

A bél-máj tengely jelentősége a májbetegségek patomechanizmusában – kísérletes és humán tanulmányok –

Nem-invazív markerek vizsgálata és klinikai alkalmazhatósága májbetegségekben

Doktori értekezés

Dr. Egresi Anna

Semmelweis Egyetem
Rácz Károly Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezetők:

Dr. Hagymási Krisztina, Ph.D., egyetemi docens

Dr. Lengyel Gabriella, Ph.D., med. habil., egyetemi docens

Konzulens:

Dr. Blázovics Anna D.Sc., egyetemi tanár

Hivatalos bírálók:

Dr. Szöllősiné Dr. Varga Ilona, CSc., egyetemi docens

Dr. Iliás Ákos, Ph.D., egyetemi tanársegéd

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Nagy Péter, D.Sc., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Kuczyné Dr. Folhoffer Anikó, Ph.D., egyetemi adjunktus

Dr. Lugasi Andrea, habil, Ph.D., főiskolai tanár, dékán

Budapest
2021

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	5
1. Bevezetés.....	8
1.1. A krónikus májbetegségek és májzsugor előfordulása, valamint leggyakoribb kóroki tényezői	8
1.2. A májkárosodás patomechanizmusa	12
1.2.1. <i>Steatosis</i>	12
1.2.2. <i>Zsírsvövet-diszfunkció</i>	13
1.2.3. <i>Necroinflammatio és az oxidatív stressz</i>	14
1.2.4. <i>Fibrosis</i>	15
1.2.5. <i>Bél-máj tengely eltérései, portalis endotoxinémia</i>	17
1.2.6. <i>A májbetegségekben jelentősebb szerepet játszó fémek</i>	20
1.2.7. <i>Mikotoxinok szerepe a krónikus májbetegségek patomechanizmusában</i>	21
1.3. Az idült májbetegségek kórisméje	23
1.3.1. <i>Rutinlaboratóriumi paraméterek, képzőanyagok</i>	23
1.3.2. <i>Invazív vizsgálómódszer, a májbiopszia</i>	25
1.3.3. <i>Beavatkozásmentes vizsgálómódszerek</i>	26
1.4. Terápiás lehetőségek krónikus májbetegségekben a bél-máj tengely befolyásolása révén	35
1.4.1. <i>Pre- és probiotikumok az NAFLD kiegészítő kezelésekként</i>	37
1.4.2. <i>Megelőző és terápiás stratégiák hepatotoxikus mikotoxikózisokban</i>	39
1.4.3. <i>Gyógynövények terápiás és toxikus szerepe krónikus májbetegségekben</i>	40
2. Célkitűzések	45
3. Módszerek	47
3.1. Mikotoxikózis, valamint a máriatövis protektív hatása a máj redox-homeosztázisára állatkísérletben	47
3.2. Humán tanulmányok	48
3.2.1. <i>Bél-máj tengely összefüggéseit vizsgáló retrospektív tanulmány gyulladással járó bélbetegségben - betegek beválogatási kritériumai</i>	48
3.2.2. <i>Nem invazív pontrendszerek szenzitivitása és specifitása krónikus májbetegségben szenvedőknél - betegek beválogatási kritériumai</i>	48
3.2.3. <i>Joghurtfogyasztás vizsgálata NAFLD-ben szenvedő betegeknek klinikai pilot study keretén belül - betegek beválogatási kritériumai</i>	49
3.3. Mintaelőkészítések	51
3.3.1. <i>Vérminták előkészítése a speciális elemzésekhez</i>	51

3.3.2. Kacsamáj-homogenizátumok fehérjetartalmának meghatározása.....	51
3.3.3. Ökológiai és konvencionális joghurtminták előkészítése speciális vizsgálatokhoz ...	51
3.4. Shear wave elasztográfiás vizsgálat	51
3.5. Laboratóriumi vizsgálatok	53
3.5.1. Rutinlaboratóriumi vizsgálatok.....	53
3.5.2. Nem invazív pontrendszerek.....	53
3.5.3. Citokinek meghatározása	53
3.5.4. Vörösvértest-hemolizátumok hemoglobintartalmának meghatározása.....	54
3.5.5. Redox homeosztázist jelző markerek meghatározása joghurt-, humán vér- illetve kacsák májmintáiban.....	54
3.6. Egyéb vizsgálatok	57
3.6.1. Szöveti vizsgálat	57
3.6.2. Fémelemanalízis.....	57
3.6.3. Testösszetétel-mérés	58
3.7. Anyagok	58
3.8. Engedélyek	59
3.9. Statisztikai analízis	59
4. Eredmények.....	60
4.1. Mikotoxikózis, valamint máriatövis protektív hatása a máj redox- homeosztázisára állatkísérletben	60
4.1.1. Szöveti vizsgálat	60
4.1.2. Redox paraméterek vizsgálata májhomogenizátumban	61
4.1.3. Fémelem-analízis teljes májszövetben.....	64
4.2. Bél-máj tengely összefüggéseit vizsgáló retrospektív tanulmány gyulladós bélbetegségben	66
4.3. Nem invazív pontrendszerek szenzitivitása és specificitása krónikus májbetegségben szenvedőknél	72
4.4. Joghurtfogyasztás vizsgálata NAFLD-ben szenvedő betegeknél klinikai pilot study keretén belül	79
4.4.1. Ökológiai és hagyományos gazdálkodásból származó joghurtok <i>in vitro</i> összehasonlítása redox-homeosztázis markerekkel.....	79
4.4.2. Klinikai pilot vizsgálatban alkalmazott ökológiai és hagyományos gazdálkodásból származó joghurtok beltartalmi vizsgálata	84
4.4.3. Joghurtfogyasztás hatása NAFLD-ben szenvedő betegek laboratóriumi, antropológiai valamint klinikai paramétereire	85

4.5. Új, egyszerű módszerek fejlesztése a májfibrózis stádiumának nem invazív megítélése céljából	90
4.5.1. <i>Protein-karbonilcsoport meghatározása fluorimetriás módszerrel</i>	90
4.5.2. <i>Új, LiFE (Liver Fibrosis Evaluation) faktor képzése a mért paraméterekkel NAFLD-ben szenvedő betegeknél</i>	91
5. Megbeszélés	93
5.1. Mikotoxinok szerepe a tápláléklánc szempontjából	93
5.2. Bél-máj tengely összefüggései gyulladásos bélbetegségben	96
5.3. Nem invazív módszerek alkalmazhatósága a biopsziával szemben	99
5.4. Bélflóra valamint a probiotikumok szerepe a kezelés kiegészítéseként NAFLD-ben	102
5.5. Módosított fluorimetriás módszer az oxidatív stresszt jellemző protein karbonil kimutatására, valamint új, nem invazív faktor a májfibrózis megítélésére	105
6. Következtetések	108
7. Összefoglalás.....	109
8. Summary	110
9. Irodalomjegyzék.....	111
10. Saját publikációk jegyzéke.....	135
10.1. Disszertációhoz kapcsolódó publikációk	135
10.2. Disszertációtól független publikációk	136
10.3. Előadások, poszterek	136
11. Köszönetnyilvánítás	140

Rövidítések jegyzéke

AAR = alanin-aminotranszferáz – aszpartát-aminotranszferáz arány

AdipoR1, - R2 = adiponektin receptor 1, és 2

AGA = American Gastroenterological Association

5-ASA = aminoszalicilsav

ALP = alkalikus foszfatáz

ALT = alanin-aminotranszferáz

AMPK = 5' adenzin monofoszfát-aktivált protein kináz

ApoB = apolipoprotein B

APRI = aszpartát-aminotranszferáz – vérlemezkeszám arány

AST = aszpartát-aminotranszferáz

AUROC = vevő működési karakterisztika alatti terület (area under the receiver operating characteristics)

Bak = Bcl-2 homológ ölő protein

Bax = Bcl-2 asszociált X protein

Bcl-2, Bcl-xL = B-sejt lymphoma 2 és xL

BMI = testtömeg-index (body mass index)

CD4⁺ és CD8⁺ T-sejtek = cluster of differentiation 4⁺ és 8⁺ T-sejtek

CHC = krónikus hepatitis C vírus fertőzés

CRP = C-reaktív protein

CU = colitis ulcerosa

dB/m = decibel/méter

DM = diabetes mellitus

DNPH = 2,4-dinitrofenol-hidrazin

DNS = deoxi-ribonukleinsav

DPPH = 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil stabil gyök

EASL = European Association for the Study of the Liver

ETC = elektrontranszportlánc (electron transport chain)

EVRS = nyelőcső visszér kockázati pontszám (oesophageal varix risk score)

FFA = szabad zsírsav (free fatty acid)

FXR = farnezoid X receptor

GAPRI = gamma-glutamil transzferáz – vérlemezkeszám arány

GGT = gamma-glutamil-transzferáz
GOT = glutamát-oxálacetát-transzferáz
GPT = glutamát-piruvát-transzferáz
GSH = glutation
GSHPx = glutation-peroxidáz
GUCI = Götheborg University Cirrhosis Index
HBV = hepatitis B vírus
HCV = hepatitis C vírus
HDL = magas denzitású lipoprotein (high density lipoprotein)
HDON = hidrogéndonáló képesség
HMG-CoA = 3-hidroxi-3-metilglutaril-koenzim A
HSC = csillagsejt (hepatic stellate cell)
hsCRP = magas érzékenyséű C-reaktív protein (high sensitive C-reactive protein)
IBD = gyulladásoos bélbetegség (inflammatory bowel diseases)
IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 = interleukinek
INF- γ = interferon-gamma
INR = nemzetközi arány (international ratio)
IQR = interkvartilis terjedelem (interquartile range)
Jak2 = Janus kináz 2
kPa = kiloPascal
LDL = alacsony denzitású lipoprotein (low density lipoprotein)
LS = májtömöttség (liver stiffness)
LSM = májtömöttség mérés (liver stiffness measurement)
LXR = máj X receptor (liver x receptor)
MDA= malondialdehyd
MMP, MMP-2 = mátrix metalloproteinázok
MUFA = egyszeresen telítetlen zsírsavak (monounsaturated fatty acid)
NAFLD = nem alkoholos zsírmáj (non-alcoholic fatty liver disease)
NASH = nem alkoholos steatohepatitis (non-alcoholic steatohepatitis)
NBDH = 7-hidrazino-4-nitrobenzo-2,1,3-oxadiazol
Ob-R = elhízás receptor (obesity receptor)
PBC = primer biliaris cholangitis

PBS = foszfát puffer (phosphate-buffered saline)
PPAR = peroxiszómaproliferátor aktiválta receptor
ppm = milliomod térfogatrész (parts per million)
PSC = primer sclerotizáló cholangitis
PXR = pregnán X receptor
PUFA = többszörösen telítetlen zsírsavak (polyunsaturated fatty acid)
RES = retikulo-endoteliális rendszer (reticuloendothelial system)
RNS = ribonukleinsav
ROI = mérési tartomány (region of interest)
ROS = reaktív oxigén gyökök (reactive oxygen species)
SAM = S-adenozil-metionin
SH = szulfhidril
 α -SMA = alfa simaizom aktin (alpha-smooth muscle actin)
SOD = szuperoxid dizmutáz
SREBP-1c = szterolszabályozó elemet kötő fehérje 1c (sterol regulatory element binding protein-1c)
Stat3 = jelátviteli és transzkripció aktiváló 3 (signal transducer and activator of transcription 3)
TAS = összantioxidáns státusz (total antioxidant status)
TE = tranziens elasztográfia
TBARS = tiobarbitursav reaktív anyagok (thiobarbituric acid reactive substances)
TIMP, TIMP-1, TIMP-2 = mátrix metalloproteináz szöveti gátlók (tissue inhibitor of metalloproteinases)
TGF- β = transzformáló növekedési faktor- β (transforming growth factor beta)
TNF- α = tumornekrózis-faktor- α
VLDL = nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein (very low density lipoprotein)
(A felsorolásban nem szereplő rövidítések a fejezetekben szöveggörnyezetben található)

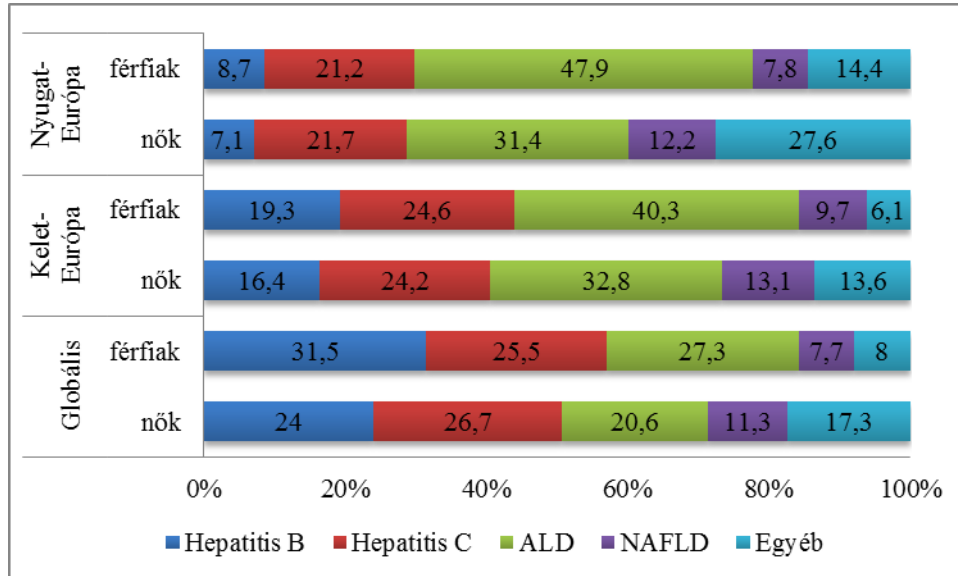
1. Bevezetés

1.1. A krónikus májbetegségek és májsugor előfordulása, valamint leggyakoribb kóroki tényezői

A különböző kórereditű krónikus májbetegségek napjainkban jelentős egészségügyi terhet jelentenek világszerte. A leggyakoribb krónikus májbetegségek a nem alkoholos zsírmájbetegség (NAFLD), a hepatitis B vírus (HBV), valamint a hepatitis C-vírus (HCV) okozta májkárosodás, és az alkoholfogyasztással kapcsolatos májbetegség (ALD). A fő kóroki tényezők mellett gyógyszer kiváltotta, autoimmun, cholestaticus, metabolikus és hereditár betegségek is előfordulnak. Több tényező alakítja a betegség előfordulását, beleértve a HBV oltási kampányokat, a HCV kezeléshez való jobb hozzáférést és hatékonyságot, az elhízás és az alkoholabúzus növekvő tendenciáját (1). A minél pontosabb becslések elengedhetetlenek a klinikai, a kutatási és a gazdaságpolitikai stratégiák kialakításához.

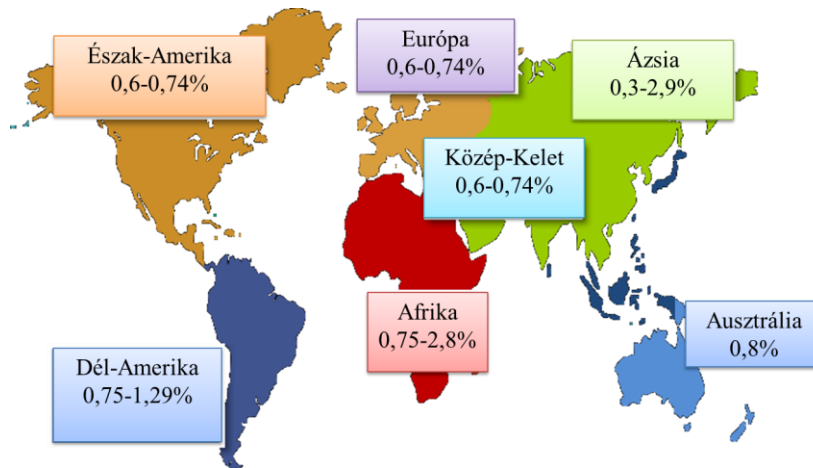
Globálisan 1,5 milliárd ember volt érintett krónikus májbetegségben 2017-ben, közülük 60% nem alkoholos zsírmájbetegségben, 29% hepatitis B vírus, 9% hepatitis C vírus okozta fertőzésben és 2% alkoholos májbetegségben szenvedett. Az európai országokban a májsugor medián prevalenciája 100 000-ből 833 volt (447-1100 között). A WHO „The Global Burden of Disease” 2015. évi jelentése alapján végzett tanulmány szerint a májsugorodás és a krónikus májbetegségek életkor szerinti előfordulási aránya 20,7/100 000 ember, amely 13%-os növekedést jelent 2000-hez képest (2). A cirrhosis miatt bekövetkezett halálozások arányát az *1. ábra* szemlélteti.

A krónikus májbetegségek fő szövődményei a májsugor (1,2 millió halálest) és a májrák (790 000 halálest), a világ összes halálozásának 3,5% -át teszik ki (1, 3). Ázsiában a különböző vírusok által okozott hepatitis a májsugorral összefüggő halálozás fő oka, míg Európában elsősorban az ALD felelős jelenleg a cirrózissal összefüggő halálestekért. Ezek a tendenciák azonban országonként változnak. Az alkohol okozta májbetegség előfordulása a halálozással együtt csökken Ausztriában, Dániában, Franciaországban, Németországban és Magyarországon, míg Finnországban, Írországban és az Egyesült Királyságban növekszik (2, 4).



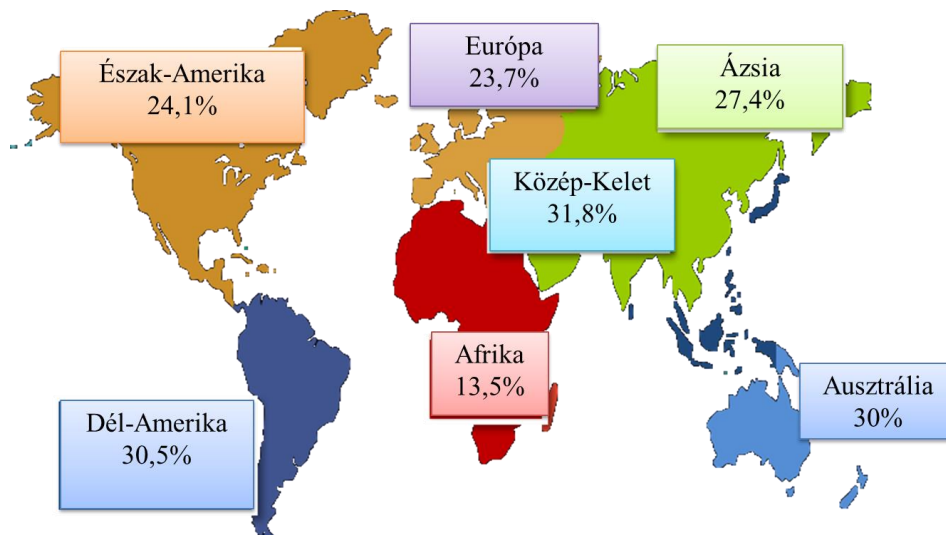
1. ábra: A cirrhosis öt leggyakoribb oka miatt bekövetkezett halálozások aránya globális és regionális szinten nemek szerint, 2017-ben *Sepanlou és mtsai.* munkája alapján (5)

Világszerte 257 millió (3,5%) ember szenvedett HBV-fertőzésben 2015-ben (4). A magyar lakosság 0,5–0,7%-át sújtja HBV (6). Világviszonylatban a HBV előfordulását és szövődményeit csökkentik a széles körű oltási kampányok és a vírusellenes kezelési programok. Idült HCV-fertőzött egyének előfordulását (71 millió ember világszerte, Magyarországon mintegy 70000 egyén) (7) a 2. ábra szemlélteti. Ez a tendencia azonban dinamikusan változik a direkt hatású antivirális (DAA) szerekkel történő sikeres kezelés miatt, amely csökkenti a cirrhosis vagy a májrák kialakulásának kockázatát is (8).



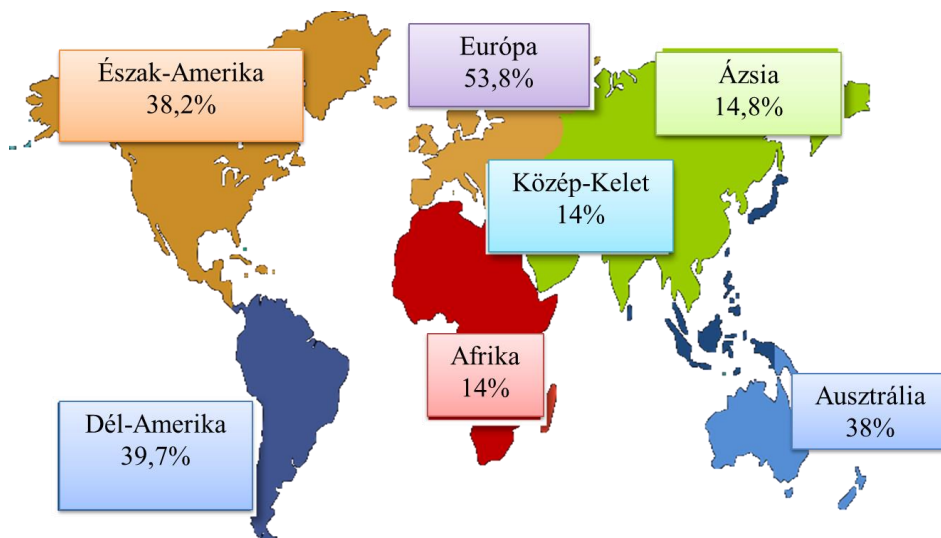
2. ábra: Hepatitis C vírus fertőzés előfordulása világszerte 2019-ben Spearman és mtsai. munkája nyomán (9)

Ezzel párhuzamosan a krónikus májbetegségek egyre gyakoribb oka az elhízással és a metabolikus szindrómával összefüggő NAFLD. Az NAFLD spektrumbetegség, amely magában foglalja az egyszerű elzsírosodást, a májfibrosissal szövődött nem alkoholos steatohepatitist (NASH) és májzsugort. Az NAFLD globális előfordulása jelenleg körülbelül 24% (4), az átlagnépességben 23-30% Európában és hazánkban is (10), amelyet a 3. ábra szemléltet. Számítógépes szimulációk alapján azonban 2015-től 2030-ig az NAFLD és a NASH prevalenciája 21, illetve 63% -kal fog növekedni. Ezen túlmenően az NAFLD-vel kapcsolatos megbetegedések előfordulása, a májzsugor 168%-kal, a májrák 137%-kal és az elhalálozás 178%-kal fog emelkedni (11).



3. ábra: Nem alkoholos zsírmájbetegség előfordulása az átlagnépességben világszerte 2019-ben Younossi és mtsai. nyomán (12)

Az alkoholfogyasztás, a májhoz kapcsolódó halálozások 27% -áért felelős (4). Becslések szerint 2,3 milliárd ember fogyaszt alkoholt világszerte, Amerika, Európa és a Csendes-óceán nyugati része lakosságának több mint 50%-a (13). Kelet-Európában a legmagasabb az egy főre jutó alkoholfogyasztás (8,1 liter / nő, 24,9 liter/férfi) (14). A WHO jelentése alapján az alkohol okozta májzsugor miatti halálozás mind a nők, mind a férfiak körében Európában Magyarországon az egyik legkedvezőtlenebb (15). Az alkoholabúzus miatt kialakult cirrhosis előfordulását a 4. ábra mutatja be.

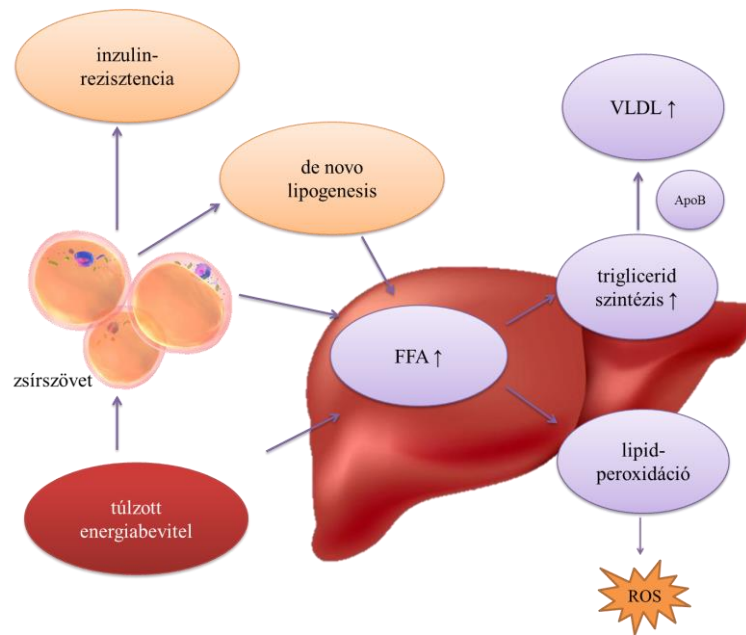


4. ábra: Alkoholabúzus miatt kialakult cirrhosis előfordulása világszerte 2019-ben
Méndez-Sánchez és mtsai. nyomán (16)

1.2. A májkárosodás patomechanizmusa

1.2.1. Steatosis

A májat érő különböző károsító hatások, például a fertőző ágensek, az anyagcserezavarok, a nem megfelelő táplálkozás, az elhízás, a toxikus ártalmak, az autoimmun folyamatok miatt májkárosodás, kóros májműködés jön létre, amelynek egyik lépcsőfoka a májelzsírosodás, a lipidek felhalmozódása a májsejtek citoplazmájában. Ha a májsejtek triglicerid-tartalma meghaladja az 5%-ot, zsíros degenerációról, míg ha az elzsírosodás a májsejtek több, mint 50%-át érinti zsírmájról beszélünk (17). A kórfolyamat ún. több csapás elmélet (multi hit theory) szerint zajlik. A különböző károsító hatások során kóros lipidanyagcsere és glükózháztartás jön létre (első csapás). A májsejtek fokozott zsírsav-, a szövetek csökkent lipoprotein-felvétele, a fokozott de novo lipogenesis a májban, a csökkent triglicerid-kiszállítás a májból, a csökkent mitokondriális zsírsavoxidáció eredményezi a májelzsírosodást. A májelzsírosodás kulcseménye az inzulinrezisztencia kialakulása (18). A májsejtekben lévő mitokondriumok alkalmazkodnak a megváltozott lipidösszetételhez, amelynek következtében a β -oxidáció és az elektrontranszport lánc (ETC) enzimatis aktivitása is fokozódik (második csapás), amelynek következménye a reaktív oxigén gyökök (ROS) felszabadulása (19). A károsodott működésű mitokondriumokban így felborul a β -oxidáció és az oxidatív foszforiláció egyensúlya, amely részlegesen oxidált köztitermékek felhalmozódásához vezet, amelyek tovább rontják a folyamatot. Számos jelátviteli út játszik szerepet a kóros működésben: AMPK (5' adenzin monofoszfát-aktivált protein kináz), PPAR-ok (peroxiszómapiroliferátor aktiválta receptor), LXR (máj X receptor), FXR (farnezoid X receptor), PXR (pregnán X receptor), SREBP-1c (szterolszabályozó elemet kötő fehérje 1c) (20). Ezek az útvonalak a későbbiekben terápiás támadáspontokat jelenthetnek. A patomechanizmus folyamatát az 5. ábra mutatja be.



5. ábra: A steatosis patomechanizmusa Cobbina és mtsai. munkája alapján (ApoB: apolipoprotein B, FFA: szabad zsírsav, ROS: reaktív oxigén gyökök, VLDL: nagyon alacsony denzitású lipoprotein) (21)

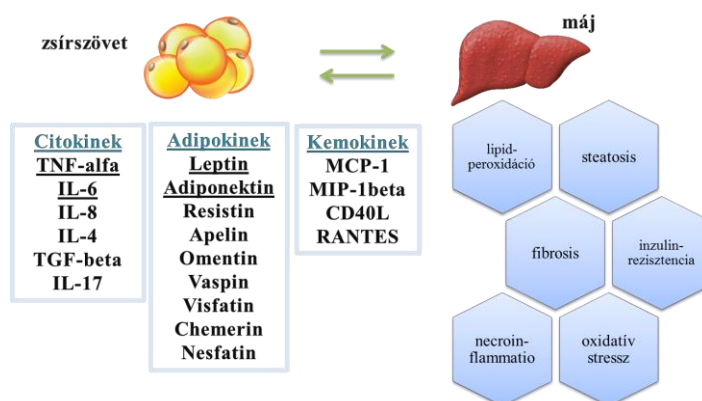
1.2.2. Zsírszövet-diszfunkció

Számos tanulmány támasztja alá, hogy a májelzsírosodásban fontos szerepet játszik a zsírszövet. A zsírszövet diszfunkcióját a megnövekedett leptin- és a csökkent adiponektinszint jelzi (22).

A fehér zsírszövet által termelt leptin egy 16 kDa méretű hormon, vagy citokin. Receptora számos szervben, a májban, a hipotalamuszban, és a zsírszövetben is megtalálható (Ob-R). A leptin kötődése receptorához transzkripciós faktorok aktiválódását (Jak2, Stat3) eredményezi. A májban lévő aktivált csillagsejtek is képesek a leptin kiválasztására, amellyel saját sejtciklusukat is befolyásolják, mivel a leptin potenciális mitogén (23). A leptin a diacil-glicerol-acil-transzferáz enzimet aktiválja, amely a toxikus szabad zsírsavakat a kevésbé toxikus trigliceridekké alakítja (19). A leptin erős transzkripciós stimulust jelent az $\alpha 1$ és az $\alpha 2$ fibrillumok aktiválódása során, amelyek a fibrotikus extracelluláris mátrix fő komponensei. Stimulálja még a TIMP metalloproteináz inhibitor 1 (TIMP1), a mátrix metalloproteináz-2 (MMP-2), és az α -

SMA de novo mRNS-szintézisét, amelyek központi szerepet játszanak a fibrózis progressziójában (23).

Antifibrogén hatású a fehér zsírszövet által termelt, 28 kDa méretű citokin, az adiponektin. Az AdipoR1 és R2 receptora a májban expresszálódik. A csökkent adiponektin szérumszint különböző kóros folyamatokhoz vezet (májelzsírosodás, gyulladás, fibrosis). Az adiponektin gátolja a csillagsejtek aktiválódását és proliferációját. Részt vesz továbbá a mátrixlebontásban az MMP-1 (mátrix metalloproteinázok) és TIMP-1 (mátrix metalloproteináz szöveti gátlók) molekuláris arányának megváltoztatása révén. A hipoadiponektinémia potenciálisan felelős lehet az elhízással szövődött NAFLD progressziójáért, emiatt terápiás célpontként is szóba jön. A 6. ábra foglalja össze a folyamatban résztvevő citokineket. További adipocitokinek (plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1), rezisztin, apelin, visfatin, stb.) szerepe a fibrosis progressziójában még vitatott (23).



6. ábra: Zsírszövet-diszfunkció során termelődő citokinek Longo és mtsai. nyomán (24)

1.2.3. Necroinflammatio és az oxidatív stressz

A májkárosodás következő eleme a gyulladáshoz vezető aktivitás fokozódása a májparenchymában. A zsírsav-felhalmozódás a mikroszomális monooxigenázrendszer serkentése révén szabadgyök-felszabadulást eredményez. Reaktív oxigéngyökök (ROS) szabadulnak fel a szabad zsírsavak mitokondriális β - és peroxisomális ω -oxidációja

során is. A ROS fokozott felszabadulása lipidperoxidációhoz, hidroxinonenál-, malondialdehid-képződéséhez, proteindenaturációhoz, DNS-károsodáshoz vezet. A lipidperoxidáció termékei az apoB proteolysis serkentésével a VLDL képződését, és a trigliceridek exportját gátolják a májból, ezzel a steatosist súlyosbítják (25). Megnövekedett prooxidáns marker értéket (szérum-malondialdehid) és csökkent antioxidáns (vörösvértest kataláz, szuperoxid-dizmutáz (SOD), vér redukált glutation (GSH)) szintet mértek májsugorban szenvedő betegekben. A vörösvértestek membránja is változik a redox-állapottól függően cirrózisban szenvedő betegekben, amely összefügg a nagyobb nitrogénoxid szinttel. A fent említett eltérések összefüggést mutattak a Child-Pugh pontszámmal is (26).

A különböző gyulladásos mediátorok, többek között a TNF- α , az IL-1, -6, -10, -12 és az INF- γ , valamint a nagyérzékenységű C-reaktív fehérje, fokozzák a májkárosodást. A TNF- α , valamint a TGF- β fokozott kifejeződése a májsejtek necrosisát, gyulladást eredményez, illetve a csillagsejtek kollagéntermelő myofibroblastokká alakulását, a fibrogenesist fokozza (27). A monociták, a makrofágok, a Kupffer-sejtek és a májsejtek által termelt kemokin, az IL-8 aktiválja a neutrofil granulocitákat. Azoknál a betegeknél, akiknél magasabb IL-8-szintet mértek, nagyobb volt a halálozási arány (28).

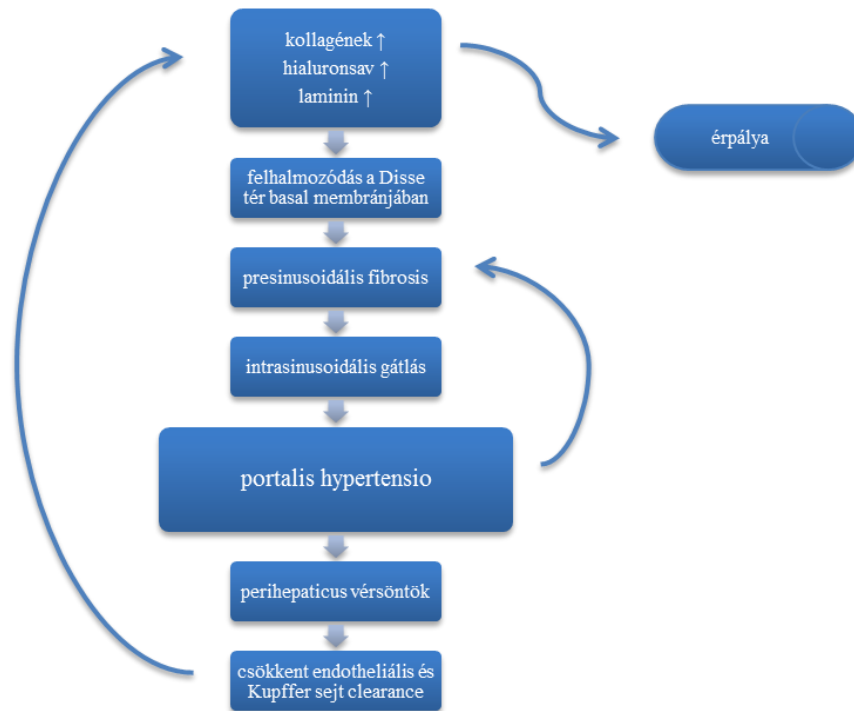
A megnövekedett gyulladás aktiválja az apoptózist, amely során a sérült sejtek eltávolításra kerülnek. A májsejtekben a zavart működésű mitokondriumok miatt az intrinsic apoptotikus útvonal indul el, amelynek során citokróm c szabadul fel a citoszólban. A mitokondriumon belül az antiapoptotikus Bcl-2 és Bcl-xL fehérjék, valamint a pro-apoptotikus Bax és Bak fehérjék interakciója indítja el a sejthalált. A májban létrejövő folyamatos sejthalál fibrózishoz, majd cirrózishoz vezet (29).

1.2.4. Fibrosis

Az idült májkárosodás a májállomány kötőszövetes átépüléséhez vezet, amely dinamikus folyamat, állandó re- és progrediálás jellemzi. A jelenlévő gyulladásos aktivitás és az extracelluláris mátrix elemeinek felhalmozódása kötőszövet-felszaporodáshoz, átépüléshez, májsugorhoz vezet, amelynek talaján hepatocelluláris carcinoma alakulhat ki. Különböző sejtes elemek és az általuk termelt mediátorok tartják fenn a progressziót.

Több sejtes elem mellett a májban lévő csillagsejtek (hepaticus stellate sejtek: HSC) játsszák a legnagyobb szerepet a kötőszövetes átépülés folyamatában. Májkárosodás során ezek a sejtek myofibroblastokká differenciálódnak, amelyek majdnem az összes kötőszöveti elem szintézisére (kollagén, elasztin, szerkezeti glikoprotein, proteoglikán, hialuronsav) képesek, ezzel megteremtve a máj kötőszövetes átépülésének alapját (30, 31).

Az extracelluláris mátrix progresszív felszaporodásával és megnövekedett átépülésével jellemezhető májfibrózis miatt a máj szerkezete megváltozik. Részben a fibrogenesis káros hatásának köszönhető a basalis membrán újraképződése a Disse-tér mentén. A károsodott alaphártya így meggátolja a metabolitok kétirányú áramlását a májsejtek és a sinusoidális véráram között, ezért sérül nemcsak a májsejtek bioszintetikus funkciója, hanem a keringő makromolekulák kiválasztása is. A folyamatot tovább rontja a sinusoidális véráram csökkenése, a sinusok mentén létrejövő kötőszövet-felszaporodás miatt. A 7. ábra szemlélteti a patomechanizmust. Ez a jelenség a hemodinamikai ellenállás növekedését vonja maga után, ami portális hypertenziót és májkörüli shuntöket eredményez. Tovább romlik a májsejtek alultápláltsága, anyagcsere-elégtelensége és fokozódik a hypoxiás elhalás (32). A folyamat kezelés nélkül májelégtelenséghez és következményesen halálhoz vezet.



7. ábra: A máj kötőszövetes átépülésének folyamata *Elpek és mtsai.* nyomán (33)

1.2.5. Bél-máj tengely eltérései, portális endotoxinémia

Az egészséges bél-mikrobiota nagymértékben felelős a gazdaszervezet általános egészségéért. A gasztrointesztinális rendszerben lévő mikrobák szimbiózisban élnek a gazdaszervezettel. Kapcsolatban állnak az emésztéssel és az anyagcserével. Számos tanulmány áll rendelkezésünkre, amely alátámasztja, hogy a bélflóra szerepet játszik több megbetegedés, mint például az autizmus, az asztma, a vastagbélrák, a Crohn-betegség, az irritábilis bél szindróma (IBS), az ételallergia, a szív- és érrendszeri betegségek, a májbetegségek, a hepaticus encephalopathia, az elhízás, a cukorbetegség, az ekcéma, valamint a mentális rendellenességek kialakulásában. Világszerte előtérbe került a bél-máj tengely vizsgálata.

A tápanyagok felszívódásáért és metabolizmusáért felelős kulcsszerveink a bél és a máj, amelyek a portális áramláson keresztül szoros kapcsolatban állnak egymással. A bélből felszívódó különböző anyagok (epesavak, tápanyagok, gyógyszerek, exogén és endogén toxinok, stb.) kerülnek be az enterohepatikus körforgásba, befolyásolva mindkét szerv működését. (34-37).

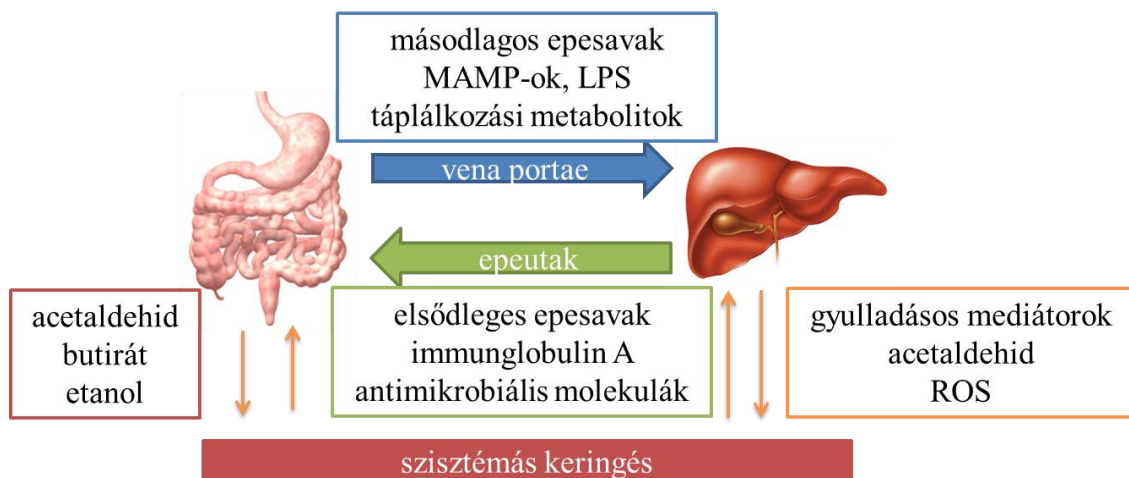
A máj, mint másodvonalbeli tűzfal, védi a szervezetet a bélből bekerülő patogének és az általuk termelt endotoxinok (lipopoliszacharidok) ellen. Az endotoxinok fontos szerepet játszanak a májbetegségek és szisztémás betegségek kórereditében. A máj mikroszómáiban termelődő epesavak a bélben az endotoxin méregtelenítésében fontos szerepet töltenek be. Epesavak hatására az endotoxinok nem képesek felszívódni a bélnyálkahártyán keresztül. Különböző etiológiájú májbetegségek során megváltozik az epesavtermelés, így ez a védelmi vonal károsodik (38). Nem alkoholos steatohepatitises betegek 50%-ában kimutatható a vékonybél bakteriális túlburjánzása, azaz a kontaminált vékonybél szindróma. A bakteriális túlburjánzás összefüggést mutat a májelzsírosodás mértékével (39).

A bél különböző betegségeiben (fertőző betegségek, krónikus gyulladás, motilitászavarok, vékonybél bakteriális túlburjánzása, funkcionális és daganatos betegségek) megváltozik az intestinális baktériumflóra, a bélfal átteresztővé válik, az epesavak enterohepatikus körforgása zavart szenved, a tápanyagok felszívódása csökken. Az epesavak szabályozó hatásait a farnezoid X receptor (FXR; más néven NR1H4) és a G fehérjéhez kapcsolt epesav-receptor 1 (GPBAR1; más néven TGR5) tekintetében vizsgálták. Az epesavak az enterocitákban kötődnek az FXR-hez, és az enterokin, 19-es fibroblaszt növekedési faktor (FGF19; FGF15 egérben) transzkripcióját indukálják, amely a vena portae-n keresztül éri el a májat, és a hepatociták koleszterin-7 α -monooxigenáz (CYP7A1) gátlásával csökkenti a de novo epesavsintézist (40). A bélflóra eltérései kibillentik az elsődleges és a másodlagos epesavak és azok későbbi enterohepatikus ciklusai közötti egyensúlyt, amelyek metabolikus következményei még vizsgálatok tárgya (41).

A bélgát korlátozza az intraluminalis bélflóra, az immunrendszer és a test többi része közötti kölcsönhatásokat, miközben támogatja a tápanyagok, a víz és a salakanyagok transzportját. Integritásának eltérései is hozzájárulnak a patomechanizmushoz. A plazmasejtek által termelt és a bél hámsejtjein keresztül a lumenbe szállított immunglobulinok (szekréciós immunglobulin A (IgA)) a hámreceptorok blokkolásával semlegesítik a mikrobiális kórokozókat (42). A gyomor-bél rendszerből származó limfociták a májba vándorolnak és ott hepatikus CD4⁺ és CD8⁺ T-sejtek aktiválódását váltják ki nem alkoholos zsírmáj egérmodellekben (43). A májkárosodás a vékonybél bakteriális túlnövekedésével (SIBO) és az alsó gyomor-bél traktus diszbióziséval jár

(44). Ezek a folyamatok együttesen a mikroba-asszociált molekuláris mintázat (MAMP) fokozott transzlokációjához vezetnek a portalis áramlásba. A májba jutva lokalizált gyulladást indukálnak a Kupffer- és a csillagsejteken (HSC) található mintázatfelismerő receptorok (PRR) révén. A TLR4 (refS69,70), a TLR9 (metilált DNS-sel aktivált) 71 és a TLR2 (Gram-pozitív baktériumok által aktivált) 72 endotoxin-mediált aktivációja elsődleges szerepet játszik májbetegségekben (45). A folyamatban résztvevő főbb tényezőket az 8. ábra mutatja be. Gyulladásos bélbetegségben a májkárosodás több formája ismert, kialakulhat pl. primer sclerotizáló cholangitis, autoimmun hepatitis, IgG4 asszociált cholangitis, illetve nem alkoholos steatohepatitis is (46, 47).

