

A 8.1-es ősi haplotípus és a *PAI-1* 4G/5G
polimorfizmus vizsgálata pneumónia eredetű
szepszises betegek körében

Doktori értekezés

Aladzsity István

Semmelweis Egyetem
Molekuláris Orvostudományi Doktori Iskola
Elméleti és klinikai immunológia program



- Témavezető: Dr. Prohászka Zoltán, tudományos főmunkatárs,
MTA doktora
- Hivatalos bírálók: Dr. Bobek Ilona, osztályvezető főorvos, Ph.D.
Dr. Erdélyi Dániel, tudományos főmunkatárs, Ph.D.
- Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Ligeti Erzsébet egyetemi tanár, MTA levelező
tagja
- Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Tóth Sára, egyetemi docens, Ph.D.
Dr. Prechl József, tudományos főmunkatárs, Ph.D.

Budapest
2012

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	4
1. BEVEZETÉS (Irodalmi áttekintés).....	9
1.1. Az emberi genom egyedi különbségei.....	9
1.2. Multifaktoriális betegségek.....	10
1.2.1. Multifaktoriális betegségek jellemzői.....	10
1.2.2. Multifaktoriális betegségek asszociációs vizsgálatai.....	11
1.3. Fő hisztokompatibilitási komplex.....	13
1.3.1. MHC I osztály.....	14
1.3.2. MHC II osztály.....	14
1.3.3. MHC III osztály.....	15
1.3.3.1. Késői glikozilált végtermék receptora.....	15
1.3.3.2. Komplement C4.....	16
1.3.3.3. 70 kDa-os hőszokkfehérje 1 B.....	16
1.3.3.4. Tumor nekrozis faktor alfa és béta.....	17
1.3.4. MHC belüli blokkok öröklődése, kiterjesztett haplotípus.....	18
1.4. A 8.1-es ősi, kiterjesztett haplotípus.....	19
1.4.1. A 8.1-es haplotípus jellemzői.....	19
1.4.2. A 8.1-es haplotípus módosult immunválasza.....	20
1.4.3. AH8.1 szerepe különböző betegségekben.....	22
1.4.3.1. AH8.1 szerepe a monogénes eredetű cisztás fibrózisban.....	23
1.5. Szepszis, mint multifaktoriális betegség.....	23
1.5.1. Szepszis fogalma.....	23
1.5.2. Incidencia, mortalitás, kezelési költségek.....	25
1.5.3. Patofiziológia.....	25
1.5.3.1. Gyulladásos rendszer.....	26
1.5.3.2. Koagulációs rendszer.....	27
1.5.4. Szepszis kialakulását, lefolyását befolyásoló tényezők.....	28
1.5.4.1. Egy gyakori társbetegség: krónikus obstruktív tüdőbetegség.....	29
1.5.4.2. Genetikai tényezők szepszisben.....	29
1.6. A plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1).....	30
1.6.1. A <i>PAI-1</i> gén 4G/5G polimorfizmusa.....	32
2. CÉLKITŰZÉS.....	34
3. MÓDSZEREK.....	36
3.1. A vizsgálatban résztvevő betegcsoport és definíciók.....	36
3.2. Anyagok és módszerek.....	37
3.2.1. Mintavétel és DNS izolálás.....	37
3.2.2. Az egy pontos polimorfizmusok vizsgálata.....	37
3.2.2.1. Restrikciós fragmenthossz-polimorfizmus.....	38
3.2.2.2. TaqMan próba alapú allél diszkrimináció.....	39
3.2.3. <i>C4A</i> gén szám meghatározása.....	40
3.2.4. A HLA-B, HLA-DQB1 és HLA-DRB1 allélek vizsgálata.....	41
3.2.5. Az AH8.1 meghatározása.....	41
3.2.6. 4. Statisztikai módszerek.....	42
4. EREDMÉNYEK.....	44
4.1. Beteg leírása.....	44
4.2. Az <i>AGER</i> -429T/C, <i>C4A</i> *Q0, <i>HSP70-2</i> 1267A/G, <i>TNF-α</i> -308G/A, <i>LTA</i> 252A/G polimorfizmusok és a 8.1-es ősi haplotípus gyakorisága.....	46
4.3. A szepszis vizsgált kimenetei és a genetikai faktorok közötti összefüggés.....	47

4.4.	Regressziós modellek	51
4.4.1.	Bináris logisztikus regressziós modellek	51
4.4.2.	Cox-regressziós túlélési modellek	53
4.5.	Az AH8.1 és a <i>PAI-1</i> 4G/5G polimorfizmus összefüggése klinikai paraméterekkel.....	54
4.6.	A 8.1 ősi haplotípus és a <i>PAI-1</i> 4G/5G polimorfizmus együttes vizsgálata pneumónia eredetű szepszises betegek körében	56
5.	EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE	60
5.1.	Az <i>AGER -429T/C</i> , <i>HSP70-2 1267A/G</i> , <i>TNF-α -308G/A</i> , <i>LTA 252A/G</i> , <i>PAI-1</i> 4G/5G polimorfizmusok valamint a C4A*Q0 és a 8.1-es ősi haplotípus gyakorisága a pneumónia eredetű szepszises betegcsoportban	60
5.2.	Szepszis vizsgált kimenetei és az AH8.1 közötti összefüggés	61
5.2.1.	Szepszis vizsgált kimenetei és az AH8.1 azonosítása során genotipizált polimorfizmusok közötti összefüggések	65
5.3.	Szepszis vizsgált kimenetei és a <i>PAI-1</i> 4G/5G közötti összefüggések	69
5.4.	A 8.1-es ősi haplotípus és a <i>PAI-1</i> 4G/5G polimorfizmus együttes vizsgálata pneumónia eredetű szepszises betegek körében	72
5.5.	A vizsgálat erősségei illetve korlátjai	73
6.	KÖVETKEZTETÉSEK	75
7.	ÖSSZEFOGLALÁS	79
8.	SUMMARY	80
9.	IRODALOMJEGYZÉK	81
10.	SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE	106
10.1.	A dolgozat anyagát képező publikációk	106
10.2.	Egyéb közlemények.....	106
10.2.1.	Nemzetközi folyóiratban megjelent publikációk.....	106
10.2.2.	Könyvfejezetek.....	106
11.	KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS	107

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AGE	Késői glikolizált végtermék (Advanced Glycation Endproducts)
AGER	Késői glikolizált végtermék receptora (Advanced Glycation Endproducts Receptor)
AH	Ósi haplotípus (Ancestral Haplotype)
AIF	Allograft gyulladáshoz vezető faktor (Allograft Inflammatory Factor)
ALI	Akut tüdőszérülés (Acute Lung Injury)
ANOVA	Variancia analízis (ANalysis Of VAriance)
APACHE II	Akut élettani és krónikus egészségügyi értékelés II pontrendszer (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II score)
APC	Antigén-bemutató sejt (Antigen Presenting Cell)
APC	Aktivált protein C
APS	Akut élettani pontrendszer (Acute Physiology Score)
ARDS	Akut respirációs distressz szindróma (Acute Respiratory Distress Syndrome)
BAL	Bronchoalveoláris mosófolyadék (BronchoAlveolar Lavage)
BF	B faktor
BRD	Bromodomén
BTN	Butirofilin
BTNL	Butirofilin szerű (BuTyrophiliN-Like)
C	Komplement (Complement)
C4A	Komplement 4 A (Complement 4 A)
C4B	Komplement 4 B (Complement 4 B)
C4A*Q0	Kevesebb, mint kettő <i>C4A</i> gén
CARD	Kaspáz gyűjtő domén (CAspase Recruitment Domain)
CD	Differenciációs klaszter (Cluster of Differentiation)
CEH	Konzervált kiterjesztett haplotípus (Conserved Extended Haplotype)
CF	Cisztás fibrózis
CFTR	Cisztás fibrózis transzmembrán konduktancia regulátor
CI	Konfidencia intervallum (Confidencia Intervallum)
CNP	Kópiaszám polimorfizmus (Copy-Number Polymorphism)

CNV	Kópiaszám variáció (Copy-Number Variation)
COPD	Krónikus obstruktív tüdőbetegség (Chronic Obstructive Pulmonary Disease)
CRP	C reaktív fehérje (C Reactive Protein)
CXCL2	Kemokin (C-X-C motívum) ligandum (Chemokine (C-X-C motif) Ligand)
DOA	MHC II, DO alfa
DOB	MHC II, DO béta
DIC	Disszeminált intravaszkuláris koaguláció (Disseminated Intravascular Coagulation)
DNS	Dezoxiribo-nukleinsav
dNTP	Dezoxiribonukleozid-trifoszfát (deoxyriboNucleotide TriPhosphate)
EtBr	Etidium bromid
ETTTUKEB	Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága
FAM	Taqman fluoreszcens festék (6-carboxy-fluorescein)
Fc γ RIIa	Fc gamma receptor IIa
G6D	Limfocita antigén 6 komplex, lokusz G6D
G6B	Limfocita antigén 6 komplex, lokusz G6B
GWAS	Teljes genom asszociációs vizsgálat (Genom Wide Association Study)
HFE	Hemokromatózis
HMG	Nagy mobilitású csoport (High-Mobility Group)
HLA	Humán leukocytá antigén (Human Leukocytá Antigen)
HLA-A,-B,-C	MHC I osztály fehérjéinek polimorf α -láncait kódoló lókuszek
HLA-Cw	HLA-C gén szerotípusa
HLA-E,-F,-G	MHC I osztály fehérjéinek nem polimorf α -láncait kódoló lókuszek
HLA-DM	MHC II osztály fehérjéit kódoló lókuszek
HLA-DP,-DQ, -DR	MHC II osztály fehérjéinek polimorf α és β láncait kódoló lókuszek
HR	Relatív kockázat (Hazard Risk)
HSP	Hősokk fehérje (Heat Shock Protein)
HSPA1A	70kDa-os hősokk fehérje 1 A (Heat Shock 70kDa Protein 1A)

HSPA1B	70kDa-os hőszokk fehérje 1 B (Heat Shock 70kDa Protein 1B)
HSPA1L	70kDa-os hőszokk fehérje 1 L (Heat Shock 70kDa Protein 1L)
IFN γ	Interferon-gamma
Ig	Immunoglobulin
IL	Interleukin
RA	Receptor antagonist
IL-1RA	IL-1 receptor antagonist
ITO	Intenzív osztály
IPPV	Invazív pozitív nyomású lélegeztetés (Invasive Positive Pressure Ventilation)
LBP	LPS-kötő fehérje (Lipopolysaccharid Binding Protein)
LD	Kapcsoltsági egyensúlytalanság (Linkage Disequilibrium)
LPS	Lipopoliszaharid
LST	Leukocita specifikus transzkript
LTA	Limfotoxin alfa
LTB	Limfotoxin béta
Mb	Megabázis
MAP	Artériás középnyomás (Mean Arterial Pressure)
MBL	Mannóz-kötő lektin (Mannose-Binding Lectin)
MHC	Fő hisztokompatibilitási komplex (Major Histocompatibility Complex)
MICA	MHC I polipeptidhez kapcsolt szekvencia A (MHC class I polypeptide-related sequence A)
MMIF	Makrofág migrációt gátló faktor (Macrophage Migration Inhibitory Factor)
MMPs	Mátrix metalloproteinázok (Matrix MetalloProteinases)
MODS	Többszervi elégtelenség (Multiple Organ Dysfunction Syndrome)
MOG	Mielin oligodendrocita glikoprotein
mRNS	Hírvivő ribonukleinsav (messenger RNS)
n.a.	Nincs adat
NCR	Természetes citotoxicitást kiváltó receptor (Natural Cytotoxicity triggering Receptor)
NF- κ B	Nukleáris faktor kappa B

NK	Természetes ölősejtek (Natural Killer)
NIPPV	Non-invazív pozitív nyomású légzéstámogatást (Noninvasive Positive Pressure Ventilation)
NOD	Nukleotid-kötő oligomerizációs domén (Nucleotide-binding Oligomerization Domain)
NOTCH	Notch családba tartozó gén, fehérje
OR	Esély arány (Odds Ratio)
PAI-1	Plazminogén aktivátor inhibitor-1
PCR-RFLP	Polimeráz láncreakció - restrikciós fragmenthossz-polimorfizmus (Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism)
PEEP	Pozitív végkilégzési nyomás (Positive End-Expiratory Pressure)
PSMB	Proteaszóma alegység béta (Proteasome Subunit, beta type)
RNS	Ribonukleinsav
RT-PCR	Valós idejű polimeráz láncreakció (Real Time PCR)
SBP	Szisztolés vérnyomás (Systolic Blood Pressure)
SIRS	Szisztémás gyulladásos válaszreakció (Systemic Inflammatory Response Syndrome)
SLE	Szisztémás lupusz eritematózus (Systemic Lupus Erythematosus)
SNP	Egy pontos nukleotid polimorfizmus (Single Nucleotide Polymorphism)
dbSNP	Egy pontos nukleotid polimorfizmus adatbázis (database Single Nucleotide Polymorphism)
SP-B	Felületaktív fehérje B (Surfactant Protein B)
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SSP	Szekvencia specifikus primer (Sequence-Specific Primer)
TAFI	Thrombin-aktivált fibrinolitikus inhibitor (Thrombin-Activable Fibrinolysis Inhibitor)
TAP	Transzporter
TAPBP	Tapaszin (TAP Binding Protein)
TF	Szöveti faktor (Tissue Factor)
TFPI	Szöveti faktor útvonal gátló (Tissue Factor Pathway Inhibitor)
TGF	Transzformáló növekedési faktor (Transforming Growth Factor)

Th	Segítő T sejt (T helper cell)
TLR	Toll-like receptor
Tm	Olvadáspont (melting Temperature)
TNF	Tumor nekrosis faktor
TNFR	TNF receptor
TRIM	Háromrészes motívum (Tripartite Motif)
tPA	Szöveti plazminogén aktivátor (tissue Plasminogen Activator)
uPA	Urokináz plazminogén aktivátor (urokinase Plasminogen Activator)
Ún.	Úgynevezett
VIC	Taqman fluoreszcens festék (4-dichloro-6-carboxyfluorescein)
VNTR	Változó számú tandem ismétlődés (Variable Number Tandem Repeat)
Vs	Verzusz

1. BEVEZETÉS (Irodalmi áttekintés)

1.1. Az emberi genom egyedi különbségei

A Human Genom Projeknek és az 1000 Genom Projeknek köszönhetően ma már hatalmas mennyiségű információ áll rendelkezésre génjeinkről és fehérjeinkről [1, 2]. A teljes humán genom mérete hozzávetőleg 3,2 gigabázis (3,2 milliárd bázis). A DNS-t felépítő nukleotidok sorrendje egyénenként kisebb-nagyobb eltéréseket mutathat. Becslések szerint bármely két, nem rokon ember genomja kb. 99,9%-ban azonos, azaz DNS szekvenciájuk kb. 3 millió bázispárban különbözik. A humán genom diverzitását a ritka mutációk és strukturális variációk mellett genetikai polimorfizmusok biztosítják, amelyek - a hagyományos definíció szerint - olyan DNS szekvencia változatok, melyek gyakorisága egy populációban 1%-nál nagyobb [3].

A polimorfizmusok egyik jelentős csoportja az egy pontos nukleotid polimorfizmusok (SNP- Single Nucleotide Polymorphism), melyek egy nukleotid cseréje (esetenként inszerciója vagy deléciója) következtében alakulnak ki [4]. Ma már óriási számú SNP-t ismerünk, a feltételezett 15-30 millióból 2011 közepéig több mint 21 milliót sikerült azonosítani, melyek nyilvános adatbázisban elérhetők (dbSNP - SNP database). Az SNP-k lehetnek kódoló illetve nem kódoló régiókban. Továbbá attól függően, hogy a variánsok hatással vannak-e a transzkripcióra, a translációra, a fehérjék felépítésére és működésére megkülönböztetünk funkcionális és nem funkcionális SNP-eket. A nem kódoló régiókban elhelyezkedő polimorfizmusok legtöbbször nem járnak funkcionális következményekkel, azonban előfordulhat, hogy valamilyen szabályozó régiót érintve (pl. promóter régió) befolyásolhatják bizonyos fehérjék kifejeződését.

Korábban azt gondolták, hogy a humán genom diverzitásáért elsősorban ezek az egy bázist érintő polimorfizmusok felelősek, azonban mára világossá vált, hogy a jóval nagyobb területet érintő variációk is jelentős mértékben hozzájárulnak az egyes emberek közötti különbségekhez [5]. A humán genom akár több százezer bázispárt átfogó duplikációkat, inzerciókat és deléciókat is tartalmazhat és ezek száma egyénenként több száz is lehet [6]. A gyakoriságuk alapján feltételezhető, hogy ezek az eltérések nagyrészt kis hatásúak, így az egyes emberek közötti különbségek kódolásán

kívül prediszponáló vagy protektív szereppel bírhatnak bizonyos kórképek esetében. Az irodalom ezeket az eltéréseket összefoglaló néven kópiaszám variációknak (CNV - Copy-Number Variation) vagy kópiaszám polimorfizmusoknak (CNP - Copy-Number Polymorphism) nevezi [7].

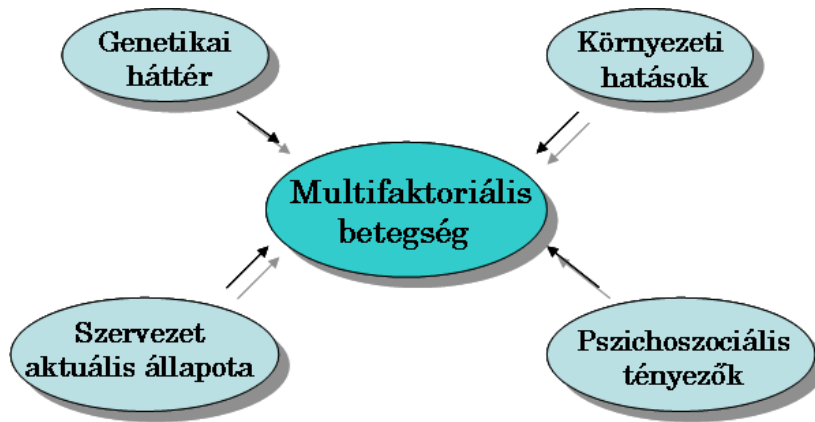
1.2. Multifaktoriális betegségek

1.2.1. Multifaktoriális betegségek jellemzői

Multifaktoriális betegségnek nevezzük azokat a kórképeket, amelyek esetében a betegségre való hajlamot több gén hatása, kölcsönhatása befolyásolhatja, valamint a betegség megjelenését nemcsak genetikai, hanem más tényezők is befolyásolják például környezeti hatások (pl. dohányfüst, légszennyezettség), a szervezet aktuális állapota (pl. életkor, nem, alapbetegség, hormonális változások) az életstílus vagy a pszichoszociális tényezők. Komplex kórképek közé soroljuk például a modern társadalom betegségeit (ischaemiás szívbetegség egyes formái, hipertónia) és a pszichiátriai kórképek jelentős részét (skizofrénia, depresszió, pszichózisok) (1. ábra).

Azokat a fenotípusos jellegeket, amelyek öröklődésére a mendeli szabályok érvényesek általában egyetlen génpár variációi határozzák meg. A poligenitás és a környezeti hatások jelentősége miatt a multifaktoriális megbetegedéseknél nem figyelhető meg a mendeli monogénes öröklődésre jellemző mintázat. Mivel a multifaktoriális betegségeknél a különféle allélek egyenként csak minimális hatással járulnak hozzá a betegség megjelenéséhez a kórképek mennyiségi jellemzőkkel rendelkeznek. Ennek köszönhetően a multifaktoriális betegségek változó súlyosságúak lehetnek ezért is nehéz egy személy lehetséges érintettségét meghatározni [8, 9]. Továbbá számos más tényező is nehezíti a multifaktoriális betegségek vizsgálatát, például a genetikai heterogenitás, fenokópia, pleiotrópia és az inkomplett penetrancia jelensége. Mivel a komplex betegségeknél a családfa analízis az említett okok miatt nem lesz informatív, a multifaktoriális betegségek vizsgálata főként a populációs vagy asszociációs genetikára hárul.

1. ábra. A multifaktoriális betegség kialakulását befolyásoló tényezők.



1.2.2. Multifaktoriális betegségek asszociációs vizsgálatai

A genetikai asszociációs vizsgálatok során arra keressük a választ, hogy a kiválasztott populációban a megfigyelt fenotípussal milyen genetikai marker hozható összefüggésbe. Ha a genetikai tényezők betegségre való hajlamosító hatását szeretnék vizsgálni, akkor egy „eset” és egy kontroll populáció genetikai markereinek frekvenciáit hasonlítjuk össze. Ha a betegség lefolyásáról szeretnék többet tudni, akkor az esetcsoport különböző kimeneteihez tartozó (pl. túlélők vs. meghaltak, súlyossági stádiumok) genotípus frekvenciákkal tesszük meg ugyanezt. Azok a variánsok mutatnak asszociációt a vizsgált betegséggel vagy a kimenetekkel, amelyek különböző gyakoriságúak a két összehasonlított csoportban. Az asszociációt mutató variánsokat az adott betegség vagy kimenet rizikófaktorának lehet tekinteni.

Az asszociációs vizsgálatok alapvetően kétfajta megközelítésen alapszanak. Az egyik vizsgálat során a teljes genom „screenelése” történik és rendszerint nincs semmiféle elméleti megfontolás a vizsgálandó SNP-k kiválasztásában. A másik módszer alkalmazása során pedig a vizsgálat egy hipotézis felvetésén keresztül fókuszál a kiválasztott génre vagy génekre.

A teljes genom asszociációs vizsgálatokban (GWAS – Genom Wide Association Study) a polimorfizmusok százezres nagyságú tömegét vizsgálva - szinte a teljes genomot egyszerre elemezve – próbálják meg lokalizálni a betegségben szerepet játszó

géneket. Meg kell azonban jegyezni, hogy a GWAS vizsgálatok igen költségesek, így általában nemzetközi összefogással jöhetnek csak létre. Emellett az óriási adathalmaz feldolgozása sem egyszerű, az elemzéshez (pl. $500.000 \times 1.000 = 500$ millió adat csak az SNP-kből egy 1000 fős populációnál) szakképzett bioinformatikusok alkalmazása szükséges. A statisztikai jellegű problémák miatt pedig fontos az új, kandidáns gének szerepét megerősítő, ismétlő validáló vizsgálatok elvégzése [10].

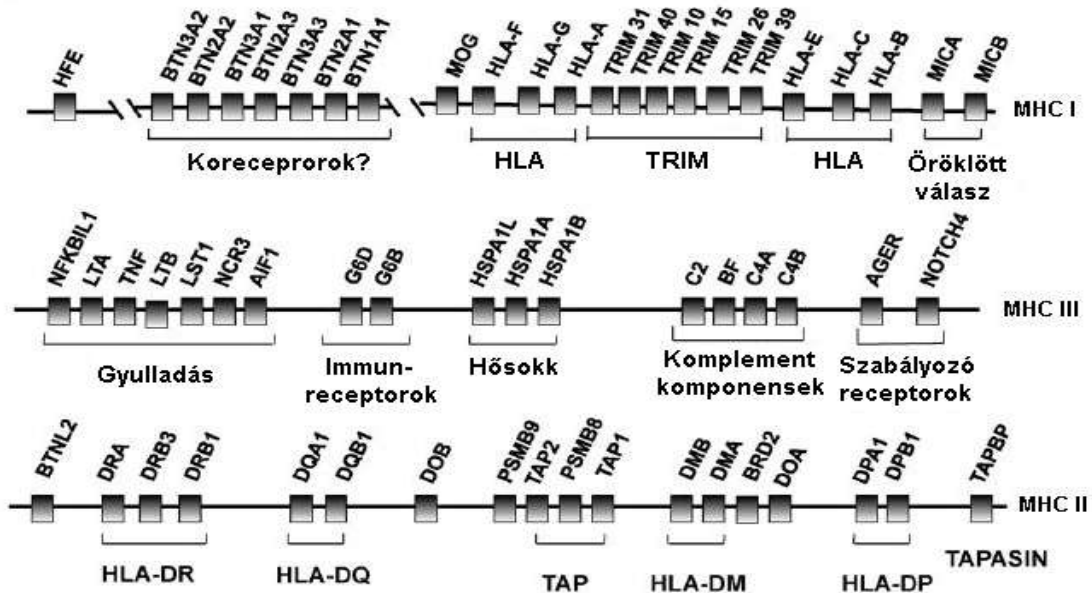
A jelölt gén asszociációs vizsgálatoknál a kandidáns gén terméke elméleti megfontolások alapján szerepet játszhat a vizsgálatba bevont betegség patomechanizmusában. Feltételezhető, hogy a kandidáns génben történő változások, polimorfizmusok olyan megváltozott expresszióval vagy megváltozott szerkezettel rendelkező fehérjét, fehérjéket eredményeznek, melyek a vizsgált betegség rizikófaktoraként ismertek. A kandidáns gén asszociációs vizsgálat előnye, hogy viszonylag olcsó és egyszerűen kivitelezhető emellett a kiértékeléshez sincs szükség komolyabb bioinformatikai apparátusra, ismeretekre [11].

Egy populációban a polimorfizmusok alléljainak egymáshoz viszonyított helyzete gyakran nem véletlenszerű eloszlást mutat, hanem olyan szakaszokat, blokkokat alkotnak, amelyeken belül az egyes allélok mindig azonos változatban vannak jelen. Ezeket a blokkokat haplotípusoknak nevezzük. Ha a vizsgált allél részét képezi egy ilyen haplotípusnak, vagyis az allél együtt öröklődik más-másik alléllal-allélokkal, akkor könnyen előfordulhat, hogy az adott SNP-vel kapcsolatban megfigyelt eredmények nemcsak az adott polimorfizmus hatását fogják tükrözni, hanem a vele kapcsoltságban lévő polimorfizmusokét is. Éppen ezért a multifaktoriális betegségekre jellemző kis hatású SNP-k funkciójának elemzésekor gyakran célszerű ezen polimorfizmusok együttes hatásának, azaz haplotípusának vizsgálatára is kitérni. Különösképpen, ha ismert hogy a vizsgált genetikai markerek haplotípusokat is képeznek. A haplotípusok elemzése nemcsak a komplex öröklődésű betegségek genetikai hátterének vizsgálatára alkalmas, hanem evolúciós szempontból is egyedülálló jelentőséggel bír, ugyanis bizonyos gének, gén-csoportok együtt öröklődése gyakran nem véletlenszerű. Így ezen DNS szakaszok tanulmányozása nem csak az emberi populációk kialakulásáról és elterjedéséről, de az emberi evolúció lépéseiről is információt szolgáltat [12]. Az emberi genom egyik ilyen, haplotípusokban gazdag régiója a fő hisztokompatibilitási komplex.

1.3. Fő hisztokompatibilitási komplex

A 6. kromoszómán található teljes (kiterjesztett) fő hisztokompatibilitási komplex (MHC - Major Histocompatibility Complex) vagy más néven humán leukocita antigén rendszer (HLA – Human Leukocyta Antigen) mintegy 250 gént és kb. 7,6 millió bázispárt (7,6Mb) magába foglaló, 4cM nagyságú szakasz [13]. Elnevezését a régió onnan kapta, hogy itt található a szervátültetések során a szöveti kompatibilitás tekintetében igen jelentős szerepet játszó gének az ún. MHC-gének. Az MHC-gének jellemző sajátága a génduplikációk eredményeként létrejött poligenitás és a nagyfokú genetikai polimorfizmus. Emellett az MHC régió számos nem MHC-szerű, de az immunrendszer működésében fontos fehérjét is kódol. A komplex három nagy régióra osztható: I, II és a középső, III osztályra (2. ábra). Az osztályokat tovább lehet bontani ún. klaszterekre. A klaszterek a génduplikációknak köszönhetően paralóg génekből állnak, melyek funkcionálisan hasonló fehérjéket kódolnak [13, 14].

2. ábra. A fő hisztokompatibilitási génkomplex [14].



1.3.1. MHC I osztály

Az I-es osztályba tartoznak a HLA-A, -B és -C gének, amelyek a klasszikus MHC I molekulák hosszabb polimorf α láncát kódolják. Az MHC I molekulák másik alkotórésze, a rövidebb konstans β_2 -mikroglobulin lánc kódolásáért egy, a 15. kromozómán elhelyezkedő gén a felelős. Az MHC I membránfehérjék gyakorlatilag minden magvas sejt membránján megjelennek és a citotoxikus CD8⁺T-sejtek számára antigén prezentáló molekulaként működnek. A kórosan módosult saját vagy az intracelluláris kórokozók idegen antigénjeinek bemutatása a sejt lízisét eredményezheti. Ugyanebben a régióban található a HLA-E, -F és -G gének, amelyek a bizonyos sejteken megjelenő és nem polimorf α -láncot tartalmazó nem klasszikus MHC I molekulák kódolásukért felelősek [15].

1.3.2. MHC II osztály

A II-es osztályba tartoznak a HLA-D régióban található DP-, DR- és DQ- gének, amelyek az MHC II molekulákat kódolják. Az MHC II membránfehérjék egymással nem-kovalens módon kapcsolódó, polimorf α - és β -polipeptidláncból épülnek fel. Ezen membránfehérjék az ún. hivatásos antigén-bemutató sejteken (APC – Antigen Presenting Cell) – makrofágokon, dendritikus sejteken, B-limfocitákon - konstitutívan vannak jelen, míg számos sejten csak bizonyos hatásokra (pl. $\text{INF}\gamma$) expresszálódnak. Az MHC II molekulák legfontosabb biológiai funkciója az idegen fehérjék lebontásakor keletkező peptidek megkötése és bemutatása a szervezet CD4⁺T-sejtjei számára. A CD4⁺T-sejtek vagy más néven T-helper (Th, segítő T sejtek) az antigén felismerést követően a megfelelő immunválasz (celluláris vagy humorális immunválasz) elindításában segédkeznek. A HLA-DM gének nem klasszikus MHC II molekulákat kódolnak. HLA-DM gének termékeiből kialakuló heterodimerek laterálisan képesek kötődni az MHC II molekulákhoz és valószínűleg fontos szerepet töltenek be az MHC II molekulák által közvetített antigénprezentációban [15].

1.3.3. MHC III osztály

Az MHC középső, III-as osztályú régiója nem tartalmaz a transzplantáció szempontjából fontos géneket mégis az itt kódolt fehérjék túlnyomó többsége nélkülözhetetlen a gyulladásos folyamatokban [16, 17]. Ez a régió olyan molekulákat kódol, melyek a természetes és a szerzett immunválasz szabályozásában fontos szerepet játszanak, mint például a késői glikolizált végtermék receptora (AGER - Advanced Glycation Endproducts Receptor), a komplementrendszer egyes fehérjéi (C4A, C4B), a tumornekrózis faktor (TNF- α , TNF- β) nevű citokinek valamint a 70kD hősokkfehérjék (HSP – Heat Shock Protein).

