebb volt.

2. Milyen hatással van az AH8.1 a pneumonia eredetű sepsis mortalitására?

A mortalitás incidenciája sem a teljes kohorszban, sem az alcsoportokban nem különbözött szignifikáns mértékben az AH8.1 hordozók és a nem-hordozók között.

Az adjusztált modellek nem mutatták ki a 8.1 ősi haplotípus védő szerepét a mortalitás tekintetében.

A továbbiakban áttekintjük, hogy vizsgálataink hogyan illeszkednek a sepsis genetikai hátterét kutató tanulmányok adta aktuális helyzetképe, és milyen módon kapcsolódhatnak a jövőben a klinikumhoz.

6. 2. A sepsis genetikai hátterének kutatása: aktuális helyzetkép

A sepsis morbiditását és mortalitását eddig általában a helytelen vagy megkésett diagnózis, a nem megfelelő antimikrobiális terápia, illetve a társbetegségek számlájára írtuk. Napjainkban azonban már nem kérdéses, hogy a szervezet válaszreakciója és az azt befolyásoló genetikai háttér szintén lényeges meghatározója a fertőző betegségek kimenetelének. Génjeink a fertőzések szempontjából védő- vagy rizikótényezőt jelenthetnek. A sepsis súlyosságát, kimenetelét potenciálisan befolyásoló gének polimorfizmusainak változatos tárházát azonosították már az eddigi kutatások. Azonban, míg a genetikai ismeretek, így a pharmacogenomika használata, látványos előrelépést jelentettek például az onkológia területén, addig a fertőző betegségek területén - a rendelkezésre álló hatalmas mennyiségű publikáció ellenére - kiábrándítóan nem eredményeztek sem új terápiát, sem prognosztikai vagy diagnosztikai tesztet.

A sepsis pathomechanizmusának felderítésére végzett genetikai vizsgálatok korlátain kívül (ezekre a következő alfejezetben térek ki) a sikertelenség hátterében több tényező is azonosítható. Nem hagyhatjuk figyelmen kívül, hogy a sepsis rendkívül összetett multifaktoriális és poligénes szindróma, melyet nemcsak bonyolult genetikai interakciók, de a pathogének fajtái, a környezet és a kísérő betegségek egyaránt meghatároznak. Ennek megfelelően a genetikai vizsgálatoktól nem várható el, hogy kézzelfogható betegség-markerekkel szolgáljanak, az viszont igen, hogy érthetőbbé tegyék a gyulladásozó folyamatokat, és kulcsfontosságú adatokat szolgáltatassanak azokról a tényezőkről, melyek a beteg fertőzéssel szembeni esendőségét még a betegség megjelenése előtt megmutathatják.

6. 3. A genetika és a klinikai tanulmányok

Nehéz kiigazodni a rendelkezésre álló gén-asszociációs vizsgálatok szerteágazó eredményein. A csökkenő vizsgálati, mérési költségek, a pozitív eredmények közlésének kényszere, a publikációk számának az eredmények felaprózásával történő maximalizálása sok zavart eredményezett a genetikai hírekben. Ahhoz, hogy egy genetikai polimorfizmus reális markerré válhasson, a következő kritériumoknak kell megfelelnie:

- A genetikai asszociációt legalább egy alkalommal validálni lehessen egy független kohorszban is;
- Ki lehessen mutatni a génpolimorfizmus következtében megváltozott fehérje termelést az adott populációban;
- Bizonyítani lehessen, hogy az adott gén polimorfizmusa felelős az eltérő fehérje termelésért és nem kapcsoltsági egyensúlytalanság áll fenn egy másik oki polimorfizmussal.

A fenti kritériumoknak azonban csak igen kevés kandidáns gén polimorfizmus felel meg.

Szintén kevés vizsgálat gondoskodott a genotipizálási tévedések elkerülését segítő minőségbiztosítási protokollokról (például az eredmények random re-genotipizálással történő ellenőrzéséről).

A vizsgálatok megtervezésénél problémát jelentett, hogy a kandidáns gének polimorfizmusait sokszor a sepsis forrásától, a pathogéntől és az ennek megfelelő immunológiai úttól függetlenül vizsgálták. A pathogén ismerete és az ennek megfelelő vizsgálati kohorsz megválasztása például különösen lényeges az antigén felismerésért felelős gének polimorfizmusainak tanulmányozása során.

A vizsgálatokban ezen szempontok figyelembe vételére törekedtünk.

A bővülő genetikai ismeretek nemcsak a genetikai, de egyéb tanulmányok pontosabb megtervezését is elősegíthetik. Azáltal, hogy a betegségek pathomechanizmusába egy újabb dimenzió keresztül, a gének szintjére lemenve láthatunk bele, magyarázatot találhatunk a már lezajlott vizsgálatok eddig nehezen interpretálható eredményeire is. Nézzük példaként, hogy a *PAI-1* gén polimorfizmusának hatását kutató vizsgálatunk hogyan segíthetne a jövőben egy

tanulmány pontosabb megtervezésében. Az aktivált protein C a PAI-1-gyel 1-1 komplexet alkotva, az egyik legerősebb fibrinolízis inhibitor inaktíválva, fokozza a fibrinolízist [98]. A sepsis folyamán a thrombin szint megemelkedik, ami magasabb aktivált protein C szintet eredményez. Az aktivált protein C a PAI-1-gyel komplexet alkot, ez végül a protein C szint csökkenéséhez vezet [182]. Tartósan magas PAI-1 szintek esetén az aktivált protein C szintje tartósan alacsony marad. A PAI-1 szintje genetikailag szabályozott. Az aktivált protein C szintet befolyásoló ilyen genetikai háttértényezőket eddig nem vették figyelembe a tanulmányokban, pedig ezen tényezők magyarázatot adhatnak például az aktivált protein C eltérő hatékonyságára bizonyos betegcsoportokban, illetve segítséget jelenthetnek a személyre szabott terápia kialakításában is.

6. 4. A genetika és a betegség prognosztikai modellek

Az intenzív terápiában aktuálisan rendelkezésre álló, döntően szocio-demográfiai és klinikai rizikófaktorokra épülő prognosztikai modellek nem szolgálnak megfelelő magyarázattal arra, hogy hasonló adottságú betegek miért reagálnak merőben eltérő módon az adott fertőző betegségre.

Wingeyer és munkatársai septicus betegekben végzett vizsgálatában a PAI-1 gén 4G alléljának SOFA illetve APACHE pontszámokkal történő kombinálásával jobb mortalitási predikciós hatékonyság volt elérhető [183]. A PAI-1-nek a sepsisben kimutatott szisztémás hatásai mellett, kiemelendő annak specifikusan a tüdőben kifejtett, lokális, fibrinolízist csökkentő és immunmoduláló hatása is. A *PAI-1* gén polimorfizmusa hasznos rizikó biomarker lehet súlyos pneumoniában szenvedő betegek esetén is.

A jövőben az intenzív osztályos betegség-súlyossági prognosztikai pontrendszerek bizonyos genetikai adatok hozzáadásával tovább pontosíthatóak. Ezek a genetikai faktorok segíthetnek a rizikóbetegyek könnyebb azonosításában is.

6. 5. Milyen klinikai lehetőségeket teremt a genetikai polimorfizmusok ismerete a sepsis terápiájában?

Egy adott beteg genetikai térképének ismeretében lehetőség nyílik a betegség kezelésén túlmenően az adott beteg személyre szabott kezelésére is.

A rekombináns aktivált protein C-nek (APC) a sepsis kezelésében elért ígéretes sikerei óta jelentős figyelem fordult a protein C útvonal felé [184]. Ugyanakkor az akut gyulladásos válaszreakcióban központi szerepet játszó PAI-1 klinikai fontossága, a genetikusan meghatározott egyéni válaszkülönbségek, nem mindig kerültek a kutatások és a figyelem középpontjába. Azon betegek azonosítása, akiknél a PAI-1 szint kiugróan magas - mint a 4G/4G homozigóták esetén - hasznos lehet a megfelelő célzott terápia beállítása szempontjából. Ők képeznék azt a betegcsoportot, akik a legtöbbet profitálhatnak az anti-PAI-1 terápiából, így például aktivált protein C, vagy esetlegesen szöveti típusú plazminogén aktivátor adásából. Szöveti típusú plazminogén aktivátor adása akut tüdőszérülésben hatékony lehet [185], de egyelőre csak korlátozott esetszámú tanulmány áll rendelkezésünkre sepsisben és purpurában szenvedő gyermekek kezelésében, ahol is nagy számban számoltak be intracranialis vérzésről [186]. A vérzés rizikója feltehetőleg a PAI-1 szint, így a genetikai háttér ismeretében csökkenthető lenne. A PROWESS tanulmány súlyos septicus betegeknél aktivált protein C adásakor a mortalitás csökkenéséről, ugyanakkor fokozott vérzésveszélyről számolt be [184]. Ez esetben is érdekes lenne megvizsgálni, hogy a PAI-1 szint és a 4G allél hordozó állapot hogyan befolyásolja az aktivált protein C terápia hatékonyságát és szövődményeit. A PAI-1 gátlása mára az új antithrombotikus terápiás próbálkozások részévé vált, az ilyen terápiás megközelítésből leginkább profitáló betegcsoport azonosításához pedig a *PAI-1* gén polimorfizmusának ismerete igen hasznos lehet a jövőben.

