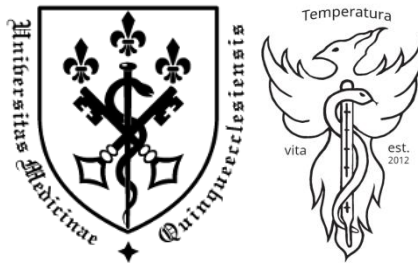


Makrofág migrációt gátló faktor mint diagnosztikus és prediktív biomarker szepszisben

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Dr. Toldi János



Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Reproduktív Endokrinológia Program

Doktori Iskola vezető: Prof. Dr. Bogár Lajos

Programvezető: Prof. Dr. Bódis József

Témavezetők: Dr. Garami András, Dr. Márton Sándor

Pécsi Tudományegyetem Orvostudományi Kar és Klinikai Központ

Transzlációs Medicina Intézet Termofiziológia Tanszék

Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézet

PÉCS, 2024

Tartalomjegyzék

Rövidítések listája	3
Bevezető	4
1.1 A szepszis és annak globális terhei	4
1.2 Makrofág migrációt gátló faktor (MIF)	5
Célkitűzések	6
2.1 A MIF szeptikus embereken betöltött biomarker szerepéről rendelkezésre álló irodalmi adatok elemzése	6
2.2 Prospektív megfigyeléses, klinikai vizsgálat lefolytatása szeptikus betegeken	7
Anyagok és módszerek	7
3. Első rész: korábban publikált humán adatok metaanalízise	7
3.1 Keresési stratégia	7
3.2 Tanulmányok kiválasztása, adatok kinyerése és minőség értékelése	7
3.3 Statisztikai analízis	7
4. Második megközelítés: prospektív, obszervációs klinikai vizsgálat	8
4.1 Betegek	8
4.2 Beválogatási és kizárási kritériumok	8
4.3 Adatgyűjtés	8
4.4 A MIF koncentráció mérése	9
4.5 Statisztikai analízis	9
Eredmények	9
5. Első rész: publikált humán adatok metaanalízise	9
5.1 A tanulmány jellemzői	9
5.2 A vér MIF szintjének diagnosztikai értéke szepszisben	10
5.3 A vér MIF szintjének prognosztikai értéke szepszisben	10
6. Második megközelítés: prospektív, obszervációs klinikai vizsgálat	11
6.1 Betegek felvétele és jellemzői	11
6.2 A MIF szintje a szérumban és a vizeletben szeptikus betegeknél az intenzív osztályra való felvétel után	12
6.3 A szérumban MIF szint kinetikája a szepszist túlélőknél és nem túlélőknél az intenzív osztályra való felvétel után	13
6.4 A vizelet MIF-szintjének kinetikája a szepszist túlélőknél és nem túlélőknél intenzív osztályra történő felvételét követően	13
6.5 A vesediszfunkció hatása a vizelet MIF-szintjének kinetikájára szeptikus betegnél az intenzív osztályra való felvétel után	14
Megbeszélés	14
Következtetések	18
Függelék	19
Hivatkozások	21
Köszönetnyilvánítás	25

Rövidítések listája

ANOVA	variancia-analízis
APACHE	akut fiziológiai és krónikus állapotfelmérési pontszám
ARDS	akut respiratórikus distressz szindróma
AUC	ROC-görbe alatti terület AUC
CENTRAL	Cochrane Central Register of Controlled Trials
CI	konfidencia intervallum
COVID-19	2019-es Koronavírus betegség
DAMP	károsodással összefüggő molekuláris mintázat
DIC	disszeminált intravaszkuláris koaguláció
ELISA	enzimhez kötött immunszorbens esszé
ICU	intenzív terápiás osztály
IQR	interkvartilis tartomány
MIF	makrofág migrációt gátló faktor
NA	nem alkalmazható
NR	nem jelentett
PAMP	kórokozóval összefüggő molekuláris minta
PICO	betegek, indikátor, összehasonlítás, eredmény
PRISMA	Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis
RIFLE	a veseelégtelenség kockázatát jelző betűszó
ROC	vevő működési karakterisztikája
SAPS	egyszerűsített akut fiziológiai pontszám
SD	standard deviáció
SE	standard hiba
SIRS	szisztémás gyulladáshoz válasz szindróma
SMD	standardizált átlagos eltérés
SOFA	szekvenciális (szepszissel kapcsolatos) szervi elégtelenség értékelési pontszám

Bevezető

1.1 A szepszis és annak globális terhei

A szepszis, a szisztémás gyulladás egy formája, életveszélyes szervi diszfunkció, amelyet a gazdaszervezet fertőző noxákra adott válaszában diszregulációja okoz (Singer et al. 2016). A szepszis vezető okai közé tartoznak a bakteriális fertőzések, de okozhatják vírusfertőzések, például COVID-19 vagy influenza, gombás fertőzések vagy nem fertőző behatások, például traumás sérülések is. Normális esetben a szervezet kémiai vagy fehérje immunmediátorokat bocsát ki a vérbe a fertőzés vagy az inzultus leküzdésére (Garami et al. 2018). Ideális esetben ez a szisztémás gyulladásos válasz, amely gyakran lázzal jár, sikeresen eltávolítja a behatoló kórokozót a gazdaszervezetből, ami gyógyuláshoz vezet. Ha azonban a gazdaszervezet korábbi vagy egyidejűleg fennálló társbetegségek miatt legyengült, vagy ha a maga a fertőzés túl súlyos, akkor a gazdaszervezet hipotermiával járó adaptív (betegségtűrő) stratégiája sem mindig elegendő, és a kimenetel halálos lehet (Garami et al. 2018; Rumbus & Garami 2018). Klinikai környezetben a szepszis és a szepsztikus sokk orvosi vészhelyzetnek számítanak. A szepszis okozta szöveti hipoperfúzió akut szervi diszfunkcióként definiálható, és a véralvadás jelentős változásaival, valamint immunszuppresszióval jár.

A szepszis klinikai meghatározását illetően, 1991-ben egy konszenzuskonferencia (Bone et al. 1992) meghatározta a kezdeti definíciókat, amelyek arra a nézetre összpontosítottak, hogy a szepszis a gazdaszervezet fertőzésre adott szisztémás gyulladásos válaszreakciójának (SIRS) következménye. Ha a szepszis szervi diszfunkcióval szövődött, súlyos szepszisnek nevezték. A szepsztikus sokkot "szepszis által kiváltott, a megfelelő folyadékpótlás ellenére is fennmaradó hipotenzio"-ként definiálták. 2001-ben egy munkacsoport felismerte e definíciók korlátait, és kibővítette a diagnosztikai kritériumok listáját, de az alátámasztó bizonyítékok hiánya miatt nem ajánlott alternatívákat (Levy et al. 2003). Valójában a szepszis, a szepsztikus sokk és a szervi diszfunkció definíciói több mint két évtizede nagyrészt változatlanok maradtak. A legutóbbi konszenzus (Sepsis-3) a szepszis és a szepsztikus sokk definícióival kapcsolatban egy 2 évig tartó folyamat volt, amely több összetevőből állt (Singer et al. 2016). E folyamat kritikus erőfeszítései közé tartozott a szepszis fogalmának megvitatása, a klinikusokat a szepszis kialakulásának kockázatára figyelmeztető kritériumok meghatározása, valamint a szepsztikus sokk azonosítására szolgáló kritériumok kidolgozása (Sartelli et al. 2018). A Sepsis-3 definíciói szerint azoknál a betegeknek rosszabb a szepszis kimenetele, akiknél a következő három klinikai változó közül legalább kettő fennáll (úgynevezett gyors SOFA): (1) alacsony vérnyomás (≤ 100 Hgmm szisztémás vérnyomás), (2) magas légzésszám (≥ 22 légzés/perc), vagy (3) megváltozott mentális állapot (Glasgow kómaskála < 15) (Sartelli et al. 2018).

A szepszis és a hozzá kapcsolódó betegségek még napjainkban is jelentős terhet jelentenek a betegek és az egészségügyi szolgáltatók számára, amit a kórházban kezelt szepszises esetek magas előfordulási gyakorisága is jelez minden régióban (189/100000 személyév) egy 2020-as tanulmány szerint (Rudd et al. 2020). Világszerte a becslések szerint évente több mint 100 millió embert érint a szepszis, és napjainkban ez az egyik fő halálozási ok, amely globális egészségügyi és pénzügyi terhet jelent a társadalom számára. A „Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors Study” 109 millió nyilvántartásból származó halálozási okokra vonatkozó adatok közelmúltbeli elemzése szerint közel 49 millió esetre lehetett becsülni a szepszis előfordulását világszerte, és 11 millió szepszissel összefüggő halálesetet jelentettek (Rudd et al. 2020). Egy, az Egyesült Államokban található 6 kórházból származó kohorszban a kórházi kezelések több mint felében volt jelen a szepszis, és a halálozási okok között a legmagasabb arányt (kb. egyharmadot) tette ki (Rhee et al. 2019). Bár az elmúlt évtizedben volt némi bizonyíték arra, hogy a szepsztikus betegek halálozási aránya csökkenő tendenciát mutat, egy nemrégiben készült szisztematikus áttekintésben a szepszisben vagy szepsztikus sokkban szenvedő betegek körében nem volt megfigyelhető a halálozás folyamatos csökkenése (Bauer et al. 2020). Ezek az adatok indokolják a szepszis jobb kezelésének szükségességét,

amelyet jobb diagnosztikai és prognosztikai lehetőségekkel lehetne elősegíteni. Annak ellenére, hogy megbízható biomarker molekulákra szepszisben égető szükség van, az új jelöltek további validálást igényelnek, mielőtt beépülhetnének a klinikai gyakorlatba, ahogyan azt a Sepsis-3 konszenzus is kimondta (Singer et al. 2016).

A szepszis terhe az intenzív osztályon (ICU) még tovább fokozódik. Egy tanulmányban a szeptikus betegek becsült halálozási aránya 26,7% volt, ami tovább emelkedett 41,9%-ra, ha a betegeket az ICU-n kezelték (Rudd et al. 2020). Egy másik tanulmány arra a következtetésre jutott, hogy a szepszis becsült terhe világszerte kétszerese a korábban feltételezettnek (Rhee et al. 2019). Tovább növeli a terheket, hogy a szepszis nagyobb rehospitalizációs rátával és magasabb egészségügyi költségekkel is társult a megfelelő kórházi kontrollokhoz képest (Bauer et al. 2020). A korai diagnózis és súlyossági fok felmérés csökkenthetné a szepszis okozta terheket, ami megbízható biomarker molekulák felfedezésével érhető el. Ilyeneket számos kutatócsoport folyamatosan keres és vizsgál. 2010-ben egy elektronikus keresés során 178 szepszissel kapcsolatos biomarkert azonosítottak, de egyiket sem találták alkalmasnak a klinikai gyakorlatban történő rutinszerű alkalmazásra (Pierrakos & Vincent 2010). Ugyanezen csoport újabb áttekintése szerint (Pierrakos et al. 2020) a szepszis potenciális biomarkereinek listája egyre bővül, és 2020-ban már több mint 250 jelöltet tartalmazott, de közülük csak néhányat értékelték nagy betegpopulációban vagy ismételt vizsgálatokban, ami még mindig korlátozza klinikai használhatóságukat.

