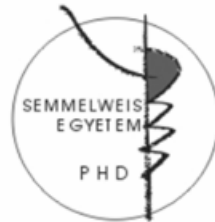


# **A pneumonia eredetű sepsis kimenetelét befolyásoló genetikai tényezők vizsgálata**

Doktori tézisek

Dr. Madách Krisztina

Semmelweis Egyetem  
Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető:

Dr. Prohászka Zoltán, az MTA doktora

Hivatalos bírálók:

Dr. Bogár Lajos egyetemi tanár, az MTA doktora

Dr. Zima Endre egyetemi adjunktus, PhD

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Darvas Katalin egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Strausz János egyetemi tanár, az MTA doktora

Dr. Rónai Zsolt egyetemi adjunktus, PhD

Budapest  
2011

## Bevezetés

Az orvosi technológiák fejlődése, az immunszuppresszív terápiák kiterjedt használata, a populáció öregedése következtében a sepsis gyakorisága rohamosan növekszik. A sepsis szupportív terápiájában és pathogenezisének kutatásában elért eredmények ellenére, a szindróma továbbra is a kritikus állapotú betegek vezető halál oka maradt, összesített mortalitása 30% körüli, septicus shockban és/vagy többszervi elégtelenségben szenvedő betegeknél a halálozás az 50%-ot is meghaladja. Látszólag hasonló súlyosságú fertőzésben szenvedő, azonos általános állapotú betegek túlélési aránya merőben eltérő lehet. A betegség manifesztációjának egyéni különbségeit a beteg genetikai predispozíciója alapvetően befolyásolja. A fertőzéssel szembeni fogékonyságot és a sepsis súlyosságát befolyásoló gyulladással válaszreakcióban részt vevő kromoszóma szakaszok egyedi nukleotid polimorfizmusai és haplotípusai magyarázattal szolgálhatnak a hasonló fertőzések során megfigyelt klinikai variabilitásra.

A szerin proteáz inhibitor családdhoz (serpine) tartozó plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1) a fibrinolízis gátlásának egyik kulcsfigurája. A PAI-1 elsődleges szerepe *in vivo* a szöveti- és urokináz-típusú plazminogén aktivátorok gyors gátlása. Az endothélium és a trombociták által termelt PAI-1 vitronectinhez kapcsolt állapotban található. A PAI-1-vitronectin komplex az aktivált protein C és thrombin leghatékonyabb gátlója. A PAI-1 a thrombomodulinnal verseng a thrombinhoz való kötődésért. Ennek megfelelően a PAI-1 igen erős helyi alvadást fokozó anyag, mely központi szerepet játszik a sepsis és trauma során kialakuló akut fázis válaszban. Plazmaszintjét genetikai, metabolikus, endokrin, táplálkozással- és a fizikai aktivitással összefüggő faktorok befolyásolják, szintje gyulladás vagy sérülés hatására jelentősen megemelkedik. Septicus betegeknél a PAI-1 szintje a rosszabb kimenetellel, a betegség súlyosabb lefolyásával, különböző citokinek, akut-fázis proteinek és koagulációs

paraméterek emelkedett szintjével mutatott pozitív összefüggést. A PAI-1-t kódoló gén számos polimorf lókusszal rendelkezik, ezek közül a legtöbbet a 4G/5G inszerciós/deléciós polimorfizmust (rs1799768) vizsgálták. Ez a polimorfizmus négy vagy öt (4G/5G) guanin bázist tartalmaz -675-nél a humán *PAI-1* (*SERPINE1*) gén promóter régiójában. Ezen SNP mindkét allélja transzkripciós aktivátorokat képes megkötni, azonban az 5G allél egy átfedő területen egy repressor proteint köt meg. Ennek okán a 4G allél homozigótákban ez a negatív regulátor működésképtelenné válik, ami a *PAI-1* gén nagyobb mértékű átíródását eredményezi, míg a heterozigóták köztes fenotípust mutatnak. A 4 G allél homozigóták esetében a PAI-1 transzkripciója és következésképp plazma szintje 25%-kal magasabb, mint az 5G allél homozigótákban. A 4G allél prothromboticus hatását számos klinikai körülmény között vizsgálták már, szignifikáns összefüggést mutatott a myocardialis infarctus mortalitásával. A 4G/5G polimorfizmus 4G allélja közösségben szerzett pneumoniával szembeni fokozott fogékonysággal, és súlyos pneumoniában szenvedő betegek magasabb mortalitásával volt kapcsolatba hozható. A 4G allél hordozása esetén fokozott rizikót írtak le meningococcus sepsis, valamint trauma súlyos szövődményei és magasabb mortalitása tekintetében.