A betegek immunválaszát meghatározó genetikai tényezők ismerete segíthet a személyre szabott terápiás döntések meghozatalában. Számos klinikai vizsgálat zajlott a sepsis új terápiás lehetőségeinek megtalálására: N-acetylcystein és L-2-oxothiazolidin-4-carboxilát antioxidánsokkal [187], TNF- α receptor blokkolókkal, illetve anti- TNF- α antitestekkel [188, 189], rekombináns humán II-1 receptor antagonistával [190], thrombocytá aktiváló faktor gátlásával [191], antithrombin III-mal [192], rekombináns

humán szöveti faktor út inhibitorral [193] és rekombináns humán APC-vel [184]. Ezek a vizsgálatok azonban – az APC kivételével - nem hoztak eredményt a sepsis kezelésében. A molekuláris mechanizmusokat megvilágító genetikai tanulmányok elvezethetnek a veleszületett immunválasz azon összetevőihöz, melyek célként szolgálhatnak agonista vagy antagonistá molekulák, gyulladásgátló vagy épp az immunválaszt serkentő terápiák kifejlesztéséhez.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az orvosi technológiák fejlődése, az immunszuppresszív terápiák kiterjedt használata, a populáció öregedése következtében a sepsis gyakorisága rohamosan növekszik. A sepsis szupportív terápiájában és pathogenezisének kutatásában elért eredmények ellenére, a szindróma továbbra is a kritikus állapotú betegek vezető halál oka maradt. Míg a múlt században a sepsis leginkább abdominális gócból fejlődött ki, napjainkban a pulmonalis eredetű sepsis a leggyakoribb. A genetikai háttér erősen befolyásolja a fertőzésekre való hajlamot és azok szövődményeinek kialakulását.

Vizsgálataink alapján a pneumonia eredetű súlyos sepsis miatt kórházba felvett betegek között a *PAI-1* 4G/4G és 4G/5G genotípusának hordozóiban magasabb a MODS és a septicus shock kialakulásának rizikója. Ez a megfigyelés megerősíti azon korábbi tanulmányok eredményeit, melyek szerint az alvadási rendszer aktivációja és a fibrinolízis gátlása fontos szerepet játszik a sepsis pathogenezisében, és alátámasztja azt a nézetet, hogy egyes genetikai faktorok rosszabb kimenetelre hajlamosítanak súlyos sepsis esetén. Ezen genetikai faktorok azonosítása a jövőben segíthet a különböző rizikónak kitett betegek megfelelő terápiájának megválasztásában.

Eredményeink szerint a 8.1 ősi haplotípusnak védő hatása van septicus shock kialakulásával szemben pneumonia eredetű sepsis esetén, ez a hatás különösen COPD-ben nem szenvedő betegeknél kifejezett. Az AH8.1 védelmet nyújthat a bakteriális infekciók progressziójával szemben. Ez magyarázhatja – legalábbis részben – jellegzetes elterjedtségét a kaukázusi populációban.

A sepsis genetikai etiológiáját már több mint egy évtizede intenzíven kutatják, azonban csak néhány ígéretes gén-asszociációról tudtak beszámolni az eddigi vizsgálatok. A többlet információt nyújtó haplotípus vizsgálatok lehetőséget teremthetnek a sepsis súlyosságát és mortalitását befolyásoló valós összefüggések megtalálására.

A sepsis genetikai hátterének megismerése segítséget jelenthet pathomechanizmusának átfogóbb megértésében, a klinikai tanulmányok körültekintőbb tervezésében, a betegség prognosztikai modellek pontosításában, és a személyre szabott kezelés megteremtésében.

8. SUMMARY

Advances in medical technology, widespread use of immunosuppressive therapies and ageing of the population result in rapidly increasing incidence of sepsis. Despite significant advances both in supportive care and in understanding the molecular basis of sepsis and its associated immune response, the sepsis syndrome remains a worldwide problem associated with a high mortality rate. While sepsis was mainly due to abdominal infections in the last century, the majority of sepsis is of pulmonary origin nowadays. Susceptibility to infectious disease and its adverse outcome has a strong genetic influence.

Our results indicate that among patients hospitalized with severe sepsis due to pneumonia, carriers of the *PAI-1* 4G/4G and 4G/5G genotypes have higher risk for MODS and septic shock. This observation supports previous studies reporting that the activation of coagulation and the inhibition of fibrinolysis are important in the pathogenesis of sepsis, and support the notion that particular genetic factors may predispose to worse outcome in severe sepsis. Identifying these genetic factors might, in the future, help to choose the appropriate therapy for patients at different risk.

We found that the 8.1 ancestral haplotype has a protective role against septic shock in pneumonia-related sepsis, particularly in COPD-free patients. AH8.1 may confer protection against the progression of bacterial infection, and this could explain, at least partially, its high frequency in the Caucasian population.

Intensive research into the genetic etiology of sepsis has been carried out for more than a decade, but only a few promising gene associations have been reported. The analysis of informative haplotypes might provide a possibility to establish a true association with the severity and mortality of sepsis.

Knowing the genetic background of sepsis may ease the comprehensive understanding of its pathomechanism, the more careful planning of clinical studies, the refinement of scoring systems of illness severity, and may help us in developing personalized treatment.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G. (2003) 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*, 31(4):1250-1256.
2. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. (2001) Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*, 29(7):1303-1310.
3. Hotchkiss RS, Karl IE. (2003) The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med*, 348(2):138-150.
4. Murphy SL. (2000) Deaths: final data for 1998. *Natl Vital Stat Rep*, 48(11):1-105.
5. Villar J, Maca-Meyer N, Perez-Mendez L, Flores C. (2004) Bench-to-bedside review: understanding genetic predisposition to sepsis. *Crit Care*, 8(3):180-189.
6. Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL. (2007) Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: a trend analysis from 1993 to 2003. *Crit Care Med*, 35(5):1244-1250.
7. Bocchino M, Marruchella A, Saltini C. (2005) Immunogenetics of severe respiratory infections: models for the development of new therapeutic strategies. *Respiration*, 72(5):449-457.
8. Angus DC, Burgner D, Wunderink R, Mira JP, Gerlach H, Wiedermann CJ, Vincent JL. (2003) The PIRO concept: P is for predisposition. *Crit Care*, 7(3):248-251.
9. Kumpf O, Schumann RR. (2008) Genetic influence on bloodstream infections and sepsis. *Int J Antimicrob Agents*, 32 Suppl 1:S44-50.
10. Sorensen TI, Nielsen GG, Andersen PK, Teasdale TW. (1988) Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N Engl J Med*, 318(12):727-732.
11. Burgner D, Jamieson SE, Blackwell JM. (2006) Genetic susceptibility to infectious diseases: big is beautiful, but will bigger be even better? *Lancet Infect Dis*, 6(10):653-663.

12. Murphy PM. (1993) Molecular mimicry and the generation of host defense protein diversity. *Cell*, 72(6):823-826.
13. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, Devon K, Dewar K, Doyle M, FitzHugh W, Funke R, Gage D, Harris K, Heaford A, Howland J, Kann L, Lehoczky J, LeVine R, McEwan P, McKernan K, Meldrim J, Mesirov JP, Miranda C, Morris W, Naylor J, Raymond C, Rosetti M, Santos R, Sheridan A, Sougnez C, Stange-Thomann N, Stojanovic N, Subramanian A, Wyman D, Rogers J, Sulston J, Ainscough R, Beck S, Bentley D, Burton J, Clee C, Carter N, Coulson A, Deadman R, Deloukas P, Dunham A, Dunham I, Durbin R, French L, Grafham D, Gregory S, Hubbard T, Humphray S, Hunt A, Jones M, Lloyd C, McMurray A, Matthews L, Mercer S, Milne S, Mullikin JC, Mungall A, Plumb R, Ross M, Shownkeen R, Sims S, Waterston RH, Wilson RK, Hillier LW, McPherson JD, Marra MA, Mardis ER, Fulton LA, Chinwalla AT, Pepin KH, Gish WR, Chissoe SL, Wendl MC, Delehaunty KD, Miner TL, Delehaunty A, Kramer JB, Cook LL, Fulton RS, Johnson DL, Minx PJ, Clifton SW, Hawkins T, Branscomb E, Predki P, Richardson P, Wenning S, Slezak T, Doggett N, Cheng JF, Olsen A, Lucas S, Elkin C, Uberbacher E, Frazier M, Gibbs RA, Muzny DM, Scherer SE, Bouck JB, Sodergren EJ, Worley KC, Rives CM, Gorrell JH, Metzker ML, Naylor SL, Kucherlapati RS, Nelson DL, Weinstock GM, Sakaki Y, Fujiyama A, Hattori M, Yada T, Toyoda A, Itoh T, Kawagoe C, Watanabe H, Totoki Y, Taylor T, Weissenbach J, Heilig R, Saurin W, Artiguenave F, Brottier P, Bruls T, Pelletier E, Robert C, Wincker P, Smith DR, Doucette-Stamm L, Rubenfield M, Weinstock K, Lee HM, Dubois J, Rosenthal A, Platzer M, Nyakatura G, Taudien S, Rump A, Yang H, Yu J, Wang J, Huang G, Gu J, Hood L, Rowen L, Madan A, Qin S, Davis RW, Federspiel NA, Abola AP, Proctor MJ, Myers RM, Schmutz J, Dickson M, Grimwood J, Cox DR, Olson MV, Kaul R, Raymond C, Shimizu N, Kawasaki K, Minoshima S, Evans GA, Athanasiou M, Schultz R, Roe BA, Chen F, Pan H, Ramser J, Lehrach H, Reinhardt R, McCombie WR, de la Bastide M, Dedhia N, Blöcker H, Hornischer K, Nordtsiek G, Agarwala R, Aravind L, Bailey JA, Bateman A, Batzoglu S, Birney E, Bork P, Brown DG, Burge CB, Cerutti L, Chen HC, Church D, Clamp M, Copley RR, Doerks T, Eddy SR, Eichler EE, Furey TS,