1.3.3.1. Késői glikozilált végtermék receptora

A glükóz molekulák nem enzimatis irreverzibilis kapcsolódása fehérjékhez hosszú felezési idővel rendelkező ún. késői glikozilált végtermékek (AGE - Advanced Glycation Endproducts) képződéséhez vezet. Diabetes, veseelégtelenség, gyulladás és öregedés természetes lefolyása során késői glikozilált végtermékek felhalmozódása a jellemző [18]. A multiligand AGER, mely főként az I-es típusú alveoláris epitelsejteken fejeződik ki ezen glikozilált fehérjék megkötésére alkalmas receptor. A ligand kötődése a receptorhoz monociták és endotelsejtek gyulladásos citokin (TNF- α , IL-6) termelődését indukálja, emellett a receptor aktiválása prokoaguláns állapot kiváltásában is szerepet játszhat [19-21].

Fokozott AGER expresszió figyelhető meg különböző betegségekben, mint például diabetes, érlemeszesedés, krónikus szívelégtelenség vagy a tüdőt érintő szarkoidózis [22, 23]. A gén szabályozó régiójában található variációk közül az egyik legtöbbet vizsgált nukleotidcsere a -429 T/C polimorfizmus. Az SNP ritka, citozint tartalmazó allélja jelenlétében erőteljesebb a gén transzkripció aktivitása [24]. A gén asszociációs vizsgálatok a ritkább C allél gyakoribb előfordulását igazolták a cukorbeteg és a retinopátiában szenvedő páciensek körében [24, 25].

1.3.3.2. Komplement C4

A C4 komplement fehérje a C3 és C5 konvertáz enzimkomplexek tagjaként a klasszikus és lektin mediált komplement aktiváció egyik központi eleme. A C4 fehérjék a komplement mediált lízis elősegítése mellett a kórokozók opsonizációjában, a proinflammációban és az immunaggregátumok szolubilizálásában is részt vesznek. A C4 fehérjéket a komplement rendszer két különböző eleme mellett (C2, B faktor) a komplement génklaszter kódolja [14]. A C4 fehérjének két izotípusa létezik a C4A és a C4B, melyeket a *C4A* és a *C4B* gének kódolnak [26]. A komplement C4A és C4B fehérje között a fő különbség az antigénnel létesített kovalens kötések kialakításában van. A C4A inkább immunkomplexekhez kötődik és azok eliminációjában játszik meghatározó szerepet, míg a C4B fehérje hagyományos szerepet betöltve főként a komplement rendszer beindításában vesz részt [27].

A C4 gének érdekessége hogy kópia szám polimorfizmust mutatnak. Ennek köszönhetően a *C4A* gének száma egyénenként 0 és 5 között a *C4B* gének száma pedig 0 és 4 között változhat. Azokat az egyéneket, akik kevesebb, mint kettő *C4A* vagy *C4B* génszámmal rendelkeznek *C4A*Q0* vagy *C4B*Q0* hordozónak nevezzük. A C4A fehérje hiánnyal jellemzett *C4A*Q0* a szisztémás lupusz eritematózus (SLE – Systemas Lupus Erythematosus) és az 1-es típusú diabetes kialakulásával mutatott asszociációt [27, 28]. A C4B fehérje hiánnyal jellemzett *C4B*Q0* gyakoribb előfordulása pedig az SLE mellett az autizmussal, öregedéssel és az akut miokardális infarktussal mutatott összefüggést [29, 30].

1.3.3.3.70 kDa-os hőszokkfehérje 1 B

A hőszokkfehérje génklaszterben a HSP70 családba tartozó hőszokkfehérjék közül a *HSPA1A*, *HSPA1B* és a *HSPAIL* (más néven *HSP70*, *HSP70-2* és a *HSP70-HOM*) géneit találjuk. Ezek a fehérjék ún. stressz-indukált proteinek, mivel hipertermia, oxidatív stressz vagy ozmotikus stressz hatására jelentősen megemelkedik a szintjük. A HSP70 fehérjék a celluláris stresszválasz részeként a sejtek védelmében játszanak fontos szerepet, megakadályozzák a károsodott fehérjék aggregációját, elősegítik a már

aggregálódott fehérjék szerkezetének és funkciójának helyreállítását, valamint az irreverzibilisen károsodott fehérjék lebontását [31]. A gyulladásos folyamatok proinflammatorikus mediátorai (TNF- α , IL-6) fokozottabb HSP70 termelődést képesek kiváltani [32], ami hatékonyabb antigén feldolgozást és bemutatást [33] illetve a gyulladás szövetkárosító hatásainak hatékonyabb kivédését eredményezi [34]. Emellett a TNF- α által indukált makrofágokra kifejtett apoptotikus hatást is képesek enyhíteni [35].

A régió egyik legtöbbet vizsgált polimorfizmusa a *HSPA1B* (továbbiakban *HSP70-2*) gén 1267 pozíciójában lévő aminosav cserét nem okozó A/G nukleotid-szubsztitúció [36, 37]. A *HSP70-2* 1267A/G polimorfizmusnak a gén transzkripció aktivitására gyakorolt hatását vizsgáló tanulmányok ellentmondó eredményekkel zárultak [38-40]. Asszociációs vizsgálatokban a G allélt eddig számos betegség kialakulásával illetve rosszabb kimenetével hozták már összefüggésbe [40-44].

1.3.3.4. Tumor nekrozis faktor alfa és béta

A proinflammatorikus tulajdonsággal rendelkező tumor nekrozis faktor alfa (TNF- α) és béta (TNF- β , vagy más néven a limfotoxin alfa - LTA) citokineket a tumor nekrozis faktor klaszter kódolja.

A TNF- α -t főként aktivált makrofágok termelik és az akut fázis válasz kialakításában, az endothelsejtek aktivációjában valamint a programozott sejthalál kiváltásában játszik szerepet [45]. Emelkedett szérumszintjét gyulladásos folyamatok és az MHC régióval kapcsolt autoimmun betegségek esetén számos esetben igazolták [46-49]. Ennek köszönhetően a gyógyászat számos betegség esetében alkalmaz sikeres anti TNF- α terápiákat [50-52]. A gén egy pontos nukleotid polimorfizmusai közül a legtöbbször vizsgált SNP a promóter régió -308-as pozíciójában lévő G/A szubsztitúció. *In vitro* és klinikai vizsgálatok a ritkább A allélhez kötik a fokozottabb TNF- α termelődést [53, 54]. Az A allél hordozását pedig számos gyulladásos és autoimmun betegség kialakulásával illetve rosszabb kimenetével hozták összefüggésbe [55-57].

A limfotoxin alfát főként az aktivált T sejtek és B limfociták termelik, funkcióját tekintve – ugyanazon a TNF receptorhoz kötődve (TNFR1 és TNFR2) - pedig

megegyezik a TNF- α -val csak éppen a lokális gyulladások kialakításban van döntő szerepe. A fertőzőes betegségekkel végzett kísérletek az LTA szabályozó szerepének fontosságát támasztották alá transzgenikus egerekben [58, 59]. Leírt polimorfizmusai közül leginkább a 252 pozícióban lévő A/G SNP-t tartják számon. Bár ez a nukleotidcsere egy nem kódoló régiót érint, mégis *in vitro* vizsgálatokban a G allél jelenléte fokozottabb LTA termelődést mutatott [60, 61]. Emellett az LTA 252G allél a TNF- α -308A alléllal mutat erős kapcsoltságot.

1.3.4. MHC belüli blokkok öröklődése, kiterjesztett haplotípus

Az MHC régióon belül egyes allélek együtt-öröklődése annyira jellemző, hogy ún. kapcsoltsági blokkokat alkotnak. Ezek a blokkok egymástól nagy távolságra lévő, fix, nem változó DNS-szakaszokat (< 0,2 Mb) képeznek a régióon belül. A blokkon belüli kapcsoltságot sokkal jellemzőbb, mint a blokkok közötti részekén. A szakirodalom négy nagyobb blokkot különböztet meg [62]:

1. a HLA-Cw/B blokk az MHC I régióon
2. a HLA-DR/DQ blokk az MHC II régióon
3. a komplotípus blokk (komplement gének csoportja) szintén az MHC III régióon
4. a TNF blokk (TNF- α és LTA) az MHC III régióon

A blokkok igen polimorf szakaszokat foglalnak magukba, így a fent említett blokkoknak sok variációja létezik. Azonban a sok variáció ellenére bizonyos blokk típusok csak bizonyos blokk típusokkal fordulnak elő (Pl: HLA-Cw/B blokk B gén 8-as allélja leginkább a HLA-DR/DQ blokk DQ2, DR3-al mutat kapcsoltságot). A köztük lévő szoros genetikai kapcsoltságot miatt, a blokkokból felépülő haplotípusok gyakorisága nem egyenlő az őket alkotó blokkok külön-külön vett gyakoriságának szorzatával, mint ahogy azt függetlenül öröklődő allélektől várhatnánk. A legtöbb haplotípus az említett blokkok közül csak egy-két blokk kombinációjából épül fel. Azonban előfordulnak olyan haplotípusok melyek mind a négy blokkot tartalmazva, majdnem lefedik az egész MHC régiót. Míg az emberi genomban a haplotípusok hossza általában 5 és 200 kilobázis (Kb < 0,2 Mb) között mozog, addig a MHC régióon, köszönhetően a blokkok együtt öröklődésének, nem ritkák a 3 Mb hosszúságú

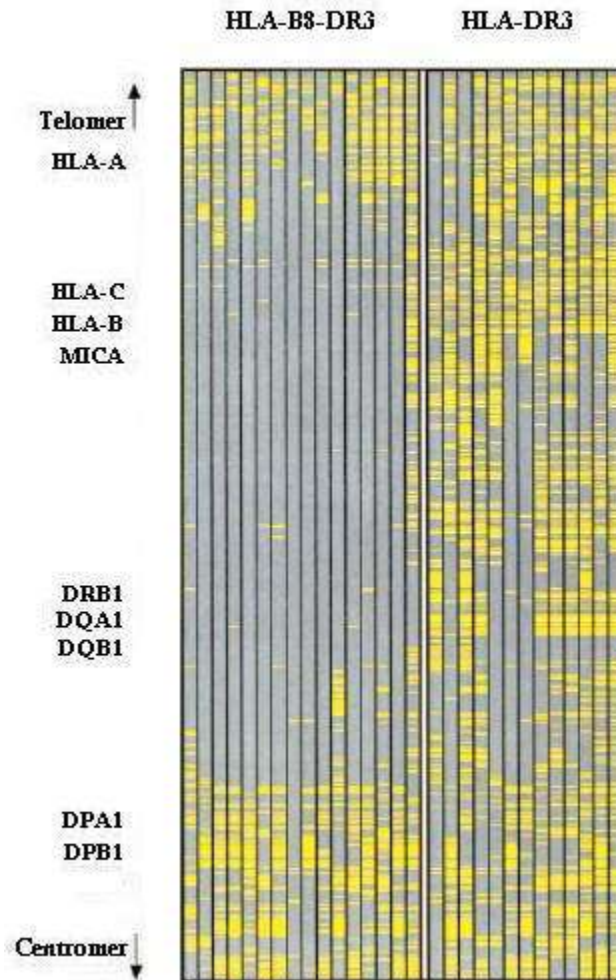
szakaszok sem [63]. Ezek a haplotípusok valószínűleg az ember kialakulása során bekövetkezett keletkezésük óta kvázi „befagyva” maradtak együtt. Ezért ezeket a szakaszokat ősi (AH - Ancestral Haplotype) vagy kiterjesztett (CEH - Conserved Extended Haplotype, >1Mb) haplotípusoknak nevezzük [64, 65]. Az ilyen kiterjesztett és konzervált haplotípusok adják a humán genom MHC régió különlegességét.

1.4. A 8.1-es ősi, kiterjesztett haplotípus

1.4.1. A 8.1-es haplotípus jellemzői

A 8.1-es ősi haplotípus (AH8.1) a kaukázusi populáció leggyakoribb és a humán genom eddig azonosított második leghosszabb (4,7Mb) haplotípusa [66, 67]. Az ősi haplotípusok elnevezése a legpolimorfabb szakasz, a HLA-B lókuszon elhelyezkedő allélek és azok szuballéljai szerint történik. Tehát a HLA-B8 allélt hordozó haplotípusok egyik altípusa a 8.1-es ősi haplotípus [68]. Ez az egyik olyan haplotípus, amely mind a négy befagyott blokkot tartalmazza. A szakirodalom főként a következő allélek együttes előfordulásával azonosítja a 8.1-et: HLA-DQB1*0201 (**DQ2**), HLA-DRB1*0301 (**DR3**), *AGER* (korábban *RAGE*) -429C, C4A*Q0, C4B1, BfS, *HSP70-2* (más néven *HSPA1B*) 1267G, *TNF- α* -308A, *LTA* 252G, **HLA-B*0801 (B8)**. A 8.1-es haplotípust erős konzerváltság jellemzi, Aly és munkatársai vizsgálatukban a HLA-DQB1-től a HLA-B-ig terjedő szakaszra jelentős konzerváltságot állapított meg [69] (3. ábra). A 8.1-es haplotípus eloszlása Európában északnyugat-délkelet grádiens követ. A kelta eredetű népeknél 10-12% a balkáni populációkban 3-5%-os a haplotípus gyakorisága.

3. ábra. AH8.1-es haplotípusokra jellemző erős konzerváltság [69]. Az oszlopok (n=44) az MHC régiót magában foglaló 6. kromoszóma egy szakaszát jelölik. A szürke szín a 8.1-es referencia szekvenciával megegyező génszakaszok. Aly és munkatársai 656 SNP-t genotipizált a feltüntetett régió belül. Sárga szín azokat az SNP-eket jelöli, amelyek nem egyeznek meg az AH8.1-es referencia szekvenciával.



1.4.2. A 8.1-es haplotípus módosult immunválasza

A 8.1-es haplotípust hordozók sajátos jellemzője, hogy módosult immunválasz jellemzi őket. A haplotípust számos autoimmun rendellenességgel hozták már összefüggésbe, amelyek főként a fokozottabb immunfolyamatoknak voltak köszönhetőek: autoantitestek magasabb száma, immunkomplexek emelkedett szintje, limfociták spontán apoptózisa ami a limfociták abszolút számának csökkenéséhez vezet, bár az aktivált T-sejtek magas számban lesznek jelen a vérben (1. táblázat).

1. táblázat. *Az AH8.1-re jellemző módosult immunválasz [70, 71].*

Immunrendszer jellemzői	AH8.1 hordozókban	Irodalom [Ref.]
Stimuláció előtt		
Keringő autoantitestek száma	emelkedett	[72]
Keringő immunkomplexek szintje	emelkedett	[73]
Aktivált T-sejtek a vérben	emelkedett	[71]
TNF- α , IL-1 termelés	emelkedett	[70, 74]
Limfocita apoptózis	emelkedett	[75]
Limfociták abszolút száma	csökkent	[75]
Stimuláció során		
INF- γ , IL-2, IL-5 termelés	csökkent	[76, 77]
IL-4, IL-6, IL-10, IL-13 termelés	normál	[76]
Makrofág funkció, NK aktivitás	csökkent	[78]
Neutrofil kemotaxis	csökkent	[79]
TNF- α , IL-1 termelés	normál	[70]
T-sejt válasz	csökkent	[80]
Allergénekre adott IgE válasz	fokozott	[81]
IgM+ B-sejtek aránya összes limfocitaszám	emelkedett	[72]
Hepatitis B vakcinációra adott humorális és limfoproliferatív válasz	csökkent	[62]

A fellelhető kevés számú irodalmi adat a 8.1-es ősi haplotípus hordozókat főként módosult citokin profillal jellemezi. Egyes vizsgálatok kimutatták, hogy mitogén stimuláció hatására a celluláris immunválaszt indukáló citokinek (IL-2, IL-5, IL-12 és INF- γ) szintje alacsonyabb a haplotípus hordozókban. Ezzel szemben az IL-4, IL-6, IL-10 és az IL-13 citokin szintek nem mutatottak szignifikáns eltérést a hordozók és a nem hordozók között. Ezen adatok a Th1/Th2 T-sejtes immunválasz Th2-es irányába történő eltolódását feltételezik és emiatt a 8.1-es haplotípust Th2-es típusúként említik [70]. A Th1-es citokinek a celluláris, míg a Th2-es citokinek a humorális immunválaszt aktiválják. A makrofágok, neutrofilek, természetes ölősejtek (NK sejtek – Natural Killer) is alacsonyabb aktivitást mutatnak a 8.1-es hordozókban, ami szintén a celluláris immunválasz csökkenéséhez vezet. Fontos megjegyezni, hogy magasabb TNF- α szérumszint is jellemzi az AH8.1-es hordozókat, ami viszont a Th1-es citokin válasszal korrelál, így a citokin miliót mégsem nevezhetjük tisztán Th2-esnek. Célszerűbb mind a magas TNF- α szintet, mind a Th2-es citokin profilt megemlíteni. A módosult

immunválasz további jellemzője az allergénekre adott fokozott IgE válasz és az IgM+ B-sejtek emelkedett aránya valamint mitogénre és hepatitis B vakcinációra adott csökkent humorális és limfoproliferatív válasz.

Az AH8.1-es hordozóknál az autoantitestek és a keringő immunkomplexek tovább maradnak a keringésben, ami a C4A*Q0 allél hordozásával hozható összefüggésbe [82]. Arról a kromoszómáról, amelyik a C4A*Q0 allélt hordozza a komplement 4-es fehérje „A” típusa nem expresszálódik. Ez gyengébb „clearance-et” eredményez, ami egyben magasabb rizikót jelenthet a kóros folyamatok, autoimmun betegségek kialakulására.

Az 8.1-es ősi haplotípus konzerváltsága kiterjed az MHC I és II osztályokra is. Azonban irodalmi adatok hiányában csak feltételezhető, hogy az antigén feldolgozásban illetve az antigén prezentációban is van olyan, a haplotípusra jellemző sajátosság, amely hozzájárulhat a 8.1 hordozók körében tapasztalt speciális immunválaszhoz.

1.4.3. AH8.1 szerepe különböző betegségekben

Az MHC régióról már régóta ismert, hogy egyes allélkombinációinak a hordozása bizonyos autoimmun betegségekkel szemben érzékenységet vagy protektivitást mutat [14]. A 8.1-es haplotípust főként a fokozottabb immunfolyamatoknak köszönhetően leginkább autoimmun betegségekkel hozták összefüggésbe, mint például: szisztémás lupus erythematosus, myasthenia gravis, Sjögren-szindróma, IgA deficiencia, inzulinfüggő diabetes mellitus, Basedow-Graves kór, dermatomyositis, Addison-kór és autoimmun hepatitis [71]. Ez a konzervált genetikai kombináció az autoimmun betegségekkel való összefüggései ellenére közel 10 millió európaiban található meg. Feltételezhetjük, hogy a haplotípus hordozók valamilyen pozitív szelekciót élvezhetnek vagy élvezhettek korábban, megmagyarázva a kaukázusi és azon belül is az északi kelta eredetű populációban a gyakoribb előfordulást [83].

1.4.3.1. AH8.1 szerepe a monogénes eredetű cisztás fibrózisban

Laki J. és munkatársainak cisztás fibrózisban (CF) a bakteriális fertőzés mértékét tanulmányozva a 8.1-es ősi haplotípussal kapcsolatban egyfajta védő szerepet sikerült megfigyelniük [84]. A CF az egyik leggyakoribb veleszületett autoszómális recesszív öröklődésű anyagcsere-betegség. Az ún. cisztás fibrózis transzmembrán konduktancia regulátor (*CFTR*) gén mutációjára következtében hibás CFTR fehérje termelődik. Így a mirigyek kivezető csöveinek hámszövetében CFTR transzmembrán csatornák sem képződnek. Ennek köszönhetően a mirigy lumenébe nem tud kijutni a kloridion és a mirigyben lévő nyák besűrűsödik, mivel ekvivalens mennyiségű víz és nátrium sem követi a kloridionokat. A sűrű nyák pedig ideális táptalaja a bakteriális fertőzéseknek, melyek gyakran okoznak krónikus gyulladásokat a CF-ban szenvedő betegeknek. Az ilyen krónikus fertőzéseket nevezzük kolonizációnak. A kolonizációk pedig ebben a betegcsoportban leggyakrabban a tüdőt érintik [85].

Laki J és munkatársainak megfigyelése szerint cisztás fibrózisban az AH8.1-es haplotípus hordozása nemcsak a tüdőt érintő bakteriális kolonizáció ritkább előfordulásával mutatott összefüggést, hanem késleltette a kolonizáció kialakulását is. Ezeket az eredményeket valószínűleg a bakteriális infekciók elleni hatékonyabb immunválasznak köszönhetően lehetett megfigyelni [70]. A hatékonyabb védekező mechanizmust pedig az AH8.1-re jellemző fokozott TNF- α termelés, az antigén prezentáció és feldolgozás, valamint az antitesttermelés sajátosságai befolyásolhatták.

1.5. Szepszis, mint multifaktoriális betegség

1.5.1. Szepszis fogalma

Bár a szepszist, mint tünetegyüttest évezredek óta ismerik, az elmúlt évtizedekben - köszönhetően a molekuláris biológia fejlődésének - számos új felismerés született a betegség patomechanizmusával kapcsolatban, ami jelentősen megváltoztatta a szepszis kialakulásával kapcsolatos felfogásunkat. A fokozott szakmai érdeklődés rohamosan növekvő és változó tudásanyagot eredményezett, mely mára szinte áttekinthetetlen

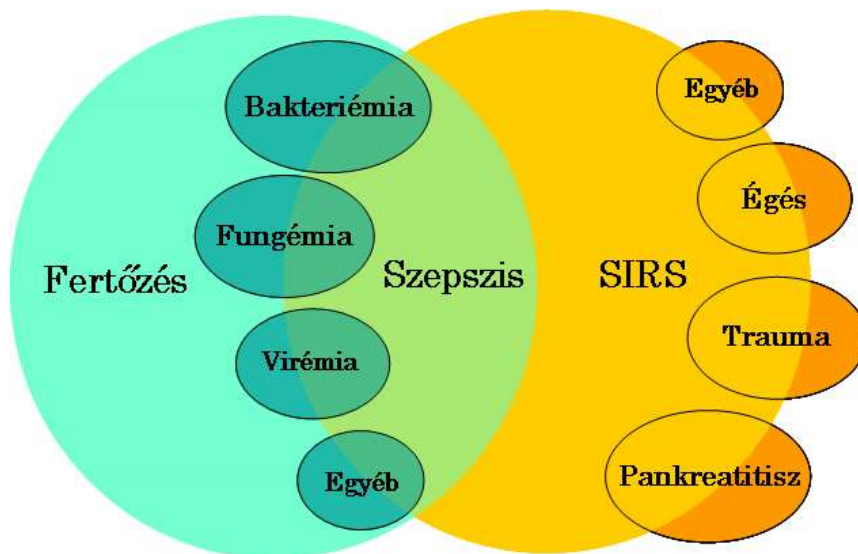
méretűvé duzzadt (több mint 20 ezer közlemény született csak az elmúlt évtizedben), így a legfontosabb kérdésköröket az útmutató jellegű ún. konszenzus konferenciák próbálják meg összefoglalni [86].

A mai felfogásunk szerint a szepszis bizonyított, vagy gyanújelekkel feltételezhető **infekcióhoz** társuló szisztémás gyulladáso-válasz szindróma (SIRS - Systemic Inflammatory Response Syndrome). SIRS-ről akkor beszélhetünk, ha a következő négy tünet közül legalább kettő megfigyelhető a páciensnél:

testhőmérséklet	<36 °C vagy >38 °C
szívfrekvencia	>90/perc
légzési frekvencia	>20/perc, PaCO ₂ <32 Hgmm
fehérvérsejt szám	>12.000/μl vagy <4.000/μl

Fontos megjegyezni, hogy a szepszisben észlelt szisztémás válaszreakció nem csak infekció következtében jöhet létre, például pancreatitis, trauma, égés, ischaemia vagy erős vérzés hatására is ugyanaz a kórkép alakulhat ki (4. ábra) [87]. Ennek köszönhetően egyes, szepszissel foglalkozó genetikai vizsgálatok az infekció eredetű szepszises és SIRS-es betegeket egy tanulmányban elemzik [lásd: Eredmények megbeszélése].

4. ábra. Fertőzés, SIRS, szepszis közötti kapcsolat illusztrációja [87].



A szepszis háttérében álló kórfolyamatok progrediálásával súlyos szepszis alakulhat ki. Ilyenkor szervi diszfunkciók vagy gyulladáshoz vezető válaszreakció indukálta hipotenzió léphet fel. Szeptikus sokkról pedig akkor beszélünk, ha a kórházi kezelés során az adekvát folyadékterápia ellenére is perzisztáló hipotenzió figyelhető meg.

1.5.2. Incidencia, mortalitás, kezelési költségek

Mivel a szepszis korai klinikai vagy laboratóriumi jelei alig észrevehetőek, diagnosztizálása és kezelése az intenzív osztályok egyik legköltségesebb és legtöbb kihívással járó feladata. Magyarországon az intenzív terápiás osztályokon a szepszis a vezető halálozási ok. Az Országos Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézet adatai alapján hazánkban 2000-ben 1421 esetben fordult elő szepszis, ebből 554 eset volt súlyos szepszis. 2001-ben 1700 esetben jelentettek szepszist, ebből 658 eset tartozott a súlyos szepszis kategóriájába. A szepszis mortalitása 40 – 50 % között változott, míg a súlyos szepszisé 50 – 60%-os volt. De ez csak a regisztrált betegek száma, sok beteg nem is kerül be az intenzív osztályra, ezáltal nem regisztrálják szepszises betegként [88]. A szepszis kezelési költségéről kevés adat áll rendelkezésre. Egy 2002-ben végzett magyar tanulmány 70 beteg bevonásával körülbelül 100.000 Ft/ápolási napra számolta ki az egy főre eső kiadást. Az ápolási napok mediánja (15,5 nap) ismeretében egy betegre vonatkozóan pedig már milliós kezelési költséggel számolt a kutatás [89].

1.5.3. Patofiziológia

A szepszis során kialakuló változatos tünetek és szövődmények nem a fertőzés közvetlen hatására, hanem a szervezet immunválaszának köszönhetően lépnek fel. A lokalizált gyulladás során az infekcióra adott immunválasz szabályozottan, helyi szinten zajlik. Ezzel ellentétben, a szepszisben a korokozók antigénjei (sejtfal endotoxinok vagy a termelt exotoxinok) a keringésben is megtalálhatók, és a termelődő mediátorok olyan láncreakcióját váltják ki, melyek a szabályozott választól eltérően a gyulladáshoz vezető góctól távol eső szerveket is károsítanak. Ennek megfelelően, ha a szepszis progrediál akut

respirációs distressz szindróma (ARDS - Acute Respiratory Distress Syndrome), veseelégtelenség, disszeminált intravaszkuláris koaguláció (DIC - Disseminated Intravascular Coagulation), súlyos szepszis, a keringés felborulásával pedig szeptikus sokk, valamint sokszervi diszfunkció szindróma (MODS - Multiple Organ Dysfunction Syndrome) alakulhat ki.

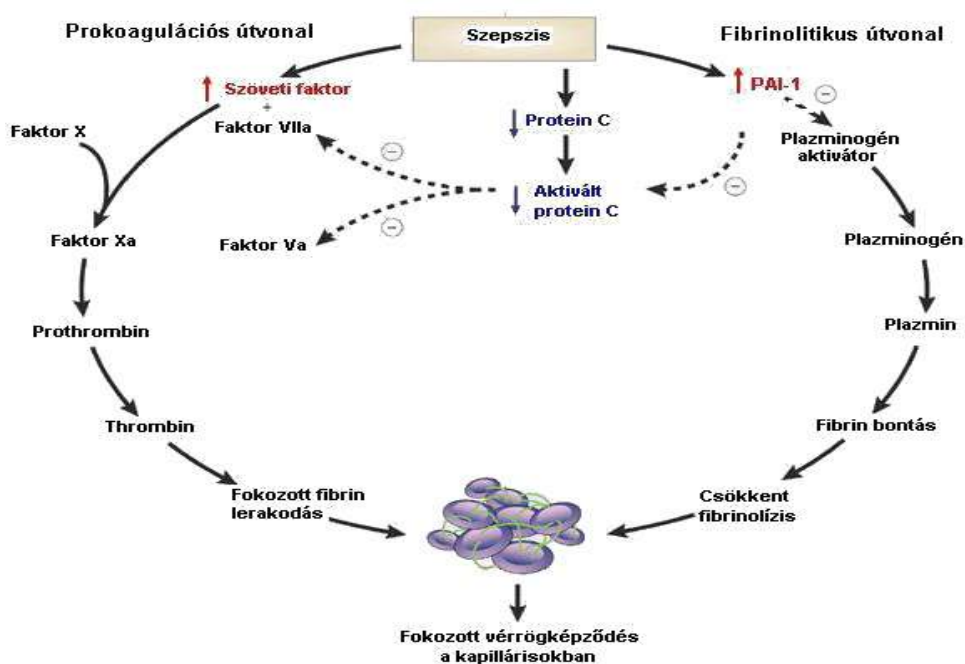
1.5.3.1. Gyulladásos rendszer

A szepszis iniciális fázisában a lokális gyulladásos folyamat generalizálódása következtében a gyulladásos sejtek akkumulációja és a pro-inflammatorikus mediátorok túlsúlya figyelhető meg. Itt főként a mononukleáris sejtek által termelt három pro-inflammatorikus citokinnek (TNF- α , IL-1 β , IL-6) van kiemelt szerepe [90, 91]. Az aktivált makrofágokból származó TNF- α elsősorban a szuperoxid- és a proteolitikus enzim-termelésre valamint az adhézións molekulák sejt felszíni expressziójára hat [92]. Makrofágok, monociták, dendritikus sejtek által termelt IL-1 β főként a leukociták transzmigrációját segíti elő [93]. A mononukleáris sejtek mellett egyes endotélsejtek, fibroblasztok és aktivált T-sejtek által is expresszált IL-6 a TNF- α és az IL-1 β felszabadulást követően illetve azok hatására termelődik. Hatása az előbbi két citokinéhez hasonló, továbbá elősegíti az aktivált B-sejtek differenciálódását és ellenanyag-termelését is [94]. A szepszis iniciális fázisára emellett még az IL-8, MMPs, HMG-1, IL-12, IL-18 és IFN- γ citokinek felszaporodása is jellemző [95].

A szepszis iniciális fázisának szintentartásában, lefékezésében egy ellentétes előjelű folyamat játszik döntő szerepet [96, 97]. Ebben az ellentétes előjelű folyamatban az anti-inflammatorikus citokinek (IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β) dominálnak. Ezek a mediátorok gátolják a főként pro-inflammatorikus citokinek szintéziséért felelős transzkripciós faktorok működését, míg az anti-inflammatorikus citokinek képződéséért felelőseket serkentik [98]. Továbbá csökkentik az antigénprezentáló sejtek (APC - Antigen Presenting Cell) MHC II expresszióját [99] és a makrofágok endotoxin érzékenységét [100]. Mivel az iniciális fázis és az azt követő anti-inflammatorikus folyamat egymással antagonisták hatásúak, eredőjük fogja meghatározni a szervezet tényleges válaszreakcióját. Egészséges szervezet és megfelelő terápia esetén a pro- és

elzáródása MODS kialakulásához vezethet, amely gyakran keringési zavarokkal, súlyosabb esetben septikus sokkal társul.