1.2 Makrofág migrációt gátló faktor (MIF)

A MIF a veleszületett immunrendszer mediátor molekulája (Garai et al. 2017), amely számos gyulladásos folyamatban és gyulladással összefüggő rendellenességben szerepet játszik, például autoimmun betegségekben (Grieb et al. 2010; Flaster et al. 2007), elhízásban (Grieb et al. 2010; Morrison & Kleemann 2015) és a daganatos betegségekben (Grieb et al. 2010; Bucala & Donnelly 2007). A MIF, mint proinflammatorikus citokin, az akut szisztémás gyulladás különböző formáiban gyorsan felszabadul és a véráramba kerül (Calandra & Roger 2003; Garai et al. 2017). Meg kell jegyezni, hogy az akut szisztémás gyulladás okai sokfélék lehetnek, beleértve a fertőző kórokozókat (pl. szepszis, szeptikus sokk), valamint a stressz, autoimmun reakció, trauma, műtét, égés stb. következtében kialakuló nem fertőzőes betegségeket. A MIF emelkedett szintjéről a vérben mind fertőzőes, mind fertőzéstől független etiológiájú akut szisztémás gyulladással járó megbetegedésekben beszámoltak (Grieb et al. 2010), azonban mindeddig nem volt világos, hogy az emelkedés mértéke hasonló vagy eltérő a két formában, vagyis a MIF használható-e diagnosztikai markerként szepszisben. A rendelkezésre álló irodalmi adatok ellentmondásosak voltak. Egy vizsgálatban a MIF szintek hasonló emelkedését figyelték meg szeptikus és nem szeptikus (például műtét okozta) szisztémás gyulladásban szenvedő betegeknél az egészséges kontrollokhoz képest (Lehmann et al. 2001), ami arra utal, hogy a MIF súlyos betegségek biomarkereként szolgálhat anélkül, hogy képes lenne különbséget tenni a fertőzőes és nem fertőzőes okok között. Más vizsgálatokban azonban a MIF szintje szepszisben jelentősen magasabb volt, mint a szisztémás gyulladás más formáiban szenvedő betegeknél (Beishuizen et al. 2001; Brenner et al. 2010; Meawed et al. 2015), ami arra utal, hogy a MIF a szepszis diagnosztikus biomarkereként használható. Meg kell jegyezni, hogy a jelenlegi klinikai gyakorlat szerint a MIF nem sorolható a gyulladásos folyamatok nyomon követésére szolgáló leggyakoribb biomarkerek közé. Az intenzív ellátásban sokkal gyakoribb a fehérvérsejtszám, a fibrinogén, a C-reaktív fehérje, a prokalcitonin és az interleukin-6 szintjének monitorozása, közülük a prokalcitoninba fektetett bizalom különösen erős és bizonyított (Papp et al. 2023). A MIF diagnosztikai használhatósága mellett prognosztikai értéke is ellentmondásos maradt. Magas MIF szérumszintet találtak szeptikus betegeknél, és még magasabb MIF szintet szeptikus sokkban szenvedő betegeknél, de a különbség statisztikailag nem volt szignifikáns ($p = 0,3$) (Calandra et al. 2000).

Hasonlóképpen, nem szignifikánsan magasabb MIF szinteket találtak a tüdőszövődeményekkel járó szeptikus betegeknek, mint a szövődmény nélküli alanyoknál (Beishuizen et al. 2001). Ezzel szemben nem találtak szignifikáns összefüggést a szérumban MIF szintek és a szepszis súlyossága vagy a mortalitás között (Gao et al. 2007). Továbbá, a keringő MIF szintek nem különböztek a szepszist túlélők és a nem túlélők között egy vizsgálatban (Lehmann et al. 2008), de az elhunytak szignifikánsan magasabb MIF szintet mutattak a túlélőkhöz képest egy másik tanulmányban (Beishuizen et al. 2001).

Doktori tanulmányaim során egy olyan biomarker molekulát kerestünk szepszisben, amelynek van múltja, de a jövője nem világos, és a kutatók nem járták körbe a vele kapcsolatos lehetőségeket. Mint fentebb kifejtettük, a MIF optimális jelöltnek bizonyult. A MIF lehetséges diagnosztikai és prognosztikai biomarker értékének alapos vizsgálatához szepszisben kettős megközelítést alkalmaztunk. Először is metaanalízist végeztünk jelenlegi ismereteink összegzése és elemzése érdekében. A metaanalízissel a kórházi felvételt követően mért MIF vérszint diagnosztikus és prognosztikus biomarker értékét kívántuk vizsgálni irodalmi adatok alapján. Ennek érdekében elemeztük diagnosztikai értékét szeptikus és egészséges, valamint szeptikus és nem fertőzőes szisztémás gyulladással betegek elkülönítésében. A MIF prognosztikai értékét is megvizsgáltuk, összehasonlítva vérszintjét a szepszis kevésbé súlyos és súlyosabb formái, valamint a betegséget túlélők és nem túlélők között. Második megközelítésként egy prospektív, megfigyeléses klinikai vizsgálatot végeztünk, hogy választ találjunk olyan kérdésekre, amelyeket az irodalmi adatok metaanalízisével nem lehetett értékelni. Különösen a szérumban és vizeletben MIF szintek kinetikáját kívántuk tisztázni az intenzív osztályra való felvétel első napjaiban, és azt akartuk megvizsgálni, hogy a kinetika hasonló vagy eltérő a szepszist túlélők és abban elhunytak között.

Általánosságban elmondható, hogy a MIF egy proinflammatorikus citokin, amelyet a T-limfociták termelnek (de endokrin faktor is), és az endotélsejtekben, eozinofilekben és makrofágokban is expresszálódik. A tumor nekrozis faktoralal együtt elősegíti a gyulladással választ. A MIF nemcsak a makrofágok vándorlását gátolja (ahogy a neve mutatja), hanem fokozhatja a makrofágok felszíni adhézióját és fagocitózist is. Emberben a MIF 114 aminosavból áll, molekulatömege 12,5 kDa. Kimutatták, hogy expressziója rákos megbetegedésekben, gyulladással és autoimmun rendellenességekben fokozódik. Jelen van a tüdő gyulladással folyamataiban is, például asztma, akut respiratórikus distressz szindróma (ARDS), tuberkulózis és Wegener-granulomatózis esetén. Emellett magasabb MIF szintet találtak más, főként gyulladással összefüggő betegségekben is, például glomerulonephritisben, colitis ulcerosában és Chron-betegségben, dermatitisben, psoriasisban, szisztémás szklerózisban, 2-es típusú diabetes mellitusban, pancreatitisben, sclerosis multiplexben, atherosclerosisban, lupus erythematosusban és endometriosisban.

Célkitűzések

Kutatásaim átfogó célja az volt, hogy értékeljük a MIF klinikai jelentőségét szeptikus humán betegekben, ezáltal felmérjük biomarker értékét a szepszis diagnózisának segítésére és a betegség kimenetelének előrejelzésére. Bár a MIF-et mint biomarkert többször vizsgálták szepszisben, a korábbi klinikai vizsgálatok ellentmondással eredményekhez vezettek.

Átfogó célunk elérése érdekében konkrét célkitűzéseink a következők voltak:

2.1 A MIF szeptikus emberekben betöltött biomarker szerepéről rendelkezésre álló irodalmi adatok elemzése (Toldi et al. 2021) annak felmérésére, hogy a vér MIF szintje különbözik-e az következő csoportok között:

- a) szeptikus betegek illetve egészséges kontrollok;
- b) szeptikus betegek és nem fertőzőes szisztémás gyulladással szenvedő betegek;
- c) a szepszis súlyosabb és kevésbé súlyos formáiban szenvedő betegek;

d) szepszist túlélők és nem túlélők.

Utóbbi célkitűzés részeként ROC (receiver operating characteristic) elemzést is végeztünk, hogy értékeljük a vér MIF szintjének diagnosztikus megbízhatóságát szepszisben.

2.2 Prospektív klinikai vizsgálat (Toldi et al. 2023) az intenzív osztályra felvett szeptikus betegek körében, hogy elemezzük:

a) a szérum és a vizelet MIF szintjének kinetikáját;

b) a szepszist túlélőkre és nem túlélőkre jellemző kinetikát;

c) a szérum és vizelet MIF kinetikája közti esetleges különbséget nemek tekintetében;

d) a veseműködési zavarok hatását a vizelet MIF kinetikájára.

Anyag és módszertan

3. Első rész: korábban publikált humán adatok metaanalízise

Metaanalízisünket (Toldi et al. 2021) a PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis) iránymutatásai szerint végeztük (Moher et al. 2009). Kérdésünket PICO [Patients, Indicator, Comparison, Outcome] formátumban alakítottuk ki: felnőtt szeptikus betegeknél a MIF biomarker szerepének felmérésére törekedtünk a betegség diagnózisában és prognózisában. Metaanalízisünket a PROSPERO-ban regisztráltuk (CRD42020139137).

3.1 Keresés stratégiája

A CENTRAL (Cochrane Central Register of Controlled Trials), Embase és PubMed adatbázisokban kerestünk eredeti humán tanulmányokat a kezdetektől 2019. decemberéig a következő keresőkifejezéssel: ("macrophage migration inhibitory factor" OR MIF) AND (sepsis OR septic). A szepsziszről szóló korábbi metaanalízisünkhöz hasonlóan (Rumbus et al. 2017) immunszuppresszív állapotokat (pl. szervátültetés, humán immundeficienciavírusfertőzés) nem vettük be az elemzésbe. A keresést két szerző (Toldi János és Garami András) külön-külön végezte, akik egymástól függetlenül értékelték a tanulmányok alkalmasságát, és összegyűjtötték a kiválasztott tanulmányok adatait. Esetleges nézeteltéréseket konszenzussal, harmadik fél segítségével oldottuk fel.

3.2 Tanulmányok kiválasztása, adatok kinyerése és minőség értékelése

Az irodalomkutatás során azonosított publikációk címét és absztraktját átnéztük, majd megszereztük a potenciálisan alkalmas cikkek teljes szövegét. Olyan tanulmányokat vontunk be, amelyek a vér MIF szintjéről két vagy több különböző betegcsoportban számoltak be, és legalább az egyik csoport szeptikus betegekből állt. A prognosztikai érték elemzéséhez szükséges volt a betegség súlyosságának vagy a kimenetelnek (pl. halálozási arány) feltüntetése is. Az összes bevont cikk esetén kinyertük a származási országot, a betegpopulációk jellemzőit (mintanagyság, nemek aránya, életkor, súlyossági pontszám, mortalitás), valamint a betegcsoportok vérében jelentett MIF értékeket. Ha szükséges volt, a kinyert értékeket átváltottuk átlag és szórás (SD) értékekre az elemzéshez. A vizsgálaton belüli különböző betegcsoportokat (pl. túlélők és nem túlélők, szeptikus és nem szeptikus szisztémás gyulladás) külön-külön kezeltük. A metaanalízisbe bevont minden egyes tanulmány minőségét a Newcastle-Ottawa-skála (Wells et al. 2000) segítségével értékeltük.

3.3 Statisztikai elemzés

Minden egyes bevont tanulmány esetében kiszámítottuk a szeptikus betegcsoport és egy másik szeptikus betegcsoport vagy kontrollcsoport vér MIF szintje közötti különbséget. A betegcsoportok esetében az átlagokat standardizáltuk (a szórások alapján), hogy standardizált

átlagos különbségeket (SMD) kapjunk. Ehhez az átlagokat elosztottuk a megfelelő SD-vel, amire azért volt szükség, mert a MIF mérésére használt különböző módszerek eltérő szórásokat eredményezhettek a vizsgálati csoportok között, és így befolyásolhatták az eredményeket. A DerSimonian és Laird (DerSimonian & Laird 1986) „random-effect”modellt használtuk az SMD és 95%-os konfidenciaintervallumok (CI) kiszámításához, amelyeket aztán a szokásos metaanalízis eszközökkel (azaz „forest plot”) hasonlítottunk össze.

A vizsgálatok közötti heterogenitást az I-négyzet (I^2) statisztikai teszttel vizsgáltuk, ahol az 50%-nál nagyobb I^2 értéket jelentős heterogenitásra utaló jelnek tekintettük, ahogyan azt a Cochrane Handbook for Systematic Reviews (Higgins & Green 2011) javasolja. A publikációs torzítást a tölcsérdiagramok (funnel plot) vizuális ellenőrzésével határoztuk meg az aszimmetria vizsgálatával, és kvantitatív módon az Egger-teszttel ($p < 0,1$ publikációs torzításra utal). Szenzitivitás elemzést is végeztünk (azaz egy-egy tanulmányt egymás után kiiktattunk az elemzésből, majd újraszámoltuk az SMD-t, hogy megvizsgáljuk az adott tanulmány hatását a végeredményre). A metaanalízisek elvégzéséhez a Comprehensive Meta-Analysis (3.3. verzió; Biostat, Englewood, MJ, USA) szoftvert használtuk.