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

(B8), HLA-Cw\*0701 és HLA-A\*0101 (A1) allélekkel jellemezhető.

Az AH8.1 számtalan immunpathológiai rendellenességgel, immun-mediált betegséggel és colorectalis carcinomával hozható összefüggésbe. Az AH8.1-gyel kapcsolatba hozható betegségek jelentős száma arra enged következtetni, hogy ez a haplotípus számos vonatkozásban befolyásolhatja az immunválaszt. Az AH8.1 hordozókban a vér lymphocytáinak fokozott spontán apoptosisát és a különböző autoantitestek megnövekedett termelését mutatták ki. A TNF- $\alpha$  fokozott spontán termelődése az AH8.1 egyik legjellemzőbb tulajdonsága. Az AH8.1 hordozókban leírt immunpathológiai változások a gazdaszervezet különböző mikroorganizmusokkal szembeni védekezésének hatékonyságát is befolyásolhatják.

## Céltűzés

Azt vizsgáltuk, hogy a sepsis kimenetelét mely genetikai tényezők befolyásolhatják pneumonia eredetű, súlyos sepsisben szenvedő, kaukázusi betegekben.

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

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

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

2. A felvételi DIC pontszám mutat-e összefüggést a *PAI-1* 4G/5G allél frekvenciájával?
3. A *PAI-1* 4G/5G polimorfizmus genotípus megoszlása és allél frekvenciája befolyásolja-e az intenzív osztályos mortalitást?

A humán fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) a gyulladáss-, fertőzéses folyamatokkal kapcsolatos rendellenességek tekintetében az egyik legfontosabb genetikai régió. Az itt található erősen konzervált blokkok kialakulását, fennmaradását és elterjedését feltehetően evolúciós folyamatok irányítják. A haplotípusok egy teljes gén (vagy gének) kódoló és nem-kódoló régióinak szekvenciáit is tartalmazzák, ennek megfelelően az SNP-kenél pontosabban tükrözik a biológiai funkció szempontjából egységet képező génszakaszt. A kaukázusi populációban az egyik ilyen legelterjedtebb (~ 10%) haplotípus az AH8.1. Az AH8.1 a sepsis lezajlásával kapcsolatban eddig vizsgált kandidáns gének közül többet is tartalmaz. Ennek megfelelően az AH8.1 hordozó állapotnak a pneumonia eredetű sepsis súlyosságára és mortalitására kifejtett hatása került elemzésre.

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

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

Amikor a sepsis egyéni, eltérő lezajlását befolyásoló SNP-k hatásait tanulmányozzuk, figyelembe kell venni, hogy klinikai tényezők, mint a fertőzés eredete, a patogén virulenciája, a sebészeti góctalanítás elmaradása, a tünetek megjelenésétől a kórházi felvételig és megfelelő kezelésig eltelt idő, kísérő betegségek jelenléte, az etnikai eredet és nemi megoszlásbeli különbségek zavarhatják az eredmények megfelelő

értelmezését. Ezen zavaró – a korábbi tanulmányokban gyakran figyelmen kívül hagyott - tényezők minimalizálásával, egy relatív homogén kohorszban, kaukázusi, pneumonia eredetű, súlyos sepsisben szenvedő betegekben történtek a vizsgálatok.

## **Módszerek**

### *A betegek és meghatározások*

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

A betegek kezelése a Surviving Sepsis Campaign súlyos sepsis és septicus shock kezelését leíró irányelveinek megfelelően történt. A betegek a valószínűsíthető pathogén várható érzékenységének megfelelő empirikus széles spektrumú antibiotikum terápiában részesültek. Pozitív tenyésztési eredmények birtokában a kórokozó érzékenységének megfelelő célzott, lehetőség szerint deescalatio antibiotikum terápia történt. A betegek utánkötése az intenzív osztály elhagyásáig, illetve halálukig történt.

Pneumonia diagnózisa köhögés vagy láz fennállása esetén, a mellkasröntgenen megjelent új infiltrátum alapján történt. Minden beteg megfelelt a British Thoracic Society által definiált súlyos pneumonia kritériumoknak. Súlyos sepsisnek a 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS Nemzetközi Sepsis Definíciók Konferencia alapján a fertőzés következtében kialakult akut szervi diszfunkciót, és septicus shocknak az adekvát folyadékterápia ellenére hypotóniával járó súlyos sepsist tekintettük. A definíció szerint MODS-ról akkor beszélünk, amennyiben „akut betegség esetén kialakult szervfunkció változás észlelhető, melynek következtében a homeostasis nem tartható fenn beavatkozás nélkül”. Klinikai értelemben MODS-nak tekintettük a kritikus betegség kapcsán két vagy több szervrendszerben egymást követően vagy egyidejűleg kialakult szignifikáns funkciózavart. A disszeminált intravaszkuláris koaguláció (DIC) pontszámot a Nemzetközi Thrombosis és Haemostasis Társaság meghatározása alapján a betegek felvételekor számoltuk. A krónikus obstruktív tüdőbetegségben (COPD) szenvedő betegek azonosítása az American Thoracic Society (ATS) és az European Thoracic Society (ETS) 2004-ben pontosított kritériumainak megfelelően történt.