E két szerv kétirányú kommunikációja miatt a bél mikrobiomjának fontosságát a krónikus májbetegségek kezelésében széles körben vizsgálják. Terápiás célpontot jelenthet az intesztinális bélflóra kórlefolyásban betöltött szerepének pontos megismerése. Probiotikumok adása NAFLD-ben a szérumszörum transzamináz értékek, a koleszterinszint, és a TNF- α -koncentráció csökkenését eredményezte, valamint az inzulinérzékenységet javította (48).



8. ábra: Bél-máj tengelyt befolyásoló tényezők Tripathi munkája nyomán (MAMP: mikroba-asszociált molekuláris mintázat, LPS: lipopoliszacharid, ROS: reaktív oxigén gyökök) (40)

A bélfal eltérései miatt gyakran megváltozik a táplálékból történő bioaktív vegyületek, antioxidáns vitaminok, polifenolos vegyületek, pl. flavonoidok, antocianinok, - melyek eredeti molekulaformájukban egyébként is rosszul szívódnak fel -, illetve ásványi anyagok felvétele és hasznosulása (49).

1.2.6. A májbetegségekben jelentősebb szerepet játszó fémek

A fémek idült májbetegségek patomechanizmusában betöltött szerepe világszerte kutatások tárgya. A fémek a szervezet számára nélkülözhetetlenek. Jelentős szerepet játszanak számos biológiai funkcióban, jelátviteli utak szabályozásában, immunfolyamatok módosításában, a redox-homeosztázis befolyásolásában, valamint fontos enzimek aktív centrumának részét képezik (50, 51). A mikroelemek metabolizmusának fő szerve a máj, amely zavart szenvedhet számos idült májbetegség során. Mind csökkent, mind túlzott bevitelük károsíthatja a májsejtműködést.

A vas központi szerepet játszik szervezetünk működésében: részt vesz az oxigén transzportjában, az elektrontranszportban, valamint a DNS szintézisében. A szérumban vasszint eltérései összefüggésbe hozhatóak hemochromatosisal, alkoholos májbetegséggel, nem-alkoholos zsírmájbetegséggel, valamint hepatitis C vírusfertőzéssel (52). A májban lévő RES sejteiben vas halmozódik fel NAFLD során. A felhalmozódott vas az oxidatív stressz, az inzulinszignál és a lipidanyagcsere megváltoztatása által befolyásolhatja a betegség progresszióját (53).

A vashoz hasonlóan a réz is számos, alapvető biológiai funkcióban vesz részt. A szabad gyökök elleni védekezés egyik vezető enzime a Cu/Zn SOD. A rendelkezésre álló réz mennyiségétől függ a SOD működése. Feltételezhető a szérumban mérhető réz kapcsolata a nem alkoholos zsírmájbetegség előrehaladásával. Magas fruktóztartalmú étkezés csökkenti a réz felszívódását a patkóbélből. A csökkent rézszint kapcsolatban áll a NAFLD kórlefordulásában szerepet játszó mitokondriális diszfunkcióval és a lipidperoxidációval is (54).

A cink is számos biológiai folyamat nélkülözhetetlen eleme. Több mint 150 enzim kofaktora (dehidrogenázok, anhidrázok, polimerázok, dizmutázok, foszfatázok, peptidázok, kinázok, deaminázok) (55). Szabályozza a fehérjék szerkezetét, a szignáltranszdukciót és a redox-homeosztázist. A cink növekedési kofaktor is, fontos immunszabályozó és sejtvédő. Antioxidáns, antiapoptotikus és antiinflammatorikus hatása is ismert. Szabályozza a sejtciklust, részt vesz DNS-javító mechanizmusokban, valamint gátolja a daganatsejtek növekedését. Az idegi kapcsolatok excitátoros szinapszisainak, illetve a stressz válaszreakcióknak fontos eleme (56). Hiánya fontos szerepet játszhat a krónikus májbetegségek és számos egyéb megbetegedés, mint

például az atherosclerosis, a daganatos, a neurológiai, valamint az autoimmun megbetegedések kialakulásában és kórlefolyásában is (57). Nemzetközi irányelvek ajánlása szerint jelenleg a cinkpótlás egyedül a Wilson-kór terápiás protokolljának a része. Emellett a krónikus májbetegségek következményeként fellépő malnutritio kezelésének részeként szóba jön az ásványi anyagok pótlása (58).

A szelén esszenciális mikroelem emlősökben és más állatokban. Fontos nyomelemként a szelén kulcsszerepet játszik a szervezet számos szabályozó folyamatában és anyagcseréjében. A szelén elsősorban szelenometionin formájában fordul elő táplálékokban. A szelenometionin a májban szeleniddé metabolizálódik, amely szerepet játszik szelenoproteinek (szelenoprotein P) és enzimek (glutathion-peroxidáz) szintézisében, amelyek döntően a szervezet antioxidáns rendszerének alkotói (59).

A klinikai adatok arra utalnak, hogy a krónikus májbetegségekben szenvedő betegek plazmájának szelénkoncentrációja számottevően alacsonyabb. A szelénhiány összefüggést mutat a májfibrosis súlyosságával. Szelénpótlás hatására csökkent a hepatikus csillagsejtek (HSC) száma és a szén-tetraklorid által indukált májfibrozis mértéke egerekben (60). Emellett a PPAR- α expresszió növelésével javította a diszlipidémiát, a májfunkciót és csökkentette a májelzsírosodást patkányokban (61). Ugyanakkor a túlzott szelénbevitel szelenózist okozhat, érintve a májat, a bőrt, a körmöket és a haját (62).

További fémek is szerepet játszhatnak májfunkciók befolyásolásában. A króm szabályozza az inzulin szintézisét, tárolását és felszabadítását; hiánya a glükóztoleranciát csökkenti (61). A kobalt a B12-vitamin része, elősegíti a szerves vas tárolását, valamint a vas és a cink felszívódását a bélben (63). A molibdén és a fluor hasonló funkciókkal rendelkezik a vas felszívódásában és felhasználásában (61).

Összegezve, a nyomelemek és az ásványi elemek szorosan összefüggenek a metabolikus betegségek és a szisztémás rendellenességek kialakulásával.

1.2.7. Mikotoxinok szerepe a krónikus májbetegségek patomechanizmusában

Különböző gombafajok (Aspergillus, Penicillium, és Fusarium) által termelt másodlagos metabolitok, ún. mikotoxinok képesek mikotoxikózist okozni emberekben és állatokban. A mikotoxikózis részeként zavart szenved a természetes bélflóra is. A legújabb felismerések szerint a mikotoxinok és a bél mikrobiota között kétirányú

kapcsolat áll fenn. A bélflóra képes természetes módon eliminálni a mikotoxint a gazdaszervezetből, illetve a mikotoxinok befolyásolják a bél mikrobiom összetételét.

Jelenleg 400 mikotoxin ismert, de az aflatoxinok, az ochratoxinok, a zearalenon, a fumonizinek és a trichotecének jelentenek elsősorban közegészségügyi problémákat. Egyes egyének hajlamosabbak a mikotoxikózis kialakulására, amelynek oka a farmakogenetikai variabilitás, ahol a citokróm p450 (CYP 450) géneket (CYP 1A2 és 3A4) érintő génmutációk növelhetik vagy csökkenthetik a mikotoxinok metabolikus aktivitását (citotoxicitását) (64). A krónikus mikotoxikózis jelentős hatással van az emberi egészségre. Változatos toxikus hatásokat ismertetnek a különböző tanulmányok: néhány rákkeltő, mutagén, teratogén, ösztrogénszerű hatású, valamint immunotoxikus, nefrotoxikus, hepatotoxikus, dermatotoxikus és neurotoxikus tulajdonsággal is rendelkezhetnek (65).

A mikotoxinok, amikor az élelmiszerekből bejutnak a szervezetbe, először a gyomor-bélrendszerrel lépnek kapcsolatba, majd a portalis rendszeren keresztül a májba kerülnek. A májban ezután immunsejteket aktiválnak (macrophagok, Kupffer-sejtek, lymphocyták), amely proinflammatorikus citokinek és kemokinek (IL-6, IL-8, TNF- α) termelődéséhez vezet (66). A mikotoxinok szabadgyökös reakciókat is indukálnak (67). A hosszan tartó expozíció során kialakuló folyamatos gyulladás olyan krónikus változásokhoz vezethet, mint a májelzsírosodás, a kötőszövetes átépülés, vagy a daganatos elfajulás (66). A mikotoxinmérgezés súlyosságát olyan tényezők befolyásolhatják, mint például a vitaminhiány, a kalóriahiány, az alkoholfogyasztás és a fertőző betegség (hepatitis) súlyossága. A mikotoxikózisok ugyanakkor fokozhatják a mikrobiális betegségekkel szembeni sebezhetőséget, ronthatják az alultápláltság következményeit, és kölcsönhatásba léphetnek más toxinokkal (68).

A különböző mikotoxinok eltérő mechanizmussal károsítják a bélflórát és közvetve vagy közvetlenül a májsejteket. A mikotoxinok által okozott hatások többsége, ha nem mindegyike, negatívan befolyásolja a bél egészségét, a jótékony baktériumokat eliminálják, emellett a kórokozók számát növelik (64). Wang és mtsai. publikációja szerint az aflatoxin dózisének növekedése csökkentette a bélflóra sokféleségét, diverzitását. Emellett néhány jótékony tejsavbaktérium csíraszama szignifikánsan csökkent a mikotoxin hatására (69). Egy másik tanulmányban az aflatoxin hatására zavart szenvedett a rövid szénláncú zsírsavak szintézise, a piruvátsavval kapcsolatos

útvonalak, az aminosavak, az epesavak és a hosszú szénláncú zsírsavak metabolizmusa, amelyek tovább befolyásolhatják a szervezet energiaellátását, a bél immunitását, a neurotranszmitterek előállítását és az enterohepatikus tengelyt (70). A deoxinivalenol (DON) megváltoztatja a bél szerkezetét, csökkenti több jukcionális fehérje expresszióját (E-kadherin, okkludin), ezáltal rontja a barrierfunkciót, valamint befolyásolja a tápanyagok felszívódását, a bélflórát és a helyi immunválaszt (71-73). Glutation-adduktok képződése által a DON oxidatív stresszt is indukál. A szervezet redox-homeosztázisának megváltoztatása is hozzájárul a hepatotoxicitáshoz (74). A zearalenon (ZEA) elsősorban ösztrogén-szerű hatással rendelkezik. A ZEA képes modulálni a fázis I / II enzimek expresszióját, illetve növelni az endoplazmatikus stresszt humán májsejtekben. A sejtek életképességének jelentős csökkenését figyelték meg zearalenonnal történt kezelés után, valamint az apoptózis és a reaktív oxigén gyökök termelésének jelentős növekedését tapasztalták (75). Az ochratoxin A (OTA) növeli a májban lévő gyulladásoos aktivitást proinflammatorikus citokinek (IL-1 β , IL-6) expressziójának növelésével és antiinflammatorikus citokinek (IL-10) csökkentésével (76). A fumonizinek a lipidprofil befolyásolása révén fejtik ki hepatotoxikus hatásukat. Tanulmányok igazolják, hogy a fumonizin B1 zavarja a szfingolipidek és a ceramidok lipideket szabályozó enzimeit, és indukálja a lipidperoxidációt (77-79). A patulint (PAT) az elmúlt évtizedekben összefüggésbe hozták neurológiai, gyomor-bélrendszeri és immunológiai káros hatásokkal, elsősorban máj- és vesekárosodást okozva. A PAT gátolja a kataláz aktivitását a PIG3 indukción keresztül, amely fokozott reaktív oxigén gyökök képződéséhez vezet (80, 81).

1.3. Az idült májbetegségek kórisméje

1.3.1. Rutinlaboratóriumi paraméterek, képalotók

A májbetegségek diagnosztikája anamnesztikus adatokon (alkohol-, vagy drogfogyasztás, utazási anamnézis, családi előfordulás), klinikai (kockázati tényezők, tünettan, fizikális jelek) és laboratóriumi jellemzőkön (transzaminázok, bilirubin, INR, thrombocytaszám, összfehérje, albumin, szerológiai és immunmarkerek), valamint képalotó eljárásokon (ultrahang-, CT-, MR-vizsgálat) alapul.

A rutin májfunctiós panel tartalmazza a szérumenzimeket (aszpartát transzamináz=AST, alanin transzamináz=ALT, alkalikus foszfatáz=ALP és γ -glutamil-

transzferáz=GGT); teljes, direkt és indirekt szérumbilirubint; prothombin időt, összefehérjét és szérumalbumint. Ha egy betegnél tartósan emelkedett májenzimszintek fordulnak elő, vírushepatitis szerológia, autoimmun panel, éhgyomri vasszint, transzferrintelítettség, ferritinszint, szérumburkolóplazmin-, rézszint, valamint α -antitripszin-hiány vizsgálata szükséges (82).

A szérumparáméterek meghatározása mellett szükség van képalkotó módszerekre is. A radiológiai vizsgálatok fő célja a hepatosplenomegália, a máj- vagy vénaportae trombózisok, az ascites és a focalis eltérések kimutatása. Az elsőként választandó módszer a hasi ultrahangvizsgálat, amely során a zsírmáj fokozott, diffúz echogenitással („világos máj=bright liver”) jelenik meg a megnövekedett ultrahang-hangvisszaverődés miatt, amely a zsírvakuolumok intracelluláris felhalmozódása miatt keletkezik. A steatosis ultrahang-vizsgálat általi megítélése egy vizuális, minőségi vizsgálaton alapszik, amely a máj és a vesék közötti echoamplitúdót, a májszövetbe való behatolás mélységét, és a májban lévő erek szerkezetének láthatóságát méri. Klinikailag egy 4-pontos skálát alkalmaznak a steatosis súlyosságának leírására: normális (grade0), enyhe (grade1), közepes (grade2), és súlyos (grade3) (83). Az ultrahangvizsgálat érzékenysége 81,8-100%-os, fajlagossága 98%-os a közepes és súlyos steatosis kimutatásában (amely legalább $\geq 30\%$, illetve $\geq 33\%$ zsírfelhalmozódást jelent). Ezzel ellentétben enyhe steatosis (elzsírosodás $\leq 3\%$ vagy $\leq 5\%$) kimutatásában 53,3%-66,6%-os érzékenységet és 77,0%-93,1%-os fajlagosságot közöltek (84, 85).

A zsírmáj CT-vizsgálata során a májszövet csökkent, Hounsfield egységekben (Hounsfield unit = HU) mért denzitásértékei kerülnek leírásra. A 30%-ot meghaladó májelzsírosodás kimutatásában érzékenysége 73-100%, fajlagossága 95-100%. A vizsgálat ugyanakkor nem alkalmas a gyulladás, a necrosis és a fibrosis korai kimutatására (83).

A mágneses rezonancián alapuló képalkotás (MRI) képes a májról morfológiai, és élettani információkat is szolgáltatni. A CT-vel ellentétben az MRI nem ionizáló sugárzáson alapul. Az ultrahanggal szemben az MRI nem függ a vizsgálatot végző személytől, és nagyobb térbeli és kontrasztfelbontással rendelkezik. Az MR-paraméterek gondos kiválasztásával nem invazív módon kórismézhetőek mind a diffúz, mind a fokális májbetegségek (86).

Számos alkalommal azonban klinikailag kihívást jelenthet a diagnózis felállítása. Gyakran egyetlen laboratóriumi vagy képalkotó vizsgálat sem erősíti meg egyértelműen a kórokozót (például NAFLD, ALD esetén). Ezenkívül a betegek teljesen tünetmentesek lehetnek, nem rendelkeznek a betegség korai klinikai tüneteivel, és májenzimjszintjeik a referenciatartományon belül lehetnek (87).

A májcirrhosisban szenvedő betegek többsége a szövődmények (gastrointestinalis vérzés, ascites, hepatikus encephalopathia) kialakulása miatt fordul először orvoshoz. A magas kockázatú betegek azonosításához a prognosztikai modellek állnak rendelkezésre. Maddrey diszkriminációs pontszám (Maddrey's discriminant function=MDF), a protrombin idő és az összbilirubinszint alapján számítható ki:

$$(\text{MDF pont} = 4,6 \times \text{protrombin idő} - \text{kontroll protrombin idő} + \text{szérum bilirubin})$$

A klinikai gyakorlatban azoknak a súlyos alkoholos hepatitisben szenvedő betegeknek az azonosítására alkalmazzák, akiknek előnye származhat a kortikoszteroid terápiából (87).

A végstádiumú májbetegség (model for end-stage liver disease = MELD) modelljét (szérum bilirubin, kreatinin és INR alapján) a cirrhosisban szenvedő betegek túlélésének előrejelzésére fejlesztették ki. Többek között a májtranszplantációra váró betegek rangsorolására is használják. Emellett a Child-Pugh pontszámot és osztályozást alkalmazzák a klinikai gyakorlatban, amely a bilirubin, az albumin, a protrombin idő meghatározásán, valamint az ascites és a hepatikus encephalopathia súlyossági fokán alapul (88).

Egyes esetekben, amikor a diagnózis a rutin vizsgálómódszerekkel nem egyértelmű, indokolt a máj szövettani vizsgálata.

1.3.2. Invazív vizsgálómódszer, a májbiopszia

A májszövetből történő mintavétel jelenleg a különböző kóreredetű krónikus májbetegségek meghatározásának arany standardja. A szövettani vizsgálat lehetővé teszi nemcsak a fibrosis fokának meghatározását, hanem a gyulladással kapcsolatos aktivitásról, májsejtelhalásról, elzsírosodásról és vas-, illetve rézfelhalmozódásról is diagnosztikus információt nyújt (89), lehetőséget adva differenciáldiagnosztikai kérdések eldöntésére is. Segíti a terápiás terv elkészítését, a daganatdiagnosztikát. Napjainkban májbiopszia

akkor javasolt, amikor differenciáldiagnosztikai kérdés merül fel, és annak terápiás konzekvenciája is van (90).

Az indikációk mellett azonban a mintavételnek számos ellenjavallata van (pl.: vérzékenység, nem együttműködő beteg, súlyos mértékű elhízás, ascites, fertőzés stb.) (90).

A módszer klinikai hasznát korlátozza továbbá, hogy a májszövet kis részlete (kb. 1/50000-ed része) kerül jellemzésre, így nem ad pontos képet a májműködés egészéről (91). Ez főleg olyan eseteknél érvényes, ahol az elváltozás nem érinti egyformán az egész szervet. A mintavételből származó hiba csökkenthető megfelelő méretű és minőségű mintával (91). A másik probléma a vizsgálók közötti („interobserver”) és egy vizsgáló különböző időben végzett értékelései közötti („intraobserver”) különbözőség, amely az értékelés szubjektivitásából adódhat (92).

A diagnózis alapját képező májbiopszia invazív beavatkozás. Ritka, de súlyos szövődmények léphetnek fel a mintavétel során: vérzés, fertőzés, epecsorgás, légmell, bélperforáció (89). Fájdalmat a betegek 80%-a érez a mintavétel után. Vérzés az esetek 0,01-0,04%-ban fordul elő (90). Halál nagyon ritkán ($\leq 0.01\%$) következik be a beavatkozás során (91). A szövődmények előfordulása összefüggést mutat a biopsziát végző klinikus tapasztaltságával (93).

A mintavétel akadályai miatt szükség van egyéb, úgynevezett nem-invazív, fájdalomtalan, szövődménymentes, olcsó, megismételhető diagnosztikai módszerekre (94).

1.3.3. Beavatkozásmentes vizsgálómódszerek

A májbetegség gondozása során a májkárosodás mértékének szoros ellenőrzése javasolt, a többszöri biopsziás mintavétel azonban jelentős megterhelést jelentene a betegeknek. Az elmúlt évtizedekben számos nem-invazív eljárás vált elérhetővé a májfibrózis mértékének meghatározására, mint a fibrózis szérumbiomarkerei, valamint különböző radiológiai vizsgálómódszerek.

1.3.3.1. Direkt szérummarkerek

A máj kötőszövetes átalakulása a szérumban mérhető mutatók segítségével is jellemezhető. Az ideális jelzőmolekula specifikus a májra, szabad formában van jelen a keringésben, könnyen mérhető, a gyulladásos folyamatoktól független, nem befolyásolja a kiválasztás, és korrelál a dinamikus változásokkal (95). Számos vizsgált molekula közül a III-as típusú prokollagén N-terminális propeptidje (PIIINP), a hialuronsav, a laminin, az ún. transzformáló növekedési faktor (TGF- β), a metalloproteinázok szöveti gátlói (TIMP), valamint az ún. YKL-40 glikoprotein bizonyult (korlátozottan) hasznosnak (32, 91, 96-101). A direkt jelzők hasznát korlátozza, hogy az aktuális mátrix-forgalmat jellemzik, és így kifejezett gyulladásban is jelentősen megemelkedhet a szintjük, azonban nem fajlagosak a májra. Aktuális szérumszintjüket kiválasztásuk, a csökkent epekiválasztás, vagy a csökkent veseműködés is befolyásolhatja (102). Meghatározásuk költséges, emiatt a rutin gyakorlatban még nem terjedtek el (103).

Általános gyulladásos markerek, mint a ferritin és a magas érzékenyséű C-reaktív protein szintje összefüggést mutatnak a nem-alkoholos zsírmájbetegség súlyosságával. Különböző citokin-koncentrációk is jól korrelálnak a betegség jelenlétével. Súlyosabb májkárosodást jelez a TNF- α magas és az adiponektin alacsony szérumszintje. Különböző sejthalált jelző molekulák (például: citokeratin 18-M30 részlet) is használhatóak a zsírosodás kimutatására. A májkárosodás során megváltozik a sejtek redox-homeosztázisa. Az oxidatív stressz jelzői a lipidperoxidáció termékei, amelyek a betegség hasznos biomarkerei lehetnek a jövőben. Mérésük a szérumból jelenleg nem automatizált, munkaigényes. A mitokondriális, peroxisómális, CYP450, nitrogén-oxid-szintetáz és mieloperoxidáz útvonalak viszonylagos jelentősége még nem pontosan ismert (104). A malonaldehid, ill. a TBARS és az oxidált LDL biomarkerként való hasznosíthatóságának kérdése még nem eldöntött (105, 106).

1.3.3.2. Pontrendszerek

A pontrendszerek elemei a májban zajló gyulladás következtében kerülnek a vérbe, a máj által kiválasztott, vagy termelt molekulák, illetve a májműködési zavar következtében a folyamatok jelzői (105). A májkárosodás mértékét meghatározhatjuk rutinlaboratóriumi paraméterek felhasználásával és különböző képletek segítségével.

Számos pontszám, index ismert az irodalomban, amelyek rutinlaboratóriumi paraméterek felhasználásával jellemzik a májfibrosist, és a zsírosodást. Ezek jellemzően többtényezősök (94). A leggyakrabban használt mutatók az AAR, az APRI, a FiB-4, az ELF-teszt, a Fibrotest, illetve a Forns-index. A különböző pontszámokat és a hozzájuk tartozó paramétereket az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat: Pontszámok a májfibrozis nem invazív értékeléséhez krónikus hepatitis C esetén (107, 108)

Fibrotest (α -2-macroglobulin, GGT, apolipoprotein A1, haptoglobin, total bilirubin, életkor, és nem)
Forns-index (életkor, thrombocytaszám, koleszterin, és GGT)
AST to platelet ratio (APRI) (AST és thrombocytaszám)
FibroSpect (α -2-macroglobulin, hialuronsav, és TIMP-1)
MP3 (MMP-3 és TIMP-1)
Enhanced Liver Fibrosis score (ELF) (életkor, hialuronsav, MMP-3, és TIMP-1)
Fibrosis Probability Index (FPI) (életkor, alkoholfogyasztás, AST, koleszterin, és HOMA-IR)
Lok Index (trombocytaszám, AST/ALT arány, és INR)
Göteborg University Cirrhosis Index (GUCCI) (AST, INR, és thrombocytaszám)
Hepascore (bilirubin, GGT, hialuronsav, α -2-macroglobulin, életkor, és nem)
Fibrometer (thrombocytaszám, prothrombin index, AST, α -2-macroglobulin, hialuronsav, húgysav, és életkor)
Virahep-C model (AST, trombocytaszám, alkalikus foszfatáz, és életkor)
Fibroindex (thrombocytaszám, AST, és γ -globulin)
FIB-4 (thrombocytaszám, ALT, és AST)
HALT-C model (hialuronsav, TIMP-1, és thrombocytaszám)

A pontrendszerek felhasználását leginkább reprodukálhatóságuk kérdőjelezi meg. Az olyan érzékeny változók, mint az aszpartát-aminotranszferáz vagy a thrombocytaszám erősen befolyásolja az eredményt. A számítások során fals-pozitív, illetve fals negatív eredményeket kaphatunk különböző betegségek (pl. Gilbert-kór), vagy gyulladós folyamatok kapcsán (105). Alkalmazhatóságuk további korlátait jelentik a különböző laboratóriumok által végzett mérések közötti eltérések. Ezeket a korlátokat ellensúlyozza az indirekt markerek könnyű hozzáférhetősége, egyszerű kiszámítása és

költséghatékonysága (84). A különböző szérummarkerek és pontszámok érzékenységét és fajlagosságát a 2. *táblázat* mutatja be.

2. táblázat: Fibrózismutatók érzékenysége, fajlagossága, pozitív prediktív értéke (PPV), negatív prediktív értéke (NPV) (F2, F4 = METAVIR májfibrózis stádiumok, NA = nincs adat) (89, 91)

	AUROC		Érzékenység		Fajlagosság		PPV		NPV	
	>=F2	F4	>=F2	F4	>=F2	F4	>=F2	F4	>=F2	F4
Hialuronsav	0,7-0,8	0,8-0,9	64-75	79-99	81-91	80-89	44-86	63-99	78-93	100
Laminin	0,7-0,8	NA	80	NA	83	NA	NA	NA	NA	NA
YKL-40	0,7-0,8	0,8	78	80	81	77	61-80	73	68-79	78
IV kollagén	0,7-0,8	0,60	65	60	69	61	67	61	66	60
Pro-kollagén III	0,6-0,7	0,7-0,8	70-78	60-77	63-75	74-66	76	69	77	67
APRI	0,7-0,9	0,6-0,9	41-91	57-89	47-95	75-93	61-88	38-57	64-86	93-98
AAR	NA	0,5-0,8	NA	46-78	NA	95-99	NA	73-99	NA	80-89
Forns-index	0,6-0,8	NA	79-94	NA	61-95	NA	66-94	NA	63-96	NA
FIB-4	0,8-0,9	0,8-0,9	37-74	NA	80-98	NA	82,1	NA	94,7	NA
GUCI	NA	0,85	NA	80	NA	78	NA	31	NA	97
Lok-index	NA	0,7-0,8	NA	37-92	NA	30-94	NA	32-75	NA	84-91
Vira-hep C	0,8	NA	51-90	NA	54-90	NA	53-75	NA	76-90	NA
FPI	0,7	NA	42-85	NA	48-98	NA	87	NA	93	NA
Fibrotest	0,7-0,8	0,7-0,8	65-77	50-87	72-91	70-92	76-80	57-93	66-81	44-90
Forns-index	0,6-0,8	0,81	58-94	NA	61-95	NA	66-100	NA	35-96	NA
Fibrometer	0,8-0,9	0,91	80-89	94,1	84-89	87,6	82-86	68	77-82	94,7
Hepascore	0,7-0,8	0,8-0,9	53-82	71-76	65-92	84-89	70-88	64,9	63-78	89-98
ELF	0,80	NA	90	NA	31	NA	27,5	NA	92	NA
Fibroindex	0,5-0,8	NA	35-49	NA	97-100	NA	94-100	NA	43-62	NA
Fibrospect	0,8-0,9	NA	71-93	NA	66-73	NA	60-82	NA	77-94	NA

1.3.3.3. Képkötő eljárások

A beavatkozásmentes, vagy nem-invazív vizsgálómódszerek másik csoportját a képkötő eljárások alkotják. A tranziens elasztográfia (TE) a máj rugalmasságának, tömörségének (liver stiffness, LS) mérésére alkalmas. A TE során az ultrahang elvén működő készülék egy kis amplitúdójú, alacsony frekvenciájú, vibrációval keltett „lökéshullám” terjedési sebességét méri a májszövetben, amely a kötőszövetes átépülés mértékével egyenesen arányos. A mérés során egy körülbelül 1 cm átmérőjű, 4 cm hosszú virtuális szövethenger kerül jellemzésre. Ez körülbelül százszorosa egy májbiopszia során nyert szövetminta térfogatának (109, 110). A készülék 10 sikeres mérésből átlagot számít, amely az úgynevezett LSE (liver stiffness evaluation). Az LSE értéke 2,5 (alacsony tömörségi fok) és 75 kPa (magas tömörségi fok) között van (103). A vizsgálat sikerét a vizsgáló gyakorlata, a beteg életkora, a bordaközi rés szélessége, a testtömegindex, és a haskőrfogat is befolyásolja (108). A májkárosodás súlyossága, valamint a kötőszövetes átépülés mértéke a tranziens elasztográfia segítségével magas érzékenységgel és fajlagossággal ítélt meg (111). Akut májkárosodás, epepangás, a centrális vénás nyomás, különböző gyógyszerek (béta-blokkolók) és táplálékbevitel befolyásolhatja a máj tömörségének mérését. Javasolt azonban elvégzése idült májbetegségekben a kötőszövetes átépülés monitorozására. A tranziens elasztográfia egyszerű, a betegek számára nem megterhelő vizsgálat, így szóba jöhet a veszélyeztetett populációkban (alkoholfogyasztók, intravénás drogfogyasztók stb.) a máj kötőszövetes átalakulásának szűrésére is (103). A májszírosodás kimutatására és mennyiségi meghatározásra is ultrahang alapú vizsgálati módszer került kidolgozásra, az úgynevezett controlled attenuation parameter (CAP). A tranziens elasztográfias mérés mellett ez az ultrahang alapú jellemző megbecsli a teljes ultrahangos jelcsökkenést, amely a májszövetben lévő zsír mennyiségével jól korrelál. Mértékegysége: dB/m.(112).

A tranziens elasztográfia elvén alapuló ún. shear wave elasticity imaging (SWEI) technika a nyíróhullám terjedését méri a májszövetben. A nyíróhullám-sebesség mérése a szövet rugalmasságának kvalitatív és kvantitatív becslését eredményezi. Jelenleg három technikai megközelítés létezik: 1) 1 dimenziós tranziens elasztográfia (1D-TE), 2) pont shear wave elasztográfia (pSWE) és 3) 2 dimenziós shear wave elasztográfia (2D-SWE) (113). A hagyományos ultrahangkészülékbe integrált speciális szoftver

segítségével a máj tömötsége jellemezhető. Tíz sikeres mérésből a készülék mediánt számít. Az így meghatározott érték az ún. elaszticitás. A kötőszövetes átépülés mértéke ezzel a módszerrel négy stádiumba sorolható (F1-F4) (114). A módszerek érzékenységét és fajlagosságát az 3. táblázat mutatja be.

További lehetőséget jelent a CT-vizsgálat. A közepes és súlyos elzsírosodást jól jelzi a CT, de alkalmazhatósága csökken enyhe zsírmáj kimutatásánál. Továbbá a magas dózisu, ionizáló sugárzása miatt gyerekek vizsgálatára és hosszú távú terápiás monitorozásra a CT használata kockázatos, valamint a kötőszövetes átépülés mértékéről korlátozott információt nyújt. A xenon-CT a májelzsírosodás objektívebb, ígéretes jövőbeli módszere lehet (83).

A mágneses rezonancián alapuló képalkotás a zsírban lévő protondenzitást méri (proton density fat fraction=PDFF), amely a zsírhoz kötött protonok mennyisége elosztva a májban lévő összes protonnal (zsírhoz és vízhez kötött protonok összessége). Két vizsgálati eljárás használható a zsírmáj diagnosztikájában: a mágneses rezonancián alapuló képalkotás (MRI) és a spektroszkópia (MRS). A $\geq 5\%$ -os, szövettannal megállapított steatosis kimutatásában az MRI 76,7% - 90,0%-os érzékenységgel és 87,1% - 91%-os fajlagossággal rendelkezik (83-85). Az MR-elasztográfia is egy újabb, alternatív, nem invazív vizsgálóeljárás a kötőszövetes átépülés megítéléséhez (86). Jelenleg, elsősorban költséghatékonyság tekintetében, alulmarad a tranziens elasztográfiával szemben, de elvégezhető olyan esetekben is (például nagyfokú elhízás, jelentős mennyiségű ascites), amikor a TE nem (111, 115). Extrém elhízottakban, klausztrofóbiásoknál, súlyos haemochromatosisban szenvedőknél nem alkalmazható (103).

3. táblázat: Az ultrahangon alapuló vizsgálati módszerek érzékenysége és fajlagossága *Sigris* és *mtsai*. nyomán (LSM=májtomótság mérés, 1D-TE=1 dimenziós tranziens elasztográfia, pSWE=pont shear wave elasztográfia, 2D-SWE= 2 dimenziós shear wave elasztográfia, SWV= nyíró hullám sebessége) (113)

Etiológia	Beteg szám	Technika	Paraméter	Cut-off	AUC	Szenz. (%)	Specif. (%)	Szerző
HCV	183	1D-TE	LSM (kPa)	7.1 (F \geq 2)	0.83	67	89	Castera et al., 2005
				9.5 (F \geq 3)	0.9	73	91	
				12.5 (F=4)	0.95	87	91	
HCV	327	1D-TE	LSM (kPa)	8.8 (F \geq 2)	0.89	56	91	Ziol et al., 2005
				9.6 (F \geq 3)	0.91	86	85	
				14.6 (F=4)	0.97	86	96	
HBV	2772	1D-TE	LSM (kPa)	7.9 (F \geq 2)	0.86	74.3	78.3	Chon et al., 2012
				8.8 (F \geq 3)	0.89	74	63.8	
				11.7 (F=4)	0.93	84.6	81.5	
CLD	518	pSWE	SWV (m/s)	1.34 (F \geq 2)	0.87	79	85	Friedrich et al., 2012
				1.55 (F \geq 3)	0.91	86	86	
				1.8 (F=4)	0.93	92	86	
HCV, HBV	188 (1)	1D-TE	LSM (kPa)	8.4 (F \geq 2)	0.89 (1)	81.9	70	Afdhal et al., 2015
	560 (2)			0.73 (2)	57.9	74.9		
				9.6 (F \geq 3)	0.92 (1)	88.3	81.9	
				0.83 (2)	71.8	80.1		
				12.8 (F=4)	0.92 (1)	84.2	86	
0.90 (2)	75.9	85.1						
CLD	349	2D-SWE	LSM (kPa)	8.0 (F \geq 2)	0.89	83	82	Cassinotto et al., 2014
				8.9 (F \geq 3)	0.92	90	81	
				10.7 (F=4)	0.92	85	83	
		1D-TE	LSM (kPa)	8.5 (F \geq 2)	0.83	76	81	
				8.5 (F \geq 3)	0.86	88	71	
				14.5 (F=4)	0.9	77	91	
		pSWE	SWV (m/s)	1.38 (F \geq 2)	0.81	72	81	
				1.5 (F \geq 3)	0.89	79	81	
				1.61 (F=4)	0.9	81	77	
CLD	120	2D-SWE	LSM (kPa)	12.4 (F \geq 2)	0.87	—	—	Gerber et al., 2015
				21.6 (F \geq 3)	0.91	—	—	
				26.5 (F=4)	0.88	—	—	
		1D-TE	LSM (kPa)	10 (F \geq 2)	0.91	—	—	
				26.3 (F \geq 3)	0.94	—	—	
				33 (F=4)	0.89	—	—	
		pSWE	SWV (m/s)	1.76 (F \geq 2)	0.92	—	—	
				2.47 (F \geq 3)	0.93	—	—	
				2.89 (F=4)	0.9	—	—	
CLD	1163	1D-TE	LSM (kPa)	(F \geq 2)	—	78	84	Bota et al., 2013
				(F=4)	—	89	87	
		pSWE	SWV (m/s)	1.3 (F \geq 2)	—	74	83	
				1.8 (F=4)	—	87	87	

1.3.3.4. Kombinált módszerek

A nem-invazív vizsgálati módszerek legfőbb előnye az egyszerű reprodukálhatóságuk. A nem-invazív jelzők longitudinális mérése lehetővé teszi a klinikusok számára nemcsak a betegség progressziójának biztonságos monitorozását, hanem az antivirális terápia, az alkoholabsztinencia (ALD-ben), vagy a testsúlycsökkentés (NAFLD-ben) hatását a máj kötőszövetes átépülésére. A májkárosodás nem-invazív megítélését segítik a képkalkuló eljárások és laboratóriumi pontrendszerek kombinálásával alkalmazott diagnosztikus útvonalak létrehozása is. Elasztográfiás módszerek és különböző jelzőmolekulák együttes alkalmazása csökkentheti a biopsziák szükségességét.

Castera és munkatársai kimutatták, hogy a tranziens elasztográfia és a Fibrotest kombinációja kiváló diagnosztikai pontosságot eredményezett mind a szignifikáns fibrosis (AUROC 0,88), mind a cirrhosis (AUROC 0,95) kimutatására (116). Sebastiani és munkatársai olyan szekvenciális algoritmust javasolnak, amely az APRI és a Fibrotest-Fibrosure kombinációján alapul (SAFE: Sequential Algorithm for Fibrosis Assessment), amelynek validálása 2000-ben CHC-s betegnél azt mutatta, hogy a biopsziák jelentős százaléka (50-80%) elkerülhető (117, 118). Több nem-invazív pontrendszer, mint a Forns-index, a Fibrotest®, a FIB-4, a Fibrometer® és APRI, valamint a tranziens elasztográfiával mért értékek is szignifikánsan csökkentek sikeres terápia után, korrelálva a kötőszövetes átépülés csökkenésével (89).

Az előrehaladott májzsugor súlyos szövődményei a nyelőcső-visszerek, az ascites, és a hepaticus encephalopathia. A nyelőcsővarixok megítélésnek standard módszere az eosophagogastroduodenoscopy, amely invazív, a betegek számára megterhelő és költséges eljárás. Sok tanulmány alternatív nem-invazív módszereket vizsgált a varixok szűrésére. A tranziens elasztográfiával mért májtömöttség (LS) szignifikánsan korrelált a krónikus májbetegség súlyosságával, és a klinikai paraméterekkel (ascites, varixok, vérzés, májrák) (119, 120).

A nyelőcső-visszér kockázati pontrendszer (EVRS) és a portális hipertenzió kockázati pontrendszer a lépátmérő, a thrombocytaszám, és a májtömöttség mértékének felhasználásával képzett képlet kellő hatékonysággal bizonyult kórjelzőnek (119, 120). A Baveno VI kritériumok alapján kompenzált, cirrhosisban szenvedő betegek esetében, akiknél májtömöttség (LSM) kevesebb, mint 20 kPa, és a vérlemezkeszám nagyobb, mint 150×10^9 sejt / liter, nem kell elvégezni szűrő endoszkópiát (121).

1.3.3.5. Genetikai markerek

A krónikus májbetegségek progresszióját genetikai tényezők is befolyásolják. Különböző génpolimorfizmusok állnak a vizsgálatok középpontjában. A patatin-szerű foszfolipáz 3 (patatin-like phospholipase 3 = PNPLA3) genetikai polimorfizmusa nagyobb cirrhosis kockázattal és a rosszabb terápiás válasszal függ össze. NAFLD-ben nagyobb valószínűséggel alakul ki inzulinrezisztencia és 2-es típusú cukorbetegség (122, 123). A PNPLA3 I148M (rs738409) hordozás nagyobb kockázatot jelent a steatózissal, a fibrózissal és a gyulladással jellemzett progresszív májbetegség kialakulására. Az MTTP 297H (mikroszomális triglicerid transzfer protein) polimorfizmusa az NAFLD és az inzulinrezisztencia kialakulására magasabb kockázatot jelent (124). A TM6SF2 hordozás összefügg a progresszív májbetegségekkel és a metabolikus szindróma kialakulásával (125).

A mikroRNS-ek egyszálú, 18-24 nukleotid hosszúságú, nem kódoló RNS-ek. Gének kifejeződését szabályozzák poszttranszkripcionálisan. A csillagsejtek aktiválódásában a miR-29, a miR-146, és a miR-16 mikroRNS-ek játszanak szerepet (126). Számos vizsgált mikroRNS közül a miR-21, a miR-122 és a miR-223 kapcsolatát írták le a fibrózis mértékével krónikus HBV-fertőzésben (127). HCV-fertőzésben a miR-122 részt vesz a vírus stabilitásában (128-130). Nem alkoholos zsírmájbetegségben a miR-122, a miR-451, valamint a miR-27 csökkent kifejeződését írták le (131). NASH-ben a miR-197 és a miR-99 szintje korrelált a fibrózis mértékével. A NAFLD/NASH további potenciális genetikai tényezőit és a májfibrózis előrehaladását genom-szintű asszociációs vizsgálatok során értékelik, és a jövőben nem-invazív prognosztikai indikátorokként is esetleg felhasználhatók lehetnek (106, 125).

1.4. Terápiás lehetőségek krónikus májbetegségekben a bél-máj tengely befolyásolása révén

Az idült májbetegségek kezelése a májkárosodás etiológiájától és mértékétől függ. A kezelés célja a májfibrózis progressziójának csökkentése, valamint a cirrhosis tüneteinek és szövődményeinek megelőzése vagy kezelése. Az életmódváltás, a kortikoszteroidok, az antivirális készítmények, a kelátképzők, a tercier epesav alkalmazása a májkárosodás oki kezelését jelentik (132). A cirrhosis szövődményeinek támogató terápiája magában foglalja a diuretikumokat, az albuminpótlást, a K-vitamin, a vérvérvételmények,

antibiotikumok adását és a megfelelő diétát. A végstádiumú májzsugorban a májtranszplantáció az egyetlen megoldás. (133).

Számos célpont szolgál a bél-máj tengely befolyásolására (táplálkozás, anti-, pre-, és probiotikumok, széklettranszplantáció), ezzel kiegészítő terápiás lehetőségek nyílhatnak különböző májbetegségeken (ALD, NAFLD, vírushepatitisek).

Elsősorban a táplálkozás befolyásolja a bél mikrobiótát, így hatása lehet májbetegségek kialakulására, progressziójára is. Zsírban gazdag diéta a kalóriamegszorítástól függetlenül nagyobb LPS-szintet eredményezett állatkísérletben. Magas szénhidrát és fehérjebevitel *Firmicutesek* számát csökkentette, a *Bacteroidesek* számának növelése mellett (134).

A bélbaktériumok számának csökkentése további potenciális terápiás lehetőséget jelentenek májbetegségeken. Elsősorban hepatikus encephalopathia kezelésében alkalmazandók egyes nem felszívódó, széles spektrumú antibiotikumok. Laktulóz adása mellett hatékonyan csökkentik az ammónia-termelő bélbaktériumok mennyiségét (135). Míg hepatikus encephalopathiában az antibiotikumok adása előnyös, addig a nem cirrhotikus, krónikus májbetegségeken betöltött szerepe még vitatott. Rifaximin kezelés csökkentette NASH-es betegeknek a BMI-t, a szérumban endotoxin, transzamináz értékeket, míg a NAFLD-es betegeknek csupán GPT-csökkenést tapasztaltak. A rövid távú antibiotikus kezelésnek ugyan terápiás hatása lehet, a hosszú távú alkalmazás bakteriális rezisztencia kialakulásához vezethet, ezáltal korlátozva a gyógyszer hatékonyságát, növelve a másodlagos fertőzések kockázatát és további bél diszbiózis kialakulását (136).

A bélflóra befolyásolásának alternatívája a nem emészthető táplálékok, prebiotikumok alkalmazása. Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy a bélflóra összetételének prebiotikummal (inulin típus fruktán) történő módosítása csökkenti a máj elzsírosodását és a de novo lipogenezist. Fermentációjuk során emelkedik a rövid szénláncú zsírsavak mennyisége, amelyek kedvezően befolyásolják a szénhidrát-, és lipidanyagcserét (40). A prebiotikumokkal végzett humán vizsgálatokat azonban jelentősen korlátozzák az eltérő étkezési szokások, emiatt egészségre gyakorolt hatásuk vitatott.

További terápiás lehetőséget jelent a probiotikumok adása. Probiotikumnak nevezzük azokat a baktériumokat, gombákat, amelyek szájon keresztül bejutva, élve eléri a vastagbelet, majd ott megtapadva (colonisatio) a gazdaszervezet számára hasznos

funkciót töltenek be. Ezek egy vagy akár több probiotikus törzset is tartalmazhatnak, leggyakrabban a *Lactobacillus*, a *Bifidobacterium*, a *Lactococcus*, a *Streptococcus* és az *Enterococcus* fordul elő, de a *Bacillus* és a *Saccharomyces* törzsek tagjai is alkotóelemek lehetnek (137). Több tanulmány igazolta a *Lactobacillus* jótékony hatásait, a gyulladásoos aktivitás és az endotoxaemia csökkentése mellett. *Bifidobacterium* adása is csökkenti a gyulladásoos markerek szintjét májbetegségben, mérsékli a májzsírosodást, és javítja a glükóztoleranciát (138, 139).