5. ábra. Szepszis során egyszerre van jelen a koaguláció aktiválása és a fibrinolízis gátlása [111]. A szöveti faktor és a PAI-1 fehérje a prokoagulációs és a fibrinolitikus útvonalak jelentős 'upstream' regulátorai, melyek a szepszis kialakulásakor fokozott aktivitást mutatnak (piros felfelé mutató nyíl). Az antikoagulációs tulajdonsággal rendelkező protein C ezzel szemben csökkent aktivitással rendelkezik (kék lefelé mutató nyíl).



1.5.4. Szepszis kialakulását, lefolyását befolyásoló tényezők

A szepszis kialakulását, lefolyását számos kockázati tényező befolyásolja, mint például a kórokozó típusa, virulenciája, a beteg életkora, a meglévő alapbetegségek. Jelenleg azonban nincs kielégítő magyarázat arra, hogy egy infekció mikor okoz szepszist és annak milyen kimenete lesz; így feltételezhető, hogy a genetikai tényezők szerepe sem elhanyagolható [112].

1.5.4.1. Egy gyakori társbetegség: krónikus obstruktív tüdőbetegség

A krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD - Chronic Obstructive Pulmonary Disease) a légzőrendszer lassan és fokozatosan súlyosbodó, lényegében visszafordíthatatlan gyulladási kórfolyamata. A tüdő védekező rendszere ugyanis gyulladási folyamatokat elindítva igyekszik eltávolítani leginkább a dohányzás során a légcsőben és a hörgőkben lerakodott káros anyagokat. Legfőbb tünete az egyre fokozódó és változó intenzitással súlyosbodó nehézlégzés, köhögés, köpetürítés [113]. A COPD patomechanizmusára az akut tünetek időszakos és hirtelen rosszabbodása jellemző (más néven exacerbáció), melyek többségéért fertőzések vagy a szennyezett levegő a felelős [114]. A COPD a kórházi kezelést igénylő betegségek prognózisára negatív hatással van. Azon COPD-s betegekben, akikben gyakoriak az exacerbációk, a tüdőfunkciók rohamos rosszabbodása, gyengébb egyézségi állapot és magasabb mortalitás figyelhető meg a kórházi kezeléseik során [115].

1.5.4.2. Genetikai tényezők szepszisben

Több mint húsz éves Sorensen híres fertőzőes betegségeket vizsgáló adoptációs tanulmánya, melyben sikerült közel hatszoros halálozási rizikót leírnia azoknál az adoptált gyerekeknél, akiknél az egyik biológiai szülő is meghalt fertőzésben [116]. Ezen tanulmány által kiváltott lelkesedés igen nagyszámú, vegyes, sokszor nem helytálló módon megtervezett, így gyakran egymásnak ellentmondó genetikai vizsgálatokhoz vezetett a fertőző betegségek területén. A súlyos fertőzéshez, gyulladáshoz vagy szepszishoz köthető asszociációs kutatások legtöbbször olyan kandidáns gének egy vagy több polimorfizmusaira fókuszáltak, melyek termékei bizonyítottan vagy feltételezhetően szerepet játszanak a betegség kialakulásában, lefolyásában. Az elmúlt 10 évben közel fél száz gén több száz polimorfizmusát vettek górcső alá a kutatók. A tanulmányozott géneket a gyulladási folyamatban betöltött szerepük alapján négy nagy csoportra lehet osztani [117], ezek közül azokat a géneket és polimorfizmusait soroltam fel, amelyekkel több vizsgálat is foglalkozott:

- Az antigén felismeréshez köthető gének és polimorfizmusai: *TLR2* (Arg753Thr) [118-120], *TLR4* (Asp299Gly, Thr399Ile) [121-123], *CD14* (-159C/T) [119, 122, 123], *MBL* (B, C, D variáns) [119, 124], *FcγRIIa* (R/H131)[125-127], *LBP* (Cys98Gly) [128, 129], *SP-B* (1580T/C) [130, 131], *NOD2/CARD15* (Arg702Trp, Gly908Arg, Leu1007fsinsC) [132, 133].
- Pro és anti-inflammatórikus citokinekhez köthető gének és polimorfizmusai: *TNF-α* (-308G/A) [134-136], *TNF-β* (252A/G) [136, 137], *IL-1β* (-511C/T) [138, 139], *IL-6* (-174G/C) [140, 141], *IL-1RA* (intron 2 VNTR) [138, 142], *IL-10* (-1082G/A) [143, 144].
- Öröklött immunválaszhoz köthető gének és polimorfizmusai: *HSP70-2* (1267A/G) [145, 146] *MMIF* (-173C/G) [147, 148], *CXCL2* (-655(AC)n) [149, 150], *CRP* (-717A/G) [151, 152].
- Koaguláció/fibrinolízis útvonalhoz köthető gének és polimorfizmusai: *PAI-1* (4G/5G) [153, 154], *TAFI* (Thr325Ile) [155, 156], *Faktor V* (506; ‘Leiden’) [157, 158], *Protein C* (-1641AA) [159, 160].

A szépszissel foglalkozó gén asszociációs tanulmányok összehasonlítása során a mortalitással kapcsolatban eddig a *PAI-1* 4G/5G inzerció/deléción polimorfizmus bizonyult az egyik legígéretesebb genetikai prediktornak.

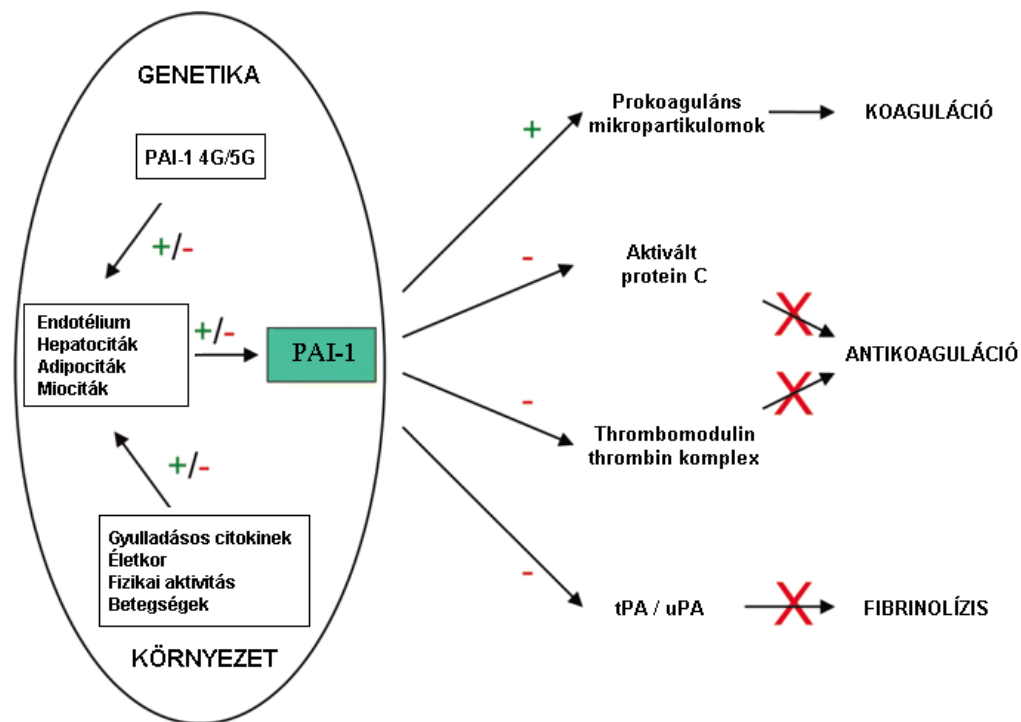
1.6. A plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1)

A PAI-1 (SERPINE1) molekula a szerin proteáz inhibitorok (szerpinek) családjába tartozó 50 kDa méretű glikoprotein. Az endotélium és a trombociták által termelt PAI-1 fiziológias körülmények között az ún. vitronektin fehérjével komplexet alkot, ami 2-4-szeresére növeli a PAI-1 féléletidejét a keringésben [161]. *In vitro* vizsgálatok számos más sejt esetében (hepatociták, adipociták, miociták) is kimutatták a PAI-1 termelését, de nem egyértelmű, hogy a glikoprotein *in vivo* termelésében az említett sejttípusok közül melyik játszik meghatározó szerepet [162, 163].

A PAI-1 elődleges szerepe a szöveti (tPA – tissue Plasminogen Activator) és az urokináz típusú plazminogén aktivátorok (uPA – urokinase Plasminogen Aktivator) gyors gátlása. Ez a két aktivátor képes a plazminogént - a fibrin trombusok elbontásáért

felelős - plazminná átalakítani. A tPA és az uPA gyors semlegesítésével a PAI-1 a fibrinolízis gátlásának egyik kulcs enzime lesz. Ezenfelül a PAI-1-et az aktivált protein C (APC) egyik leghatékonyabb inhibitoraként is számon tartják [110]. Az APC közvetlen gátló hatása mellett a PAI-1 képes a thrombomodulinnal versengve kötni a thrombint, így a gátlást az APC egyik aktivátora, a thrombomodulin-thrombin komplex kialakulásának akadályozásával is elérheti [164]. Az APC gátlása révén a PAI-1 helyi alvadást fokozó hatása sem elhanyagolható. A PAI-1 akut fázis proteinként is funkcionál a traumát és a gyulladást követő akut fázis reakció során [165, 166]. Ennek köszönhetően nem meglepő, hogy egyes tanulmányok a gyulladással mediátorok (TNF- α , LTA, IL-1 β , IL-6) stimuláló hatását mutatták ki a PAI-1 termelésre [167]. Továbbá a PAI-1 plazmaszintjét az életkor mellett genetikai és fizikai aktivitással összefüggő faktorok is befolyásolhatják (6. ábra) [168-170]. Fontos megemlíteni, hogy az alveoláris kompartment a PAI-1 termelés egyik kiemelt helye. Ezzel magyarázható, hogy számos tanulmány szerint a PAI-1 emelkedett szintje az akut tüdőszérülés (ALI – Acute Lung Injury), az akut respirációs distressz szindróma és a súlyos pneumónia miatt hospitalizált betegekben a rosszabb kimenettel asszociált [171, 172].

6. ábra. PAI-1 termelődését befolyásoló tényezők illetve a PAI-1 hatása a koagulációs és a fibrinolitikus útvonalakra [153].



A szepszis során a gyulladáshoz vezető mediátorok miatt fellépő szisztémás vérrögképződésre a szervezet fokozott tPA és uPA expresszióval válaszol. A fibrinolitikus rendszer aktiválása azonban nem lesz tartós, mivel a pro-inflammatorikus citokinek hatására pár óra alatt jelentősen és tartósan megemelkedik a PAI-1 szintje [173, 174]. A fibrinolízis gátlása pedig az egyik meghatározó tényező a fibrin felhalmozódás és a DIC kialakulásában. Ezzel összhangban a PAI-1 szintje a szepszises betegekben pozitív összefüggést mutatott a koagulációs paraméterek emelkedett szintjével, a betegség súlyosabb lefolyásával és rosszabb kimenetével [153].

1.6.1. A *PAI-1* gén 4G/5G polimorfizmusa

A *PAI-1* gén ismertebb polimorf lokuszai közül (ilyen a 3' HindIII, a CA(n) dinukleotid ismétlés a 3-as intronban) [163, 175] a 4G/5G inzerciós/deléciós polimorfizmust (rs1799768) tanulmányozták a legtöbben. Ez a polimorfizmus a promóter régió -675 helyén négy vagy pedig öt egymás után elhelyezkedő guanin bázist tartalmazhat [176]. Az SNP mindkét allélja képes transzkripciós faktorokat megkötni, azonban az 5G alléllal rendelkező promóter már egy represszor protein megkötésére is alkalmassá válik [169]. Ennek köszönhetően az 5G allél alacsonyabb *PAI-1* transzkripcióval lesz jellemezhető a 4G allélhoz képest. A 4G/4G genotípus hordozóknál a *PAI-1* plazma szintje közel 25%-kal lesz magasabb, mint az 5G/5G hordozóké, míg a heterozigóták köztes fenotípust mutatnak [169, 177, 178]. *In vitro* modellben a 4G allél hordozása hatszor magasabb *PAI-1* mRNS termelést eredményezett IL-1 stimuláció hatására, mint az 5G allél [163].

A betegség-asszociációs vizsgálatokban a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus 4G allélja fokozottabb fogékonyságot mutatott a thrombotikus folyamatokkal [179] és a miocardiális infarktust követő halálozással [180]. A súlyos pneumóniában szenvedő betegeknél a 4G allélt szintén a nagyobb arányú halálozással hozták összefüggésbe [181]. Továbbá ezen allél hordozása fokozott rizikót jelentett a trauma valamint a meningococcalis szepszis során fellépő súlyosabb szövődmények kialakulásával és halálozással [182-184].

Nem zárható ki azonban, hogy a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmussal kapott eredmények a gén más, a PAI-1 szérumszintre ható polimorfizmusával fennálló linkage disequilibrium következménye. Kathiresan és munkatársai vizsgálatában a PAI-1 szérumszinttel a gén 18 SNP-je közül csak két szoros kapcsoltságban lévő genetikai variáns mutatott erős korrelációt, az rs2227631 és a 4G/5G polimorfizmus [185].

2. CÉLKITŰZÉS

A kaukázusi populációban a fő hisztokompatibilitási komplex leggyakoribb haplotípusa a 8.1-es ősi kiterjesztett haplotípus. Gyakorisága ellenére a 8.1-es haplotípust eddig főként csak immunpatológiai eltérésekkel (antitestek, autoantitestek, keringő immunkomplexek, TNF- α magas szintje), valamint bizonyos autoimmun betegségek (szisztémás lupus erythematosus, myasthenia gravis, Sjögren-szindróma) kialakulásával hozták összefüggésbe. Laki J. és munkatársai ezzel szemben, - vizsgálatuk egyik következtetéseként - mint lehetséges pozitív szelekciós tényezőt azonosította az AH8.1-et. Megfigyelésük szerint cisztás fibrózisban a 8.1-es ősi haplotípus hordozása a tüdőt érintő bakteriális kolonizáció ritkább előfordulásával valamint ezen kolonizációk késleltetett kialakulásával mutatott összefüggést. Ezeket az eredményeket valószínűleg a bakteriális infekciók elleni hatékonyabb immunválasznak köszönhetően lehetett megfigyelni.

A 8.1-es haplotípus infekciókban játszott szerepének további tanulmányozására egy olyan modellrendszert igyekeztünk választani, amely bakteriális fertőzést követően alakul ki, gyakori hospitalizációval rendelkezik és elsődlegesen a tüdőt érinti. A felvázolt kritériumok figyelembevételével a pneumónia eredetű súlyos szepszisre esett a választás. A vizsgálat tervezése a haplotípus azonosítása során genotipizált polimorfizmusok elemzését is figyelembe vette, mivel közülük egyeseknek - funkcionális polimorfizmus révén - önmagukban is jelentős hatásuk lehet a szepszis lefolyására. Vizsgálatunk a pneumónia eredetű súlyos szepszises betegcsoportban a következőkre kereste a választ:

- Összefüggésbe hozható-e a 8.1-es ősi haplotípus hordozása a pneumónia eredetű súlyos szepszis kedvezőtlen kimeneteivel? Amennyiben igen, akkor ez az AH8.1 hatása vagy pedig a meghatározása során genotipizált egyik funkcionális polimorfizmusé?
- Befolyásolhatja-e a krónikus obstruktív pulmonális betegség (COPD), mint az egyik gyakori pulmonális társbetegség az AH8.1 hatását szepszisben?

- Az AH8.1 hordozása mutat-e összefüggést valamelyik klinikai paraméterrel?

Az 1-es típusú plazminogén-aktivátor inhibitor akut fázis fehérjeként a fibrinolízis és az aktivált protein C gátlásának egyik kulcs enzime. A megemelkedett PAI-1 szintet már több vizsgálat is összekapcsolta az akut légzési elégtelenség (ALI) és a súlyos pneumónia rosszabb kimenetével. A PAI-1 szérum szintjét leginkább befolyásoló genetikai tényező a gén promóter régiójában található 4G/5G inzerációs/delációs polimorfizmus pedig az egyik legígéretesebb genetikai prediktornak bizonyult nem csak a fertőzőes tüdőbetegségek, de a meningococcalis szepszis és trauma eredetű szepszis súlyosabb kimeneteivel is. Vizsgálatunk során a következőkre kerestük a választ:

- Az alacsonyabb PAI-1 szinttel jellemzett 5G allél és az 5G/5G genotípus jelenléte összeköthető-e a légúti eredetű szepszis kedvezőbb kimeneteivel?
- Ha igen, akkor ez a genetikai faktor hogyan befolyásolja a 8.1-es haplotípus és a súlyos szepszis kimenetele közötti kapcsolatot?

3. MÓDSZEREK

3.1. A vizsgálatban résztvevő betegcsoport és definíciók

A tüdőgyulladás következtében kialakult súlyos szepszis genetikai hátterének kutatására 207, a Semmelweis Egyetem Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Klinikáján kezelt beteget vizsgáltunk. A gyűjtést 2004. június és 2007. június között végeztük. A betegek vizsgálatba vétele az intenzív osztályra kerülés után 24 órán belül megtörtént, követésük pedig az elbocsátásig vagy az elhalálozásig tartott. A pneumónia diagnózisa köhögés vagy láz fennállása esetén a mellkasröntgenen megjelent új infiltrátum alapján történt. Kizárási kritériumok között szerepelt a tüdön kívüli és az operáció után fellépő fertőzés, a szerzett immunhiányos állapot, a szteroid vagy immunszuppresszív kezelés illetve a daganatos betegség és a terhesség. A betegek kezelése a „Surviving Sepsis Campaign” által megfogalmazott irányelvek alapján történt [186]. Minden beteg a feltételezett kórokozóhoz igazított széles spektrumú antibiotikus kezelést kapott, valamint minden pozitív mikrobiológiai eredmény után adekvát kezelést alkalmaztunk. A vizsgálat során fő végpontnak a septicus sokkot és az intenzív osztályos (ITO) halálozást tekintettük.

A súlyos szepszis és a septicus sokk meghatározása a 2001 „International Sepsis Definitions Conference” irányelvei alapján történt [187]. Szepszisesnek vettük azt az állapotot, amelyben bizonyítottan vagy valószínűsíthetően (mellkasröntgen, köhögés, láz) infekcióhoz társult a szisztémás gyulladásos válaszreakció négy tünete közül legalább kettő fennállt (2.5.1 fejezet). Súlyos szepszisesnek tekintettük az összes esetet, mert a felvételnél minden betegnél a tüdő elégtelen működésére utaló tünet(ek)et észleltünk. Szeptikus sokkos állapotnak tekintettük a súlyos szepszishez társuló keringési elégtelenséget (kellő volumen-bevitel ellenére perzisztáló hipotenzió – szisztolés vérnyomás <90 Hgmm, vagy a szisztolés vérnyomás csökkenés >40 Hgmm).

A betegség súlyosságának becslésére az APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II) pontrendszert alkalmaztuk. Ez a pontrendszer a felvételt követő első 24 órában mért 12 fiziológiai változó (pl. vérnyomás, testhőmérséklet, szívfrekvencia) normáltartománytól leginkább eltérő értékeiből, az életkor, egyéb krónikus betegségek, valamint a felvétel típusának (operatív status) figyelembevételével

generálja az APS (Acute Physiology Score) - pontokat és határozza meg a kórházi mortalitás valószínűségét. A véralvadási rendszer zavaráról a DIC pontrendszer adott információt, amit a Nemzetközi Trombózis és Hemosztázis Társaság meghatározása alapján a betegek felvételekor számoltunk ki [188]. A krónikus obstruktív tüdőbetegségben (COPD) szenvedő betegek azonosítása az „American Thoracic Society” és az „European Thoracic Society” 2004-ben pontosított kritériumainak megfelelően történt [113].

A vizsgálati személyek vagy a hozzátartozók szóbeli és írásos tájékoztatót kaptak a mintavételről, majd az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága (ETTTUKEB) által jóváhagyott Hozzájárulási Nyilatkozaton a vizsgálatba történő beleegyezésüket aláírásukkal igazolták.

3.2. Anyagok és módszerek

3.2.1. Mintavétel és DNS izolálás

A genomiális DNS-t a Miller és munkatársai által közölt kisózásos módszernek megfelelően perifériás vérből származó mononukleáris sejtekből nyertem ki [189]. A DNS tisztaságát és koncentrációját 260 és 280 nm-en mért optikai denzitások leolvasásával határoztam meg.

3.2.2. Az egypontos polimorfizmusok vizsgálata

Az egypontos polimorfizmusok genotípusának meghatározására kétféle technikát alkalmaztam: polimeráz láncreakció - restrikciós fragmenthossz-polimorfizmus analízist (PCR-RFLP - Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism) és az 5'-nukleáz vagy más néven TaqMan-próba alapú allél diszkrimináció módszert.

3.2.2.1. Restriktációs fragmenthossz-polimorfizmus

Az *LTA* 252A/G (rs909253) [190], a *HSP70-2* 1267A/G (rs1061581) [191] és a *PAI-1* 4G/5G (rs1799768) [154] SNP-k kimutatása a korábban közölt PCR-RFLP módszerek alapján történt kisebb módosításokkal (2. táblázat). A módszer alkalmazása során első lépésként a vizsgálni kívánt DNS szakaszt polimeráz láncreakcióval felsokszoroztam majd a PCR termékeket restriktációs endonukleázzal emésztettem. A módszer a restriktációs enzimek specifikus, palindróm DNS szekvenciákat felismerő tulajdonságát használja ki. Az egy pontos nukleotid polimorfizmus könnyen detektálhatóvá válik, ha a pozíciója egybeesik egy restriktációs enzim hasítási helyével, így az egyik allél jelenlétében hasítási hely alakulhat ki vagy szűnhet meg. A munkám során használt enzimeket minden esetben az ajánlott, standard körülmények között alkalmaztam, így kizárható a star-aktivitás problémája, azaz az enzimek feltehetően csak a specifikáció szerinti felismerő hely jelenléte esetén hasították a kétszálú DNS-molekulát. A hasítási termékeket hagyományos gélelektroforézis segítségével 1 µg/ml etidium-bromidot (EtBr) tartalmazó, megfelelő tömegszázalékú agaróz gélben választottam szét és UV-fénnyel megvilágítva detektáltam. A genotipizálás során negatív (DNS-t nem tartalmazó) és pozitív (ismert genotípusú) kontrollokat is alkalmaztam. Az eredmények hitelességéről a minták körülbelül 10%-os véletlenszerű ismételt genotipizálásával győződtem meg.

A polimeráz láncreakció 10 µl-es térfogatban zajlott, a reakcióelegy a következő összetevőket tartalmazta: kb. 2 ng/µl DNS templát, 1-1 µM a megfelelő primerekből, 200 µM dNTP mix, 0,025 U/µl Qiagen® HotStarTaq™ DNS-polimeráz valamint az enzim optimális működéséhez szükséges puffer 1x és Q-oldat 0,5x koncentrációban. Az egyes polimorfizmusok esetében a PCR és a termociklus különbségeit valamint a polimorfizmusra specifikus restriktációs enzimeket a 2. táblázat mutatja.

2. táblázat. *LTA 252A/G, HSP70-2 1267A/G és PAI-1 4G/5G SNP-k kimutatására szolgáló PCR-RFLP módszerek különbségei.*

	LTA 252A/G (rs909253)	HSP70-2 1267A/G (rs1061581)	PAI-1 4G/5G (rs1799768)
5' Forward primer	CTCCTGCACCTGCTGCCTG GATC	CATCGACTTCTACACGT CCA	CACAGAGAGAGTCTGGCC ACGT
5' Reverse primer	GAAGAGACGTTTCAGGTGG TGTCAT	CAAAGTCCTTGAGTCCC AAC	CCAACAGAGGACTCTTGG TCT
Polimeráz lánreakció	I. 94 °C 15 perc II. 35 ciklus 94 °C 30 mp 57 °C 30 mp 72 °C 45 mp III. 72 °C 7 perc	I. 94 °C 15 perc II. 40 ciklus 94 °C 30 mp 58 °C 30 mp 72 °C 1 p III. 72 °C 7 perc	I. 94 °C 15 perc II. 30 ciklus 94 °C 30 mp 59,4 °C 30 mp 72 °C 30 mp III. 72 °C 7 perc
Restriktációs enzim	Sty I (37 °C)	PstI (37 °C)	Bsl I (55 °C)

3.2.2.2. TaqMan próba alapú allél diszkrimináció

A *TNF- α* -308G/A (rs1800629) és az *AGER* -429T/C (rs1800625) egy pontos nukleotid polimorfizmusokat 5' nukleáz (TaqMan) alapú real-time PCR módszerrel határoztam meg (3. táblázat).

A TaqMan real-time PCR mix a két hagyományos PCR primereken kívül még a pontmutációra specifikus fluoreszcens festékkel (VIC/FAM) jelölt hibridizációs próbákat is tartalmazott. A TaqMan próbák 5' végén egy fluoreszcens riporter, míg 3' végén egy nem fluoreszcens, kioltó (quencher) festék és egy kisárok kötő (MGB: minor groove binder) molekula található. A kisárok kötő molekula stabilizálja a bekötött duplaszálú próba szerkezetét, ennek következtében megnő a próba olvadáspontja (T_m). Így rövidebb próbákkal is specifikus SNP detektálás válik elérhetővé. Az intakt, hibridizált próba nem ad jelet, azonban a PCR termék amplifikációja során a próba 5' végével találkozó Taq DNS polimeráz 5' exonukleáz aktivitásának köszönhetően bázisról bázisra lebontja a próbát. Ekkor a riporter a kioltó festéktől térben eltávolodik, és a fluoreszcens festék emissziója detektálhatóvá válik.

A polimeráz lánreakció 5 μ l-es térfogatban zajlott, a reakcióelegy a *TNF- α* -308G/A esetében a következő összetevőket tartalmazta: kb. 0,5 ng/ μ l DNS templát, 5 ng/ μ l primer, ABI Universal PCR mixből 1x és a megfelelő próbákból szintén 1x koncentrációban. Az *AGER* -429T/C polimorfizmus genotipizálása az Applied

Biosystems által fejlesztett genotipizáló kittel történt 5 µl-es végtérfogatban 1x ABI Universal PCR mix alkalmazásával. Az egyes polimorfizmusok esetében a real-time PCR és a termociklus különbségeit a 3. táblázat mutatja.

3. táblázat. *TNF-α -308G/A, AGER -429T/C SNP-k és C4A és C4B CNV kimutatására szolgáló real-time PCR módszerek.*

	<i>TNF-α -308G/A</i> (rs1800629)	<i>AGER -429T/C</i> (rs1800625)	<i>C4A</i>
5' Forward primer	AAAAGAAATGGAGGCAAT AGGTT	TAGGGAGAGGGAGGAGG TTGC	GCAGGAGACATCTAA CTGGCTTCT
5' Reverse primer	GGCCACTGACTGATTTGTG TGT	TCAGAGCCCCCGATCCTA TTT	CCGCACCTGCATGCTC CT
Próbák	G VIC- AACCCCGTCCCATG-MGB A FAM- AACCCCGTCCTCATG-MGB	T VIC- CCTGTTTGGAACTTCGTG AAAG-MGB C FAM- CCTGTTTGGAGCTTCGTG AAAG-MGB	RNaseP VIC- ACCTCTCTCCAGTGAT AC-MGB C4A FAM- ACCCCTGTCCAGTGTT AG-MGB
Polimeráz láncreakció	I. 95°C-on 15 perc II. 40 ciklus 95 °C 15 mp 56 °C-on 1 p	I. 95°C-on 10 perc II. 40 ciklus 92 °C-on 15 mp 60 °C-on 1p	I. 95°C-on 10 perc II. 40 ciklus 95 °C-on 15 mp 60 °C-on 1 p

3.2.3. *C4A* gén szám meghatározása

A *C4A* gén kópiaszámának meghatározását munkacsoportunk által kifejlesztett real-time PCR módszerrel végeztem ABI 7300 Real Time PCR rendszerben [192] (3. táblázat). A gén mennyiségének meghatározása egy reakcióelegyben történt, három-három párhuzamos mérés alkalmazásával. A reakcióelegy a *C4A*-ra és egy ismert kópiaszámú referenciagén az *RNaseP*-re specifikus primereket és Taqman próbákat tartalmazta. A kapott fluoreszcencia intenzitás adatok alapján a *C4A* gének (n_{C4A}) számát a következő egyenletek segítségével számítottam ki:

$$n_{C4A} = \frac{2^{C_{T(R)} - \lambda_{T(C4A)}^+}}{q_{C4A:R}}$$

A valódi *C4A* génszámokat az n_{C4A} értékek kerekítésével kaptam meg.

$C_{T(R)}$, $C_{T(C4A)}$: a referencia (*RNáz P*) és a *C4A* amplifikáció küszöbciklus-értéke;

$q_{C4A.R}$: az első reakciómixben használt FAM-jelölt *C4A* próba és VIC-jelölt referencia próba hatékonysági hányadosa;

Azoknál az egyéneknél, akiknél kevesebb, mint kettő *C4A* számot lehetett megállapítani *C4A*Q0* hordozókról beszélhetünk.

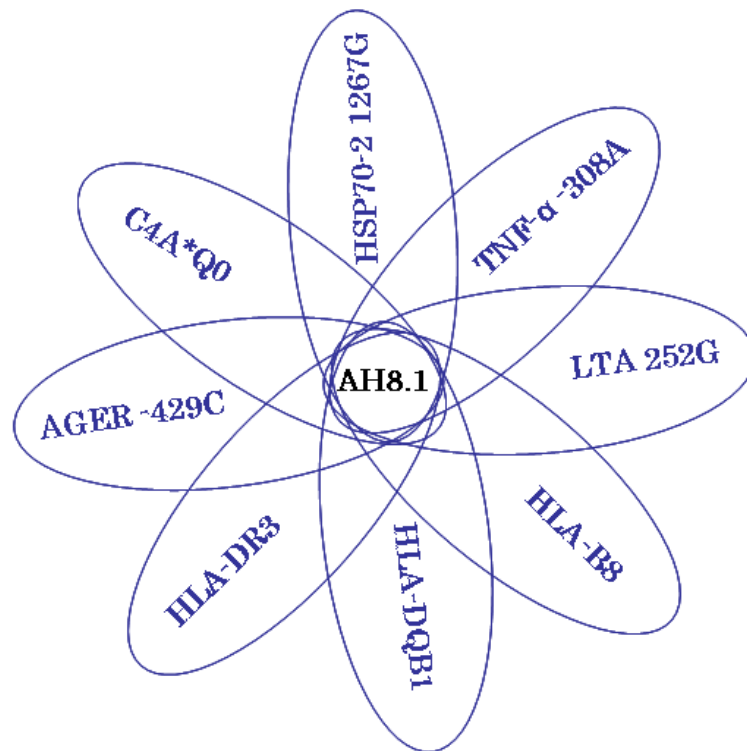
3.2.4. A HLA-B, HLA-DQB1 és HLA-DRB1 allélek vizsgálata

A HLA-B, HLA-DQB1 és HLA-DRB1 allélek vizsgálatát szekvencia specifikus primer-PCR (SSP-PCR – Sequence Specific Primer-PCR) módszerrel kollaborációs partnereink végezték az Országos Vérellátó Szolgálat Transzplantációs Immunológiai Laboratóriumában INNO-LiPA és GenoVision kitek alkalmazásával.