Metaanalízisünk részeként ROC-görbét (receiver operating characteristic curve) készítettünk a vér MIF szint diagnosztikus megbízhatóságának értékelésére szepszisben. Ehhez a szeptikus betegek és az egészséges kontrollok egyéni vér MIF szint adataiból a WebPlotDigitizer alkalmazással kinyertük az arra alkalmas cikkekből (Leaver et al. 2010; Merk et al. 2011; Wiersinga et al. 2010) a betegek egyedi adatait. Kiszámítottuk a ROC-görbe alatti területet (AUC) a vér MIF szint mérés, mint szepszis diagnosztikai teszt pontosságának értékelésére. A 0,5 (nincs diagnosztikai képesség) és 1,0 (tökéletes diagnosztikai képesség) közötti tartományban magasabb AUC a teszt jobb teljesítményét jelzi. A ROC-görbe elemzést az IBM SPSS Statistics for Windows 26-os verziójával (IBM, Armonk, NY, USA) végeztük.

4. Második rész: prospektív, megfigyeléses klinikai vizsgálat

4.1 Betegek

2012. január és 2015. május között 51 szeptikus beteget vontunk be prospektív, megfigyeléses vizsgálatunkba az ICU-n (Pécsi Tudományegyetem Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Tanszék). Vizsgálati protokollunkat a Pécsi Tudományegyetem Regionális Kutatási Etikai Bizottsága hagyta jóvá (regisztrációs szám: 2406/2005), és a vizsgálatot a 2008-as Helsinkai Nyilatkozatban foglalt etikai normáknak megfelelően végeztük. A vizsgálati eljárás részletes ismertetését követően a vizsgálatban résztvevők mindegyikétől írásbeli beleegyező nyilatkozatot kaptunk.

4.2 Beválogatási és kizárási feltételek

A szepszist a betegek felvételének időpontjában a az „International Sepsis Definitions Conference” legaktuálisabb kritériumai szerint határoztuk meg (Levy et al. 2003). A vizsgálatba olyan szeptikus beteget vontunk be, akiknél az ICU-ra való felvételkor a szérum prokalcitonin szintje emelkedett volt. Kizártuk azokat a betegeket, akik 18 év alattiak vagy 85 év felettiak voltak, vagy akik megtagadták a vizsgálatban való részvételt. A MIF szintek mérését leszámítva a diagnosztikai és kezelési eljárások a szepszisre vonatkozó irányelveknek megfelelően történtek a betegeknél.

4.3 Adatgyűjtés

Demográfiai adatokat (életkor és nem) gyűjtöttünk az összes felvett betegről. A mortalitást az ICU-ra való felvételtől számított 90 napig követtük nyomon. A következő laboratóriumi paramétereket mértük az ICU-ra való felvételtől számított 0., 2. és 4. napon: vérsejtszám, valamint a C-reaktív fehérje, kreatinin, laktát, prokalcitonin és karbamid szintje. Ugyanezeket a napokon meghatároztuk a kreatinin és az összfehérje vizeletkoncentrációját is. Az ICU-ra

való felvételtkor kiszámítottuk az APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) pontszámot (Knaus et al. 1985), a SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) pontszámot (Jones et al. 2003) és az SAPS II (Simplified Acute Physiology Score) pontszámot (Le Gall et al. 1993). A vesefunkciós zavart a szérumban kreatininszintjének a kiindulási értékhez képest több mint 50%-os emelkedéseként határoztuk meg, ami összhangban volt a RIFLE (Risk of renal dysfunction; Injury to the kidney; Failure of kidney function, Loss of kidney function, and End-stage kidney disease) kritériumokkal (Bellomo et al. 2004).

4.4 A MIF koncentráció mérése

A MIF szintek méréséhez vizelet- és vénás vérmintákat gyűjtöttünk az ICU-ra való felvételtől számított 0., 2. és 4. napon. A vért Vacutainer szérumszövetekbe gyűjtöttük, amelyekben szilikonbevonat volt alvadégyorsítóként (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA). A csöveket legalább 60 percig szobahőmérsékleten tartottuk a véralvadás érdekében. A szérumban 1300 g-vel 10 percig szobahőmérsékleten végzett centrifugálás után gyűjtöttük össze, és -70°C-on tároltuk az elemzésig. A MIF szintjét a vizeletben és a szérumban standard enzimhez kötött immunszorbens esszé (ELISA) készletekkel (katalógusszám: DY289; R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) mértük a gyártó ajánlásainak megfelelően, ahogyan egy korábbi tanulmányban (Marton et al. 2011). Mintánként két mérést végeztünk. A lemezeket 450 nm-en olvastuk le iEMS MF mikrofotométerrel (Thermo Labsystem, Beverly, MA, USA). A veseműködési zavarok vizsgálatakor a vizelet MIF szintjét a vizelet kreatininszintjéhez viszonyított arányaként is kiszámítottuk korábbi tanulmányok alapján (Hong et al. 2012; Otukesh et al. 2009). A MIF szint mérések időpontja és a követési időszak osztályunk aktuális iránymutatásain és a metaanalízisünkben kapott adatokon alapult.

4.5 Statisztikai elemzés

Az összegyűjtött adatok statisztikai elemzéséhez az R szoftvert használtuk (3.6.1 verzió; R Development Core Team, Bécs, Ausztria). A túlélők és nem túlélők közötti szignifikáns különbségeket a vizelet és szérumban MIF szintekben Mann-Whitney-tesztel vizsgáltuk. Az alsó csoportok elemzése során ismételt mérés ANOVA-t végeztünk, független változóként az időt és vagy a nemet vagy az életkort, függő változóként pedig a szérumban MIF vagy a vizelet MIF értékét használtuk. A MIF kinetikájának különböző mintázatát mutató csoportokban gyakorisági táblázatokat készítettünk a halálra vonatkozóan, majd a halálozások számát Fisher-tesztel hasonlítottuk össze a csoportok között. Az adatokat átlag \pm standard hiba (SE) formátumban közöljük, hacsak másképp nem jelöljük. Az adatok normális vagy nem normális eloszlásától függően ismételt mérés ANOVA-t, illetve Mann-Whitney-tesztet alkalmaztunk. A jobb vizuális összehasonlítás érdekében azonban a legtöbb ábrán dobozdiagramokat használtunk.

Eredmények

Első rész: publikált humán adatok metaanalízise

5.1 A vizsgálat jellemzői

Irodalomkeresésünk összesen 621 cikket azonosított a CENTRAL, Embase és PubMed adatbázisokból, amelyek 2019. decemberéig jelentek meg. Az online humán szűrés alkalmazása, és duplikátumok eltávolítása után, összesen 315 cikk maradt, amelyeket cím és absztrakt alapján ellenőriztünk. Ezt követően 45 cikk teljes tartalmát szereztük be, és ezek közül kiválasztottunk 21 olyan cikket, amelyek alkalmasak voltak az elemzéseinkhez (Ameen et al. 2016; Beishuizen et al. 2001; Bozza et al. 2004; Brenner et al. 2010; Calandra et al. 2000; Chuang et al. 2007; Chuang et al. 2014; de Mendonca-Filho et al. 2005; Emonts et al. 2007;

Gando et al. 2007; Gao et al. 2007; Kofoed et al. 2006; Leaver et al. 2010; Lehmann et al. 2001; Lehmann et al. 2008; Meawed et al. 2015; Merk et al. 2011; Miyauchi et al. 2009; Payen et al. 2012; Pohl et al. 2017; Wiersinga et al. 2010). Az elemzett tanulmányok 1876 alanyra terjedtek ki, köztük 1206 szeptikus betegre, 134 nem fertőzőes szisztémás gyulladásban szenvedő betegre és 536 egészséges kontrollra (azaz ismert szisztémás gyulladással nem rendelkező alanyra).

5.2 A vér MIF szintjének diagnosztikus értéke szepszisben

Amikor a vér MIF szintjének különbségét vizsgáltuk szeptikus betegek és egészséges kontrollok között, 14 tanulmányt vontunk be, amelyek 579 szeptikus beteg és 536 egészséges résztvevő adatait tartalmazzák. A tanulmányok relatív súlya hasonló, 5-8% volt.

A MIF proinflammatorikus citokin funkciójával összhangban (Calandra & Roger 2003), szepszisben a MIF szintje a vérben magasabb volt, mint egészséges körülmények között, a szeptikus és egészséges csoportok közötti SMD értékek 0,23 és 3,51 között mozogtak. Összességében a szeptikus betegcsoportokban a vér MIF szintje szignifikánsan magasabb volt, mint az egészséges kontrolloké, az SMD értéke 1,47 (95% CI: 0,96-1,97) volt. A bevont tanulmányokban a szerzők különböző módszereket alkalmaztak a vér MIF szintjének meghatározására, ami magyarázatot adhat arra, hogy az értékek még az egészséges kontrollok esetében is nagymértékben eltérőek voltak. Az alkalmazott módszerek részletes leírása és összehasonlítása meghaladná jelen munka kereteit, és azt is meg kell jegyezni, hogy egy ilyen lista valószínűleg nem lenne teljes, mivel a szerzők nem minden esetben adtak részletes leírást az alkalmazott módszerekről. Mindenesetre, eredményeink megerősítik, hogy a MIF szepszisben emelkedett a kontrollokhoz képest. Ezután szerettük volna látni a diagnosztikus megbízhatóságát ROC-görbe elemzés alapján. Három olyan tanulmányt találtunk, amely közölte a betegek egyéni MIF szintjének vérbeli értékeit (Leaver et al. 2010; Merk et al. 2011; Wiersinga et al. 2010). Ezekből 101 szeptikus beteg és 141 egészséges kontroll adatait tudtuk kinyerni. Ezen adatok ROC-görbe-elemzésével 0,850-es AUC értéket kaptunk, ami azt mutatja, hogy a vér MIF szintjének mérése jó érzékenységet és specificitást mutat a szepszis diagnózisában. Ezután - a MIF diagnosztikai értékének értékelésében talán legérdekesebb megközelítésként - megvizsgáltuk, hogy a vér MIF szintjének emelkedése különbözik-e a szepszis és a nem szeptikus etiológiájú szisztémás gyulladás között. Metaanalízisünkbe hat tanulmányt vontunk be, amelyek 257 szeptikus és 134 nem szeptikus szisztémás gyulladásban szenvedő beteg adatait közölték. Az utóbbi csoportban a szisztémás gyulladás oka vagy műtét (Lehmann et al. 2001; Brenner et al. 2010; Lehmann et al. 2008) vagy többszörös traumás sérülés (Beishuizen et al. 2001), vagy szepszishez nem kapcsolódó láz (Meawed et al. 2015), vagy kritikus állapot (Pohl et al. 2017) volt. A tanulmányok relatív súlya 11 és 20% között mozgott. A vér MIF szintje minden egyes elemzett vizsgálatban magasabb volt a szeptikus betegeknél, mint nem szeptikus szisztémás gyulladásban. Fontos, hogy az összesített SMD 0,94 (95% CI: 0,51-1,38) volt, ami szignifikánsan különbözött a két csoport között. Sajnos nem tudtunk elegendő egyéni betegadatot gyűjteni az irodalomból vagy a szerzőktől, amely lehetővé tette volna, hogy ebben az esetben is ROC-görbeelemzést végezzünk a MIF diagnosztikus teljesítményére (azaz szenzitivitására és specificitására) vonatkozóan.

5.3 A vér MIF szintjének prognosztikai értéke szepszisben

Eddig a vér MIF szintjének a szepszis diagnózisában való felhasználhatóságát vizsgáltuk. Mindazonáltal arra is kíváncsiak voltunk, hogy a megnövekedett vér MIF szintek előre jelzik-e a betegség klinikai progresszióját. E kérdés megválaszolásához kétféle megközelítéshez találtunk alkalmas adatokat: (1) a szepszis kevésbé súlyos és súlyosabb formájával rendelkező betegcsoportok összehasonlításával különböző paraméterek (pl. szervi diszfunkció hiánya vagy jelenléte) alapján ugyanazon vizsgálaton belül; és (2) a túlélő és nem túlélő szeptikus

betegcsoportok összehasonlításával ugyanazon vizsgálaton belül. Tizenegy bevont vizsgálatban a vér MIF szintjeit leírták a szepszis különböző súlyossági csoportjaiban. A betegség súlyosabb és kevésbé súlyos csoportokba sorolása a következő állapotok valamelyikének jelenléte alapján történt: súlyos szepszis (Meawed et al. 2015), szepszis sokk (Calandra et al. 2000; Bozza et al. 2004), DIC (Gando et al. 2007), szervi károsodás (tüdő-, vese- vagy mellékvese-működési zavar) (Beishuizen et al. 2001; Gao et al. 2007; Miyauch et al. 2009; Payen et al. 2012), korai halálozás (Emonts et al. 2007; Chuang et al. 2014) vagy pozitív hemokultúra (de Mendonca-Filho et al. 2005). Amint az várható volt, a legtöbb esetben a klinikai súlyossági pontszámok magasabbak voltak a súlyosabb betegségben szenvedő betegcsoportokban. Összesen 347 beteget soroltunk a súlyosabb és 274 beteget a kevésbé súlyos szepszis csoportba. A vizsgálatok relatív súlya hasonló volt, 7 és 11% között mozgott. Az elemzés azt mutatta, hogy a vér MIF szintje szignifikánsan magasabb volt a szepszis súlyosabb formáiban, mint kevésbé súlyos formákban, az SMD értéke 0,84 (95% CI: 0,45-1,24) volt.