A szinbiotikumok a probiotikumok és a prebiotikumok együttesét jelentik, olyan készítményeket, melyek alkalmazása során a két tényező előnyös hatása összegződik. Így a potenciálisan előnyös probiotikumok aktivitása megnő és a túlélésük is javul. Korlátozott számú klinikai tanulmány áll rendelkezésre a szinbiotikumok májbetegségben való alkalmazására. A szinbiotikus kezelés csökkentette a transzaminázok, valamint a gyulladásoos markerek szintjét a placebohoz képest, ugyanakkor a BMI-t és a derék-csípő arányt nem befolyásolta NAFLD-ben (140).

A széklettranszplantáció hatékony terápia a visszatérő *Clostridium difficile* fertőzés kezelésében. A kezelés a kórokozók kolonizációjának korlátozásán keresztül befolyásolja a bélflóra összetételét. A széklettranszplantációt vizsgálják egyéb betegségek lehetséges terápiás lehetőségeként, beleértve a májhoz kapcsolódó betegségeket is. Az eddigi tapasztalatok állatkísérleteken, valamint klinikai megfigyeléseken alapulnak. Elsősorban NASH-ban, ALD-ben, cirrhosisban, valamint hepatikus encephalopathiában szenvedőknél folynak tanulmányok. A kezelés csökkentette az ascites és a hepatikus encephalopathia súlyosságát a betegek többségénél, valamint javult az egyéves túlélési arány a kontrollokhoz képest (44). Annak ellenére, hogy ezek a tanulmányok ígéretesnek bizonyulnak, további klinikai kutatásokra van szükség, különösen nagyobb, randomizált, kontrollált vizsgálatokra.

1.4.1. Pre- és probiotikumok az NAFLD kiegészítő kezeléseként

A nem alkoholos zsírmájbetegség (NAFLD) egészségügyi terhet jelent világszerte. A klinikusok számára kihívásként jelentkezik mind a diagnosztika mind a kezelés szempontjából. Az NAFLD és a NASH kezelése nem megoldott. Nehézséget jelent a betegség lefolyása (évtizedek telhetnek el, amíg a tünetek kialakulnak), és többtényezős patomechanizmusa. A kezelési stratégiák elsősorban a testsúlycsökkentés és a

komorbiditás kezelése felé irányulnak. Szükség van új célzott terápiákra (obetikólsav, cannabinoid receptor agonisták, szelektív szerotonin 2C receptor agonisták, tiazolidindionok, inkretinek, dipeptidil-peptidáz gátlók stb.), azonban a betegségben résztvevő számos, egymással összefüggő útvonal arra utal, hogy egyetlen terápiás szer nem lesz hatékony kezelési stratégia. Emiatt több célpont kombinált kezelésére lenne szükség, amelyek között a bélflórát támogató terápiák is fontos szerepet játszanak (141). A NAFLD egyik fontos szerzett kockázati tényezője a táplálkozás. Tanulmányok igazolják, hogy a NAFLD fő táplálkozási kockázati tényezőit az omega-3 és omega-6 zsírsav egyensúly felborulása, valamint a túlzott fruktóz- és telítettsírsav-bevitel jelenti (142).

A legújabb tanulmányok azt mutatják, hogy a probiotikus fermentált élelmiszerek csökkenthetik a kóros májenzimeltéréseket, az alacsony denzitású lipoprotein és a koleszterin szintjét, valamint a testtömeget (35, 143-145), amely hatások kedvezően befolyásolják a zsírmájbetegség lefolyását. Összességében úgy tűnik, hogy a pre-, a pro- és a szinbiotikumok javítják a különböző májparamétereket NAFLD-ben, ALD-ben, cirrhosisban vagy hepatikus encephalopathiában szenvedő betegeknél, támogatva a bélflóra szerepét. A különböző tanulmányokban azonban különbözik az alkalmazott készítmény típusa és adagolása (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, VSL#3, frukto-oligoszacharid, inulin stb.), valamint a legtöbb tanulmány kis mintaszámmal rendelkezik. Ezért további kutatásokra van szükség nagyobb randomizált, kontrollált vizsgálatokkal, mielőtt bármilyen ajánlás megfogalmazható lenne (146).

Az ökológiai gazdálkodásból származó tejtermékeknek a probiotikumok hordozójaként történő felhasználása további előnyökkel járhat. A bio tejek ugyanis általában a tavaszi és nyári hónapokban legeltetett tehenektől származnak. Az így nyert tejet vegyi kezelésektől mentesen dolgozzák fel és csomagolják (147). Az ökológiai gazdálkodásból származó tej kedvezőbb zsírsav-profillal rendelkezik, így több bioaktív zsírsavat (rövid szénláncú, páratlan és elágazó szénláncú zsírsav, vakcensav és konjugált linolsav) tartalmaz, különösen a nyári hónapokban (148, 149). További előnyt jelent, hogy a jelenleg használt antibiotikumok és növényvédőszeres nem mutathatók ki a biogazdálkodásból származó tejtermékekben, míg a konvencionálisan előállított tejmintákban akár szintetikus növekedési hormon maradványok is előfordulhatnak

(150). A tejtermékekkel és a táplálkozással kapcsolatos új kutatások az élelmiszerek, a bennük található bioaktív vegyületek és az emberi testre gyakorolt hatásuk közötti összefüggések jobb megértését segítik (147).

1.4.2. Megelőző és terápiás stratégiák hepatotoxikus mikotoxikózisokban

A mikotoxinok károsító hatásai miatt állandó egészségügyi kockázatot jelentenek mind az emberek, mind a haszonállatok számára, és ezzel jelentős élelmiszerbiztonsági problémát okoznak világszerte. Mivel a mikotoxinok termelődése erősen függ a környezeti feltételektől, például a hőmérséklettől és a páratartalomtól, a toxinszennyeződést nem lehet teljes mértékben elkerülni. Amellett, hogy minimalizálni kell az összes olyan kockázati tényezőt, amelyek befolyásolhatják a gabonafélék szennyeződését (betakarítás előtt és után), számos stratégia létezik a káros hatások csökkentésére (151). A humán megbetegedések elleni védekezés alapját a megelőzés jelenti, amely a tápláléklánc alsóbb szintjein valósulhat meg.

Az állatok takarmányozása során alkalmazhatók toxinkötő anyagok, antibiotikumok, pre/probiotikumok, különböző mikroorganizmusok, metabolizáló enzimrendszerek, természetes vegyületek, antioxidánsok. A potenciális toxinkötő anyagok közé tartoznak az aktív szén, az alumínium-szilikátok (bentonit, zeolit, fitoszilikátok stb.), a komplex emészthetetlen szénhidrátok (cellulóz, poliszacharidok), az élesztő és a baktériumok falai (glükomannánok, peptidoglikánok), valamint a szintetikus polimerek, például a kolesztiramin és a polivinilpirrolidon, illetve ezek származékai (152). Agyagásványok (montmorillonit, palygorskit, bentonit, klinoptilolit stb.) nagy mennyiségben elérhetőek, környezetbarát módon alkalmazhatók és hatékonyan adszorbeálják a mikotoxinokat állatkísérletekben. A biokémiai paraméterekre, a lipidprofilra, a szérum citokinekre, az oxidatív stressz mutatókra, az antioxidáns enzimek aktivitására, valamint a máj és a vese szövettani állapotára is védő hatással van a különböző toxinkötő anyagok alkalmazása (153, 154). Emellett megóvják a bélfal integritását, így csökken a bélfal átteresztőképessége (5, 155).

Mikroorganizmusok vagy enzimrendszerek alkalmazása a szennyezett takarmányokban metabolizmus vagy bomlás útján távolítja el a mikotoxinokat az emésztőrendszerben. Ez a folyamat visszafordíthatatlan és környezetbarát módszer, mert nem jár mérgező anyagokkal vagy nemkívánatos melléktermékekkel (156). A probiotikumok

alkalmazásával biztató eredményeket érnek el a mikotoxinszennyezés ellensúlyozására. *Bacillus subtilis* törzsek hatékonyan ellensúlyozták a penészes étrend toxikus hatásait (156). Egerekkel végzett kísérletben két probiotikus törzs, a *Lactobacillus bulgaricus* és a *Lactobacillus rhamnosus* jelentős védőhatást váltott ki az aflatoxin B₁ által kiváltott májkárosodás és a gyulladásos válasz ellen az NF-κB jelátviteli út aktiválásának szabályozásával (157, 158).

Számos természetes vegyület, vitaminok, provitaminok, karotinoidok, klorofill és származékai, fenolok, szelén, illetve szintetikus vegyületek, beleértve a butilezett hidroxianizolt és a butilált hidrox-toluolt, antioxidáns tulajdonságokkal rendelkeznek, amelyekről úgy gondolják, hogy hatékonyak a mikotoxikózis ellen. Az antioxidánsok szuperoxid anion scavenger képességük miatt védik a sejtmembránt a mikotoxinok által okozott sérüléssel szemben (159). A szőlőmagból származó proanthocianidin enyhítette az aflatoxin B₁ által kiváltott immunotoxicitást és oxidatív károsodásokat az NF-κB gátlásával és a Nrf2 jelátviteli út aktiválásával szárnyasokban (160). Fahéjolaj emulziós cseppek normalizálták a vizsgált májfunkciós paraméterek nagy részét, és javították a májszöveti képet fumonizin B1 és / vagy aflatoxin B1 kezelt patkányokban, antioxidáns tulajdonságaik és a jótékony bélbaktériumok növekedésének serkentése révén (161).

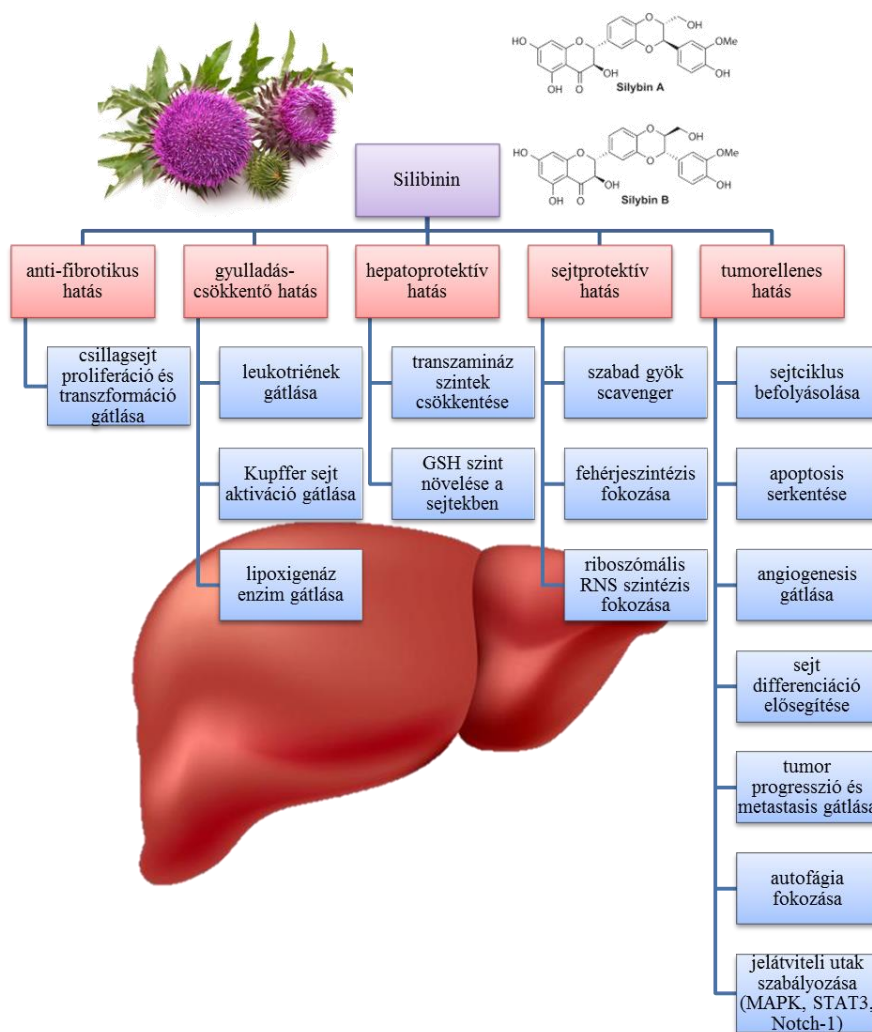
A humán mikotoxikózisok többsége szennyezett ételek fogyasztásából származik. Ugyanakkor a bőrrel való érintkezés és a spórák belélegzése szintén fontos expozíciós források. Amikor a kontaminált növényeket élelmiszerekké és takarmányokká dolgozzák fel, előfordulhat, hogy speciális vizsgálati berendezés nélkül nem észlelhetők. Fontos olyan stratégiák kidolgozása, amelyek biztosítják, hogy az ilyen „rejtett” mikotoxinok ne jelentsenek jelentős veszélyt az emberi egészségre. A fent részletezett, a tápláléklánc alsó szintjein megvalósuló, megelőző terápiás stratégiák elsődlegesek, mivel a humán, krónikus mikotoxikózisoknak nincs hatékony kezelése. Az emberi populációt a jelentős mikotoxinfogyasztástól az élelmiszerekre vonatkozó, szigorú, mikotoxinszintet ellenőrző rendeletek védik (68, 162).

1.4.3. Gyógynövények terápiás és toxikus szerepe krónikus májbetegekben

A gyógynövények világszerte fontos szerepet játszanak a krónikus betegségek komplementer terápiájaként. Idült májbetegségekben is számos gyógynövény, többek

között a *Silybum marianum* (máriatövis), a *Rosmarinus officinalis* (rozsmaring), a *Curcuma longa* (kurkuma), a *Salvia officinalis* (zsálya), a *Ginkgo biloba*, a *Camellia sinensis* (tea), a *Radix Scutellariae*, a *Scutellaria baicalensis* (tüskés gyökér) és a *Radix Paeoniae Alba*, valamint a *Paeonia lactiflora* (fehér bazsarózsa gyökér) áll a kutatások középpontjában (163, 164).

A leggyakrabban vizsgált máriatövis (*Silybum marianum*) kivonatokat évszázadok óta használják hepatoprotektív tulajdonságai miatt. A szilibinint, amely szilibint, izoszilibint, szilikristint, szilidianint és ezek 2,3-dehidroderivatívjait tartalmazza, a máriatövis flavanolignán típusú biológiailag aktív hatóanyagát széles körben tanulmányozták, hogy igazolják annak kedvező hatásait alkoholos és toxikus hepatitisben, nem alkoholos zsírmájbetegségben, cirrhosisban, ischaemiás károsodásokban, és vírusos hepatitisekben (165, 166). A szilibinin növeli az antioxidáns kapacitást, így védő hatással rendelkezik az oxidatív károsodásokkal szemben. A szilibinin csökkenti a májgyulladást és a fibrózist (167). A májvédő és antioxidáns tulajdonságot elsősorban a lipidek peroxidációjának gátlásával, a máj glutationszintjének növelésével, valamint a fehérjeszintézis fokozásával (az RNS polimeráz I aktivitás stimulálása) és az immunsejtek aktiválásával idézi elő (168). Kutatócsoportunk korábban részletesen vizsgálta a máriatövis szervezetre gyakorolt szerepét (165, 169). A szilibinin fő terápiás hatásait a 9. ábra foglalja össze.



9. ábra: A szilibinin lehetséges terápiás hatásai *Takke és mtsai.* nyomán (170)

A polifenolok azonban általában alacsony biológiai hozzáférhetőséggel rendelkeznek és túlzott enzimatis metabolizációs aktivitás miatt gyorsan kiürülnek a szervezetből. A polifenolos vegyületek nagy része a gyomor-bél traktus felső részében nem szívódik fel, hanem a bél alsóbb szakaszának flórája metabolizálja (171). Májsejtekben a szilibin mind fázis I. oxidáción, mind fázis II. konjugáción keresztül megy in vitro. A C-19 szilibin metoxicsoportját O-demetilezi a humán citokróm P450 (CYP) 2C8. A szilibin továbbá a C-7-OH és a C-20-OH csoportokban glükuronizálódik az 1A és 2B humán UDP-glükuronoziltranszferázok (UGT) által is (172).

A gyógynövények előnyös tulajdonságai mellett azonban a veszélyekre is fel kell hívni a figyelmet. Egyre népszerűbbé válnak a gyógynövénytartalmú étrend-kiegészítők. A

betegek úgy vélik, hogy ezek az alternatívák sokkal biztonságosabbak, hatékonyabbak és bármiféle komplikáció nélkül hatnak hosszú távon az egészségükre, így kezelőorvosukat gyakran nem tájékoztatják az alkalmazásukról. Az idült májbetegségben szenvedő betegek körülbelül 20%-a használ növényi terméket, gyakran a hagyományos gyógyszerelés mellett (173). Az aktuális aktív hatóanyag nem mindig ismert, a pontos összetétel változhat, peszticidekkel, antimikrobás szerekkel, mikotoxinokkal, nehézfémekkel (ólom, higany, arzén) szennyezettek lehetnek a termékek, nem szteroid gyulladáscsökkentőket vagy benzodiazepineket is tartalmazhatnak (174), ezért gyógyszeres kezelésük kapcsán nem kívánt hatások léphetnek fel. E készítmények túladagolása gyakran fokozza a gyulladós folyamatokat. A különböző gyógynövények lehetséges mellékhatásait a 3. táblázat mutatja be.

3. táblázat: Gyógynövények potenciális mellékhatásai *Adusumilli* és *mtsai*. nyomán (175)

Készítmény	Mellékhatás	Gyógyszerkölsönhatás
<i>Aloe vera</i>	hasi fájdalom, hasmenés, káliumvesztés	digoxin, thiazide diuretikumok
<i>Atropa belladonna</i> (csattanó maszlag)	vizeletretenció, székrekedés	
<i>Cascara sagrada</i> (kaszkarabokor)	cholestasis, portalis hypertonia, krónikus hepatitis	
<i>Larrea tridentata</i> (kreozotcserje levél)	májkárosodás	antikoagulánsok
<i>Symphytum officinale</i> (fekete nadálytő)	májkárosodás	
<i>Echinacea purpurea</i> (bíborlevelű kasvirág)	immunszuppresszió, allergiás reakció	
<i>Ephedra</i> (csikófark)	magas vérnyomás, arrhythmia	dekongesztánsok, halotán, MAO-gátlók
<i>Oenothera biennis</i> olaj (parlagi ligetszépe)	hasi diszkomfort, fejfájás	phenothiazinok
<i>Tanacetum parthenium</i> (őszi margitvirág)	fokozhatja a thrombocytá- aggregáció-gátlók hatásait	aspirin, antikoagulánsok

Készítmény	Mellékhatás	Gyógyszerkölsönhatás
<i>Allium sativum</i> (fokhagyma)	gátolja a vérlemezke-aggregációt, meghosszabbítja a vérzési és véralvadási időt, a fibrinolitikus aktivitást	aspirin, antikoagulánsok
<i>Teucrium chamaedrys</i> (sarlós gamandor)	májkárosodás	
<i>Zingiber officinale</i> (gyömbér)	choleretikus hatás	antikoagulánsok
<i>Panax ginseng</i> (ginzeng)	álmatlanság, magas vérnyomás, hasmenés, hypoglykaemia, thrombocyta-aggregáció gátlása	MAO gátlók, haldol, digoxin, kumarin, aspirin
<i>Ginkgo biloba</i>	haemostasis zavara	kumarin, thrombocyta-aggregáció gátlók
<i>Hydrastis canadensis</i> (kanadai aranygyökér)	leszorítja a bilirubint az albuminról	
<i>Humulus lupulus</i> (közönséges komló)	szedatív hatás	fokozza a szedatívumok hatását
<i>Lycopodium serratum</i> (Jin bu huan)	májkárosodás	antikoagulánsok
<i>Piper methysticum</i> (Kava)	szedatív hatás, orális és nyelvi diszkinézia, torticollis, megvonási reakciók	benzodiazepinek, szedatívumok, alkohol
<i>Glycyrrhiza glabra</i> (igazi édesgyökér)	pszeudohyperaldosteronismus, hypertonia, hypokalaemia, arrythmiák	digoxin
<i>Ephedra vulgaris</i> (Mahuang)	akut hepatitis	
<i>Viscum album</i> (fagyöngy)	májkárosodás	
<i>Mentha x piperita</i> (borsmenta)	choleretikus hatás	
<i>Mentha pulegium</i> olaj (csombormenta)	májkárosodás, veseelégtelenség	
<i>Hypericum perforatum</i> (közönséges orbáncfű)	hasi diszkomfort, szedáció	MAO-gátlók, antikolinerg szerek, ciklosporin, digoxin, indivavir, warfarin, szteroidok, kalciumcsatorna-blokkolók, benzodiazepinek
<i>Valeriana officinalis</i> (orvosi macskagyökér)	szedatív hatás, akut elvonási reakciók	fokozhatja az anesztetikumok nyugtató hatásait
<i>Pausinystalia johimbe</i> (johimbe)	magas vérnyomás	

A gyógynövények okozta májkárosodás klinikai képe változatos, leggyakrabban akut hepatitiszindrómát okoz. A kórisme felállítása kizárásos diagnózison alapul, speciális biomarker nem áll rendelkezésre. Emiatt különösen fontos a betegek és a klinikusok figyelmének felhívása a gyógynövény- és vitaminkészítményekkel kapcsolatban fellépő veszélyekre krónikus májbeteggek gondozása során (174).

2. Célkitűzések

Munkánk során a bél-máj tengely jelentőségét vizsgáltuk a krónikus májbetegségek patogenezisében, valamint kezelésében. Emellett új, nem invazív biomarkert, pontszámot, valamint módszert kerestünk a májkárosodás megítélésére, amely érdekében *in vitro* vizsgálatokat, állatkísérletet, illetve humán tanulmányokat is végeztünk.

1. Állatkísérlet során vizsgáltuk a mikotoxinnal szennyezett étrend májkárosító hatását, és a *Silybum marianum* hepatoprotektív gyógynövény komplex szerepét rutinlaboratóriumi, redox-homeosztázist jellemző és szövettani vizsgálatokkal.
2. Retrospektív tanulmányunkban, gyulladással járó bélbetegségben, colitis ulcerosában szenvedő betegeknél vizsgáltuk a nem invazív biomarkerként alkalmazható redox-paraméterek változásait.
3. Prospektív, kohorsz, humán vizsgálatban célul tűztük ki olyan megbízható jelzőmolekula, pontrendszer, vagy diagnosztikus algoritmus létrehozását és validálását, amely segítséget nyújtana a fibrosisstádium megítélésére, valamint lehetővé tenné a progresszió monitorozását különböző etiológiájú idült májbetegségben.
4. A redox-homeosztázist jelző markerekkel vizsgáltunk különböző, ökológiai és konvencionális gazdálkodásból származó joghurtmintákat (*in vitro*) abból a célból, hogy ki tudjuk választani a legmagasabb antioxidáns kapacitással rendelkező joghurtokat mind a hagyományosan előállított, mind a biojoghurtok közül humán tanulmányunkhoz.
5. Klinikai pilot study keretében vizsgáltunk egy bélflórát módosító táplálkozási faktor szerepét az NAFLD kiegészítő kezelésében. Különböző biomarkerekkel (rutinlaboratóriumi, immunbiokémiai, redox- és testösszetétel paraméterek)

tanulmányoztuk az ökológiai és a hagyományos módon előállított joghurtok hatását, a hatásuk között fennálló különbség lehetőségét.

6. Új, egyszerű, az oxidatív stresszt jelző protein karbonil csoportok meghatározására alkalmas fluorimetriás módszert kívántunk kidolgozni.

3. Módszerek

3.1. Mikotoxikózis, valamint a máriatövis protektív hatása a máj redox-homeosztázisára állatkísérletben

Tanulmányunkban tizennyolc fehér, magyar kacsát (életkor: 47 nap, átlagos testtömeg: 2288 g) vizsgáltunk. Az állatokat véletlenszerűen 3 csoportba (n = 6/csoport) osztottuk. Az első csoport normál takarmányt, a második csoport mikotoxinnal szennyezett kukoricát kapott (4,9 mg/kg DON és 0,66 mg/kg F-2 toxin). A harmadik csoportba tartozó takarmányhoz, amely mikotoxint tartalmazott a fentiekkel megegyező koncentrációban, máriatövis préselmenyt (*Silybum marianum*) (0,5%) (Safimpex Kft., Vác, Magyarország) adtunk. A kacsák étrendjét az 4. táblázat tartalmazza. A 47. napon a kacsákat terminálisan széndioxiddal érzéstelenítettük.

A kacsamájakat előkészítettük további vizsgálatok elvégzéséhez. A májakat jeges hűtés mellett aprítás mellett vértelenre mostuk izotóniás nátrium-klorid-oldattal, majd Potter-Elvehjem készülékben homogenizáltuk.

4. táblázat: Kacsák kísérleti étrendje

Étrend	DON	ZEA	Máriatövis préselmeny
1. csoport – normál étrend	-	-	-
2. csoport – mikotoxinnal szennyezett étrend	4,9 mg/kg	0,66 mg/kg	-
3. csoport – mikotoxinnal szennyezett étrend + máriatövis préselmeny	4,9 mg/kg	0,66 mg/kg	0,50%

3.2. Humán tanulmányok

3.2.1. Bél-máj tengely összefüggéseit vizsgáló retrospektív tanulmány gyulladós

bélbetegségben - betegek beválogatási kritériumai

Retrospektív tanulmányunkban 100 mérsékelt aktivitású (Montreali klasszifikáció S2) colitis ulcerosában szenvedő (ffi=46, nő=54), 2000-2004 közötti időszakban kezelt betegek (átlagéletkor: $42,5 \pm 12,7$ év) adatait értékeltük újra a bél-máj tengely szempontjából. Az adatokat korban illesztett egészséges kontrollok (N=42) (ffi=17, nő=25) (átlagéletkor: $40,2 \pm 13,5$ év) eredményeivel hasonlítottuk össze. A nemek között nem tettünk különbséget, mert kutatócsoportunk korábbi vizsgálatai gyulladós bélbeteg férfiak és nők között a redox-homeosztázisban nem találtak szignifikáns eltéréseket. A betegeknél anamnézist, kóros májenzimértékeknel vírusszerológiai, immun-, vas- és rézanyagcsere markerek eredményét figyelembe véve a májkárosodás egyéb okai (vírushepatitis, autoimmun hepatitis, PSC, PBC, Wilson-kór, hemochromatosis és gyógyszer-indukált májbetegség) kizárhatóak voltak. A betegek 5-aminoszalicilsav és/vagy azathioprin kezelést kaptak, elemi diéta mellett, ugyanakkor a vizsgálat idején kortikoszteroid, egyéb immunmoduláns vagy biológiai kezelésben nem részesültek. A betegek vérmintáinak rutinlaboratóriumi, valamint redox-homeosztázist jelző paramétereit értékeltük ki, epesavkoncentráció-meghatározás mellett (176).

3.2.2. Nem invazív pontrendszerek szenzitivitása és specificitása krónikus

májbetegségben szenvedőknél - betegek beválogatási kritériumai

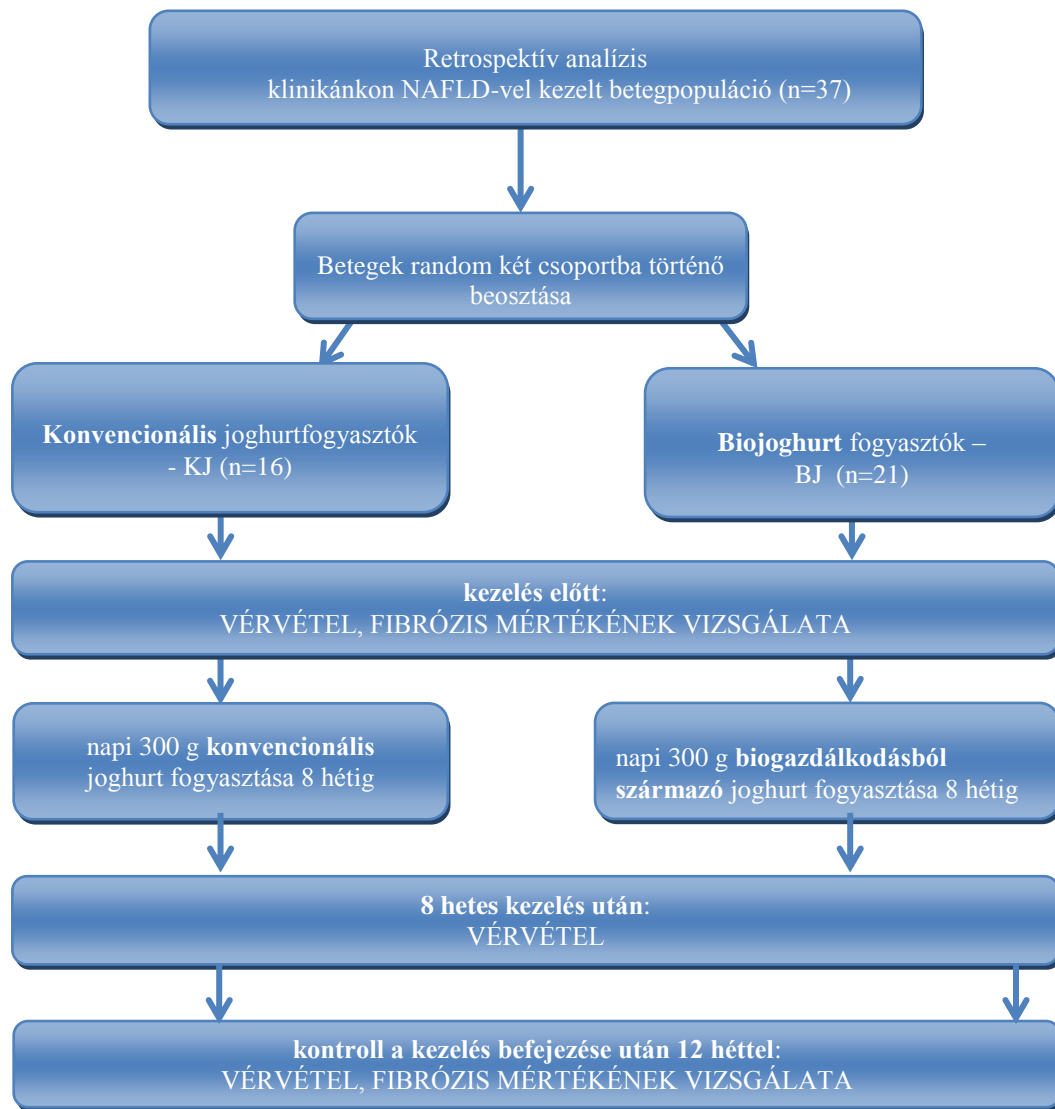
A vizsgálatba, tájékozott beleegyezést követően, 88 beteget vontunk be (férfi = 36, nő = 52, átlagéletkor = $49,1 \pm 14,7$ év), akik különböző etiológiájú krónikus májbetegségben szenvedtek (HCV = 10, HBV = 6, HCV / HBV = 1, NAFLD / NASH = 41, ALD = 19, AIH = 11). A betegek a Semmelweis Egyetem hepatológiai járóbeteg ambulanciáján rendszeres gondozásban részesültek. A betegek eltérő gyógyszeres kezelését és egyéb komorbiditásait (dohányzás, alkoholfogyasztás, cukorbetegség, hypothyreosis stb.) is feljegyeztük. A betegeknél rutinlaboratóriumi, redox-homeosztázist jelző paraméterek, citokinszintek kerültek meghatározásra, valamint shear wave elasztográfiás mérést végeztünk.

3.2.3. Joghurtfogyasztás vizsgálata NAFLD-ben szenvedő betegeknél klinikai pilot study keretén belül - betegek beválogatási kritériumai

Vizsgálatunkba 37 (férfi = 21, nő = 16, életkor = $51,73 \pm 11,82$ év) NAFLD-ben szenvedő beteget vontunk be (testsúly= $89, \pm 15,5$ kg, BMI= $31,61 \pm 5,4$ kg/m²) tájékozott beleegyezést követően. A vizsgálat kezdetén mind a 37 betegnél kóros májenzimszinteket mértünk, ultrahangvizsgálattal zsírmáj ábrázolódt, és hepatológiai gondozás alatt álltak.

Az összes egyéb lehetséges etiológiát, mint vírushepatitis, autoimmun hepatitis, PSC, PBC, Wilson-kór, hemochromatosis és gyógyszer-indukált májbetegség kizártunk. A beválasztott betegek egyikénél sem volt alkoholabúzus a kórtörténetben, és egyikük sem fogyasztott napi 20 g-nál több alkoholt (férfiaknál <30 g, nőknél <20 g definíció szerint). A betegek egyikében sem volt jól definiált hereditár betegségre (Dubin-Johnson-szindróma, Rotor szindróma) vonatkozóan pozitív családi anamnézis. A társbetegségek közül a betegek 46%-a hypertóniában, 8%-a 2-es típusú diabetes mellitusban, 17%-a dyslipidaemiában szenvedett. A biojoghurtot fogyasztók (n=21fő) közül hatan részesültek antihipertenzív, illetve 1 fő orális antidiabetikus kezelésben, valamint négyen szedtek tartósan máriatövis-tartalmú készítményt. A konvencionális joghurtot fogyasztóknál (n=16fő) kilencen antihipertenzív kezelést, ketten orális antidiabetikumot, valamint ketten máriatövis készítményt alkalmaztak. A betegeknél rutinlaboratóriumi, redox-homeosztázist jelző paraméterek, citokinszintek kerültek meghatározásra, valamint shear wave elasztográfiás mérést végeztünk.

A betegeket véletlenszerűen két csoportra osztottuk. Az első csoport (n=21fő) ökológiai eredetű joghurtot; a második csoport hagyományos joghurtot (n=16fő) fogyasztott. A vizsgálat során mindkét csoportban naponta 300 g joghurtot fogyasztottak 8 héten keresztül. A betegek a joghurt minőségének fenntartása érdekében a termékeket hűtőszekrényben (+ 4 ° C) tárolták. A joghurtokat eredeti formájukban fogyasztották, valamilyen ízesítőszerrel (só, cukor, gyümölcs, lekvár, magvak stb.) történő dúsítása nem volt engedélyezett. A betegek a továbbiakban életmódjukon, étkezési szokásaikon, valamint gyógyszerelésükön nem változtattak. A résztvevők vénás vérvétele háromszor történt a vizsgálat időtartama alatt (a joghurt fogyasztása előtt, a 8-hetes joghurtfogyasztás végén és 12 héttel a befejezést követően). A vizsgálat menetét a 10. ábra mutatja be.



10. ábra: Klinikai pilot study lefolyása (KJ=konvencionális joghurt, BJ=biojoghurt)

3.3. Mintaelőkészítések

3.3.1. Vérminták előkészítése a speciális elemzésekhez

A vérmintákat 3,2%-os nátrium-citrát oldatos Vacuette® csövekben (Greiner Bio-One, USA) vettük. A vérvétel után a mintákat 4 °C-on tároltuk, és ugyanazon a napon szeparáltuk. A vérplazmát elválasztottuk az eritrociták frakciójától centrifugálással (2500 fordulat/perc sebességgel 10 percig), és a buffy coat-ot eltávolítottuk. A vérszeparálás után a plazmát -80 °C-on tároltuk. A szükséges vizsgálatokat 6 hónapon belül elvégeztük.

3.3.2. Kacsamáj-homogenizátumok fehérjetartalmának meghatározása

A máj-homogenizátum fehérjetartalmát Lowry módszerrel 10 mg/ml-re állítottuk be (177). A további mérésekig -20 °C-on légmentesen tároltuk.

3.3.3. Ökológiai és konvencionális joghurtminták előkészítése speciális vizsgálatokhoz

Hat különböző, kiskereskedelmi forgalomban kapható, ízesítés nélküli joghurtot (N=18 doboz) vizsgáltunk, amelyekből 3 ún. bio- (n=9 doboz), 3 hagyományosan (n=9 doboz) előállított probiotikus joghurt volt. A joghurtok beltartalmi összetétele megegyezett (energia: 259 kJ/62 kcal; össz-zsirtartalom: 3,6g, ezen belül telített zsírsavak: 2,4g; szénhidrát: 4,0g, ezen belül cukrok: 4,0g; fehérje: 3,4g; só: 0,10g). A joghurtmintákat a hűtési lánc megszakítása nélkül homogenizáltuk, majd bidesztillált vízzel térfogatának tízszeresére hígítottuk.

3.4. Shear wave elasztográfiás vizsgálat

A májfibrózis mértékét 2D shear wave elasztográfiás módszerrel határoztuk meg. A máj tömörségét (LS) a rugalmasság medián értékeivel mértük Toshiba ultrahangkészülékkel (Toshiba Aplio 500, Toshiba Medical Systems, Japán). A vizsgálatok éhgyomorral történtek hanyatt fekvő pozícióban, konvex vizsgálófej használatával, jobb oldali intercostalis nézetből. A beteget néhány másodperces légzésvisszatartásra kértük a mérések elvégzése közben a mozgási műtermékek elkerülése érdekében. A máj jobb lebenyében egy 1,5 x 2 cm nagyságú, trapéz alakú mintavételi boxot helyeztünk el a májtoktól legalább 1 cm-re, a nagyobb érstruktúrák elkerülésével. A sebesség-térkép és

a propagációs térkép alapján egy 1 cm átmérőjű, kör alakú ROI-t jelöltünk ki a mintavételi boxon belül. Mindegyik betegnél 5 érvényes mérést végeztünk, amelyek után kiszámítottuk a medián értéket, és az eredményeket kPa-ban fejeztük ki. A humán tanulmányokban csak azokat az LS méréseket vettük figyelembe, amelyeknek interkvartilis tartománya (IQR) kevesebb, mint 30%. A fibrosis-stádiumok meghatározáshoz az alábbi cut-off értékeket alkalmaztuk a gyártó ajánlása alapján: F0-F1: <7kpa, F2: >7kPa, F3: >9,5kPa, F4: >12kPa.

3.5. Laboratóriumi vizsgálatok

3.5.1. Rutinlaboratóriumi vizsgálatok

A szokásos kémiai vizsgálatokat vénás vérmintából végeztük a Semmelweis Egyetem Központi Laboratóriumában. A következő paramétereket mértük: teljes vérkép, vércukorszint, összkoleszterin, HDL- és LDL-koleszterin, triglicerid, összbilirubin, direkt bilirubin, albumin, összfehérje, GGT, GOT, GPT, alkalikus foszfatáz, kreatinin, karbamid, húgysav, kálium, nátrium, foszfor, kalcium, vas, transferrin, ferritin, cink, réz, prothrombin, INR, D-vitamin. A méréseket az alábbi analizátorokkal végeztük: Sysmex XN 1000 hematológiai analizátor, AU 5800 kémiai analizátor, (Beckman Coulter, USA), Innovin, Dade (R) BCS XP analizátor (Siemens, Németország), Liason XL automata analizátor (Diasorin, Olaszország).

3.5.2. Nem invazív pontrendszerek

A rutin laboratóriumi paraméterek felhasználásával a következő szerológiai pontszámokat számítottuk:

AAR = AST / ALT (U/l)	(178)
APRI = [(AST / AST _{normál tartomány felső határa}) × 100] / vérlemezkeszám (10 ⁹ /l)	(179)
GAPRI = (GGT / GGT _{normál tartomány felső határa} / vérlemezkeszám) × 100	(179)
FiB-4 = [Életkor (év) × AST (U/l)] / [vérlemezkeszám (10 ⁹ /l) × √ALT (U/l)]	(180)
GUCI = AST (U/l) × INR × 100 / vérlemezkeszám (× 10 ⁹ /l)	(181)
Fibrosis index = 8,0 - 0,01 × vérlemezkeszám (10 ⁹ /l) - Albumin (g/l)	(182)
FRT = 3,31 + életkor × 0,09 + APRI × 1,5 + ALP (U / L) × 0,4 - albumin (g/l) × 0,14 (30)	

3.5.3. Citokinek meghatározása

Négy citokin, a TNF-alfa, az IL-6, a leptin és az adiponektin plazmaszintjét enzimkapcsolt immunszorbens vizsgálati (ELISA) kitékkel (Sigma-Aldrich®) mértük a gyártó utasításai szerint. Az abszorbanciaszintet 450 nm hullámhosszon olvastuk le Microplate Reader-rel (Statfax 2000, Awareness Technology, Inc.).

3.5.4. Vörösvértest-hemolizátumok hemoglobintartalmának meghatározása

A vörösvértest-hemolizátumok hemoglobintartalmát cianhemoglobin formában Hemisol standard és Hemisol-reagens segítségével határoztuk meg (Human Oltóanyagtermelő és Gyógyszergyártó Rt. Gödöllő). A vörösvértest-hemolizátumok hemoglobintartalmát 10 mg/ml-re állítottuk be fiziológiás sóoldattal.

A spektrofotometriás vizsgálatokhoz Jasco V-550 UV-VIS spektrofotométer állt rendelkezésre.

3.5.5. Redox homeosztázist jelző markerek meghatározása joghurt-, humán vér- illetve kacsák májmintáiban

3.5.5.1. Szabad szulfhidrilcsoport meghatározása

A szabad szulfhidrilcsoportot Ellman és Lysko módszerével (183) határoztuk meg 5,5'-ditiobis-nitro-benzoésav reagenssel Na-foszfát pufferben (pH 7,4) 512 nm-en. Standardként redukált glutationt használtunk.

3.5.5.2. Hidrogén-donáló képesség meghatározása

A H-donor-aktivitást Blois módszerének kis módosítása (184) alapján 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil stabil gyök jelenlétében mértük 517 nm-en spektrofotometriásan. A DPPH stabil szabad gyök. A vegyület H-donor molekulák jelenlétében H-t vesz fel, és így abszorbanciája csökken. A vizsgálathoz 50 µl plazmát, hígított joghurtmintát vagy májhomogenizátumot használtunk, és térfogatát 950 µl bidesztillált vízzel kiegészítettük 1 ml-re, majd 1 ml metanolt adtunk hozzá. Ehhez 500 µl metanolos DPPH-oldatot (9 mg DPPH 100 ml metanolban oldva) adtunk, és alapos összekeverés után a reakcióelegyet 30 percig 37 °C-on inkubáltuk. 10 perces centrifugálást (3000 rpm) követően olvastuk le az abszorbanciát 517 nm-en metanol vakkal szemben. Az eredményt gátlás %-ban adtuk meg. $Gátlás \% = [Abs(kontroll) - Abs(minta)] / Abs(kontroll) \times 100$.

3.5.5.3. Indukált szabadgyök-szint meghatározása

A kemilumineszcenciás mérésnél csekély mennyiségű humán plazmából (0,15 ml), vörösvértestből (0,05 ml), joghurtmintából (0,05ml) illetve májhomogenizátumból (0,05ml) történt a vizsgálat. A plazmát és vörösvértestet a 3.4.1. fejezet alatt részletezett módon szeparáltuk. A kémiai reakció lényegében a $\text{H}_2\text{O}_2/\text{OH}^-$ - mikroperoxidáz - luminol rendszer (pH 10,5) gátlása. A $\text{H}_2\text{O}_2/\text{OH}^-$ - mikroperoxidáz - luminol rendszer lúgos pH-n fényt bocsát ki, mert a vaskomplex hatására a H_2O_2 -ből $\cdot\text{OH}$ gyök keletkezik a Fenton-reakcióban, és a gyök a luminolt gerjeszti. A luminol aminosavak stabil anionná alakul át és hv kvantum (420 nm) távozik. Ha a rendszerhez gyökfogó molekulákat tartalmazó mintákat adunk, akkor ez a kémiai (kemilumineszcencia) reakció gátlódni fog. A méréseket Berthold Lumat 9501 készülékkel végeztük. Az eredményeket relative light unit (RLU) egységben adtuk meg (184).

3.5.5.4. Polifenoltartalom meghatározása joghurtmintákban

A joghurtminták polifenol-tartalmát Singleton és Rossi módszere szerint mértük (185). A minták abszorbanciáját 760 nm-en határoztuk meg Hitachi U-2000 spektrofotométerrel. Az adatokat az egyes minták három párhuzamos mérésének átlagával nyertük. Galluszsavat alkalmaztunk referenciaként. Az eredményeket galluszsav-ekvivalensben határoztuk meg.