3.2.5. Az AH8.1 meghatározása

A meghatározott polimorfizmusok genotípusának és a HLA-allélok ismeretében azokat az egyéneket tekintetem AH8.1 hordozóknak, akikben a következő allélek együttesen fordultak elő: HLA-DQB1*0201 (DQ2), HLA-DRB1*0301 (DR3), *AGER* - 429C, *C4A*Q0*, *HSP70-2* 1267G, *TNF- α* -308A, *LTA* 252G, HLA-B*0801 (B8) (7. Ábra). Először a *C4A*Q0* és a polimorfizmusok ritka alléljainak a felhasználásával választottam ki a lehetséges AH8.1-es hordozókat [70]. Az így kiválasztott egyének esetében a valódi haplotípus hordozásról pedig HLA tipizálással bizonyosodtunk meg (7. ábra).

7. ábra. Az AH8.1-es ősi haplotípus azonosítása, szemléltető ábrázolás.



3.2.6. 4. Statisztikai módszerek

Az adatok gyűjtése Microsoft Excel 2003 programmal, a statisztikai analízis és az adatábrázolás az SPSS 13.0 (Statistical Package for the Social Sciences Inc, Chicago, Illionis, Amerikai Egyesült Államok) program használatával készült. A kategorikus változókat abszolút értékkel és azok százalékos eloszlásával, a folyamatos változókat, a medián és a hozzá tartozó interkvartilis tartományaikkal tüntettem fel. A Hardy-Weinberg egyensúly meglétét minden polimorfizmus esetében Pearson χ^2 próbával ellenőriztem. A kategorikus változók összehasonlításakor Pearson χ^2 próbával vagy Fisher's exact teszttel számoltam. Az analízisek során a vizsgált változók többsége eltért a normál eloszlástól, ezért nem-paraméteres statisztikai tesztek használattam. Folyamatos változók kategorikus változókkal való összehasonlításához Mann-Whitney U-tesztet valamint Kruskal-Wallis H-tesztet alkalmaztam. A bináris végpontok független prediktorainak egymásra gyakorolt közvetett hatásait többszörös logisztikus

regressziós analízissel vizsgáltam. Az intenzív osztályos napok számának felhasználásával Cox-regressziós túlélési analízist is végeztem. Minden statisztikai tesztet kétoldalasra terveztem, a próbák eredményét $p < 0,05$ értékek esetén tekintettem szignifikánsnak.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Betegek leírása

A betegek felvételi valamint a kezelés alatt rögzített adatait a 4. táblázatban foglaltam össze. A vizsgált csoport nemi megoszlása közel azonos (férfiak 50,2%, nők 49,8%) a medián életkor pedig 65 [53-75] év volt. A vizsgálat során 89 (43%) betegnél alakult ki szeptikus sokk és 78 (37,7%) páciens hunyt el az intenzív osztályos kezelés alatt, amelynek háttérében elsősorban többszervi elégtelenség miatt fellépő kardiovaszkuláris okok álltak. A krónikus obstruktív légúti betegséggel (COPD), mint társult tüdőbetegséggel rendelkezők aránya viszonylag magas, 37,2% volt. A kezelés során a betegek 16,9%-ánál alakult ki akut respirációs distressz szindróma (ARDS - Acute Respiratory Distress Syndrome). A betegek 78,7 százaléka (163 fő) részesült invazív pozitív nyomású lélegeztetésben (IPPV- Invasive Positive Pressure Ventilation) és 21,3%-a (44 fő) kapott non-invazív pozitív nyomású légzéstámogatást (NIPPV - Noninvasive Positive Pressure Ventilation). A mikrobiológiai vizsgálatokat 121 (58,5%) egyén esetében sikerült pozitív eredménnyel zárni.

A betegség kimenetelét befolyásoló tényezők közül az életkor, az elmúlt két év tüdővel kapcsolatos hospitalizációinak száma, a nozokomiális fertőzés és az ARDS mutatott szignifikáns eltérést a betegség lefolyását illetően. A medián életkor szignifikánsan magasabb volt a szeptikus sokkos ($p < 0,001$) valamint az elhunyt betegeknél ($p < 0,001$), mint a súlyos szepszises betegek és a túlélők körében. A nozokomiális fertőzés gyakrabban fordult elő ($p = 0,033$), míg a tüdőbetegséggel kapcsolatos hospitalizációk száma szignifikánsan alacsonyabb volt a súlyosabb, szeptikus sokkos csoportban, mint a kevésbé veszélyes súlyos szepszisben ($p = 0,047$). A vártnak megfelelően, magasabb APACHE II állapotsúlyossági pontszám jellemezte a rosszabb kimenetű csoportba tartozó betegeket (sokk és halál). Szignifikánsan nagyobb arányban sikerült meghatározni a fertőzés háttérében álló kórokozót, így szignifikánsan gyakrabban alkalmaztak adekvát antibiotikus kezelést a szeptikus sokkos csoportban ($p = 0,011$) a sokkmentes páciensekhez képest.

4. táblázat. *A betegek változói a pneumónia eredetű szepszis súlyossága és mortalitása alapján.*

Változók Medián (quartilis) vagy %	Szepszis súlyossága		ITO halálozás	
	Súlyos szepszis (n=118)	Szeptikus sokk (n=89)	Túlélők (n=129)	Elhunytak (n=78)
Demográfiai adatok				
Életkor (év)	61 (51-71)	72 (59-77)*	61 (50-70)	72,5 (61-79)*
Férfiak %	46,6	55,1	45,0	59,0
Korábbi vagy aktuálisan fennálló körülmények, betegségek				
Hány napos panasz (nap)	4 (2-8)	4 (1-9)	4 (1-7,5)	4 (2-10)
Az elmúlt 2 év tüdővel kapcsolatos hospitalizációi %	31,4	19,1*	27,9	23,1
Alultápláltság %	12,7	19,1	14,0	17,9
Nozokomiális tüdőgyulladás %	30,5	44,9*	32,6	43,6
Ischaemiás szívbetegség %	37,3	42,7	36,4	44,9
COPD %	42,4	30,3	39,5	33,3
Magas vérnyomás (Hipertónia) %	59,3	60,7	58,1	62,8
Diabetes mellitus %	26,3	25,8	24,0	29,5
Valaha (>15év) és aktív dohányzás %	46,6	40,4	46,5	39,7
Alkohol több mint 1 pohár/nap %	9,3	14,6	10,9	12,8
ITO paraméterek				
28 napos halálozás %	9,3	73,0*	0,0	97,4*
ITO halálozás %	9,3	75,3*	-	-
Intenzív osztályos napok száma (nap)	8 (5-12)	8 (4,5-16,5)	9 (5-15)	8 (4-12)
APACHE II pontszám felvételnél	19 (15-23)	25 (20-31)*	19 (15-23)	25 (22-31)*
DIC pontszám felvételnél	0 (0-2)	3 (2-5)*	0 (0-2)	3 (2-4)*
Fehérvérsejt szám (x10E/ul)	13,5 (9,2-16,8)	12,7 (7,8-18,0)	13,3 (9,8-16,8)	13,1 (6,9-18,8)
Artériás középnyomás (Hgmm)	87,0 (70,0-103,0)	60,0 (43,2-78,0)*	83,0 (66,6-100,5)	63,3 (47,8-83,0)*
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	120,0 (100,0-150,0)	90,0 (70,0-110,0)*	110,0 (90,0-140,0)	95,0 (70,0-120,0)*
ARDS %	8,5	28,1*	11,6	25,6*
IPPV %	62,7	100,0*	65,9	100,0*
Invazívan lélegeztetett napok száma (nap)	5,5 (4-10,3)	7 (4-14)	6 (4-13)	7 (4-12)
Invazívan lélegeztetett betegek	248,5	186,7	215,0	206,0
Horowitz kvóciens (paO ₂ /FiO ₂)	(172,0-338,0)	(137,8-236,0)*	(155,8-314,0)	(143,9-267,3)
PEEP (H ₂ Ocm)	10 (7-10)	10 (8-10)*	10 (8-10)	10 (8-10)
Tracheotómia %	10,2	12,4	10,9	11,5
Hemodialízis %	9,3	18,0	9,3	19,2*
Vérátömlesztés %	25,4	55,7*	30,2	51,9*
Kórokozók				
Ismeretlen %	49,2	31,5*	45,0	35,9
Meghatározott %				
Gram pozitív	11,7	21,3	15,5	18,0
Gram negatív	60,0	52,5	52,1	62,0
Atípusos pneumónia (Chlamydia, Mycoplasma, Legionella)	18,3	16,4	21,1	12,0
Kevert „Mixed”	10,0	9,8	11,3	8,0

*Statisztikailag szignifikáns eltérés (p<0.05) a súlyos vs. szepszis szeptikus sokk valamint a túlélők vs. elhunytak összehasonlításakor. Mann-Whitney vagy Pearson Chi-négyzet teszt.

4.2. Az *AGER* -429T/C, C4A*Q0, *HSP70-2* 1267A/G, *TNF- α* -308G/A, *LTA* 252A/G polimorfizmusok és a 8.1-es ősi haplotípus gyakorisága

A meghatározott genotípus eloszlásokat és allél frekvenciákat az 5. táblázatban foglaltam össze. A genotípusok eloszlása minden polimorfizmus esetén Hardy-Weinberg egyensúlyt mutatott.

5. táblázat. A vizsgált genetikai markerek genotípus és allél gyakorisága.

Genotípus és allél gyakoriságok n (%)						
<i>AGER</i> -429 T/C	C4A*Q0 -/+	<i>HSP70-2</i> 1267 A/G	<i>TNF-α</i> -308 G/A	<i>LTA</i> 252 A/G	<i>PAI-1</i> 4G/5G	
T/T 139 (67,1%)	- 165 (79,2%)	A/A 77 (37,2%)	G/G 149 (72,0%)	A/A 97 (46,9%)	4G/4G 63 (30,4%)	
T/C 61 (29,5%)	+ 41 (19,8%)	A/G 96 (46,4%)	G/A 53 (25,6%)	A/G 93 (44,9%)	4G/5G 105 (50,7%)	
C/C 7 (3,4%)		G/G 34 (16,4%)	A/A 5 (2,4%)	G/G 17 (8,2%)	5G/5G 39 (18,8%)	
T 339 (81,9%)		A 250 (60,4%)	G 351 (84,8%)	A 287 (69,3%)	4G 231 (55,8%)	
C 75 (18,1%)		G 164 (39,6%)	A 63 (15,2%)	G 127 (30,7%)	5G 183 (44,2%)	

A ritka allélek, tehát az *AGER* -429C, *HSP70-2* 1267G, *TNF- α* -308A, *LTA* 252G és a C4A*Q0 együttes előfordulása alapján 28 feltételezett 8.1-es ősi haplotípus hordozót sikerült azonosítani (6. táblázat). A HLA tipizálás után (B8, DR3, DQ2 hordozás meghatározása) ez a szám 25 (12,1%) egyénre redukálódott. Mivel a hordozók közül mindenki heterozigótának bizonyult az ún. 8.1-es ősi haplotípusra nézve, a megfigyelt haplotípus frekvencia 6,05% volt.

6. táblázat. A 8.1-es ősi haplotípus azonosítása, genotípus és haplotípus gyakoriságokkal.

Genotipizálás és HLA tipizálás eredményei	Gyakoriság n (%)
<i>AGER</i> -429C	
Nem hordozók	139 (67,2%)
Hordozók	68 (32,8%)
<i>AGER</i> -429C; <i>HSP70-2</i> 1267G	
Nem hordozók	146 (70,5%)
Hordozók	61 (29,5%)

Genotipizálás és HLA tipizálás eredményei	Gyakoriság n (%)
<i>AGER-429C; HSP70-2 1267G; TNF-α-308A</i>	
Nem hordozók	173 (83,6%)
Hordozók	34 (16,4%)
<i>AGER-429C; HSP70-2 1267G; TNF-α-308A; LTA 252G</i>	
Nem hordozók	175 (84,5%)
Hordozók	32 (15,5%)
<i>AGER-429C; C4A*Q0; HSP70-2 1267G; TNF-α-308A; LTA 252G</i>	
Nem hordozók	179 (86,5%)
Hordozók	28 (13,5%)
<i>HLA-DQB1*0201; HLA-DRB1*0301; AGER-429C; C4A*Q0; HSP70-2 1267G; TNF-α-308A; LTA 252G; HLA-B*0801</i>	
Nem hordozók	182 (87,9%)
Hordozók	25 (12,1%)

4.3. A szepszis vizsgált kimenetei és a genetikai faktorok közötti összefüggés

A pneumónia eredetű szepszis súlyossága és a 8.1-es ősi haplotípus között fennálló kapcsolat elemzése során nem találtam kevesebb szeptikus sokkos esetet az ősi haplotípust hordozóknál (7. táblázat). Az AH8.1 azonosítására használt genetikai faktorok vizsgálatánál sem a polimorfizmusok genotípus eloszlása, allél frekvenciája, sem a C4A*Q0 hordozása nem mutatott jelentős eltérést a két súlyossági állapot között. A súlyos szepszises betegeknél a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus genotípusainak előfordulási gyakorisága valamint allél frekvenciája szignifikánsan különbözött a sokkos csoportba tartozó betegekhez képest ($p = 0,039$ és $p = 0,019$). A *PAI-1* 5G/5G genotípust hordozó betegek szignifikánsan ritkábban kaptak szeptikus sokkot a 4G allélt hordozókhoz képest (OR = 0,388; 95%CI = 0,178-0,847; $p = 0,015$).

A pneumónia eredetű szepszis következtében fellépő halálozás és az ősi haplotípus közötti kapcsolat elemzése során az AH8.1 hordozóknál a halálozás gyakorisága nem különbözött jelentősen a nem hordozókéhoz képest. A haplotípus azonosítására használt genetikai faktorok közül egyedül az *LTA 252A/G* polimorfizmus mutatott szignifikáns összefüggést a túléléssel ($p = 0,036$), ami elsősorban a heterozigóták kiugróan magas halálozásának következménye volt. Az *LTA 252A/G* polimorfizmus allél frekvenciája ennek megfelelően nem mutatott jelentős eltérést ($p = 0,176$) a két csoport között. A halálozás vizsgálatakor a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus genotípus eloszlásában a

súlyosságához hasonló trendet lehetett megfigyelni a túlélők és az elhunytak összehasonlításakor, azonban ez a változás nem volt szignifikáns.

7. táblázat. A vizsgált genetikai markerek genotípus, allél és haplotípus megoszlása a pneumónia eredetű súlyos szepszis súlyossága és mortalitása szerint.

Összes beteg n (%)	Szepszis súlyossága			ITO halálozás		
	Súlyos szepszis (n=118)	Szeptikus sokk (n=89)	p érték*	Túlélők (n=129)	Elhunytak (n=78)	p érték*
AH8.1						
Nem-hordozók	101 (55,5%)	81 (44,5%)		114 (62,6%)	68 (37,4%)	
Hordozók	17 (68,0%)	8 (32,0%)	0,236	15 (60,0%)	10 (40,0%)	0,799
AGER-429						
T/T	74 (53,2%)	65 (46,8%)		85 (61,2%)	54 (38,8%)	
T/C	39 (63,9%)	22 (36,1%)		39 (63,9%)	22 (36,1%)	
C/C	5 (71,4%)	2 (28,6%)	0,273	5 (71,4%)	2 (28,6%)	0,820
T	187 (55,2%)	152 (44,8%)		209 (61,7%)	130 (38,3%)	
C	49 (65,3%)	26 (34,7%)	0,107	49 (65,3%)	26 (34,7%)	0,551
C4A						
C4A*Q0 -	91 (55,5%)	73 (44,5%)		103 (62,8%)	61 (37,2%)	
C4A*Q0 +	27 (65,9%)	14 (34,1%)	0,230	26 (63,4%)	15 (36,6%)	0,942
HSP70-2 1267						
A/A	43 (55,8%)	34 (44,2%)		49 (63,6%)	28 (36,4%)	
A/G	55 (57,3%)	41 (42,7%)		57 (59,4%)	39 (40,6%)	
G/G	20 (58,8%)	14 (41,2%)	0,955	23 (67,6%)	11 (32,4%)	0,663
A	141 (56,4%)	109 (43,6%)		155 (62,0%)	95 (38,0%)	
G	95 (57,9%)	69 (42,1%)	0,758	103 (62,8%)	61 (37,2%)	0,868
TNF-α -308						
G/G	84 (56,4%)	65 (43,6%)		96 (64,4%)	53 (35,6%)	
G/A	29 (54,7%)	24 (45,3%)		29 (54,7%)	24 (45,3%)	
A/A	5 (100,0%)	0 (0,0%)	0,142	4 (80,0%)	1 (20,0%)	0,324
G	197 (56,1%)	154 (43,9%)		221 (63,0%)	130 (37,0%)	
A	39 (61,9%)	24 (38,1%)	0,393	37 (58,7%)	26 (41,3%)	0,523
LTA 252						
A/A	59 (60,8%)	38 (39,2%)		68 (70,1%)	29 (29,9%)	
A/G	47 (50,5%)	46 (49,5%)		49 (52,7%)	44 (47,3%)	
G/G	12 (70,6%)	5 (29,4%)	0,179	12 (70,6%)	5 (29,4%)	0,036
A	165 (57,5%)	122 (42,5%)		185 (64,5%)	102 (35,5%)	
G	71 (55,9%)	56 (44,1%)	0,763	73 (57,5%)	54 (42,5%)	0,176
PAI-1 4G/5G						
4G/4G	31 (26,3%)	32 (36,8%)		36 (27,9%)	27 (34,6%)	
4G/5G	58 (49,2%)	47 (52,8%)		64 (49,6%)	41 (52,6%)	
5G/5G	29 (24,6%)	10 (11,2%)	0,039	29 (22,5%)	10 (12,8%)	0,201
4G	120 (50,8%)	111 (62,4%)		136 (52,7%)	95 (62,4%)	
5G	116 (49,2%)	67 (37,6%)	0,019	122 (47,3%)	61 (37,6%)	0,104

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

A vizsgálat során nem lehetett figyelmen kívül hagyni az igen magas arányú COPD előfordulást (77 páciens 37,2%). Egy meglévő tüdőbetegség, mint a COPD igen jelentős komorbid tényező, mely befolyásolhatja a pneumónia eredetű szepszis kimenetét. Ezt a bevételi paraméterek is alátámasztották, a COPD-sek között szignifikánsan magasabb volt a dohányzók ($p < 0,001$) és a hipertóniások aránya ($p = 0,001$), a tüdővel kapcsolatos hospitalizációk száma a vizsgálatot megelőző két évben ($p < 0,001$), valamint az APACHE II állapotsúlyossági pontszám ($p = 0,044$). Az ischaemiás szívbetegség pedig tendenciózusan gyakrabban fordult elő ($p = 0,056$) a COPD-s betegek körében.

A szepszis súlyosságával végzett alcsoport analízis során a COPD-ben nem szenvedő betegek esetében az ősi 8.1-es haplotípust hordozók kisebb arányban kaptak szeptikus sokkot, mint a nem hordozók (OR = 0,338; 95%CI = 0,114-0,99; $p = 0,043$) (8. táblázat). A COPD mentes csoportban a haplotípus azonosítására használt genetikai faktorok vizsgálatánál sem a polimorfizmusok genotípus eloszlása, allél frekvenciája, sem a C4A*Q0 hordozása nem mutatott jelentős eltérést a két súlyossági állapot között. A *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus elemzésekor azt találtam, hogy az 5G/5G genotípust hordozók ritkábban kaptak szeptikus sokkot, azonban ez a változás nem volt számottevő. Viszont a 4G/5G allél frekvencia elemzésekor ez a különbség már szignifikáns összefüggést mutatott. Az 5G allél a COPD-ben nem szenvedő betegek körében az összes beteghez hasonlóan védettséget jelentett a szeptikus sokkkal szemben (OR = 0,607; 95%CI = 0,369-0,997; $p = 0,048$). A COPD-s betegek esetében sem az AH8.1 sem a vizsgált polimorfizmusok nem mutattak összefüggést a súlyossággal (adatok nincsenek feltüntetve).

A mortalitással kapcsolatban a nem COPD-s betegek alcsoportjában sem a haplotípus eloszlása, sem a vizsgált polimorfizmusok genotípus eloszlása és allél frekvenciái nem mutattak jelentős összefüggést a halálozással. A COPD-s betegcsoportban a túlélők és az elhunytak között egyedül az *LTA* 252 genotípus frekvenciája különbözött szignifikánsan ($p = 0,039$), viszont az allél frekvencia elemzése már nem mutatott összefüggést ($p = 0,137$).

8. táblázat. A vizsgált genetikai markerek genotípus, allél és haplotípus megoszlása a pneumónia eredetű súlyos szepszis súlyossága és mortalitása szerint a nem COPD-s betegek alcsoportjában.

Nem COPDs betegek n (%)	Szepszis súlyossága			ITO halálozás		
	Súlyos szepszis (n=68)	Szeptikus sokk (n=62)	p érték*	Túlélők (n=78)	Elhunytak (n=52)	p érték*
AH8.1						
Nem-hordozók	54 (48,6%)	57 (51,4%)		66 (59,5%)	45 (40,5%)	
Hordozók	14 (73,7%)	5 (26,3%)	0,043	12 (63,2%)	7 (36,8%)	0,761
AGER-429						
T/T	38 (46,3%)	44 (53,7%)		49 (58,3%)	35 (41,7%)	
T/C	27 (62,8%)	16 (37,2%)		26 (63,4%)	15 (36,6%)	
C/C	3 (60,0%)	2 (40,0%)	0,203	3 (60,0%)	2 (40,0%)	0,862
T	103 (49,8%)	104 (50,2%)		124 (59,3%)	85(40,7%)	
C	33 (62,3%)	20 (37,7%)	0,104	32 (62,7%)	19 (37,3%)	0,655
C4A						
C4A*Q0 -	47 (48,5%)	50 (51,5%)		57 (58,8%)	40 (41,2%)	
C4A*Q0 +	21 (65,6%)	11 (34,4%)	0,092	21 (65,6%)	11 (34,4%)	0,491
HSP70-2 1267						
A/A	20 (43,5%)	26 (56,5%)		28 (60,9%)	18 (39,1%)	
A/G	33 (55,9%)	26 (44,1%)		34 (57,6%)	25 (42,4%)	
G/G	15 (60,0%)	10 (40,0%)	0,310	16 (64,0%)	9 (36,0%)	0,852
A	73 (48,3%)	78 (51,7%)		90 (59,6%)	61 (40,4%)	
G	63 (57,8%)	46 (42,2%)	0,132	66 (60,6%)	43 (39,4%)	0,877
TNF-α -308						
G/G	45 (48,9%)	47 (51,1%)		56 (60,9%)	36 (39,1%)	
G/A	19 (55,9%)	15 (44,1%)		19 (55,9%)	15 (44,1%)	
A/A	4 (100,0%)	0 (0,0%)	0,120	3 (75,0%)	1 (25,0%)	0,725
G	109 (50,0%)	109 (50,0%)		131 (60,1%)	87 (39,9%)	
A	27 (64,3%)	15 (35,7%)	0,096	25 (59,5%)	17 (40,5%)	0,945
LTA 252						
A/A	31 (54,4%)	26 (45,6%)		37 (64,9%)	20 (35,1%)	
A/G	29 (47,5%)	32 (52,5%)		33 (54,1%)	28 (45,9%)	
G/G	8 (66,7%)	4 (33,3%)	0,439	8 (66,7%)	4 (33,3%)	0,432
A	91 (52,0%)	84 (48,0%)		107 (61,1%)	68 (38,9%)	
G	45 (52,9%)	40 (47,1%)	0,886	49 (57,6%)	36 (42,4%)	0,589
PAI-1 4G/5G						
4G/4G	16 (40,0%)	24 (60,0%)		19 (47,5%)	21 (52,5%)	
4G/5G	37 (55,2%)	30 (44,8%)		43 (64,2%)	24 (35,8%)	
5G/5G	15 (65,2%)	8 (34,8%)	0,123	16 (69,6%)	7 (30,4%)	0,137
4G	69 (46,9%)	78 (53,1%)		81 (55,1%)	66 (44,9%)	
5G	67 (59,3%)	46 (40,7%)	0,048	75 (66,4%)	38 (33,6%)	0,066

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

4.4. Regressziós modellek

4.4.1. Bináris logisztikus regressziós modellek

A pneumónia eredetű szepszis következtében kialakuló szeptikus sokk logisztikus regressziós modelljében a COPD-t, mint jelentős kísérőbetegséget, az APACHE II score-t, mint a legfontosabb állapot súlyossági jelzőszámot és az ARDS-t, mint az egyik legkomolyabb szövődményt azonosítottam a szeptikus sokk független prediktoraiként (9. táblázat).

9. táblázat. *A pneumónia eredetű szeptikus sokk többváltozós logisztikus regressziós modelljei a 8.1-es haplotípussal és a PAI-1 4G/5G polimorfizmussal az összes beteg esetében illetve a nem COPD-s betegek alcsoportjában.*

	Szeptikus sokk AH8.1		Szeptikus sokk PAI-1 4G/5G	
	Esélyhányados (95% konfidencia intervallum)	p érték*	Esélyhányados (95% konfidencia intervallum)	p érték*
Összes beteg				
COPD (+)	0,433 (0,214-0,879)	0,020	0,490 (0,243-0,990)	0,047
APACHE II pontszám emel.	1,181 (1,118-1,247)	<0,001	1,175 (1,113-1,240)	<0,001
ARDS (+)	6,891 (2,636-18,009)	<0,001	6,516 (2,526-16,811)	<0,001
AH8.1				
Nem-hordozók (-)	Referencia csoport		-	
Hordozók (+)	0,299 (0,093-0,958)	0,042	-	-
PAI-1 5G/5G				
Nem-hordozók (-)	-		Referencia csoport	
Hordozók (+)	-	-	0,621 (0,392-0,986)	0,044
Nem COPDs betegek				
APACHE II pontszám emel.	1,198 (1,116-1,287)	<0,001	1,176 (1,099-1,258)	<0,001
ARDS (+)	9,135 (2,809-29,703)	<0,001	7,689 (2,544-23,236)	<0,001
AH8.1				
Nem-hordozók (-)	Referencia csoport		-	
Hordozók (+)	0,108 (0,023-0,514)	0,005	-	-
PAI-1 5G/5G				
Nem-hordozók (-)	-		Referencia csoport	
Hordozók (+)	-	-	0,401 (0,164-0,915)	0,042

* Bináris logisztikus regressziós analízis

A súlyosság logisztikus modelljében az elemzett genetikai markerek közül csak az AH8.1-es haplotípus (OR = 0,299; 95%CI = 0,093-0,958; p = 0,042) és a *PAI-1* 5G/5G genotípus (OR = 0,621; 95%CI = 0,392-0,986; p = 0,044) bizonyult a szeptikus sokkot befolyásoló tényezőnek. A nem COPD-s betegek között szintén ez a két genetikai faktor mutatott szignifikáns összefüggést a szeptikus sokkal, de az AH8.1 jóval erősebb védőfaktoraként bizonyult (OR = 0,108; 95%CI = 0,023-0,514; p = 0,005) mint a *PAI-1* 5G/5G (OR = 0,401; 95%CI = 0,164-0,915; p = 0,042). A COPD-ben szenvedő betegek körében sem a vizsgált SNP-k genotípusával sem a haplotípussal nem volt megfigyelhető prediktorokra adjusztált összefüggés (adatok nincsenek feltüntetve).

A halálozás többváltozós logisztikus regressziós analízisében két tényező bizonyult a mortalitás független prediktorának: az APACHE II és az ARDS. A halálozás egy-szemponos vizsgálatakor egyedül az *LTA* 252A/G polimorfizmus esetében kaptam szignifikáns eltérést az összes beteg körében és a COPD-s alcsoportban. A prediktorokkal történő adjusztálást követően, a logisztikus regressziós analízis már nem mutatott szignifikáns összefüggést az *LTA* 252 polimorfizmus és a halálozás között, sem az összes, sem a COPD-ben szenvedő betegek körében (10. táblázat).

10. táblázat. *A pneumónia szepszis következtében fellépő halálozás többváltozós logisztikus regressziós modelljei az összes beteg esetében valamint és a COPD-s betegek alcsoportjában.*

	Elhunytak	
	Esélyhányados (95% konfidencia intervallum)	p érték*
Összes beteg		
APACHE II pontszám emel.	1,172 (1,111-1,236)	<0,001
ARDS (+)	7,275 (2,733-19,363)	<0,001
<i>LTA</i> 252 G/G		
Nem-hordozók (-)	Referencia csoport	
Hordozók (+)	0,346 (0,097-1,230)	0,101
COPDs betegek		
APACHE II pontszám emel.	1,168 (1,068-1,278)	0,001
ARDS (+)	4,182 (0,603-28,984)	0,147
<i>LTA</i> 252 G/G		
Nem-hordozók (-)	Referencia csoport	
Hordozók (+)	0,117 (0,025-0,554)	0,523

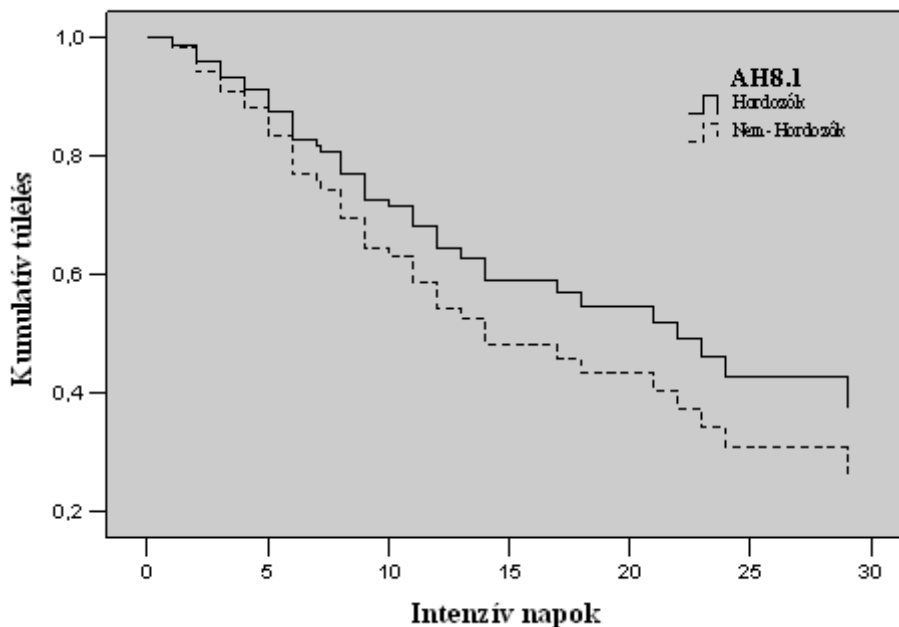
* Bináris logisztikus regressziós analízis

A mortalitás prediktorokkal adjusztált logisztikus regressziós modelljében a halálozás a többi polimorfizmussal és a haplotípussal kapcsolatban összefüggést nem mutatott (adatok nincsenek feltüntetve).