- Galagan J, Gilbert JG, Harmon C, Hayashizaki Y, Haussler D, Hermjakob H, Hokamp K, Jang W, Johnson LS, Jones TA, Kasif S, Kasprzyk A, Kennedy S, Kent WJ, Kitts P, Koonin EV, Korf I, Kulp D, Lancet D, Lowe TM, McLysaght A, Mikkelsen T, Moran JV, Mulder N, Pollara VJ, Ponting CP, Schuler G, Schultz J, Slater G, Smit AF, Stupka E, Szustakowski J, Thierry-Mieg D, Thierry-Mieg J, Wagner L, Wallis J, Wheeler R, Williams A, Wolf YI, Wolfe KH, Yang SP, Yeh RF, Collins F, Guyer MS, Peterson J, Felsenfeld A, Wetterstrand KA, Patrinos A, Morgan MJ, de Jong P, Catanese JJ, Osoegawa K, Shizuya H, Choi S, Chen YJ; International Human Genome Sequencing Consortium. (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409(6822):860-921.
14. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, Smith HO, Yandell M, Evans CA, Holt RA, Gocayne JD, Amanatides P, Ballew RM, Huson DH, Wortman JR, Zhang Q, Kodira CD, Zheng XH, Chen L, Skupski M, Subramanian G, Thomas PD, Zhang J, Gabor Miklos GL, Nelson C, Broder S, Clark AG, Nadeau J, McKusick VA, Zinder N, Levine AJ, Roberts RJ, Simon M, Slayman C, Hunkapiller M, Bolanos R, Delcher A, Dew I, Fasulo D, Flanigan M, Florea L, Halpern A, Hannenhalli S, Kravitz S, Levy S, Mobarry C, Reinert K, Remington K, Abu-Threideh J, Beasley E, Biddick K, Bonazzi V, Brandon R, Cargill M, Chandramouliswaran I, Charlab R, Chaturvedi K, Deng Z, Di Francesco V, Dunn P, Eilbeck K, Evangelista C, Gabrielian AE, Gan W, Ge W, Gong F, Gu Z, Guan P, Heiman TJ, Higgins ME, Ji RR, Ke Z, Ketchum KA, Lai Z, Lei Y, Li Z, Li J, Liang Y, Lin X, Lu F, Merkulov GV, Milshina N, Moore HM, Naik AK, Narayan VA, Neelam B, Nusskern D, Rusch DB, Salzberg S, Shao W, Shue B, Sun J, Wang Z, Wang A, Wang X, Wang J, Wei M, Wides R, Xiao C, Yan C, Yao A, Ye J, Zhan M, Zhang W, Zhang H, Zhao Q, Zheng L, Zhong F, Zhong W, Zhu S, Zhao S, Gilbert D, Baumhueter S, Spier G, Carter C, Cravchik A, Woodage T, Ali F, An H, Awe A, Baldwin D, Baden H, Barnstead M, Barrow I, Beeson K, Busam D, Carver A, Center A, Cheng ML, Curry L, Danaher S, Davenport L, Desilets R, Dietz S, Dodson K, Doup L, Ferriera S, Garg N, Gluecksmann A, Hart B, Haynes J, Haynes C, Heiner C, Hladun S, Hostin D, Houck J, Howland T, Ibegwam C, Johnson J, Kalush F,

- Kline L, Koduru S, Love A, Mann F, May D, McCawley S, McIntosh T, McMullen I, Moy M, Moy L, Murphy B, Nelson K, Pfannkoch C, Pratts E, Puri V, Qureshi H, Reardon M, Rodriguez R, Rogers YH, Romblad D, Ruhfel B, Scott R, Sitter C, Smallwood M, Stewart E, Strong R, Suh E, Thomas R, Tint NN, Tse S, Vech C, Wang G, Wetter J, Williams S, Williams M, Windsor S, Winn-Deen E, Wolfe K, Zaveri J, Zaveri K, Abril JF, Guigó R, Campbell MJ, Sjolander KV, Karlak B, Kejariwal A, Mi H, Lazareva B, Hatton T, Narechania A, Diemer K, Muruganujan A, Guo N, Sato S, Bafna V, Istrail S, Lippert R, Schwartz R, Walenz B, Yooseph S, Allen D, Basu A, Baxendale J, Blick L, Caminha M, Carnes-Stine J, Caulk P, Chiang YH, Coyne M, Dahlke C, Mays A, Dombroski M, Donnelly M, Ely D, Esparham S, Fosler C, Gire H, Glanowski S, Glasser K, Glodek A, Gorokhov M, Graham K, Gropman B, Harris M, Heil J, Henderson S, Hoover J, Jennings D, Jordan C, Jordan J, Kasha J, Kagan L, Kraft C, Levitsky A, Lewis M, Liu X, Lopez J, Ma D, Majoros W, McDaniel J, Murphy S, Newman M, Nguyen T, Nguyen N, Nodell M, Pan S, Peck J, Peterson M, Rowe W, Sanders R, Scott J, Simpson M, Smith T, Sprague A, Stockwell T, Turner R, Venter E, Wang M, Wen M, Wu D, Wu M, Xia A, Zandieh A, Zhu X. (2001) The sequence of the human genome. *Science*, 291(5507):1304-1351.
15. Mira JP, Cariou A, Grall F, Delclaux C, Losser MR, Heshmati F, Cheval C, Monchi M, Teboul JL, Riche F, Leleu G, Arbibe L, Mignon A, Delpesch M, Dhainaut JF. (1999) Association of TNF2, a TNF-alpha promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality: a multicenter study. *JAMA*, 282(6):561-568.
16. Stuber F, Udalova IA, Book M, Drutskaya LN, Kuprash DV, Turetskaya RL, Schade FU, Nedospasov SA. (1995) -308 tumor necrosis factor (TNF) polymorphism is not associated with survival in severe sepsis and is unrelated to lipopolysaccharide inducibility of the human TNF promoter. *J Inflamm*, 46(1):42-50.
17. Weiss KM, Terwilliger JD. (2000) How many diseases does it take to map a gene with SNPs? *Nat Genet*, 26(2):151-157.

18. Kesh S, Mensah NY, Peterlongo P, Jaffe D, Hsu K, M VDB, O'Reilly R, Pamer E, Satagopan J, Papanicolaou GA. (2005) TLR1 and TLR6 polymorphisms are associated with susceptibility to invasive aspergillosis after allogeneic stem cell transplantation. *Ann N Y Acad Sci*, 1062:95-103.
19. Hawn TR, Misch EA, Dunstan SJ, Thwaites GE, Lan NT, Quy HT, Chau TT, Rodrigues S, Nachman A, Janer M, Hien TT, Farrar JJ, Aderem A. (2007) A common human TLR1 polymorphism regulates the innate immune response to lipopeptides. *Eur J Immunol*, 37(8):2280-2289.
20. Moore CE, Segal S, Berendt AR, Hill AV, Day NP. (2004) Lack of association between Toll-like receptor 2 polymorphisms and susceptibility to severe disease caused by *Staphylococcus aureus*. *Clin Diagn Lab Immunol*, 11(6):1194-1197.
21. Sutherland AM, Walley KR, Russell JA. (2005) Polymorphisms in CD14, mannose-binding lectin, and Toll-like receptor-2 are associated with increased prevalence of infection in critically ill adults. *Crit Care Med*, 33(3):638-644.
22. Lorenz E, Mira JP, Cornish KL, Arbour NC, Schwartz DA. (2000) A novel polymorphism in the toll-like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. *Infect Immun*, 68(11):6398-6401.
23. Feterowski C, Emmanuilidis K, Miethke T, Gerauer K, Rump M, Ulm K, Holzmann B, Weighardt H. (2003) Effects of functional Toll-like receptor-4 mutations on the immune response to human and experimental sepsis. *Immunology*, 109(3):426-431.
24. Jessen KM, Lindboe SB, Petersen AL, Eugen-Olsen J, Benfield T. (2007) Common TNF-alpha, IL-1 beta, PAI-1, uPA, CD14 and TLR4 polymorphisms are not associated with disease severity or outcome from Gram negative sepsis. *BMC Infect Dis*, 7:108.
25. Agnese DM, Calvano JE, Hahm SJ, Coyle SM, Corbett SA, Calvano SE, Lowry SF. (2002) Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative infections. *J Infect Dis*, 186(10):1522-1525.
26. Hawn TR, Verbon A, Lettinga KD, Zhao LP, Li SS, Laws RJ, Skerrett SJ, Beutler B, Schroeder L, Nachman A, Ozinsky A, Smith KD, Aderem A. (2003) A common dominant TLR5 stop codon polymorphism abolishes flagellin

- signaling and is associated with susceptibility to legionnaires' disease. *J Exp Med*, 198(10):1563-1572.
27. Hubacek JA, Stuber F, Frohlich D, Book M, Wetegrove S, Ritter M, Rothe G, Schmitz G. (2001) Gene variants of the bactericidal/permeability increasing protein and lipopolysaccharide binding protein in sepsis patients: gender-specific genetic predisposition to sepsis. *Crit Care Med*, 29(3):557-561.
 28. Chien JW, Boeckh MJ, Hansen JA, Clark JG. (2008) Lipopolysaccharide binding protein promoter variants influence the risk for Gram-negative bacteremia and mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*, 111(4):2462-2469.
 29. Hamann L, Kumpf O, Muller M, Visintin A, Eckert J, Schlag PM, Schumann RR. (2004) A coding mutation within the first exon of the human MD-2 gene results in decreased lipopolysaccharide-induced signaling. *Genes Immun*, 5(4):283-288.
 30. Medvedev AE, Lentschat A, Kuhns DB, Blanco JC, Salkowski C, Zhang S, Arditi M, Gallin JI, Vogel SN. (2003) Distinct mutations in IRAK-4 confer hyporesponsiveness to lipopolysaccharide and interleukin-1 in a patient with recurrent bacterial infections. *J Exp Med*, 198(4):521-531.
 31. Arcaroli J, Silva E, Maloney JP, He Q, Svetkauskaite D, Murphy JR, Abraham E. (2006) Variant IRAK-1 haplotype is associated with increased nuclear factor-kappaB activation and worse outcomes in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*, 173(12):1335-1341.
 32. Khor CC, Chapman SJ, Vannberg FO, Dunne A, Murphy C, Ling EY, Frodsham AJ, Walley AJ, Kyrieleis O, Khan A, Aucan C, Segal S, Moore CE, Knox K, Campbell SJ, Lienhardt C, Scott A, Aaby P, Sow OY, Grignani RT, Sillah J, Sirugo G, Peshu N, Williams TN, Maitland K, Davies RJ, Kwiatkowski DP, Day NP, Yala D, Crook DW, Marsh K, Berkley JA, O'Neill LA, Hill AV. (2007) A Mal functional variant is associated with protection against invasive pneumococcal disease, bacteremia, malaria and tuberculosis. *Nat Genet*, 39(4):523-528.
 33. Chapman SJ, Khor CC, Vannberg FO, Frodsham A, Walley A, Maskell NA, Davies CW, Segal S, Moore CE, Gillespie SH, Denny P, Day NP, Crook DW,