3.5.5.5. Redukálóképesség meghatározása kacsamájmintákban

A redukálóképességet Oyaizu módszerével mértük a májmintákban (186). Az abszorbanciát 700 nm-en határoztuk meg, és a redukálóképességet összehasonlítottuk az aszkorbinsav standard görbéjével. A minta növekvő abszorbanciája az emelkedő redukálóképességet jelzi, amelyet mmol/l aszkorbinsav-egységben fejeztük ki.

3.5.5.6. Lipidperoxidációs markerek meghatározása kacsamájmintákban

Az indukált malondialdehid (MDA) szinteket spektrofotometriásan mértük a májhomogenizátumokban módosított Ottolenghi módszerével (187). A májmintákat (50 μl) inkubáló keverékhez adtuk, amely Tris-maleát puffert (500 mM, 6,8 pH), kálium-hidrogén-foszfátot (50 mM), vas-kloridot (500 μM), aszkorbinsavat (5×10^{-3} M) és kétszer desztillált vizet tartalmazott 500 μl végtérfogatban. A 37 °C-on, 30 percig tartó, vízfürdőben végzett inkubálás után 400 μl felülúszó mintát adtunk 2 ml tiobarbitursav-

reagenshez (30% triklór-ecetsav-oldat, 1 N sósav és 1,875 g tiobarbitursav). A mintákat 15 percig 100 °C-on reagáltattuk, majd ezt követően jeges hűtés mellett az elegyet 10 percig 2500 fordulat/perc sebességgel centrifugáltuk. Az MDA-tartalmat a felülúszóból mértük 535 nm-en, és a mért abszorbancia alapján a koncentrációt nmol/mg-ban fejeztük ki. A moláris extinkciós koefficiens: $156 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

A májmintákban a dién-konjugátumok koncentrációját izooktánnal (1 g minta/5 ml izooktán) történő extrakcióval határoztuk meg AOAC leírásának megfelelően (188). Szobahőmérsékleten 24 órás reakcióidő után 232 nm-en mértük az abszorbanciát.

3.5.5.7. Protein-karbonil meghatározás

A vérminták szeparálása után, a vérplazma mintákat 10x hígítottuk PBS-sel (7,2 pH). Minden biológiai anyag esetében meghatároztuk a teljes fehérjekoncentrációt. A DNHP módszer során fehérje-karbonil-adduktok jönnek létre, amelyek stabil dinitrofenil-hidrazon terméket képeznek. A protein-karbonil tartalmat kittel (Sigma-Aldrich®) mértük a gyártó utasításai szerint. Az abszorbanciát 375 nm-en spektrofotométerrel detektáltuk.

Az NBDH (7-hidrazino-4-nitrobenzo-2,1,3-oxadiazol) módszer a karbonilcsoportokkal való reakcióján alapul, a hidrazonképződés során erősen fluoreszcens termékek alakulnak ki. A hígított mintákhoz (100 μ l) 100 μ l NBDH oldatot (10 mM) adtunk, és a fluoreszcenciát 15 perc után Jasco FP 6300 fluoriméteren (Japán) mértük. Az így kapott eredményeket a standard DNPH (2,4-dinitrofenol-hidrazin) (10mM) módszerrel kimutatott protein-karbonil mennyiséghez hasonlítottuk. Belső standarként hidrogénperoxiddal (250 μ l) és microperoxidázzal (250 μ l) oxidált bovine serum albumint (500 μ l, 10mg/ml) használtunk (189).

3.6. Egyéb vizsgálatok

3.6.1. Szövetteni vizsgálat

A szövetteni vizsgálathoz a kacsamájmintákat 10% pufferolt formaldehid oldatban fixáltuk és paraffinba ágyasztuk. 5 mikrométer vastag metszeteket hematoxilin-eozinnal festettük. A szöveti morfológiát fénymikroszkóppal figyeltük meg. Az összesített szövetteni pontszámot az érintett állatok májában észlelt szövetteni elváltozások (vakuoláris degeneráció, magányos májsejt-elhalást, necroticus sejtelhalás, gyulladásoos beszűrség, fibrosis) alapján számítottuk. A felsorolt elváltozásokat állatonként jellemeztük (1 pont = enyhe, 2 pont = közepes, 3 pont = nagyfokú elváltozás), majd a kapott értéket összeadtuk az adott csoportban.

3.6.2. Fémelemanalízis

A kacsamáj-, joghurt- valamint a humán vérmintákat 5 ml HNO₃ (65%), 1 ml HCl (37%) és 4 ml H₂O₂ (30%) keverékében roncsoltuk 200 °C-on, nyílt rendszerben

(óraüvegekkel letakart főzőpoharakban). A minták lehütése után 10 ml-re hígítottuk a mintákat nagy tisztaságú vízzel (18,5 MΩ).

A fémelemtartalom meghatározáshoz ICP standardokat (CPAchem; Stara Zagora, Bulgária) használtunk, amelyeket ugyanabban a mátrixban készítettünk, mint a mintákat. A méréseket Spectro Genesis szimultán ICP – OES spektrométerrel és CCD detektor rendszerrel (Kleve, Németország) végeztük. Egyes fémelemeket (króm, szelén) a humán mintákban induktív csatolású plazma tömegspektrometriával (iCAP Q, ICP-MS) (Thermo Fisher Scientific, USA) is megvizsgáltunk. A fémelemtartalmat ppm-ben (parts per million) adtuk meg.

3.6.3. Testösszetétel-mérés

A klinikai pilot study-ba bevont betegek testösszetételét bioelektromos impedancia elvén alapuló módszer segítségével háromszor mértük (joghurtfogyasztás előtt, a 8-hetes joghurtfogyasztás befejezésekor, és 12 héttel a joghurtfogyasztás befejezése után). Meghatároztuk a teljes testvíz-, a fehérje-, az ásványianyag-tartalmat, a testzsír- és a vázizomtömeget, a BMI-t, a testzsírszázalékot, a visceralis zsírt, az alapanyagcserét, a derék-csípő arányt, és a testsejt-tömeget InBody, (USA) készülékkel (190).

3.7. Anyagok

A felhasznált reagensek, reagens-készletek és diagnosztikai készletek beszerzése magyarországi kirendeltségeken keresztül történt. A teljes antioxidáns státus (TAS), a szuperoxid-dismutáz (SOD) és a glutation-peroxidáz (GSHPx) szintjét Randox kitekkel határoztuk meg. Randox: RANSEL (RS505), RANSOD (SD125), TAS (NX2332), Roche: AST (IFCC) (11876848), ALT (IFCC) (11876805), GGT (liquid) (12016788), ALP opt. (11877348), Radelkis (Budapest): pH-oldatok, Diagnosticum Rt. epesavkit (45311). A máriatövis préselményt (*Silybum marianum*) a Safimpex Kft.-től vásároltuk (Vác).

Az ökológiai (bio)joghurtokat a Kärntnermilchtől (reg.Gen.m.b.H, Ausztria), a hagyományos joghurtokat a Sole-Mizo Zrt.-től szereztük be. TNF- α (RAB0776), IL-6 (RAB0306), leptin (RAB0333), adiponektin (RAB0005), protein-karbonil (MAK094) kitek, 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil, hidrogén-peroxid, luminol, mikroperoxidáz a Sigma-Aldrich-től (St. Luis, USA) származik. A standard oldatokat, salétomsavat és sósavat

valamint a fel nem sorolt analitikai tisztaságú vegyületeket a Reanal-tól (Budapest) vásároltuk.

3.8. Engedélyek

A Semmelweis Egyetem Tudományos és Kutatási Regionális és Intézményi Bizottsága jóváhagyta a Helsinkii nyilatkozat szerint elvégzett humán tanulmányokat. TUKEB engedélyek száma: 24/1996 (2005-ben megújítva), 13/2016, 145/2016. IKEB 3944/2004.

Az összes, állatokkal történő eljárás összhangban volt az állatok védelmével és gondos kezelésével kapcsolatos (40/2013. (II.14.) Magyar kormányrendelettel, és az állatkísérletet az Intézményi Állatjóléti Bizottság hagyta jóvá.

3.9. Statisztikai analízis

Az eredmények statisztikai kiszámításához Statistica 13.2 szoftvercsomagot (StatSoft Inc., Tulsa, USA) használtunk. A változók eloszlásának normalitását Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors és Shapiro-Wilks teszttel ellenőriztük. Az adatok statisztikai értékelését Student-féle t-teszttel, egyirányú ANOVA LSD post hoc tesztjével és a Kruskal-Wallis teszt után végzett többszörös összehasonlítással végeztük. Az összes tesztben a statisztikai szignifikancia szintjét $p < 0,05$ -re állítottuk.

4. Eredmények

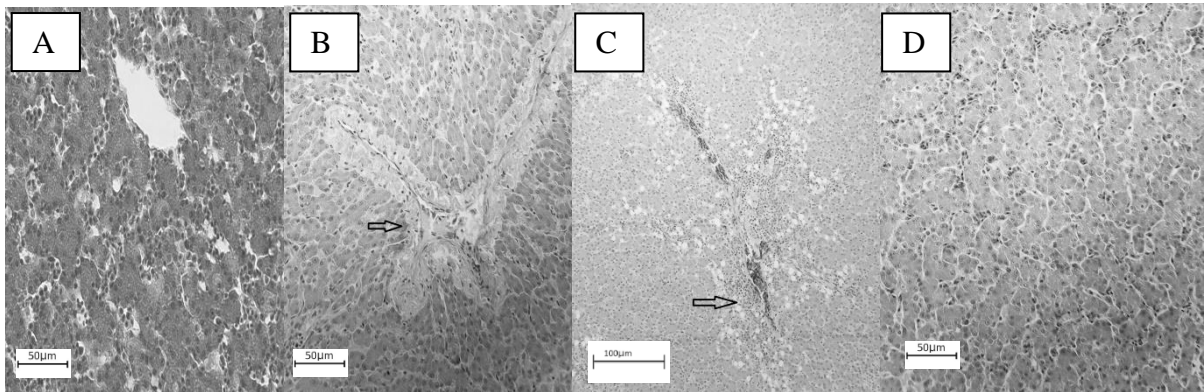
Munkánk során vizsgáltuk a bél-máj tengely jelentőségét a tápláléklánc szintjein. Vizsgáltuk az elfogyasztott, egészségkárosító mikotoxinok májkárosítását, valamint egy természetes antioxidáns készítmény esetleges védő szerepét, annak mechanizmusát. Retrospektíven tanulmányoztuk a redox-homeostasis változásait gyulladásoos bélbetegekben, valamint ezen biomarkerek értékét tovább elemeztük különböző kórokú krónikus májbetegségben, illetve progressziója során. Emellett bélflórát módosító kezelés hatását vizsgáltuk NAFLD-ben szenvedő betegeknél. Végül új, nem invazív biomarkert, pontszámot, valamint módszert kerestünk a májkárosodás megítélés céljából.

4.1. Mikotoxikózis, valamint máriatövis protektív hatása a máj redox-homeosztázisára állatkísérletben

Állatkísérlet során vizsgáltuk a mikotoxinok májkárosító hatását a táplálékláncban, és a *Silybum marianum* hepatoprotektív gyógynövény szerepét rutinlaboratóriumi, a redox homeostasis jellemző és szövettani vizsgálatokkal, hogy alátámasszuk a bél-máj tengely összefüggését. Eredményeinkről a *Toxicon* folyóiratban számoltunk be (162).

4.1.1. Szövettani vizsgálat

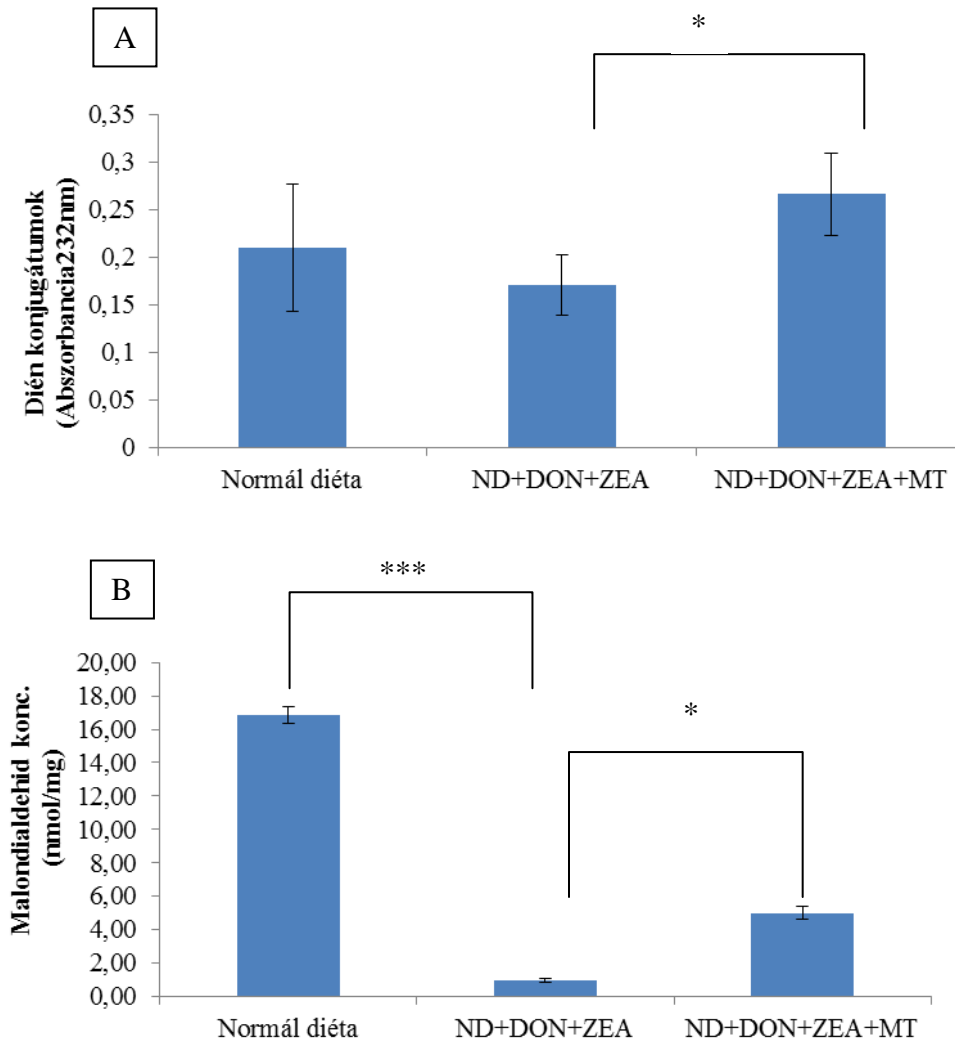
A kacsák májkárosodásának mértékét szövettani vizsgálattal értékeltük (11. ábra). A mikotoxinnal szennyezett étrendet kapó csoport májmintáinak szövettani vizsgálata során a hepatocyták citoplazmájának vakuoláris degenerációját, magányos májsejt-elhalást, valamint a mononukleáris fagocitarendszer egy-egy sejtjének nekrotikus sejthalálát találtuk. Összesített szövettani pontszám: 13. Egyes helyeken limfocitás és histiocytás intersticiális beszűrődéseket (B kép, nyíl) és enyhe intersticiális fibrosist (C kép, nyíl) is megfigyeltünk. A máriatövissel is kezelt csoportban a vakouláris degeneráció közepes fokú volt. A szövettani pontszám összesítve 10. Ezek a szövettani változások egyáltalán nem fordultak elő a csak normál, nem szennyezett tápot fogyasztó kontrollcsoportban (1.csoport).



11. ábra: Kacsamájminták hematoxilinnel és eozinnal festett metszetei (A) Normál májszekció (1.csoport) 400x nagyítás, lépték: 50µm; A mikotoxinnal kezelt kacsák (2. csoport) (B, C) májmetszetei, 400x és 200x nagyítás; (D) A máriatövissel kezelt kacsák (3.csoport) májmintája, 400-szoros nagyítás

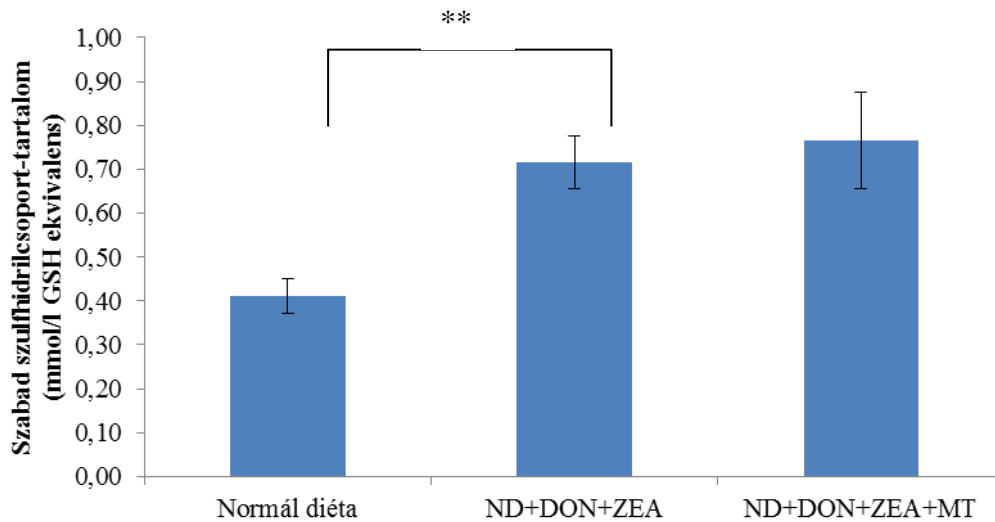
4.1.2. Redox paraméterek vizsgálata májhomogenizátumban

A DON és F-2 toxinnal szennyezett táp fogyasztása csökkentette a malondialdehid (MDA) és a dién konjugátum (DC) koncentrációját a kacsamáj-homogenizátumban (2.csoport) a normál diétát fogyasztó csoporthoz (1.csoport) képest. A máriatövissel kiegészített tápot fogyasztó állatokban (3.csoport) mind a DC, mind az MDA szint magasabb volt a DON és F2 szennyezett étrendhez (2.csoport) képest, és hasonló volt a normál étrendet fogyasztó állatokéval (1.csoport). DC koncentrációk között szignifikáns különbséget ($p < 0,05$) mutattunk ki a mikotoxinnal szennyezett ($0,17 \pm 0,03$) (ND+DON+ZEA, 2.csoport) és a máriatövissel kiegészített diétájú (ND+DON+ZEA+MT) harmadik csoport ($0,27 \pm 0,04$) között. A normál étrendet fogyasztók (1. csoport) ($16,86 \pm 0,49$) és a mikotoxinnal szennyezett, második csoport ($0,94 \pm 0,15$) között szignifikáns különbség ($p < 0,001$) volt az MDA tekintetében (12. ábra).



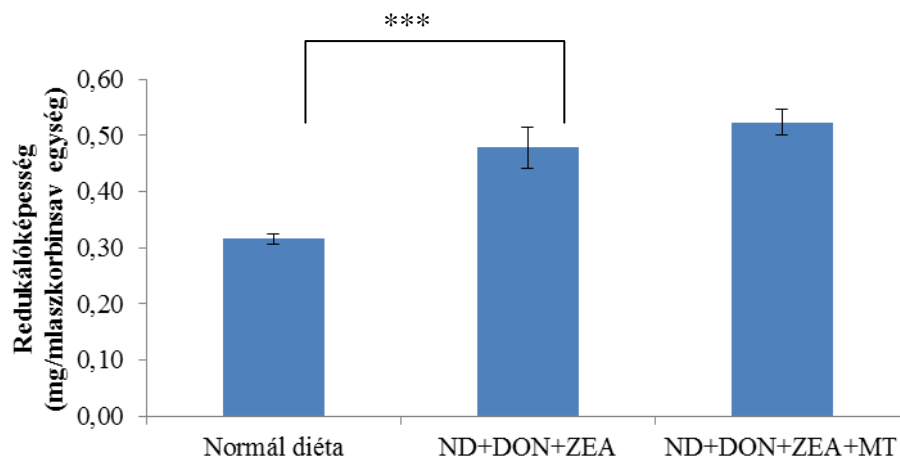
12. ábra: A lipidperoxidációs markerek, a dién-konjugátumok (A) és a malondialdehid (B) változása (ND = normál diéta, DON = dezoxinivalenol, ZEA = zearalenon, MT = máraitövis préselvény, átlag \pm SD, * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$)

A szabad szulfhidril tartalom szignifikánsan megemelkedett ($p < 0,005$) a mikotoxinnal szennyezett tápot fogyasztó 2. csoportban ($0,72 \pm 0,06$), és tovább emelkedett a máraitövissel kezelt csoportban (3. csoport) ($0,77 \pm 0,11$) a normál étrendű csoporthoz (1. csoport) képest ($0,41 \pm 0,04$) (13. ábra).



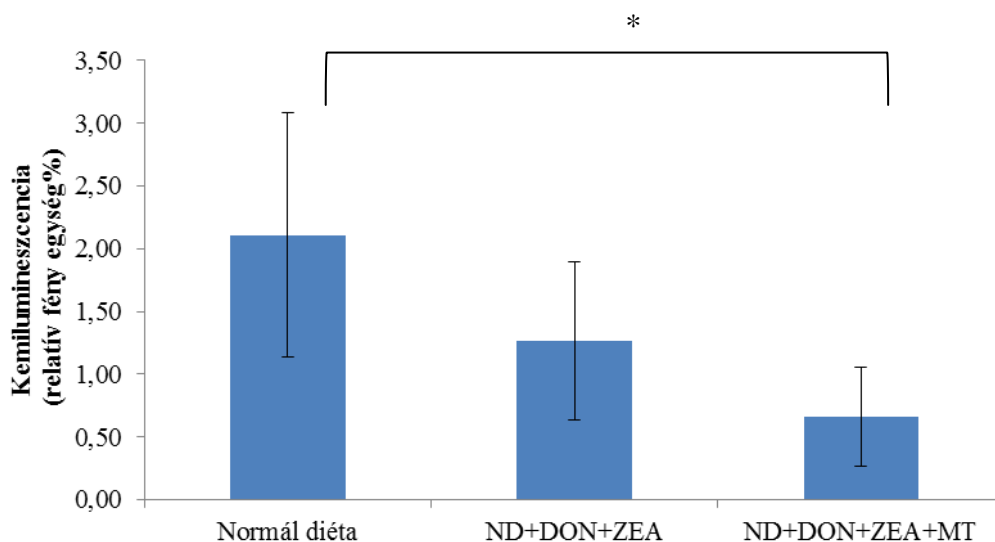
13. ábra: Szabad szulfhidrilcsoport-tartalom a kacsamájmintákban (ND = normál diéta, DON = dezoxinivalenol, ZEA = zearalenon, MT = máriatövis préselvény, átlag \pm SD, ** $p < 0,005$)

A redukálóképesség megemelkedett a kezelt két (2. és 3.) csoportban a normál étrendet fogyasztó állatokhoz (1.) képest, a máriatövis-kiegészítés tovább fokozta a redukálóképességet a májszövetben. (14. ábra)



14. ábra: Redukálóképesség kacsamájmintákban (ND = normál diéta, DON = dezoxinivalenol, ZEA = zearalenon, MT = máriatövis préselvény, átlag \pm SD, *** $p < 0,001$)

A kemilumineszcencián alapuló mérés gyökfogó kapacitás növekedést mutatott a két kezelt (2. és 3.) csoportban a normál étrendet fogyasztó állatokhoz (1.) képest ($2,11 \pm 0,97$). A gyökfogó kapacitás növekedését a fényintenzitás csökkenése jelzi. Ez a hatás azonban csak az első és a máriatövis is fogyasztó (3.) csoport között volt szignifikáns ($0,66 \pm 0,39$) ($p < 0,05$). (15. ábra)



15. ábra: Indukált szabadgyök-szint változása kacsamájmintákban (ND = normál diéta, DON = dezoxinivalenol, ZEA = zearalenon, MT = máriatövis préselvény, átlag \pm SD, * $p < 0,05$)

4.1.3. Fémelem-analízis teljes májszövetben

A fémelem-analízis során emelkedett alumínium- ($0,71 \pm 0,45$ ppm), kalcium- ($24,64 \pm 6,33$ ppm), réz- ($38,30 \pm 11,25$ ppm) és vasszinteket ($117,48 \pm 34,78$ ppm) észleltünk mindkét kezelt (2. és 3.) csoportban. A magnézium ($48,35 \pm 10,85$ ppm), a mangán ($1,45 \pm 0,39$ ppm), a foszfor ($1137,99 \pm 174,63$ ppm), a kén ($627,72 \pm 138,80$ ppm) és a cink ($16,63 \pm 2,14$ ppm) koncentrációja csökkent a normál étrendet fogyasztó állatokhoz (1.csoport) képest ($p < 0,001$). (5. táblázat)

5. táblázat: Fémek-koncentrációk kacsamájmintákban (átlag ± SD, ns = nem szignifikáns, !=1.vs.2. csoport, #=1.vs.3. csoport, &=1.vs.2.vs.3. csoport)

Fémek (ppm)	Normál diéta (1.csoport)	Mikotoxinnal kezelt tápot fogyasztók (2.csoport)	Mikotoxinnal és máriatövissel kezelt tápot fogyasztók (3. csoport)	Szignifikancia
alumínium	0,53±0,22	0,71±0,45	0,82±0,37	n.s.
kalcium	7,25±5,27	24,64±6,33	38,29±9,11	&: $p<0,005$
réz	27,26±6,76	38,30±11,25	33,28±1,79	!: $p<0,05$
vas	56,55±20,13	117,48±34,78	106,93±29,17	!, #: $p<0,05$
magnézium	436,44±75,09	48,35±10,85	61,39±13,54	!, #: $p<0,001$
mangán	3,57±0,33	1,45±0,39	1,79±0,49	!, #: $p<0,001$
foszfor	1950,28±212,44	1137,99±174,63	1133,30±134,44	!, #: $p<0,001$
kén	1317,25±118,34	627,72±138,80	579,25±47,44	!, #: $p<0,001$
cink	30,48±5,97	16,63±2,14	19,36±3,32	!, #: $p<0,001$

4.2. Bél-máj tengely összefüggéseit vizsgáló retrospektív tanulmány gyulladássos bélbetegségben

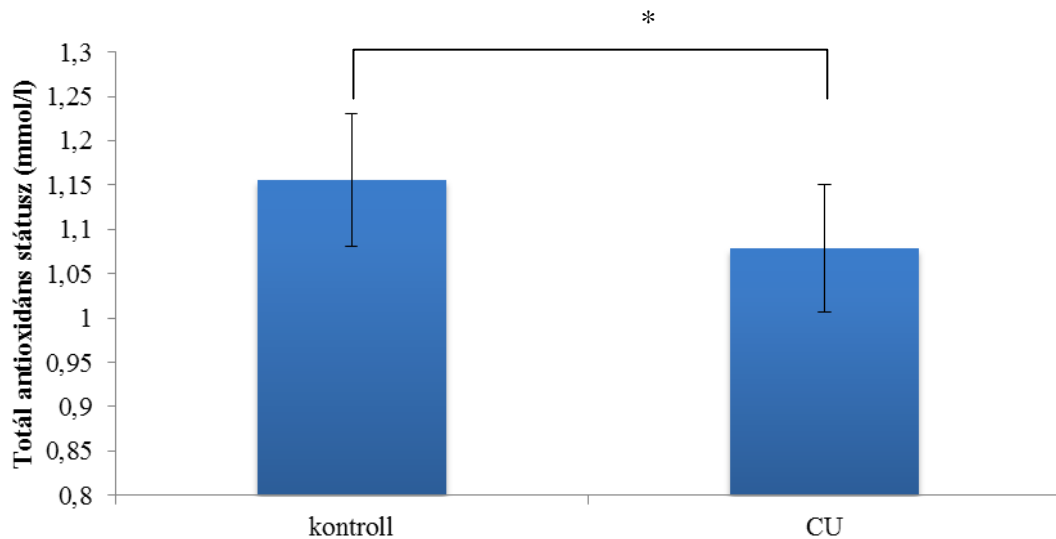
Retrospektív tanulmányunkban colitis ulcerosában szenvedő betegek adatait használtuk fel a bélkárosodás modelljeként. Vizsgáltuk a nem invazív biomarkerként alkalmazható módszereket, és elemeztük a redox-homeosztázis eltéréseit, amely szorosan összefügg a májműködéssel. Az eredményeinket az Orvosi Hetilapban publikáltuk (191).

A rutin májfunkciós paraméterek vizsgálata során a referenciatartományon belül emelkedett szinteket találtuk a gamma-glutamil-transzpeptidáz és az alkalikus-foszfatáz tekintetében, azonban szignifikáns különbség nem volt a kontrollcsoporthoz képest. (6. táblázat)

6. táblázat: Rutin laboratóriumi paraméterek a kontroll- és a betegcsoportban (n.s. =nem szignifikáns)

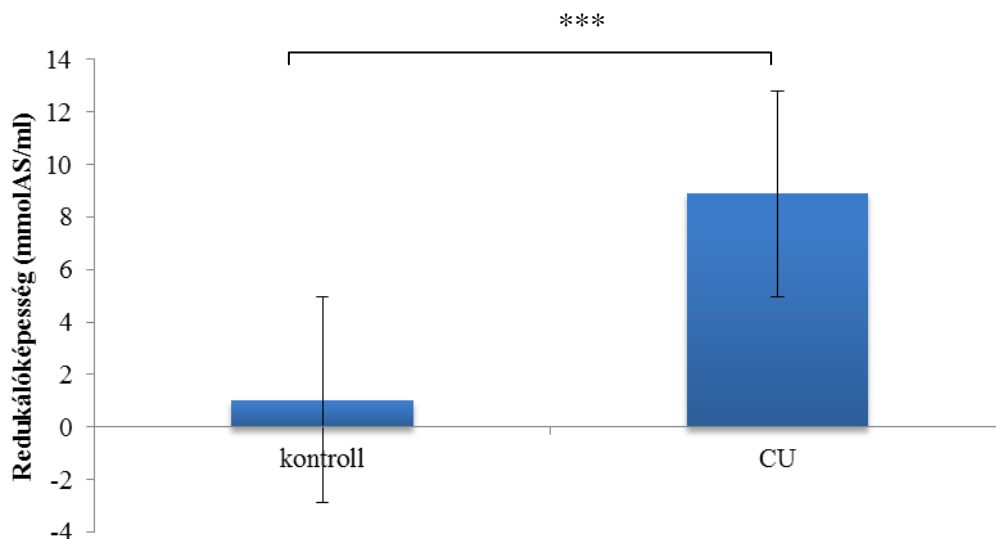
Paraméter (normál-tartomány)	Kontroll n=30	Colitis ulcerosa n=52	Szignifikancia p<0,05
AST (4-37 U/l)	21,83±11,4	21,83±24,55	n.s.
ALT (4-40 U/l)	19,6±8,94	18,59±11,12	n.s.
GGT (7-52 U/l)	27,17±13,5	32,67±63,48	n.s.
ALP (100-290 U/l)	165,1±40,48	177,96±71,46	n.s.
össz.bilirubin (<17 µmol/l)	10,04±3,9	10,1±8,2	n.s.
albumin (35-50 g/l)	43,5±2,9	40±6,4	n.s.
vérlemezkeszám (150-450 G/l)	219,6±40,04	287,56±98,6	n.s.

Az összantioxidáns státusz (TAS) szignifikáns ($p < 0,05$) csökkenését tapasztaltuk colitis ulcerosában (N=42) az egészséges kontrollokhoz (N=7) képest (16. ábra).



16. ábra: Totál antioxidáns státusz változása CU-ban
(kontroll n=7, colitis ulcerosa n=42) ($p < 0,05$)

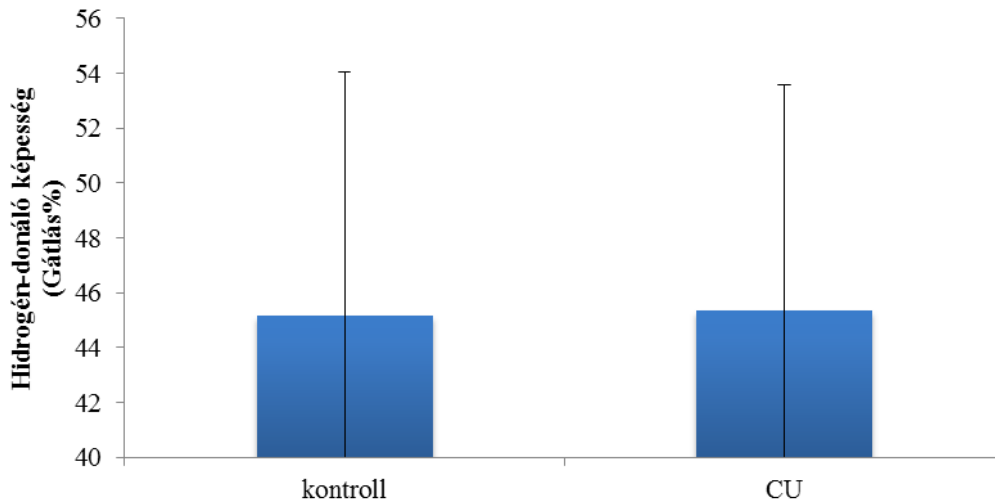
A redukálóképesség értékek szintén szignifikáns mértékben változtak. A betegpopulációban magasabb értékeket kaptunk. (kontroll: N=38, CU: N=100), ($p < 0,001$). (17. ábra)



17. ábra: Redukálóképesség változása CU-ban
(kontroll n=38, colitis ulcerosa, n=100), ($p < 0,001$)

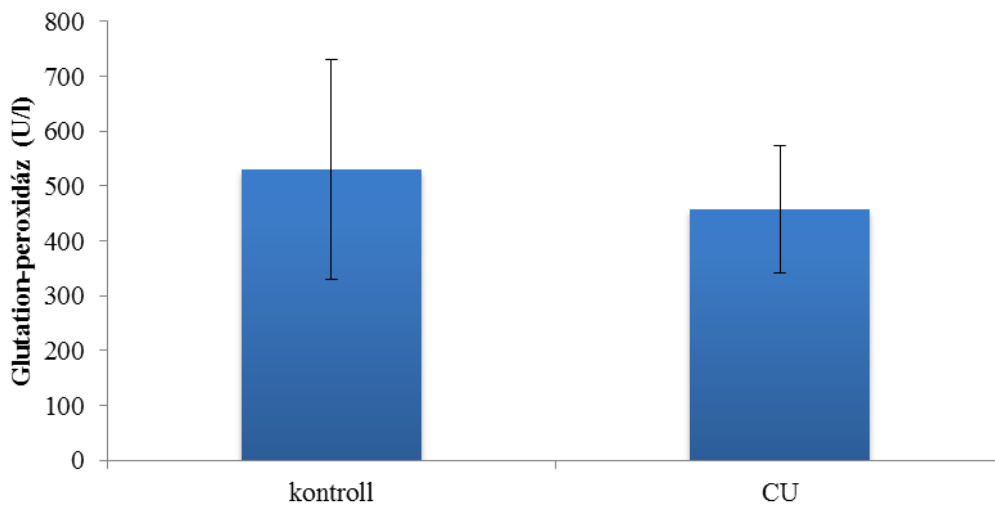
Az össz-antioxidáns státus és a redukálóképesség az egész szervezet redox-homeosztázisát, azaz, az összes változást reprezentálja.

A hidrogén-donáló képesség nem különbözött szignifikánsan a két csoportban. (kontroll: N=38, CU: N=100), ($p=0,78$). (18. ábra) Ez az érték nagymértékben függ a betegek táplálkozásától, valamint az 5-ASA és egyéb tartósan szedett gyógyszerektől.



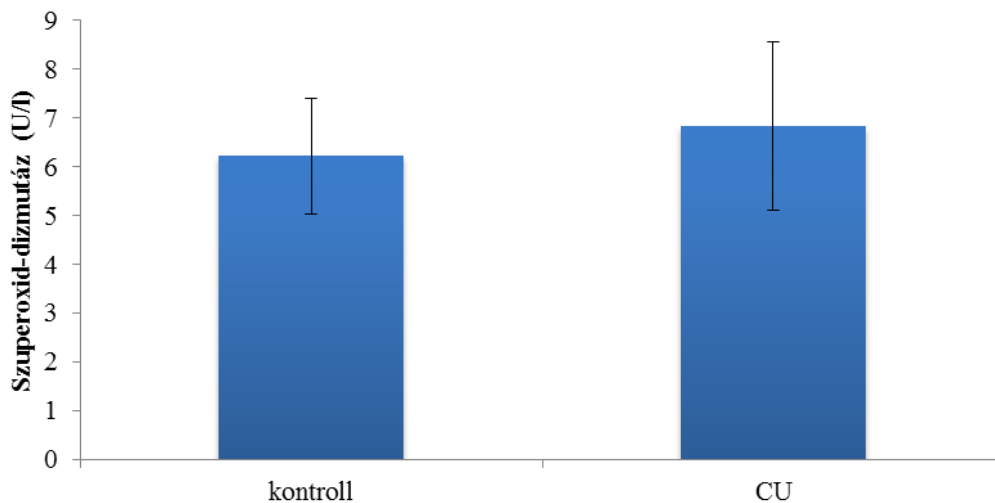
18. ábra: Hidrogén-donáló képesség CU-ban
(kontroll n=38, colitis ulcerosa n=100), ($p=0,78$).

Az enzimatisz védekezés szempontjából kulcsfontosságú a glutation-peroxidáz aktivitása. Az adatok alapján az enzim aktivitásának csökkenését tapasztaltuk a betegpopulációban (kontroll: N=38, CU: N=42), ($p=0,09$). (19. ábra)



19. ábra: Glutathion-peroxidáz aktivitásának változása CU-ban
(kontroll n=38, colitis ulcerosa n=42), (p=0,09).

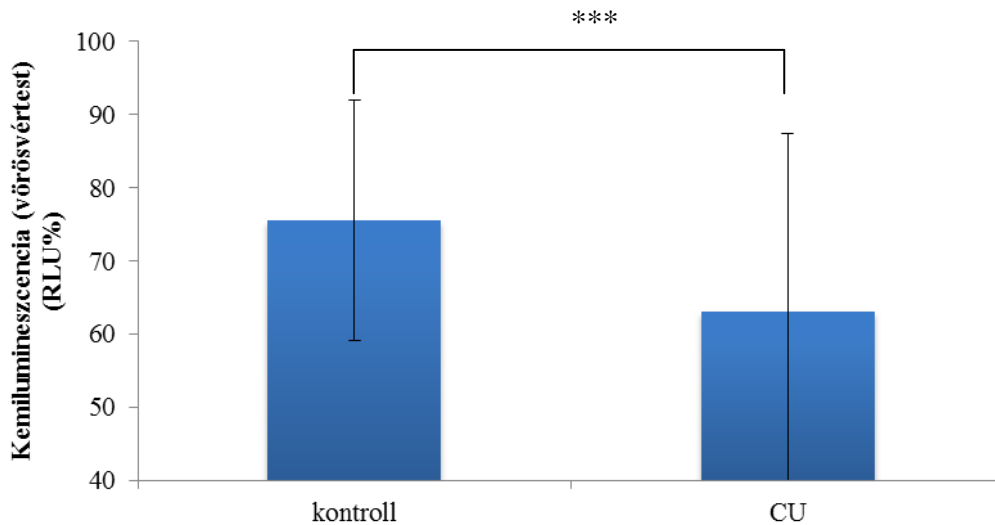
A szuperoxid-dizmutáz aktivitása, az irodalom szerint, a gyulladásos folyamatokban felerősödik. Retrospektív tanulmányunkban így nem meglepő módon emelkedett szuperoxid-dizmutáz szinteket mértük a kontrollcsoporthoz képest (p=0,34) (kontroll n=38, colitis ulcerosan =42). (20. ábra)



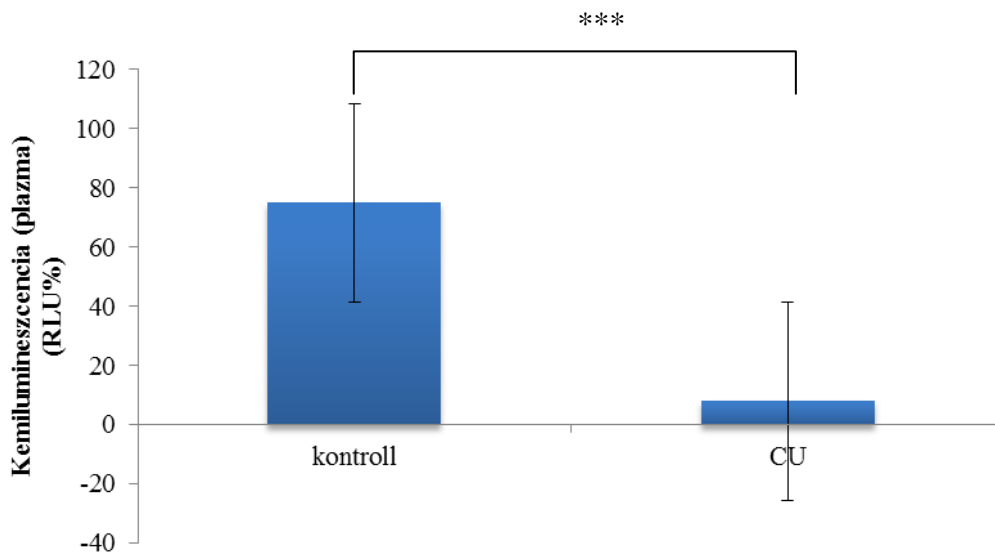
20. ábra: Szuperoxid-dizmutáz aktivitásának változása CU-ban
(kontroll n=38, colitis ulcerosa n=42), (p=0,34)

Az indukált kemilumineszcencia vizsgálata során csökkent RLU%-ot mértünk mind a vörösvértestben, mind a plazmában. A gyökfogás mértéke szignifikánsan jobb volt a

betegcsoportban. (erythrocyta: kontroll: N=38, CU: N=93, ($p < 0,001$); plazma: kontroll: N=38, CU: N=97), ($p < 0,001$). (21. ábra és 22. ábra)



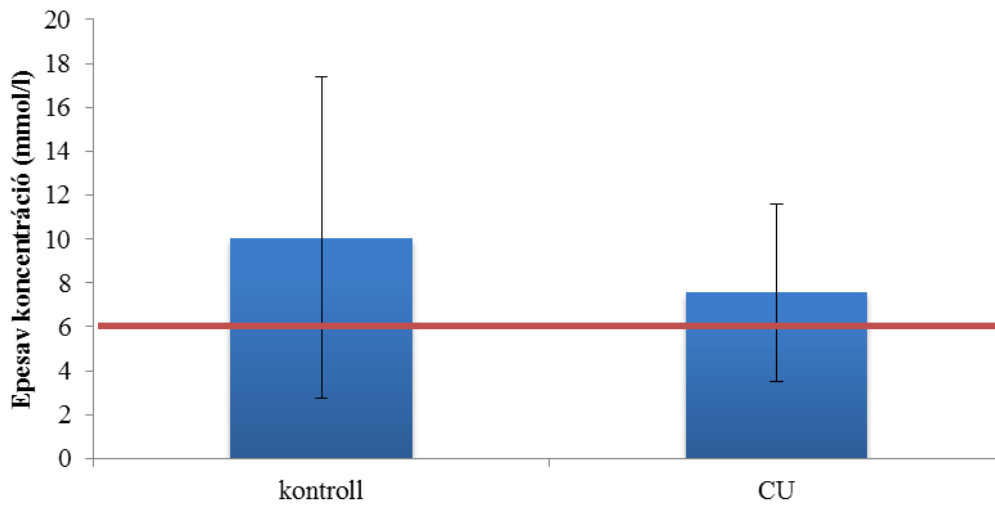
21. ábra: Indukált szabadgyök-képződés CU-ban (vörösvértest)
(kontroll n=38, colitis ulcerosa n=93), ($p < 0,001$)



22. ábra: Indukált szabadgyök-képződés CU-ban (plazma)
(kontroll n=38, colitis ulcerosa n=97), ($p < 0,001$)

Colitis ulcerosában (N=75) az epesavszint tendenciózusán kisebb értéknek adódott ($p = 0,06$), de a középérték szignifikánsan különbözött az egészséges populáció értékétől (23. ábra). Ez az eredmény felhívja a figyelmet arra, hogy a kontrollcsoportban is

vannak egyének, akik epesavszintje túllépte a normálérték felső határát (normálérték: 0-6 mmol/l), amely miatt célszerű további vizsgálatokat végezni.