4.4.2. Cox-regressziós túlélési modellek

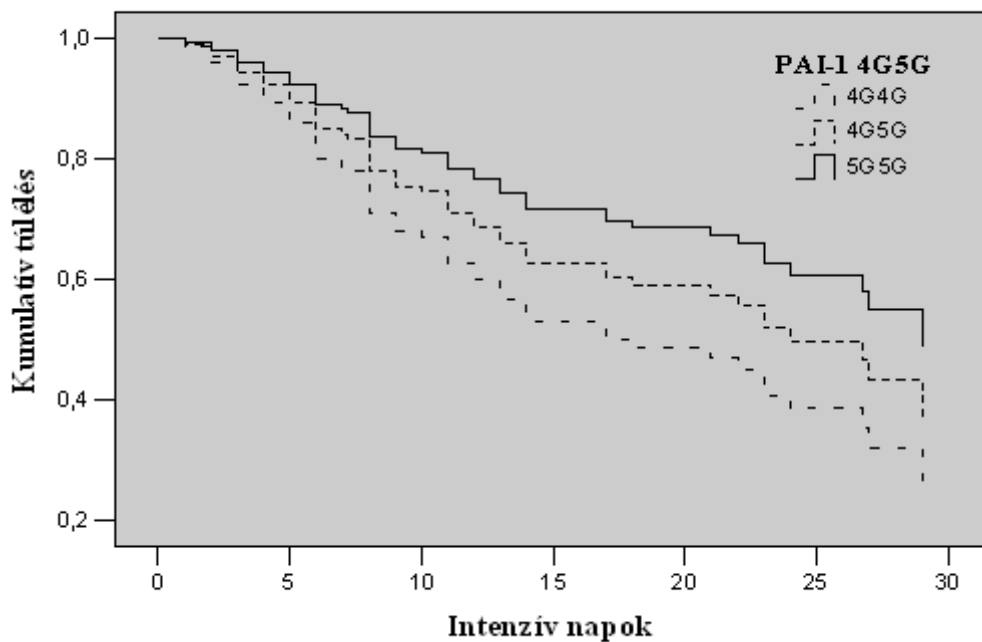
A vizsgált genetikai faktorokkal az intenzív osztályos napok számának valamint a halálozás prediktorainak felhasználásával Cox-regressziós túlélési analízist is végeztem a pneumónia eredetű súlyos szepszises csoporton. A teljes betegcsoport valamint a COPD-vel történő alcsoport analízis során a 8.1-es haplotípust hordozók és nem-hordozók túlélési görbéinek lefutása nem mutatott szignifikáns különbséget. A nem COPD-s betegcsoportra vonatkozó, 8.1-es haplotípus hordozása illetve nem-hordozása alapján szétválasztott Cox-regressziós görbét a 8. ábra szemlélteti.

8. ábra. A 8.1-es haplotípust hordozók és nem-hordozók Cox-regressziós túlélési görbéje a nem COPD-s betegek alcsoportjában ($HR = 0,728$; $95\%CI = 0,324-1,640$; $p = 0,441$).



Az AH8.1-hez hasonlóan az *LTA* 252A/G genotípusaihoz tartozó túlélési görbék lefutása sem különbözött jelentősen a teljes betegcsoportban illetve az alcsoport analízis során. A *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus genotípusaihoz tartozó Cox-regressziós lefutási görbéiben a teljes betegcsoport vizsgálatakor tendenciózus különbséget lehetett megfigyelni (HR = 0,725; 95%CI = 0,513-1,023; p = 0,060) (9. ábra).

9. ábra. A *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus genotípusaihoz tartozó Cox-regressziós túlélési görbék a teljes betegcsoport esetében.



4.5. Az AH8.1 és a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus összefüggése klinikai paraméterekkel

Mivel 8.1-es ősi haplotípus és a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus összefüggést mutatott a súlyossággal, szerettem volna megvizsgálni, hogy a felvett klinikai paraméterekkel ezek a genetikai faktorok milyen kapcsolatban állnak. Az AH8.1 esetében négy klinikai változó mutatott szignifikáns különbséget a hordozók és a nem hordozók között (11. táblázat). Az egész csoportban egyedül a fehérvérsejt szám rendelkezett szignifikánsan emelkedett szinttel a haplotípust hordozókra nézve. A COPD-ben nem szenvedők csoportjában az AH8.1 hordozók fehérvérsejt száma, és vérnyomás értékei (artériás

középnomás, szisztolés vérnyomás) magasabb, míg a PEEP értékük alacsonyabb volt, mint a nem hordozókban. A COPD-vel rendelkező betegek esetén ezen összefüggések nem voltak megfigyelhetők.

11. táblázat. *A 8.1-es haplotípussal összefüggést mutató klinikai paraméterek az összes betegekben és a vizsgált alcsoportokban.*

Változók Medián (quartilis)	AH8.1 Nem-hordozók	AH8.1 Hordozók	p érték*
Összes beteg	(n=182)	(n=25)	
Fehérvérsejtszám (x10E/μl)	12,9 (8,2-16,2)	16,1 (12,9-21,3)	0,006
Artériás középnyomás (Hgmm)	73,0 (53,3-94,0)	87,0 (70,0-100,0)	0,107
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	100 (80-130)	125 (100-140)	0,066
PEEP (cm H ₂ O)	10 (8-10)	8 (7-10)	0,127
Nem COPDs betegek	(n=111)	(n=19)	
Fehérvérsejtszám (x10E/μl)	12,7 (7,96-16,8)	14,9 (12,4-21,2)	0,024
Artériás középnyomás (Hgmm)	73,0 (53,0-93,3)	87,0 (70,0-100,0)	0,046
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	100,0 (80,0-130,0)	130,0 (100,0-140,0)	0,024
PEEP (cm H ₂ O)	10 (8-10)	8 (6,5-10)	0,042

* Mann-Whitney U teszt és Pearson Chi-négyzet teszt

A *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus 5G/5G genotípusával öt klinikai paraméter mutatott szignifikáns összefüggést (12. táblázat).

12. táblázat. *A PAI 4G/5G polimorfizmussal összefüggést mutató klinikai paraméterek az összes betegekben és a vizsgált alcsoportokban.*

Változók Medián (quartilis)	<i>PAI-1</i> 4G/4G és 4G/5G	<i>PAI-1</i> 5G/5G	p érték*
Összes beteg	(n=168)	(n=39)	
DIC pontszám felvételkor	2 (0-3)	0 (0-2)	<0,007
PEEP (cm H ₂ O)	7 (0,5-10)	5 (0-8)	0,036
IPPV %	137 (81,5%)	26 (66,7%)	0,041
Artériás középnyomás (Hgmm)	73,0 (53,0-92,5)	87,0 (66,6-108,0)	0,002
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	100,0 (80,0-130,0)	120,0 (100,0-150,0)	0,005
Nem COPDs betegek	(n=107)	(n=23)	
DIC pontszám felvételkor	2 (0-4)	0 (0-2)	0,063
PEEP (cm H ₂ O)	7 (3-10)	5 (0-10)	0,252
IPPV %	90 (84,1%)	16 (69,6%)	0,103
Artériás középnyomás (Hgmm)	73,0 (53,0-97,0)	83,0 (63,0-97,0)	0,151
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	105,0 (80,0-130,0)	110,0 (100,0-140,0)	0,229

* Mann-Whitney U teszt és Pearson Chi-négyzet teszt

Az összes betegre nézve az 5G/5G hordozók magasabb vérnyomás értékekkel (artériás középnyomás, szisztolés vérnyomás) és alacsonyabb felvételkori DIC pontszámmal és PEEP értékkel rendelkeztek, valamint ritkábban volt szükség invazív lélegeztetésre (IPPV) ebben a betegcsoportban. A nem COPD-s betegek körében ezen összefüggések nem voltak megfigyelhetők. A COPD-s betegeknél pedig csak a vérnyomás értékek különböztek szignifikánsan (adatok nincsenek feltüntetve).

4.6. A 8.1-es ősi haplotípus és a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus együttes vizsgálata pneumónia eredetű szepszises betegek körében

Mivel mind az AH8.1 haplotípus, mind a *PAI-1* 5G/5G genotípus összefüggést mutatott a szeptikus sokk előfordulásával, így a továbbiakban megvizsgáltam, hogy a *PAI-1* 5G/5G genotípus jelenléte hogyan hat a 8.1-es haplotípus és a szeptikus sokk közötti kapcsolatra illetve a két genetikai faktor együtt hordozása mutat-e additív hatást.

A két faktor együttes vizsgálata során először megnéztem, hogy az AH8.1-el kapott eredmények fennállnak-e akkor is, ha az elemzésből kizárjuk az 5G/5G hordozókat. Az 5G/5G hordozók nélkül a COPD-ben nem szenvedő szepszises betegek elemzésekor a 8.1-es ősi haplotípust hordozók körében, igaz hogy csak tendenciózusan ($p = 0,079$), de ritkábban fordult elő a szeptikus sokk. A súlyosság logisztikus regressziós analízise az 5G/5G genotípust hordozók kizárásakor is független védőfaktornak mutatta az ősi haplotípust (OR = 0,332; 95% CI = 0,116-0,998; $p = 0,049$).

Az additív hatás vizsgálatakor a súlyosság egy-szemponos elemzése során az egyik védő hatású genetikai faktorról sem rendelkező betegekhez képest kisebb arányban alakult ki szeptikus sokk azokban a betegekben, akik vagy a 5G/5G genotípust vagy a 8.1-es haplotípust hordozták és még ritkábban azoknál, akiknél egyszerre mind a két genetikai tényező előfordult ($p = 0,031$). Ez az összefüggés fennállt a COPD-ben nem szenvedő betegek alcsoportjában is ($p = 0,027$) (13. táblázat).

13. táblázat. Az 5G/5G genotípus és a 8.1-es haplotípus együttes előfordulása a súlyosság és a halálozás szerint csoportosítva az összes betegben illetve a nem COPD-s betegek alcsoportjában.

	Szepszis Súlyossága			ITO halálozás		
	Súlyos Szepszis	Szeptikus sokk	p érték*	Túlélők	Elhunytak	p érték*
Összes beteg (n=207)						
AH8.1(-) és 5G/5G(-)	76 (51,4%)	72 (48,6%)		88 (59,5%)	60 (40,5%)	
AH8.1(+) vagy 5G/5G(+)	38 (70,4%)	16 (29,6%)		38 (70,4%)	16 (29,6%)	
AH8.1(+) és 5G/5G(+)	4 (80,0%)	1 (20,0%)	0,031	3 (60,0%)	2 (40,0%)	0,365
Nem COPDs betegek (n=130)						
AH8.1(-) és 5G/5 (-)	43 (45,3%)	52 (54,7%)		53 (57,0%)	40 (43,0%)	
AH8.1(+) vagy 5G/5G(+)	21 (70,0%)	9 (30,0%)		22 (68,8%)	10 (31,3%)	
AH8.1(+) és 5G/5G(+)	4 (80,0%)	1 (20,0%)	0,027	3 (60,0%)	2 (40,0%)	0,504

* Pearson Chi-négyzet teszt

A vizsgált genetikai csoportokhoz tartozó esélyhányadosok elemzése azonban nem mutatott additív hatást, mivel a két védőfaktort egyszerre hordozók csoportja nem rendelkezett szignifikánsan alacsonyabb esélyhányadossal (AH8.1 (+) ÉS 5G/5G (+): OR = 0,264; 95% CI = 0,029-2,417; p = 0,238) az 5G/5G genotípust VAGY a 8.1-es haplotípust hordozó csoporthoz képest (AH8.1 (+) VAGY 5G/5G (+): OR = 0,444; 95% CI = 0,228-0,866; p = 0,017). A COPD-ben nem szenvedő betegek körében additív hatást szintén nem lehetett megfigyelni (AH8.1 (+) ÉS 5G/5G (+): OR = 0,207; 95% CI = 0,022-1,919; p = 0,166 vs. AH8.1 (+) VAGY 5G/5G (+): OR = 0,354; 95% CI = 0,147-0,854; p = 0,021).

A halálozással kapcsolatban a szeptikus sokkkal szemben védő hatású AH8.1 és a PAI-1 5G/5G együttes hordozása nem mutatott összefüggést sem a teljes betegcsoportban, sem a COPD-ben nem szenvedők esetében. Az ősi haplotípust és az 5G/5G genotípust egyszerre csak öt ember hordozta és mivel ez az öt személy a COPD-ben nem szenvedő betegek közé tartozott így a genetikai faktorok főbb kimenetekkel való összefüggéseit a COPD-vel rendelkező alcsoportban már nem vizsgáltam.

A teljes betegcsoport klinikai paramétereit elemezve az ősi haplotípust és az 5G/5G genotípust egyszerre hordozók magasabb vérnyomás értékekkel rendelkeztek (artériás középnyomás p = 0,020; szisztolés vérnyomás p = 0,018), mint akik csak az egyik, vagy

az egyik védő hatású genetikai faktorról sem rendelkeztek. A vérnyomás értékekkel kapott különbségek a nem COPD-s betegek alcsoportjában is fennálltak (artériás középnyomás $p = 0,017$; szisztolés vérnyomás $p = 0,017$). A többi klinikai változóval a két genetikai faktor együtt hordozása szignifikáns összefüggést nem mutatott.

A többváltozós logisztikus regressziós analízisek során a két genetikai faktort független változóként egy modellbe lehetett építeni, mivel a haplotípus és az 5G/5G genotípus eloszlása a vizsgált betegcsoportban összefüggést nem mutatott ($p = 0,874$). A súlyosság többszemponos vizsgálatok egy modellben elemezve a két genetikai változót a *PAI-1* 5G/5G genotípus (OR = 0,632; 95% CI = 0,399-1,001; $p = 0,050$) és az AH8.1-es haplotípus (OR = 0,315; 95% CI = 0,100-0,992; $p = 0,048$) hordozása is védő hatásúnak bizonyult a sokkal szemben (14. táblázat).

14. táblázat. Az AH8.1 és a PAI-1 5G/5G genetikai faktorok együttes elemzése a szeptikus sokk logisztikus regressziós modelljében az összes beteg illetve a nem COPD-s betegek csoportjában.

	Szeptikus sokk	
	Esélyhányados (95% konfidencia intervallum)	p érték*
Összes beteg		
COPD (+)	0,450 (0,220-0,920)	0,029
APACHE II pontszám emel.	1,180 (1,117-1,247)	<0,001
ARDS (+)	7,275 (2,733-19,363)	<0,001
PAI-1 5G/5G		
Nem-hordozók (-)	Referencia csoport	
Hordozók (+)	0,632 (0,399-1,001)	0,050
AH8.1		
Nem-hordozók (-)	Referencia csoport	
Hordozók (+)	0,315 (0,100-0,992)	0,048
Nem COPDs betegek		
APACHE II pontszám emel.	1,196 (1,113-1,284)	<0,001
ARDS (+)	9,496 (2,870-31,420)	<0,001
PAI-1 5G/5G		
Nem-hordozók (-)	Referencia csoport	
Hordozók (+)	0,543 (0,245-1,206)	0,134
AH8.1		
Nem-hordozók (-)	Referencia csoport	
Hordozók (+)	0,117 (0,025-0,554)	0,007

* Bináris logisztikus regressziós analízis

A COPD-ben nem szenvedő betegcsoportban ez a több tényezőre is adjusztált védőhatás a 8.1-es ősi haplotípussal mutatott erős összefüggést (OR = 0,117; 95%CI = 0,025-0,554; p = 0,007). A mortalitás logisztikus regressziós modelljében a két genetikai faktort együtt elemezve sem tudtam jelentősebb védőhatást kimutatni a halálozással szemben a haplotípusra és az 5G/5G genotípusra vonatkozóan (adatok nincsenek feltüntetve).

5. EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE

Doktori munkám során a pneumónia eredetű súlyos szepszis, mint komplex kórkép genetikai rizikófaktorait elemeztem. A pneumónia eredetű súlyos szepszisre azért esett a választás, mert ez az egyik leggyakoribb tüdőt érintő bakteriális infekció következtében kialakuló folyamatos kórházi ellátást igénylő gyulladós betegség. A confounding (zavaró) hatások minimalizálása érdekében a vizsgálatba csak azonos etnikumú, homogén eredetű szepszises betegeket vontunk be. A vizsgálat az MHC régió leggyakoribb haplotípusára az AH8.1-re valamint egy ismert kandidáns gén a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmusára fókuszált. A vizsgálat elemzésekor a haplotípus azonosítása során genotipizált genetikai faktorokat sem hagytam figyelmen kívül, mivel szerettem volna a 8.1-es haplotípussal kapott összefüggéseket elkülöníteni a polimorfizmusok - funkcionális változásaik miatt fennálló - esetleges hatásaitól. Elemzéskor a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus és a 8.1-es haplotípus együttes vizsgálatára is sor került a lehetséges additív hatások feltérképezése miatt.

5.1. Az *AGER* -429T/C, *HSP70-2* 1267A/G, *TNF- α* -308G/A, *LTA* 252A/G, *PAI-1* 4G/5G polimorfizmusok valamint a C4A*Q0 és a 8.1-es ősi haplotípus gyakorisága a pneumónia eredetű szepszises betegcsoportban

A pneumónia eredetű súlyos szepszises betegcsoportban a 8.1-es ősi haplotípus frekvenciája nem mutatott eltérést a korábban a magyar populációban megállapított gyakorisághoz (5-10%) képest [193, 194]. A haplotípus azonosítása során meghatározott genetikai faktorok, az *AGER* -429T/C, a *HSP70-2* 1267A/G, a *TNF- α* -308G/A és az *LTA* 252A/G polimorfizmusok allél frekvenciái valamint a C4A*Q0 gyakorisága sem különbözött az irodalomban fellelhető kaukázusi eredetű egészséges egyéneknél mért frekvencia értékektől [192-194]. A *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus alléljainak eloszlása szintén nem tért el a kaukázusi eredetű egészséges populációkban mért gyakoriságtól [184, 195].

Számos korábbi tanulmány vizsgálta az általunk is genotipizált polimorfizmusok és a szepszissel szembeni fogékonyság kapcsolatát (16. és 17. táblázat). Minden vizsgált

SNP esetében megjelent egy-két eset-kontroll vizsgálat, amely - elsősorban különböző eredetű szepszises betegek körében – összefüggést talált a polimorfizmusok alléljai és a szepszisre való fokozott hajlam között azonban a tanulmányok döntő többsége ezeket a megfigyeléseket nem erősítette meg.

5.2. Szepszis vizsgált kimenetei és az AH8.1 közötti összefüggés

A pneumónia eredetű szepszis vizsgált kimeneteinek (súlyosság, halál) genetikai faktorokkal történő egyszempontos elemzése során a nem COPD-s betegek csoportjában a haplotípust hordozók körében a szeptikus sokk kialakulásának kockázata közel harmada a nem hordozók rizikójának. Az egész betegcsoport többváltozós logisztikus regressziós analízise során – mely tartalmazta többek között a COPD-t is - a haplotípus független prediktornak bizonyult a szeptikus sokkkal szemben. Vizsgálatunk egyedi abban a tekintetben, hogy a 8.1-es haplotípus szerepét vizsgálta pneumónia eredetű szepszises betegekben és egyben ez az első olyan tanulmány, amely összefüggést mutatott ki a haplotípus és a szeptikus sokk között.

Az MHC régió hosszabb-rövidebb haplotípusainak szepszisre gyakorolt hatásaival már korábbi tanulmányok is foglalkoztak (egyes, szepszissel foglalkozó genetikai vizsgálatok az infekció eredetű szepszises és SIRS-es betegeket egy tanulmányban elemzik, így az ilyen vizsgálatok továbbiakban '+ SIRS' jellel lettek feltüntetve az összefoglaló táblázatokban). Ezek a vizsgálatok az MHC régió olyan haplotípusait is érintették, melyek az AH8.1 részei voltak (15. táblázat). Mivel ezen haplotípusok előfordulási gyakorisága nagyobb, mint az AH8.1 gyakorisága, a velük történő vizsgálatok egy olyan csoportot jelentettek, melyek nem csak az 8.1-es haplotípust tartalmazták. 2001-ben Waterer és kollégái a *TNF- α* -308A: *LTA* 252G haplotípus előfordulását vizsgálták súlyos pneumóniában szenvedő betegek körében, de – hozzánk hasonlóan - nem tudtak összefüggést kimutatni a haplotípus és a betegség során alacsony arányban fellépő szeptikus sokk között (343 súlyos pneumóniás betegből mindössze 30 egyén) [196]. A *TNF- α* -308A: *LTA* 252G haplotípus különböző eredetű szepszisre gyakorolt hatásával kapcsolatban eddig négy tanulmány végzett vizsgálatokat, de egyedül Menges és kollégáinak sikerült összefüggéseket kimutatni.

Menges és munkatársai mindössze hét egyén esetében állapította meg a *TNF- α* -308A és az *LTA* 252G allélek együtt hordozását és ez a meglehetősen alacsony haplotípus gyakoriság mutatott asszociációt a szepszis kialakulásával és a halálozással. Waterer és munkatársai egy másik vizsgálatukban a 2001-ben gyűjtött betegcsoportukat kibővítve a *HSP70-2* 1267A: *LTA* 252A (ezek az allélek nem a 8.1-es haplotípus részei) haplotípus és a szeptikus sokk kialakulása között mutattak ki asszociációt. Emellett a *HSP70-2* 1267G: *LTA* 252G haplotípust is tanulmányozták, de összefüggést nem találtak a haplotípussal [146]. Az AH8.1 szekvenciája a *HLA-B* és *HLA-DRB1,-DQB1* régiók között konzervált, de számos adat arra utal, hogy telomerikusan a *HLA-A*-ig, vagy még azon is túlnyúlik [69]. Mira és munkatársai a genotipizálás mellett *HLA* tipizálást is alkalmaztak, de nem tudtak összefüggést kimutatni a *HLA-A1/B8/DR3* haplotípussal sem a szeptikus sokkal sem a halálozással kapcsolatban [197].

15. táblázat. Az AH8.1-et magába foglaló illetve az AH8.1 részének tekinthető haplotípusok kaukázusi eredetű szepszises betegcsoportokkal végzett asszociációs vizsgálatainak eredményei.

Haplotípusok	Vizsgált csoport szepszis eredete, típusa	Vizsgálat esetszáma	Összefüggés			Szerzők, év [Ref.]
			Szeptikus, Súlyos szepszis	Szeptikus sokk	Halálozás	
TNF- α -308A: <i>LTA</i> 252G	Pneumónia, szeptikus sokk	280	n.a.	nincs	nincs	Waterer, 2001 [196]
	Különböző* + SIRS, súlyos szepszis	70	nincs	n.a.	n.a.	Majetschak, 2002 [198]
	Különböző*, súlyos szepszis	213	n.a.	nincs	nincs	Gordon, 2004 [135]
	Különböző*, szepszis	154	<i>TNFA:</i> <i>LTAG</i>	n.a.	<i>TNFA:</i> <i>LTAG</i>	Menges, 2008 [199]
	Különböző* + SIRS, szepszis	233	n.a.	n.a.	nincs	Pappachan, 2009 [200]
<i>HSP70-2</i> 1267G: <i>LTA</i> 252G	Pneumónia, szeptikus sokk	343	n.a.	nincs	nincs	Waterer, 2003 [146]
A1/B8/DR3	Különböző* szeptikus sokk	89	n.a.	nincs	nincs	Mira, 1999 [197]

* A vizsgált csoportban többféle eredetű szepszis fordult elő, mint pl. pneumónia, meningitisz, felsőlégúti fertőzések, gasztrointesztinális fertőzések, húgy-ivarszervi fertőzések, peritonitisz, mediasztinitisz

Ismert, hogy a pneumónia kimenete számos tényezővel hozható összefüggésbe, ilyenek például az életkor, a meglévő alapbetegségek valamint a betegség súlyossága a kórházi felvételkor [201, 202]. Számos tanulmány a kórházi kezelést igénylő súlyos pneumóniában szenvedő betegek körében a COPD-t a leggyakoribb társbetegségként azonosította [203-205], mely hatással lehet a kórházi kezelést igénylő betegségek prognózisára [115]. Az általunk vizsgált betegcsoportban a szepszis minden betegnél pulmonáris eredetű volt, így a COPD-t mint a leggyakoribb egyidejűleg fennálló társ-tüdőbetegséget nem lehetett figyelmen kívül hagyni. Az alcsoport analízis során a nem-COPD-s betegekben az AH8.1 védő szerepet mutatott a szeptikus sokkal szemben, ugyanakkor ezt az összefüggést a COPD-s betegekben nem lehetett kimutatni. Emellett a COPD-t sikerült a szeptikus sokk független prediktoraként is azonosítani, így a szepszis súlyosságával az AH8.1 nem csak az alcsoport analízisben, de az egészcsoporton végzett adjusztálás során is összefüggést mutatott.

A vizsgálat során arra is kerestük a választ, hogy a felvett klinikai paraméterekkel az AH8.1 milyen összefüggéseket mutat. Az ősi haplotípus hordozása mind a teljes betegcsoportban, mind a nem-COPD-s betegekben asszociációt mutatott a magasabb fehérvérsejt számmal. Egészséges egyének immunválaszát már vizsgálták a 8.1-es haplotípus függvényében, de tudomásunk szerint korábbi tanulmányok eddig még nem közöltek magasabb összefhérvérsejt-számot a haplotípust hordozókban. A nem-COPD-s betegcsoportban, ahol az ősi 8.1-es haplotípus megléte védő hatást mutatott a szeptikus sokkal szemben, a haplotípus hordozók magasabb vérnyomásértékekkel (artériás középnyomás, szisztolés vérnyomás) és alacsonyabb pozitív végkilégzési nyomás (PEEP - Positive End-Expiratory Pressure) értékkel rendelkeztek a nem hordozókhoz képest. A folyadékpótlás ellenére perzisztáló hipotenzio a szeptikus sokk egyik fő kritériuma, a magasabb vérnyomást pedig az enyhébb szepszis prognosztikai jeleként tartják számon. A hypoxiás légzési elégtelenség során a légutak összeesését kivédő pozitív végkilégzési nyomást az oxigenizáció növelésére használják. Az alacsonyabb PEEP értékek stabilabb légzőrendszerre és jobb szöveti oxigénellátottságra utalnak, amit szintén a kevésbé súlyos szepszis egyik jeleként foghatjuk fel.

Megfigyeléseink alapján feltételezzük, hogy az ősi haplotípusra jellemző immunválasz sajátosságai az infekciók leküzdése során detektálható különbséget okoznak. Azonban az AH8.1-el kapott eredmények lehetséges patogenetikai magyarázata, nem

támaszkodhat jelentős mennyiségű szakirodalomra. Csak néhány tanulmány foglalkozott AH8.1 hordozók fertőzések során mutatott immunpatológiai eltéréseivel. A HLA-B8, DR3 pozitív (AH8.1) egészséges egyénekből származó fehérvérsejtek *in vitro* mitogén stimuláció hatására alacsonyabb pro-inflammatorikus IFN- γ , IL-2 és IL-5 citokin termelést mutattak a nem hordozókhoz képest [71]. Egy másik tanulmány egészséges AH8.1 hordozó és nem hordozó egyénekből származó leukociták TNF- α és IL-1 citokin termelését vizsgálta LPS stimuláció előtt és stimulációt követően. Kimutatták, hogy alapvetően a TNF- α és az IL-1 citokin koncentráció magasabb volt azokban a sejt tenyészetekben, amelyeket a haplotípust hordozók leukocitái alkottak, azokhoz a sejt kultúrákhoz képest, amelyek a nem-hordozók leukocitáit tartalmazták. Ezzel szemben LPS stimulálás hatására a haplotípust nem-hordozó leukocitáknál sokkal intenzívebb citokin felszabadulást mértek. A haplotípust nem hordozó sejteknél stimuláció hatására a TNF- α citokin koncentráció 7-szeres az IL-1 pedig 3-szoros emelkedést mutatott, szemben az AH8.1-et hordozó sejtekben mért 5-szörös és 2-szeres emelkedéssel [70]. A szepszis iniciális fázisára a pro-inflammatorikus citokinek túlzott termelődése jellemző, mely az immunválasz normál szabályozásán felülkerekedve patológiás gyulladós folyamatokat indít el. Az előbb említett korlátozott eredményekre támaszkodva feltételezhető, hogy az AH8.1 hordozók infekció hatására alacsonyabb citokin termeléssel válaszolnak, így náluk enyhébb pro-inflammatorikus hullám alakulhat ki. Ezt az enyhébb pro-inflammatorikus hullámot pedig a szepszis lefékezésében fontos szereppel bíró ellentétes előjelű folyamat könnyebben ellenőrzése alatt tudja tartani, így az AH8.1 hordozókban ritkábban alakulhat ki szepszis sokk. Emellett feltételezhető, hogy az AH8.1-re jellemző magasabb immunkomplexek száma, valamint az antitesttermelés és antigénprezentáció sajátosságai mind közrejátszhatnak a fertőzések elleni hatékonyabb immunválasz kialakításában. Mivel a haplotípust hordozók így szelekciós előnyt élvezhetnek, feltételezésünk megmagyarázhatja az AH8.1 magasabb arányát a hidegebb északi régióban élő populációkban, ahol gyakrabban fordulnak elő a tüdőt érintő gyulladós megbetegedések. Azonban a fejlett világ higiénia viszonyai között a fertőzések gyakorisága ma már jóval ritkább és ez a korábban előnyös módosult immunválasz bizonyos tekintetben fölöslegessé válhat. Az AH8.1-re jellemző genetikailag kódolt előny már nem csak a kórokozókra nézve, hanem a gazdaszervezet számára is káros lehet. Továbbá a 8.1-es haplotípusnak a

szeptikus sokkal szemben tapasztalt védő szerepe összhangban áll Laki J. és munkatársai korábbi megfigyelésével is. A cisztás fibrózisban szenvedő AH8.1 hordozók védettebbnek tűntek a bakteriális kolonizációval szemben, mely valószínűleg szintén a bakteriális infekciók elleni hatékonyabb immunválasszal magyarázható [84].

5.2.1. Szepszis vizsgált kimenetei és az AH8.1 azonosítása során genotipizált polimorfizmusok közötti összefüggések

A vizsgálat elemzésekor a haplotípus azonosítása során genotipizált genetikai faktorokat sem hagytam figyelmen kívül. Egyrészt, mert szerettem volna a 8.1-es haplotípussal kapott összefüggéseket elkülöníteni a polimorfizmusok esetleges hatásaitól, másrészt, mert szepszises témában az elmúlt 25 évben jelentős számú tanulmány született a *HSP70-2* 1267A/G, *TNF- α* -308G/A és az *LTA* 252A/G polimorfizmusokkal és elemzéseimmel hozzá szerettem volna járulni az ellentmondó irodalmi adatok jobb megértéséhez. Fontos megemlíteni, hogy tanulmányunk az első olyan genetikai vizsgálat, amely az *AGER* -429T/C polimorfizmusnak és *C4A**Q0 allélnak a szepszis súlyosságára valamint a szepszis során fellépő halálózásra gyakorolt lehetséges hatását elemezte.

A pneumónia eredetű súlyos szepszis rosszabb kimenetei és a vizsgált genetikai tényezők összehasonlításakor a haplotípus azonosítása során meghatározott genetikai faktorok közül egyiknél sem találtunk összefüggést a szeptikus sokkal. Az intenzív osztályos halálozás vizsgálatakor egyedül az *LTA* 252 polimorfizmus genotípus eloszlása mutatott szignifikáns különbséget a túlélők és az elhunytak között. Ezt az eredményt azonban a vizsgálat független prediktoraival adjusztálva nem tudtuk megerősíteni.