- Davies RJ, Hill AV. (2007) IkappaB genetic polymorphisms and invasive pneumococcal disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 176(2):181-187.
34. Waterer GW, Quasney MW, Cantor RM, Wunderink RG. (2001) Septic shock and respiratory failure in community-acquired pneumonia have different TNF polymorphism associations. *Am J Respir Crit Care Med*, 163(7):1599-1604.
 35. Tang GJ, Huang SL, Yien HW, Chen WS, Chi CW, Wu CW, Lui WY, Chiu JH, Lee TY. (2000) Tumor necrosis factor gene polymorphism and septic shock in surgical infection. *Crit Care Med*, 28(8):2733-2736.
 36. Gordon AC, Lagan AL, Aganna E, Cheung L, Peters CJ, McDermott MF, Millo JL, Welsh KI, Holloway P, Hitman GA, Piper RD, Garrard CS, Hinds CJ. (2004) TNF and TNFR polymorphisms in severe sepsis and septic shock: a prospective multicentre study. *Genes Immun*, 5(8):631-640.
 37. Ma P, Chen D, Pan J, Du B. (2002) Genomic polymorphism within interleukin-1 family cytokines influences the outcome of septic patients. *Crit Care Med*, 30(5):1046-1050.
 38. Read RC, Camp NJ, di Giovine FS, Borrow R, Kaczmarek EB, Chaudhary AG, Fox AJ, Duff GW. (2000) An interleukin-1 genotype is associated with fatal outcome of meningococcal disease. *J Infect Dis*, 182(5):1557-1560.
 39. Schluter B, Raufhake C, Erren M, Schotte H, Kipp F, Rust S, Van Aken H, Assmann G, Berendes E. (2002) Effect of the interleukin-6 promoter polymorphism (-174 G/C) on the incidence and outcome of sepsis. *Crit Care Med*, 30(1):32-37.
 40. Tischendorf JJ, Yagmur E, Scholten D, Vidacek D, Koch A, Winograd R, Gressner AM, Trautwein C, Wasmuth HE, Lammert F. (2007) The interleukin-6 (IL6)-174 G/C promoter genotype is associated with the presence of septic shock and the ex vivo secretion of IL6. *Int J Immunogenet*, 34(6):413-418.
 41. Zhu XL, Du T, Li JH, Lu LP, Guo XH, Gao JR, Gou CY, Li Z, Liu Y, Li H. (2007) Association of HLA-DQB1 gene polymorphisms with outcomes of HBV infection in Chinese Han population. *Swiss Med Wkly*, 137(7-8):114-120.
 42. Stassen NA, Leslie-Norfleet LA, Robertson AM, Eichenberger MR, Polk HC, Jr. (2002) Interferon-gamma gene polymorphisms and the development of sepsis in patients with trauma. *Surgery*, 132(2):289-292.

43. Tiancha H, Huiqin W, Jiyong J, Jingfen J, Wei C. (2011) Association between lymphotoxin-alpha intron +252 polymorphism and sepsis: A meta-analysis. *Scand J Infect Dis*, 43(6-7):436-447.
44. Payton A, Payne D, Mankhambo LA, Banda DL, Hart CA, Ollier WE, Carrol ED. (2009) Nitric oxide synthase 2A (NOS2A) polymorphisms are not associated with invasive pneumococcal disease. *BMC Med Genet*, 10:28.
45. Shu Q, Fang X, Chen Q, Stuber F. (2003) IL-10 polymorphism is associated with increased incidence of severe sepsis. *Chin Med J (Engl)*, 116(11):1756-1759.
46. Gallagher PM, Lowe G, Fitzgerald T, Bella A, Greene CM, McElvaney NG, O'Neill SJ. (2003) Association of IL-10 polymorphism with severity of illness in community acquired pneumonia. *Thorax*, 58(2):154-156.
47. Arnalich F, Lopez-Maderuelo D, Codoceo R, Lopez J, Solis-Garrido LM, Capiscol C, Fernandez-Capitan C, Madero R, Montiel C. (2002) Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and mortality in patients with severe sepsis. *Clin Exp Immunol*, 127(2):331-336.
48. Adewoye AH, Nolan VG, Ma Q, Baldwin C, Wyszynski DF, Farrell JJ, Farrer LA, Steinberg MH. (2006) Association of polymorphisms of IGF1R and genes in the transforming growth factor- beta /bone morphogenetic protein pathway with bacteremia in sickle cell anemia. *Clin Infect Dis*, 43(5):593-598.
49. Waterer GW, ElBahlawan L, Quasney MW, Zhang Q, Kessler LA, Wunderink RG. (2003) Heat shock protein 70-2+1267 AA homozygotes have an increased risk of septic shock in adults with community-acquired pneumonia. *Crit Care Med*, 31(5):1367-1372.
50. Westendorp RG, Hottenga JJ, Slagboom PE. (1999) Variation in plasminogen-activator-inhibitor-1 gene and risk of meningococcal septic shock. *Lancet*, 354(9178):561-563.
51. Kremer Hovinga JA, Franco RF, Zago MA, Ten Cate H, Westendorp RG, Reitsma PH. (2004) A functional single nucleotide polymorphism in the thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) gene associates with outcome of meningococcal disease. *J Thromb Haemost*, 2(1):54-57.

52. Yan SB, Nelson DR. (2004) Effect of factor V Leiden polymorphism in severe sepsis and on treatment with recombinant human activated protein C. *Crit Care Med*, 32(5 Suppl):S239-246.
53. Manocha S, Russell JA, Sutherland AM, Wattanathum A, Walley KR. (2007) Fibrinogen-beta gene haplotype is associated with mortality in sepsis. *J Infect*, 54(6):572-577.
54. Chen QX, Wu SJ, Wang HH, Lv C, Cheng BL, Xie GH, Fang XM. (2008) Protein C -1641A/-1654C haplotype is associated with organ dysfunction and the fatal outcome of severe sepsis in Chinese Han population. *Hum Genet*, 123(3):281-287.
55. Walley KR, Russell JA. (2007) Protein C -1641 AA is associated with decreased survival and more organ dysfunction in severe sepsis. *Crit Care Med*, 35(1):12-17.
56. Villar J, Flores C, Perez-Mendez L, Maca-Meyer N, Espinosa E, Blanco J, Sanguesa R, Muriel A, Tejera P, Muros M, Slutsky AS; GRECIA group; GEN-SEP group. (2008) Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism is not associated with susceptibility and outcome in sepsis and acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med*, 34(3):488-495.
57. Saleh M, Vaillancourt JP, Graham RK, Huyck M, Srinivasula SM, Alnemri ES, Steinberg MH, Nolan V, Baldwin CT, Hotchkiss RS, Buchman TG, Zehnbauser BA, Hayden MR, Farrer LA, Roy S, Nicholson DW. (2004) Differential modulation of endotoxin responsiveness by human caspase-12 polymorphisms. *Nature*, 429(6987):75-79.
58. Domingo P, Muniz-Diaz E, Baraldes MA, Arilla M, Barquet N, Pericas R, Juarez C, Madoz P, Vazquez G. (2002) Associations between Fc gamma receptor IIA polymorphisms and the risk and prognosis of meningococcal disease. *Am J Med*, 112(1):19-25.
59. Bredius RG, Derkx BH, Fijen CA, de Wit TP, de Haas M, Weening RS, van de Winkel JG, Out TA. (1994) Fc gamma receptor IIa (CD32) polymorphism in fulminant meningococcal septic shock in children. *J Infect Dis*, 170(4):848-853.
60. Chapman SJ, Vannberg FO, Khor CC, Segal S, Moore CE, Knox K, Day NP, Davies RJ, Crook DW, Hill AV. (2007) Functional polymorphisms in the FCN2

- gene are not associated with invasive pneumococcal disease. *Mol Immunol*, 44(12):3267-3270.
61. Schroder O, Schulte KM, Ostermann P, Roher HD, Ekkernkamp A, Laun RA. (2003) Heat shock protein 70 genotypes HSPA1B and HSPA1L influence cytokine concentrations and interfere with outcome after major injury. *Crit Care Med*, 31(1):73-79.
 62. Neth O, Hann I, Turner MW, Klein NJ. (2001) Deficiency of mannose-binding lectin and burden of infection in children with malignancy: a prospective study. *Lancet*, 358(9282):614-618.
 63. Villullas S, Hill DJ, Sessions RB, Rea J, Virji M. (2007) Mutational analysis of human CEACAM1: the potential of receptor polymorphism in increasing host susceptibility to bacterial infection. *Cell Microbiol*, 9(2):329-346.
 64. Jones S: A gének nyelve. Magyar Könyvklub, Budapest, 2001: 12, 20.
 65. Cargill M, Altshuler D, Ireland J, Sklar P, Ardlie K, Patil N, Shaw N, Lane CR, Lim EP, Kalyanaraman N, Nemesh J, Ziaugra L, Friedland L, Rolfe A, Warrington J, Lipshutz R, Daley GQ, Lander ES. (1999) Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. *Nat Genet*, 22(3):231-238.
 66. Rebbeck TR, Spitz M, Wu X. (2004) Assessing the function of genetic variants in candidate gene association studies. *Nat Rev Genet*, 5(8):589-597.
 67. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, van der Velden PA, Reitsma PH. (1994) Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature*, 369(6475):64-67.
 68. Eriksson P, Kallin B, van 't Hooft FM, Bavenholm P, Hamsten A. (1995) Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92(6):1851-1855.
 69. Hermans PW, Hibberd ML, Booy R, Daramola O, Hazelzet JA, de Groot R, Levin M. (1999) 4G/5G promoter polymorphism in the plasminogen-activator-inhibitor-1 gene and outcome of meningococcal disease. Meningococcal Research Group. *Lancet*, 354(9178):556-560.