A MIF szepszisben való prognosztikai használhatóságának vizsgálatára irányuló második megközelítésünkben a vér MIF szintjét összehasonlítottuk a szepszist túlélők és abban elhunytak között. Ehhez 11 tanulmányt találtunk, amelyekben 447 túlélő és 257 elhunyt szepszis beteg szerepelt. A korábbiakhoz hasonlóan ezeknek a tanulmányoknak is hasonló relatív súlyuk volt, 7 és 11% között. Az SMD-t úgy számoltuk ki, hogy a szepszist túlélők átlagos MIF vérszintjét kivontuk a szepszisben elhunytak vérszintjéből. Így a pozitív eredmény a meghalt betegek magasabb MIF szintjét jelezte, míg a negatív értékek a túlélők magasabb szintjét jelezte volna, de az SMD egyik elemzett tanulmányban sem volt negatív. Az összegzett különbség tekintetében azt találtuk, hogy az SMD szignifikánsan magasabb volt nullánál (0,75, 95% CI: 0,40-1,11), ami azt mutatta, hogy a vér MIF szintje jelentősen magasabb elhunytaknál, mint a szepszist túlélőknél.

6. Második rész: prospektív, obszervációs klinikai vizsgálat

Az első részben, fentiekben bemutatott metaanalízisünk eredményei egyértelműen azt mutatták, hogy a MIF vérszintje a kórházi felvétel napján értékes biomarkerként használható a szepszis diagnózisában és a betegség súlyosságának előrejelzésében. Nem találtunk azonban elegendő alkalmas adatot ahhoz, hogy megválasszunk a prognosztikai biomarker értékével kapcsolatos további fontos kérdéseket, úgymint: 1) milyen a vér MIF kinetikája az ICU-ra való felvétel után? 2) a vizelet MIF kinetikája hasonló-e a vérhez? 3) különbözik-e a kinetika a szepszist túlélők és nem túlélők között? 4) vannak-e nemek közti különbségek a kinetikában?. Hogy választ kapjunk ezekre a kérdésekre, egy prospektív, megfigyeléses vizsgálatot végeztünk a MIF ismételt mérésével a szérumban és a vizeletben az ICU-ra való felvételtől számított 0., 2. és 4. napon a Pécsi Tudományegyetemen.

6.1 A betegek beválogatása és jellemzői

A vizsgálati időszak alatt 59 beteget találtunk bevonhatónak a vizsgálatba a kritériumok szerint, de csak 51 beteget tudtunk bevonni, mert 8 beteg visszautasította a vizsgálatban való részvételt, további egy beteget pedig ki kellett zárni, mert nem volt elérhető a 90 napos utánkövetés végén. Összességében 50 beteg adatait vontuk be a végső elemzésbe. Ebben a populációban a halálozási arány 58% volt, ami megfelel az irodalomban nemrégiben közölt adatokkal (Bauer et al. 2020). A betegek nem és életkor szerinti megoszlása hasonló volt a két csoportban, ahogyan a RIFLE-kritériumok (Bellomo et al. 2004) alapján értékelt veseelégtelenséggel járó esetek száma is. A SAPS II és SOFA pontszámok kivételével, amelyek a nem túlélőknél általában magasabbak voltak, mint a túlélőknél ($p = 0,15$, illetve $0,16$), ahogyan az várható volt, nem észleltünk érdemi különbséget a túlélő és elhunyt csoportok között. Mint már említettük, a MIF szint méréseinek időpontja és a követési időszak hossza aneszteziológiai és

intenzív terápiás osztályunk aktuális iránymutatásain és a metaanalízisünkben kapott adatokon alapult.

6.2 A MIF szintje a szérumban és a vizeletben szeptikus betegeknél az intenzív osztályra való felvétel után

Először is megvizsgáltuk a szérum és vizelet MIF szintjének mediánját az összes szeptikus betegnél az intenzív osztályra való felvétel utáni 0., 2. és 4. napon. Azt találtuk, hogy a MIF szintek magasabbak voltak a szérumban, mint a vizeletben: a szérumban 2500, 2255 és 3209 pg/ml, míg a vizeletben 965, 1013 és 845 pg/ml volt a medián a 0., 2. és 4. napon. Korábbi tanulmányok alapján (Hong et al. 2012; Otukesh et al. 2009), a vizelet MIF szintjét a vizelet kreatininjére normalizáltuk, ami érdemben befolyásolta a megfigyelt kinetikát. A mediánok statisztikailag nem különböztek az egyes napok között sem a szérum-, sem a vizeletmintákban, annak ellenére, hogy a szérum MIF 28%-os növekedést mutatott a 0. naptól a 4. napra.

Azt is megvizsgáltuk, hogy az összes betegnél megfigyelt szérum és vizelet MIF kinetika hasonló marad-e, ha a betegeket nem, életkor és túlélés alapján alcsoportokra osztjuk. Nem tudtunk statisztikai különbséget kimutatni a férfiak és a nők között a szérum és vizelet MIF szintek tekintetében. A kinetikát illetően a szérum és vizelet MIF szintek nem változtak jelentősen az idő múlásával egyik nemnél sem. Meg kell azonban jegyezni, hogy a vizelet MIF szintje mindegyik napon valamivel magasabbnak tűnt a nőknél, mint a férfiaknál, de a különbség nem érte el a szignifikancia szintjét. A vizelet MIF szintjének a vizelet kreatininre való normalizálása egyik nemnél sem befolyásolta érdemben a megfigyelt kinetikát.

Amikor a betegeket fiatalabb (65 évesnél fiatalabb) és idősebb (65 éves vagy idősebb) csoportokra osztották, a szérum MIF szintek az idősebb betegcsoportban 2000, 2368 és 3263 pg/ml voltak a 0., 2. és 4. napon. A fiatalabb betegcsoportban a mediánok az adott napokon 2969, 2142 és 2732 pg/ml voltak. A korcsoportok között egyik napon sem volt szignifikáns különbség. A vizelet MIF szintje az időseknél nem különbözött jelentősen a napok között, míg a fiatalabb betegcsoportban a 0. naptól a 2. napig növekedés volt tapasztalható, amely elérte az 1722 pg/ml mediánt, ami szignifikánsan különbözött az idősebb korcsoporttól. A vizelet MIF/kreatinin aránya egyik napon sem különbözött szignifikánsan a fiatalabb és az idősebb betegek között, és az idő múlásával sem változott jelentősen egyik korcsoportban sem. Mivel az arány nem különbözött szignifikánsan ($p = 0,385$) a fiatalabb és az idősebb betegek között a 2. napon, ezek az eredmények azt jelzik, hogy a vizelet MIF korcsoportok közötti különbsége a 2. napon valószínűleg az általános vesefunkciók különbségének volt köszönhető, és nem kifejezetten a MIF kiválasztás különbségének.

Végül, a túlélők és a nem túlélők között a szérum MIF szintjének mediánja nem különbözött statisztikailag a 0. és a 2. napon, azonban a 4. napon szignifikánsan ($p = 0,039$) magasabb volt az elhunyt betegeknél, mint a túlélőknél 3348 és 2430 pg/ml medián értékkel. Ezek az eredmények azt sugallták, hogy a szérum MIF kinetikája a 0. naptól a 4. napig eltér a szepszist túlélők és nem túlélők között. A vizelet MIF tekintetében a mediánok nem változtak érdemben az idő múlásával egyik alcsoportban sem. A vizelet MIF szintje azonban mindegyik napon alacsonyabb volt az elhunyt betegeknél, mint a túlélőknél, és ez a különbség a 0. napon (638 vs. 1355 pg/ml; $p = 0,046$) és a 4. napon (672 vs. 1005 pg/ml; $p = 0,032$) szignifikáns volt. A vizelet MIF szintjének vizelet kreatininre való normalizálása egyik alcsoportban sem befolyásolta érdemben a megfigyelt kinetikát. Fontos, hogy a vizelet MIF-hez hasonlóan, a MIF/kreatinin arányban is kimutatható volt a szignifikáns különbség a nem túlélők és a túlélők között a 0. napon (0,24 vs 0,50 pg/ μ mol; $p = 0,022$) és a 4. napon (0,24 vs 0,80 pg/ μ mol; $p = 0,003$). Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a vizelet MIF szintjének a túlélők és a nem túlélők között megfigyelt különbségeit feltehetően a vese MIF kiválasztására specifikus különbségek okozták, és nem az általános vesefunkciókban mutatkozó különbségek.

6.3 A szérumban MIF szint kinetikája a szepszist túlélőknél és nem túlélőknél az intenzív osztályra való felvétel után

Ezután elemeztük, hogyan változott a szérumban MIF szintje az első és az utolsó méréstől az egyes bevont betegeknel, majd összehasonlítottuk a kinetikát a szepszist túlélők és nem túlélők között. Csak azokat a betegeket vettük be, akiknél az ICU-n való tartózkodásuk alatt legalább két szérumban MIF szint értéket mértünk különböző napokon (N = 48). Két beteget ki kellett zárni, mert a második vérvétel előtt meghaltak. A 27 elhunyt beteg közül 15-nél (~56%) emelkedett a szérumban MIF szint, míg a többi betegnel nem változott (N = 7) vagy csökkent (N = 5). Az elhunyt betegek dominánsan növekvő mintázatával ellentétben a túlélőknél a fő (~62%-os) tendencia a szérumban MIF szint csökkenése volt (N = 13), míg a 21-ből csak 8 betegnel emelkedett.

Korábbi tanulmányok a MIF és az ösztrogén közötti kapcsolatra utaltak kísérletes állatmodellekben (Ashcrof et al. 2003; Houdeau et al. 2007; Hsieh et al. 2007), valamint humán alanyoknál (Aloisi et al. 2005). Ezért a szérumban MIF szint változását külön megvizsgáltuk férfiak és nők esetében is, még akkor is, ha ezzel csökkentettük a betegek számát az elemzett alcsoportokban. A férfiaknál hasonló kinetikai mintázat volt megfigyelhető, mint az összes betegnel: a leggyakoribb (50%) tendencia a növekedés volt az elhunytaknál, míg a túlélőknél a csökkenés volt a domináns (80%) tendencia. Nőknél azonban a szérumban MIF kinetikai mintázata nem különbözött jelentősen a túlélők és a nem túlélők között: növekedés volt a leggyakoribb (~73%) az elhunyt betegeknel, valamint a túlélőknél (~55%) is.

Következő megközelítésünkben az alcsoportok közötti különbséget kívántuk jobban számszerűsíteni. Ennek érdekében a szérumban MIF szintek átlagos változásait is összehasonlítottuk a 0. és 4. nap között minden csoportban. A meghalt betegeknel a szérumban MIF szint átlaga (\pm SE) a 0. napon mért 2997 ± 373 pg/ml-ről a 4. napra 4394 ± 646 pg/ml-re emelkedett, míg a szepszist túlélőknél a szérumban MIF szintje ugyanezen időintervallum alatt 3137 ± 576 -ról 2587 ± 384 pg/ml-re csökkent. Napi szinten a szérumban MIF szint változása szignifikánsan különbözött a túlélők és a nem túlélők között, amikor mindkét nem ($p = 0,01$) és a férfiak ($p = 0,01$) adatait használtuk. Ezzel szemben a nőknél nem volt szignifikáns különbség az elhunyt és a túlélő csoportok között ($p = 0,230$). Amikor napi szinten elemeztük az egyes csoportokban bekövetkezett változásokat, elhunytakban növekedés, túlélőknél csökkenés volt az összes és a férfi betegek adatai alapján, míg nőknél mindkét kimenetelű csoportban növekedés volt tapasztalható.