#### *Az anyagok és a módszerek*

A genomikus DNS-t Miller és munkatársai által leírt módszer alapján fehérvérsejtekből nyertük ki.

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

Az AH8.1 haplotípus vizsgálata során a *HSP70-2* 1267A>G (rs1061581), *AGER* -429T>C (rs1800625) és *LTA* 252A>G (rs909253) polimorfizmus meghatározás polimeráz lánreakció-restriktós fragmentum hossz polimorfizmus (PCR-RFLP) és a *TNF* -308G>A SNP (rs1800629) genotipizálás TaqMan® próba (Applied Biosystems) alapú

allél diszkriminációval történt. Negatív (nincs DNS) és pozitív (ismert genotípusú minta) kontrolokat használtunk minden mérés során. Az eredményeket a minták körülbelül 10%-ában random re-genotipizálással ellenőriztük. A *C4A* és *C4B* gének kópia számait Szilagyi és munkatársai módszere szerint határoztuk meg. Azokat a személyeket, akik a *C4A* gén kevesebb, mint két kópiáját hordozták *C4A\*Q0* hordozóknak tekintettük. A *C4A\*Q0*, *TNF* -308A, *AGER* -429C, *HSP70-2* 1267G és *LTA* 252G allélek szimultán hordozása esetén feltételeztük az AH8.1 hordozó állapotot, melyet HLA meghatározással igazoltunk. Azon betegeket tekintettük AH8.1 hordozóknak, akik legalább egy HLA-B8, HLA-DR3 és HLA-DQ2 alléllal rendelkeztek. A HLA-B szerológiai tipizálása standard microlymphocytotoxicitási módszerrel történt (Innotrain Diagnostik GmbH, Kronberg, Germany). A HLA-DQB1 és HLA-DRB1 alléleket HLA-DQB1 és HLA-DRB1 kettek segítségével (Olerup SSP TM DQ kit, Olerup SSP AB, Saltsjöbaden, Sweden), szekvencia specifikus primer (SSP-) PCR módszer használatával mutattuk ki.

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



USA) készítettük a chi-négyzet teszthez. Az AH8.1 vizsgálatban a pneumonia tüneteinek megjelenési időpontjától, a halálozás vagy az utánkövetés utolsó időpontjáig a túlélés becslésére Kaplan-Meier analízist végeztünk. Log-rank tesztet használtunk a túlélési arányok összehasonlításához.

## Eredmények

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

#### *A genotípus eloszlás*

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

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

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

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

(OR = 1,601; 95% CI = 1,077-2,381;  $p = 0,019$ ) csoportokban szignifikánsan eltért a nem-MODS és a súlyos sepsis csoportokétól. A túlélő és nem-túlélő betegek genotípus megoszlásának összehasonlításakor a 4G/4G és 4G/5G genotípusok tendenciózusan ( $p = 0,085$ ) gyakrabban fordultak elő a nem-túlélőkben, és bár nem szignifikáns mértékben, de hasonló tapasztalhattunk a 4G allél gyakoriságát tekintve is.

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

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

#### *A végpontokkal kapcsolatos tényezők többváltozós elemzése*

A többváltozós regressziós analízis alapján a MODS és a sepsis súlyossága tekintetében három faktor független prediktornak bizonyult: az életkor, a nosocomialis pneumonia gyakorisága és a pozitív mikrobiológiai tenyésztés. Ennek megfelelően, mindhárom paramétert beépítettük a MODS és a sepsis súlyosság logisztikus regressziós modelljeibe. Az adjusztált modell alapján a *PAI-1* 4G/5G és 4G/4G genotípusok független asszociációt mutattak MODS (4G/4G és 4G/5G OR = 2,957; 95% CI = 1,306-6,698;  $p = 0,009$ )és

septicus shock (4G/4G és 4G/5G OR = 2,603; 95% CI = 1,137-5,959;  $p = 0,024$ ) kialakulásával.