70. Mignone F, Gissi C, Liuni S, Pesole G. (2002) Untranslated regions of mRNAs. *Genome Biol*, 3(3):REVIEWS0004.
71. The International HapMap Consortium. A haplotype map of the human genome. (2005) *Nature*, 437(7063):1299-1320.
72. Clark AG. (2004) The role of haplotypes in candidate gene studies. *Genet Epidemiol*, 27(4):321-333.
73. Morris RW, Kaplan NL. (2002) On the advantage of haplotype analysis in the presence of multiple disease susceptibility alleles. *Genet Epidemiol*, 23(3):221-233.
74. Arcaroli J, Fessler MB, Abraham E. (2005) Genetic polymorphisms and sepsis. *Shock*, 24(4):300-312.
75. Dahmer MK, Randolph A, Vitali S, Quasney MW. (2005) Genetic polymorphisms in sepsis. *Pediatr Crit Care Med*, 6(3 Suppl):S61-73.
76. Waterer GW, Bruns AH. (2010) Genetic risk of acute pulmonary infections and sepsis. *Expert Rev Respir Med*, 4(2):229-238.
77. Yende S, Kammerer CM, Angus DC. (2006) Genetics and proteomics: deciphering gene association studies in critical illness. *Crit Care*, 10(4):227.
78. Hirschhorn JN, Daly MJ. (2005) Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet*, 6(2):95-108.
79. Sinha M, Larkin EK, Elston RC, Redline S. (2006) Self-reported race and genetic admixture. *N Engl J Med*, 354(4):421-422.
80. Pritchard JK, Stephens M, Rosenberg NA, Donnelly P. (2000) Association mapping in structured populations. *Am J Hum Genet*, 67(1):170-181.
81. Freedman ML, Reich D, Penney KL, McDonald GJ, Mignault AA, Patterson N, Gabriel SB, Topol EJ, Smoller JW, Pato CN, Pato MT, Petryshen TL, Kolonel LN, Lander ES, Sklar P, Henderson B, Hirschhorn JN, Altshuler D. (2004) Assessing the impact of population stratification on genetic association studies. *Nat Genet*, 36(4):388-393.
82. Cardon LR, Palmer LJ. (2003) Population stratification and spurious allelic association. *Lancet*, 361(9357):598-604.

83. Nau GJ, Richmond JF, Schlesinger A, Jennings EG, Lander ES, Young RA. (2002) Human macrophage activation programs induced by bacterial pathogens. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(3):1503-1508.
84. Medzhitov R, Janeway C, Jr. (2000) Innate immunity. *N Engl J Med*, 343(5):338-344.
85. Noursadeghi M, Cohen J. (2000) Immunopathogenesis of severe sepsis. *J R Coll Physicians Lond*, 34(5):432-436.
86. Modlin RL, Brightbill HD, Godowski PJ. (1999) The toll of innate immunity on microbial pathogens. *N Engl J Med*, 340(23):1834-1835.
87. Marik PE, Varon J. The Management of Sepsis. In: Irwin RS, Rippe JM (szerk) *Intensive Care Medicine*. LWW, Philadelphia, 2008: 1856-1857.
88. ten Cate H. (2000) Pathophysiology of disseminated intravascular coagulation in sepsis. *Crit Care Med*, 28(9 Suppl):S9-11.
89. Fourrier F, Chopin C, Goudemand J, Hendrycx S, Caron C, Rime A, Marey A, Lestavel P. (1992) Septic shock, multiple organ failure, and disseminated intravascular coagulation. Compared patterns of antithrombin III, protein C, and protein S deficiencies. *Chest*, 101(3):816-823.
90. Esmon CT. (2008) Crosstalk between inflammation and thrombosis. *Maturitas*, 61(1-2):122-131.
91. Osterud B. (1998) Tissue factor expression by monocytes: regulation and pathophysiological roles. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 9 Suppl 1:S9-14.
92. de Jonge E, Dekkers PE, Creasey AA, Hack CE, Paulson SK, Karim A, Kesecioglu J, Levi M, van Deventer SJ, van Der Poll T. (2000) Tissue factor pathway inhibitor dose-dependently inhibits coagulation activation without influencing the fibrinolytic and cytokine response during human endotoxemia. *Blood*, 95(4):1124-1129.
93. van Hinsbergh VW, Kooistra T, van den Berg EA, Princen HM, Fiers W, Emeis JJ. (1988) Tumor necrosis factor increases the production of plasminogen activator inhibitor in human endothelial cells in vitro and in rats in vivo. *Blood*, 72(5):1467-1473.
94. Horrevoets AJ. (2004) Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1): in vitro activities and clinical relevance. *Br J Haematol*, 125(1):12-23.

95. Lorente JA, Garcia-Frade LJ, Landin L, de Pablo R, Torrado C, Renes E, Garcia-Avello A. (1993) Time course of hemostatic abnormalities in sepsis and its relation to outcome. *Chest*, 103(5):1536-1542.
96. Pralong G, Calandra T, Glauser MP, Schellekens J, Verhoef J, Bachmann F, Kruithof EK. (1989) Plasminogen activator inhibitor 1: a new prognostic marker in septic shock. *Thromb Haemost*, 61(3):459-462.
97. Menges T, Hermans PW, Little SG, Langefeld T, Boning O, Engel J, Sluijter M, de Groot R, Hempelmann G. (2001) Plasminogen-activator-inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism and prognosis of severely injured patients. *Lancet*, 357(9262):1096-1097.
98. Rezaie AR. (2001) Vitronectin functions as a cofactor for rapid inhibition of activated protein C by plasminogen activator inhibitor-1. Implications for the mechanism of profibrinolytic action of activated protein C. *J Biol Chem*, 276(19):15567-15570.
99. Dekker RJ, Pannekoek H, Horrevoets AJ. (2003) A steady-state competition model describes the modulating effects of thrombomodulin on thrombin inhibition by plasminogen activator inhibitor-1 in the absence and presence of vitronectin. *Eur J Biochem*, 270(9):1942-1951.
100. Macfelda K, Weiss TW, Kaun C, Breuss JM, Zorn G, Oberndorfer U, Voegelé-Kadletz M, Huber-Beckmann R, Ullrich R, Binder BR, Losert UM, Maurer G, Pacher R, Huber K, Wojta J. (2002) Plasminogen activator inhibitor 1 expression is regulated by the inflammatory mediators interleukin-1alpha, tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta and oncostatin M in human cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol*, 34(12):1681-1691.
101. Dawson SJ, Wiman B, Hamsten A, Green F, Humphries S, Henney AM. (1993) The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. *J Biol Chem*, 268(15):10739-10745.
102. Hoekstra T, Geleijnse JM, Schouten EG, Kluijff C. (2004) Plasminogen activator inhibitor-type 1: its plasma determinants and relation with cardiovascular risk. *Thromb Haemost*, 91(5):861-872.

103. Levi M, Schultz MJ, Rijneveld AW, van der Poll T. (2003) Bronchoalveolar coagulation and fibrinolysis in endotoxemia and pneumonia. *Crit Care Med*, 31(4 Suppl):S238-242.
104. Irigoyen JP, Munoz-Canoves P, Montero L, Koziczak M, Nagamine Y. (1999) The plasminogen activator system: biology and regulation. *Cell Mol Life Sci*, 56(1-2):104-132.
105. Juhan-Vague I, Alessi MC, Mavri A, Morange PE. (2003) Plasminogen activator inhibitor-1, inflammation, obesity, insulin resistance and vascular risk. *J Thromb Haemost*, 1(7):1575-1579.
106. Lyon CJ, Hsueh WA. (2003) Effect of plasminogen activator inhibitor-1 in diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Am J Med*, 115 Suppl 8A:62S-68S.
107. Vaughan DE. (2002) Angiotensin and vascular fibrinolytic balance. *Am J Hypertens*, 15(1 Pt 2):3S-8S.
108. Mukamal KJ, Jadhav PP, D'Agostino RB, Massaro JM, Mittleman MA, Lipinska I, Sutherland PA, Matheny T, Levy D, Wilson PW, Ellison RC, Silbershatz H, Muller JE, Tofler GH. (2001) Alcohol consumption and hemostatic factors: analysis of the Framingham Offspring cohort. *Circulation*, 104(12):1367-1373.
109. Vaisanen SB, Humphries SE, Luong LA, Penttila I, Bouchard C, Rauramaa R. (1999) Regular exercise, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) activity and the 4G/5G promoter polymorphism in the PAI-1 gene. *Thromb Haemost*, 82(3):1117-1120.
110. Song Y, Lynch SV, Flanagan J, Zhuo H, Tom W, Dotson RH, Baek MS, Rubio-Mills A, Singh G, Kipnis E, Glidden D, Brown R, Garcia O, Wiener-Kronish JP. (2007) Increased plasminogen activator inhibitor-1 concentrations in bronchoalveolar lavage fluids are associated with increased mortality in a cohort of patients with *Pseudomonas aeruginosa*. *Anesthesiology*, 106(2):252-261.
111. Ware LB, Matthay MA, Parsons PE, Thompson BT, Januzzi JL, Eisner MD. (2007) Pathogenetic and prognostic significance of altered coagulation and fibrinolysis in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*, 35(8):1821-1828.
112. Hermans PW, Hazelzet JA. (2005) Plasminogen activator inhibitor type 1 gene polymorphism and sepsis. *Clin Infect Dis*, 41 Suppl 7:S453-458.