23. ábra: Epesav-koncentráció változása CU-ban, a pirossal jelzett vonal a referencia tartomány felső határát jelzi (kontroll n=38, colitis ulcerosa n=75),

4.3. Nem invazív pontrendszerek szenzitivitása és specificitása krónikus májbetegségben szenvedőknél

Prospektív, kohorsz, humán vizsgálatunk céljaul általános biomarkerek megtalálását tűztük ki, különös tekintettel a necroinflammációt jelző redox-homeosztázis markerekre, amelyek felhasználhatók a különböző etiológiájú krónikus májbetegségekben. Célunk volt olyan megbízható jelzőmolekula, pontrendszer, vagy diagnosztikus algoritmus létrehozása és validálása, amely segítséget nyújtana a fibrosisstádium megítélésében, valamint lehetővé tenné a progresszió monitorozását.

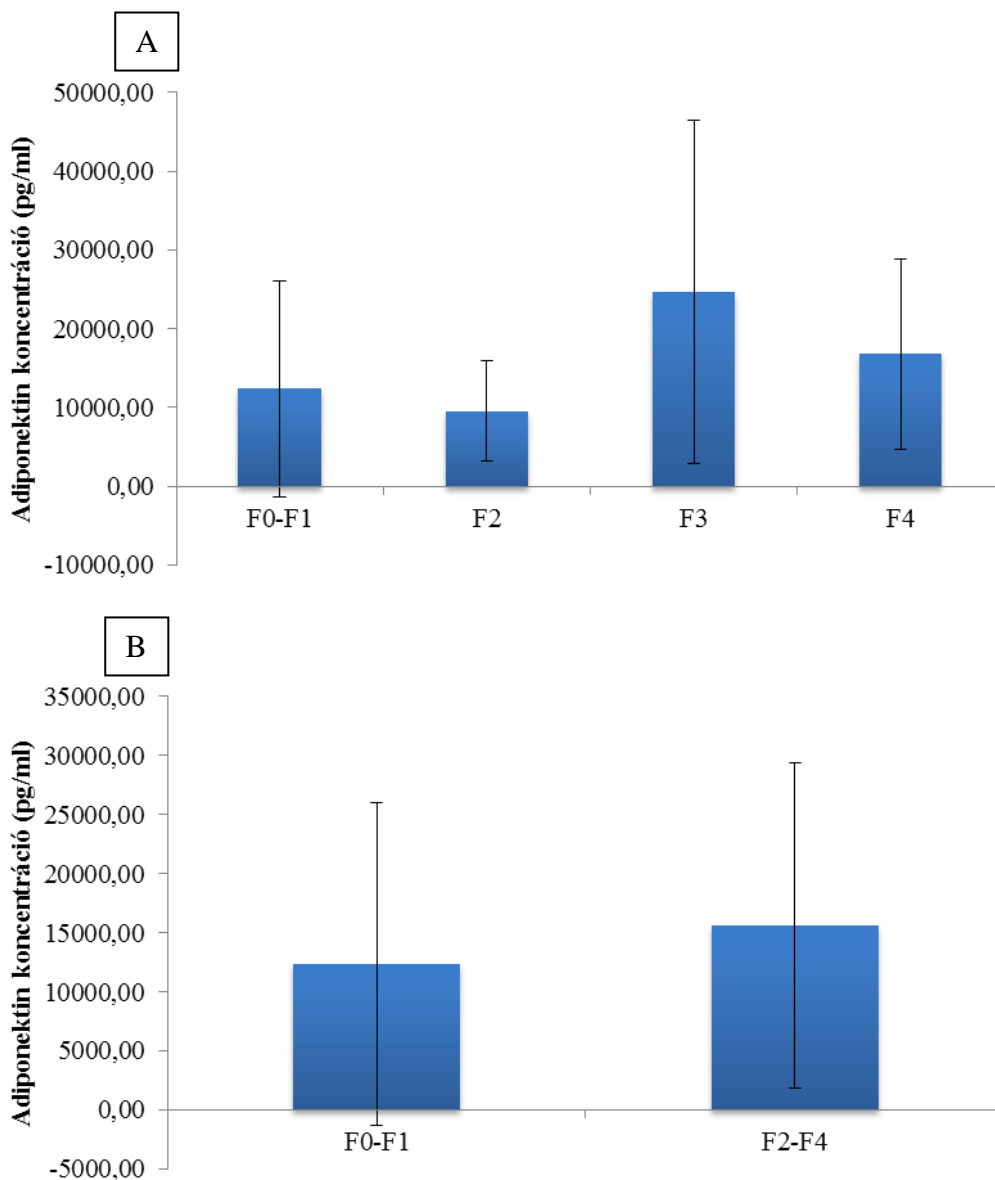
A betegeket a shear wave elasztográfiára meghatározott stádiumbesorolás szerint csoportosítottuk (cut-off pontok: F0-F1 <7kPa, F2 7-9,5kPa, F3 9,5-12 kPa, F4 >12kPa). A betegek 46%-át F0-F1 stádiumba soroltuk (nem vagy csak csekély mértékű fibrózis), a szignifikáns fibrózis prevalenciája 21% volt, a betegek 33%-a 3. és 4. stádiumba került. Vizsgáltuk továbbá a markerek, pontszámok változását szignifikáns májfibrózisban (F2-F4) normál májszövethez képest (F0-F1). Bizonyos csoportok kis esetszáma nem tette lehetővé az etiológia szerinti adatelemzést.

Szignifikáns korreláció volt a különböző fibrosisstádiumok között az AAR, az APRI, a GUCI, a FiB-4 és a GAPRI tekintetében. Mind az öt pontszám szignifikánsan különbözik az alacsony fibrosis és az előrehaladott fibrosis stádiumok között (> F2). Nem találtunk szignifikáns különbséget az FRT és a fibrosisindex tekintetében a csoportok között. (7. táblázat)

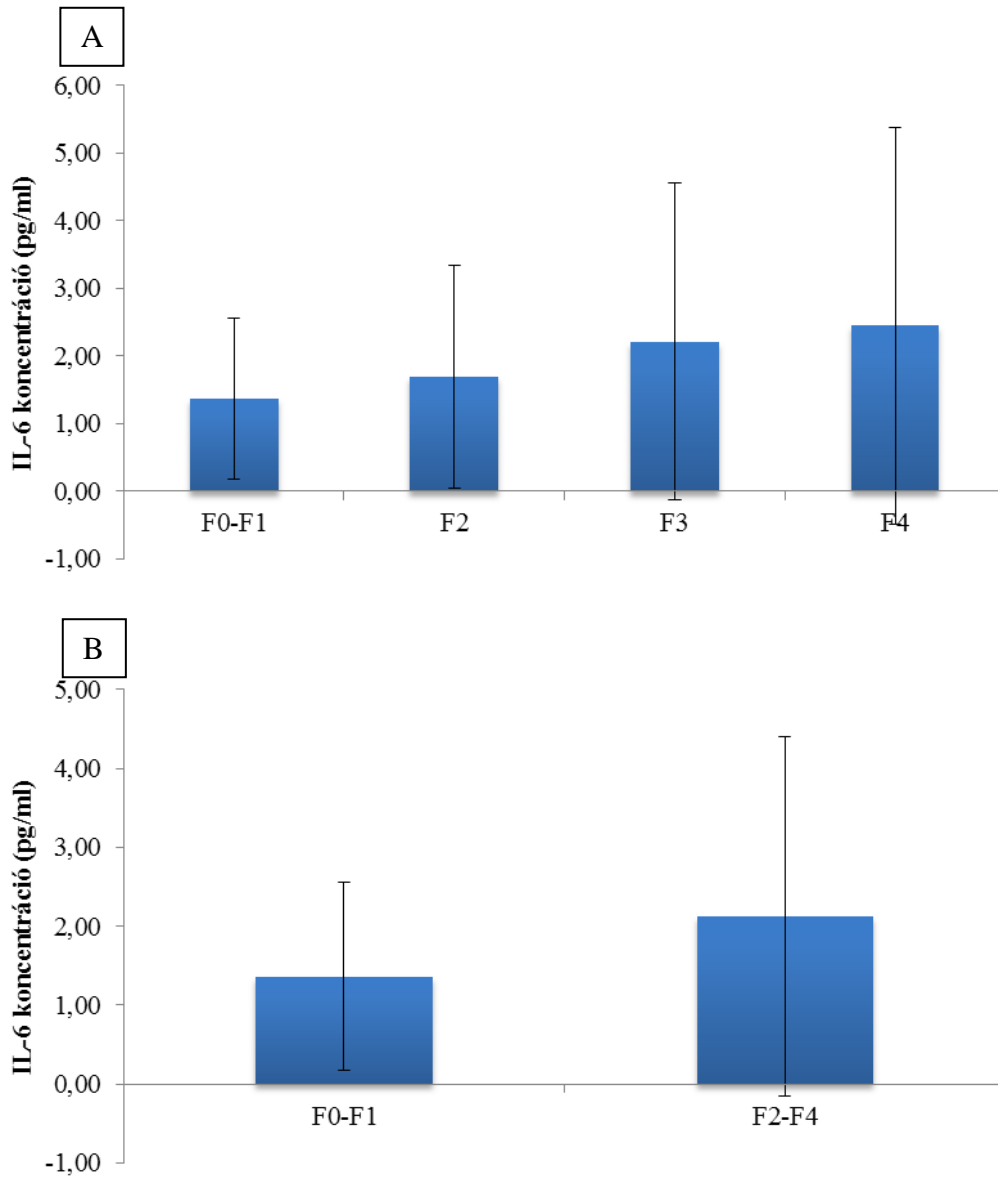
7. táblázat: Szérum fibrosis-pontrendszerek eredményei (AAR=alanin aminotranszferáz / aszpartát aminotranszferáz arány, APRI=aszpartát aminotranszferáz / vérlemezkeshám arány, GUCI=Götheborg University Cirrhosis Index, GAPRI=gamma-glutamil transferáz / vérlemezkeshám arány)

	Fibrosisstádium	
	F0-F1 vs. F2 vs. F3 vs. F4	F0-F1 vs. F2-F4
AAR	p=0,014	p=0,00017
APRI	p=0,034	p=0,012
GUCI	p=0,02	p=0,0037
FiB-4	p=0,05	p<0,001
GAPRI	p=0,0242	p=0,0095
FRT	p=0,62	p=0,54

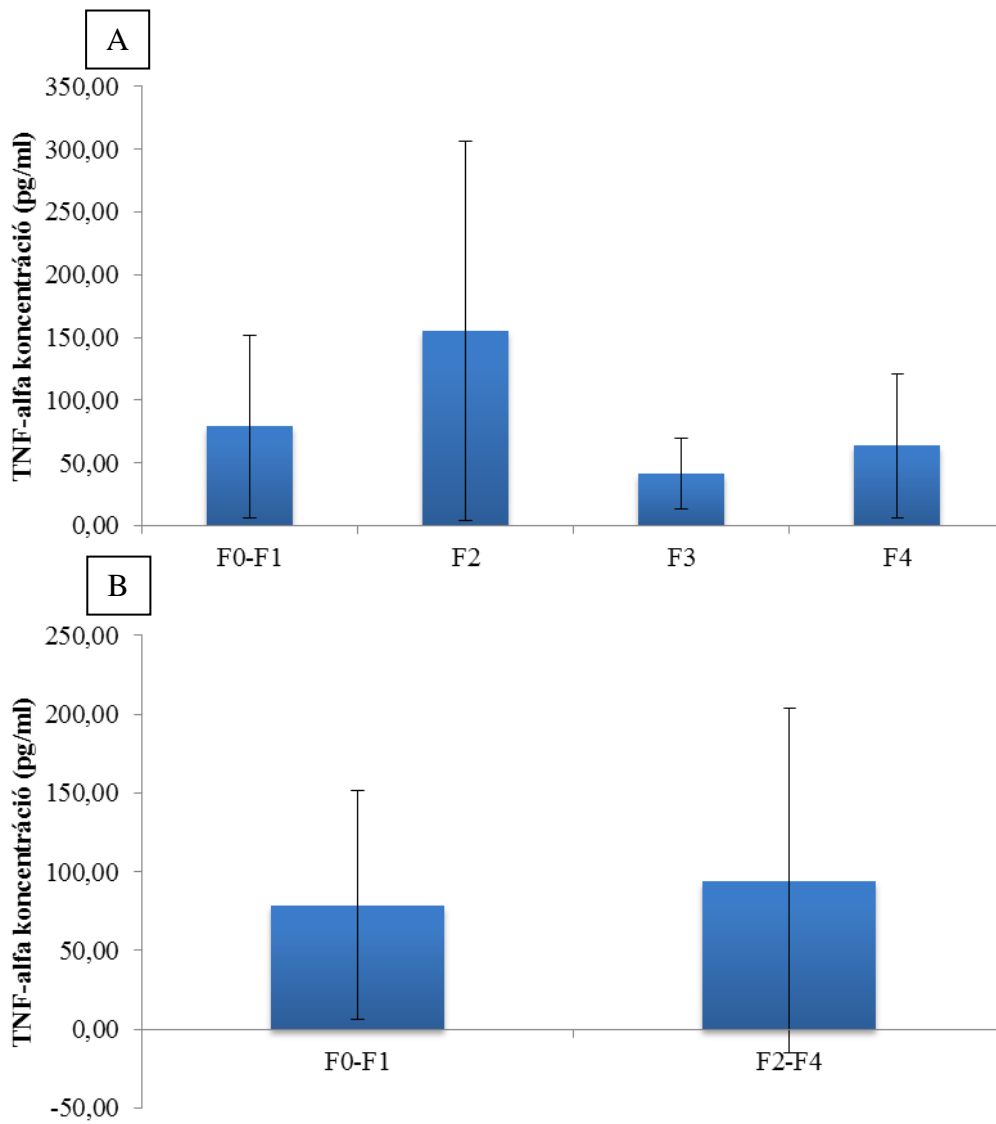
Megmértük négy citokin (adiponektin, leptin, IL-6 és TNF-alfa) koncentrációját a plazmában. Nem volt szignifikáns különbség a májfibrózis alapján elkülönített csoportok között, de az F2-F4 csoportokban az adiponektin, az IL-6 és a leptin értékei általában magasabbak voltak, mint az F0-F1-ben (24. és 25. ábra). Ugyanakkor a TNF-alfa mérsékelt csökkenését észleltük kimutatható fibrosisos betegeknél (\geq F2). (26. ábra)



24. ábra: Adiponektin koncentrációk változása különböző fibrosisstádiumokban (A) (F0-F1, F2, F3, F4), illetve szignifikáns (\geq F2) fibrosis és normál májszövet (F0-F1) között (B).

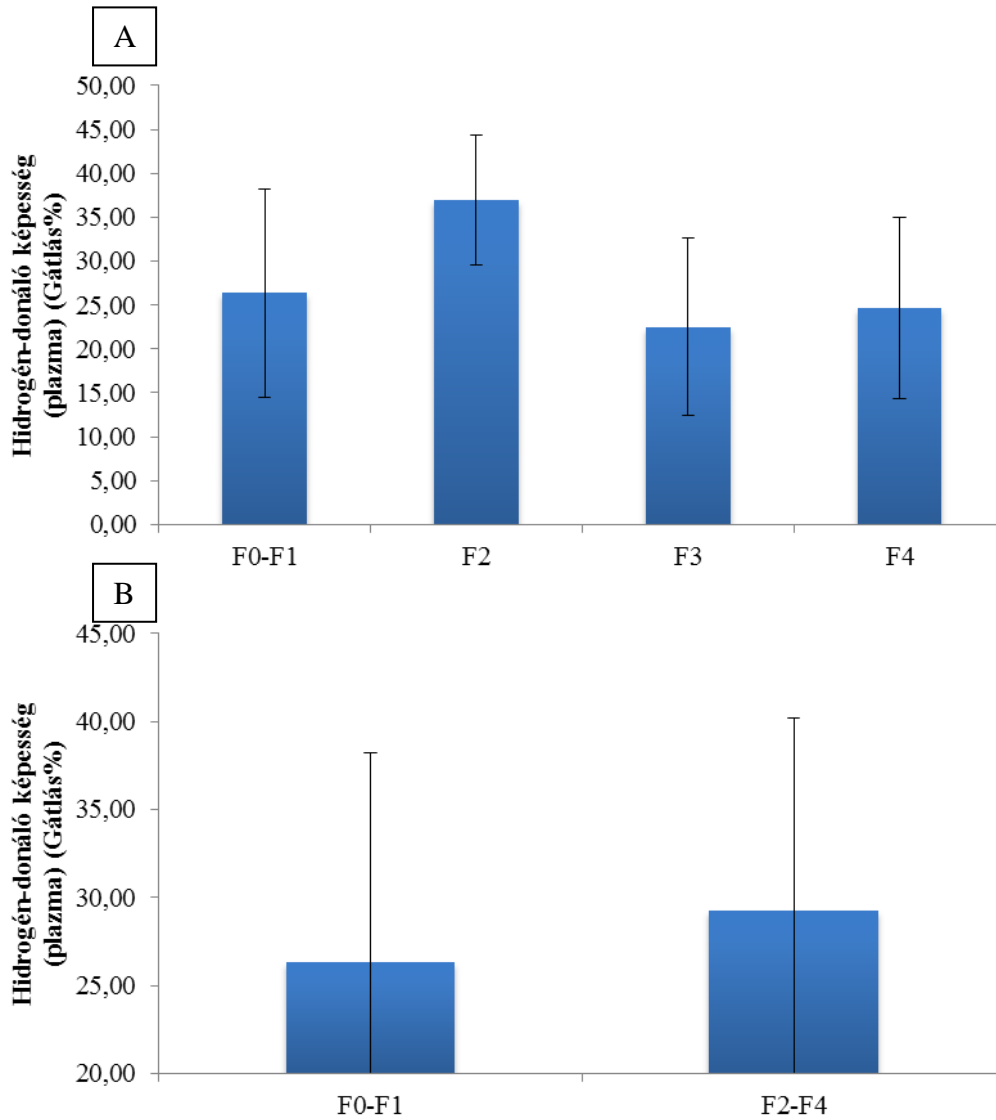


25. ábra: IL-6 koncentrációk változása különböző fibrosistádiumokban (F0-F1, F2, F3, F4) (A), illetve szignifikáns (\geq F2) fibrosis és normál májszövet (F0-F1) között (B).



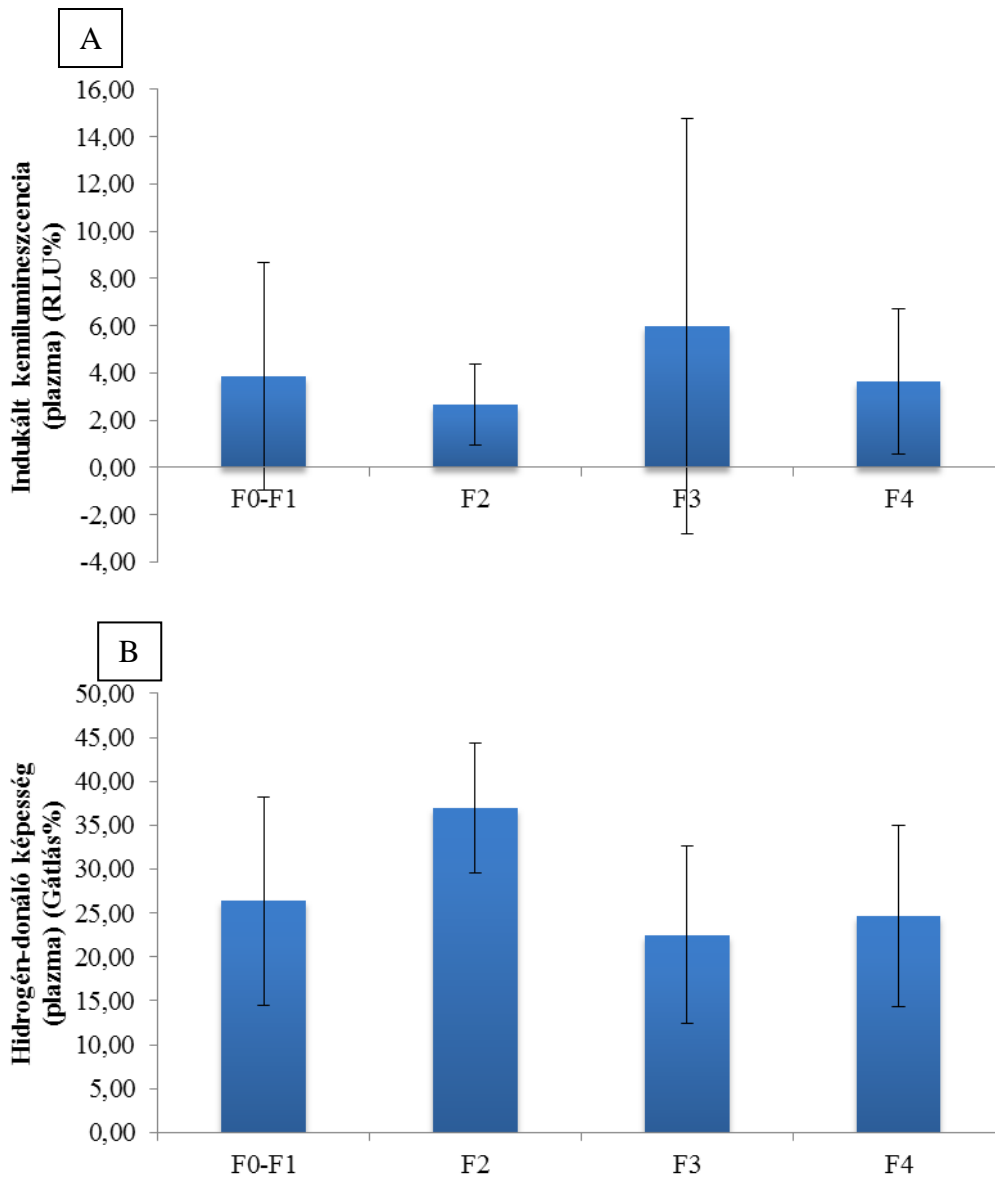
26. ábra: TNF-alfa koncentrációk változása különböző fibrosisstádiumokban (F0-F1, F2, F3, F4) (A), illetve szignifikáns (\geq F2) fibrosis és normál májszövet (F0-F1) között (B).

A plazma hidrogén-donáló képessége nem szignifikáns módon ($p = 0,098$) nagyobb volt az F2-F4 csoportban, ami az antioxidáns kapacitás jelzője a vérvétel pillanatában. (27. ábra) Az erythrocytákban mért, hosszabb időtartamot jellemző paraméter nem mutatott különbséget a csoportok között (F0-F1 = $21,04 \pm 8,44$, F2 = $16,4 \pm 10,9$, F3 = $21,8 \pm 11,6$, F4 = $20,29$ Gátlás%).



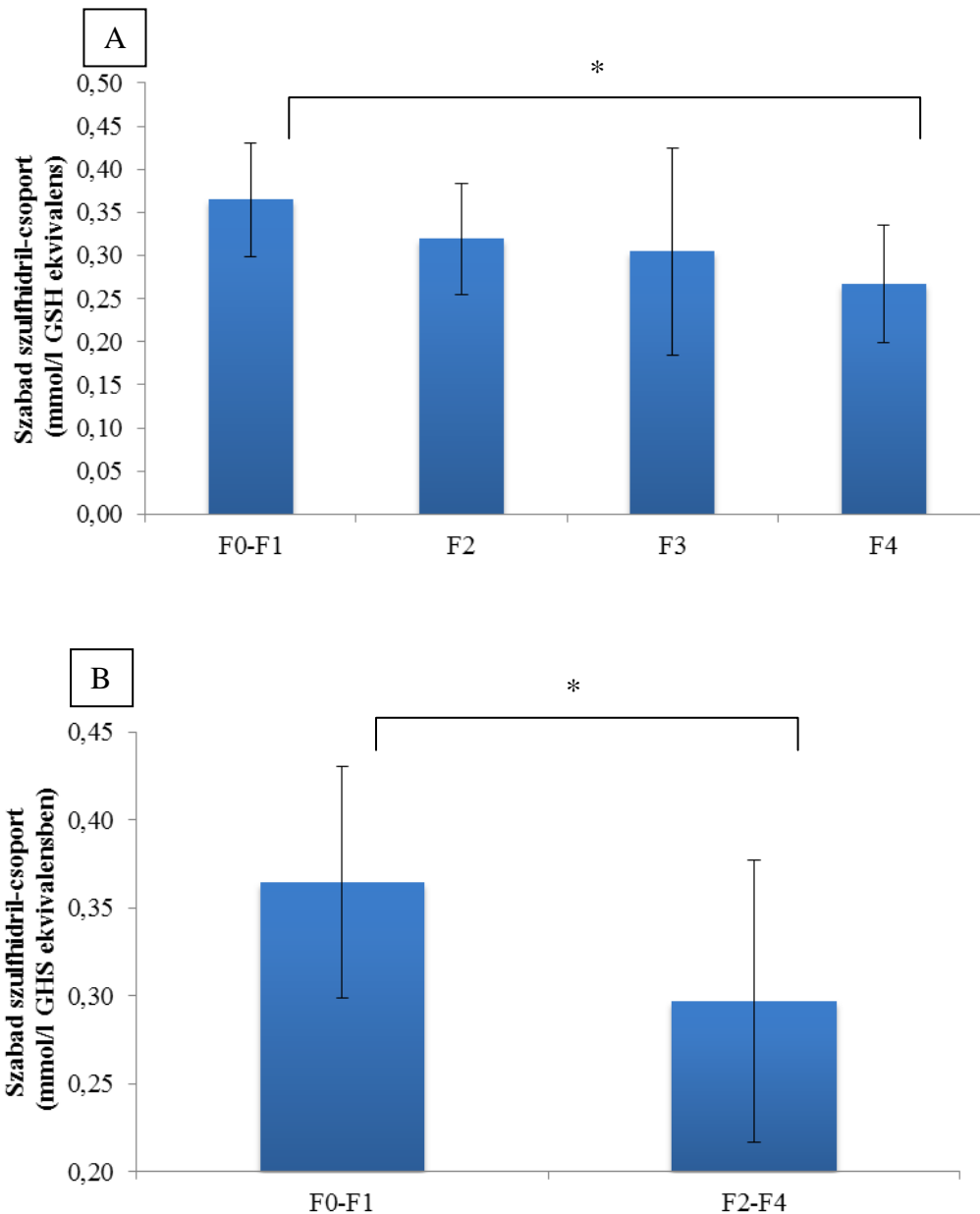
27. ábra: Hidrogén-donáló képesség változása plazmában különböző fibrosistádiumokban (F0-F1, F2, F3, F4) (A), illetve szignifikáns ($\geq F2$) fibrosis és normál májszövet (F0-F1) között (B).

A betegek csoportjában nem találtunk különbséget a plazmában mért, indukált kemilumineszcenciával meghatározott oxidatív stresszt jelző paraméterrel. (28. ábra) A vörösvértestekben mért érték az F3 és F4 csoportokban enyhe emelkedést mutatott az F2-hez viszonyítva. A különbség azonban nem volt szignifikáns. (28. ábra).



28. ábra: Indukált szabadgyök-szint változása plazmában (A) és vörösvértest frakcióban (B) különböző fibrosistádiumokban (F0-F1, F2, F3, F4).

A szabad szulfhidrilcsoport-tartalom, mint antioxidáns paraméter szignifikánsan alacsonyabb volt az F2-F4 csoportokban, mint az F0-F1 ($p = 0,0021$) stádiumokban. Az enyhe vagy nem kimutatható fibrózisban (F0-F1) és a súlyos fibrózisban szenvedő betegek (F4) közötti különbség szintén statisztikailag szignifikánsnak mutatkozott ($p = 0,01$). (29. ábra)



29. ábra: Szabad szulfhidril-csoport-tartalom változása plazmában különböző fibrosisstádiumokban (F0-F1, F2, F3, F4) (A), illetve szignifikáns ($\geq F2$) fibrosis és normál májszövet (F0-F1) között ($p < 0,05$) (B).

4.4. Joghurtfogyasztás vizsgálata NAFLD-ben szenvedő betegeknél klinikai pilot study keretén belül

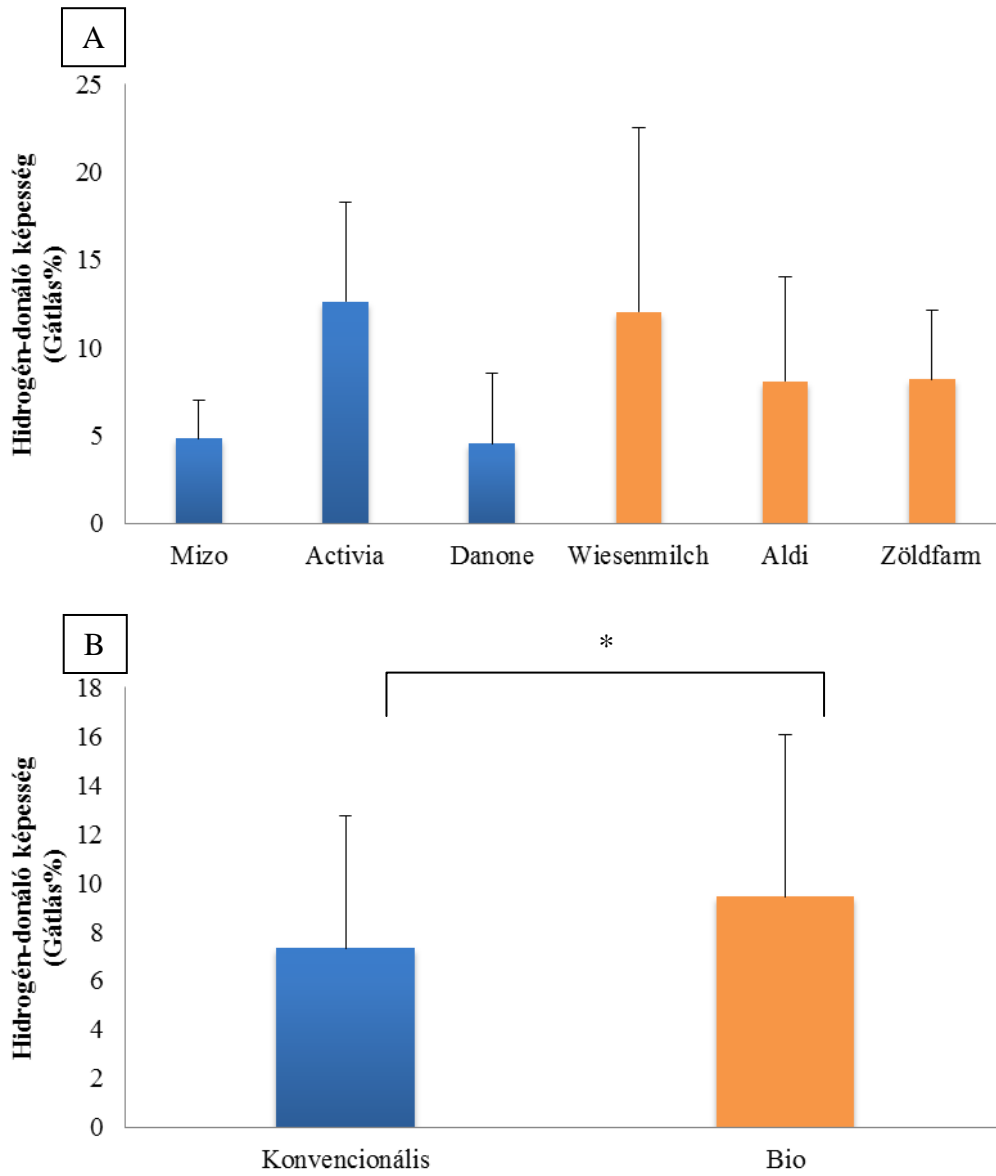
Klinikai pilot study keretében vizsgáltuk, hogy egy bélflórát módosító táplálkozási faktor milyen szerepet játszik az NAFLD kiegészítő kezelésében. Az alkalmazott különböző biomarkerek (rutinlaboratóriumi, immunbiokémiai, redox- és testösszetétel paraméterek) mennyire használhatók annak kimutatására, hogy hogyan hat a hagyományos és az ökológiai joghurt az NAFLD-ben szenvedő betegek állapotára. Vizsgáltuk, hogy van-e, és milyen mértékű a különbség az ökológiai és a hagyományos módon előállított joghurtok hatásában.

4.4.1. Ökológiai és hagyományos gazdálkodásból származó joghurtok in vitro összehasonlítása redox-homeosztázis markerekkel

A klinikai vizsgálat megkezdése előtt a kiskereskedelmi forgalomban kapható számos joghurt közül kiválasztottunk 6, hasonló beltartalmi paraméterekkel rendelkező, ugyanakkor eltérő forrásból származó élőflórás joghurtot. Redox-homeosztázist jelző markerekkel vizsgáltunk három, ökológiai és három, konvencionális gazdálkodásból származó joghurtmintát abból a célból, hogy ki tudjuk választani a legmagasabb antioxidáns kapacitással rendelkező joghurtokat, mind a hagyományosan előállított, mind a biojoghurtok közül humán tanulmányunkhoz.

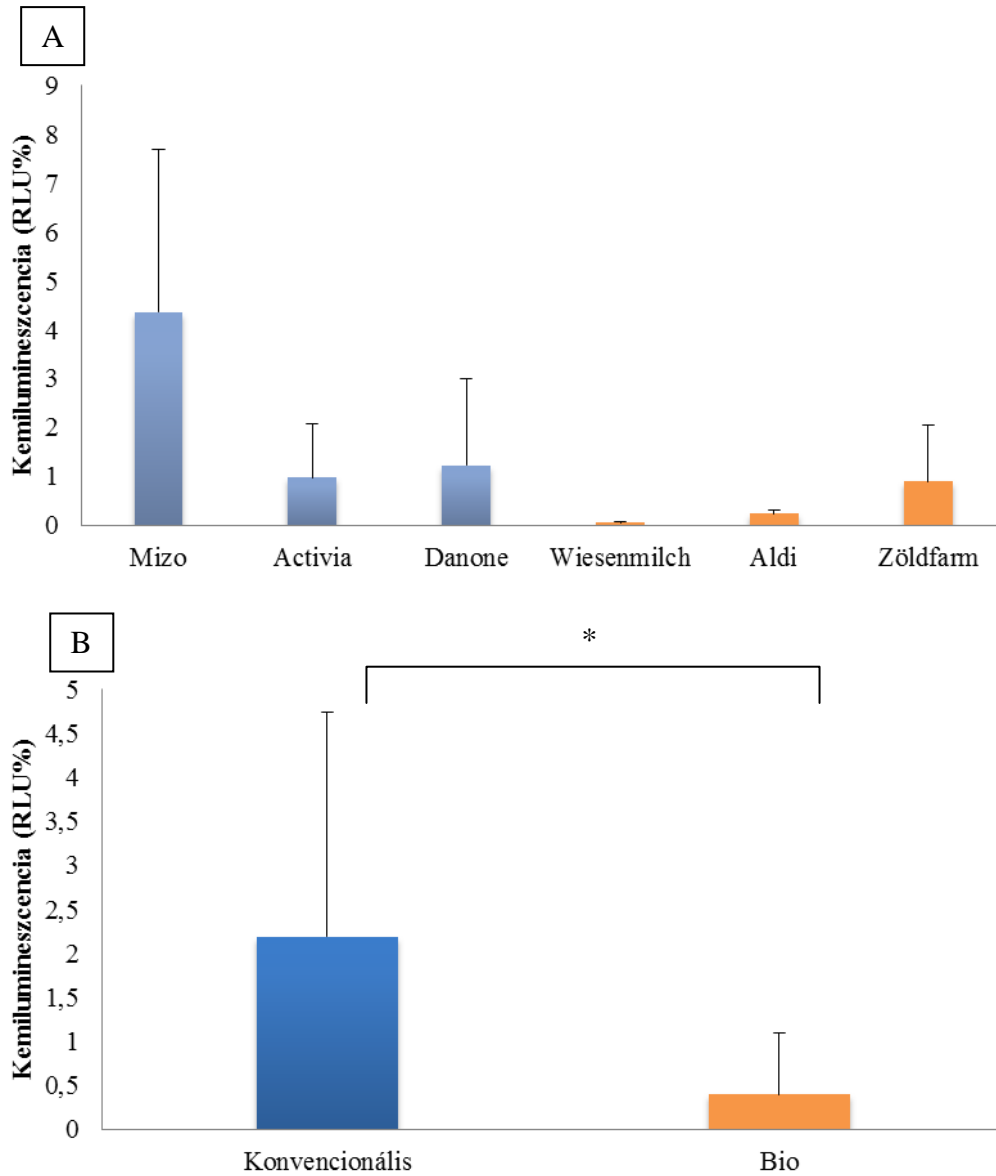
Vizsgáltuk 3 fajta hagyományos módon előállított (Natúr joghurt – Mizo, Activia – Danone, Natúr joghurt – Danone) és 3 fajta ökológiai gazdálkodásból (Bio Wiesenmilch Naturjogurt – Kärntnermilch, Natur aktiv biojoghurt - Aldi, Zöldfarm Bio natúr joghurt – Naszálytej) származó, kiskereskedelmi forgalomban lévő, probiotikus joghurt redox-tulajdonságait.

Az antioxidáns rendszert jellemző hidrogén-donáló képesség szignifikánsan ($p < 0,05$) magasabb volt az ún. biojoghurtokban, mint a hagyományos termékekben. Kiemelendő azonban, hogy az Activia konvencionális joghurt hidrogén-donáló képessége hasonlóan alakult a biojoghurtokéval, némelyiket meg is haladta. (30. ábra).



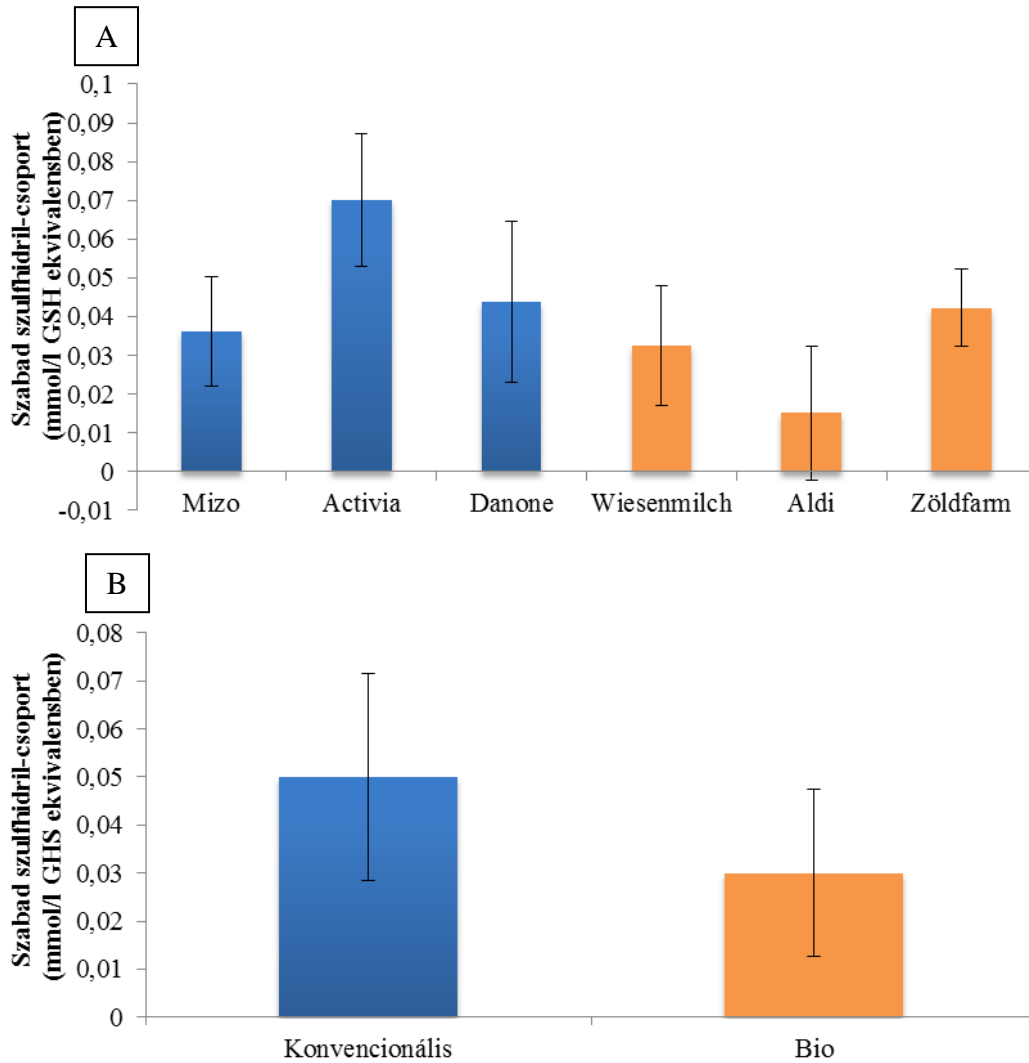
30. ábra: Hidrogén-donáló képesség változás a különböző joghurtmintákban (A) valamint összevonva a két csoportban (B) ($*p < 0,05$)

Szignifikánsan alacsonyabb indukált szabadgyök-szinttel rendelkeztek a bio-joghurtok ($p < 0,05$). A konvencionális joghurtok közül egy fajta (Mizo) kiemelkedően magas szabadgyök-szintet mutatott, míg a biojoghurtok közül a Wiesenmilch rendelkezett a legalacsonyabb értékkel. (31. ábra)



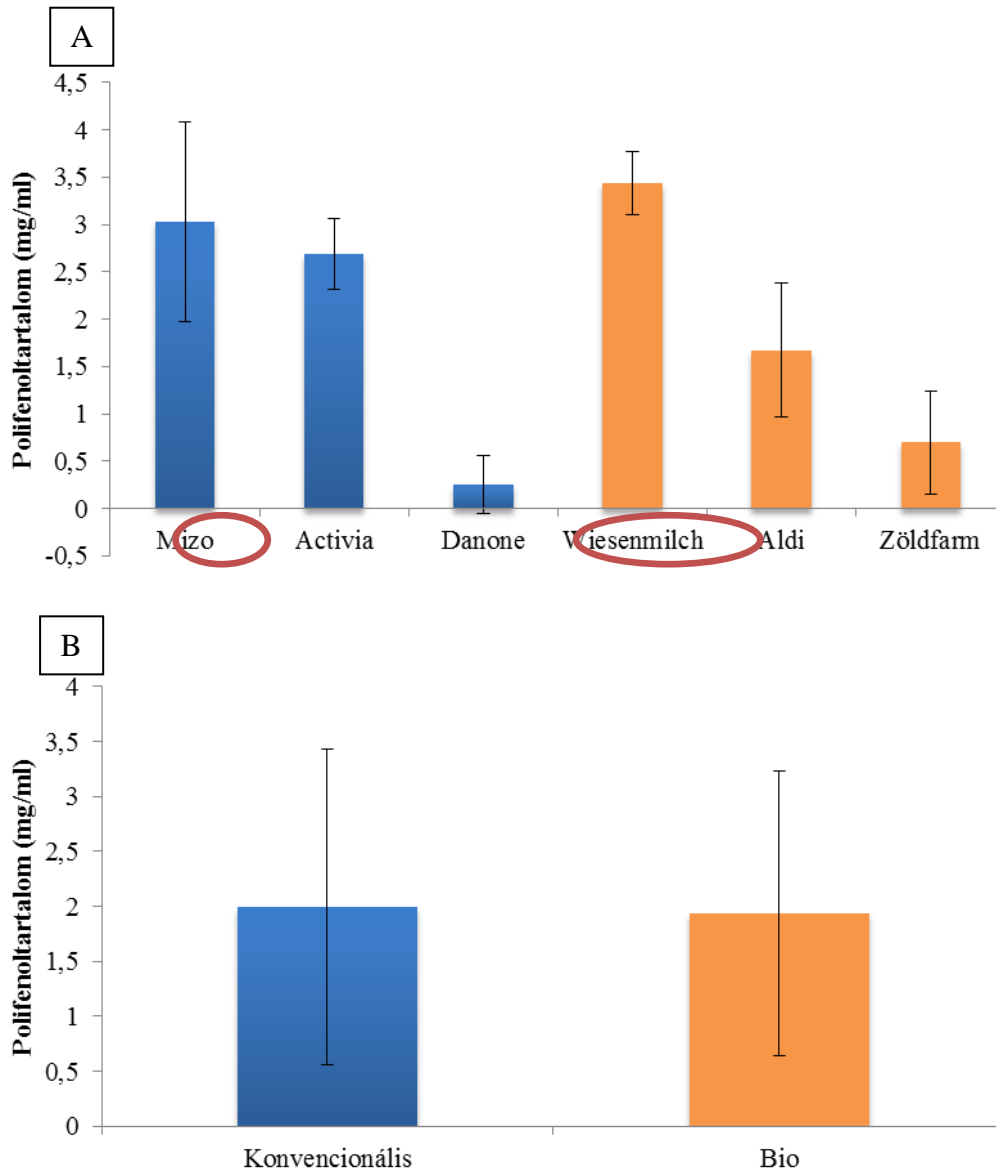
31. ábra: Indukált szabadgyök-szintek változása különböző joghurtmintákban (A) valamint összevonva a két csoportban (B) ($*p < 0,05$)

A szabad szulfhidriltartalom nem szignifikáns módon magasabb volt a konvencionális joghurtokban, mint a biojoghurtokban. Hasonlóan a HDON mérésnél is az Activia konvencionális joghurt mutatott magas hidrogén-donáló kapacitást. (32. ábra)



32. ábra: Szabad szulfhidriltartalom változása különböző joghurtmintákban (A) valamint összevonva a két csoportban (B)

A termékekben mért polifenoltartalom nem különbözött az eltérő módon előállított joghurtok között, azonban a Wiesenmilch bio és a Mizo konvencionális joghurtokban kimagasló polifenoltartalmat mutattunk ki. (33. ábra) Az összes redox-tulajdonságaik miatt a klinikai pilot vizsgálatba ezt a két joghurtot választottuk ki.