A kiindulási változók és az ITO mortalitás közötti lehetséges összefüggést többváltozós regressziós analízissel vizsgáltuk. A multikolinearitás miatt, az ITO mortalitás tekintetében csak az APACHE II pontszám bizonyult független prediktornak. Ennek megfelelően, csak ezt az egy paramétert építettük be a statisztikai modellbe. Adjustálást követően, a 4G/4G és 4G/5G genotípusok hordozóinál tendenciózusan magasabb volt a halálozás rizikója. Ezt az eredményt az APACHE II pontszámra adjustált Cox regressziós analízis is megerősítette (4G/4G és 4G/5G OR = 1,866; 95% CI = 0,897-3,882;  $p = 0,095$ ).

### **A 8.1 ősi haplotípus pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának vizsgálata**

*Az AGER -429T>C, C4A\*Q0, HSP70-2 1267A>G, TNF -308G>A, LTA 252A>G polimorfizmusok és a 8.1 haplotípus gyakorisága*

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

### *A sepsis súlyossága*

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

Mivel egy fennálló pulmonális betegség, a genetikai faktorok hatásával interferálva, szignifikáns mértékben módosíthatja a sepsis súlyosságát, és betegeink 37,2%-a (n=77) krónikus obstruktív tüdőbetegségben (COPD) szenvedett, a betegeket COPD alapján is csoportosítottuk. Az alcsoport analízis indokoltságát támasztották alá azon adatok is, melyek szerint a COPD-s csoportban a megelőző két évben szignifikánsan magasabb volt a pulmonológiai eredetű hospitalizációk száma ( $p < 0,001$ ), továbbá szintén szignifikánsan nagyobb volt az APACHE II pontszám ( $p = 0,044$ ), a hipertónia ( $p = 0,001$ ) és a dohányzás ( $p < 0,001$ ) gyakorisága, valamint tendenciózusan magasabb volt az ischemiás szívbetegség incidenciája ( $p = 0,056$ ). A nem COPD-s betegek között a 8.1 haplotípust hordozóknál kisebb volt a septicus shock kialakulásának rizikója, mint a nem hordozókban (OR = 0,3383; 95%CI = 0,1141-0,995;  $p = 0,043$ ). A COPD-s betegcsoportban az AH8.1 incidenciája a sepsis súlyosságával nem mutatott összefüggést.

A sepsis súlyosságának logisztikus modelljében a COPD, mint pulmonális kísérőbetegség, az APACHE II pontszám és az akut respirációs distressz szindróma (ARDS) kialakulása bizonyultak független prediktoroknak a teljes betegcsoport tekintetében. Mivel a PAI-1 4G/5G polimorfizmus (rs1799768) 4G alléljának hordozása a septicus shock prediktora volt, ez a tulajdonság is beépítésre került a regressziós modellekbe. Egyik vizsgált polimorfizmus sem bizonyult a septicus shock független prediktorának a teljes betegcsoport logisztikus modelljében. Ugyanakkor, a haplotípus analízis során, adjusztálást követően, septicus

shock kialakulásának alacsonyabb rizikója igazolódott az AH8.1 haplotípus hordozói között (OR = 0,315; 95%CI = 0,100–0,992;  $p = 0,048$ ). Mi több, ez az adjusztált hatás a nem COPD-s betegekben még sokkal erősebb volt (OR = 0,117; 95%CI = 0,025–0,554;  $p = 0,007$ ). A COPD-s betegek csoportjában a logisztikus modellek nem igazolták az AH8.1 protektív szerepét a septicus shock tekintetében.

#### *A sepsis mortalitása*

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

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

## Következtetések

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

A sepsis progressziójának, a többszervi elégtelenség kialakulásának, illetve a halálozásnak háttérben a fibrin termelés és bontás közötti egyensúly kisiklása feltételezhető, ezért a *PAI-1* gén 4G/5G polimorfizmusának hatását vizsgáltuk pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságát, illetve kimenetelét illetően.

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

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

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

Ez a megfigyelés alátámasztja azon korábbi tanulmányok eredményeit, melyek szerint az alvadási rendszer aktivációja és a fibrinolízis gátlása fontos szerepet játszik a sepsis pathogenezisében, és azt a nézetet, hogy egyes genetikai

faktorok rosszabb kimenetelre hajlamosítanak súlyos sepsis esetén. Ezen genetikai faktorok azonosítása a jövőben segíthet a különböző rizikónak kitett betegek megfelelő terápiájának megválasztásában.

Másik vizsgálatunk célja - a gyulladáshoz és fertőzéses folyamatokkal kapcsolatos rendellenességek tekintetében az egyik legfontosabb genetikai régió, az MHC területén található, erősen konzervált, a kaukázusi populációban igen elterjedt - 8.1 ősi haplotípus hordozó állapot pneumonia eredetű sepsis lezajlásának súlyosságára és mortalitására kifejtett hatásának tanulmányozása volt.