113. Dawson S, Hamsten A, Wiman B, Henney A, Humphries S. (1991) Genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity. *Arterioscler Thromb*, 11(1):183-190.
114. Texereau J, Pene F, Chiche JD, Rousseau C, Mira JP. (2004) Importance of hemostatic gene polymorphisms for susceptibility to and outcome of severe sepsis. *Crit Care Med*, 32(5 Suppl):S313-319.
115. Balta G, Altay C, Gurgey A. (2002) PAI-1 gene 4G/5G genotype: A risk factor for thrombosis in vessels of internal organs. *Am J Hematol*, 71(2):89-93.
116. Boekholdt SM, Bijsterveld NR, Moons AH, Levi M, Buller HR, Peters RJ. (2001) Genetic variation in coagulation and fibrinolytic proteins and their relation with acute myocardial infarction: a systematic review. *Circulation*, 104(25):3063-3068.
117. Yamada Y, Izawa H, Ichihara S, Takatsu F, Ishihara H, Hirayama H, Sone T, Tanaka M, Yokota M. (2002) Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes. *N Engl J Med*, 347(24):1916-1923.
118. Sapru A, Hansen H, Ajayi T, Brown R, Garcia O, Zhuo H, Wiemels J, Matthay MA, Wiener-Kronish J. (2009) 4G/5G polymorphism of plasminogen activator inhibitor-1 gene is associated with mortality in intensive care unit patients with severe pneumonia. *Anesthesiology*, 110(5):1086-1091.
119. Yende S, Angus DC, Ding J, Newman AB, Kellum JA, Li R, Ferrell RE, Zmuda J, Kritchevsky SB, Harris TB, Garcia M, Yaffe K, Wunderink RG; for the Health ABC Study. (2007) 4G/5G plasminogen activator inhibitor-1 polymorphisms and haplotypes are associated with pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*, 176(11):1129-1137.
120. Garcia-Segarra G, Espinosa G, Tassies D, Oriola J, Aibar J, Bove A, Castro P, Reverter JC, Nicolas JM. (2007) Increased mortality in septic shock with the 4G/4G genotype of plasminogen activator inhibitor 1 in patients of white descent. *Intensive Care Med*, 33(8):1354-1362.
121. Haralambous E, Hibberd ML, Hermans PW, Ninis N, Nadel S, Levin M. (2003) Role of functional plasminogen-activator-inhibitor-1 4G/5G promoter

- polymorphism in susceptibility, severity, and outcome of meningococcal disease in Caucasian children. *Crit Care Med*, 31(12):2788-2793.
122. Binder A, Endler G, Muller M, Mannhalter C, Zenz W. (2007) 4G4G genotype of the plasminogen activator inhibitor-1 promoter polymorphism associates with disseminated intravascular coagulation in children with systemic meningococemia. *J Thromb Haemost*, 5(10):2049-2054.
 123. Price P, Witt C, Allcock R, Sayer D, Garlepp M, Kok CC, French M, Mallal S, Christiansen F. (1999) The genetic basis for the association of the 8.1 ancestral haplotype (A1, B8, DR3) with multiple immunopathological diseases. *Immunol Rev*, 167:257-274.
 124. Candore G, Lio D, Colonna Romano G, Caruso C. (2002) Pathogenesis of autoimmune diseases associated with 8.1 ancestral haplotype: effect of multiple gene interactions. *Autoimmun Rev*, 1(1-2):29-35.
 125. Wolowiec D, Nowak J, Majewski M, Haus O, Duszenko E, Stella-Holowiecka B, Mika-Witkowska R, Makuch-Lasica H, Nowak G, Krawcewicz A, Kuliczkowski K, Warzocha K. (2008) High incidence of ancestral HLA haplotype 8.1 and monoclonal incomplete DH-JH immunoglobulin heavy chain gene rearrangement in persistent polyclonal B-cell lymphocytosis. *Ann Hematol*, 87(7):597-598.
 126. Toth EK, Kocsis J, Madaras B, Biro A, Pocsai Z, Fust G, Blasko B, Karadi I, Adany R, Laki J. (2007) The 8.1 ancestral MHC haplotype is strongly associated with colorectal cancer risk. *Int J Cancer*, 121(8):1744-1748.
 127. Caruso C, Candore G, Modica MA, Bonanno CT, Sireci G, Dieli F, Salerno A. (1996) Major histocompatibility complex regulation of cytokine production. *J Interferon Cytokine Res*, 16(12):983-988.
 128. Caruso C, Candore G, Colonna Romano G, Lio D, Bonafe M, Valensin S, Franceschi C. (2000) HLA, aging, and longevity: a critical reappraisal. *Hum Immunol*, 61(9):942-949.
 129. Lio D, Candore G, Colombo A, Colonna Romano G, Gervasi F, Marino V, Scola L, Caruso C. (2001) A genetically determined high setting of TNF-alpha influences immunologic parameters of HLA-B8,DR3 positive subjects: implications for autoimmunity. *Hum Immunol*, 62(7):705-713.

130. Candore G, Modica MA, Lio D, Colonna-Romano G, Listi F, Grimaldi MP, Russo M, Triolo G, Accardo-Palumbo A, Cuccia MC, Caruso C. (2003) Pathogenesis of autoimmune diseases associated with 8.1 ancestral haplotype: a genetically determined defect of C4 influences immunological parameters of healthy carriers of the haplotype. *Biomed Pharmacother*, 57(7):274-277.
131. Laki J, Laki I, Nemeth K, Ujhelyi R, Bede O, Endreffy E, Bolbas K, Gyurkovits K, Csiszer E, Solyom E, Dobra G, Halász A, Pozsonyi E, Rajczy K, Prohászka Z, Fekete G, Füst G. (2006) The 8.1 ancestral MHC haplotype is associated with delayed onset of colonization in cystic fibrosis. *Int Immunol*, 18(11):1585-1590.
132. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, Gea-Banacloche J, Keh D, Marshall JC, Parker MM, Ramsay G, Zimmerman JL, Vincent JL, Levy MM; Surviving Sepsis Campaign Management Guidelines Committee. (2004) Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med*, 32(3):858-873.
133. Niederman MS, Mandell LA, Anzueto A, Bass JB, Broughton WA, Campbell GD, Dean N, File T, Fine MJ, Gross PA, Martinez F, Marrie TJ, Plouffe JF, Ramirez J, Sarosi GA, Torres A, Wilson R, Yu VL; American Thoracic Society. (2001) Guidelines for the management of adults with community-acquired pneumonia. Diagnosis, assessment of severity, antimicrobial therapy, and prevention. *Am J Respir Crit Care Med*, 163(7):1730-1754.
134. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference. (1992) Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med*, 20(6):864-874.
135. Taylor FB, Jr., Toh CH, Hoots WK, Wada H, Levi M. (2001) Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost*, 86(5):1327-1330.
136. Celli BR, MacNee W. (2004) Standards for the diagnosis and treatment of patients with COPD: a summary of the ATS/ERS position paper. *Eur Respir J*, 23(6):932-946.
137. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, 16(3):1215.

138. Barber RC, Chang LY, Lemaire SM, Burris A, Purdue GF, Hunt JL, Arnoldo BD, Horton JW. (2008) Epistatic interactions are critical to gene-association studies: PAI-1 and risk for mortality after burn injury. *J Burn Care Res*, 29(1):168-175.
139. Vargas-Alarcon G, Londono JD, Hernandez-Pacheco G, Gamboa R, Castillo E, Pacheco-Tena C, Cardiel MH, Granados J, Burgos-Vargas R. (2002) Heat shock protein 70 gene polymorphisms in Mexican patients with spondyloarthropathies. *Ann Rheum Dis*, 61(1):48-51.
140. Hudson BI, Stickland MH, Futers TS, Grant PJ. (2001) Effects of novel polymorphisms in the RAGE gene on transcriptional regulation and their association with diabetic retinopathy. *Diabetes*, 50(6):1505-1511.
141. Seidemann K, Zimmermann M, Book M, Meyer U, Burkhardt B, Welte K, Reiter A, Stanulla M. (2005) Tumor necrosis factor and lymphotoxin alfa genetic polymorphisms and outcome in pediatric patients with non-Hodgkin's lymphoma: results from Berlin-Frankfurt-Munster Trial NHL-BFM 95. *J Clin Oncol*, 23(33):8414-8421.
142. Holland PM, Abramson RD, Watson R, Gelfand DH. (1991) Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'---3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 88(16):7276-7280.
143. Szilagy A, Blasko B, Szilassy D, Fust G, Sasvari-Szekely M, Ronai Z. (2006) Real-time PCR quantification of human complement C4A and C4B genes. *BMC Genet*, 7:1.
144. Tsangaris I, Tsantes A, Bonovas S, Lignos M, Kopterides P, Gialeraki A, Rapti E, Orfanos S, Dimopoulou I, Travlou A, Armaganidis A. (2009) The impact of the PAI-1 4G/5G polymorphism on the outcome of patients with ALI/ARDS. *Thromb Res*, 123(6):832-836.
145. Gentilini D, Vigano P, Castaldi D, Mari D, Busacca M, Vercellini P, Somigliana E, di Blasio AM. (2009) Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and susceptibility to endometriosis in the Italian population. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 146(2):219-221.

146. Choi G, Schultz MJ, van Till JW, Bresser P, van der Zee JS, Boermeester MA, Levi M, van der Poll T. (2004) Disturbed alveolar fibrin turnover during pneumonia is restricted to the site of infection. *Eur Respir J*, 24(5):786-789.
147. Gunther A, Mosavi P, Heinemann S, Ruppert C, Muth H, Markart P, Grimminger F, Walmrath D, Temmesfeld-Wollbruck B, Seeger W. (2000) Alveolar fibrin formation caused by enhanced procoagulant and depressed fibrinolytic capacities in severe pneumonia. Comparison with the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*, 161(2 Pt 1):454-462.
148. Determann RM, Millo JL, Garrard CS, Schultz MJ. (2006) Bronchoalveolar levels of plasminogen activator inhibitor-1 and soluble tissue factor are sensitive and specific markers of pulmonary inflammation. *Intensive Care Med*, 32(6):946-947.
149. Schultz MJ, Millo J, Levi M, Hack CE, Weverling GJ, Garrard CS, van der Poll T, (2004) Local activation of coagulation and inhibition of fibrinolysis in the lung during ventilator associated pneumonia. *Thorax*, 59(2):130-135.
150. El Solh AA, Bhora M, Pineda L, Aquilina A, Abbetessa L, Berbary E. (2006) Alveolar plasminogen activator inhibitor-1 predicts ARDS in aspiration pneumonitis. *Intensive Care Med*, 32(1):110-115.
151. Gunther A, Mosavi P, Ruppert C, Heinemann S, Temmesfeld B, Velcovsky HG, Morr H, Grimminger F, Walmrath D, Seeger W. (2000) Enhanced tissue factor pathway activity and fibrin turnover in the alveolar compartment of patients with interstitial lung disease. *Thromb Haemost*, 83(6):853-860.
152. Prabhakaran P, Ware LB, White KE, Cross MT, Matthay MA, Olman MA. (2003) Elevated levels of plasminogen activator inhibitor-1 in pulmonary edema fluid are associated with mortality in acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 285(1):L20-28.
153. Chapman HA (1997) Plasminogen activators, integrins, and the coordinated regulation of cell adhesion and migration. *Curr Opin Cell Biol*, 9(5):714-724.
154. Gyetko MR, Chen GH, McDonald RA, Goodman R, Huffnagle GB, Wilkinson CC, Fuller JA, Toews GB. (1996) Urokinase is required for the pulmonary inflammatory response to *Cryptococcus neoformans*. A murine transgenic model. *J Clin Invest*, 97(8):1818-1826.