6.4 A vizelet MIF szintjének kinetikája a szepszist túlélőknél és nem túlélőknél intenzív osztályra történő felvételét követően

Miután megvizsgáltuk a szérumban MIF kinetikáját az ICU-a felvett szeptikus betegeknel, azt is elemeztük, hogyan változik a szérumban MIF szintje a vizeletben. A vizelet MIF szintje szignifikánsan alacsonyabb volt az elhunyt betegeknel, mint a túlélőknél a 0. és a 4. napon. Az időbeli kinetikát tekintve mindkét csoportban kismértékű és nem szignifikáns emelkedést találtunk a 0. naptól a 4. napig: 3021 ± 79 vs. 3457 ± 1016 pg/ml a túlélőknél és 1281 ± 340 vs. 1629 ± 654 pg/ml a nem túlélőknél. Ezenkívül a MIF vizeletszintjének napi változása sem különbözött jelentősen a túlélők és a nem túlélők között (109 ± 192 vs. 87 ± 152 pg/ml; $p = 0,940$). Amikor a férfiakat és a nőket külön-külön hasonlítottuk össze, szintén nem volt szignifikáns különbség a napi változásban ($p = 0,136$ és $p = 0,228$). Következő kísérletünkben mindkét nemből származó adatokat elemeztük, és szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a 0. és a 4. napon mért vizelet MIF szintek között, ami arra utal, hogy a 0. napon meghatározott szint előre jelzi a 4 nappal későbbi szintjét.

6.5 A vesediszfunkció hatása a vizelet MIF-szintjének kinetikájára szeptikus betegeknel az intenzív osztályra való felvétel után

Tekintvén, hogy a vizelet MIF szintjét a különböző nem szeptikus betegségekhez társuló veseelégtelenség indikátorának is tekintik (Hong et al. 2012; Otukesh et al. 2009; Brown et al. 2001; Brown et al. 2002), összehasonlítottuk a vizelet MIF szintjét azoknál a szeptikus betegeknel, akiknél a RIFLE-kritériumok szerint (Bellomo et al. 2004) veseelégtelenség alakult ki azokéval, akiknél nem.

Bár a vizelet MIF szintjének mediánja a 0., 2. és 4. napon magasabbnak tűnt az egészséges vesefunkciójú betegeknel, mint azoknál, akiknél veseelégtelenség lépett fel, a két csoport közötti különbség egyik napon sem érte el a szignifikancia szintjét. A vizelet MIF szintjének a vizelet kreatininre való normalizálása nem befolyásolta érdemben a megfigyelt kinetikát: a vizelet MIF/kreatinin aránya a 0. és a 2. napon magasabbnak tűnt a vesefunkcióval nem rendelkező betegeknel, de a különbség egyik napon sem volt statisztikailag szignifikáns a csoportok között.

Ami a kinetikát illeti, az ICU-ra való felvételtől számított 0. és 4. nap között a vizelet MIF szintje átlagosan 2694-ről 2534 pg/ml-re változott a veseelégtelenség nélküli betegeknel, míg a veseelégtelenségben szenvedő betegeknel 1774-ről 2658 pg/ml-re. A csoportok között nem volt szignifikáns különbség. A vizelet MIF szintjének átlagos napi változása 220 ± 157 pg/ml, illetve -40 ± 191 pg/ml volt vesediszfunkcióval, illetve anélkül, ami statisztikailag nem különbözött a csoportok között, még akkor sem, ha a vizelet MIF/kreatinin arányát használtuk a csoportok összehasonlításához.

Megbeszélés

Tanulmányaim során kettős kutatási megközelítéssel meggyőzően alá tudtuk támasztani a MIF diagnosztikus és prognosztikai biomarker értékét szepszisben. Kutatásaim első részében összegyűjtöttük az irodalomban rendelkezésre álló humán adatokat, és metaanalízissel kimutattuk, hogy a vér MIF szintje a kórházi felvételkor alkalmas a szepszis diagnózisára és a nem fertőzéses szisztémás gyulladástól való megkülönböztetésére. Továbbá azt is megállapítottuk, hogy a vér magasabb MIF szintje a kórházi felvételkor előrejelzi a szepszis súlyosabb lefolyását és halálos kimenetelét, ami a MIF prognosztikai biomarker értékét támasztja alá. A MIF vérben és vizeletben lévő kinetikájával kapcsolatos kérdéseket azonban nem tudtuk metaanalízissel vizsgálni (a megfelelő adatok hiánya miatt). Ennek a hiányosságnak a pótlására kutatásaim második részében egy prospektív klinikai vizsgálatot végeztünk, amelyben az ICU-ra felvett szeptikus betegeknel vizsgáltuk a szérum és vizelet MIF kinetikáját. Kimutattuk, hogy a szepszisben elhunyt betegekre növekvő szérum MIF mintázat volt jellemző, míg túlélőknél inkább csökkent a szint. Nemek közötti különbségeket is kimutattunk. Továbbá igazoltuk, hogy a vizelet MIF szintje alacsonyabb volt szepszisben elhunytaknál, mint túlélőknél, de nem állt összefüggésben a vesefunkció zavarával.

A szepszis évente több tízmillió beteget érint, és magas mortalitása és gazdasági terhe miatt folyamatos kihívást jelent az egészségügyi rendszer számára, különösen súlyos formái esetében (Angus et al. 2001). Az ICU-n a szepszis gyakori, és magas (több mint 40%-os) halálozási arányt okoz (Markwart et al. 2020). A kimenetel javítása érdekében tovább kell fejleszteni a szepszis korai diagnosztizálására és megfelelő kezelésének végrehajtására irányuló megközelítéseket. Biomarker molekulák sikeres alkalmazása nagyban hozzájárulhat e célok eléréséhez. Nem meglepő módon, potenciális biomarkerek sokaságát vizsgálták a szepszis diagnózisában és prognózisában (Pierrakos et al. 2020). Már a szisztémás gyulladás megindulásakor a veleszületett immunsejtek aktivációja különböző gyulladáscitokinek termelődéséhez vezet (Garami et al. 2018). A vizsgálataim középpontjában álló fehérje, a MIF egyike ezeknek a proinflammatorikus citokineknek (Garai et al. 2017). Emberekben több

vizsgálat is kimutatta, hogy a vér MIF szintje a szisztémás gyulladás különböző formáiban megemelkedik (Beishuizen et al. 2001; Calandra et al. 2000; Merk et al. 2011), ezért a MIF-et potenciális diagnosztikai és prognosztikai biomarkerként javasolták szepszisben (Pierrakos et al. 2020; Grieb et al. 2010; Hertelendy et al. 2018). Az azonban továbbra sem volt világos, hogy a vér MIF szintjének eltérő mértékű emelkedése alapján megkülönböztethető-e a szeptikus és a nem szeptikus szisztémás gyulladás. Egyes szerzők azt találták, hogy a MIF szintek magasabbak szepszisben, mint nem fertőzőes szisztémás gyulladásban (Beishuizen et al. 2001; Brenner et al. 2010; Meawed et al. 2015; Pohl et al. 2020), míg mások nem találtak jelentős különbséget a MIF szintekben a szisztémás gyulladás két formája között (Lehmann et al. 2001; Lehmann et al. 2008). Elemzésünkben (Toldi et al. 2021) összehasonlítottuk a MIF szintjét 257 szeptikus és 134 nem fertőzőes gyulladással betegben, és kimutattuk, hogy a vér MIF koncentrációja jelentősen magasabb szepszisben a nem szeptikus szisztémás gyulladáshoz képest. Eredményeink arra utalnak, hogy a MIF diagnosztikai eszközként használható a szepszis és más szisztémás gyulladással betegségek megkülönböztetésére. Feltételezhető, hogy a MIF termelődése jobban fokozódik, ha a gyulladással reakciót kiváltó ágens mikrobiális patogén, mint ha károsodással társuló molekuláris minta (DAMP). Kimutatták ugyanis, hogy a DAMP-ok és a kórokozóhoz kapcsolódó molekuláris minták (PAMP-ok) másképp aktiválják az immunrendszert: a DAMP-ok gyengébb veleszületett immunaktivációt váltanak ki, mint a PAMP-ok, ami a PAMP-ok esetében a gyulladással citokinek erőteljesebb termelődésével jár (Eppensteiner et al. 2019). Ráadásul, többszörös traumás betegekben a már megnövekedett MIF szintek tovább emelkedtek, amikor fertőzés alakult ki, ami arra utal, hogy a MIF a másodlagos fertőzés indikátora is lehet (Cho et al. 2017; Joshi et al. 2000).

A MIF lehetséges prognosztikai értéke szintén ellentmondásos volt. A MIF szintje általában magasabb volt azokban a szeptikus sokkos betegekben, akiknél ARDS alakult ki, mint azokban, akiknél nem ($p=0,115$) (Beishuizen et al. 2001), és a MIF szintje magasabbnak tűnt szeptikus sokkban is, mint súlyos szepszisben, de ismét anélkül, hogy egyértelmű statisztikai különbség lett volna a csoportok között (Calandra et al. 2000). Ugyanakkor, a MIF szintek nem különböztek a súlyos szepszist túlélők és nem túlélők között (Lehmann et al. 2008), ami ellentmond az elhunytakban korábban talált magasabb keringő MIF szinteknek (Beishuizen et al. 2001; Brenner et al. 2010; Gando et al. 2001). Munkánkban (Toldi et al. 2021) kimutattuk, hogy a MIF szintek szignifikánsan magasabbak voltak a rosszabb prognózisú csoportokban, ami arra utal, hogy a MIF hasznos biomarker lehet a betegség súlyosságának és kimenetelének előrejelzésére. Feltételezhető, hogy a szepszis súlyos formáiban túlzott gyulladással reakció alakul ki, amely kifejezett citokinviarral és a MIF túlzott termelődésével jár. Így a pro- és anti-inflammatorikus folyamatok egyensúlya megbomlik, a gyulladással válasz elveszíti adaptív biológiai funkcióját, és egy szabályozatlan, destruktív folyamattá válik, amely már nem hasznos, hanem káros a gazdaszervezet számára. Mivel jól dokumentált, hogy a MIF ellensúlyozza a glükokortikoidok gyulladáscsökkentő és immunszuppresszív hatását (Calandra et al. 1995; Daun & Cannon 2000; Mitchell et al. 1999), döntő szerepe lehet a pro- és anti-inflammatorikus egyensúly felborulásában. E hipotézissel magyarázható az is, hogy a MIF antitestekkel történő semlegesítése miért javította a kimenetelt súlyos szisztémás gyulladással állatmodelljeiben (Bernhagen et al. 1993; Calandra et al. 1995; Kobayashi et al. 1999).