A kaukázusi eredetű szepszises betegcsoportokon a *HSP70-2* 1267A/G, *TNF- α* -308G/A és az *LTA* 252A/G polimorfizmusokkal végzett kandidáns génasszociációs vizsgálatok összefoglalását a 16., 17. és 18. táblázat tartalmazza. Ezen asszociációs tanulmányok közül csak egy foglalkozott a *HSP70-2* 1267A/G polimorfizmussal és a szeptikus sokk kialakulásával [146]. Waterer és kollégái súlyos pneumóniában szenvedő betegek vizsgálatakor a szeptikus sokk gyakoribb előfordulását figyelték meg

a *HSP70-2* 1267AA genotípust hordozóknál (az AH8.1 a G allélt tartalmazza). Vizsgálatunk, mely kitért ezen SNP genotípus és allél frekvenciájának elemzésére is, ezt az összefüggést nem tudta megerősíteni. A halálozással kapcsolatban a hőszokkfehérje 1267 polimorfizmusával foglalkozó három vizsgálat közül, eredményeinkkel összhangban, egyik sem talált asszociációt a *HSP70-2* 1267A/G polimorfizmus és a mortalitás között (16. táblázat).

16. táblázat. *Kaukázusi eredetű szepszises betegekben végzett, a HSP70-2 1267A/G polimorfizmus lehetséges hatását elemző asszociációs vizsgálatok eredményei.*

Polimorfizmus	Vizsgált szepszis eredete, típusa	Vizsgálat esetszáma	Összefüggés a szepszissel			Szerzők, év [Ref.]
			Szepeis, Súlyos szepszis	Szeptikus sokk	Halálozás	
<i>HSP70-2</i> 1267A/G	Különöző*, súlyos szepszis	87	nincs	n.a.	nincs	Schroeder, 1999 [145]
	Pneumónia; szeptikus sokk	343	n.a.	AA	nincs	Waterer, 2003 [146]
	Felsőlégtúti fertőzés, szepszis	28	AA/AG	n.a.	nincs	Davis, 2010 [206]

*A vizsgált csoportban többféle eredetű szepszis fordult elő, mint pl. pneumónia, meningitisz, felsőlégtúti fertőzések, gasztrointesztinális fertőzések, húgy-ivarszervi fertőzések, peritonitisz, mediasztinitisz

A *TNF- α* -308G/A polimorfizmus előfordulása és a szeptikus sokk összefüggésével eddig hat tanulmány foglalkozott a kaukázusi eredetű szepszises betegcsoportokban, de csak egy tanulmány tudott asszociációt kimutatni (16. táblázat). Mira és kollégái különböző eredetű szeptikus sokkos csoportot hasonlított össze egy egészséges kontroll csoporttal és azt tapasztalták, hogy a magasabb *TNF- α* szérumszinttel jellemzett ritkább AA genotípus szignifikánsan gyakrabban fordult elő a sokkos csoportban [197]. A többi tanulmány – hozzánk hasonlóan - ezt az eredményt nem tudta megerősíteni. A mortalitással kapcsolatban szintén a *TNF- α* -308AA genotípus illetve az A allél került összefüggésbe, de közel négyszer annyi cáfolat is született ezekre az eredményekre. Ezek közül a legjelentősebb az a pneumónia eredetű súlyos szepszissel is foglalkozó tanulmány, mely mintegy 325 embert vonva be a vizsgálatba – eredményeinkhez hasonlóan - nem talált asszociációt a *TNF- α* polimorfizmusával [136].

17. táblázat. *Kaukázusi eredetű szepszises betegekben végzett, a TNF- α -308G/A polimorfizmus lehetséges hatását elemző asszociációs vizsgálatok eredményei.*

Polimorf-izmus	Vizsgált szepszis eredete, típusa	Vizsgálat esetszáma	Összefüggés a szepszissel			Szerzők, év [Ref.]
			Szepszis, Súlyos szepszis	Szeptikus sokk	Halálozás	
TNF- α 308G/A	Különböző*; szeptikus sokk	89	n.a.	AA	AA	Mira, 1999 [197]
	Pneumónia; szeptikus sokk	343	n.a.	nincs	nincs	Waterer, 2001 [196]
	Különböző* + SIRS szepszis	88	AA	n.a.	nincs	Reid, 2002 [207]
	Különböző* + SIRS, súlyos szepszis	70	nincs	n.a.	n.a.	Majetschak, 2002 [198]
	Meningitisz, szepszis	183	nincs	n.a.	nincs	Balding, 2003 [208]
	Pneumónia, szepszis	68	nincs	nincs	nincs	Schaaf, 2003 [209]
	Pneumonia, szepszis	93	n.a.	nincs	nincs	Gallagher, 2003 [210]
	Különböző*, súlyos szepszis	213	nincs	n.a.	nincs	Gordon, 2004 [135]
	Különböző*, súlyos szepszis	53	nincs	n.a.	AA	Sipahi, 2006 [211]
	Különböző*, szepszis	224	nincs	n.a.	nincs	Montero 2006 [212]
	Különböző*, szepszis	304	n.a.	nincs	nincs	Kristie Marrie, 2007 [122]
	Különböző*, szepszis	154	AA/AG	n.a.	AA/AG	Menges, 2008 [199]
	Különböző* szepszis	149	n.a.	n.a.	nincs	Barber, 2008 [154]
Különböző* + SIRS, szepszis	233	n.a.	n.a.	nincs	Pappachan, 2009 [200]	
Pneumónia; Súlyos szepszis	325	n.a.	nincs	nincs	Jordi Sole 2010 [136]	

*A vizsgált csoportban többféle eredetű szepszis fordult elő, mint pl. pneumónia, meningitisz, felsőlégúti fertőzések, gasztrointesztinális fertőzések, húgy-ivarszervi fertőzések, peritonitisz, mediasztinitisz

Az *LTA 252A/G* polimorfizmus szeptikus sokkra gyakorolt hatásával öt tanulmány foglalkozott. Két vizsgálatban az alacsonyabb *LTA* szinttel jellemzett gyakoribb *AA* genotípus illetve az *A* allél mutatott összefüggést a sokkal [183, 196]. Ellenben, három másik tanulmány ezt az összefüggést – eredményeinkhez hasonlóan - nem tudta megerősíteni. Halálozással kapcsolatban az első vizsgálatok az *LTA 252AA* genotípussal mutatottak asszociációt, viszont a következő évtizedben született többi tanulmány ezeket az eredményeket már tudta megerősíteni. Menges és munkatársai a szepszis következtében fellépő mortalitás vizsgálatakor pedig az *LTA 252G/A*

polimorfizmus ritkább G alléljával talált összefüggést [199]. Eredményeink a halálozás vizsgálatakor ezzel szemben sem az AA genotípussal sem a G alléllal nem mutattak asszociációt.

18. táblázat. *Kaukázusi eredetű szepszises betegekben végzett, a LTA 252A/G polimorfizmus lehetséges hatását elemző asszociációs vizsgálatok eredményei.*

Polimorfizmus	Vizsgált szepszis eredete, típusa	Vizsgálat esetszáma	Összefüggés a szepszissel			Szerzők, év [Ref.]
			Szeptikus sokk	Szeptikus sokk	Halálozás	
LTA 252 A/G	Különböző* súlyos szepszis	40	n.a.	n.a.	AA	Stuber, 1996 [213]
	Különböző, súlyos szepszis	87	nincs	n.a.	AA	Schroeder, 1999 [145]
	Különböző*, súlyos szepszis	93	n.a.	n.a.	AA	Fang, 1999[214]
	Pneumónia; szeptikus sokk	343	n.a.	AA	nincs	Waterer, 2001 [196]
	Különböző* + SIRS szepszis	88	GG/GA	n.a.	nincs	Reid, 2002 [207]
	Különböző* + SIRS, súlyos szepszis	70	GG/GA	n.a.	n.a.	Majetschak, 2002 [198]
	Meningitisz, szepszis	183	nincs	n.a.	nincs	Balding, 2003 [208]
	Pneumonia, szepszis	68	nincs	nincs	nincs	Schaaf, 2003 [209]
	Különböző*, súlyos szepszis	213	nincs	n.a.	nincs	Gordon, 2004 [135]
	Különböző*, szepszis	79	n.a.	nincs	nincs	Rauchschwalbe, 2004 [215]
	Különböző*, szepszis	224	nincs	n.a.	nincs	Montero, 2006 [212]
	Különböző; szepszis*	224	nincs	AA/AG	nincs	Segarra, 2007 [183]
	Különböző*, szepszis	154	GG/GA	n.a.	GG/GA	Menges, 2008 [199]
	Különböző* + SIRS, szepszis	233	n.a.	n.a.	nincs	Pappachan, 2009 [200]
Pneumónia; súlyos szepszis	325	n.a.	nincs	nincs	Jordi Sole, 2010 [136]	

*A vizsgált csoportban többféle eredetű szepszis fordult elő, mint pl. pneumónia, meningitisz, felsőlégúti fertőzések, gastrointesztinális fertőzések, húgy-ivarszervi fertőzések, peritonitisz, mediasztinitisz

A HSP70-2 1267, TNF- α -308 és az LTA 252 polimorfizmusokkal kapott ellentmondó eredmények egyik lehetséges magyarázata, hogy az MHC régióban elhelyezkedő polimorfizmusok között igen gyakori a kapcsoltság, a linkage

disequilibrium. Mivel a linkage disequilibrium az MHC régió igen nagy szakaszait is érintheti - egyes haplotípusok szinte lefedik az egész régiót - ezért az itt található polimorfizmusok egyedi elemzése valamint egymással alkotott haplotípus vizsgálatai mellett - tanulmányunkhoz hasonlóan - olyan haplotípus vizsgálatok is szükségesek, melyek az egész MHC régiót figyelembe veszik.

5.3. Szepszis vizsgált kimenetei és a *PAI-1* 4G/5G közötti összefüggések

A pneumónia eredetű súlyos szepszises betegcsoportban a 8.1-es ősi haplotípus vizsgálata mellett a másik fő célkitűzés a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus tanulmányozása volt, köszönhetően a polimorfizmus korábbi szepsziszre vonatkozó vizsgálataiban megfigyelt összefüggéseinek. Eredményeink szerint a szeptikus sokk esélye az alacsonyabb PAI-1 szinttel jellemzett 5G/5G genotípus hordozóiban csak harmada a 4G allélt hordozók rizikójának. Az alcsoport analízis során a COPD mentes csoportban szintén megfigyelhető volt ez a védőhatás a szeptikus sokkkal szemben. Tudomásunk szerint ez az első olyan tanulmány, amely pneumónia eredetű szepsziszben vizsgálta a 4G/5G polimorfizmus jelentőségét és amely összefüggést tudott kimutatni a polimorfizmus és a pneumónia eredetű szeptikus sokk között. A többváltozós logisztikus regressziós analízis szintén alátámasztotta, hogy a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus a súlyosabb szepszis egyik független prediktora.

A *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus szepsziszre gyakorolt hatásával több tanulmány is foglalkozott (18. táblázat). Eredményeink egybevágóan Westendrop és munkatársai megfigyelésével, akik meningococcális szepszises betegekben asszociációt mutattak ki a 4G/4G genotípus és a szeptikus sokk gyakoribb előfordulása között, vagyis az 5G allél hordozása védettséget nyújtott a súlyosabb lefolyással szemben [182]. Ezt a megfigyelést azonban nem erősítette meg az a két tanulmány, melyek a halálozás mellett a szeptikus sokkot, mint kimenetet is vizsgálta. A szepszis mortalitásával kapcsolatban az asszociációt kimutató tanulmányok egyöntetűen a magasabb PAI-1 szérum szinttel jellemzett 4G allél vagy a 4G/4G genotípus hordozását hozták ki hajlamosító tényezőnek, vagyis eredményeik szerint az 5G/5G genotípus vagy az 5G allél védettséget nyújtott a halálozással szemben. A tíz tanulmányból - melyek közül

egy sem tisztán csak tüdőt-érintő szepszissel foglalkozott - mindössze három nem talált asszociációt a mortalitással. Vizsgálatunk ugyan nem mutatott ki szignifikáns összefüggést az 5G/5G genotípus hordozása és a túlélés között, azonban említésre méltó, hogy míg az elhunytak esetén az 5G/5G genotípus aránya csak 12,8% volt, addig a túlélők 22,5% hordozta ezt a genotípust. Valamint az 5G/5G genotípushoz tartozó Cox-regressziós túlélési görbe lefutása kevésbé volt meredek, mint a 4G-t tartalmazó genotípusoké, igaz ez a különbség csak szignifikáns közeli értékkel rendelkezett.

19. táblázat. *A szepszis és a PAI-1 4G/5G polimorfizmus összefüggését elemző, kaukázusi populációban végzett asszociációs vizsgálatok eredményei.*

Polimorfizmus	Vizsgált szepszis eredete, típusa	Vizsgálat esetszáma	Összefüggés a szepszissel			Szerzők, év [Ref.]
			Szepszis, Súlyos szepszis	Szeptikus sokk	Halálozás	
PAI-1 4G/5G	Meningitisz, szepszis	129	nincs	n.a.	4G/4G	Hermans, 1999 [195]
	Meningitisz, szepszis	50	n.a.	4G/4G	nincs	Westendrop, 1999 [182]
	Különböző* + SIRS, szepszis	61	nincs	n.a.	4G/4G, 4G/5G	Menges, 2001 [216]
	Meningitisz, szepszis	172	n.a.	n.a.	4G/4G	Haralambous, 2003 [184]
	Meningitisz, szepszis	137	4G/4G	n.a.	4G/4G	Geishofer, 2005 [217]
	Különböző*, szepszis	304	n.a.	nincs	nincs	KristieMarrie, 2007 [122]
	Különböző; szeptikus sokk*	224	n.a.	nincs	4G/4G	Segarra, 2007 [183]
	Különböző* szepszis	149	n.a.	n.a.	4G/4G, 4G/5G	Barber, 2008 [154]
	Különböző* szepszis	166	5G/5G	n.a.	4G/4G, 4G/5G	Wingeyer, 2010 [218]
	Különböző*; súlyos szepszis	73	n.a.	n.a.	nincs	Tsantes, 2010 [219]

*A vizsgált csoportban többféle eredetű szepszis fordult elő, mint pl. pneumónia, meningitisz, felsőlégúti fertőzések, gasztrointesztinális fertőzések, húgy-ivarszervi fertőzések, peritonitisz, mediasztinitisz

Megvizsgáltuk, hogy a 4G/5G polimorfizmus összefüggést mutat-e a szepszises betegekben mért klinikai paraméterekkel. Szignifikáns különbséget találtunk a DIC pontszám, a PEEP és vérnyomás értékek esetében valamint az invazívan lélegeztetettek arányában a teljes betegcsoport vizsgálatakor, valamint hasonló tendencia volt megfigyelhető mind a két COPD szerint osztott alcsoportnál. A DIC pontrendszer a

véralvadási rendszer zavaráról ad információt, a magasabb DIC értékek súlyosabb véralvadási zavart jeleznek. Az elemzés során az 5G/5G genotípust hordozókat szignifikánsan alacsonyabb felvételtkor DIC pontszám jellemezte, mint a nem hordozókat. Ez az eredmény megegyezik Binder és kollégái vizsgálatával, akik a *PAI-1* 4G/5G genotípus és DIC kialakulása között találtak összefüggést meningococcus fertőzés esetén [160]. Binder és a saját megfigyeléseink tovább erősítik azt a hipotézist, miszerint a *PAI-1* 4/5G polimorfizmus az alvadási rendszer megzavarásával befolyásolja a szepszis kimenetét. Az 5G/5G genotípust hordozók alacsonyabb PEEP és a magasabb vérnyomásértékei pedig jó prognosztikai jelnek számítanak a szeptikus sokkal szemben. Továbbá az invazívan lélegeztetettek alacsonyabb aránya 5G/5G genotípust hordozók körében szintén az enyhébb lefolyását igazolja.

A *PAI-1* 4G/5G polimorfizmussal kapott eredmények patogenetikai magyarázata során kiemelendő, hogy a szepszis kialakulásakor a pro-inflammatorikus citokinek hatására pár óra alatt jelentősen és tartósan megemelkedik a PAI-1 szérumszintje. Ezt a megemelkedett PAI-1 szérumszintet pedig már több vizsgálat is összekapcsolta a szepszis kialakulásával, a betegség súlyosabb lefolyásával valamint a betegség rosszabb kimenetével [220-222]. Ismert, hogy a PAI-1 alapszintet leginkább befolyásoló tényező a *PAI-1* promóter régiójában elhelyezkedő 4G/5G polimorfizmus. *In vitro* vizsgálatok eredményei arra engednek következtetni, hogy ez a polimorfizmus nem is annyira a PAI-1 alapszintben okoz drasztikus változásokat, hanem inkább a PAI-1 válaszban. Ugyanis IL-1 és nagyon alacsony denzitású lipoproteinek hatására a 4G alléllal rendelkező sejtenyészetekben igen jelentős PAI-1 koncentráció emelkedést volt megfigyelhető az 5G/5G genotípushoz képest [163, 223, 224]. További bizonyítékul szolgál az előbb említett megfigyelésekre Menges vizsgálata, mely szepszises és SIRS-es betegek körében nem csak a mortalitás és a 4G/5G polimorfizmus között mutatott ki összefüggést, hanem sokkal magasabb a PAI-1 szérumszinttel tudott mérni a 4G/4G genotípust hordozókban az 5G/5G genotípust hordozókhoz képest [216]. Mivel a vizsgálatunk kizárólag pneumónia eredetű súlyos szepszissel foglalkozott a patogenetikai magyarázat során fontos még megemlíteni, hogy az alveoláris kompartment a PAI-1 termelés és aktivitás egyik jelentős helyszíne. Súlyos pneumóniában szenvedő betegek alveolusait vizsgálva a koaguláció aktiválását és a fibrinolízis gátlását már több tanulmány is leírta [225, 226]. Bizonyos vizsgálatok a

gyulladás során tapasztalható csökkent mértékű fibrinolízist és a fibrin felhalmozódást elsősorban a fokozott PAI-1 termelésnek tulajdonították [226, 227]. Továbbá, néhány tanulmány a bronchoalveolaris mosófolyadék (BAL - Bronchoalveolar lavage) és a plazma emelkedett PAI-1 szintjét sikeresen kötötte össze az akut tüdőszérülés, akut respirációs distressz szindróma és a súlyos pneumónia rosszabb kimeneteivel [171, 172]. Sapru és munkatársainak pedig genetikai kapcsolatot is sikerült igazolni a súlyos pneumóniában szenvedő betegek csoportjában. Vizsgálata során az alacsonyabb PAI-1 szinttel jellemzett 5G/5G genotípus mutatott asszociációt a betegség túlélésével [181]. A szepszises és a tüdőbetegekkel kapott eredmények – a mi megfigyeléseinkkel kiegészítve - tovább erősítik azt a hipotézist, miszerint a *PAI-1* 4/5G polimorfizmusnak az alvadási rendszerre kifejtett hatása jelentősen befolyásolhatja az egész szervezetet érintve a szepszis lefolyása mellett a súlyos tüdőbetegségek kimenetét is.

Az alapkutatások pozitív eredményei mellett a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus jelentőségét növeli a klinikumban történő felhasználása is. Egyes genetikai szűrővizsgálatokban a 4G allélt már a trombózis-, stroke - és a szívinfarktus-hajlam kockázati tényezőjeként tartják számon.

5.4. A 8.1-es ősi haplotípus és a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus együttes vizsgálata pneumónia eredetű szepszises betegek körében

Mivel mind az AH8.1 haplotípus, mind a *PAI-1* 5G/5G genotípus összefüggést mutatott a szeptikus sokk előfordulásával, megvizsgáltuk, hogy a két genetikai faktor hogyan befolyásolja egymás hatását.

Az 5G/5G genotípust hordozó betegek kizárásával történő elemzéskor az AH8.1-el kapott eredmények megegyeztek a vizsgálat elején tapasztaltakkal, vagyis a haplotípust hordozók körében a szeptikus sokk kialakulásának kockázata közel harmada volt a nem hordozók rizikójának.

Az AH8.1-es haplotípus a 6-os a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus pedig a 7-es kromoszómán helyezkedik el, így ezen genetikai faktorok haplotípus elemzése helyett csak az együttes előfordulásukat vizsgálhattuk a pneumónia eredetű szepszises betegcsoportban. Az együttes előfordulás elemzésekor a két, szeptikus sokkkal szemben

védőhatású genetikai faktor erősebb védő hatását szeretnénk volna kimutatni azoknál a személyeknél, akik mind az AH8.1-et és mind a *PAI-1* 5G/5G-t hordozták. Eredményeink szerint a két védőfaktor egyszerre hordozók nem rendelkeztek szignifikánsan alacsonyabb esélyhányadossal azokhoz képest, akik valamelyik védőhatású genetikai faktorból legalább eggyel rendelkeztek, így additív hatást nem tudunk megfigyelni. Ez az összefüggés a nem COPD-s betegcsoportban is fennállt hasonló erősséggel, mint az egész csoport elemzése során. Mivel öt betegnél fordult elő egyszerre mind a két, sokkal szemben védőhatású faktor, valószínűleg a nagyon kis esetszám miatt nem lehetett megfigyelni additív hatást. A szeptikus sokk logisztikus regressziós analíziseiben a két faktort egy modellbe építve a nem COPD-s betegek körében a sokkal szembeni védőhatás csak 8.1-es ősi haplotípussal mutatott független összefüggést.

5.5. A vizsgálat erősségei illetve korlátjai

Vizsgálatunknak számos erőssége van:

1. A betegek bevonása az intenzív osztályra történt beérkezéstől számítva 24 órán belül megtörtént, ezáltal prospektív módon lehetővé téve a téves besorolások/diagnózisok kizárását.
2. A vizsgálat kizárólag egy homogén betegcsoportra, a pulmonáris eredetű szepszisre fókuszált, hogy a különböző típusú szepszis miatt fennálló zavaró (confounding) hatásokat kiküszöbölje.
3. Elemzésünk során minimalizáltuk a nemi és etnikai heterogenitás esetleges zavaró hatását, azáltal, hogy a vizsgálati csoportban közel azonos volt a nemek aránya valamint csak a kaukázusi populációba tartozó betegeket vontunk be.
4. Adataink a különálló genetikai polimorfizmusok elemzése mellett az egy régió belül elhelyezkedő kapcsolt variánsok haplotípus vizsgálatát (AH8.1) is tartalmazta.
5. Továbbá, elemzésünk a betegség kimeneteiben szerepet játszó független prediktorok azonosításával, többszemponos vizsgálatokat is felhasznált az eredmények megerősítésére.

A vizsgálat gyengeségei közé soroljuk elsősorban:

1. Az esetszámot. Vizsgálatunk esetszáma, a többi szépszissel foglalkozó vizsgálatához képest nagynak mondható, de valószínűleg még így sem rendelkezett megfelelő statisztikai erővel. Ennek megfelelően eredményeink megerősítéséhez nagyobb esetszámú vizsgálat szükséges.
2. Az elemzett genetikai faktorok szérumszintekkel alátámasztott vizsgálatának hiányát. A vizsgálat kezdeti szakaszában szérumszintek gyűjtésére is sor került, de egy technikai problémának köszönhetően az összes szérumszint minta megsemmisült. Azonban korábbi irodalmi adatok a legtöbb vizsgált polimorfizmus esetében már közöltek valamilyen szérumszint változásokat, így ezeket a tanulmányokat mi is felhasználtuk a diszkusszió írása során.
3. A betegek életkorát. A vizsgált beteg-populáció viszonylag idős egyénekből állt. A többszemponos elemzések során ezt a zavaró hatást igyekeztem kiküszöbölni. Az életkorra történő adjusztálás az APACHE II-vel történő regressziós elemzés során történt meg, mivel az APACHE II pontrendszer az életkort is, mint a súlyosságot befolyásoló tényezőt tartalmazza.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

- Vizsgálatunk során sikeresen meghatároztam 207 pneumónia eredetű súlyos szepszises beteg *AGER* -429T/C, *HSP70-2* 1267A/G, *TNF- α* -308G/A, *LTA* 252A/G polimorfizmusainak genotípusait és a *C4A* gén számát. A ritka allélek és a *C4A*Q0* együttes előfordulása valamint a HLA tipizálás alapján 25 feltételezett 8.1-es ősi haplotípus hordozót sikerült azonosítani.
- A meghatározott 8.1-es ősi haplotípus frekvenciája nem mutatott eltérést a korábban a magyar populációban megállapított gyakorisághoz képest. Emellett sem a haplotípus azonosítására használt polimorfizmusok, sem a *C4A*Q0* allél frekvenciái nem különböztek a kaukázusi eredetű egészséges egyének allél frekvenciáitól.
- *A fenti eredményből arra következtetünk, hogy az azonosított AH8.1 mellett a meghatározott polimorfizmusok genotípusai és a C4A*Q0 sem hajlamosítanak a pneumónia eredetű súlyos szepszis kialakulására.*
- A 8.1-es ősi haplotípussal történt vizsgálatok során a pneumónia eredetű súlyos szepszisben szenvedő, nem COPD-s betegek csoportjában a haplotípus hordozása védőfaktor a szeptikus sokkal szemben.
- A szeptikus sokk többszemponos logisztikus regressziós analízise során – mely tartalmazta többek között a COPD-t is – a haplotípus az egész betegcsoportra nézve is független védőfaktornak bizonyult a szeptikus sokkal szemben. Ezt a védőhatást ki lehetett mutatni a COPD-ben nem szenvedő betegek regressziós analízise során is.
- A klinikai paraméterek elemzésével kimutattuk, hogy az AH8.1 az enyhébb szepszis jó prognosztikai jelének számító magasabb fehérvérsejt-számmal, vérnyomás értékekkel valamint kevésbé agresszív lélegeztetési paraméterrel

mutatott összefüggést a nem-COPD-s pneumónia eredetű súlyos szepszises csoportban.

- A haplotípus azonosítása során meghatározott *AGER* -429T/C, *HSP70-2* 1267A/G, *TNF- α* -308G/A, *LTA* 252A/G polimorfizmusok genotípus és allél frekvenciáinak eloszlása valamint a C4A*Q0 hordozása sem mutatott összefüggést a szeptikus sokkal.
- Az intenzív osztályos halálozás vizsgálatokor egyedül az *LTA* 252A/G polimorfizmus genotípus eloszlásával mutattunk ki szignifikáns különbséget a túlélők és az elhunytak között, de a vizsgálat független prediktoraira adjusztálva ezt az összefüggést már nem tudtuk megerősíteni.
- *A fenti eredmények arra engednek következtetni, hogy az AH8.1-re jellemző módosult immunválasz, melyet eddig főként csak immunpatológia eltérésekkel hoztak összefüggésbe, hatékonyabb lehet a tüdőt érintő fertőzésekkel szemben. Hogy a 8.1-es ősi haplotípus védő hatása a COPD-ben szenvedő betegeket is tartalmazó teljes vizsgálati populációban statisztikailag nem volt kimutatható az valószínűleg a COPD szepszisre gyakorolt negatív hatásának köszönhetjük. Megfigyelésünk illeszkedik az ún. kétélű kard hipotézisbe, mely szerint az AH8.1 genetikailag meghatározott módosult immunválasza magasabb kockázatot jelent bizonyos autoimmun és tumoros betegségekre, viszont előnyösebb lehet más fertőzéssel kapcsolatos megbetegedéseknél, mint például a cisztás fibrózisnál és most már a pneumónia eredetű súlyos szepszisenél is. Emellett vizsgálatunk ráirányítja a figyelmet az MHC régióban található polimorfizmusok haplotípus elemzésének a fontosságára is. Ez különösen érvényes az asszociációs vizsgálatokban gyakran előforduló *HSP70-2* 1267A/G, *TNF- α* -308G/A, *LTA* 252A/G polimorfizmusokra. A haplotípusokkal történő elemzések az egyéni SNP vizsgálatokkal szemben pontosabban tükrözik a biológiai funkció szempontjából egységet képző génszakaszt és az olyan összetett betegség esetén, mint a szepszis a hatékonyabb genetikai elemzést teszik lehetővé.*

- A *PAI-1* 4G/5G-vel végzett vizsgálatok során 207 pneumónia eredetű súlyos szepszises beteg esetében sikeresen meghatároztam a polimorfizmus genotípus és allél frekvenciáit. Az irodalomban fellelhető kaukázusi eredetű egészséges egyének allél frekvenciáitól a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus allél frekvenciája különbséget nem mutatott.
- A pneumónia szepszis főbb kimeneteivel végzett egyszempontos analízis során az alacsonyabb *PAI-1* szinttel jellemzett 5G/5G genotípus védőfaktorak bizonyult a szeptikus sokkal szemben. A COPD-ben nem szenvedő betegeknél szintén megfigyelhető volt ez a védőhatás. Ezeket az összefüggéseket a betegcsoport többszempontos logisztikus regressziós analízise után is meg tudtuk erősíteni.
- Emellett a klinikai paraméterek elemzésével megfigyeltük, hogy a *PAI-1* 5G/5G genotípus az alacsonyabb felvételtkor DIC pontszámmal, magasabb vérnyomás értékekkel valamint stabilabb légzőrendszerrel is asszociációt mutatott.
- *A PAI-1 4G/5G polimorfizmussal megfigyelt eredményeink arra engednek következtetni, hogy a polimorfizmusnak az alvadási rendszerre kifejtett hatása jelentősen befolyásolja a pneumónia eredetű szepszis kimenetét. Ebben szerepet játszhat egyrészt a PAI-1 szint szisztémás egész szervezetet érintő hatása, másrészt fontos tényezőnek bizonyulhat a fehérje tüdőben kifejtett lokális szerepe is. Ezen eredmények tovább erősítik azon megfigyelések sorozatát miszerint az alvadási rendszer zavara a súlyosabb szepszis és a súlyosabb tüdőbetegség negatív prediktora.*
- A 8.1-es ősi haplotípus és a *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus együttes vizsgálata során az 5G/5G genotípust hordozók kizárásakor az AH8.1-el kapott eredmények megegyeztek a vizsgálat elején tapasztaltakkal, vagyis a haplotípus hordozása védőfaktorak tűnt a szeptikus sokkal szemben.

- Az öt személy, akik egyszerre hordozták a szeptikus sokkal szemben védőfaktorként ható haplotípust és az 5G/5G genotípust, nem rendelkeztek szignifikánsan alacsonyabb esélyhányadossal azokhoz képest, akik valamelyik védőhatású genetikai faktorból legalább eggyel rendelkeztek .
- A szeptikus sokk logisztikus regressziós analíziseiben a két védőhatású genetikai faktort egy modellbe építve csak a 8.1-es ősi haplotípussal tapasztaltuk független védőhatást a nem COPD-s betegek körében.
- *A fenti eredmények arra engednek következtetni, hogy a 8.1-es ősi haplotípus védőhatása nem az 5G/5G védőhatásának köszönhetően alakult ki. A két genetikai faktor együtt hordozásakor nem tudunk additív hatást megfigyelni a szeptikus sokkal szemben. Valószínűleg ebben az alacsony esetszám is közre játszhatott. A 8.1-es ősi haplotípus a COPD-ben nem szenvedő betegek körében erősebb védőfaktornak tűnt a sokkal szemben, mint a PAI-1 5G/5G genotípus.*

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az általános intenzív betegellátás legnagyobb mortalitású kórképe a szepszis, ami a szervezet infekcióra adott szisztémás válaszreakciója. A szepszis patofiziológiájával kapcsolatban számos családvizsgálat hangsúlyozza a genetikai tényezők fontosságát.