155. Rijneveld AW, Florquin S, Bresser P, Levi M, De Waard V, Lijnen R, Van Der Zee JS, Speelman P, Carmeliet P, Van Der Poll T. (2003) Plasminogen activator inhibitor type-1 deficiency does not influence the outcome of murine pneumococcal pneumonia. *Blood*, 102(3):934-939.
156. Sitrin RG, Shollenberger SB, Strieter RM, Gyetko MR. (1996) Endogenously produced urokinase amplifies tumor necrosis factor-alpha secretion by THP-1 mononuclear phagocytes. *J Leukoc Biol*, 59(2):302-311.
157. Waltz DA, Natkin LR, Fujita RM, Wei Y, Chapman HA. (1997) Plasmin and plasminogen activator inhibitor type 1 promote cellular motility by regulating the interaction between the urokinase receptor and vitronectin. *J Clin Invest*, 100(1):58-67.
158. Wang L, Bastarache JA, Ware LB. (2008) The coagulation cascade in sepsis. *Curr Pharm Des*, 14(19):1860-1869.
159. Madoiwa S, Nunomiya S, Ono T, Shintani Y, Ohmori T, Mimuro J, Sakata Y. (2006) Plasminogen activator inhibitor 1 promotes a poor prognosis in sepsis-induced disseminated intravascular coagulation. *Int J Hematol*, 84(5):398-405.
160. Geishofer G, Binder A, Muller M, Zohrer B, Resch B, Muller W, Faber J, Finn A, Endler G, Mannhalter C, Zenz W; Central European Meningococcal Genetic Study Group. (2005) 4G/5G promoter polymorphism in the plasminogen-activator-inhibitor-1 gene in children with systemic meningococcaemia. *Eur J Pediatr*, 164(8):486-490.
161. Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, Buchman TG, Karl IE. (1999) Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med*, 27(7):1230-1251.
162. Parrillo JE. (1993) Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N Engl J Med*, 328(20):1471-1477.
163. Bell RC, Coalson JJ, Smith JD, Johanson WG, Jr. (1983) Multiple organ system failure and infection in adult respiratory distress syndrome. *Ann Intern Med*, 99(3):293-298.
164. Sawyer DB, Loscalzo J. (2002) Myocardial hibernation: restorative or preterminal sleep? *Circulation*, 105(13):1517-1519.

165. Khan AU, Delude RL, Han YY, Sappington PL, Han X, Carcillo JA, Fink MP. (2002) Liposomal NAD(+) prevents diminished O(2) consumption by immunostimulated Caco-2 cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 282(5):L1082-1091.
166. Soler-Cataluna JJ, Martinez-Garcia MA, Roman Sanchez P, Salcedo E, Navarro M, Ochando R. (2005) Severe acute exacerbations and mortality in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*, 60(11):925-931.
167. Ismail TS. (2009) Exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Med J Malaysia*, 64(3):250-255; quiz 256.
168. Alessandri C, Basili S, Violi F, Ferroni P, Gazzaniga PP, Cordova C. (1994) Hypercoagulability state in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Chronic Obstructive Bronchitis and Haemostasis Group. Thromb Haemost*, 72(3):343-346.
169. Polosa R, Malerba M, Cacciola RR, Morjaria JB, Maugeri C, Prosperini G, Gullo R, Spicuzza L, Radaeli A, Di Maria GU. (2011) Effect of acute exacerbations on circulating endothelial, clotting and fibrinolytic markers in COPD patients. *Intern Emerg Med*, Jun 10 [Epub ahead of print].
170. Rutschmann OT, Cornuz J, Poletti PA, Bridevaux PO, Hugli OW, Qanadli SD, Perrier A. (2007) Should pulmonary embolism be suspected in exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease? *Thorax*, 62(2):121-125.
171. Aly TA, Eller E, Ide A, Gowan K, Babu SR, Erlich HA, Rewers MJ, Eisenbarth GS, Fain PR. (2006) Multi-SNP analysis of MHC region: remarkable conservation of HLA-A1-B8-DR3 haplotype. *Diabetes*, 55(5):1265-1269.
172. Kiszal P, Kovacs M, Szalai C, Yang Y, Pozsonyi E, Blasko B, Laki J, Prohaszka Z, Fazakas A, Panczel P, Hosszúfalusi N, Rajczy K, Wu YL, Chung EK, Zhou B, Blanchong CA, Vatay A, Yu CY, Füst G. (2007) Frequency of carriers of 8.1 ancestral haplotype and its fragments in two Caucasian populations. *Immunol Invest*, 36(3):307-319.
173. Hack CE, Aarden LA, Thijs LG. (1997) Role of cytokines in sepsis. *Adv Immunol*, 66:101-195.
174. Thijs LG, Hack CE. (1995) Time course of cytokine levels in sepsis. *Intensive Care Med*, 21 Suppl 2:S258-263.

175. Fong Y, Tracey KJ, Moldawer LL, Hesse DG, Manogue KB, Kenney JS, Lee AT, Kuo GC, Allison AC, Lowry SF, Cerami A. (1989) Antibodies to cachectin/tumor necrosis factor reduce interleukin 1 beta and interleukin 6 appearance during lethal bacteremia. *J Exp Med*, 170(5):1627-1633.
176. Tracey KJ, Fong Y, Hesse DG, Manogue KR, Lee AT, Kuo GC, Lowry SF, Cerami A. (1987) Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature*, 330(6149):662-664.
177. Kumar A, Thota V, Dee L, Olson J, Uretz E, Parrillo JE. (1996) Tumor necrosis factor alpha and interleukin 1beta are responsible for in vitro myocardial cell depression induced by human septic shock serum. *J Exp Med*, 183(3):949-958.
178. Mesters RM, Florke N, Ostermann H, Kienast J. (1996) Increase of plasminogen activator inhibitor levels predicts outcome of leukocytopenic patients with sepsis. *Thromb Haemost*, 75(6):902-907.
179. Gando S, Kameue T, Nanzaki S, Nakanishi Y. (1996) Disseminated intravascular coagulation is a frequent complication of systemic inflammatory response syndrome. *Thromb Haemost*, 75(2):224-228.
180. Parham P. (1999) Virtual reality in the MHC. *Immunol Rev*, 167:5-15.
181. Kathiresan S, Gabriel SB, Yang Q, Lochner AL, Larson MG, Levy D, Tofler GH, Hirschhorn JN, O'Donnell CJ. (2005) Comprehensive survey of common genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus and relations to circulating plasminogen activator inhibitor-1 levels. *Circulation*, 112(12):1728-1735.
182. de Kleijn ED, de Groot R, Hack CE, Mulder PG, Engl W, Moritz B, Joosten KF, Hazelzet JA. (2003) Activation of protein C following infusion of protein C concentrate in children with severe meningococcal sepsis and purpura fulminans: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, dose-finding study. *Crit Care Med*, 31(6):1839-1847.
183. Wingeyer SP, de Larranaga G, Cunto E, Fontana L, Noguerras C, San Juan J. (2010) Role of 4G/5G promoter polymorphism of Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) gene in outcome of sepsis. *Thromb Res*, , 125(4):367-369.
184. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, Steingrub JS, Garber GE, Helterbrand JD, Ely EW, Fisher CJ Jr;

- Recombinant human protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS) study group. (2001) Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med*, 344(10):699-709.
185. Hardaway RM, Harke H, Williams CH. (1994) Fibrinolytic agents: a new approach to the treatment of adult respiratory distress syndrome. *Adv Ther*, 11(2):43-51.
 186. Zenz W, Zoehrer B, Levin M, Fanconi S, Hatzis TD, Knight G, Mullner M, Faust SN. (2004) Use of recombinant tissue plasminogen activator in children with meningococcal purpura fulminans: a retrospective study. *Crit Care Med*, 32(8):1777-1780.
 187. Bernard GR, Wheeler AP, Arons MM, Morris PE, Paz HL, Russell JA, Wright PE. (1997) A trial of antioxidants N-acetylcysteine and procysteine in ARDS. The Antioxidant in ARDS Study Group. *Chest*, 112(1):164-172.
 188. Fisher CJ, Jr., Agosti JM, Opal SM, Lowry SF, Balk RA, Sadoff JC, Abraham E, Schein RM, Benjamin E. (1996) Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor:Fc fusion protein. The Soluble TNF Receptor Sepsis Study Group. *N Engl J Med*, 334(26):1697-1702.
 189. Reinhart K, Wiegand-Lohnert C, Grimminger F, Kaul M, Withington S, Treacher D, Eckart J, Willatts S, Bouza C, Krausch D, Stockenhuber F, Eiselstein J, Daum L, Kempeni J. (1996) Assessment of the safety and efficacy of the monoclonal anti-tumor necrosis factor antibody-fragment, MAK 195F, in patients with sepsis and septic shock: a multicenter, randomized, placebo-controlled, dose-ranging study. *Crit Care Med*, 24(5):733-742.
 190. Fisher CJ, Jr., Dhainaut JF, Opal SM, Pribble JP, Balk RA, Slotman GJ, Iberti TJ, Rackow EC, Shapiro MJ, Greenman RL. (1994) Recombinant human interleukin 1 receptor antagonist in the treatment of patients with sepsis syndrome. Results from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Phase III rhIL-1ra Sepsis Syndrome Study Group. *JAMA*, 271(23):1836-1843.
 191. Marshall JC. (2003) Such stuff as dreams are made on: mediator-directed therapy in sepsis. *Nat Rev Drug Discov*, 2(5):391-405.
 192. Warren BL, Eid A, Singer P, Pillay SS, Carl P, Novak I, Chalupa P, Atherstone A, Penzes I, Kubler A, Knaub S, Keinecke HO, Heinrichs H, Schindel F, Juers

- M, Bone RC, Opal SM; KyberSept Trial Study Group. (2001) Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA*, 286(15):1869-1878.
193. Abraham E, Reinhart K, Opal S, Demeyer I, Doig C, Rodriguez AL, Beale R, Svoboda P, Laterre PF, Simon S, Light B, Spapen H, Stone J, Seibert A, Peckelsen C, De Deyne C, Postier R, Pettilä V, Artigas A, Percell SR, Shu V, Zwingelstein C, Tobias J, Poole L, Stolzenbach JC, Creasey AA; OPTIMIST Trial Study Group. (2003) Efficacy and safety of tifacogin (recombinant tissue factor pathway inhibitor) in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA*, 290(2):238-247.

10. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

10. 1. A DISSZERTÁCIÓHOZ KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

Külföldi folyóiratban megjelent tudományos közlemények

1. Madách K, Aladzsity I, Szilágyi A, Fust G, Gál J, Péntes I, Prohászka Z. (2010) 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene is associated with multiple organ dysfunction and septic shock in pneumonia induced severe sepsis: prospective, observational, genetic study. *Crit Care*, 14(2):R79.
2. Aladzsity I, Madách K, Szilágyi Á, Gál J, Péntes I, Prohászka Z, Fust G. (2011) Analysis of the 8.1 ancestral MHC haplotype in severe, pneumonia-related sepsis. *Clin Immunol*, 139(3):282-289.
3. Madách K. Genetics in the clinical practice. From bench-to-bedside: genetics in the intensive care. In: Copotoiu SM, Azamfirei L (szerk.), *Actualitati in anestezie si terapie intensive*. University Press, Tirgu-Mures, 2011: 213-225.

10. 2. A DISSZERTÁCIÓTÓL FÜGGETLEN KÖZLEMÉNYEK

Hazai folyóiratban megjelent tudományos közlemények

1. Péntes I, Regöly-Mérei J, Telek G, Madách K. (2003) A sebészet és az aneszteziológia transfúziológiai problémái. A perioperatív anaemia okai, következményei, megelőzése és kezelése. Orv Hetil, 144(43):2099-2112.
2. Madách K, Prohászka Z, Rigó J, Péntes I, Gál J. (2008) A HELLP (haemolízis, emelkedett májenzimek, alacsony thrombocytaszám) szindróma és peripartum TTP (thromboticus thrombocytopeniás purpura) elkülönítésének nehézségei / Difficulties in differentiation of peripartum TTP (Thrombotic Thrombocytopenic Purpura) from HELLP (Hemolysis, Elevated Liver Enzymes, Low Platelets) Syndrome. Aneszteziológia és Intenzív Terápia, 38(1): 34-37.
3. Madách K, Gál J. (2008) Thrombocytá transfúzió: szempontok és terápiás lehetőségek / Platelet transfusion: evaluation and therapeutic possibilities. Aneszteziológia és Intenzív Terápia, 38(3): 127-132.
4. Madách K, Gál J. (2008) Thrombocytá élettan-kórélettan, thrombocytá eredetű vérzések nem transfúziós terápiája / Physiology and pathophysiology of platelets, non-transfusional treatment of haemorrhages due to platelet abnormality. Aneszteziológia és Intenzív Terápia, 38(3),133-139.
5. Madách K, Péntes I, Gál J. (2008) Az intenzív terápia és aneszteziológia alakulása az elmúlt 10 évben Magyarországon. Focus Medicinae, X(4): 25-28.
6. Tóth K A, Hauser B, Madách K, Gál J. (2009) A nosocomialis pneumonia és a gépi lélegeztetéssel összefüggő pneumonia: újdonságok. Orvostudományok, LXXXIV(1):1-64.

7. Benkovics E, Bóné E, Hauser B, Madách K, Péntes I. (2008) Fizioterápia az intenzív osztályon. *Fizioterápia : Magyar Gyógytornászok Társaságának lapja*, 17(2): 30-35.

8. Gál J, Tekeres M, Madách K. (2011) Az aneszteziológia és intenzív terápia fejlődése a XX.-XXI. században. *Orvosképzés LXXXVI(1):1: 23-30.*

Nemzetközi folyóiratban megjelent tudományos közlemények

1. Molvarec A, Tamási L, Losonczy G, Madách K, Prohászka Z, Rigó J Jr. (2010) Circulating heat shock protein 70 (HSPA1A) in normal and pathological pregnancies. *Cell Stress Chaperones*, 15(3):237-247.

2. Kristóf K, Madách K, Czaller I, Bajtay Zs, Erdei A. (2009) Mathematical analysis of clinical data reveals a homunculus of bacterial mimotopes protecting from autoimmunity via oral tolerance in human. *Mol Immunol*, 46: 1673-167.

3. Madách K, Molvarec A, Rigó J Jr, Nagy B, Péntes I, Karádi I, Prohászka Z. (2008) Elevated serum 70kDa heat shock protein level reflects tissue damage and disease severity in the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 139(2):133-8.

Hazai folyóiratban idegen nyelven megjelent tudományos közlemény

1. Iványi Zs, Valkó L, Hauser B, Kristóf K, Hargitai Z, Lorx A, Madách K, Gál J. (2010) Experiences of the Department of Anesthesiology and Intensive Therapy of Semmelweis University during the 2009 pandemic H1N1 (pH1N1) influenza outbreak. *Interventional Medicine and Applied Science*, 2 (2): 59-65.

11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Egy ilyen dolgozat megírása hosszú évek gyümölcse. Már önmagában az első betű leütéséhez szükséges alapok megszerzése is egyetlen ember felnevelésébe, oktatásába és képzésébe fektetett rengeteg energia, mely számos barát, tanító és családom törődésének, szeretetének és igyekezetének az eredménye. Én azon szerencsések közé tartozom, akik sokaknak lehetnek hálásak és mondhatnak köszönetet.

Elsőként dr. Prohászka Zoltánnak, az MTA doktorának szeretném megköszönni, hogy bevezetett a kutatók és a kutatás világába, hogy diákjának fogadott és megtanított érteni és értelmezni az irodalmat és az eredményeket. Köszönöm baráti, mindig derűs támogatását, mely sokat segített a felmerülő akadályok leküzdésében. Rajta keresztül egy kitűnő, nagy tehetségű emberekből álló munkacsoportot volt szerencsém megismerni, akik kedvesen fogadtak és mindig segítő kezet nyújtottak, ha szükségem volt rá. Köszönöm Füst professzor úr támogatását, tanácsait, útmutatása a 8.1 ősi haplotípus vizsgálataiban nélkülözhetetlen volt. Aladzsity István kitűnő partnerem volt a fejtörésben, szaktudásával, segítőkészségével, szívós kitartásával és jó humorával lendítette előre a munka menetét. Dr. Szilágyi Ágnes pedig barátságos, nyugodt megfontoltságával, erős genetikai tudás-bázisával terelte mederbe gondolatainkat. Köszönöm Dr. Cervenak Lászlónak a házi védelemmel kapcsolatos alapos és igen értékes opponensi munkáját.

Szeretném hálámat kifejezni Pénzes István professzor úrnak, aki első szakmabeli tanítómként a szárnyai alá vett, megismertetett az aneszteziológia és intenzív terápia szépségeivel, és atyai figyelemmel kísérte és egyengette pályafutásomat, neki köszönhetően kezdetem bele kutatásaimba. Hálás vagyok Gál János professzor úrnak bizalmáért és támogatásáért, az ő segítségével köszönhetően tudtam végigvinni és befejezni ezt a munkát. Janecskó Mária tanár asszonynak és Darvas Katalin professzor asszonynak szeretném köszönetemet kifejezni anyai gondoskodásukért, a sok lehetőségért, mellyel továbbképzésemet, szakmai fejlődésemet támogatták. Köszönöm munkatársaim, az Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Klinikán dolgozó nővérek és asszisztensek önzetlen segítőkészségét, figyelmes támogatását, mely akkor sem lanyhult, ha a leterheltség hullámai már átcsaptak a fejük felett. Különös köszönettel tartozom dr. Iványi Zsolt és dr. Hermann Csaba docens uraknak akik sokat tanítottak,

bátorítottak, és pályakezdő korom óta kísérik figyelemmel és segítik elő munkámat. Hálás vagyok dr. Hauser Balázs docens úrnak tudományos útmutatásaiért és igen hasznos házi opponensi véleményéért, dr. Lorx Andrásnak, volt TDK vezetőmnek, találó tanácsaiért, dr. Hargitai Zoltán főorvos úrnak és dr. Fritúz Gábornak tehermentesítésémért.

Köszönöm családomnak és barátaimnak, hogy stabil háttérrel, meleg otthont teremtenek, megadva azt a biztonságot, mely a hétköznapi kemény munkáját könnyűvé teszi, és a stresszhelyzeteket elsimítja. Remélem büszkévé tehetem leglelkesebb szurkolómat, 96 éves nagymamámat, aki szeretettel, töretlen bizalommal és megértéssel szemléli munkámat.

Végül, végtelen hálámat, mély szeretetemet fejezem ki kivételes szüleim felé, akik mindig önzetlenül szeretnek és támogatnak.

Vizsgálataink az Országos Tudományos Kutatási Alapprogram (OTKA NF 72689) támogatásával történtek.