Meg kell jegyezni azonban metaanalízisünk néhány korlátját is. A módszer jellegéből adódóan a betegcsoportokban közölt átlagos MIF szinteket vizsgáltuk, nem pedig az egyes betegek MIF szintjeit. Ez utóbbi megközelítés minden bizonnyal lehetővé tenné, hogy biztosabb következtetéseket vonjunk le a MIF és a szepszis diagnózisa és prognózisa közötti összefüggésről, de ehhez az elemzett cikkek eredeti adataihoz kellene hozzáférni, ami nem volt megvalósítható. Az adatok hiánya miatt nem tudunk „network metaanalízis”-t sem végezni a

MIF teljesítményének más, gyakran használt gyulladáshoz kapcsolódó biomarkerekkel való összehasonlítására, ezért nem tudunk véleményt mondani a MIF valódi értékéről más biomarkerekkel összehasonlítva. Vizsgálatunkban a vér MIF szintjét hasonlítottuk össze szeptikus betegek vérében egészséges kontrollokéval vagy nem szeptikus szisztémás gyulladásban szenvedő betegekével. Ez a módszer hasznos lehet a potenciális diagnosztikai biomarkerek azonosítására, de nem használható a MIF diagnosztikai teljesítményének meghatározására. Egy ideális vizsgálatba olyan betegeket lehetne bevonni, akiknél klinikailag felmerült a szepszis gyanúja, és összehasonlítanák MIF szintjüket a szepszis megerősített diagnózisával. Sajnos az elemzett vizsgálatok nem ilyen ideális felépítésűek voltak. Az egyik vizsgálatban azonban összehasonlították a szeptikus betegek és az egészséges önkéntesek MIF szintjét, és ROC-görbeelemzést végeztek, amely a MIF kiváló érzékenységet és specificitást mutatott (AUC 0,99) (Merk et al. 2011). A ROC-görbeelemzés elvégzésére tett kísérletként arra alkalmas tanulmányokból (Leaver et al. 2010; Merk et al. 2011; Wiersinga et al. 2010) kigyűjtöttük az egyéni betegadatokat, majd kimutattuk, hogy a vér MIF szintje jó diagnosztikus teljesítményt nyújt a szeptikus betegek és az egészséges kontrollok megkülönböztetésében. Nem tudtunk azonban elegendő adatot gyűjteni ahhoz, hogy elvégezzük a ROC-görbe elemzését a MIF diagnosztikus értékére a szeptikus és nem fertőzőes szisztémás gyulladás között, valamint prognosztikai teljesítményére vonatkozóan. Ezért annak kizárása érdekében, hogy a MIF átlagos szintje egyszerűen csak jelentősen különbözött a vizsgált kohorszok között, jövőbeni vizsgálatokban további ROC-görbeelemzésekre van szükség. A vizsgált betegpopuláció meglehetősen heterogén volt, a vizsgálatok kivitelezésében rejlő statisztikai, módszertani és orvosi különbségek mind hozzájárulhattak a vizsgálatok közötti jelentős mértékű heterogenitáshoz (amit elemzésünkben a 70-90%-os I^2 érték jelzett). A megfigyelt heterogenitás miatt metaanalízisünk valamennyi diagramjában „random-effect” modellt használtuk. Az elemzett tanulmányokban a betegcsoportok közötti vér MIF szinteket ugyanazon tanulmányon belül összehasonlítottuk, majd a különbséget vontuk be az analízisbe. Mivel a közölt MIF értékek jelentősen eltértek az elemzett tanulmányok között, és 121 ng/l (Kofoed et al. 2006) valamint 46829 ng/l (Lehmann et al. 2008) között mozogtak egészséges kontrollok esetében is, SMD-t kellett használnunk a MIF mérések módszertani különbségeinek mérséklésére. Következésképpen a jelen elemzésben nem tudtunk olyan specifikus MIF szintet meghatározni, amely diagnosztikus vagy prognosztikus küszöbértéket jelentene szepszisben. Végül, nem tudtunk adatokat kinyerni a MIF kinetikájának meghatározására a szérumban és a vizeletben a szeptikus betegek ICU-ra való felvételét követően, ezért nem tudtuk összehasonlítani a túlélő és a nem túlélő csoportok közötti időbeli kinetikai változásokat. Ez utóbbi kérdést kutatásaim második részében vizsgáltam.

A prospektív klinikai vizsgálatunkból (Toldi et al. 2023) származó adatok felhasználásával meghatároztuk a szérum és vizelet MIF szintjének kinetikáját szeptikus betegeknél az ICU-ra való felvételt követő első napokban. Kimutattuk, hogy a szérum MIF kinetikájának mintázata különbözik a szepszis túlélő és a szepszisben elhunyt betegek között. Arról is beszámoltunk, hogy a szérum MIF szint az ICU-ra való felvétel után megemelkedett azoknál a betegeknél, akik szepszisben elhunytak, míg a betegséget túlélőknél csökkent. Nemtől függő különbségeket mutattunk ki a szérum MIF kinetikájában szepszisben: a túlélőknél a csökkenő tendencia csak a férfiaknál volt jelen, a nőknél nem. Továbbá kimutattuk, hogy a vizelet MIF szintje értékes prognosztikai markere lehet a szepszisben bekövetkező halálozásnak, mivel elhunytaknál jelentősen alacsonyabb volt, mint a túlélőknél, és az idő múlásával egyik csoportban sem változott jelentősen. Nem találtunk különbséget a vizelet MIF szintjeiben a vesefunkciós zavar jelenlétével vagy hiányával összefüggésben.

A szérumban MIF kinetikája egyértelműen különbözött a szepszist túlélők és abban elhunytak között az ICU-ra való felvétel után, mivel elhunytaknál a szérumban MIF értéke nőtt, míg a túlélőknél csökkent. Tekintettel arra, hogy a kimeneteli csoportok közötti statisztikailag szignifikáns különbség nem mindig volt kimutatható az egyszeri mérések alapján, az eltérő kinetikára vonatkozó új eredmény azt jelzi, hogy az ugyanazon betegnél végzett ismételt szérumban MIF szint mérések jobb előrejelzői lehetnek a kimenetelnek, mint az ICU-n végzett egyszeri mérés. Ezzel összhangban a MIF szignifikáns prognosztikai értékét nem tudták kimutatni néhány korábbi tanulmányban, amelyekben csak egyszeri szintmérést végeztek (lásd fent).

Érdekes módon a túlélő és elhunyt nőknél a szérumban MIF kinetikája némileg különbözött a férfiakétól. Nőknél a szérumban MIF szint mindkét csoportban emelkedett, bár elhunytaknál ez a mérték általában nagyobb volt, mint a túlélőknél ($p = 0,13$). Túlélő nőknél növekedés volt tapasztalható a férfiaknál megfigyelt csökkenés helyett. A megfigyelt nemek közötti különbség a nemi hormonok hatására vezethető vissza. Az ösztrogén MIF-re gyakorolt szuppresszív szerepére utal, hogy plazma szintje egészséges nőknél alacsonyabb volt, mint férfiaknál (Aloisi et al. 2005; Mizue et al. 2000). Meg kell azonban jegyezni, hogy a férfiak és nők MIF szintje közötti különbség csak fiatalabb (< 55 éves) populációban volt jelen (Aloisi et al. 2005). Vizsgálatunkban a betegek átlagéletkora 66 ± 2 év volt, a legfiatalabb nő 47 éves volt. Feltételezhető, hogy a bevont nők többsége már posztmenopauzában volt, ezért alacsony ösztrogénszinttel rendelkezett. Ennek megfelelően, férfiak plazmájában az ösztradiol koncentrációja szignifikánsan magasabbnak bizonyult, mint a posztmenopauzában lévő nőknél (Vermeulen et al. 2002). Ezért a posztmenopauzában csökkent ösztrogénszint lehet az egyik feltételezett oka annak, hogy a MIF szintek miért emelkedtek nagyobb mértékben mind túlélő, mind elhunyt szepszist nőknél, mint a férfiaknál a vizsgálatunkban. Érdekes módon korábban már beszámoltak a szepszist férfiak és nők eltérő prognózisáról (Schroder et al. 1998), ami legalábbis részben magyarázható a szérumban MIF szintjének nemek közötti különbségeivel szepsziszben, ahogyan azt vizsgálatunkban mi is kimutattuk.

A szérumban MIF mellett a vizelet MIF szintjét is vizsgáltuk, mint lehetséges biomarkert szepsziszben. Kimutattuk, hogy a vizelet MIF viszonylag állandó maradt az ICU-ra való felvétel utáni első napokban mind túlélők, mind nem túlélők esetében. Az elhunyt betegeknél azonban a vizelet MIF szint jelentősen alacsonyabb volt, mint a túlélőknél. Eredményeink arra utalnak, hogy a vizelet MIF könnyen mérhető prognosztikai biomarker lehet a szepszisz kimenetelének szempontjából. Mivel szintje az idő múlásával viszonylag stabil, a gyakorlatban bármelyik napon végzett véletlenszerű mérés is alkalmazható lehet. Ezt támasztja alá a vizsgálatunkban kimutatott erős korreláció is az első és az utolsó napon mért vizelet MIF szintek között. Fontos, hogy a vizelet MIF szintjei hasonlóak voltak a vesefunkciós zavarral rendelkező és azzal nem rendelkező betegeknél. Eredményeink ezért arra utalnak, hogy a vizelet MIF a vesefunkciótól függetlenül prediktív biomarkerként használható szepsziszben, azonban nem jelzi a szepsziszhez társuló akut vesekárosodás kialakulását.

A szepsziszben elhunyt betegek alacsonyabb vizelet és emelkedő szérumban MIF szintje közötti paradoxon feloldható, ha figyelembe vesszük a MIF sokféle forrását és összetett szerepét gyulladásban. A MIF a vese számos sejtjében szintetizálódik, beleértve a tubuláris sejteket, a podocitákat, a mesangialis és az endothelsejteket (Kong et al. 2022). Bár bizonyos mértékben folyamatosan termelődik a vesében, vesegyulladásban szintézise jelentősen fokozódik (Lan 2008). Nem meglepő módon, a vizelet MIF szintje rossz korrelációt mutatott a szérumban MIF szinttel (Xing et al. 2018), ami arra utal, hogy a vizeletben lévő koncentrációját nemcsak a szérumban MIF clearance befolyásolja, hanem a vese termelése és glomeruláris és tubuláris feldolgozása is (Matsumoto et al. 2002). A MIF szérumban- és vizeletszintje közötti korreláció hiánya magyarázhatja azt is, hogy klinikai vizsgálatunkban az elhunytaknál a magasabb szérumban szintek miért nem jártak együtt megnövekedett vizeletszintekkel. A renális MIF-ről

kimutatták, hogy különböző vesebetegségekben protektív funkcióval rendelkezik (Djudjaj et al. 2017; Ochi et al. 2017; Stoppe et al. 2018), így feltételezhető, hogy az elhunytak csoportjában a renális MIF endogén renoprotektív hatása csökkent, ami a betegség fokozott súlyosságára utal. Ez a hipotézis magyarázhatja eredményeinket, de meg kell említeni, hogy egyes vizsgálatok szerint a MIF inkább okozta, mint megelőzte a vesekárosodás kialakulását (Chen et al. 2015; Lan et al. 1997; Leng et al. 2011). Az ellentmondásos (azaz renoprotektív vs. káros) szerepek okaként a betegség jellegét, a MIF különböző forrásait és a patomechanizmusokban betöltött szerepét vetették fel (Djudjaj et al. 2017).

Klinikai vizsgálatunk korlátait is meg kell említeni. Az elemszám viszonylag kicsi volt, ami a populáció több alcsoportra (pl. túlélő férfiak és nők) történő felosztása után alacsony betegszámot eredményezett. A betegeket egyetlen klinikai központban vontuk be vizsgálatunkba, ezért további klinikai vizsgálatokra van szükség több (lehetőleg nemzetközi) központban, hogy a betegek diverzitása javuljon, és szélesebb populációban lehessen következtetéseket levonni. Mi az ICU-ra felvett betegekre összpontosítottunk, azonban fontos lenne azt is látni, hogy a MIF kinetikája hogyan alakul a szeptikus betegeknél az ICU-ra való felvétel előtt (lásd metaanalízisünket), ami segíthet az orvosoknak abban, hogy a betegség korábbi szakaszában nyerjenek információt a prognózisra. Végül nem korreláltattuk a MIF szint kinetikáját más biomarkerekével, ezért a MIF prognosztikai teljesítményét nem lehetett összehasonlítani más markerekkel.

Következtetések

Összefoglalva, komplex megközelítéssel (amely metaanalízisből és klinikai vizsgálatból állt) bizonyítékot szolgáltatunk a MIF valódi klinikai biomarker értékére a szepszisben. Metaanalízisünkben arra a következtetésre jutottunk, hogy a vér MIF szintje diagnosztikus képességgel rendelkezhet a szeptikus és a nem fertőzőes szisztémás gyulladás megkülönböztetésében, valamint prognosztikai értékkel bírhat a szepszis kimenetelét illetően. Klinikai vizsgálatunkban legjobb tudomásunk szerint először számoltunk be a szérum és vizelet MIF kinetikájáról ICU-ra felvett szeptikus betegeknél. Összefoglalva, kimutattuk, hogy a szepszisben elhunyt betegekre növekvő szérum MIF mintázat volt jellemző, míg a túlélőknél a szint inkább csökkent. A szérum MIF szint kinetikájában nemek közötti különbségeket is felfedeztünk. Végül kimutattuk, hogy a vizelet MIF szintje nem állt összefüggésben a vesefunkció zavarásával, és alacsonyabb volt elhunytaknál, mint a szepszist túlélőknél. Limitációik ellenére, vizsgálataink együttesen kiemelik a szérum és vizelet MIF értékek és kinetikájuk biomarker értékét a szepszis diagnózisában és kimenetelének előrejelzésében. Eredményeink ösztönző alapként szolgálhatnak jövőbeni multinacionális vizsgálatok megtervezéséhez is, amelyek szükségesek az ismételt MIF szint mérések valódi prognosztikai értékének és klinikai használatának meghatározásához szepszisben.