33. ábra: Polifenoltartalom változása különböző joghurtmintákban (A) valamint összevonva a két csoportban (B)

4.4.2. Klinikai pilot vizsgálatban alkalmazott ökológiai és hagyományos gazdálkodásból származó joghurtok beltartalmi vizsgálata

A két kiválasztott joghurt beltartalmi vizsgálatát a Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet Kft. végezte. Az eredményeket az 8. táblázat foglalja össze.

8. táblázat: Joghurtok összetétele

	Konvencionális joghurt 100g	Biojoghurt 100g
energia	273kJ / 65kcal	285kJ / 68kcal
szénhidrát (g)	4,8	4,2
fehérje (g)	3,4	4,2
só (g)	0,1	0,13
zsír (g)	3,6	3,6
amelyből telített zsírsavak (g)	2,4	2,5
1x telítetlen zsírsavak (MUFA) (g)	0,97	1,04
többszörösen telítetlen zsírsavak (PUFA) (g)	0,16	0,15
kolekalciferol (ug/kg)	<12,5	<12,5
dl-alfa-tokoferol (mg/kg)	<5	<5
foszfor (g)	0,093	0,115
kalcium (g)	0,117	0,154
magnézium (g)	0,01	0,012
szelén (mg/kg)	<0,03	<0,03
réz (mg/kg)	<0,03	<0,03
vas (mg/kg)	0,14	0,33
mangán (mg/kg)	<0,03	<0,03
cink (mg/kg)	0,34	0,85
baktériumszám (<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i>)	3,0x10E8	2,4x10E8

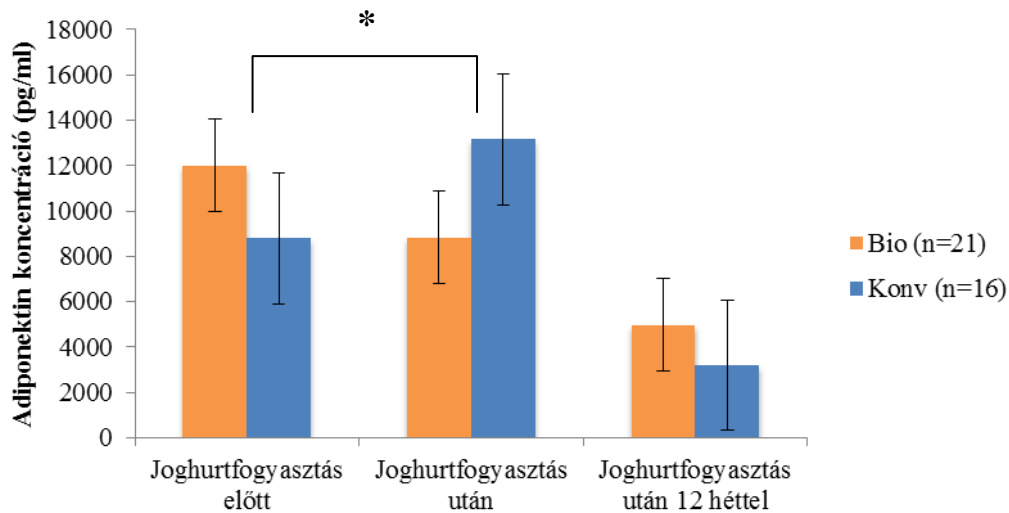
4.4.3. Joghurtfogyasztás hatása NAFLD-ben szenvedő betegek laboratóriumi, antropológiai valamint klinikai paramétereire

Élelmiszerek rövid távú hatásának vizsgálata során nem feltétlenül várható szignifikáns hatás, de ennek ellenére lehet különbség a kétféle joghurt fogyasztása között. Eredményeinket az Orvosi Hetilapban publikáltuk (139). A 8-hetes joghurtfogyasztás után a májenzimszintek kedvezőtlenül mérsékelten emelkedtek (AST:33,29→39,44 U/l, $p=0,71$; ALT:47,72→57,44 U/l, $p=0,15$; GGT:101,91→126,58 U/l, $p=0,83$; ALP:101,51→110,75 U/l, $p=0,65$), majd a joghurtfogyasztás után 12 héttel a kezdeti állapotra csökkentek. Ez a tendencia mind a bio-, mind a hagyományos joghurtot fogyasztó csoportban megfigyelhető volt. A bilirubin- és az összkoleszterinszint lényegében nem változott, azonban az LDL-szint (64,47%-ról 63,64%-ra, $p=0,08$) és a trigliceridek (1,85→1,78 mmol/l, $p=0,11$) mérsékelt csökkenését tapasztaltuk a 8-hetes kezelés befejezését követően. Ezek a paraméterek a két csoportban hasonlóan változtak. A vas (17,8→15,98 μ mol/l, $p=0,23$) és a cink (12,42→11,98 μ mol/l, $p=0,32$) szintje minimálisan csökkent, a réz enyhén emelkedett közvetlenül joghurtfogyasztás után (16,52→17,31 μ mol/l, $p=0,09$). A bio csoportban a cinkcsökkenés kifejezettebb volt a hagyományos joghurtfogyasztókkal összehasonlítva, míg a konvencionális csoportban a rézsztint emelkedése volt markánsabb. Azonban ezek az eltérések statisztikailag nem voltak szignifikánsak. Kismértékű D-vitamin-szint (20,25-ről 25,74 ng/ml-re a bio, 25,17-ről 26,67 ng/ml-re a konvencionális csoportban) növekedést találtunk ($p=0,03$). A laboratóriumi paraméterek változását a 9. táblázat foglalja össze.

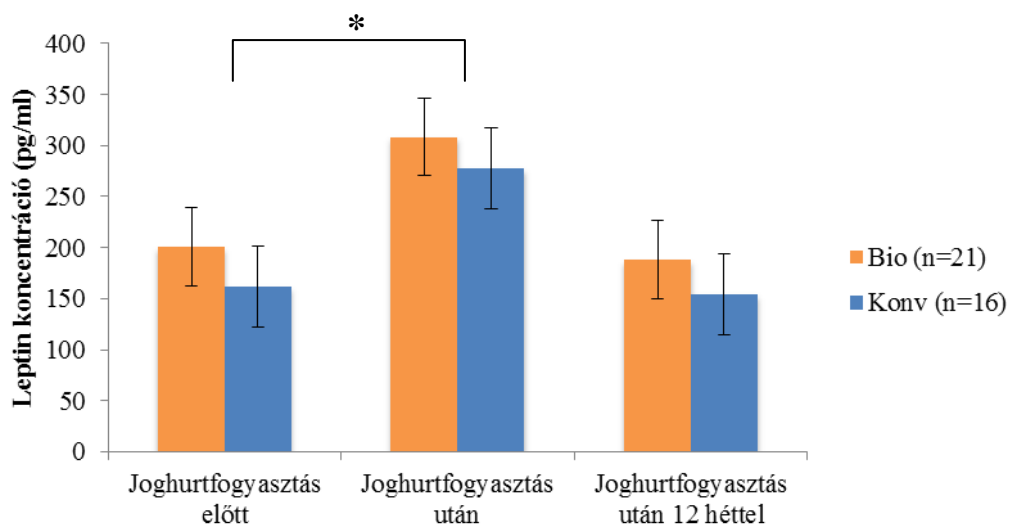
9. táblázat: Laboratóriumi paraméterek változása a különböző fajta joghurtot fogyasztó csoportokban (*szignifikancia $p < 0,05$)

Laboratóriumi paraméterek (referencia tartomány)	Joghurtfogyasztás előtt (átlag±szórás)		8 hetes joghurtfogyasztás után (átlag±szórás)		Joghurtfogyasztás után 12 héttel (átlag±szórás)	
	Biojoghurt fogyasztók (n=21fő)	Konvencionális joghurt fogyasztók (n=16fő)	Biojoghurt fogyasztók (n=21fő)	Konvencionális joghurt fogyasztók (n=16fő)	Biojoghurt fogyasztók (n=21fő)	Konvencionális joghurt fogyasztók (n=16fő)
AST (4-37 U/l)	34,33±13,94	31,94±11,6	38,6±16,88	40,5±23,93	33,16±11,41	37,64±15,84
ALT (4-40 U/l)	51±29,59	43,43±19,98	53,2±33,33	62,75±51,47	46,32±23,44	54,5±24,61
GGT (7-52 U/l)	108,48±121,23	93,31±57,59	114,7±170,35	141,45±108,97	123,47±221,31	113,21±95,12
ALP (100-290 U/l)	95±30,27	110,06±47,85	98,15±40,32	126,5±72,33	98,79±51,01	114,29±54,96
össz. koleszterin (3,9-5,6 mmol/l)	5,59±0,85	5,68±1,17	5,63±0,87	5,77±1,31	5,56±0,92	5,67±1,05
LDL (44,2-54,7 %)	64,34±3,27	64,71±4,68	63,13±2,97	64,06±3,1	68,08±3,62	67,65±2,81
HDL (23,4-38,2 %)	23,91±5,4	25,97±5,6	23,88±4,48	23,1±4,35	23,19±5,46	21,03±4,49
trigliceridek (0,8-1,8 mmol/l)	1,86±0,73	1,84±0,75	1,61±0,67	1,99±0,88	1,66±0,68	2,01±1,06
thrombocyt (150-450 G/l)	265,09±77,41	268,75±64,47	259,05±83,18	268,94±73,74	261,16±83,75	262,57±65,35
prothrombin (70-100 %)	101,81±15,83	102,07±16,65	101,25±14,42	99,6±29,39	106,79±16,49	104,67±17,22
INR	0,99±0,08	1,01±0,09	0,99±0,07	0,98±0,1	0,98±0,08	0,99±0,09
glukóz (3,3-5,9 mmol/l)	5,59±1,41	5,63±1,34	5,92±1,37	5,99±1,64	5,83±1,15	6,26±2,28
össz. fehérje (60-80 g/l)	72,97±5,76	72,26±6,69	73,15±5,34	74,11±5,17	73,74±5,15	73,84±4,83
albumin (35-50 g/l)	45,29±2,92	43,68±2,92	45,31±2,58	44,78±2,08	45,01±2,63	44,29±2,71
össz. bilirubin (<17µmol/l)	14,65±8,78	15,4±9,83	13,82±8,13	14,37±10,1	13,7±8,04	14,55±11,04
direkt bilirubin (<3,4µmol/l)	2,65±1,53	2,82±1,25	2,6±1,53	2,4±1,28	2,55±1,38	2,32±1,26
vas (12,5-32 µmol/l)	17,16±6,76	17,68±6,44	16,26±4,58	15,63±4,56	17,91±7,83	16,89±5,74
transzferrin (2,0-3,6 g/l)	2,91±0,34	2,75±0,25	2,89±0,41	6,48±14,78	2,83±0,39	2,68±0,17
réz (13-24µmol/l)	17,97±11,22	14,64±1,97	13,6±2,94	21,94±27,97	13,98±2,6	14,04±3,16
cink (7,2-16,6 µmol/l)	12,72±1,54	11,98±3,97	11,8±1,63	12,21±1,24	12,36±1,78	12,26±1,13
25OH D3-vitamin (23-60 ng/ml)	20,25±4,5	25,17±7,53	25,75±4,52*	26,67±9,86*	20,92±4,68*	23,18667*

A vizsgált speciális markerek közül a citokinszintek változása emelendő ki. A két csoportban főként az adiponektin tendenciája különbözött. Az adiponektin és a leptin szintje megnövekedett közvetlenül a joghurt fogyasztása után a „hagyományos csoportban” (n=16 fő). Ezzel szemben a 8 hetes kezelés után az „ökológiai csoportban” (n=21 fő) az adiponektin szint szignifikáns csökkenését (12017,57-ről 8833,5 pg / ml-re, $p=0,03$) tapasztaltuk (34. és 35. ábra). A TNF-alfa ($52,06\pm 49,78\rightarrow 61,93\pm 58,67$ pg/ml, $p=0,54$) és IL-6 ($37,42\pm 35,89\rightarrow 19,48\pm 18,11$ pg/ml, $p=0,67$) szintek nem változtak szignifikánsan a kezelés hatására, illetve a mért értékek nagy szórást mutattak.

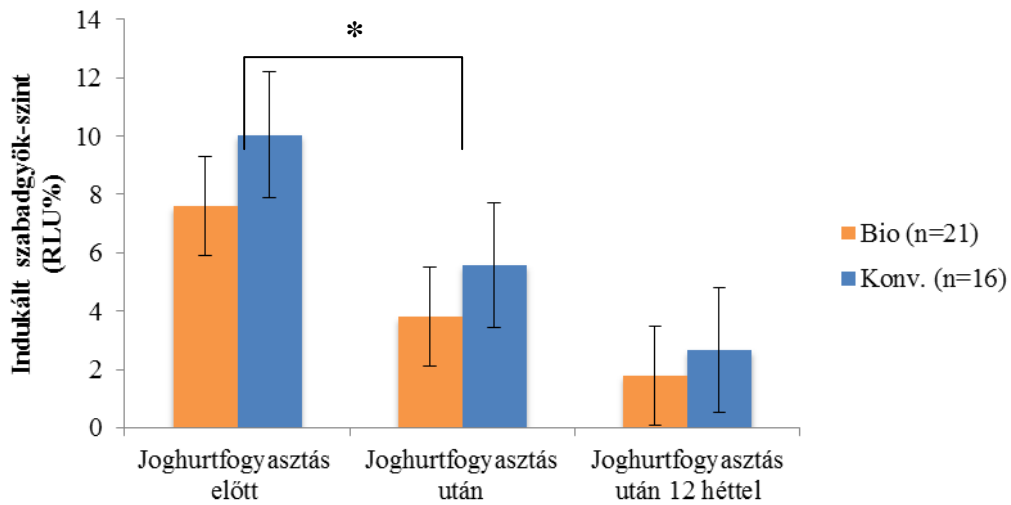


34. ábra: Adiponektinszint változása (*szignifikancia $p<0,05$)



35. ábra: Leptinszint változása (szignifikancia $p<0,05$)

A vizsgált redox-homeosztázist jellemző markerek közül az indukált szabadgyök-szint statisztikailag alacsonyabb volt ($p=0,02$) a joghurt fogyasztása után közvetlenül, a „hagyományos” ($n=16$ fő) és a „bio” csoportban egyaránt ($n=21$ fő) (36. ábra), majd tovább csökkent a 12 hetes utánkövetéskor ($p=0,01$), amely kedvező. Az antioxidáns védekező képességet jelző szabad szulfhidriltartalom ($0,38 \rightarrow 0,4$ mmol/l) és hidrogén donáló képesség ($27,5 \rightarrow 28,04$ Gátlás%) minimálisan változott a kezdeti állapothoz képest.



36. ábra: Indukált szabadgyök-szint változása (*szignifikancia $p < 0,05$)

A testösszetételben nem találtunk szignifikáns különbségeket a kezelés után (10. táblázat). A két csoportban lényegi különbség nem mutatkozott. Ugyanakkor kiemelendő, hogy a bio csoportban 10 betegnél, a hagyományos csoportban 12 betegnél mértünk testsúlycsökkenést ($-0,54 \pm 0,32 \text{ kg}$, $p=0,21$) a 8 hetes joghurtfogyasztás után.

10. táblázat: Testösszetétel-mérés változása mindkét csoportban (n=37 fő)
(szignifikancia $p < 0,05$)

Paraméterek (referencia tartomány)	Joghurt- fogyasztás előtt (n=37)	Joghurt- fogyasztás után (n=37)	Joghurt- fogyasztás után 12 hétrel (n=37)
testsúly (kg)	89,±15,5	88,59±15,38	88,43±15,78
magasság (cm)	168,±10,08	168,14±10,03	167,85±10,32
teljes testvíz (33,7-41,1 l)	42,39±8,6	41,85±8,5	41,43±8,81
fehérje (9,0-11,0 kg)	11,35±2,36	11,19±2,28	11,08±2,38
ásványi anyagok (2,47-3,81 kg)	3,9±0,83	3,82±0,8	3,77±0,84
testzsírtömeg (7,2-16,8 kg)	31,47±11,52	31,72±11,32	32,14±11,67
vázizomtömeg (25-30 kg)	32,27±7,11	31,81±6,93	31,44±7,23
BMI (20-25 kg/m ²)	31,61±5,4	31,46±5,31	31,49±5,55
testzsírszázalék (18-30%)	34,91±10,05	35,38±9,73	35,93±10,14
viscerális zsír terület (100 cm ²)	147,47±56,99	150,47±57,2	154,69±59,84
alapanyagcsere (kcal)	1615,48±254,66	1598,72±250,05	1585,91±259,57
derék-csípő arány (0,8-0,9)	0,96±0,06	0,98±0,05	0,99±0,06
csontok ásványianyag- tartalma (2,03-3,13 kg)	3,21±0,68	3,15±0,66	3,1±0,69

4.5. Új, egyszerű módszerek fejlesztése a májfibrózis stádiumának nem invazív megítélése céljából

Irodalmi adatok alapján és a munkánk során tapasztalt, fent részletezett rutinlaboratóriumi, citokin, redox-homeostasis, valamint fémelem analízis eredményeket látva nem találtunk egyetlen olyan biomarkert, módszert vagy pontrendszert, amely megbízhatóan jelezné a bél-máj tengely, illetve a redox-homeostasis eltéréseit.

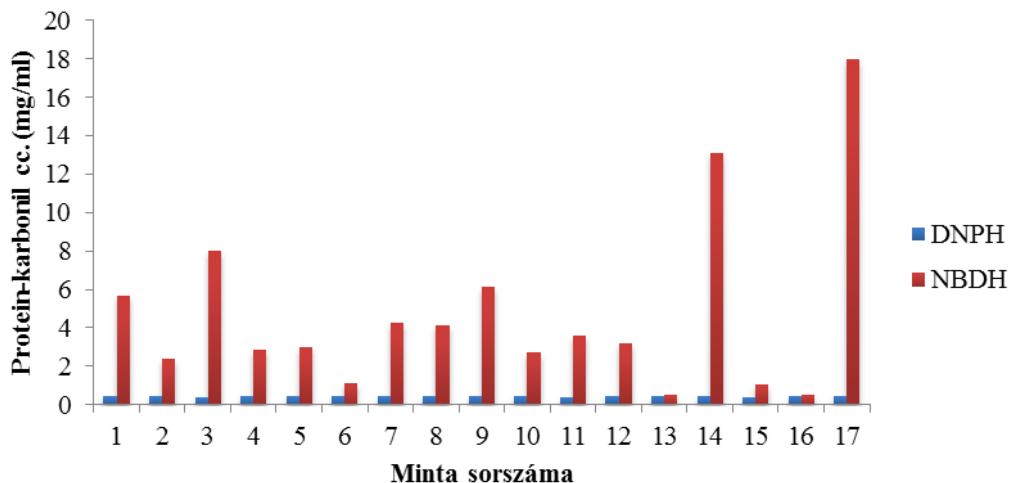
Eredményeinket felhasználva új, egyszerű, nem invazív módszert kerestünk és a saját kutatási céljainknak megfelelően módosítottuk.

4.5.1. Protein-karbonilcsoport meghatározása fluorimetriás módszerrel

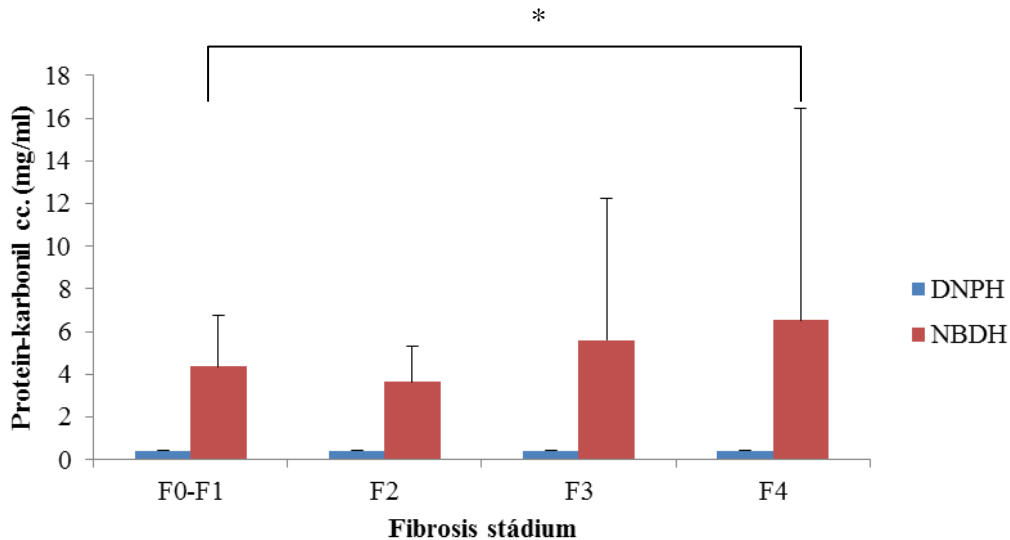
A módosított fluorimetriás módszerrel meghatározott protein-karbonil-koncentráció némely mintánál jelentősen eltért a DNPH módszerhez képest. A betegek vérplazma mintáit a shear wave elasztográfiával meghatározott májfibrózis mértékével hasonlítottuk össze.

Az NBDH módszerrel mért eredmények alapján szignifikáns különbségek mutatkoztak az F0-F1 és az F4 fibrosis stádiumok között ($p < 0,05$). (37. és 38. ábra)

Az NBDH-val végzett vizsgálatunk érzékenyebben jelzi a májkárosodás mértékét a DNPH módszerhez képest (189).



37. ábra: Protein-karbonil-koncentráció az egyes betegek vérplazma mintáiban



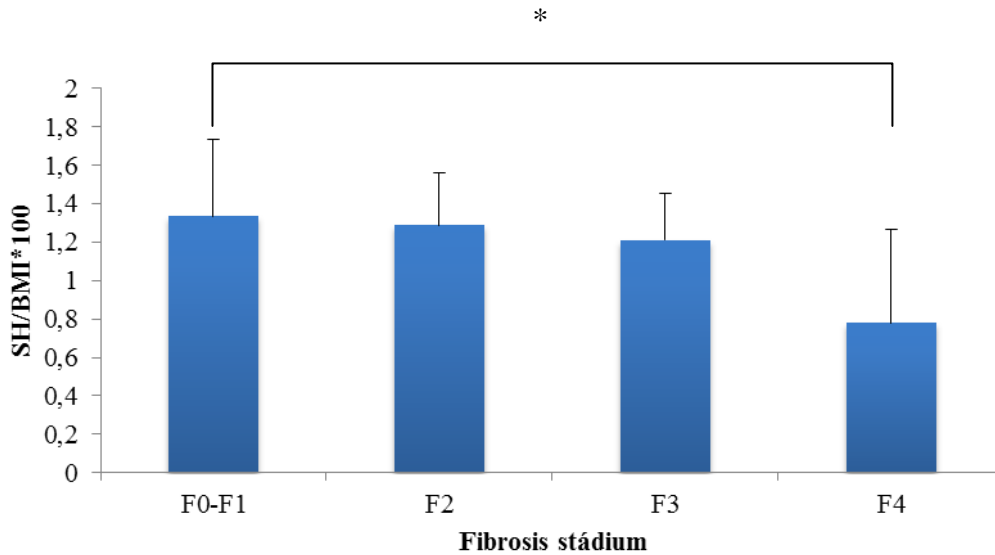
38. ábra: Vérplazma protein-karbonil-koncentráció különböző májfibrosis stádiumokban (*szignifikancia $p < 0,05$)

4.5.2. Új, LiFE (Liver Fibrosis Evaluation) faktor képzése a mért paraméterekkel NAFLD-ben szenvedő betegeknél

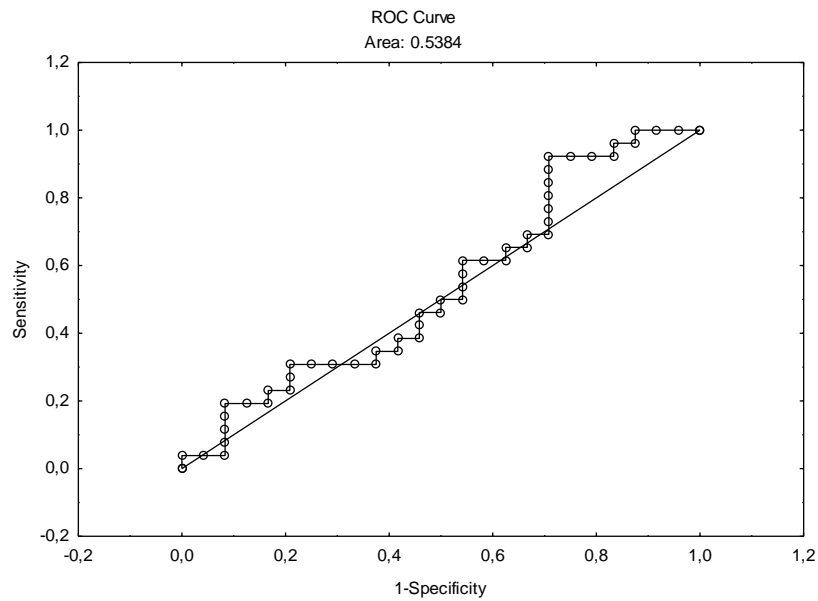
A különböző vizsgálatokban használt paraméterekkel új faktort hoztunk létre.

50, NAFLD-ben szenvedő betegnél (életkor = $49,4 \pm 13,3$ év, férfi = 28, nő = 22) új faktort képeztünk, a vérplazmában mért szabad szulfhidrilcsoport és a BMI felhasználásával. Az F4 stádiumú betegeknél szignifikánsan alacsonyabb értékeket számoltunk, mint F0-F1-ben ($p < 0,05$). (39. ábra) A szignifikáns májfibrosist ($\geq F2$ stádium) 61,54%-os szenzitivitással és 37,5%-os specificitással (PPÉ: 0,52, NPÉ: 0,47, AUROC: 0,5384, Odds Ratio:0,96) mutatja ki ($p:0,045$, 95% CI: 0,3681-0,7430, Likelihood ratio: 0,166, cut-off: 0,63, Youden Index:32%). (40. ábra)

LiFE faktor = $SH/BMI \cdot 100$



39. ábra: LiFE faktor változása különböző májfibrosis stádiumok között
 (*szignifikancia $p < 0,05$)



40. ábra: LiFE faktor alkalmazhatósága \geq F2 stádiumú májfibrosis kimutatására
 ROC görbe alapján (AUROC:0,538)

5. Megbeszélés

5.1. Mikotoxinok szerepe a tápláléklánc szempontjából

A mikotoxinok terjedése mezőgazdasági, állat-egészségügyi és élelmiszer-biztonsági problémát jelent világszerte. A különböző mikotoxinok szöveti toxicitást és karcinogenitást okoznak (192). A mikotoxinok metabolizmusának fő szervei a máj és a vesék, így az állati takarmányban lévő mikotoxinok bekerülhetnek az állati szövetekbe, különösen a májba, a vesébe, valamint madaraknál a tojásokba (193, 194).

Az emberek a mikotoxinokkal sokféle módon érintkeznek, ideértve a szájon át történő bejutást, az inhalációt és a bőrön keresztüli behatolást. A mikotoxinokkal történő expozíció leggyakoribb és legfontosabb útja a szennyezett gabonaalapú és állati eredetű élelmiszerek fogyasztása (195). Mivel a hosszan tartó bevitel során létrejövő toxikus hatások kivédése a tápláléklánc alsó szintjein lehetséges, elsődleges szempont a takarmányok, valamint a haszonállatok védelme a mikotoxikózis ellen.

A szárnyasok védekező rendszerét különböző táplálkozási stratégiákkal befolyásolhatjuk (194). Munkánk során vizsgáltuk a deoxinivalenollal és a zearalenonnal szennyezett takarmány, valamint az antioxidáns takarmány-adalékanyag, a máriatövis (*Silybum marianum*) hatását a májban a mikotoxikózis okozta oxidatív stresszre.

A kísérletben alkalmazott takarmány DON (4,9 mg / kg) és ZEA (0,66 mg / kg) szintje meghaladta az Európai Bizottság által megengedett határértékeket (DON: 1,75 mg/kg és ZEA: 0,35 mg/kg) (196), így biztosítottuk a rövid távú toxicitást.

Az oxidatív stressz fokozása kulcsfontosságú szerepet játszik számos mikotoxin toxicitási mechanizmusában (197-200). Ennek következtében létrejövő lipidperoxidáció a májkárosodás egyik legfontosabb patomechanizmusa, biomarkerei a malondialdehid és a konjugált dién szintje megemelkedik a különböző mikotoxinok által okozott májsejtkárosodásban. A DON és a ZEA hepatotoxikus hatásával kapcsolatos adatok azonban ritkák és ellentmondásosak. (199, 201). Állatkísérletünk során a malondialdehid-szint és a konjugált diénkoncentráció a májszövetben szignifikánsan alacsonyabb volt a mikotoxinnal kezelt csoportban. A máriatövissel (*Silybum marianum*) kiegészített tápot fogyasztó csoportban a malondialdehid és a konjugált dién koncentrációja hasonló volt a normál étrendet fogyasztó csoportéhoz. A mikotoxinnal

kezelt csoportban a magasabb szulfhidril-tartalom és redukálóképesség jelzi az antioxidáns szint növekedését, amely a szervezet fokozott antioxidáns választ mutatja a mikotoxin által kiváltott oxidatív stresszre (202). A redox-homeosztázis paramétereit (szulfhidril-tartalom, redukálóképesség) tovább javította a máriatövis-kiegészítés. Az oxigénből származó szabad gyököket kemilumineszcens módszerrel mértük. Eredményeink azt mutatják, hogy csökkent a szabad gyökök mennyisége a mikotoxinnal, és tovább csökkent a máriatövissel kezelt csoportban. Ezek az eredmények megerősítik a máj megemelkedett gyökfogó, illetve antioxidáns kapacitását, amelyet jelez a megnövekedett szabad szulfhidrilcsoport-tartalom és redukálóképesség.

Eredményeink alapján feltételezzük, hogy a rövid ideig tartó mikotoxin által kiváltott oxidatív stressz hatékony antioxidáns védekező választ indukál (megnövekedett redukálóképesség, gyökfogó kapacitás). Tehát szabadgyök-károsodást a máj kompenzálhatja, amely csökkent lipid-peroxidációhoz vezet (203).

A különféle májkárosító ágensek által okozott szabadgyök-felszabadulás máriatövis fogyasztásával megakadályozható. Ezt a hepatoprotektív és antioxidáns tulajdonságot a lipidperoxidáció gátlása, a glutationexpresszió, valamint a fehérjeszintézis fokozása (az RNS polimeráz I aktivitás stimulálása) és az immunsejtek aktivitásának növelése képezi (167). Eredményeink párhuzamosak azokkal az eredményekkel, amelyek arra utalnak, hogy a mikotoxin által kiváltott oxidatív stressz a májban aktiválja az enzimatikus antioxidáns rendszert, és ennek következtében csökken a lipidperoxidáció (67, 204). Egy korábbi vizsgálatban két antioxidáns tulajdonságú fehérjét (oxido-reduktáz aktivitású peroxiredoxin és redox-érzékeny chaperon protein) írtak le a vízimadarak zsírmájában. A GSH-konjugáció szerepet játszik a mikotoxinok méregtelenítésében a sejtekben (205, 206), illetve a glutation-redox rendszer hozzájárulhat a máj szabad gyökök által közvetített oxidatív károsodásának kivédéséhez (207). Eredményeinkben a megnövekedett szabad szulfhidril-csoport tartalom és redukálóképesség igazolják a glutation rendszer szerepét a mikotoxin által kiváltott májkárosodásban.

Szoros kapcsolatban áll a szervezet redox-homeosztázisával a fémelem-homeosztázis. Munkánk során eltéréseket találtunk a kacsamájak fémelem-koncentrációjában a különböző kezelésű csoportokban. Mindkét kezelt csoportban megfigyeltük a toxikus alumínium szintjének emelkedését. Az alumínium negatívan befolyásolja a növekedést,

a csontok mineralizációját és a foszfor / kalcium homeosztázisát (208). Munkánk során a mikotoxinnal szennyezett táplálékfogyasztás a kalciumkoncentráció emelkedését okozta, amelyet nem kompenzált a máriatövis-kezelés. Korábbi vizsgálatokban azonban a máriatövis protektív hatásáról számoltak be aflatoxin-B1 által okozott kalciumkoncentráció-változással szemben (209). A kalciumszint emelkedése mellett magasabb vasszint volt jellemző a kezelt csoportokban. A magasabb vaskoncentráció a májszövetben gyulladáshoz vezet, amelyet a máriatövis bioaktív vegyületei nem tudtak megakadályozni (210). A kezelt csoportokban megemelkedett rézszintet találtunk. A réz kétirányú hatásáról számoltak be korábbi tanulmányokban. Rézbevitel csökkentette a triglicerid-, valamint a koleszterin-szinteket mind a plazmában, mind a májszövetben, miközben megemelte a plazma AST- és ALT-szintjét (211). A mikotoxinnal szennyezett takarmányt fogyasztó állatokban csökken a tápanyagok emészthetősége is (212). A magnézium-, a kén-, a foszfor-, a mangán- és a cink-koncentráció alacsonyabb szintje a kezelt csoportokban azt is mutathatja, hogy a toxinszennyezés miatt megváltozhatnak a szignál-transzdukciós útvonalak (213), amely a máriatövis-kiegészítésben részesülő állatoknál is megfigyelhető volt.

A fent részletezett eltéréseket a szövettani vizsgálat eredményei is megerősítik. A toxinnal szennyezett tápot fogyasztó állatok csoportjában felsorolt károsodások enyhék és visszafordíthatóak. A májsejtek citoplazmájának vakuoláris degenerációja akkor következik be, amikor a máj lipidanyagcseréje érintett, amely a májsejtek metabolikus és méregtelenítő aktivitását befolyásolja (214, 215). A májkárosodás korai szakaszában számos adaptív metabolikus mechanizmust leírtak. A lipidek felhalmozódása a májsejtek citoplazmájában alapvető fontosságú lehet a máj normál regenerációjában (216). Emellett a trigliceridek felhalmozódása védő mechanizmus lehet a lipotoxicitás ellen (217). Összegezve, a bemutatott eredmények azt mutatják, hogy a máriatövis-kiegészítés normalizálhatja, vagy tovább fokozhatja az antioxidáns védelmet (a szabad szulfhidriltartalom, redukálóképesség növelése által) csökkentve a rövid távú, mikotoxinnal okozott oxidatív károsodást kacsamájban. A természetes, antioxidáns tulajdonságokkal rendelkező máriatövis ígéretes jelölt lehet a DON, ZEA vagy más hepatotoxikus mikotoxinok ellen.

5.2. Bél-máj tengely összefüggései gyulladásos bélbetegségben

A gasztrointestinalis rendszer eltérései és a májbetegségek kapcsolatának tanulmányozásához retrospektív vizsgálatot végeztünk, amelynek során 100 colitis ulcerosában szenvedő beteg klinikai rutinlaboratóriumi adatait és redox-paramétereit elemeztük. A mindennapi gyakorlatban használt májfunkciós paraméterek (AST, ALT, GGT, bilirubin, INR, vérlemezkeszám) nem adnak pontos képet a májkárosodás mértékéről. Az oxidatív stresszt vizsgáló módszerek segítségével a bélkárosodás során létrejövő redox-egyensúlyhiányról pontosabb képet kaptunk, amely a májműködéssel szorosan összefügg. Az oxidatív stressz jelentős terhet jelent a máj fiziológiás működésében (xenobiotikumok metabolizációja) és patofiziológiájában, és ezáltal a májbetegségek progressziójában. A redox-homeosztázis egyensúlyát számos tényező, egyéb szervek, szervrendszerek betegségei is befolyásolhatják.

A gyulladásos bélbetegék redox-homeosztázisa az autoimmun folyamatok, a malabszorpció, és a malnutríció következtében eltér az egészséges populációtól (176, 218). A krónikus gyulladás során károsodott bélfalon keresztül gyakran nehezített a táplálékból történő bioaktív hatóanyag-felvétel és hasznosulás. A fokozott oxidatív stressz, valamint a csökkent exogén vitamin- és ásványi anyag-felvétel jelentősen terheli a szervezetet, elsődlegesen a máj antioxidáns védelmi mechanizmusát. Eredményeink csökkent antioxidáns védelemről tanúskodnak mind a globális paraméterek (redukálóképesség, TAS), mind a glutation-peroxidáz enzimaktivitás esetében. A szuperoxid-diszmutáz aktivitásértéke emelkedett a gyulladásos folyamatokban. Ez az enzim a hősokk proteinek közé tartozik (176). A hidrogén-donor aktivitás meghatározásokkal kapott eredmények alacsonyabb értékeket mutattak az esetek többségében colitis ulcerosában, amely a betegek különböző táplálkozási szokásaival magyarázhatóak (219).

A plazmában és a vörösvértestben indukálható szabadgyök-szintek alacsonyabbak voltak a kontrollcsoporthoz képest. A plazmában mért értékek az aktuális állapotról nyújtanak információt, míg a vörösvértest-frakcióban mért értékek egy hosszabb időintervallumot tükröznek. E módszerekkel kapott eredmények jelentősen függenek a szervezetbe bejuttatott antioxidáns vegyületek koncentrációjától. A colitis ulcerosában szenvedő betegek protokoll szerint 5-aminosalicilsav, azathioprin és elemi diéta formájában antioxidáns (vitaminok) kezelésben részesültek. Az alkalmazott módszerek

a betegek gyógyszer és táplálkozás okozta redoxi változásait is tükrözhetik, ezért csak a többi vizsgált paraméterrel együtt adnak pontos képet a betegek redox-homeosztázisáról (184). Fontos megjegyezni, hogy a vizsgált időtartamban még nem terjedt el olyan mértékben az étrend-kiegészítők fogyasztása, mint napjainkban (219), amely további kihívást jelent a redox-homeosztázis tanulmányozásában, és nagymértékben befolyásolja az eredmények kiértékelését.

A májkárosodás becslésére további módszert jelent az epesavszintek meghatározása. Munkánk során csökkent epesavszinteket mértünk colitis ulcerosában az egészséges kontrollokhoz képest. Az epesavak koleszterinből képződnek a májmikroszómában a 7-alfa-hidroxiláz enzim hatására és az epével ürülnek. A bélből az enterohepatikus cirkuláció révén csaknem 90%-ban reabszorbeálódnak. Az epesavak élettani funkciója felületaktív hatásukon alapul. Emulgeálják a táplálékból származó lipideket, így könnyen hozzáférhetővé teszik azokat a lipázok számára (220). Az epesavak az endotoxinok detoxifikálásban is szerepet játszanak. A megkötött endotoxinok így nem jutnak a portalis áramlásba, nem terhelve a májat. A bélfal károsodásában azonban az epesavak enterohepatikus körforgása zavart szenved, csökkent szintjük nem képes a patogén bélflóra által termelt endotoxinok megváltoztatására. Az endotoxinok átjutva a bélfalon („leaky-gut”), bekerülve a portalis áramlásba, gyulladásos választ indukálnak a májban, amely tovább terheli a májműködést (46).

A károsodott bélfalon keresztül felszívódó, a táplálkozással, tápszerekkel, élelmiszer-kiegészítőkkal átjutó „bioaktív” komponensekről és azok kölcsönhatásairól kevés ismerettel rendelkezünk. Az esszenciális és toxikus fémionok ellenőrizetlenül kerülnek be a szervezetbe és jutnak el a májhoz. Az esszenciális fémionok számos enzim működéséhez elengedhetetlenek. Ugyanakkor a nehézfémek akkumulációja nagy koncentrációban gátolja az enzimaktivitásokat, befolyásolja az akut fázis proteinek szintézisét és a génexpressziót (176, 221).

A makro-rostanyagok fogyasztása gyakran okoz kellemetlen panaszokat IBD-ben, így bizonyos élelmiszerek kerülésére kényszerítik a betegeket (222, 223) (pl. káposztafélék, hüvelyesek, teljes kiőrlésű gabonafélék), ezzel is csökkentve a táplálkozással bevihető fontos bioaktív anyagok felvételét (pl. prebiotikumok, ásványi anyagok, polifenolos vegyületek, vitaminok, rostok) (224).

Az antioxidáns ételmi rostot alkotó anyagok kémiaiilag ételmi rost-polifenol komplexek (ligninek). Az antioxidáns hatás hátterében a feltevések szerint az áll, hogy ezek a növényi rostok jelentős mennyiségű polifenolos vegyületet tartalmaznak, amelyek a bélcsatornában, a vékonybélben zajló részleges lebontást, illetve a vastagbélben zajló bakteriális fermentációt követően felszabadulnak és fejtik ki antioxidáns hatásukat. Az ételmi rostok protektív hatással rendelkeznek a vastagbél-tumorok kialakulása szempontjából is. A bélben a rostok lebomlása során a csökkent pH gátolja a másodlagos epesavak képződését, és ezáltal azok tumorképződést indukáló hatását (38, 223). A rostanyagok mellett, hogy részben fermentálódhatnak, hatással vannak az epe enterohepatikus forgalmára, mivel részben megkötik azokat, másrészt a fermentációs folyamatok során az epesavak egy része is metabolizálódik. Az epesavas sók fokozott anyagcseréje viszont kihat a szervezet természetes ellenállóképességének fenntartására is (225).

Az epesavak koncentrációcsökkenése ebben a betegcsoportban prediktív jelentőségűnek tekinthető. Kiemelendő azonban, hogy a bél-máj tengely szoros kapcsolatának igazolásához, annak sokrétű, komplex patomechanizmusának megismeréséhez, valamint terápiás célpontok felderítéséhez további, prospektív tanulmányra volt szükségünk. A kötőszövetes átépülés stádiumának megítélésére a fibrosis pontszámokat redox módszerekkel vetettük össze.

5.3. Nem invazív módszerek alkalmazhatósága a biopsziával szemben

A krónikus májbetegségek progressziójának, a májelzsírosodás, -fibrózis stádiumának vagy a gyulladáshoz való aktivitás meghatározásához az optimális és a legjobb diagnosztikai módszer továbbra is a májbiopszia. Ez azonban fájdalmas eljárás, amely szövődmények kockázatával jár. Egyre több nem-invazív marker áll rendelkezésre a májkárosodás megítélésére (104). A különféle biomarkerek meghatározása ígéretes eredményeket hozott a korai tanulmányokban, a közelmúltban azonban néhány ellentmondásos eredményről is beszámoltak (226). A nem-invazív módszerek kérdése egyre több kutató figyelmét kelti fel, és a témáról gyakran publikálnak új tanulmányokat.

Jelen tanulmányunkban hét nem-invazív pontszámot, négy citokint és négy oxidatív stressz biomarkert vizsgáltunk a májfibrózis súlyossági fokának elkülönítésében, amelyeket shear wave elasztográfiái mérési eredményekhez hasonlítottunk, hogy globálisan alkalmazható fibrózis markert találjunk különféle etiológiájú májbetegségeknél.

Az alkalmazott pontszámok, az AAR, az APRI, a GUCI, a FiB-4 és a GAPRI szignifikáns összefüggést mutattak a fibrosis stádiumával, amely korrelált az irodalmi adatokkal. Ennek megfelelően hasznos és könnyen alkalmazható markerek lehetnek a klinikusok számára a májfibrózis kimutatására a mindennapi gyakorlatban, amennyiben a májbiopszia nem kivitelezhető, vagy magas kockázatú betegről van szó.