A kaukázusi populációban a fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) régió leggyakoribb haplotípusa az úgynevezett 8.1-es ősi kiterjesztett haplotípus (AH8.1). Az AH8.1 összefüggésbe hozható számos immunpatológiai eltéréssel, valamint bizonyos autoimmun betegségek kialakulásával. Laki J. és munkatársainak korábbi megfigyelései azt igazolták, hogy a 8.1-es ősi haplotípus késlelteti a bakteriális kolonizáció kialakulását cisztás fibrózisban. Az AH8.1 bakteriális infekcióban játszott szerepének további tisztázására egy pneumónia eredetű szepszises betegcsoport vizsgálatát tűztük ki célul.

Az 1-es típusú plazminogén-aktivátor inhibitor (PAI-1) akut fázis fehérjeként a fibrinolízis és az aktivált protein C gátlásának egyik kulcs enzime. A PAI-1 transzkripcióját befolyásoló 4G/5G inzerció/deléción polimorfizmust már több asszociáció vizsgálat is összekapcsolta a szepszis különböző kimeneteivel.

Doktori munkám során 207, a Semmelweis Egyetem Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Klinikán kezelt beteget vizsgáltunk. Az AH8.1 azonosításához szükséges polimorfizmusok (*AGER* -429T/C, *HSP70-2* 1267A/G, *TNF- α* -308G/A, *LTA* 252A/G és a C4A*Q0) valamint a *PAI-1* 4G/5G genotipizálását PCR-RFLP és real-time PCR technikával végeztem.

Vizsgálatunk során a 8.1-es ősi haplotípust hordozó pneumóniás betegeknél – a fontosabb klinikai paraméterek adjusztálása után - szignifikánsan ritkábban alakult ki szeptikus sokk, mint a nem hordozókban. Ezzel szemben a 8.1-es haplotípus azonosítása végett meghatározott polimorfizmusok genotípus és allél frekvenciáinak eloszlása nem mutatott összefüggést a szeptikus sokkkal. A *PAI-1* 5G allélt hordozók körében is védőhatást tapasztaltunk a szeptikus sokkkal szemben.

Vizsgálataink alapján valószínűsíthető, hogy a 8.1-es ősi haplotípus és a *PAI-1* 5G allél protektív szerepet játszik a tüdőgyulladás következtében kifejlődött szepszis lefolyásában.

8. SUMMARY

Sepsis is the main cause of death in the intensive care units, that is initiated by infection and is characterized by a systemic inflammatory response. Numerous family-based studies suggest the importance of genetic factors in the pathophysiology of sepsis.

The 8.1 ancestral haplotype (AH8.1) is the most frequent haplotype of the major histocompatibility complex (MHC) region in the Caucasian population. This haplotype is associated with numerous immunopathological differences certain autoimmune diseases. Laki J. has recently reported that this haplotype is associated with delayed onset of bacterial colonization in cystic fibrosis. Based on this observation, we hypothesized that the carriers of AH8.1 have lower risk for a worse outcome in sepsis.

The acute-phase protein, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) is a key element in the inhibition of fibrinolysis and activated protein C. The 4G/5G insertion/deletion promoter polymorphism affecting the transcription of PAI-1 has been related to the outcome of sepsis in many studies.

To evaluate the role of AH8.1 and *PAI-1* 4G/5G polymorphism in pneumonia-related sepsis, we investigated 207 patients who were treated in the Department of Anesthesia and Intensive Therapy Clinic, Semmelweis University. PCR-RFLP and real-time PCR were applied to genotype the *PAI-1* 4G/5G polymorphism and five other polymorphisms (*AGER* -429T/C, *HSP70-2* 1267A/G, *TNF- α* -308G/A, *LTA* 252A/G and C4A*Q0) required to identify the AH8.1.

After adjusting for the main clinical parameters our data showed that in carriers of the 8.1 haplotype the septic shock was significantly less frequent than in non-carriers. The genotype frequencies of the five polymorphisms, as well as the incidence of C4A*Q0 were not different between the two severity grades. In carriers of the *PAI-1* 5G allele the protective effect also was evaluated against the shock.

These results indicated that the AH8.1 and the *PAI-1* 5G allele may have a protective role in the progression of pneumonia-related sepsis.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Pennisi E (2001) The human genome. *Science* 291:1177-1180
2. Pennisi E (2010) 1000 Genomes Project gives new map of genetic diversity. *Science* 330:574-575
3. Taylor JG, Choi EH, Foster CB, Chanock SJ (2001) Using genetic variation to study human disease. *Trends Mol Med* 7:507-512
4. Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, Sherry S, Mullikin JC, Mortimore BJ, Willey DL, Hunt SE, Cole CG, Coggill PC, Rice CM, Ning Z, Rogers J, Bentley DR, Kwok PY, Mardis ER, Yeh RT, Schultz B, Cook L, Davenport R, Dante M, Fulton L, Hillier L, Waterston RH, McPherson JD, Gilman B, Schaffner S, Van Etten WJ, Reich D, Higgins J, Daly MJ, Blumenstiel B, Baldwin J, Stange-Thomann N, Zody MC, Linton L, Lander ES, Altshuler D (2001) A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 409:928-933
5. Check E (2005) Human genome: patchwork people. *Nature* 437:1084-1086
6. Sebat J, Lakshmi B, Troge J, Alexander J, Young J, Lundin P, Maner S, Massa H, Walker M, Chi M, Navin N, Lucito R, Healy J, Hicks J, Ye K, Reiner A, Gilliam TC, Trask B, Patterson N, Zetterberg A, Wigler M (2004) Large-scale copy number polymorphism in the human genome. *Science* 305:525-528
7. Feuk L, Carson AR, Scherer SW (2006) Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet* 7:85-97
8. Montagna P (2000) Molecular genetics of migraine headaches: a review. *Cephalalgia* 20:3-14
9. Merikangas KR, Avenevoli S (2000) Implications of genetic epidemiology for the prevention of substance use disorders. *Addict Behav* 25:807-820
10. Sebastiani P, Timofeev N, Dworkis DA, Perls TT, Steinberg MH (2009) Genome-wide association studies and the genetic dissection of complex traits. *Am J Hematol* 84:504-515
11. Baron M (2001) The search for complex disease genes: fault by linkage or fault by association? *Mol Psychiatry* 6:143-149

12. Kulski JK, Gaudieri S, Bellgard M, Balmer L, Giles K, Inoko H, Dawkins RL (1998) The evolution of MHC diversity by segmental duplication and transposition of retroelements. *J Mol Evol* 46:734
13. Horton R, Wilming L, Rand V, Lovering RC, Bruford EA, Khodiyar VK, Lush MJ, Povey S, Talbot CC, Jr., Wright MW, Wain HM, Trowsdale J, Ziegler A, Beck S (2004) Gene map of the extended human MHC. *Nat Rev Genet* 5:889-899
14. Trowsdale J (2011) The MHC, disease and selection. *Immunol Lett* 137:1-8
15. Gergely Janos EA, Rajnavolgyi Eva, LaszloGloria, Sarmay Gabriella (2000) *Immunbiológia. MHC molekula. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest.* 72-83
16. Kumanovics A, Takada T, Lindahl KF (2003) Genomic organization of the mammalian MHC. *Annu Rev Immunol* 21:629-657
17. Gruen JR, Weissman SM (2001) Human MHC class III and IV genes and disease associations. *Front Biosci* 6:D960-972
18. Bucciarelli LG, Wendt T, Qu W, Lu Y, Lalla E, Rong LL, Goova MT, Moser B, Kislinger T, Lee DC, Kashyap Y, Stern DM, Schmidt AM (2002) RAGE blockade stabilizes established atherosclerosis in diabetic apolipoprotein E-null mice. *Circulation* 106:2827-2835
19. Bierhaus A, Schiekofer S, Schwaninger M, Andrassy M, Humpert PM, Chen J, Hong M, Luther T, Henle T, Kloting I, Morcos M, Hofmann M, Tritschler H, Weigle B, Kasper M, Smith M, Perry G, Schmidt AM, Stern DM, Haring HU, Schleicher E, Nawroth PP (2001) Diabetes-associated sustained activation of the transcription factor nuclear factor-kappaB. *Diabetes* 50:2792-2808
20. Lander HM, Tauras JM, Ogiste JS, Hori O, Moss RA, Schmidt AM (1997) Activation of the receptor for advanced glycation end products triggers a p21(ras)-dependent mitogen-activated protein kinase pathway regulated by oxidant stress. *J Biol Chem* 272:17810-17814
21. Yeh CH, Sturgis L, Haidacher J, Zhang XN, Sherwood SJ, Bjercke RJ, Juhasz O, Crow MT, Tilton RG, Denner L (2001) Requirement for p38 and p44/p42 mitogen-activated protein kinases in RAGE-mediated nuclear factor-kappaB transcriptional activation and cytokine secretion. *Diabetes* 50:1495-1504

22. Yan SF, Ramasamy R, Schmidt AM (2009) The receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) and cardiovascular disease. *Expert Rev Mol Med* 11:e9
23. Buckley ST, Ehrhardt C (2010) The receptor for advanced glycation end products (RAGE) and the lung. *J Biomed Biotechnol* 2010:917108
24. Hudson BI, Stickland MH, Futers TS, Grant PJ (2001) Effects of novel polymorphisms in the RAGE gene on transcriptional regulation and their association with diabetic retinopathy. *Diabetes* 50:1505-1511
25. Picheth G, Heidemann M, Pedrosa FO, Chautard-Freire-Maia EA, Costantini CO, da Rocha Martinez TL, de Souza EM (2007) The -429 T>C polymorphism of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) is associated with type 1 diabetes in a Brazilian population. *Clin Chim Acta* 383:163-164
26. Martinez OP, Longman-Jacobsen N, Davies R, Chung EK, Yang Y, Gaudieri S, Dawkins RL, Yu CY (2001) Genetics of human complement component C4 and evolution the central MHC. *Front Biosci* 6:D904-913
27. Yang Y, Lhotta K, Chung EK, Eder P, Neumair F, Yu CY (2004) Complete complement components C4A and C4B deficiencies in human kidney diseases and systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 173:2803-2814
28. Lhotta K, Auinger M, Kronenberg F, Irsigler K, Konig P (1996) Polymorphism of complement C4 and susceptibility to IDDM and microvascular complications. *Diabetes Care* 19:53-55
29. Odell D, Maciulis A, Cutler A, Warren L, McMahon WM, Coon H, Stubbs G, Henley K, Torres A (2005) Confirmation of the association of the C4B null allele in autism. *Hum Immunol* 66:140-145
30. Szilagyi A, Fust G (2008) Diseases associated with the low copy number of the C4B gene encoding C4, the fourth component of complement. *Cytogenet Genome Res* 123:118-130
31. Kiang JG, Tsokos GC (1998) Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology. *Pharmacol Ther* 80:183-201
32. Asea A, Kraeft SK, Kurt-Jones EA, Stevenson MA, Chen LB, Finberg RW, Koo GC, Calderwood SK (2000) HSP70 stimulates cytokine production through a CD14-dependant pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine. *Nat Med* 6:435-442

33. DeNagel DC, Pierce SK (1992) A case for chaperones in antigen processing. *Immunol Today* 13:86-89
34. Ribeiro SP, Villar J, Downey GP, Edelson JD, Slutsky AS (1996) Effects of the stress response in septic rats and LPS-stimulated alveolar macrophages: evidence for TNF-alpha posttranslational regulation. *Am J Respir Crit Care Med* 154:1843-1850
35. Nishimura H, Emoto M, Kimura K, Yoshikai Y (1997) Hsp70 protects macrophages infected with *Salmonella choleraesuis* against TNF-alpha-induced cell death. *Cell Stress Chaperones* 2:50-59
36. Favatier F, Bornman L, Hightower LE, Gunther E, Polla BS (1997) Variation in hsp gene expression and Hsp polymorphism: do they contribute to differential disease susceptibility and stress tolerance? *Cell Stress Chaperones* 2:141-155
37. Temple SE, Cheong KY, Ardlie KG, Sayer D, Waterer GW (2004) The septic shock associated HSPA1B1267 polymorphism influences production of HSPA1A and HSPA1B. *Intensive Care Med* 30:1761-1767
38. Pociot F, Ronningen KS, Nerup J (1993) Polymorphic analysis of the human MHC-linked heat shock protein 70 (HSP70-2) and HSP70-Hom genes in insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Scand J Immunol* 38:491-495
39. Schroeder S, Reck M, Lehmann LE, Book M, Hoeft A, Stuber F (2000) The PstI polymorphism of the endotoxin-inducible heat-shock protein 70-2 gene does not affect messenger RNA level in human whole-blood cultures. *Intensive Care Med* 26:1139-1143
40. Giacconi R, Caruso C, Lio D, Muti E, Cipriano C, Saba V, Boccoli G, Gasparini N, Malavolta M, Mocchegiani E (2005) 1267 HSP70-2 polymorphism as a risk factor for carotid plaque rupture and cerebral ischaemia in old type 2 diabetes-atherosclerotic patients. *Mech Ageing Dev* 126:866-873
41. Gombos T, Forhecz Z, Pozsonyi Z, Janoskuti L, Prohaszka Z (2008) Interaction of serum 70-kDa heat shock protein levels and HspA1B (+1267) gene polymorphism with disease severity in patients with chronic heart failure. *Cell Stress Chaperones* 13:199-206
42. Klausz G, Molnar T, Nagy F, Gyulai Z, Boda K, Lonovics J, Mandi Y (2005) Polymorphism of the heat-shock protein gene Hsp70-2, but not polymorphisms

- of the IL-10 and CD14 genes, is associated with the outcome of Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 40:1197-1204
43. Balog A, Gyulai Z, Boros LG, Farkas G, Takacs T, Lonovics J, Mandi Y (2005) Polymorphism of the TNF-alpha, HSP70-2, and CD14 genes increases susceptibility to severe acute pancreatitis. *Pancreas* 30:e46-50
 44. Giacconi R, Cipriano C, Muti E, Costarelli L, Malavolta M, Caruso C, Lio D, Mocchegiani E (2006) Involvement of -308 TNF-alpha and 1267 Hsp70-2 polymorphisms and zinc status in the susceptibility of coronary artery disease (CAD) in old patients. *Biogerontology* 7:347-356
 45. Schottelius AJ, Moldawer LL, Dinarello CA, Asadullah K, Sterry W, Edwards CK, 3rd (2004) Biology of tumor necrosis factor-alpha- implications for psoriasis. *Exp Dermatol* 13:193-222
 46. Beutler B, Milsark IW, Cerami AC (2008) Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. *Science*, 1985, 229(4716):869-871. Classical article. *J Immunol* 181:7-9
 47. Arditi M, Manogue KR, Caplan M, Yogev R (1990) Cerebrospinal fluid cachectin/tumor necrosis factor-alpha and platelet-activating factor concentrations and severity of bacterial meningitis in children. *J Infect Dis* 162:139-147
 48. Reinecker HC, Steffen M, Witthoef T, Pflueger I, Schreiber S, MacDermott RP, Raedler A (1993) Enhanced secretion of tumour necrosis factor-alpha, IL-6, and IL-1 beta by isolated lamina propria mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Clin Exp Immunol* 94:174-181
 49. Fernando MM, Stevens CR, Walsh EC, De Jager PL, Goyette P, Plenge RM, Vyse TJ, Rioux JD (2008) Defining the role of the MHC in autoimmunity: a review and pooled analysis. *PLoS Genet* 4:e1000024
 50. van Dullemen HM, van Deventer SJ, Hommes DW, Bijl HA, Jansen J, Tytgat GN, Woody J (1995) Treatment of Crohn's disease with anti-tumor necrosis factor chimeric monoclonal antibody (cA2). *Gastroenterology* 109:129-135
 51. Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Kalden JR, Antoni C, Smolen JS, Leeb B, Breedveld FC, Macfarlane JD, Bijl H, Woody JN (1994) Randomised double-

- blind comparison of chimeric monoclonal antibody to tumour necrosis factor alpha (cA2) versus placebo in rheumatoid arthritis. *Lancet* 344:1105-1110
52. Tracey KJ, Fong Y, Hesse DG, Manogue KR, Lee AT, Kuo GC, Lowry SF, Cerami A (1987) Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature* 330:662-664
 53. Karimi M, Goldie LC, Cruickshank MN, Moses EK, Abraham LJ (2009) A critical assessment of the factors affecting reporter gene assays for promoter SNP function: a reassessment of -308 TNF polymorphism function using a novel integrated reporter system. *Eur J Hum Genet* 17:1454-1462
 54. Braun N, Michel U, Ernst BP, Metzner R, Bitsch A, Weber F, Rieckmann P (1996) Gene polymorphism at position -308 of the tumor-necrosis-factor-alpha (TNF-alpha) in multiple sclerosis and its influence on the regulation of TNF-alpha production. *Neurosci Lett* 215:75-78
 55. McGuire W, Hill AV, Allsopp CE, Greenwood BM, Kwiatkowski D (1994) Variation in the TNF-alpha promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature* 371:508-510
 56. Roy S, McGuire W, Mascie-Taylor CG, Saha B, Hazra SK, Hill AV, Kwiatkowski D (1997) Tumor necrosis factor promoter polymorphism and susceptibility to lepromatous leprosy. *J Infect Dis* 176:530-532
 57. Louis E, Satsangi J, Roussomoustakaki M, Parkes M, Fanning G, Welsh K, Jewell D (1996) Cytokine gene polymorphisms in inflammatory bowel disease. *Gut* 39:705-710
 58. Roach DR, Briscoe H, Saunders B, France MP, Riminton S, Britton WJ (2001) Secreted lymphotoxin-alpha is essential for the control of an intracellular bacterial infection. *J Exp Med* 193:239-246
 59. Engwerda CR, Mynott TL, Sawhney S, De Souza JB, Bickle QD, Kaye PM (2002) Locally up-regulated lymphotoxin alpha, not systemic tumor necrosis factor alpha, is the principle mediator of murine cerebral malaria. *J Exp Med* 195:1371-1377
 60. Messer G, Spengler U, Jung MC, Honold G, Blomer K, Pape GR, Riethmuller G, Weiss EH (1991) Polymorphic structure of the tumor necrosis factor (TNF) locus: an NcoI polymorphism in the first intron of the human TNF-beta gene

- correlates with a variant amino acid in position 26 and a reduced level of TNF-beta production. *J Exp Med* 173:209-219
61. Whichelow CE, Hitman GA, Raafat I, Bottazzo GF, Sachs JA (1996) The effect of TNF* β gene polymorphism on TNF-alpha and -beta secretion levels in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and healthy controls. *Eur J Immunogenet* 23:425-435
 62. Salazar M, Deulofeut H, Granja C, Deulofeut R, Yunis DE, Marcus-Bagley D, Awdeh Z, Alper CA, Yunis EJ (1995) Normal HBsAg presentation and T-cell defect in the immune response of nonresponders. *Immunogenetics* 41:366-374
 63. Alper CA, Larsen CE, Dubey DP, Awdeh ZL, Fici DA, Yunis EJ (2006) The haplotype structure of the human major histocompatibility complex. *Hum Immunol* 67:73-84
 64. Dawkins R, Leelayuwat C, Gaudieri S, Tay G, Hui J, Cattley S, Martinez P, Kulski J (1999) Genomics of the major histocompatibility complex: haplotypes, duplication, retroviruses and disease. *Immunol Rev* 167:275-304
 65. Yunis EJ, Larsen CE, Fernandez-Vina M, Awdeh ZL, Romero T, Hansen JA, Alper CA (2003) Inheritable variable sizes of DNA stretches in the human MHC: conserved extended haplotypes and their fragments or blocks. *Tissue Antigens* 62:1-20
 66. Horton R, Gibson R, Coggill P, Miretti M, Allcock RJ, Almeida J, Forbes S, Gilbert JG, Halls K, Harrow JL, Hart E, Howe K, Jackson DK, Palmer S, Roberts AN, Sims S, Stewart CA, Traherne JA, Trevanion S, Wilming L, Rogers J, de Jong PJ, Elliott JF, Sawcer S, Todd JA, Trowsdale J, Beck S (2008) Variation analysis and gene annotation of eight MHC haplotypes: the MHC Haplotype Project. *Immunogenetics* 60:1-18
 67. Stewart CA, Horton R, Allcock RJ, Ashurst JL, Atrazhev AM, Coggill P, Dunham I, Forbes S, Halls K, Howson JM, Humphray SJ, Hunt S, Mungall AJ, Osoegawa K, Palmer S, Roberts AN, Rogers J, Sims S, Wang Y, Wilming LG, Elliott JF, de Jong PJ, Sawcer S, Todd JA, Trowsdale J, Beck S (2004) Complete MHC haplotype sequencing for common disease gene mapping. *Genome Res* 14:1176-1187

68. Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, Geraghty DE, Hansen JA, Hurley CK, Mach B, Mayr WR, Parham P, Petersdorf EW, Sasazuki T, Schreuder GM, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI, Trowsdale J (2005) Nomenclature for Factors of the HLA System, 2004. *Hum Immunol* 66:571-636
69. Aly TA, Eller E, Ide A, Gowan K, Babu SR, Erlich HA, Rewers MJ, Eisenbarth GS, Fain PR (2006) Multi-SNP analysis of MHC region: remarkable conservation of HLA-A1-B8-DR3 haplotype. *Diabetes* 55:1265-1269
70. Price P, Witt C, Allcock R, Sayer D, Garlepp M, Kok CC, French M, Mallal S, Christiansen F (1999) The genetic basis for the association of the 8.1 ancestral haplotype (A1, B8, DR3) with multiple immunopathological diseases. *Immunol Rev* 167:257-274
71. Candore G, Lio D, Colonna Romano G, Caruso C (2002) Pathogenesis of autoimmune diseases associated with 8.1 ancestral haplotype: effect of multiple gene interactions. *Autoimmun Rev* 1:29-35
72. Christiansen FT, Houlston JB, Dawkins RL (1978) HLA, anti-DNA, and complement in myasthenia gravis. *Muscle Nerve* 1:467-470
73. Lawley TJ, Hall RP, Fauci AS, Katz SI, Hamburger MI, Frank MM (1981) Defective Fc-receptor functions associated with the HLA-B8/DRw3 haplotype: studies in patients with dermatitis herpetiformis and normal subjects. *N Engl J Med* 304:185-192
74. Lio D, Candore G, Colombo A, Colonna Romano G, Gervasi F, Marino V, Scola L, Caruso C (2001) A genetically determined high setting of TNF-alpha influences immunologic parameters of HLA-B8,DR3 positive subjects: implications for autoimmunity. *Hum Immunol* 62:705-713
75. Caruso C, Bongiardina C, Candore G, Cigna D, Romano GC, Colucci AT, Di Lorenzo G, Gervasi F, Manno M, Potestio M, Tantillo G (1997) HLA-B8,DR3 haplotype affects lymphocyte blood levels. *Immunol Invest* 26:333-340
76. Candore G, Cigna D, Gervasi F, Colucci AT, Modica MA, Caruso C (1994) In vitro cytokine production by HLA-B8,DR3 positive subjects. *Autoimmunity* 18:121-132

77. Lio D, D'Anna C, Gervasi F, Cigna D, Modica MA, Candore G, Caruso C (1995) In vitro impairment of interleukin-5 production in HLA-B8, DR3-positive individuals implications for immunoglobulin A synthesis dysfunction. *Hum Immunol* 44:170-174
78. Reveille JD, Moulds JM, Arnett FC (1995) Major histocompatibility complex class II and C4 alleles in Mexican Americans with systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens* 45:91-97
79. Candore G, Balistreri CR, Campagna AM, Colombo A, Cuppari I, Di-Carlo D, Grimaldi MP, Orlando V, Piazza G, Vasto S, Lio D, Caruso C (2006) Genetic control of immune response in carriers of ancestral haplotype 8.1: the study of chemotaxis. *Ann N Y Acad Sci* 1089:509-515
80. Pociot F, Briant L, Jongeneel CV, Molvig J, Worsaae H, Abbal M, Thomsen M, Nerup J, Cambon-Thomsen A (1993) Association of tumor necrosis factor (TNF) and class II major histocompatibility complex alleles with the secretion of TNF-alpha and TNF-beta by human mononuclear cells: a possible link to insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Immunol* 23:224-231
81. Marsh DG, Meyers DA, Bias WB (1981) The epidemiology and genetics of atopic allergy. *N Engl J Med* 305:1551-1559
82. Candore G, Modica MA, Lio D, Colonna-Romano G, Listi F, Grimaldi MP, Russo M, Triolo G, Accardo-Palumbo A, Cuccia MC, Caruso C (2003) Pathogenesis of autoimmune diseases associated with 8.1 ancestral haplotype: a genetically determined defect of C4 influences immunological parameters of healthy carriers of the haplotype. *Biomed Pharmacother* 57:274-277
83. Caruso C, Candore G, Colonna Romano G, Lio D, Bonafe M, Valensin S, Franceschi C (2000) HLA, aging, and longevity: a critical reappraisal. *Hum Immunol* 61:942-949
84. Laki J, Laki I, Nemeth K, Ujhelyi R, Bede O, Endreffy E, Bolbas K, Gyurkovits K, Csiszer E, Solyom E, Dobra G, Halasz A, Pozsonyi E, Rajczy K, Prohaszka Z, Fekete G, Fust G (2006) The 8.1 ancestral MHC haplotype is associated with delayed onset of colonization in cystic fibrosis. *Int Immunol* 18:1585-1590
85. Boucher RC (2004) New concepts of the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Eur Respir J* 23:146-158

86. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ (2009) Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. 1992. *Chest* 136:e28
87. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ (1992) Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 101:1644-1655
88. Aneszteziológiai ITSK (2002) A súlyos szepszis és a szeptikus sokk kezelésének szakmai irányelvei. In: Egészségügyi Minisztérium, p 11
89. Csomós Á (2002) Költségelemzés az intenzív osztályon. In: Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar. Debreceni Egyetem, Debrecen, p 13
90. Hack CE, Aarden LA, Thijs LG (1997) Role of cytokines in sepsis. *Adv Immunol* 66:101-195
91. Thijs LG, Hack CE (1995) Time course of cytokine levels in sepsis. *Intensive Care Med* 21 Suppl 2:S258-263
92. Ulloa L, Tracey KJ (2005) The "cytokine profile": a code for sepsis. *Trends Mol Med* 11:56-63
93. Morgan MM, Clayton CC, Heinricher MM (2004) Dissociation of hyperalgesia from fever following intracerebroventricular administration of interleukin-1beta in the rat. *Brain Res* 1022:96-100
94. Cruickshank AM, Fraser WD, Burns HJ, Van Damme J, Shenkin A (1990) Response of serum interleukin-6 in patients undergoing elective surgery of varying severity. *Clin Sci (Lond)* 79:161-165
95. Dinarello CA (2000) Proinflammatory cytokines. *Chest* 118:503-508
96. Bone RC (1996) Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med* 24:1125-1128
97. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA (1997) Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest* 112:235-243

98. Adib-Conquy M, Cavaillon JM (2009) Compensatory anti-inflammatory response syndrome. *Thromb Haemost* 101:36-47
99. Giannoudis PV, Hildebrand F, Pape HC (2004) Inflammatory serum markers in patients with multiple trauma. Can they predict outcome? *J Bone Joint Surg Br* 86:313-323
100. Heagy W, Nieman K, Hansen C, Cohen M, Danielson D, West MA (2003) Lower levels of whole blood LPS-stimulated cytokine release are associated with poorer clinical outcomes in surgical ICU patients. *Surg Infect (Larchmt)* 4:171-180
101. Cronin L, Cook DJ, Carlet J, Heyland DK, King D, Lansang MA, Fisher CJ, Jr. (1995) Corticosteroid treatment for sepsis: a critical appraisal and meta-analysis of the literature. *Crit Care Med* 23:1430-1439
102. Fisher CJ, Jr., Agosti JM, Opal SM, Lowry SF, Balk RA, Sadoff JC, Abraham E, Schein RM, Benjamin E (1996) Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor:Fc fusion protein. The Soluble TNF Receptor Sepsis Study Group. *N Engl J Med* 334:1697-1702
103. Fisher CJ, Jr., Dhainaut JF, Opal SM, Pribble JP, Balk RA, Slotman GJ, Iberti TJ, Rackow EC, Shapiro MJ, Greenman RL, Reines D, Shelly M, Thompson B, Sadoff J (1994) Recombinant human interleukin 1 receptor antagonist in the treatment of patients with sepsis syndrome. Results from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Phase III rhIL-1ra Sepsis Syndrome Study Group. *Jama* 271:1836-1843
104. Esmon CT (2008) Crosstalk between inflammation and thrombosis. *Maturitas* 61:122-131
105. ten Cate H (2000) Pathophysiology of disseminated intravascular coagulation in sepsis. *Crit Care Med* 28:S9-11
106. Hotchkiss RS, Karl IE (2003) The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 348:138-150
107. Aird WC (2003) The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood* 101:3765-3777

108. Gando S, Kameue T, Morimoto Y, Matsuda N, Hayakawa M, Kemmotsu O (2002) Tissue factor production not balanced by tissue factor pathway inhibitor in sepsis promotes poor prognosis. *Crit Care Med* 30:1729-1734
109. Fourrier F, Chopin C, Goudemand J, Hendrycx S, Caron C, Rime A, Marey A, Lestavel P (1992) Septic shock, multiple organ failure, and disseminated intravascular coagulation. Compared patterns of antithrombin III, protein C, and protein S deficiencies. *Chest* 101:816-823
110. Horrevoets AJ (2004) Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1): in vitro activities and clinical relevance. *Br J Haematol* 125:12-23
111. Lolis E, Bucala R (2003) Therapeutic approaches to innate immunity: severe sepsis and septic shock. *Nat Rev Drug Discov* 2:635-645
112. Sutherland AM, Walley KR (2009) Bench-to-bedside review: Association of genetic variation with sepsis. *Crit Care* 13:210
113. Celli BR, MacNee W (2004) Standards for the diagnosis and treatment of patients with COPD: a summary of the ATS/ERS position paper. *Eur Respir J* 23:932-946
114. Ismail TS (2009) Exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Med J Malaysia* 64:250-255; quiz 256
115. Soler-Cataluna JJ, Martinez-Garcia MA, Roman Sanchez P, Salcedo E, Navarro M, Ochando R (2005) Severe acute exacerbations and mortality in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 60:925-931
116. Sorensen TI, Nielsen GG, Andersen PK, Teasdale TW (1988) Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N Engl J Med* 318:727-732
117. Namath A, Patterson AJ (2009) Genetic polymorphisms in sepsis. *Crit Care Clin* 25:835-856, x
118. Moore CE, Segal S, Berendt AR, Hill AV, Day NP (2004) Lack of association between Toll-like receptor 2 polymorphisms and susceptibility to severe disease caused by *Staphylococcus aureus*. *Clin Diagn Lab Immunol* 11:1194-1197
119. Sutherland AM, Walley KR, Russell JA (2005) Polymorphisms in CD14, mannose-binding lectin, and Toll-like receptor-2 are associated with increased prevalence of infection in critically ill adults. *Crit Care Med* 33:638-644