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

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

Az AH8.1 tehát védelmet nyújthat a bakteriális infekciók progressziójával szemben. Ez magyarázhatja – legalábbis részben – jellegzetes elterjedtségét a kaukázusi populációban.

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

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

## **Saját publikációk jegyzéke**

Összesített impakt faktor: IF: 15,728

## **A disszertációhoz kapcsolódó közlemények**

### **Külföldi folyóiratban megjelent tudományos közlemények**

1. Madách K, Aladzsity I, Szilágyi A, Fust G, Gál J, Péntes I, Prohászka Z. (2010) 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene is associated with multiple organ dysfunction and septic shock in pneumonia induced severe sepsis: prospective, observational, genetic study. Crit Care, 14(2):R79. IF: 4,931

2. Aladzsity I, Madách K, Szilágyi Á, Gál J, Péntes I, Prohászka Z, Fust G. (2011) Analysis of the 8.1 ancestral MHC haplotype in severe, pneumonia-related sepsis. Clin Immunol, 139(3):282-289. IF: 3,863

### **Tankönyvfejezet**

1. Iványi Zs, Péntes I, Madách K. A sepsis és a sokszervi elégtelenség. In: Péntes I, Lencz L (szerk.), Az aneszteziológia és intenzív terápia tankönyve. Egyetemi tankönyv. Alliter Kiadói és Oktatásfejlesztő Alapítvány, Budapest, 2003: 478-515.

### **Külföldi tankönyvben megjelent fejezet**

1. Madách K. Genetics in the clinical practice. From bench-to bedside: genetics in the intensive care. In: Copotoiu SM, Azamfirei L (szerk.), Actualitati in anestezie si terapie intensive. University Press, Tirgu-Mures, 2011: 213-225.



## **A disszertációtól független közlemények**

### **Hazai folyóiratban megjelent tudományos közlemények**

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

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

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

### **Nemzetközi folyóiratban megjelent tudományos közlemények**

1. Molvarec A, Tamási L, Losonczy G, Madách K, Prohászka Z, Rigó J Jr. (2010) Circulating heat shock protein 70 (HSPA1A) in normal and pathological pregnancies. Cell Stress Chaperones, 15(3):237-247. IF:2,167

2. Kristóf K, Madách K, Czaller I, Bajtay Zs, Erdei A. (2009) Mathematical analysis of clinical data reveals a homunculus of bacterial mimotopes protecting from autoimmunity via oral tolerance in human. Mol Immunol, 46: 1673-167. IF:3,202

3. Madách K, Molvarec A, Rigó J Jr, Nagy B, Péntes I, Karádi I, Prohászka Z. (2008) Elevated serum 70kDa heat shock protein level reflects tissue damage and disease severity in the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 139(2):133-8. IF: 1,565

### **Hazai folyóiratban idegen nyelven megjelent tudományos közlemény**

1. Iványi Zs, Valkó L, Hauser B, Kristóf K, Hargitai Z, Lorx A, Madách K, Gál J. (2010) Experiences of the Department of Anesthesiology and Intensive Therapy of Semmelweis University during the 2009 pandemic H1N1 (pH1N1)

influenza outbreak. *Interventional Medicine and Applied Science*, 2 (2): 59-65.

### **Tankönyvfejezetek**

1. Diószeghy Cs, Péntes I, Madách K. Szív és keringés. In Péntes I, Lencz L (szerk.), *Az aneszteziológia és intenzív terápia tankönyve*. Egyetemi tankönyv. Alliter Kiadói és Oktatásfejlesztő Alapítvány, Budapest, 2003: 256-344.

2. Madách K, Lorx A, Péntes I. A neminvaszív lélegeztetés. In Péntes I, Lorx A (szerk.), *A lélegeztetés elmélete és gyakorlata*. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest, 2004: 351-392.

3. Péntes I, Madách K, Hermann Cs. Tüdőembólia. In Péntes I, Lorx A (szerk.), *A lélegeztetés elmélete és gyakorlata*. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest, 2004: 553-569.

4. Madách K, Gál J. Shock. In Tulassay Zs (szerk.), *A belgyógyászat alapjai I-II*. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest, 2010: 1822-1838.

5. Gál J, Madách K. A daganatos betegségek sürgősségi ellátása. In: Tulassay Zs, Matolcsy A (szerk.), *Az onkológiai tankönyve*. Semmelweis Kiadó és Multimédia Stúdió, Budapest 2011: 205-215.