Függelék

A szakdolgozat témájához kapcsolódó publikációk

- A szakdolgozat témájához kapcsolódó publikációk száma: 3
- A szakdolgozat témájához nem kapcsolódó publikációk száma: 5
- Könyvfejezetek száma: 1
- Az összes impakt faktor összege: 13,470
- A doktori értekezés témájához kapcsolódó publikációk impakt faktorainak összege: 9,596

A doktori értekezés témájához kapcsolódó publikációk

Garai J., Kanizsai P., Rumbus Z., **Toldi J.**, Garami A., Az akut szisztémás gyulladás kórélettana az alap kutatásoktól a klinikai vonatkozásokig. *Aneszteziológia és Intenzív Terápia*, 47. évfolyam 4. szám, 5-21, 16 p. (2017).

Toldi J., Nemeth D., Hegyi P., Molnar Zs., Solymar M., Farkas N., Hussain A., Rumbus Z., Pakai E., Garami A., Macrophage migration inhibitory factor as a diagnostic and predictive biomarker in sepsis: meta – analysis of clinical trials. *Scientific Reports* 11:1 Paper: 8051, 12 p. (2021). **Impact factor: 4,996; SJR rank: Q1/D1**

Toldi J., Kelava L., Marton S., Muhl D., Kustan P., Feher Zs., Maar K., Garai J., Pakai E., Garami G. Distinct patterns of serum and urine macrophage migration inhibitory factor kinetics predict death in sepsis: a prospective, observational clinical study. *Scientific Reports* 13:1 Paper: 588, 15 p. (2023). **Impact factor: 4,600; SJR rank: Q1/D1 (2022)**

Egyéb, a doktori értekezés témájához nem kapcsolódó publikációk:

Ferencz A, **Toldi J**, Fehér Zs, Gasz B, Benkő L, Jancsó G, Róth E. NF-kB activation after intestinal preconditioning. International Proceedings, 11th Congress of the European Shock Society, Monduzzi, Editore Press: Bologna 2005, 85-88.

Ferencz A, **Toldi J**, Fehér Zs, Gasz B, Benkő L, Jancsó G, Róth E. Detection of oxidative stress and NF-kB activation in preconditioned and autotransplanted small bowel. *Shock* 2005, 23:52.

Szabó P., Fehér Zs., **Toldi J.** A kemo-radioterápia hatása nyelőcső reszekciót követően/Direct effects of chemoradiotherapy following oesophagectomy *Aneszteziológia és Intenzív Terápia*, 41. évfolyam 4. szám, 2011.

Toldi J., Sütő B., Márton S. Elhúzódó ébredés, narkolepszia? *Aneszteziológia és Intenzív Terápia*, 45. évfolyam 3. szám, 2015.

Jávor P.J.; Hanák L.; Hegyi P.; Csonka E.; Butt E.; Horváth T.; Góg I.; Lukács A.; Soós A.; Rumbus Z.; Pákai E.; **Toldi J.**; Hartmann P., Predictive value of tachycardia for mortality in trauma-related haemorrhagic shock: a systematic review and meta-regression *BMJ OPEN*, 12 (10). ISSN 2044-6055 (2022) **Impact faktor: 3.814; SJR rank: Q1**

Nemzetközi szóbeli és poszter előadások

Ferencz A, **Toldi J**, Fehér Zs, Róth E. Detection oxidative injury with or without small bowel ischemic preconditioning prior to autotransplantation. 5th European Transplant Fellow Workshop, 8-10 October, 2004. Malmö, Sweden

Ferencz A, **Toldi J**, Fehér Zs, Gasz B, Jancsó G, Róth E. Detection of oxidative stress and NF- κ B activation in preconditioned and autotransplanted small bowel. 11th Congress of the European Shock Society, 8. Vienna Shock Forum, 27-30 January, 2005. Vienna, Ausztria

Szabo Z, Czeiter E, Benkovics B, **Toldi J**, Kovács B, Büki A, Ezer E. Is there any relationship between LICOX data and survival in severe head injury? 5th Pannonian Symposium on CNS Injury, 2010. Pécs

Hazai szóbeli és poszter előadások

Toldi J, Tökés-Füzesi M, Szenohradszky K, Tóth K, Ezer E. Anticoaguláns kezelés monitorozása az idegsebészeti intenzív osztályon, 2011. Siófok

Toldi J, Écsi L, Szabó P, Szabó Z, Fehér Zs, Tóth K, Márton S, Narkolepszia vagy színjáték? 2012. Siófok

Tóth K, **Toldi J**, Szabó P, Márton S, Halvax L, Csermely T, Varga T. Diagnosztikus dilemma: HELLP vagy sepsis? 2012. Siófok

Toldi J, Szabó P, Szabó Z, Tóth K, Márton S. Fésű okozta szepszis 2013. Siófok

Szabó Z, Szabó P, **Toldi J**, Sárosi V, Grmela G, Bogár L. A tubus utáni élet 2013. Siófok

Toldi J, Szabó P, Szabó Z, Tóth K, Balogh L, Márton S Epidurális anesztéziát kísérő fejfájás a szülészeti és nőgyógyászati beavatkozások esetén 2014. Siófok

Toldi J, Rostás T, Molnár K, Verzár Zs. Hospitális és prehospitális RSI sikertelensége 2015. Pécs

Heinrice K, **Toldi J**, Szabó P, Tóth K, Márton S. A transzabdominális plane blokk szerepe nyílt hisztorektómiát követően 2016. Siófok

Toldi J, Toldiné Beck M, Pető A, Tóth K, Márton S. A posztoperatív fájdalomcsillapítás lehetőségei TLH műtétet követően 2017. Siófok

Toldi J, Dr. Márton S, Dr. Maár K, Dr. Toldiné Beck M, Dr. Rumbus Z, Dr. Garami A., A posztoperatív fájdalom antropológiai tényezők, és a beavatkozás típusának tükrében 2018. Eger

Toldi J, Dr. Márton S, Dr. Garai J, Dr. Maár K, Dr. Mühl D, Dr. Garami A. MIF szerepe gyulladáshoz vezető folyamatok markereként 2018. Eger

Toldi J, Dr. Márton S, Dr. Bártai I, Dr. Toldiné Beck M, Dr., Dr. Rumbus Z, Dr. Garami A. Anesztéziái technikák összehasonlítása csípőprotézis anterior feltárásból történő megoldása esetén 2019. Siófok

Toldi J, Dr. Márton S, Dr. Toldiné Beck M, Dr. Rumbus Z, Dr. Garami A. Fast track regional az ortopédiában anterior eltérésben történő csípőprotézis beültetésénél 2022. Siófok

Toldi J, Dr. Márton S, Dr. Toldiné Beck M, Dr. Bártai I, Dr. Garami A. Online preoperatív ambulancia működése egy pécsi magánklinikán 2023. Siófok

Toldi J, Kevala L, Fekete K, Márton S, Mühl D, Kustán P, Fehér Zs, Maár K, Garai J, Pákai E, Garami A. A makrofág migráció inhibitor faktor kinetikájának eltérő mintázatai szérumban és vizeletben a szepszis halálos kimenetelének prediktorai: prospektív klinikai vizsgálat (Flerkó – Bárdos Különdíj)

Hivatkozások (rövidítve, ha több mint 5 szerző)

- Aloisi, A. M. *et al.* Gender-related effects of chronic non-malignant pain and opioid therapy on plasma levels of macrophage migration inhibitory factor (MIF). *Pain* **115**, 142–151 (2005).
- Ameen, A., Rehim, M. A. & Shaaban, Y. H. Endocrine and metabolic alterations may underlie mortality of severe sepsis and septic shock patients admitted to ICU. *J. Egypt. Soc. Parasitol.* **46**, 109–116 (2016).
- Angus, D. C. *et al.* Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit. Care Med.* **29**, 1303–1310 (2001).
- Ashcrof, G. S. *et al.* Estrogen modulates cutaneous wound healing by downregulating macrophage migration inhibitory factor. *J. Clin. Invest.* **111**, 1309–1318 (2003).
- Bauer, M. *et al.* Mortality in sepsis and septic shock in Europe, North America and Australia between 2009 and 2019—results from a systematic review and meta-analysis. *Crit. Care* **24**, 239 (2020).
- Beishuizen, A., Tijts, L. G., Haanen, C. & Vermes, I. Macrophage migration inhibitory factor and hypothalamo-pituitary-adrenal function during critical illness. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **86**, 2811–2816 (2001).
- Bellomo, R. *et al.* Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: The Second International Consensus Conference of the Acute dialysis quality initiative (ADQI) group. *Crit. Care* **8**, R204- 212 (2004).
- Bernhagen, J. *et al.* MIF is a pituitary-derived cytokine that potentiates lethal endotoxaemia. *Nature* **365**, 756–759 (1993).
- Bone R. C. *et al.* American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med.* **20** (6):864–874. (1992)
- Bozza, F. A. *et al.* Macrophage migration inhibitory factor levels correlate with fatal outcome in sepsis. *Shock* **22**, 309–313 (2004).
- Brenner, T. *et al.* Macrophage migration inhibitory factor (MIF) and manganese superoxide dismutase (MnSOD) as early predictors for survival in patients with severe sepsis or septic shock. *J. Surg. Res.* **164**, e163-171 (2010).
- Brown, F. G. *et al.* Urine macrophage migration inhibitory factor reflects the severity of renal injury in human glomerulonephritis. *J. Am. Soc. Nephrol.* **13**(Suppl 1), S7-13 (2002).
- Brown, F. G. *et al.* Urine macrophage migration inhibitory factor concentrations as a diagnostic tool in human renal allograft rejection. *Transplantation* **71**, 1777–1783 (2001).
- Bucala, R. & Donnelly, S. C. Macrophage migration inhibitory factor: A probable link between inflammation and cancer. *Immunity* **26**, 281–285 (2007).
- Calandra, T., Bernhagen, J., Mitchell, R. A. & Bucala, R. The macrophage is an important and previously unrecognized source of macrophage migration inhibitory factor. *J. Exp. Med.* **179**, 1895–1902 (1994)
- Calandra, T. *et al.* MIF as a glucocorticoid-induced modulator of cytokine production. *Nature* **377**, 68–71 (1995).
- Calandra, T. *et al.* Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor. *Nat. Med.* **6**, 164–170 (2000).
- Calandra, T. & Roger, T. Macrophage migration inhibitory factor: A regulator of innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* **3**, 791–800 (2003).
- Chen, L. *et al.* Macrophage migration inhibitory factor promotes cyst growth in polycystic kidney disease. *J. Clin. Invest.* **125**, 2399–2412 (2015).
- Cho, Y. D. *et al.* Macrophage migration inhibitory factor levels correlate with an infection in trauma patients. *Ulus Travma Acil. Cerrahi Derg.* **23**, 193–198 (2017).
- Chuang, C. C. *et al.* Increases in serum macrophage migration inhibitory factor in patients with severe sepsis predict early mortality. *Shock* **27**, 503–506 (2007).