120. Lorenz E, Mira JP, Cornish KL, Arbour NC, Schwartz DA (2000) A novel polymorphism in the toll-like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. *Infect Immun* 68:6398-6401
121. Feterowski C, Emmanuilidis K, Miethke T, Gerauer K, Rump M, Ulm K, Holzmann B, Weighardt H (2003) Effects of functional Toll-like receptor-4 mutations on the immune response to human and experimental sepsis. *Immunology* 109:426-431
122. Jessen KM, Lindboe SB, Petersen AL, Eugen-Olsen J, Benfield T (2007) Common TNF-alpha, IL-1 beta, PAI-1, uPA, CD14 and TLR4 polymorphisms are not associated with disease severity or outcome from Gram negative sepsis. *BMC Infect Dis* 7:108
123. Agnese DM, Calvano JE, Hahm SJ, Coyle SM, Corbett SA, Calvano SE, Lowry SF (2002) Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative infections. *J Infect Dis* 186:1522-1525
124. Super M, Thiel S, Lu J, Levinsky RJ, Turner MW (1989) Association of low levels of mannan-binding protein with a common defect of opsonisation. *Lancet* 2:1236-1239
125. Yuan FF, Marks K, Wong M, Watson S, de Leon E, McIntyre PB, Sullivan JS (2008) Clinical relevance of TLR2, TLR4, CD14 and Fc gammaRIIA gene polymorphisms in *Streptococcus pneumoniae* infection. *Immunol Cell Biol* 86:268-270
126. Yee AM, Ng SC, Sobel RE, Salmon JE (1997) Fc gammaRIIA polymorphism as a risk factor for invasive pneumococcal infections in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 40:1180-1182
127. Moens L, Van Hoeyveld E, Verhaegen J, De Boeck K, Peetermans WE, Bossuyt X (2006) Fc gamma-receptor IIA genotype and invasive pneumococcal infection. *Clin Immunol* 118:20-23
128. Weiss J (2003) Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) and lipopolysaccharide-binding protein (LBP): structure, function and regulation in host defence against Gram-negative bacteria. *Biochem Soc Trans* 31:785-790

129. Hubacek JA, Stuber F, Frohlich D, Book M, Wetegrove S, Ritter M, Rothe G, Schmitz G (2001) Gene variants of the bactericidal/permeability increasing protein and lipopolysaccharide binding protein in sepsis patients: gender-specific genetic predisposition to sepsis. *Crit Care Med* 29:557-561
130. Quasney MW, Waterer GW, Dahmer MK, Kron GK, Zhang Q, Kessler LA, Wunderink RG (2004) Association between surfactant protein B + 1580 polymorphism and the risk of respiratory failure in adults with community-acquired pneumonia. *Crit Care Med* 32:1115-1119
131. Stassen NA, Breit CM, Norfleet LA, Polk HC, Jr. (2003) IL-18 promoter polymorphisms correlate with the development of post-injury sepsis. *Surgery* 134:351-356
132. Brenmoehl J, Herfarth H, Gluck T, Audebert F, Barlage S, Schmitz G, Froehlich D, Schreiber S, Hampe J, Scholmerich J, Holler E, Rogler G (2007) Genetic variants in the NOD2/CARD15 gene are associated with early mortality in sepsis patients. *Intensive Care Med* 33:1541-1548
133. Henckaerts L, Nielsen KR, Steffensen R, Van Steen K, Mathieu C, Giulietti A, Wouters PJ, Milants I, Vanhorebeek I, Langouche L, Vermeire S, Rutgeerts P, Thiel S, Wilmer A, Hansen TK, Van den Berghe G (2009) Polymorphisms in innate immunity genes predispose to bacteremia and death in the medical intensive care unit. *Crit Care Med* 37:192-201, e191-193
134. Stuber F, Udalova IA, Book M, Drutskaya LN, Kuprash DV, Turetskaya RL, Schade FU, Nedospasov SA (1995) -308 tumor necrosis factor (TNF) polymorphism is not associated with survival in severe sepsis and is unrelated to lipopolysaccharide inducibility of the human TNF promoter. *J Inflamm* 46:42-50
135. Gordon AC, Lagan AL, Aganna E, Cheung L, Peters CJ, McDermott MF, Millo JL, Welsh KI, Holloway P, Hitman GA, Piper RD, Garrard CS, Hinds CJ (2004) TNF and TNFR polymorphisms in severe sepsis and septic shock: a prospective multicentre study. *Genes Immun* 5:631-640
136. Sole-Violan J, de Castro F, Garcia-Laorden MI, Blanquer J, Aspa J, Borderias L, Briones ML, Rajas O, Carrondo IM, Marcos-Ramos JA, Ferrer Aguero JM, Garcia-Saavedra A, Fiuza MD, Caballero-Hidalgo A, Rodriguez-Gallego C

- (2010) Genetic variability in the severity and outcome of community-acquired pneumonia. *Respir Med* 104:440-447
137. Tiancha H, Huiqin W, Jiyong J, Jingfen J, Wei C (2011) Association between lymphotoxin-alpha intron +252 polymorphism and sepsis: a meta-analysis. *Scand J Infect Dis* 43:436-447
138. Ma P, Chen D, Pan J, Du B (2002) Genomic polymorphism within interleukin-1 family cytokines influences the outcome of septic patients. *Crit Care Med* 30:1046-1050
139. Read RC, Camp NJ, di Giovine FS, Borrow R, Kaczmarek EB, Chaudhary AG, Fox AJ, Duff GW (2000) An interleukin-1 genotype is associated with fatal outcome of meningococcal disease. *J Infect Dis* 182:1557-1560
140. Tischendorf JJ, Yagmur E, Scholten D, Vidacek D, Koch A, Winograd R, Gressner AM, Trautwein C, Wasmuth HE, Lammert F (2007) The interleukin-6 (IL6)-174 G/C promoter genotype is associated with the presence of septic shock and the ex vivo secretion of IL6. *Int J Immunogenet* 34:413-418
141. Schluter B, Raufhake C, Erren M, Schotte H, Kipp F, Rust S, Van Aken H, Assmann G, Berendes E (2002) Effect of the interleukin-6 promoter polymorphism (-174 G/C) on the incidence and outcome of sepsis. *Crit Care Med* 30:32-37
142. Arnalich F, Lopez-Maderuelo D, Codoceo R, Lopez J, Solis-Garrido LM, Capiscol C, Fernandez-Capitan C, Madero R, Montiel C (2002) Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and mortality in patients with severe sepsis. *Clin Exp Immunol* 127:331-336
143. Baier RJ, Loggins J, Yanamandra K (2006) IL-10, IL-6 and CD14 polymorphisms and sepsis outcome in ventilated very low birth weight infants. *BMC Med* 4:10
144. Stanilova SA, Miteva LD, Karakolev ZT, Stefanov CS (2006) Interleukin-10-1082 promoter polymorphism in association with cytokine production and sepsis susceptibility. *Intensive Care Med* 32:260-266
145. Schroeder S, Reck M, Hoeft A, Stuber F (1999) Analysis of two human leukocyte antigen-linked polymorphic heat shock protein 70 genes in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 27:1265-1270

146. Waterer GW, ElBahlawan L, Quasney MW, Zhang Q, Kessler LA, Wunderink RG (2003) Heat shock protein 70-2+1267 AA homozygotes have an increased risk of septic shock in adults with community-acquired pneumonia. *Crit Care Med* 31:1367-1372
147. Yende S, Angus DC, Kong L, Kellum JA, Weissfeld L, Ferrell R, Finegold D, Carter M, Leng L, Peng ZY, Bucala R (2009) The influence of macrophage migration inhibitory factor gene polymorphisms on outcome from community-acquired pneumonia. *Faseb J* 23:2403-2411
148. Temple SE, Cheong KY, Price P, Waterer GW (2008) The microsatellite, macrophage migration inhibitory factor -794, may influence gene expression in human mononuclear cells stimulated with *E. coli* or *S. pneumoniae*. *Int J Immunogenet* 35:309-316
149. Flores C, Maca-Meyer N, Perez-Mendez L, Sanguesa R, Espinosa E, Muriel A, Blanco J, Villar J (2006) A CXCL2 tandem repeat promoter polymorphism is associated with susceptibility to severe sepsis in the Spanish population. *Genes Immun* 7:141-149
150. Villar J, Perez-Mendez L, Flores C, Maca-Meyer N, Espinosa E, Muriel A, Sanguesa R, Blanco J, Muros M, Kacmarek RM (2007) A CXCL2 polymorphism is associated with better outcomes in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 35:2292-2297
151. Eklund C, Huttunen R, Syrjanen J, Laine J, Vuento R, Hurme M (2006) Polymorphism of the C-reactive protein gene is associated with mortality in bacteraemia. *Scand J Infect Dis* 38:1069-1073
152. Marsik C, Sunder-Plassmann R, Jilma B, Kovar FM, Mannhalter C, Wagner O, Rumpold H, Endler G (2006) The C-reactive protein (+)1444C/T alteration modulates the inflammation and coagulation response in human endotoxemia. *Clin Chem* 52:1952-1957
153. Hermans PW, Hazelzet JA (2005) Plasminogen activator inhibitor type 1 gene polymorphism and sepsis. *Clin Infect Dis* 41 Suppl 7:S453-458
154. Barber RC, Chang LY, Lemaire SM, Burris A, Purdue GF, Hunt JL, Arnoldo BD, Horton JW (2008) Epistatic interactions are critical to gene-association

- studies: PAI-1 and risk for mortality after burn injury. *J Burn Care Res* 29:168-175
155. Kremer Hovinga JA, Franco RF, Zago MA, Ten Cate H, Westendorp RG, Reitsma PH (2004) A functional single nucleotide polymorphism in the thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) gene associates with outcome of meningococcal disease. *J Thromb Haemost* 2:54-57
 156. Emonts M, de Bruijne EL, Guimaraes AH, Declerck PJ, Leebeek FW, de Maat MP, Rijken DC, Hazelzet JA, Gils A (2008) Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor is associated with severity and outcome of severe meningococcal infection in children. *J Thromb Haemost* 6:268-276
 157. Weiler H, Kerlin B, Lytle MC (2004) Factor V Leiden polymorphism modifies sepsis outcome: evidence from animal studies. *Crit Care Med* 32:S233-238
 158. Yan SB, Nelson DR (2004) Effect of factor V Leiden polymorphism in severe sepsis and on treatment with recombinant human activated protein C. *Crit Care Med* 32:S239-246
 159. Walley KR, Russell JA (2007) Protein C -1641 AA is associated with decreased survival and more organ dysfunction in severe sepsis. *Crit Care Med* 35:12-17
 160. Binder A, Endler G, Rieger S, Geishofer G, Resch B, Mannhalter C, Zenz W (2007) Protein C promoter polymorphisms associate with sepsis in children with systemic meningococemia. *Hum Genet* 122:183-190
 161. Rezaie AR (2001) Vitronectin functions as a cofactor for rapid inhibition of activated protein C by plasminogen activator inhibitor-1. Implications for the mechanism of profibrinolytic action of activated protein C. *J Biol Chem* 276:15567-15570
 162. Macfelda K, Weiss TW, Kaun C, Breuss JM, Zorn G, Oberndorfer U, Voegel-Kadletz M, Huber-Beckmann R, Ullrich R, Binder BR, Losert UM, Maurer G, Pacher R, Huber K, Wojta J (2002) Plasminogen activator inhibitor 1 expression is regulated by the inflammatory mediators interleukin-1alpha, tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta and oncostatin M in human cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 34:1681-1691
 163. Dawson SJ, Wiman B, Hamsten A, Green F, Humphries S, Henney AM (1993) The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the

- plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. *J Biol Chem* 268:10739-10745
164. Dekker RJ, Pannekoek H, Horrevoets AJ (2003) A steady-state competition model describes the modulating effects of thrombomodulin on thrombin inhibition by plasminogen activator inhibitor-1 in the absence and presence of vitronectin. *Eur J Biochem* 270:1942-1951
 165. Hoekstra T, Geleijnse JM, Schouten EG, Kluit C (2004) Plasminogen activator inhibitor-type 1: its plasma determinants and relation with cardiovascular risk. *Thromb Haemost* 91:861-872
 166. Levi M, Schultz MJ, Rijneveld AW, van der Poll T (2003) Bronchoalveolar coagulation and fibrinolysis in endotoxemia and pneumonia. *Crit Care Med* 31:S238-242
 167. Irigoyen JP, Munoz-Canoves P, Montero L, Koziczak M, Nagamine Y (1999) The plasminogen activator system: biology and regulation. *Cell Mol Life Sci* 56:104-132
 168. Yamamoto K, Takeshita K, Kojima T, Takamatsu J, Saito H (2005) Aging and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) regulation: implication in the pathogenesis of thrombotic disorders in the elderly. *Cardiovasc Res* 66:276-285
 169. Eriksson P, Kallin B, van 't Hooft FM, Bavenholm P, Hamsten A (1995) Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:1851-1855
 170. Vaisanen SB, Humphries SE, Luong LA, Penttila I, Bouchard C, Rauramaa R (1999) Regular exercise, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) activity and the 4G/5G promoter polymorphism in the PAI-1 gene. *Thromb Haemost* 82:1117-1120
 171. Song Y, Lynch SV, Flanagan J, Zhuo H, Tom W, Dotson RH, Baek MS, Rubio-Mills A, Singh G, Kipnis E, Glidden D, Brown R, Garcia O, Wiener-Kronish JP (2007) Increased plasminogen activator inhibitor-1 concentrations in bronchoalveolar lavage fluids are associated with increased mortality in a cohort of patients with *Pseudomonas aeruginosa*. *Anesthesiology* 106:252-261

172. Ware LB, Matthay MA, Parsons PE, Thompson BT, Januzzi JL, Eisner MD (2007) Pathogenetic and prognostic significance of altered coagulation and fibrinolysis in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 35:1821-1828
173. Levi M, Ten Cate H (1999) Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med* 341:586-592
174. Dhainaut JF, Shorr AF, Macias WL, Kollef MJ, Levi M, Reinhart K, Nelson DR (2005) Dynamic evolution of coagulopathy in the first day of severe sepsis: relationship with mortality and organ failure. *Crit Care Med* 33:341-348
175. Klinger KW, Winqvist R, Riccio A, Andreasen PA, Sartorio R, Nielsen LS, Stuart N, Stanislovitis P, Watkins P, Douglas R, Grzeschik KH, Alitalo K, Blasi F, Dano K (1987) Plasminogen activator inhibitor type 1 gene is located at region q21.3-q22 of chromosome 7 and genetically linked with cystic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84:8548-8552
176. Dawson S, Hamsten A, Wiman B, Henney A, Humphries S (1991) Genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus is associated with altered levels of plasma plasminogen activator inhibitor-1 activity. *Arterioscler Thromb* 11:183-190
177. Burzotta F, Di Castelnuovo A, Amore C, D'Orazio A, Di Bitondo R, Donati MB, Iacoviello L (1998) 4G/5G promoter PAI-1 gene polymorphism is associated with plasmatic PAI-1 activity in Italians: a model of gene-environment interaction. *Thromb Haemost* 79:354-358
178. Ye S, Green FR, Scarabin PY, Nicaud V, Bara L, Dawson SJ, Humphries SE, Evans A, Luc G, Cambou JP (1995) The 4G/5G genetic polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene is associated with differences in plasma PAI-1 activity but not with risk of myocardial infarction in the ECTIM study. *Etude CasTemoins de l'infarctus du Myocarde. Thromb Haemost* 74:837-841
179. Balta G, Altay C, Gurgey A (2002) PAI-1 gene 4G/5G genotype: A risk factor for thrombosis in vessels of internal organs. *Am J Hematol* 71:89-93
180. Boekholdt SM, Bijsterveld NR, Moons AH, Levi M, Buller HR, Peters RJ (2001) Genetic variation in coagulation and fibrinolytic proteins and their

- relation with acute myocardial infarction: a systematic review. *Circulation* 104:3063-3068
181. Sapru A, Hansen H, Ajayi T, Brown R, Garcia O, Zhuo H, Wiemels J, Matthay MA, Wiener-Kronish J (2009) 4G/5G polymorphism of plasminogen activator inhibitor-1 gene is associated with mortality in intensive care unit patients with severe pneumonia. *Anesthesiology* 110:1086-1091
 182. Westendorp RG, Hottenga JJ, Slagboom PE (1999) Variation in plasminogen-activator-inhibitor-1 gene and risk of meningococcal septic shock. *Lancet* 354:561-563
 183. Garcia-Segarra G, Espinosa G, Tassies D, Oriola J, Aibar J, Bove A, Castro P, Reverter JC, Nicolas JM (2007) Increased mortality in septic shock with the 4G/4G genotype of plasminogen activator inhibitor 1 in patients of white descent. *Intensive Care Med* 33:1354-1362
 184. Haralambous E, Hibberd ML, Hermans PW, Ninis N, Nadel S, Levin M (2003) Role of functional plasminogen-activator-inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism in susceptibility, severity, and outcome of meningococcal disease in Caucasian children. *Crit Care Med* 31:2788-2793
 185. Kathiresan S, Gabriel SB, Yang Q, Lochner AL, Larson MG, Levy D, Tofler GH, Hirschhorn JN, O'Donnell CJ (2005) Comprehensive survey of common genetic variation at the plasminogen activator inhibitor-1 locus and relations to circulating plasminogen activator inhibitor-1 levels. *Circulation* 112:1728-1735
 186. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, Gea-Banacloche J, Keh D, Marshall JC, Parker MM, Ramsay G, Zimmerman JL, Vincent JL, Levy MM (2004) Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 32:858-873
 187. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G (2003) 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 31:1250-1256
 188. Taylor FB, Jr., Toh CH, Hoots WK, Wada H, Levi M (2001) Towards definition, clinical and laboratory criteria, and a scoring system for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost* 86:1327-1330

189. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16:1215
190. Seidemann K, Zimmermann M, Book M, Meyer U, Burkhardt B, Welte K, Reiter A, Stanulla M (2005) Tumor necrosis factor and lymphotoxin alfa genetic polymorphisms and outcome in pediatric patients with non-Hodgkin's lymphoma: results from Berlin-Frankfurt-Munster Trial NHL-BFM 95. *J Clin Oncol* 23:8414-8421
191. Vargas-Alarcon G, Londono JD, Hernandez-Pacheco G, Gamboa R, Castillo E, Pacheco-Tena C, Cardiel MH, Granados J, Burgos-Vargas R (2002) Heat shock protein 70 gene polymorphisms in Mexican patients with spondyloarthropathies. *Ann Rheum Dis* 61:48-51
192. Szilagyi A, Blasko B, Szilassy D, Fust G, Sasvari-Szekely M, Ronai Z (2006) Real-time PCR quantification of human complement C4A and C4B genes. *BMC Genet* 7:1
193. Toth EK, Kocsis J, Madaras B, Biro A, Pocsai Z, Fust G, Blasko B, Karadi I, Adany R, Laki J (2007) The 8.1 ancestral MHC haplotype is strongly associated with colorectal cancer risk. *Int J Cancer* 121:1744-1748
194. Kiszal P, Kovacs M, Szalai C, Yang Y, Pozsonyi E, Blasko B, Laki J, Prohaszka Z, Fazakas A, Panczel P, Hosszufalusi N, Rajczy K, Wu YL, Chung EK, Zhou B, Blanchong CA, Vatay A, Yu CY, Fust G (2007) Frequency of carriers of 8.1 ancestral haplotype and its fragments in two Caucasian populations. *Immunol Invest* 36:307-319
195. Hermans PW, Hibberd ML, Booy R, Daramola O, Hazelzet JA, de Groot R, Levin M (1999) 4G/5G promoter polymorphism in the plasminogen-activator-inhibitor-1 gene and outcome of meningococcal disease. *Meningococcal Research Group. Lancet* 354:556-560
196. Waterer GW, Quasney MW, Cantor RM, Wunderink RG (2001) Septic shock and respiratory failure in community-acquired pneumonia have different TNF polymorphism associations. *Am J Respir Crit Care Med* 163:1599-1604
197. Mira JP, Cariou A, Grall F, Delclaux C, Losser MR, Heshmati F, Cheval C, Monchi M, Teboul JL, Riche F, Leleu G, Arbibe L, Mignon A, Delpech M, Dhainaut JF (1999) Association of TNF2, a TNF-alpha promoter polymorphism,

- with septic shock susceptibility and mortality: a multicenter study. *Jama* 282:561-568
198. Majetschak M, Obertacke U, Schade FU, Bardenheuer M, Voggenreiter G, Bloemeke B, Heesen M (2002) Tumor necrosis factor gene polymorphisms, leukocyte function, and sepsis susceptibility in blunt trauma patients. *Clin Diagn Lab Immunol* 9:1205-1211
 199. Menges T, Konig IR, Hossain H, Little S, Tchatalbachev S, Thierer F, Hackstein H, Franjkovic I, Colaris T, Martens F, Weismuller K, Langefeld T, Stricker J, Hempelmann G, Vos PE, Ziegler A, Jacobs B, Chakraborty T, Bein G (2008) Sepsis syndrome and death in trauma patients are associated with variation in the gene encoding tumor necrosis factor. *Crit Care Med* 36:1456-1462, e1451-1456
 200. Pappachan JV, Coulson TG, Child NJ, Markham DJ, Nour SM, Pulletz MC, Rose-Zerilli MJ, de Courcey-Golder K, Barton SJ, Yang IA, Holloway JW (2009) Mortality in adult intensive care patients with severe systemic inflammatory response syndromes is strongly associated with the hypo-immune TNF -238A polymorphism. *Immunogenetics* 61:657-662
 201. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, Bartlett JG, Campbell GD, Dean NC, Dowell SF, File TM, Jr., Musher DM, Niederman MS, Torres A, Whitney CG (2007) Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 44 Suppl 2:S27-72
 202. Farr BM, Sloman AJ, Fisch MJ (1991) Predicting death in patients hospitalized for community-acquired pneumonia. *Ann Intern Med* 115:428-436
 203. Gutierrez F, Masia M, Rodriguez JC, Mirete C, Soldan B, Padilla S, Hernandez I, De Ory F, Royo G, Hidalgo AM (2005) Epidemiology of community-acquired pneumonia in adult patients at the dawn of the 21st century: a prospective study on the Mediterranean coast of Spain. *Clin Microbiol Infect* 11:788-800
 204. Falguera M, Martin M, Ruiz-Gonzalez A, Pifarre R, Garcia M (2005) Community-acquired pneumonia as the initial manifestation of serious underlying diseases. *Am J Med* 118:378-383

205. Fine MJ, Smith MA, Carson CA, Mutha SS, Sankey SS, Weissfeld LA, Kapoor WN (1996) Prognosis and outcomes of patients with community-acquired pneumonia. A meta-analysis. *Jama* 275:134-141
206. Davis SM, Clark EA, Nelson LT, Silver RM (2010) The association of innate immune response gene polymorphisms and puerperal group A streptococcal sepsis. *Am J Obstet Gynecol* 202:308 e301-308
207. Reid CL, Perrey C, Pravica V, Hutchinson IV, Campbell IT (2002) Genetic variation in proinflammatory and anti-inflammatory cytokine production in multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med* 30:2216-2221
208. Balding J, Healy CM, Livingstone WJ, White B, Mynett-Johnson L, Cafferkey M, Smith OP (2003) Genomic polymorphic profiles in an Irish population with meningococcaemia: is it possible to predict severity and outcome of disease? *Genes Immun* 4:533-540
209. Schaaf BM, Boehmke F, Esnaashari H, Seitzer U, Kothe H, Maass M, Zabel P, Dalhoff K (2003) Pneumococcal septic shock is associated with the interleukin-10-1082 gene promoter polymorphism. *Am J Respir Crit Care Med* 168:476-480
210. Gallagher PM, Lowe G, Fitzgerald T, Bella A, Greene CM, McElvaney NG, O'Neill SJ (2003) Association of IL-10 polymorphism with severity of illness in community acquired pneumonia. *Thorax* 58:154-156
211. Sipahi T, Pocan H, Akar N (2006) Effect of various genetic polymorphisms on the incidence and outcome of severe sepsis. *Clin Appl Thromb Hemost* 12:47-54
212. Garnacho-Montero J, Aldabo-Pallas T, Garnacho-Montero C, Cayuela A, Jimenez R, Barroso S, Ortiz-Leyba C (2006) Timing of adequate antibiotic therapy is a greater determinant of outcome than are TNF and IL-10 polymorphisms in patients with sepsis. *Crit Care* 10:R111
213. Stuber F, Petersen M, Bokelmann F, Schade U (1996) A genomic polymorphism within the tumor necrosis factor locus influences plasma tumor necrosis factor- α concentrations and outcome of patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 24:381-384
214. Fang XM, Schroder S, Hoefl A, Stuber F (1999) Comparison of two polymorphisms of the interleukin-1 gene family: interleukin-1 receptor

- antagonist polymorphism contributes to susceptibility to severe sepsis. *Crit Care Med* 27:1330-1334
215. Rauchschwalbe SK, Maseizik T, Mittelkotter U, Schluter B, Patzig C, Thiede A, Reith HB (2004) Effect of the LT-alpha (+250 G/A) polymorphism on markers of inflammation and clinical outcome in critically ill patients. *J Trauma* 56:815-822
 216. Menges T, Hermans PW, Little SG, Langefeld T, Boning O, Engel J, Sluijter M, de Groot R, Hempelmann G (2001) Plasminogen-activator-inhibitor-1 4G/5G promoter polymorphism and prognosis of severely injured patients. *Lancet* 357:1096-1097
 217. Geishofer G, Binder A, Muller M, Zohrer B, Resch B, Muller W, Faber J, Finn A, Endler G, Mannhalter C, Zenz W (2005) 4G/5G promoter polymorphism in the plasminogen-activator-inhibitor-1 gene in children with systemic meningococcaemia. *Eur J Pediatr* 164:486-490
 218. Wingeyer SP, de Larranaga G, Cunto E, Fontana L, Noguerras C, San Juan J (2010) Role of 4G/5G promoter polymorphism of Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) gene in outcome of sepsis. *Thromb Res* 125:367-369
 219. Tsantes AE, Tsangaris I, Bonovas S, Kopterides P, Rapti E, Dimopoulou I, Markatos C, Orfanos S, Armaganidis A, Travlou A (2010) The effect of four hemostatic gene polymorphisms on the outcome of septic critically ill patients. *Blood Coagul Fibrinolysis* 21:175-181
 220. Pralong G, Calandra T, Glauser MP, Schellekens J, Verhoef J, Bachmann F, Kruithof EK (1989) Plasminogen activator inhibitor 1: a new prognostic marker in septic shock. *Thromb Haemost* 61:459-462
 221. Brandtzaeg P, Joo GB, Brusletto B, Kierulf P (1990) Plasminogen activator inhibitor 1 and 2, alpha-2-antiplasmin, plasminogen, and endotoxin levels in systemic meningococcal disease. *Thromb Res* 57:271-278
 222. Raaphorst J, Johan Groeneveld AB, Bossink AW, Erik Hack C (2001) Early inhibition of activated fibrinolysis predicts microbial infection, shock and mortality in febrile medical patients. *Thromb Haemost* 86:543-549
 223. McCormack LJ, Semple JI, Stickland MH, Barrett JH, Grant PJ (1998) The effect of number of days in culture and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-

- 1) 4G/5G genotype on PAI-1 antigen release by cultured human umbilical vein endothelial cells. *Thromb Res* 92:199-206
224. Eriksson P, Nilsson L, Karpe F, Hamsten A (1998) Very-low-density lipoprotein response element in the promoter region of the human plasminogen activator inhibitor-1 gene implicated in the impaired fibrinolysis of hypertriglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18:20-26
225. Choi G, Schultz MJ, van Till JW, Bresser P, van der Zee JS, Boermeester MA, Levi M, van der Poll T (2004) Disturbed alveolar fibrin turnover during pneumonia is restricted to the site of infection. *Eur Respir J* 24:786-789
226. Gunther A, Mosavi P, Heinemann S, Ruppert C, Muth H, Markart P, Grimminger F, Walmrath D, Temmesfeld-Wollbruck B, Seeger W (2000) Alveolar fibrin formation caused by enhanced procoagulant and depressed fibrinolytic capacities in severe pneumonia. Comparison with the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 161:454-462
227. Determann RM, Millo JL, Garrard CS, Schultz MJ (2006) Bronchoalveolar levels of plasminogen activator inhibitor-1 and soluble tissue factor are sensitive and specific markers of pulmonary inflammation. *Intensive Care Med* 32:946-947

10. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

10.1. A dolgozat anyagát képező publikációk

Aladzsity I, Madách K, Szilágyi Á, Gál J, Péntes I, Prohászka Z, Fust G (2011) Analysis of the 8.1 ancestral MHC haplotype in severe, pneumonia-related sepsis. *Clin Immunol.* 139(3):282-9

Madách K, **Aladzsity I**, Szilágyi A, Fust G, Gál J, Péntes I, Prohászka Z (2010) 4G/5G polymorphism of *PAI-1* gene is associated with multiple organ dysfunction and septic shock in pneumonia induced severe sepsis: prospective, observational, genetic study. *Crit Care.* 14(2):R79

10.2. Egyéb közlemények

10.2.1. Nemzetközi folyóiratban megjelent publikációk

Aladzsity I, Tóth ML, Sigmond T, Szabó E, Bicsák B, Barna J, Regos A, Orosz L, Kovács AL, Vellai T (2007) Autophagy genes *unc-51* and *bec-1* are required for normal cell size in *Caenorhabditis elegans*.; *Genetics.* 177 (1): 655-60.

Aladzsity I, Kovács M, Semsei A, Falus A, Szilágyi A, Karádi I, Varga G, Füst G, Várkonyi J (2009) Comparative analysis of IL6 promoter and receptor polymorphisms in myelodysplasia and multiple myeloma. *Leuk Res.* 33 (11): 1570-3.

10.2.2. Könyvfejezetek

Kocsis J, Toth KE, Madaras B, Laki J, **Aladzsity I**, Szilágyi A, Prohászka Z, Fust G Colorectal Cancer: Risk, Diagnosis and Treatments. In: Juliane E. Jenkins (szerk.). Gene Variants and Gene Products Encoded in the Central Part of the MHC are Strongly Associated with Both the Risk and the Prognosis of Colorectal Cancer. Nova Science Publishers, Inc. New York 2010 978-1-61761-427-9

11. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőmnek, Dr. Prohászka Zoltánnak nem csak azért, mert a munkámat irányította és segítette, hanem, mert megelőlegezett bizalmával és egyáltalán lehetővé tette, hogy nekikezdjek.

Különösképpen köszönettel tartozom „supervisor”-omnak, Dr. Szilágyi Ágnesnek, aki kutató munkám során végig mellettem állt, inspiráló kérdésfeltevéseivel, ötleteivel hatékonyan vezette végig kutatásaimat.

Köszönetet szeretnék mondani továbbá Dr. Madách Krisztinának, aki elkezdte a pneumonia szepszissel kapcsolatos vizsgálatokat és számos klinikai adatot gyűjtött össze fáradtságos munkával.

Köszönettel tartozom még Dr. Füst György Professzor Úrnak, mert hasznos tanácsaival és értékes észrevételeivel segítette munkámat és mindig példát mutatott optimizmus, kitartás és szorgalom terén.

Köszönöm a labor valamennyi munkatársának, hogy munkám során mindig számíthattam baráti segítségükre és támogatásukra.

Végezetül szeretném hálásan megköszönni a háttérrel biztosító családomnak, különösképpen Szüleimnek a sok szeretetet, türelmet, támogatást és biztatást.