Tovább vizsgálva a lehetséges biomarkereket, citokinszinteket határoztunk meg. Ennek eredményeképpen megnövekedett leptinszintet találtunk előrehaladott májfibrózisban ($\geq F2$). A leptin, amely fontos adipokin, szabályozza a lipidfelhalmozódást, központi szerepet játszik a gyulladásban és az immunrendszer működésében parakrin vagy endokrin mechanizmusok révén. A leptin növeli az I-es típusú prokollagén expresszióját és erősíti a TGF- β hatását azáltal, hogy a máj csillagsejteken (HSC) található receptorokhoz kötődik, felerősíti a TIMP-1-et, aktiválja a MAP kinázt és a PI3K / Akt jelátviteli utakat, felerősíti az NF- κ B által közvetített gyulladáshoz való választ, stimulálja az angiogenezist a HSC-k vaszkuláris endoteliális növekedési faktorának fokozásával (101).

A másik, krónikus májbetegségek progressziójában fontos szerepet játszó citokin, a protektív adiponektin. Az adiponektin elnyomja a PDGF-BB-vel stimulált HSC-k proliferációját és migrációját, gyengíti a TGF- β 1 hatását, a fibrogén gének, például a

kötőszöveti növekedési faktor expresszióját (23). Az adiponektin szerepe a szénhidrát- és a lipidanyagcserében, valamint hepatoprotektív és gyulladáscsökkentő hatása szintén jól megalapozott (22, 227). Ennek ellenére vizsgálatunkban az adiponektin szintek nem mutattak szignifikáns korrelációt a fibrózis stádiumokkal, amelyet a betegek heterogenitásával magyaráztunk.

Vizsgálatunk során további ellentmondásos eredményeket kaptunk, míg az IL-6 szint enyhén emelkedett volt szignifikáns fibrózisban, addig csökkent TNF-alfa szintet találtunk ebben a csoportban. Korábbi vizsgálatok azonban jó összefüggést mutattak a citokinszintek és a fibrózisstádiumok között. Az IL-6 és a TNF-alfa magasabb szintje a májfibrózis jelenlétéhez társult (27, 28). A májgyulladást együttesen a pro-inflammatorikus gének fokozott expressziója határozza meg, amely minden etiológiában általános jelenség. A krónikus gyulladás fokozza a gyulladásgátló citokinek, például a TNF-alfa és az IL-6 termelését (28). Feltételezzük, hogy a vizsgált csoport néhány betegének antivirális terápiái (interferon, ribavirin) befolyásolták e két citokin plazmakoncentrációját (228)(214).

A redox-homeosztázis globális markerei azonban eltérést mutattak betegeinknél a különböző fibrózisstádiumok szerint. Csökkent hidrogén-donáló képességet és szabad szulfhidrilcsoport-tartalmat találtunk előrehaladott fibrózisban. Korábbi tanulmányok szerint májcirrhosisban szenvedő betegeknél megnövekedett prooxidáns markerek (szérum MDA) és csökkent antioxidáns szintek (vörösvérsejt-kataláz, SOD, csökkent vér GSH-érték) mérhetők. A vörösvértestek membránjai a cirrhotikus betegek redox-státusától függően is változnak, ami összefügg a magasabb nitrogén-monoxid-szinttel. A fent említett különbségek összefüggésben vannak a Child-Pugh pontszámmal (229). Az alkalmazott globális redox-markerek jobban jellemzik a szabad gyök antioxidáns egyensúlyt, mint egy kiválasztott marker (például MDA, enzimek), így jobb képet kaphatunk a teljes test redox-homeosztázisáról. Az irodalom szerint nem-invazív markerek alkalmazását kell előtérbe helyezni a májfibrózis stádiumainak kimutatására. Az ideális módszer nem drága, megbízható, reprodukálható eredményeket ad, amelyeket más krónikus betegségek és gyógyszerek nem befolyásolnak (226). A legfrissebb bizonyítékok azonban azt sugallják, hogy e technikák különböző kombinációi hasznosak lehetnek a májbiopszia alternatívájaként, amely morbiditással és

mortalitással járhat, valamint költséghatékony eszközként szolgál a szubklinikai tüneteket mutató betegek azonosítására (104).

5.4. Bélflóra valamint a probiotikumok szerepe a kezelés kiegészítéseként NAFLD-ben

Világszerte emelkedik a metabolikus szindróma előfordulása, ezzel párhuzamosan a nem alkoholos zsírmájbetegség (NAFLD) prevalenciája is nő. Az NAFLD a krónikus májbetegségek egyik leggyakoribb oka a nyugati országokban, amely az előrejelzések szerint 2030-ra a májátültetések leggyakoribb indikációja lesz (3). Az NAFLD terápiája jelenleg nem megoldott. Kezelése elsősorban az életmód komplex megváltoztatásán (étrendmódosítás, a bevitt energia csökkentése, testmozgás növelése) alapszik. Ezen tényezők hathatnak a bélflóra összetételére, metabolikus aktivitására is (191).

Az oxidatív stressz szerepe az NAFLD patogenezisében megalapozott. Ezenkívül a bél mikrobiom és az NAFLD közötti összefüggést széles körben ismertették korábbi tanulmányok. A probiotikus termékek lehetséges kiegészítő terápiaként szolgálhatnak a betegségben. Egyik előnyös tulajdonságuk, hogy fogyasztásuk az oxidatív stressz csökkenését eredményezi antioxidáns tulajdonságukkal (136, 140, 230). Vizsgáltuk, hogy az egyes joghurtok milyen antioxidáns kapacitással rendelkeznek, valamint összehasonlítottuk az ökológiai gazdálkodásból származó és hagyományos módon előállított joghurtokat redox-markerekkel. Eredményeink azt mutatták, hogy az ökológiai gazdálkodásból származó joghurtok kedvezőbb antioxidáns tulajdonsággal rendelkeztek (magasabb összpolicfenol tartalom, hidrogén-donáló képesség, scavengerkapacitás). Ugyanakkor kiemelendő, hogy a különböző joghurtok között csoporton belül nagy eltérések mutatkoztak, amelyet befolyásolhatott az eltérő származási hely, gyártási folyamat, termékben lévő csíraszám, „polcidő” (gyártási idő és felhasználás közötti időintervallum) (231). Klinikai tanulmányban kíséreltük meg a két legnagyobb antioxidáns kapacitással, azonos beltartalmi értékekkel bíró ökológiai és konvencionális joghurt hatását vizsgálni és összehasonlítani NAFLD-ben szenvedő betegeknél.

Munkánk során elsősorban a bélflóra módosító kezelés rövid távú hatását vizsgáltuk. A klinikai paraméterekben tapasztalt minimális változás háttérében elsősorban a rövid kezelési időtartam, a nem kellően homogén betegcsoport, valamint az alacsony esetszám állhatott. Kiemelendő továbbá, hogy kereskedelmi forgalomban kapható élelmiszerek fogyasztásától nagymértékű klinikai változás nem várható el rövidtávon.

Másik fontos kérdésfelvetésünk a tanulmány során, hogy az ökológiai gazdálkodásból származó joghurtfogyasztás kedvezőbb-e a hagyományosan előállított tejtermékekhez

képest, nem igazolódott, nem volt klinikailag szignifikáns különbség az ökológiai és a hagyományos joghurt fogyasztása között. Eredményeink arra utalhatnak, hogy az adiponektin megfelelő biomarker lehet az NAFLD probiotikus kezelésének követésére. A bélflóra egyensúlyának helyreállítása összességében kedvezően hathat a betegség lefolyása, valamint további társbetegségek, szövődmények kialakulásának megelőzése szempontjából. Munkánk alapul szolgálhat a jövőbeni tanulmányokhoz, amelyek tisztázzák a probiotikus termékek fogyasztása és az egészségügyi hatások közötti kapcsolatot.

A probiotikus, fermentált élelmiszerek, elsősorban a tejtermékek egyre nagyobb hangsúlyt kapnak krónikus betegségek kiegészítő kezelése kapcsán a bélflóra befolyásolása miatt. Egészségre gyakorolt pontos szerepük azonban vitatott a betegkövetés nehézségei miatt. A tanulmányba bevonásra került betegeknek a rutinparaméterek nem szignifikáns változásait észleltük. A transzamináz-szintek enyhe emelkedésének klinikai jelentősége csekély (20). A máj szintetikus funkcióját jelző bilirubin, prothrombin és albuminszintek lényegében változatlanok voltak. A betegség patogenezisében fontos szerepet játszó (232, 233) LDL-szint minimális csökkenését tapasztaltuk mindkét csoportban a kezelés után, változatlan összkoleszterin-szint mellett, amely a vérlipidprofil kedvezőbb összetételét jelentheti a betegségben.

Az általunk vizsgált speciális markerek közül az adipocitokinek tendenciózus változása emelendő ki. Számos tanulmány támasztja alá, hogy a májelzsírosodásban fontos szerepet játszik a zsírszövet (22). A zsírszövet diszfunkcióját a megnövekedett leptinszint és csökkent adiponektin jelzi (23). Tanulmányunkban a joghurtfogyasztás után észlelt leptinszint-emelkedés kedvezőtlen mindkét csoportban, míg a konvencionális csoportban tapasztalt adiponektinszint-emelkedés előnyös lehet (234). A vizsgálatban alkalmazott joghurtok eltérő zsírsavösszetétele (többszörösen telítetlen zsírsavtartalom: hagyományos joghurtban 0,16g/100g; biojoghurtban 0,15g/100g) befolyásolhatta zsírszövet adipocitokin termelését (227). Az adiponektinről ismert, hogy elősegíti a vázizom glükózfelvételét és zsírsav-oxidációját, valamint gátolja a glükoneogenezist, a lipogenezist és a máj elzsírosodását (235). Magasabb szérumleptinszintek ezzel szemben kockázati tényezői lehetnek a kardiovaszkuláris megbetegedések, valamint a leptin-rezisztencia kialakulásának NAFLD-ben (236).

Kritikus szerepet játszik az NAFLD progressziójában a pro- és antiinflammatorikus válaszok közötti egyensúlyhiány. A gyulladással járó sejtek toborzása és aktivációja révén oxidatív stressz jön létre és fokozódik a lipidfelhalmozódás a hepatocitákban. A steatosis zavart okoz a mitokondriális aktivitásban, valamint az antioxidáns rendszerekben is (237). További gyulladással járó aktivitás fokozódás tapasztalható a bélflóra megváltozása során. A bakteriális endotoxinok átjutva a bélfalán, bekerülve a portális áramlásba, gyulladással járó választ indukálnak a májban, amely további oxidatív stresszt jelent a májsejteknek. A károsodott bélfalán keresztül gyakran nehezebb a táplálékból történő bioaktív hatóanyag-felvétel és hasznosulás. A fokozott oxidatív stressz, valamint a csökkent exogén vitamin- és ásványianyag-felvétel jelentősen terheli a szervezetet, elsődlegesen a máj antioxidáns védelmi mechanizmusát (231). Az a pre-, vagy probiotikum, amely hozzájárul a bélflóra természetes harmóniájának helyreállításához, csökkentheti a termelődő reaktív oxigén gyököket, illetve javíthatja a szervezet antioxidáns védekező mechanizmusát. Tanulmányunk során az indukált szabadgyök-szint statisztikailag alacsonyabb volt mindkét joghurtfogyasztás alatt és az utánkövetés időpontjában is. A joghurtfogyasztás során észlelt antioxidáns kapacitásfokozódás, a szignifikánsan magasabb D-vitamin-szint kedvezően hathat a betegség lefolyására. A D-vitamin-hiány ugyanis összefüggést mutat gyulladással járó folyamatokkal, az elhízás, az inzulinrezisztencia, a diabetes mellitus, a hipertónia, a hyperlipidaemia és a perifériás érbetegség kialakulásával (238).

Az NAFLD a metabolikus szindróma része, amely magában foglalja a centrális hasi elhízást és a testösszetétel eltéréseit. A zsírszövet eloszlása nagyobb szerepet játszik az inzulinrezisztencia kialakulásában a betegség során, mint a gyakran alkalmazott mutató, a testtömegindex (239). Munkánkban a testösszetétel-mérés során nem tapasztaltunk változást a joghurtfogyasztás hatására, amelyet a betegek életmódjával, táplálkozási szokásaival magyarázunk. Kiemeljük azonban a résztvevőknél mért visceralis zsírszövet relatív eloszlását, a magasabb testzsír-százalékot, testtömeg-indexet, derék-csípő arányt. Ezen nem-invazív mutatók klinikai értékelése, monitorizálása fontos a későbbi szövődmények, illetve társbetegségek kialakulása szempontjából is.

5.5. Módosított fluorimetriás módszer az oxidatív stresszt jellemző protein karbonil kimutatására, valamint új, nem invazív faktor a májfibrózis megítélésére

Felmerül, hogy a redox-homeosztázist jellemző szabad szulfhidrilcsoport meghatározás helyett egy másik módszer alkalmasabb lenne-e a fehérjék oxidatív károsodásának megítélésére. Emiatt új, egyszerű módszert fejlesztettünk tovább a fehérjék karbonilcsoportjainak meghatározására. Az oxidatív stressz fehérje-karbonil képződéséhez vezethet, amely a celluláris fehérje-oxidáció miatt képződik patológias folyamatok során. A fehérjék karbonil-tartalmának számszerűsítése hasznos jelzője az oxidációs fehérje károsodásnak (243). Tartós oxidatív stressz következtében zsírszöveti diszfunkció jön létre sok szövetben, így a májban is. E mechanizmus révén képződő reaktív lipidek a 4-hidoxi-nonenál és a 4-hidroxihexanál. A lipid-aldehidek erősen elektrofilek és hajlamosak a lizin, a hisztidin és a fehérjék cisztein részéhez kötődni, amelynek során fehérjeaddukt-képződés, illetve fehérje karbonilezés jön létre. A reaktív lipid-aldehidek eliminációja egy aldehid-dehidrogenáz 2-függő oxidáció, aldoketoreduktáz redukció és GSH S-transzferáz segítségével történő glutationiláció során történik. A fokozott oxidáció csökkent GSH-szintekhez vezet, amely befolyásolja a szervezet antioxidáns védekező mechanizmusait, a mitokondriális stresszt és az adipokinek szekrécióját (244).

Több biológiai vizsgálat áll rendelkezésre, beleértve a fluorimetriás, spektrofotometriás, és immunológiai módszereket is a fehérje-karbonilezés mennyiségi meghatározására humán szövetekben és testnedvekben, azonban ezek számos mosási lépést tartalmaznak, így az eredmények változékonyságát eredményezi. A fehérje-karbonilok kimutatására a leggyakrabban a 2,4-dinitrofenilhidrazin-nal (DNPH) történő fluoreszcens hidrazonszármazék képződése során kerül sor. Az általunk ismertett módszer a fehérjék karboniltartalmának a 7-hidrazino-4-nitro-benzo-2,1,3-oxadiazollal (NBDH) való reakcióján alapul (189). Munkánk során az ezzel a módszerrel meghatározott eredményeket a DNPH (2,4-dinitrofenol-hidrazin) módszerrel kimutatott protein-karbonil mennyiséghez hasonlítottuk, valamint vizsgáltuk alkalmazhatóságát a májfibrózis kimutatásában. Bár a fluorimetriás módszerrel (NBDH) meghatározott protein-karboniltartalom jelentősen eltért a standard spektrofotometriás módszerrel (DNPH) kapott értékektől, ugyanakkor szignifikáns különbségek mutatkoztak a

fibrózisstádiumok tekintetében. Az új, nem invazív teszt lehetővé teszi az előrehaladott fibrózisban (F4) szenvedő betegek azonosítását (AUROC: 0,81), könnyen elérhető, olcsó és könnyen reprodukálható, felválthatja a drága és / vagy invazív módszereket a májfibrózis felmérésére, illetve a betegség progressziójának vagy regressziójának nyomon követésére.

Eredményeink összességében arra utalnak, hogy a különböző biomarkerek klinikai jelentőségére korlátozódó mérések önmagukban nem informatívak, emiatt új faktort képeztünk az általunk vizsgált mutatókkal. A modell 2 változó kombinációjából állt, amelyeket szignifikáns fibrózisú és anélküli NAFLD-vel diagnosztizált betegek összehasonlító elemzésével választottunk ki: szabad plazma szulfhidrilesoport és testömegindex. Ezekkel a változókkal összeállítottunk egy egyszerű faktort, amely a szignifikáns fibrózis kialakulására nagyon alacsony kockázatú betegek kiválasztására irányult. Az általunk LiFE-faktornak nevezett pontszámmal a szignifikáns fibrózis ($\geq F2$) 61,54%-os szenzitivitással és 37,5%-os specificitással mutatható ki NAFLD-ben. Ezek az értékek azonban a szignifikáns fibrózis kimutatására még nem elegendők az irodalomban fellelhető modellekkel szemben. Ennek a pontrendszernek a pontossága nem közelíti meg a nemrégiben közölt, kifinomultabb változókon alapuló modellekét, azonban egyszerűbben meghatározható változókat alkalmaz. A korábbi tanulmányokban javasolt változók hasznos eszközök kutatási célokra, és diagnosztikus értékük kiváló szignifikáns fibrózis meghatározására vagy kizárására, azonban hasznosságukat korlátozza, hogy a prediktív markerek egy részét (például alfa-2 makroglobulin, haptoglobin vagy apolipoprotein A1) a legtöbb központban nem alkalmazzák a klinikai gyakorlatban költségességük miatt (240, 241). A beválogatott betegeknél szignifikáns fibrózis az esetek 52% -ában volt jelen, illetve 54%-a rendelkezett 30-nál magasabb testömeg-indexszel, amely egy esetleges betegség-spektrumhoz áll közel. Ha azt vesszük figyelembe, hogy a kohorsz szelekciós torzítást mutat egy előrehaladott betegség irányába (NASH), akkor a májbiopszia e betegek több mint felénél elkerülhető lehet nem invazív módszer alkalmazásával. Vizsgálatunk korlátainak tekinthető a változók kiválasztása és a szignifikáns fibrózis kimutatásának viszonylagos pontatlansága. A modell nem volt elég pontos a szignifikáns fibrózis kimutatásához. Klinikai szempontból elfogadhatatlan pozitív prediktív értéket adott a fibrózis kimutatására (0,52). Ennek javítása érdekében további paraméterek alkalmazása válhat

szükségessé. Testösszetétel-mérés a betegeknél (például testzsírszázalék, visceraliszírtömeg) hasznos lehet a testtömegindex helyettesítésében, amely pontosabban jelezheti a zsírszöveti diszfunkciót NAFLD-ben, amely összefüggést mutat a betegség előrehaladásával (242).

Bár az eredményeinket nagyobb esetszámú vizsgálatokkal és más központoknak is igazolniuk kell, úgy gondoljuk, hogy ezek az új módszerek széles körben alkalmazhatóak a klinikai gyakorlatban, különösen közösségi alapú megközelítésben. A jövőbeli vizsgálatok kulcsa annak meghatározása, hogy mely markerek kombinációja a legmegbízhatóbb a krónikus májbetegeknél a fibrózis értékeléséhez és mely esetekben szükséges továbbra is a biopszia.

6. Következtetések

Komplex munkánk alapján a májbetegségek patomechanizmusában a bél-máj tengely szignifikáns szerepét megerősítettük mind humán, mind állatkísérletben új vizsgálo módszerek alkalmazásával.

1. A táplálkozási láncban megjelenő mikotoxinok által okozott redox- és fémelem-homeosztázis változásait igazoltuk kacsák májszövetében, amely kivédhető az állati takarmányozás természetes antioxidánsokkal történő kiegészítésével, ezáltal javítható az élelmiszerbiztonság.
2. Retrospektív tanulmányban megerősítettük, hogy a bél-máj tengely fontos mediátorai az epesavak. Colitis ulcerosában az epesavak enterohepatikus körforgásában létrejövő zavar, valamint a redox-homeosztázis eltérései jelentős terhet jelentenek a májműködésre.
3. Az általunk vizsgált laboratóriumi paraméterek, biomarkerek, pontrendszerk közül több is (szabad szulfhidril tartalom, leptin, IL-6) hasznos nem invazív eljárásnak bizonyult a krónikus májbetegségek klinikai megítélésére, a patomechanizmus vizsgálatára, és a terápia monitorozására.
4. A bélflórát módosító joghurtfogyasztás hatását az adipocitokinek változásai jellemezték a legjobban a vizsgált rutinlaboratóriumi, valamint testösszetétel-mérés paraméterei közül. A joghurtfogyasztás kedvezően hatott a betegek redox-homeosztázisának helyreállításában.
5. A biomarkerek felhasználásával új pontszámot (LiFE faktor) alkottunk a májfibrosis jellemzésére NAFLD-ben. A teszt jellemzői alapján az így előállított új pontszám végül azonban mégsem látszott alkalmasnak F2 vagy annál előrehaladottabb májfibrosis kimutatására.
6. A szabadgyökös károsodást jellemző protein-karbonilcsoportok meghatározásához egyszerű vizsgálo módszert fejlesztettünk tovább, amely jobban jellemzi a májfibrozis mértékét a májbetegség előrehaladtával, mint a DNPH eljárás.

7. Összefoglalás

A kutatás során bemutatásra kerültek azok a kulcselemek, amelyek hangsúlyozzák a bél egészségének megváltozása és a májkárosodás közötti kritikus kölcsönhatásokat az emberi szervezetben. A bél mikrobiális összetételét és működését befolyásoló zavaró tényezők lehetnek a genetikai háttér, az étrend, egyéb környezeti hatások (vegyi anyagok és antibiotikumok expozíciója), valamint a gazdaszervezet mentális egészségi állapota (stressz). A bél-máj tengely zavara meghatározó a májbetegségek patogenezisében. Az a pre-, vagy probiotikum, amely hozzájárul a bélflóra természetes harmóniájának helyreállításához növelheti a gazdaszervezet egészségét elősegítő hatásokat.

A probiotikumok számos jótékony egészségügyi hatásai ismertek, ezek közül kiemelendő, hogy antioxidáns aktivitást mutathatnak és csökkenthetik az oxidáció okozta szervkárosodásokat. A probiotikumok oxidációval szembeni ellenállóképességét, valamint a befolyásoló mechanizmusokat azonban nem ismerjük megfelelően. Emiatt fontos a probiotikus baktériumok redox-homeosztázisra kifejtett hatásának vizsgálata. A jelen dolgozatban a probiotikumok antioxidáns mechanizmusait tekintettük át az antioxidáns rendszer javítására és a reaktív oxigéngyök-képződés csökkentésére való képességük szempontjából, valamint vizsgáltuk hatásukat nem alkohol okozta zsírmájbetegségben.

E tanulmány megállapításai fontos kiegészítést jelentenek továbbá a nem invazív diagnosztikai módszerekkel kapcsolatos irodalmi adatokhoz.

Eredményeink jól tükrözik a májbetegségek progresszióját. A redox-homeosztázis romló paraméterei tovább erősítik a diagnózist. A jövőben a többpontos rendszerek (például a Baveno kritériumok, SAFE biopszia vagy a Leroy algoritmus) kombinálása jelenthet megoldást a korai fibrózis felismerésére, ezáltal elősegítve a terápiás döntések meghozatalát vagy a cirrhosis felderítését, a szövődmények előrejelzését és a májbiopszia szükségességének elkerülését.

Az általunk továbbfejlesztett új módszer (NBDH) a protein-karbonil kimutatására hasznos, egyszerű, olcsó, reprodukálható, non-invazív jelzője lehet a krónikus májbetegségek során létrejövő oxidatív károsodásnak. A továbbiakban nagyobb esetszámú vizsgálattal tervezzük a kutatás folytatását.

8. Summary

In summary, my dissertation presented the key elements that emphasize the critical interactions between changes in intestinal health and liver damage in the human body.

Disruptors that affect the microbial composition and function of the Gut can be diet, environmental effects (exposure to chemicals and antibiotics), genetic background, and the mental health of the host (stress). Gut-liver axis disorder is widely involved in the pathogenesis of liver disease. A pre- or probiotic that contributes to the restoration of the natural harmony of the intestinal flora can increase the health-promoting effects of the host. A number of health benefits of probiotics are known, of which they may show antioxidant activity and reduce organ damage caused by oxidation. However, the oxidation resistance of probiotics and the mechanisms of action are not well understood. For this reason, it is important to investigate the effect of probiotic bacteria on redox homeostasis.

In the present dissertation, we reviewed the antioxidant mechanisms of probiotics in terms of their ability to improve the antioxidant system and reduce reactive oxygen radical formation, and investigated their effects in non-alcoholic fatty liver disease.

The findings of this study are also an important complement to the literature data on non-invasive diagnostic methods. Our results support the importance of pathological processes in the progression of liver disease. The parameters of redox homeostasis further confirm the diagnosis. In the future, a combination of multipoint systems (e.g., Baveno criteria, SAFE biopsy, or Leroy algorithm) could provide a solution to detect early fibrosis, thereby facilitating therapeutic decisions or detecting cirrhosis, predicting complications, and avoiding the need for diagnostic biopsy.

The new method we have developed (NBDH) for the detection of protein carbonyl may be a useful, simple, inexpensive, reproducible, non-invasive indicator of oxidative damage in chronic liver disease. In the future, we plan to continue the research with a larger number of cases.

9. Irodalomjegyzék

1. Liu Z, Jiang Y, Yuan H, Fang Q, Cai N, Suo C, et al. The trends in incidence of primary liver cancer caused by specific etiologies: Results from the Global Burden of Disease Study 2016 and implications for liver cancer prevention. *Journal of Hepatology*. 2019;70(4):674-683.
2. Liangpunsakul S, Haber P, McCaughan GW. Alcoholic Liver Disease in Asia, Europe, and North America. *Gastroenterology*. 2016;150(8):1786-1797.
3. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet (London, England)*. 2018;392(10159):1789-1858.
4. Moon AM, Singal AG, Tapper EB. Contemporary Epidemiology of Chronic Liver Disease and Cirrhosis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2020;18(12):2650-2666.
5. Su Y, Chen YP, Cheng YF, Wen C, Zhou YM. Effects of Modified Palygorskite Supplementation on Egg Quality and Mineral Element Content, and Intestinal Integrity and Barrier Function of Laying Hens. *Biological Trace Element Research*. 2018;186(2):529-537.
6. Horvath G, Gerlei Z, Gervain J, Lengyel G, Makara M, Par A, et al. [Diagnosis and treatment of chronic hepatitis B and D. National consensus guideline in Hungary from 22 September 2017]. *Orvosi Hetilap*. 2018;159(Suppl 1):24-37.
7. Urbanek P, Kristian P, Makara M, Hunyady B, Tomaszewicz K. Epidemiology of HCV infection in the Central European region. *Clinical and Experimental Hepatology*. 2016;2(1):2-6.
8. Calvaruso V, Cabibbo G, Cacciola I, Petta S, Madonia S, Bellia A, et al. Incidence of Hepatocellular Carcinoma in Patients With HCV-Associated Cirrhosis Treated With Direct-Acting Antiviral Agents. *Gastroenterology*. 2018;155(2):411-421.e4.
9. Spearman CW, Dusheiko GM, Hellard M, Sonderup M. Hepatitis C. *Lancet (London, England)*. 2019;394(10207):1451-1466.

10. Halmos T, Suba I. [Non-alcoholic fatty liver disease, as a component of the metabolic syndrome, and its causal correlations with other extrahepatic diseases]. *Orvosi Hetilap*. 2017;158(52):2051-2061.
11. Estes C, Razavi H. Modeling the epidemic of nonalcoholic fatty liver disease demonstrates an exponential increase in burden of disease. *Hepatology*. 2018;67(1):123-133.
12. Younossi Z, Tacke F, Arrese M, Chander Sharma B, Mostafa I, Bugianesi E, et al. Global Perspectives on Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2019;69(6):2672-2682.
13. Peacock A, Leung J. Global statistics on alcohol, tobacco and illicit drug use: 2017 status report. *Addiction*. 2018;113(10):1905-26.
14. Sheron N. Alcohol and liver disease in Europe--Simple measures have the potential to prevent tens of thousands of premature deaths. *Journal of Hepatology*. 2016;64(4):957-967.
15. Ferreira-Borges C, Rehm J, Neufeld M, Shield K, Manthey J, Probst C, et al. Status report on alcohol consumption, harm and policy responses in 30 European countries 2019. (<http://www.euro.who.int/en/alcoholSR2019data>)
16. Méndez-Sánchez N, Valencia-Rodríguez A, Vera-Barajas A, Abenavoli L, Scarpellini E, Ponciano-Rodríguez G, et al. The mechanism of dysbiosis in alcoholic liver disease leading to liver cancer. *Hepatoma Research*. 2020;6 (5).
17. Bedogni G, Nobili V, Tiribelli C. Epidemiology of fatty liver: an update. *World Journal of Gastroenterology*. 2014;20(27):9050-9054.
18. Seth D, Haber PS, Syn WK, Diehl AM, Day CP. Pathogenesis of alcohol-induced liver disease: classical concepts and recent advances. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2011;26(7):1089-1105.
19. Hagymási K, Lengyel G, Tulassay Z. A nem alkoholos zsírmáj betegségről 2013-ban. *Magyar Belorvosi Archívum*. 2013;66(4):185-191.
20. Gusdon AM, Song KX, Qu S. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathogenesis and Therapeutics from a Mitochondria-Centric Perspective. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014;2014:637027.

21. Cobbina E, Akhlaghi F. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) - pathogenesis, classification, and effect on drug metabolizing enzymes and transporters. *Drug Metabolism Reviews*. 2017;49(2):197-211.
22. Nier A, Huber Y, Labenz C, Michel M, Bergheim I, Schattenberg JM. Adipokines and Endotoxemia Correlate with Hepatic Steatosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Nutrients*. 2020;12(3).
23. Saxena NK, Anania FA. Adipocytokines and hepatic fibrosis. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2015;26(3):153-161.
24. Longo M, Zatterale F, Naderi J, Parrillo L, Formisano P, Raciti GA, et al. Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(9).
25. Hagymási K, Lengyel G. Nem alkoholos steatosis/steatohepatitis - 2010. *Orvosi Hetilap*. 2010;115(47):1940-1945.
26. Cichoż-Lach H, Michalak A. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World Journal of Gastroenterology*. 2014;20(25):8082-8091.
27. Barrett S, Collins M, Kenny C, Ryan E, Keane CO, Crowe J. Polymorphisms in tumour necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, interleukin-10, interleukin-6, interferon-gamma, and outcome of hepatitis C virus infection. *Journal of Medical Virology*. 2003;71(2):212-218.
28. Neuman MG, Maor Y, Nanau RM, Melzer E, Mell H, Opris M, et al. Alcoholic Liver Disease: Role of Cytokines. *Biomolecules*. 2015;5(3):2023-2034.
29. Auger C, Alhasawi A, Contavadoo M, Appanna VD. Dysfunctional mitochondrial bioenergetics and the pathogenesis of hepatic disorders. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2015;3:40.
30. Attallah AM, Omran MM, Farid K, El-Bendary M, Emran TM, Albannan MS, et al. Development of a novel score for liver fibrosis staging and comparison with eight simple laboratory scores in large numbers of HCV-monoinfected patients. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*. 2012;413(21-22):1725-1730.
31. Forbes SJ, Russo FP, Rey V, Burra P, Rugge M, Wright NA, et al. A significant proportion of myofibroblasts are of bone marrow origin in human liver fibrosis. *Gastroenterology*. 2004;126(4):955-963.

32. Gressner OA, Weiskirchen R, Gressner AM. Biomarkers of liver fibrosis: clinical translation of molecular pathogenesis or based on liver-dependent malfunction tests. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*. 2007;381(2):107-113.
33. Elpek GO. Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis: An update. *World Journal of Gastroenterology*. 2014;20(23):7260-76.
34. Bischoff SC, Barbara G, Buurman W, Ockhuizen T, Schulzke JD, Serino M, et al. Intestinal permeability--a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterology*. 2014;14:189.
35. Boursier J, Diehl AM. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and the Gut Microbiome. *Clinics in Liver Disease*. 2016;20(2):263-275.
36. Lv LX, Fang DQ, Shi D, Chen DY, Yan R, Zhu YX, et al. Alterations and correlations of the gut microbiome, metabolism and immunity in patients with primary biliary cirrhosis. *Environmental Microbiology*. 2016;18(7):2272-2286.
37. Zhao HY, Wang HJ, Lu Z, Xu SZ. Intestinal microflora in patients with liver cirrhosis. *Chinese Journal of Digestive Diseases*. 2004;5(2):64-67.
38. Bertok L. [Bile acids and endotoxins: physico-chemical defense of the body]. *Orvosi Hetilap*. 1999;140(1):3-8.
39. Sabate JM, Jouet P, Harnois F, Mechler C, Msika S, Grossin M, et al. High prevalence of small intestinal bacterial overgrowth in patients with morbid obesity: a contributor to severe hepatic steatosis. *Obesity Surgery*. 2008;18(4):371-377.
40. Tripathi A, Debelius J, Brenner DA, Karin M, Loomba R, Schnabl B, et al. The gut-liver axis and the intersection with the microbiome. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2018;15(7):397-411.
41. Ridlon JM, Kang DJ, Hylemon PB, Bajaj JS. Bile acids and the gut microbiome. *Current Opinion in Gastroenterology*. 2014;30(3):332-338.
42. Odenwald MA, Turner JR. The intestinal epithelial barrier: a therapeutic target? *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2017;14(1):9-21.
43. Hu Y, Zhang H, Li J, Cong X, Chen Y, He G, et al. Gut-derived lymphocyte recruitment to liver and induce liver injury in non-alcoholic fatty liver disease mouse model. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2016;31(3):676-684.

44. Philips CA, Pande A, Shasthry SM, Jamwal KD, Khillan V, Chandel SS, et al. Healthy Donor Fecal Microbiota Transplantation in Steroid-Ineligible Severe Alcoholic Hepatitis: A Pilot Study. *Clinical Gastroenterology and Hepatology : the Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*. 2017;15(4):600-602.
45. Seki E, De Minicis S, Osterreicher CH, Kluwe J, Osawa Y, Brenner DA, et al. TLR4 enhances TGF-beta signaling and hepatic fibrosis. *Nature Medicine*. 2007;13(11):1324-1332.
46. Brandl K, Kumar V, Eckmann L. Gut-liver axis at the frontier of host-microbial interactions. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2017;312(5):G413-G419.
47. Kundu S, Kumar S, Bajaj A. Cross-talk between bile acids and gastrointestinal tract for progression and development of cancer and its therapeutic implications. *IUBMB life*. 2015;67(7):514-523.
48. Ma YY, Li L, Yu CH, Shen Z, Chen LH, Li YM. Effects of probiotics on nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *World Journal of Gastroenterology*. 2013;19(40):6911-6918.
49. Zhong W, Li Q, Sun Q, Zhang W, Zhang J, Sun X, et al. Preventing gut leakiness and endotoxemia contributes to the protective effect of zinc on alcohol-induced steatohepatitis in rats. *The Journal of Nutrition*. 2015;145(12):2690-2698.
50. Kazi TG, Kolachi NF, Afridi HI, Kazi NG, Sirajuddin, Naemullah, et al. Effects of mineral supplementation on liver cirrhotic/cancer male patients. *Biological Trace Element Research*. 2012;150(1-3):81-90.
51. Loguercio C, Federico A, Masarone M, Torella R, Blanco Cdel V, Persico M. The impact of diet on liver fibrosis and on response to interferon therapy in patients with HCV-related chronic hepatitis. *The American Journal of Gastroenterology*. 2008;103(12):3159-3166.
52. Milic S, Mikolasevic I, Orlic L, Devcic E, Starcevic-Cizmarevic N, Stimac D, et al. The role of iron and iron overload in chronic liver disease. *Medical Science Monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2016;22:2144-2151.

53. Onyekwere CA, Ogbera AO, Samaila AA, Balogun BO, Abdulkareem FB. Nonalcoholic fatty liver disease: Synopsis of current developments. *Nigerian Journal of Clinical Practice*. 2015;18(6):703-712.
54. Aigner E, Weiss G, Datz C. Dysregulation of iron and copper homeostasis in nonalcoholic fatty liver. *World Journal of Hepatology*. 2015;7(2):177-188.
55. Grungriff K, Reinhold D, Wedemeyer H. The role of zinc in liver cirrhosis. *Annals of Hepatology*. 2016;15(1):7-16.
56. Stamoulis I, Kouraklis G, Theocharis S. Zinc and the liver: an active interaction. *Digestive Diseases and Sciences*. 2007;52(7):1595-1612.
57. Prasad AS. Discovery of human zinc deficiency: its impact on human health and disease. *Advances in Nutrition (Bethesda, Md)*. 2013;4(2):176-190.
58. EASL Clinical Practice Guidelines: Wilson's disease. *Journal of Hepatology*. 2012;56(3):671-685.
59. Polyzos SA, Kountouras J, Goulas A, Duntas L. Selenium and selenoprotein P in nonalcoholic fatty liver disease. *Hormones (Athens, Greece)*. 2020;19(1):61-72.
60. Ding M, Potter JJ, Liu X, Torbenson MS, Mezey E. Selenium supplementation decreases hepatic fibrosis in mice after chronic carbon tetrachloride administration. *Biological Trace Element Research*. 2010;133(1):83-97.
61. Shi Y, Zou Y, Shen Z, Xiong Y, Zhang W, Liu C, et al. Trace elements, PPARs, and metabolic syndrome. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(7).
62. Alexander J. Selenium. *Novartis Foundation symposium*. 2007;282:143-9; discussion 9-53, 212-218.
63. Schade SG, Felsher BF, Bernier GM, Conrad ME. Interrelationship of cobalt and iron absorption. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1970;75(3):435-441.
64. Liew WP, Mohd-Redzwan S. Mycotoxin: Its impact on gut health and microbiota. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2018;8:60.
65. Milicevic DR, Skrinjar M, Baltic T. Real and perceived risks for mycotoxin contamination in foods and feeds: challenges for food safety control. *Toxins*. 2010;2(4):572-592.
66. Kubes P, Jenne C. Immune Responses in the Liver. *Annual Review of Immunology*. 2018;36:247-277.

67. Pelyhe C, Kovesi B, Zandoki E, Kovacs B, Erdelyi M, Kulcsar S, et al. Multi-trichothecene mycotoxin exposure activates glutathione-redox system in broiler chicken. *Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology*. 2018;153:53-57.
68. Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*. 2003;16(3):497-516.
69. Wang J, Tang L, Glenn TC, Wang JS. Aflatoxin B1 induced compositional changes in gut microbial communities of male F344 Rats. *Toxicological Sciences : an Official Journal of the Society of Toxicology*. 2016;150(1):54-63.
70. Zhou J, Tang L, Wang J, Wang JS. Aflatoxin B1 disrupts gut-microbial metabolisms of short-chain fatty acids, long-chain fatty acids, and bile acids in male F344 rats. *Toxicological Sciences : an Official Journal of the Society of Toxicology*. 2018;164(2):453-464.
71. Awad WA, Ruhnau D, Hess C, Doupovec B, Schatzmayr D, Hess M. Feeding of deoxynivalenol increases the intestinal paracellular permeability of broiler chickens. *Archives of Toxicology*. 2019;93(7):2057-2064.
72. Peng Z, Liao Y, Chen L, Liu S, Shan Z, Nussler AK, et al. Heme oxygenase-1 attenuates low-dose of deoxynivalenol-induced liver inflammation potentially associating with microbiota. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2019;374:20-3731.
73. Pinton P, Oswald IP. Effect of deoxynivalenol and other Type B trichothecenes on the intestine: a review. *Toxins*. 2014;6(5):1615-1643.
74. Yu M, Peng Z, Liao Y, Wang L, Li D, Qin C, et al. Deoxynivalenol-induced oxidative stress and Nrf2 translocation in maternal liver on gestation day 12.5d and 18.5d. *Toxicon : Official Journal of the International Society on Toxinology*. 2019;161:17-22.
75. Yoon JE, Lee KY, Seok JS, Cheng WN, Kwon HC, Jeong CH, et al. Zearalenone induces endoplasmic reticulum stress and modulates the expression of phase I/II enzymes in human liver cells. *Toxins*. 2019;12(1).
76. Wang W, Zhai S, Xia Y, Wang H, Ruan D, Zhou T, et al. Ochratoxin A induces liver inflammation: involvement of intestinal microbiota. *Microbiome*. 2019;7(1):151.

77. Ali O, Szabo-Fodor J, Febel H, Mezes M. Porcine hepatic response to fumonisin B1 in a short exposure period: fatty acid profile and clinical investigations. 2019;11(11).
78. Gelderblom WC, Moritz W, Swanevelder S, Smuts CM, Abel S. Lipids and delta6-desaturase activity alterations in rat liver microsomal membranes induced by fumonisin B1. *Lipids*. 2002;37(9):869-877.
79. Riedel S, Abel S, Burger HM, van der Westhuizen L, Swanevelder S, Gelderblom WC. Differential modulation of the lipid metabolism as a model for cellular resistance to fumonisin B1-induced cytotoxic effects in vitro. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*. 2016;109:39-51.
80. Lu S, Liu S, Cui J. Combination of patulin and chlorpyrifos synergistically induces hepatotoxicity via inhibition of catalase activity and generation of reactive oxygen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019;67(41):11474-11480.
81. Saleh I, Goktepe I. The characteristics, occurrence, and toxicological effects of patulin. *Food and Chemical Toxicology : an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*. 2019;129:301-311.
82. Heidelbaugh JJ, Bruderly M. Cirrhosis and chronic liver failure: part I. Diagnosis and evaluation. *American Family Physician*. 2006;74(5):756-762.
83. Lee SS, Park SH. Radiologic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2014;20(23):7392-7402.
84. Lee SS, Park SH, Kim HJ, Kim SY, Kim MY, Kim DY, et al. Non-invasive assessment of hepatic steatosis: prospective comparison of the accuracy of imaging examinations. *Journal of Hepatology*. 2010;52(4):579-585.
85. Saadeh S, Younossi ZM, Remer EM, Gramlich T, Ong JP, Hurley M, et al. The utility of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002;123(3):745-750.
86. Vu LN, Morelli JN, Szklaruk J. Basic MRI for the liver oncologists and surgeons. *Journal of Hepatocellular Carcinoma*. 2017;5:37-50.
87. Torruellas C, French SW, Medici V. Diagnosis of alcoholic liver disease. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2014;20(33):11684-11699.

88. Peng Y, Qi X, Guo X. Child-Pugh versus MELD score for the assessment of prognosis in liver cirrhosis: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Medicine*. 2016;95(8):e2877.
89. Papastergiou V, Tsochatzis E, Burroughs AK. Non-invasive assessment of liver fibrosis. *Annals of Gastroenterology : quarterly publication of the Hellenic Society of Gastroenterology*. 2012;25(3):218-231.
90. Rustagi T, Newton E, Kar P. Percutaneous liver biopsy. *Tropical Gastroenterology : Official Journal of the Digestive Diseases Foundation*. 2010;31(3):199-212.
91. Sebastiani G, Castera L, Halfon P, Pol S, Mangia A, Di Marco V, et al. The impact of liver disease aetiology and the stages of hepatic fibrosis on the performance of non-invasive fibrosis biomarkers: an international study of 2411 cases. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2011;34(10):1202-1216.
92. Schaff Z. A májbiopszia értéke krónikus hepatitisben. *Orvosi Hetilap*. 2011;152(22):856-858.
93. Sanai FM, Keefe EB. Liver biopsy for histological assessment: The case against. *Saudi Journal of Gastroenterology : Official Journal of the Saudi Gastroenterology Association*. 2010;16(2):124-132.
94. Berzigotti A, Ashkenazi E, Reverter E, Abraldes JG, Bosch J. Non-invasive diagnostic and prognostic evaluation of liver cirrhosis and portal hypertension. *Disease Markers*. 2011;31(3):129-138.
95. Horváth G. New non-invasive tool for assessment of liver fibrosis: transient elastography. *Orvosi Hetilap*. 2011;152(22):860-865.
96. Baranova A, Lal P, Birerdinc A, Younossi ZM. Non-invasive markers for hepatic fibrosis. *BMC Gastroenterology*. 2011;11:91.
97. Berzigotti A, Bosch J, Boyer TD. Use of noninvasive markers of portal hypertension and timing of screening endoscopy for gastroesophageal varices in patients with chronic liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2014;59(2):729-731.
98. Chrostek L, Panasiuk A. Liver fibrosis markers in alcoholic liver disease. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2014;20(25):8018-8023.

99. Collazos J, Diaz F. Role of the measurement of serum procollagen type III N-terminal peptide in the evaluation of liver diseases. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*. 1994;227(1-2):37-43.
100. Flisiak R, Maxwell P, Prokopowicz D, Timms PM, Panasiuk A. Plasma tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and transforming growth factor beta 1--possible non-invasive biomarkers of hepatic fibrosis in patients with chronic B and C hepatitis. *Hepato-gastroenterology*. 2002;49(47):1369-1372.
101. Haghgoo SM, Sharafi H, Alavian SM. Serum cytokines, adipokines and ferritin for non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic liver disease: a systematic review. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2019;57(5):577-610.
102. van Werven JR, Marsman HA, Nederveen AJ, Smits NJ, ten Kate FJ, van Gulik TM, et al. Assessment of hepatic steatosis in patients undergoing liver resection: comparison of US, CT, T1-weighted dual-echo MR imaging, and point-resolved 1H MR spectroscopy. *Radiology*. 2010;256(1):159-168.
103. Egresi A, Lengyel G, Hagymasi K. [Options of non-invasive assessment of liver fibrosis based on the clinical data]. *Orvosi Hetilap*. 2015;156(2):43-52.
104. Egresi A, Lengyel G, Hagymási K. [Non-invasive assessment of fatty liver]. *Orvosi Hetilap*. 2015;156(14):543-551.
105. Fitzpatrick E, Dhawan A. Noninvasive biomarkers in non-alcoholic fatty liver disease: current status and a glimpse of the future. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2014;20(31):10851-10863.
106. Egresi A, Lengyel G, Somogyi A, Blázovics A, Hagymási K. [Various pathways leading to the progression of chronic liver diseases]. *Orvosi Hetilap*. 2016;157(8):290-297.
107. Lydatakis H, Hager IP, Kostadelou E, Mpousmpoulas S, Pappas S, Diamantis I. Non-invasive markers to predict the liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver International : Official Journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2006;26(7):864-871.
108. Sharma S, Khalili K, Nguyen GC. Non-invasive diagnosis of advanced fibrosis and cirrhosis. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2014;20(45):16820-16830.

109. Armstrong MJ, Corbett C, Hodson J, Marwah N, Parker R, Houlihan DD, et al. Operator training requirements and diagnostic accuracy of Fibroscan in routine clinical practice. *Postgraduate Medical Journal*. 2013;89(1058):685-692.
110. Horváth G. A májfibrosis meghatározásának új, noninvazív módszere: tranziens elasztográfia (FibroScan). *Orvosi Hetilap*. 2011;152(22):860-865.
111. Talwalkar JA, Kurtz DM, Schoenleber SJ, West CP, Montori VM. Ultrasound-based transient elastography for the detection of hepatic fibrosis: systematic review and meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology : the Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*. 2007;5(10):1214-1220.
112. Lupsor-Platon M, Stefanescu H, Muresan D, Florea M, Szasz ME, Maniu A, et al. Noninvasive assessment of liver steatosis using ultrasound methods. *Medical Ultrasonography*. 2014;16(3):236-245.
113. Sigrist RMS, Liao J, Kaffas AE, Chammas MC, Willmann JK. Ultrasound elastography: review of techniques and clinical applications. *Theranostics*. 2017;7(5):1303-1329.
114. Gerber L, Kasper D, Fitting D, Knop V, Vermehren A, Sprinzl K, et al. Assessment of liver fibrosis with 2-D shear wave elastography in comparison to transient elastography and acoustic radiation force impulse imaging in patients with chronic liver disease. *Ultrasound in Medicine & Biology*. 2015;41(9):2350-2359.
115. Tsochatzis EA, Gurusamy KS, Ntaoula S, Cholongitas E, Davidson BR, Burroughs AK. Elastography for the diagnosis of severity of fibrosis in chronic liver disease: a meta-analysis of diagnostic accuracy. *Journal of Hepatology*. 2011;54(4):650-659.
116. Castera L. Invasive and non-invasive methods for the assessment of fibrosis and disease progression in chronic liver disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2011;25(2):291-303.
117. Sebastiani G, Halfon P, Castera L, Pol S, Thomas DL, Mangia A, et al. SAFE biopsy: a validated method for large-scale staging of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2009;49(6):1821-1827.
118. Sebastiani G, Halfon P, Fau - Castera L, Castera L Fau - Mangia A, Mangia A Fau - Di Marco V, Di Marco V Fau - Pirisi M, Pirisi M Fau - Voiculescu M, et al.

Comparison of three algorithms of non-invasive markers of fibrosis in chronic hepatitis C. (1365-2036 (Electronic)).

119. Berzigotti A, Seijo S, Arena U, Abraldes JG, Vizzutti F, Garcia-Pagan JC, et al. Elastography, spleen size, and platelet count identify portal hypertension in patients with compensated cirrhosis. *Gastroenterology*. 2013;144(1):102-111.e1.

120. Stefanescu H, Procopet B. Noninvasive assessment of portal hypertension in cirrhosis: Liver stiffness and beyond. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2014;20(45):16811-16819.

121. Stafyliyidou M, Paschos P, Katsoula A, Malandris K, Ioakim K, Bekiari E, et al. Performance of Baveno VI and expanded Baveno VI criteria for excluding high-risk varices in patients with chronic liver diseases: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology: the Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*. 2019;17(9):1744-1755.e11.

122. Del Ben M, Polimeni L, Brancorsini M, Di Costanzo A, D'Erasmo L, Baratta F, et al. Non-alcoholic fatty liver disease, metabolic syndrome and patatin-like phospholipase domain-containing protein3 gene variants. *European Journal of Internal Medicine*. 2014;25(6):566-570.

123. Firneisz G. Non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus: the liver disease of our age? *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2014;20(27):9072-9089.

124. Hsiao PJ, Lee MY, Wang YT, Jiang HJ, Lin PC, Yang YH, et al. MTTP-297H polymorphism reduced serum cholesterol but increased risk of non-alcoholic fatty liver disease-a cross-sectional study. *BMC Medical Genetics*. 2015;16(1):93.

125. Anstee QM, Day CP. The genetics of nonalcoholic fatty liver disease: spotlight on PNPLA3 and TM6SF2. *Seminars in Liver Disease*. 2015;35(3):270-290.

126. Lambrecht J, Mannaerts I, van Grunsven LA. The role of miRNAs in stress-responsive hepatic stellate cells during liver fibrosis. *Frontiers in Physiology*. 2015;6:209.

127. Zhang Q, Xu M, Qu Y, Li Z, Zhang Q, Cai X, et al. Analysis of the differential expression of circulating microRNAs during the progression of hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Molecular Medicine Reports*. 2015.

128. Lendvai G, Jarmay K, Karacsony G, Halasz T, Kovalszky I, Baghy K, et al. Elevated miR-33a and miR-224 in steatotic chronic hepatitis C liver biopsies. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2014;20(41):15343-15350.
129. Lendvai G, Kiss A, Kovalszky I, Schaff Z. [Alterations in microRNA expression patterns in liver diseases]. *Orvosi Hetilap*. 2010;151(45):1843-1853.
130. Li G, Cai G, Li D, Yin W. MicroRNAs and liver disease: viral hepatitis, liver fibrosis and hepatocellular carcinoma. *Postgraduate Medical Journal*. 2014;90(1060):106-112.
131. Halasz T, Horvath G, Par G, Werling K, Kiss A, Schaff Z, et al. miR-122 negatively correlates with liver fibrosis as detected by histology and FibroScan. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2015;21(25):7814-7823.
132. Kmiec Z. Cooperation of liver cells in health and disease. *Advances in Anatomy, Embryology, and Cell Biology*. 2001;161:iii-xiii, 1-151.
133. Singh S, Osna NA, Kharbanda KK. Treatment options for alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease: A review. *World Journal of Gastroenterology*. 2017;23(36):6549-6570.
134. Liu JP, Zou WL, Chen SJ, Wei HY, Yin YN, Zou YY, et al. Effects of different diets on intestinal microbiota and nonalcoholic fatty liver disease development. *World Journal of Gastroenterology*. 2016;22(32):7353-7364.
135. Plaza-Díaz J, Solís-Urra P. The gut barrier, intestinal microbiota, and liver disease: molecular mechanisms and strategies to manage. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(21).
136. Chen HT, Huang HL, Li YQ, Xu HM, Zhou YJ. Therapeutic advances in non-alcoholic fatty liver disease: A microbiota-centered view. *World Journal of Gastroenterology*. 2020;26(16):1901-1911.
137. Plaza-Diaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Gil-Campos M, Gil A. Mechanisms of action of probiotics. *Advances in Nutrition (Bethesda, Md)*. 2019;10(suppl_1):S49-s66.
138. Anand G, Zarrinpar A, Loomba R. Targeting dysbiosis for the treatment of liver disease. *Seminars in Liver Disease*. 2016;36(1):37-47.
139. Egresi A, Drexler D, Hagymási K, Blázovics A, Jakab Z, Kocsis I, et al. [The potential role of organic and conventional yoghurt consumption in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease]. *Orvosi Hetilap*. 2020;161(35):1466-1474.

140. Eslamparast T, Poustchi H, Zamani F, Sharafkhah M, Malekzadeh R, Hekmatdoost A. Synbiotic supplementation in nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2014;99(3):535-542.
141. Hagymási K, Bacsárdi A, Egresi A, Berta E, Tulassay Z, Lengyel G. [The role of gut microbiota in chronic liver diseases, and treatment possibilities]. *Orvosi Hetilap*. 2018;159(36):1465-1474.
142. Schwenger KJP, Clermont-Dejean N, Allard JP. The role of the gut microbiome in chronic liver disease: the clinical evidence revised. *JHEP Reports*. 2019;1(3):214-226.
143. Inoue T, Nakayama J, Moriya K, Kawaratani H, Momoda R, Ito K, et al. Gut dysbiosis associated with Hepatitis C virus infection. *Clinical Infectious Diseases : an Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2018;67(6):869-77.
144. Parola M, Pinzani M. Liver fibrosis: Pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues. *Molecular Aspects of Medicine*. 2019;65:37-55.
145. Rai R, Saraswat VA, Dhiman RK. Gut microbiota: its role in hepatic encephalopathy. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*. 2015;5(Suppl 1):S29-36.
146. Yang R, Xu Y, Dai Z, Lin X. The Immunologic Role of Gut Microbiota in Patients with Chronic HBV Infection. *Journal of Immunology Research*. 2018;2018:2361963.
147. Tunick MH, Van Hekken DL. Dairy products and health: recent insights. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2015, 63, 43, 9381–9388 .
148. Walther B, Wechsler D, Schlegel P, Haldimann M. Iodine in Swiss milk depending on production (conventional versus organic) and on processing (raw versus UHT) and the contribution of milk to the human iodine supply. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology : Organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*. 2018;46:138-143.
149. Unger AL, Bourne DE, Walsh H, Kraft J. Fatty acid content of retail cow's milk in the Northeastern United States-What's in it for the consumer? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020, 68, 14, 4268–4276.

150. Welsh JA, Braun H, Brown N, Um C, Ehret K, Figueroa J, et al. Production-related contaminants (pesticides, antibiotics and hormones) in organic and conventionally produced milk samples sold in the USA. *Public Health Nutrition*. 2019;22(16):2972-2980.
151. Awad WA, Ghareeb K, Bohm J, Zentek J. Decontamination and detoxification strategies for the *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol in animal feed and the effectiveness of microbial biodegradation. *Food Additives & Contaminants Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*. 2010;27(4):510-520.
152. Colovic R, Puvaca N. Decontamination of mycotoxin-contaminated feedstuffs and compound feed. *Toxins*. 2019;11(11).
153. Chen Y, Cheng Y, Wen C, Wang W, Kang Y, Wang A, et al. The protective effects of modified palygorskite on the broilers fed a purified zearalenone-contaminated diet. *Poultry Science*. 2019;98(9):3802-3810.
154. El-Nekeety AA, El-Kady AA, Abdel-Wahhab KG, Hassan NS, Abdel-Wahhab MA. Reduction of individual or combined toxicity of fumonisin B1 and zearalenone via dietary inclusion of organo-modified nano-montmorillonite in rats. *Environmental Science and Pollution Research International*. 2017;24(25):20770-20783.
155. Cheng Y, Xu Q, Chen Y, Su Y, Wen C. Modified palygorskite improves immunity, antioxidant ability, intestinal morphology, and barrier function in broiler chickens fed naturally contaminated diet with permitted feed concentrations of *Fusarium* mycotoxins. *Toxins*. 2018;10(11).
156. Guo Y, Huo X, Zhao L, Ma Q, Zhang J, Ji C, et al. Protective effects of *Bacillus subtilis* ANSB060, *Bacillus subtilis* ANSB01G, and *Devosia sp.* ANSB714-Based mycotoxin biodegradation agent on mice fed with naturally moldy diets. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2019.
157. Chen Y, Li R, Chang Q, Dong Z, Yang H, Xu C. *Lactobacillus bulgaricus* or *Lactobacillus rhamnosus* suppresses NF-kappaB signaling pathway and protects against AFB(1)-induced hepatitis: A novel potential preventive strategy for aflatoxicosis? *Toxins*. 2019;11(1).
158. Huang L, Zhao Z, Duan C, Wang C, Zhao Y, Yang G, et al. *Lactobacillus plantarum* C88 protects against aflatoxin B1-induced liver injury in mice via inhibition

of NF-kappaB-mediated inflammatory responses and excessive apoptosis. *BMC Microbiology*. 2019;19(1):170.

159. Adhikari M, Negi B, Kaushik N, Adhikari A, Al-Khedhairy AA, Kaushik NK, et al. T-2 mycotoxin: toxicological effects and decontamination strategies. *Oncotarget*. 2017;8(20):33933-33952.

160. Rajput SA, Sun L, Zhang NY, Khalil MM. Grape seed proanthocyanidin extract alleviates aflatoxinB(1)-induced immunotoxicity and oxidative stress via modulation of NF-kappaB and Nrf2 signaling pathways in broilers. *Toxins*. 2019;11(1).

161. Abdel-Wahhab MA, El-Nekeety AA, Hassan NS, Gibriel AAY, Abdel-Wahhab KG. Encapsulation of cinnamon essential oil in whey protein enhances the protective effect against single or combined sub-chronic toxicity of fumonisin B1 and/or aflatoxin B1 in rats. *Environmental Science and Pollution Research International*. 2018;25(29):29144-29161.

162. Egresi A, Süle K, Szentmihályi K, Blázovics A, Fehér E, Hagymási K, et al. Impact of milk thistle (*Silybum marianum*) on the mycotoxin caused redox-homeostasis imbalance of ducks liver. *Toxicon : Official Journal of the International Society on Toxinology*. 2020;187:181-187.

163. Li S, Xu Y, Guo W, Chen F, Zhang C, Tan HY, et al. The impacts of herbal medicines and natural products on regulating the hepatic lipid metabolism. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:351.

164. Yang JM, Sun Y, Wang M, Zhang XL, Zhang SJ, Gao YS, et al. Regulatory effect of a Chinese herbal medicine formula on non-alcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*. 2019;25(34):5105-5119.

165. Feher J, Deak G, Muzes G, Lang I, Niederland V, Nekam K, et al. [Liver-protective action of silymarin therapy in chronic alcoholic liver diseases]. *Orvosi Hetilap*. 1989;130(51):2723-2727.

166. Ferenci P, Dragosics B, Dittrich H, Frank H, Benda L, Lochs H, et al. Randomized controlled trial of silymarin treatment in patients with cirrhosis of the liver. *Journal of Hepatology*. 1989;9(1):105-113.

167. Hackett ES, Twedt DC, Gustafson DL. Milk thistle and its derivative compounds: a review of opportunities for treatment of liver disease. *Journal of*

Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine. 2013;27(1):10-16.

168. Esmail N, Anaraki SB, Gharagozloo M, Moayedi B. Silymarin impacts on immune system as an immunomodulator: One key for many locks. *International Immunopharmacology*. 2017;50:194-201.

169. Blazovics A, Kéry Á, Petri G, György I, Feher J. Effects of flavonoids on tissue regeneration. In: Feher J, Nakazawa H, Prónai L, Matsuzaki S, editors. *Oxygen stress and tissue damage*. Budapest, Hungary: Akadémiai Kiadó; 1994.

170. Takke A, Shende P. Nanotherapeutic silibinin: An insight of phytomedicine in healthcare reformation. *Nanomedicine : Nanotechnology, Biology, and Medicine*. 2019;21:102057.

171. van Duynhoven J, Vaughan EE, Jacobs DM, Kemperman RA, van Velzen EJ, Gross G, et al. Metabolic fate of polyphenols in the human superorganism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108 Suppl 1(Suppl 1):4531-4538.

172. Valentová K, Havlík J. Biotransformation of silymarin flavonolignans by human Fecal microbiota. *Metabolites*. 2020;10(1).

173. Ferrucci LM, Bell BP, Dhotre KB, Manos MM, Terrault NA, Zaman A, et al. Complementary and alternative medicine use in chronic liver disease patients. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2010;44(2):e40-45.

174. Frenzel C, Teschke R. Herbal Hepatotoxicity: Clinical characteristics and listing compilation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17(5).

175. Adusumilli PS, Lee B, Parekh K, Farrelly PA. Acalculous eosinophilic cholecystitis from herbal medicine: a review of adverse effects of herbal medicine in surgical patients. *Surgery*. 2002;131(3):352-356.

176. Blazovics A, Szentmihályi K, Prónai L, Hagymási K, Lugasi A, Kovacs A, et al. [Redox homeostasis in inflammatory bowel diseases]. *Orvosi Hetilap*. 2004;145(28):1459-1466.

177. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*. 1951;193(1):265-275.

178. Fouad SA, Esmat S, Omran D, Rashid L, Kobaisi MH. Noninvasive assessment of hepatic fibrosis in Egyptian patients with chronic hepatitis C virus infection. *World Journal of Gastroenterology* : WJG. 2012;18(23):2988-2994.
179. Poynard T, Bedossa P. Age and platelet count: a simple index for predicting the presence of histological lesions in patients with antibodies to hepatitis C virus. METAVIR and CLINIVIR Cooperative Study Groups. *Journal of Viral Hepatitis*. 1997;4(3):199-208.
180. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2006;43(6):1317-1325.
181. Islam S, Antonsson L, Westin J, Lagging M. Cirrhosis in hepatitis C virus-infected patients can be excluded using an index of standard biochemical serum markers. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2005;40(7):867-872.
182. Ohta T, Sakaguchi K, Fujiwara A, Fujioka S, Iwasaki Y, Makino Y, et al. Simple surrogate index of the fibrosis stage in chronic hepatitis C patients using platelet count and serum albumin level. *Acta Medica Okayama*. 2006;60(2):77-84.
183. Ellman GL, Lysko H. Disulfide and sulfhydryl compounds in TCA extracts of human blood and plasma. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1967;70(3):518-527.
184. Blazovics A, Kovacs A, Lugasi A, Hagymasi K, Biro L, Feher J. Antioxidant defense in erythrocytes and plasma of patients with active and quiescent Crohn disease and ulcerative colitis: a chemiluminescent study. *Clinical Chemistry*. 1999;45(6 Pt 1):895-896.
185. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enol Vitic*. January 1965 16:144-158
186. M O. Studies on products of browning reaction prepared from glucosamine, . *Japanes Journal of Nutrition*. 1986(44):307-315.
187. Ottolenghi A. Interaction of ascorbic acid on mitochondrila lipides. *Arch Biochemistry and Biophysics*. 1959;79:355-363.
188. AOAC Official Methods of Analysis 28054 B. 14th ed.: Arlington, USA, 1984.

189. Stocker P, Ricquebourg E, Vidal N, Villard C, Lafitte D, Sellami L, et al. Fluorimetric screening assay for protein carbonyl evaluation in biological samples. *Analytical Biochemistry*. 2015;482:55-61.
190. Kang MK, Park JG. Association of low skeletal muscle mass with advanced liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2019;34(9):1633-1640.
191. Egresi A, Kovács Á, Szilvás Á, Blázovics A. [Gut-liver axis in inflammatory bowel disease. A retrospective study]. *Orvosi Hetilap*. 2017;158(26):1014-1021.
192. Hou YJ, Zhao YY, Xiong B, Cui XS, Kim NH, Xu YX, et al. Mycotoxin-containing diet causes oxidative stress in the mouse. *PloS one*. 2013;8(3):e60374.
193. Awad, W, Ghareeb, K., Bohm, J., Zentek, J. The toxicological impacts of the *Fusarium* mycotoxin, deoxynivalenol, in poultry flocks with special reference to immunotoxicity *Toxins (Basel)*, 2013; 5(5): 912-925.
194. Wang L, Zhang Q, Yan Z, Tan Y, Zhu R, Yu D, et al. Occurrence and quantitative risk assessment of twelve mycotoxins in eggs and chicken tissues in China. *Toxins*. 2018;10(11).
195. Abdel-Wahhab MA, El-Nekeety AA, Salman AS, Abdel-Aziem SH, Mehaya FM, Hassan NS. Protective capabilities of silymarin and inulin nanoparticles against hepatic oxidative stress, genotoxicity and cytotoxicity of deoxynivalenol in rats. *Toxicon : official Journal of the International Society on Toxinology*. 2018;142:1-13.
196. 1881/2006 ECCRENoSaRN. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards *Fusarium* toxins in maize and maize products. . Official Journal of European Union. 2007;L255:14–17.
197. Gresakova L, Borutova R, Faix S, Placha I, Cobanova K, Kosikova B, et al. Effect of lignin on oxidative stress in chickens fed a diet contaminated with zearalenone. *Acta Veterinaria Hungarica*. 2012;60(1):103-114.
198. Hassen W, Ayed-Boussema I, Oscoz AA, Lopez Ade C, Bacha H. The role of oxidative stress in zearalenone-mediated toxicity in Hep G2 cells: oxidative DNA damage, glutathione depletion and stress proteins induction. *Toxicology*. 2007;232(3):294-302.
199. Kouadio JH, Mobio TA, Baudrimont I, Moukha S, Dano SD, Creppy EE. Comparative study of cytotoxicity and oxidative stress induced by deoxynivalenol,

zearalenone or fumonisin B1 in human intestinal cell line Caco-2. *Toxicology*. 2005;213(1-2):56-65.

200. Mishra S, Dwivedi PD, Pandey HP, Das M. Role of oxidative stress in deoxynivalenol induced toxicity. *Food and Chemical Toxicology : an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*. 2014;72:20-29.

201. Van Le Thanh B, Lemay M, Bastien A, Lapointe J, Lessard M, Chorfi Y, et al. The potential effects of antioxidant feed additives in mitigating the adverse effects of corn naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on antioxidant systems in the intestinal mucosa, plasma, and liver in weaned pigs. *Mycotoxin research*. 2016. 32(2):99-116.

202. Boccai A, Pelyhe C, Zandoki E, Ancsin Z, Szabo-Fodor J, Erdelyi M, et al. Short-term effects of T-2 toxin exposure on some lipid peroxide and glutathione redox parameters of broiler chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2015.

203. Nakade M, Pelyhe C, Kovesi B, Balogh K, Kovacs B, Szabo-Fodor J, et al. Short-term effects of T-2 toxin or deoxynivalenol on glutathione status and expression of its regulatory genes in chicken. *Acta Veterinaria Hungarica*. 2018;66(1):28-39.

204. Febel H, Mezes M, Palfy T, Herman A, Gundel J, Lugasi A, et al. Effect of dietary fatty acid pattern on growth, body fat composition and antioxidant parameters in broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2008;92(3):369-376.

205. Bax ML, Chambon C, Marty-Gasset N, Remignon H, Fernandez X, Molette C. Proteomic profile evolution during steatosis development in ducks. *Poultry Science*. 2012;91(1):112-120.

206. Woelflingseder L, Del Favero G, Blazevic T, Heiss EH, Haider M, Warth B, et al. Impact of glutathione modulation on the toxicity of the *Fusarium* mycotoxins deoxynivalenol (DON), NX-3 and butenolide in human liver cells. *Toxicology Letters*. 2018;299:104-117.

207. Fernye C, Ancsin Z, Boccai A, Balogh K, Mezes M, Erdelyi M. Role of glutathione redox system on the T-2 toxin tolerance of pheasant (*Phasianus colchicus*). *Toxicological Research*. 2018;34(3):249-257.

208. Capdevielle MC, Hart LE, Goff J, Scanes CG. Aluminum and acid effects on calcium and phosphorus metabolism in young growing chickens (*Gallus gallus domesticus*) and mallard ducks (*Anas platyrhynchos*). Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 1998;35(1):82-88.
209. Amiridumari H, Sarir H, Afzali N, Fanimakki O. Effects of milk thistle seed against aflatoxin B1 in broiler model. Journal of Research in Medical Sciences : the Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences. 2013;18(9):786-790.
210. Atarashi M, Izawa T, Miyagi R, Ohji S, Hashimoto A, Kuwamura M, et al. Dietary iron supplementation alters hepatic inflammation in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis. Nutrients. 2018;10(2).
211. Attia YA, Qota EM, Zeweil HS, Bovera F, Abd Al-Hamid AE, Sahledom MD. Effect of different dietary concentrations of inorganic and organic copper on growth performance and lipid metabolism of White Pekin male ducks. British Poultry Science. 2012;53(1):77-88.
212. Yang ZB, Wan XL, Yang WR, Jiang SZ, Zhang GG, Johnston SL, et al. Effects of naturally mycotoxin-contaminated corn on nutrient and energy utilization of ducks fed diets with or without Calibrin-A. Poultry Science. 2014;93(9):2199-2209.
213. Szentmihalyi K, May Z, Szenasi G, Mathe C, Sebesteny A, Albert M, et al. Cisplatin administration influences on toxic and non-essential element metabolism in rats. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology : Organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS). 2014;28(3):317-321.
214. Grattagliano I, Diogo CV, Mastrodonato M, de Bari O, Persichella M, Wang DQ, et al. A silybin-phospholipids complex counteracts rat fatty liver degeneration and mitochondrial oxidative changes. World Journal of Gastroenterology. 2013;19(20):3007-3017.
215. Manafi M, Pirany N, Noor Ali M, Hedayati M, Khalaji S, Yari M. Experimental pathology of T-2 toxicosis and mycoplasma infection on performance and hepatic functions of broiler chickens. Poultry Science. 2015;94(7):1483-1492.
216. Shteyer E, Liao Y, Muglia LJ, Hruz PW, Rudnick DA. Disruption of hepatic adipogenesis is associated with impaired liver regeneration in mice. Hepatology (Baltimore, Md). 2004;40(6):1322-1332.

217. Yamaguchi K, Yang L, McCall S, Huang J, Yu XX, Pandey SK, et al. Inhibiting triglyceride synthesis improves hepatic steatosis but exacerbates liver damage and fibrosis in obese mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2007;45(6):1366-1374.
218. Rojas-Feria M, Castro M, Suarez E, Ampuero J, Romero-Gomez M. Hepatobiliary manifestations in inflammatory bowel disease: the gut, the drugs and the liver. *World Journal of Gastroenterology*. 2013;19(42):7327-7340.
219. Lugasi A, Horacek M, Martos E. [Food supplements on the Hungarian market: regulations of marketing and of the composition of the products]. *Orvosi Hetilap*. 2010;151(39):1563-1572.
220. Russell DW. The enzymes, regulation, and genetics of bile acid synthesis. *Annual Review of Biochemistry*. 2003;72:137-174.
221. Szentmihalyi K, May Z, Sule K, Then M. [Mineral content of some herbs and plant extracts with anti-inflammatory effect used in gastrointestinal diseases]. *Orvosi Hetilap*. 2013;154(14):538-543.
222. Lee D, Albenberg L, Compher C, Baldassano R, Piccoli D, Lewis JD, et al. Diet in the pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2015;148(6):1087-1106.
223. Wu GD. Diet, the gut microbiome and the metabolome in IBD. *Nestle Nutrition Institute workshop series*. 2014;79:73-82.
224. Chen C, Kong AN. Dietary cancer-chemopreventive compounds: from signaling and gene expression to pharmacological effects. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2005;26(6):318-326.
225. Camilleri M, Gores GJ. Therapeutic targeting of bile acids. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2015;309(4):G209-15.
226. Karanjia RN, Crossey MM, Cox IJ, Fye HK, Njie R, Goldin RD, et al. Hepatic steatosis and fibrosis: Non-invasive assessment. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2016;22(45):9880-9897.
227. Martins SV, Lopes Pa Fau - Alfaia CM, Alfaia Cm Fau - Rodrigues PO, Rodrigues Po Fau - Alves SP, Alves Sp Fau - Pinto RMA, Pinto Rm Fau - Castro MF, et al. Serum adipokine profile and fatty acid composition of adipose tissues are affected

by conjugated linoleic acid and saturated fat diets in obese Zucker rats. *The British Journal of Nutrition*. 2010;103(6):869-878.

228. Sypniewski D, Jurzak M, Cholewa K, Gola J, Mazurek U, Wilczok T, et al. Changes in TNF-alpha mRNA levels in the peripheral blood of patients with chronic hepatitis C virus (HCV) infection during alpha-interferon and ribavirin therapy. *Viral Immunology*. 2004;17(4):580-587.

229. Crosas-Molist E, Fabregat I. Role of NADPH oxidases in the redox biology of liver fibrosis. *Redox Biology*. 2015;6:106-111.

230. Da Silva HE, Teterina A, Comelli EM, Taibi A, Arendt BM, Fischer SE, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with dysbiosis independent of body mass index and insulin resistance. *Scientific Reports*. 2018;8(1):1466.

231. Vitetta L, Coulson S. Probiotics, D-Lactic acidosis, oxidative stress and strain specificity. *Gut Microbes*. 2017;8(4):311-322.

232. Nakamura MT, Yudell BE, Loor JJ. Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids. *Progress in Lipid Research*. 2014;53:124-144.

233. Persico M, Iolascon A. Steatosis as a co-factor in chronic liver diseases. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2010;16(10):1171-1176.

234. Angin Y, Arslan N, Kuralay F. Leptin-to-adiponectin ratio in obese adolescents with nonalcoholic fatty liver disease. *The Turkish Journal of Pediatrics*. 2014;56(3):259-266.

235. Salman AA, Sultan A. Effect of weight loss induced by laparoscopic sleeve gastrectomy on liver histology and serum adipokine levels. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2020; 35(10):1769-1773.

236. Brennan AM, Mantzoros CS. Drug Insight: the role of leptin in human physiology and pathophysiology--emerging clinical applications. *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism*. 2006;2(6):318-327.

237. Swiderska M, Maciejczyk M. Oxidative stress biomarkers in the serum and plasma of patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Can plasma AGE be a marker of NAFLD? Oxidative stress biomarkers in NAFLD patients. *Free Radical Research*. 2019;53(8):841-850.

238. Cho YH, Kim JW, Shim JO, Yang HR, Chang JY, Moon JS, et al. Association between vitamin D deficiency and suspected nonalcoholic fatty liver disease in an

- adolescent population. *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition*. 2019;22(3):233-241.
239. Milic S, Lulic D, Stimac D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations. *World Journal of Gastroenterology*. 2014;20(28):9330-9337.
240. Bota S, Sirli R, Sporea I, Focsa M, Popescu A, Danila M, et al. A new scoring system for prediction of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatitis Monthly*. 2011;11(7):548-555.
241. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martinez-Bauer E, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2002;36(4 Pt 1):986-992.
242. Maffeis C, Morandi A. Body composition and insulin resistance in children. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2018;72(9):1239-1245.
243. Weber D, Davies MJ, Grune T. Determination of protein carbonyls in plasma, cell extracts, tissue homogenates, isolated proteins: Focus on sample preparation and derivatization conditions. *Redox Biology*. 2015;5:367-380.
244. Hauck AK, Huang Y, Hertzell AV, Bernlohr DA. Adipose oxidative stress and protein carbonylation. *The Journal of Biological Chemistry*. 2019;294(4):1083-1088.

10. Saját publikációk jegyzéke

10.1. Disszertációhoz kapcsolódó publikációk

1. Egresi A., Lengyel G., Hagymási K.: *A májfibrosis nem invazív jellemzésének lehetőségei a klinikai adatok tükrében*, Orvosi Hetilap, 156(2):43-52., 2015.
2. Egresi A., Lengyel G., Hagymási K.: *A májelzsírosodás nem invazív jellemzésének lehetőségei*, Orvosi Hetilap, 156(14):543-51., 2015.
3. Hagymási K., Egresi A., Lengyel G.: *Antioxidánsok - antioxidánsokk: tények és kérdések*, 2015., Orvosi Hetilap, 156(47):1884-7., 2015.
4. Hagymási K., Egresi A.: *Természetes antioxidánsok: tények és kétségek*, szerk.: Blázovics Anna, Mézes Miklós, Róth Erzsébet: *Oxidatív stressz és betegségek*, Szent István Egyetemi Kiadó Nonprofit Kft., ISBN 978-963-269-500-6, 2015.
5. Egresi A., Lengyel G., Somogyi A., Blázovics A., Hagymási K.: *Az idült májbetegségek progressziójához vezető folyamatok*, Orvosi Hetilap, 157(8):290-7, 2016.
6. Egresi A., Lengyel G., Hagymási K., Tulassay Zs.: *Új terápiás lehetőségek a nem alkoholos zsírmájbetegség kezelésében*, Magyar Belorvosi Archívum
7. Egresi A., Hagymási K., Lengyel G., Tulassay Zs.: *A cink szerepe májbetegségekben*, Magyar Belorvosi Archívum
8. Egresi A., Hagymási K., Lengyel G. *Comments on "The severity of non-alcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota"*. Hepatoma Res 2016;2:328-30.
9. Egresi A., Kovács Á., Szilvás Á., Blázovics A.: *Bél-máj tengely vizsgálata colitis ulcerosaban – retrospektív tanulmány*, Orvosi Hetilap, 158(26):1014-1021,

Dr. Fehér János Díj

10. Hagymási K., Bacsárdi A., Egresi A., Berta E., Tulassay Zs., Lengyel G.: *A bélflóra patofiziológiai jelentősége és szerepe, mint terápiás célpont májbetegségekben*, Orvosi Hetilap, 159(36): 1465–1474
11. Egresi A.: *Bio és hagyományos gazdálkodásból származó joghurtfogyasztás vizsgálata nem alkoholos zsírmájbetegségben*, Táplálkozástudományi Morzsák, III.(3.), 2020., ISSN 2630-8975

12. Egresi A., Drexler D., Hagymási K., Blázovics A., Jakab Zs., Kocsis I., Dakó S., Bacsárdi A., Lengyel G.: *Az ökológiai és a konvencionális joghurtfogyasztás lehetséges szerepe a nem alkoholos zsírmájbetegség kezelésében*, Orvosi Hetilap 2020, 161(35): 1466–1474.
13. A. Egresi, K. Süle, K. Szentmihályi, A. Blázovics, E. Fehér, K. Hagymási, H. Fébel: *Impact of milk thistle (Silybum marianum) on the mycotoxin caused redox-homeostasis imbalance of ducks liver*, Toxicon 187 (2020) 181–187.
14. In press: A. Egresi, A. Blázovics, G. Lengyel, Zs. Jakab, K. Süle, D. Kleiner, B. Wichmann, K. Hagymási: *Comparison of various biomarkers and indices for non-invasive assessment of liver fibrosis*, Heliyon

10.2. Disszertációtól független publikációk

1. Hagymási K., Egresi A., Lengyel G.: *Extrahepatikus manifesztációk idült hepatitis C vírus-fertőzöttekben*, Orvosi Hetilap, 158(16):603-611, 2017.
2. K. Süle, K. Szentmihályi, G. Szabó, D. Kleiner, I. Varga, A. Egresi, Z. May, P. Nyirády, M. Mohai Jr, A. Blázovics: *Metal- and redox homeostasis in prostate cancer with vitamin D3 supplementation*, Biomed Pharmacother. 2018 Sep;105:558-565.
3. E. Berta, A. Egresi, A. Bacsárdi, Zs. Gáspár, G. Lengyel, K. Hagymási: *Hepatitis C-vírus-fertőzés és hepatocarcinogenesis*, Orv. Hetil. 2019 Jun;160(22):846-853.
4. Szentmihályi K, Süle K, Egresi A, Blázovics A, May Z: *Metronidazole does not show direct antioxidant activity in in vitro global systems*. Heliyon 2021; 7(4):e6902.

10.3. Előadások, poszterek

1. Egresi A., Hagymási K.: *A májfibrosis nem-invazív meghatározása rutinszerűen alkalmazott laboratóriumi paraméterekkel*, Amerikai Magyar Orvosszövetség Balatonfüredi Konferenciája, Balatonfüred, 2015.08.22-25.
2. Egresi A., Hagymási K.: *A szabad gyökös markerek jelentősége a májbetegségek progressziójának követésében*, Magyar Szabadgyök-kutató Társaság VIII. Kongresszusa, Budapest, 2015.11.05-06.

3. Egresi A., Süle K., Szabó G., Hagymási K., Blázovics A., Fébel H.: *A máriatövis hatóanyagainak redox-homeosztázisban betöltött szerepe mikotoxinos táppal etetett kacsák májmintáiban*, Magyar Laborállat-tudományi Egyesület, CEELA-III. Konferenciája, Budapest, 2015.11.28.
4. Egresi A., Süle K., Szabó G., Hagymási K., Blázovics A., Fébel H.: *Pecsenyekacsamáj oxidatív stressz elleni védelme takarmányhoz adott *Silybum marianum* préselménnyel*, Magyar Táplálkozástudományi Társaság és a Szent István Egyetem Élelmiszertudományi Kara közös „Táplálkozástudományi kutatások” című VI. PhD konferenciája, Budapest, 2016.02.02.,

Magyar Táplálkozástudományi Társaság Különdíj

5. Egresi A., Hagymási K., Lengyel G., Blázovics A.: *Bogyósgyümölcs-készítmény nem várt potenciórozó hatása rosuvastatin-terápia mellett*, Magyar Haemorheológiai Társaság XXIII., a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság V. Közös Kongresszusa, 2016. április 22-23, Balatonkenese
6. Egresi A., Blázovics A., Lengyel G., Hagymási K.: *Az idült májbetegségek diagnosztikája Magyarországon – 2016*, Óbudai Egyetem, 7. Báthory-Brassai Konferencia, Budapest, 2016. május 19-20
7. Egresi A., Hagymási K., Blázovics A., Lengyel G.: *Elhízás és NASH– a zsírsejtektől a májsejtektig*, A Magyar Elhízástudományi Társaság XXIV. éves Kongresszusa, 2016.november 25-26. Eger
8. Egresi A., Süle K., Fehér E., Fébel H., Hagymási K., Szentmihályi K., Blázovics A.: *Silybum marianum préselmény protektív hatása mikotoxikózisban*, A Magyar Biológiai Társaság Botanikai Szakosztálya és a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság Gyógynövény Szakosztálya közös előadóülése, Budapest, 2016. december 5.
9. Egresi A., Hagymási K., Lengyel G., Blázovics A.: *Elhízás és oxidatív stressz összefüggései nem alkoholos zsírmájbetegségben*, „Táplálkozástudományi kutatások” című VII. PhD konferencia, 2017.02.02. Budapest,

Magyar Táplálkozástudományi Társaság I. díj.

10. Egresi A., Hagymási K., Lengyel G.: *Ductalis lemez rendellenességek bemutatása két érdekes eset kapcsán*, Hepatológia 2017, 2017.03.23-25., Visegrád,

Magyar Májkutató Társaság díja.

11. Egresi A., Szilvás Á., Hagymási K., Lengyel G., Szentmihályi K., Blázovics A. *Screening for liver diseases in IBD patients with non-invasive fibrosis scores*, Falk Symposia 206, From the New and Complex Concepts to the Real Patient: Science and Clinic in IBD, 2017.03.31.-04.01., Madrid.
12. Egresi A., Kovács Á., Szilvás Á., Blázovics A.: *A bél-máj tengely vizsgálata colitis ulcerosában táplálkozásélettani megfontolásokból*, Magyar Táplálkozástudományi Társaság Vándorgyűlése, 2017. Siófok
13. Egresi A., Hagymási K., Szentmihályi K., Blázovics A.: *Fémelem analízis krónikus májbetegségben szenvedőknél*, „Táplálkozástudományi kutatások” című VIII. PhD konferencia, 2018. Budapest,

Magyar Táplálkozástudományi Társaság Különdíj

14. Egresi A., Dr. Hagymási K., Blázovics A.: *Citokinek, az oxidatív stressz és shear wave elasztográfiás mérések összefüggései krónikus májbetegségben szenvedőknél*, Magyar Haemorheológiai Társaság XXIV., a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság és a Magyar Szabadgyök-Kutató Társaság VI. Közös Kongresszusa, 2018. április 20-21, Balatonkenese
15. Anna Egresi, Anna Blázovics, Gabriella Lengyel, Zsuzsanna Jakab, Krisztina Hagymási: *Adipocitokinek szintjét befolyásoló tényezők különböző etiológiájú krónikus májbetegségekben*, Magyar Belgyógyász Társaság 47. Nagygyűlése, Budapest, 2018. november 15-17.
16. Egresi A, Blázovics A, Hagymási K, Drexler D, Jakab Zs, Dakó S, Bacsárdi A, Berta E, Lengyel G: *Analytical challenge of estimating the effectiveness of organic fermented food for evaluation of the gut-liver axis – a clinical study*, 3rd International Symposium on Scientific and Regulatory Advances in Biological and Non – Biological Complex Drugs: A to Z in Bioequivalence (3rd SRACD) Budapest, Hungary, November 12 – 14, 2018

17. Egresi A., Hagymási K, Blázovics A, Drexler D, Jakab Zs, Dakó S, Lengyel G.: *Bio és hagyományos joghurtfogyasztás nem alkoholos zsírmájbetegségben*, „Táplálkozástudományi kutatások” című IX. PhD konferencia, 2019. Budapest,
Magyar Táplálkozástudományi Társaság III. helyezés,
Amerikai Mikrobiológiai Társaság különdíja
18. Egresi A., Hagymási K., Drexler D., Blázovics A., Jakab Zs., Dakó S., Bacsárdi A., Lengyel G.: Bél-máj tengely befolyásolása fermentált élelmiszerrel nem alkoholos zsírmáj betegségben, *Hepatology-2019*, Visegrád 2019.
19. Egresi A.: *Fluorimetriás szűrővizsgálat a fehérje-karbonil kimutatásához krónikus májbetegségekben*, 10th CEHC and Hepatology 2020 Conference, 2020.09.19-22.

Dr. Telegdy László Fialat Kutatói Ösztöndíj

Hivatkozások összesen: 45. h-index:4

11. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm Prof. Dr. Igaz Péternek D.Sc. és Prof. Dr. Masszi Tamásnak Ph.D., a Belgyógyászati és Hematológiai Klinika volt és jelenlegi igazgatójának, hogy lehetőséget biztosítottak a kutatási munka elvégzéséhez.

Köszönettel tartozom témavezetőimnek, Dr. Ph.D. Hagymási Krisztina docens asszonynak és Dr. Ph.D. med. habil. Lengyel Gabriella igazgatóhelyettes docens asszonynak, hogy a Semmelweis Egyetem Ph.D. hallgatójaként részt vehettem a II. Belgyógyászati Klinika kutatómunkájában, illetve szakértelmükkel, hasznos magyarázataikkal és a konzultációk során biztosított elengedhetetlen tanácsaikkal hatalmas segítséget nyújtottak munkámhoz.

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Prof. Dr. Blázovics Annának D.Sc. széleskörű szakmai és lelki támogatásáért, és hogy lehetővé tette a laboratóriumi kutatómunkát. Továbbá köszönöm Dr. Ph.D. pharm.habil. Béni Szabolcs docens, igazgató úrnak, hogy Farmakognóziái Intézet kutatólaboratóriumában dolgozhattam.

Köszönöm Dr. Jakab Zsuzsanna, főorvos asszonynak, a II. Belgyógyászati Klinika Radiológiai Osztály vezetőjének az elasztográfiás vizsgálat során nyújtott segítségét, Dr. Ph.D. Szentmihályi Klára tudományos főmunkatársnak a fémelem analízis biztosítását, Prof. Dr. Fébel Hedvig C.Sc., tudományos tanácsadónak az állatkísérlethez történő hozzáférést, Prof. Dr. Fehér Erzsébet D.Sc. professor emeritusnak a szövettani vizsgálatok elvégzését.

Köszönöm Dr. Ph.D. Drexler Dórának a joghurtfogyasztással kapcsolatos kutatás támogatását, a Sole-Mizo-nak és a Kärntnermilch-nek a joghurtok biztosítását a betegek számára.

Köszönöm Dakó Sarolta dietetikusnak a testösszetétel mérések lebonyolítását.

Köszönöm Ph.D. kutatótársaimnak Dr. Kleiner Dénes gyógyszerésznek és Süle Krisztina mérnöknek a baráti támogatást, akikhez kérdéseimmel mindig fordulhattam.

Köszönöm Dr. Bacsárdi Annának a joghurtos kutatásban való részvételét.

Köszönet illeti a Semmelweis Egyetem Farmakognóziái Intézet és a Belgyógyászati és Hematológiai Klinika minden dolgozóját, akik segítettek a munkámat.

Végül, de nem utolsó sorban hálával tartozom szüleimnek, férjemnek és kislányaimnak, hogy kitartottak mellettem támogató szeretetükkel.