- Chuang, T. Y. *et al.* High levels of serum macrophage migration inhibitory factor and interleukin 10 are associated with a rapidly fatal outcome in patients with severe sepsis. *Int. J. Infect. Dis.* **20**, 13–17 (2014).
- Daun, J. M. & Cannon, J. G. Macrophage migration inhibitory factor antagonizes hydrocortisone-induced increases in cytosolic I κ B α . *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **279**, R1043–R1049 (2000).
- de Mendonca-Filho, H. T. *et al.* Macrophage migration inhibitory factor is associated with positive cultures in patients with sepsis after cardiac surgery. *Shock* **24**, 313–317 (2005).
- DerSimonian, R. & Laird, N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin. Trials* **7**, 177–188 (1986).
- Djudjaj, S. *et al.* Macrophage migration inhibitory factor limits renal inflammation and fibrosis by counteracting tubular cell cycle arrest. *J. Am. Soc. Nephrol.* **28**, 3590–3604 (2017).
- Emonts, M. *et al.* Association between high levels of blood macrophage migration inhibitory factor, inappropriate adrenal response, and early death in patients with severe sepsis. *Clin. Infect. Dis.* **44**, 1321–1328 (2007).
- Eppensteiner, J. *et al.* Damage- and pathogen-associated molecular patterns play differential roles in late mortality after critical illness. *JCI Insight* **4**, 20 (2019).
- Flaster, H., Bernhagen, J., Calandra, T. & Bucala, R. The macrophage migration inhibitory factor-glucocorticoid dyad: Regulation of inflammation and immunity. *Mol. Endocrinol.* **21**, 1267–1280 (2007).
- Gando, S. *et al.* High macrophage migration inhibitory factor levels in disseminated intravascular coagulation patients with systemic inflammation. *Inflammation* **30**, 118–124 (2007).
- Gando, S. *et al.* Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med.* **27**, 1187–1193 (2001).
- Gao, L. *et al.* Macrophage migration inhibitory factor in acute lung injury: Expression, biomarker, and associations. *Transl. Res.* **150**, 18–29 (2007).
- Garai J., Kanizsai P., Rumbus Z., Toldi J., Garami A., Az akut szisztémás gyulladás kórélettana az alapkutatásoktól a klinikai vonatkozásokig. *Aneszteziológia és Intenzív Terápia* **47**, 5-21 (2017).
- Garami, A., Steiner, A. A. & Romanovsky, A. A. Fever and hypothermia in systemic inflammation. *Handb. Clin. Neurol.* **157**, 565–597 (2018).
- Grieb, G., Merk, M., Bernhagen, J. & Bucala, R. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): A promising biomarker. *Drug News Perspect.* **23**, 257–264 (2010).
- Hertelendy, J. *et al.* Macrophage migration inhibitory factor—a favorable marker in inflammatory diseases? *Curr. Med. Chem.* **25**, 601–605 (2018).
- Higgins, J. P. T. & Green, S. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0 [updated March 2011]. The Cochrane Collaboration, 2011.*
[https://training.cochrane.org/handbook/archive/v5.1/\(2011\)](https://training.cochrane.org/handbook/archive/v5.1/(2011)).
- Hong, M. Y. *et al.* Urinary macrophage migration inhibitory factor serves as a potential biomarker for acute kidney injury in patients with acute pyelonephritis. *Mediat. Inflamm.* **2012**, 381358 (2012).
- Houdeau, E. *et al.* Sex steroid regulation of macrophage migration inhibitory factor in normal and inflamed colon in the female rat. *Gastroenterology* **132**, 982–993 (2007).
- Hsieh, Y. C. *et al.* Downregulation of migration inhibitory factor is critical for estrogen-mediated attenuation of lung tissue damage following trauma-hemorrhage. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* **292**, L1227–L1232 (2007).
- Jones, A. E., Trzeciak, S. & Kline, J. A. The sequential organ failure assessment score for predicting outcome in patients with severe sepsis and evidence of hypoperfusion at the time of emergency department presentation. *Crit. Care Med.* **37**, 1649–1654 (2009).
- Joshi, P. C., Poole, G. V., Sachdev, V., Zhou, X. & Jones, Q. Trauma patients with positive cultures have higher levels of circulating macrophage migration inhibitory factor (MIF). *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* **107**, 13–20 (2000).
- Keringer, P. *et al.* Menthol can be safely applied to improve thermal perception during physical exercise: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Sci. Rep.* **10**, 13636 (2020).

- Knaus, W. A., Draper, E. A., Wagner, D. P. & Zimmerman, J. E. APACHE II: A severity of disease classification system. *Crit. Care Med.* **13**, 818–829 (1985).
- Kobayashi, S., Nishihira, J., Watanabe, S. & Todo, S. Prevention of lethal acute hepatic failure by antimacrophage migration inhibitory factor antibody in mice treated with bacille Calmette–Guerin and lipopolysaccharide. *Hepatology* **29**, 1752–1759 (1999).
- Kofoed, K., Schneider, U. V., Scheel, T., Andersen, O. & Eugen-Olsen, J. Development and validation of a multiplex add-on assay for sepsis biomarkers using xMAP technology. *Clin. Chem.* **52**, 1284–1293 (2006).
- Kong, Y. Z., Chen, Q. & Lan, H. Y. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) as a stress molecule in renal inflammation. *Int. J. Mol. Sci.* **23**, 4908 (2022).
- Lan, H. Y., Nikolic-Paterson, D. J., Mu, W. & Atkins, R. C. Local macrophage proliferation in the pathogenesis of glomerular crescent formation in rat anti-glomerular basement membrane (GBM) glomerulonephritis. *Clin. Exp. Immunol.* **110**, 233–240 (1997).
- Lan, H. Y. Role of macrophage migration inhibition factor in kidney disease. *Nephron Exp. Nephrol.* **109**, e79–83 (2008).
- Leaver, S. K. *et al.* Increased plasma thioredoxin levels in patients with sepsis: Positive association with macrophage migration inhibitory factor. *Intensive Care Med.* **36**, 336–341 (2010).
- Le Gall, J. R., Lemeshow, S. & Saulnier, F. A new simplified acute physiology score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA* **270**, 2957–2963 (1993).
- Lehmann, L. E. *et al.* Plasma levels of macrophage migration inhibitory factor are elevated in patients with severe sepsis. *Intensive Care Med.* **27**, 1412–1415 (2001).
- Lehmann, L. E. *et al.* Oxidoreductase Macrophage Migration Inhibitory Factor is simultaneously increased in leukocyte subsets of patients with severe sepsis. *BioFactors* **33**, 281–291 (2008).
- Leng, L. *et al.* A small-molecule macrophage migration inhibitory factor antagonist protects against glomerulonephritis in lupusprone NZB/NZW F1 and MRL/lpr mice. *J. Immunol.* **186**, 527–538 (2011).
- Levy, M. M. *et al.* 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS international sepsis definitions conference. *Intensive Care Med.* **29**, 530–538 (2003).
- Markwart, R. *et al.* Epidemiology and burden of sepsis acquired in hospitals and intensive care units: A systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med.* **46**, 1536–1551 (2020).
- Marton, S. *et al.* Kinetics of inflammatory markers following cancer-related bowel and liver resection. *Ups. J. Med. Sci.* **116**, 124–128 (2011).
- Matsumoto, K. & Kanmatsuse, K. Urinary levels of macrophage migration inhibitory factor in patients with IgA nephropathy. *Nephron* **92**, 309–315 (2002).
- Meawed, T. E. *et al.* Functional and prognostic relevance of – 173 G/C gene polymorphism of macrophage migration inhibitory factor in sepsis patients in Egyptian intensive care units. *East Mediterr. Health J.* **21**, 762–769 (2015).
- Merk, M. *et al.* The D-dopachrome tautomerase (DDT) gene product is a cytokine and functional homolog of macrophage migration inhibitory factor (MIF). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, E577–585 (2011).
- Mitchell, R. A., Metz, C. N., Peng, T. & Bucala, R. Sustained mitogen-activated protein kinase (MAPK) and cytoplasmic phospholipase A2 activation by macrophage migration inhibitory factor (MIF). Regulatory role in cell proliferation and glucocorticoid action. *J. Biol. Chem.* **274**, 18100–18106 (1999).
- Miyauchi, T. *et al.* Serum macrophage migration inhibitory factor reflects adrenal function in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis of septic patients: An observational study. *BMC Infect. Dis.* **9**, 209 (2009).
- Mizue, Y. *et al.* Quantitation of macrophage migration inhibitory factor (MIF) using the one-step sandwich enzyme immunosorbent assay: Elevated serum MIF concentrations in patients with autoimmune diseases and identification of MIF in erythrocytes. *Int. J. Mol. Med.* **5**, 397–403 (2000).
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D. G. & Group, P. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *PLoS Med.* **6**, e1000097 (2009).
- Morand, E. F. New therapeutic target in inflammatory disease: Macrophage migration inhibitory factor. *Intern. Med. J.* **35**, 419–426 (2005).

- Morrison, M. C. & Kleemann, R. Role of macrophage migration inhibitory factor in obesity, insulin resistance, type 2 diabetes, and associated hepatic co-morbidities: A comprehensive review of human and rodent studies. *Front. Immunol.* **6**, 308 (2015).
- Ochi, A. *et al.* MIF-2/D-DT enhances proximal tubular cell regeneration through SLPI- and ATF4-dependent mechanisms. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* **313**, F767–F780 (2017).
- Otukesh, H. *et al.* Urine macrophage migration inhibitory factor (MIF) in children with urinary tract infection: A possible predictor of acute pyelonephritis. *Pediatr. Nephrol.* **24**, 105–111 (2009).
- Papp, M. *et al.* Procalcitonin-guided antibiotic therapy may shorten length of treatment and may improve survival—a systematic review and meta-analysis. *Crit. Care* **27**, 394 (2023).
- Payen, D. *et al.* A multicentre study of acute kidney injury in severe sepsis and septic shock: Association with inflammatory phenotype and HLA genotype. *PLoS One* **7**, e35838 (2012).
- Pierrakos, C., Velissaris, D., Bisdorf, M., Marshall, J. C. & Vincent, J. L. Biomarkers of sepsis: Time for a reappraisal. *Crit. Care* **24**, 287 (2020).
- Pierrakos, C. & Vincent, J. L. Sepsis biomarkers: A review. *Crit. Care* **14**, R15 (2010).
- Pohl, J., Hendgen-Cotta, U. B., Stock, P., Luedike, P. & Rassaf, T. Elevated MIF-2 levels predict mortality in critically ill patients. *J. Crit. Care* **40**, 52–57 (2017).
- Rhee, C. *et al.* Prevalence, underlying causes, and preventability of sepsis-associated mortality in US acute care hospitals. *JAMA Netw. Open* **2**, e187571 (2019).
- Rudd, K. E. *et al.* Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: Analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet* **395**, 200–211 (2020).
- Rumbus, Z. & Garami, A. Fever, hypothermia, and mortality in sepsis. *Temperature* **6**, 101–103 (2018).
- Rumbus, Z. *et al.* Fever is associated with reduced, hypothermia with increased mortality in septic patients: A meta-analysis of clinical trials. *PLoS One* **12**, e0170152 (2017).
- Sartelli, M. *et al.* Raising concerns about the Sepsis-3 definitions. *World J. Emerg. Surg.* **13**, 6 (2018).
- Singer, M. *et al.* The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA* **315**, 801–810 (2016).
- Schroder, J. *et al.* Gender differences in human sepsis. *Arch. Surg.* **133**, 1200–1205 (1998).
- Stoppe, C. *et al.* The protective role of macrophage migration inhibitory factor in acute kidney injury after cardiac surgery. *Sci. Transl. Med.* **10**, eaan4886 (2018).
- Toldi, J. *et al.* Distinct patterns of serum and urine macrophage migration inhibitory factor kinetics predict death in sepsis: a prospective, observational clinical study *Sci. Rep.* **13**, 588 (2023).
- Toldi, J. *et al.* Macrophage migration inhibitory factor as a diagnostic and predictive biomarker in sepsis: meta – analysis of clinical trials *Sci. Rep.* **11**, 8051 (2021).
- Vermeulen, A., Kaufman, J. M., Goemaere, S. & van Pottelberg, I. Estradiol in elderly men. *Aging Male* **5**, 98–102 (2002).
- Wells, G. A. *et al.* *The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for Assessing the Quality of Nonrandomised Studies in Meta Analyses.* http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp (2000).
- Wiersinga, W. J. *et al.* Expression and function of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in melioidosis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **4**, e605 (2010).
- Xing, Y. *et al.* MIF/CD74 axis is a target for metformin therapy in diabetic podocytopathy- real world evidence. *Endokrynol. Pol.* **69**, 264–268 (2018).

Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, Dr. Garami Andrásnak és Dr. Márton Sándornak, hogy az évek során tanítottak, és hogy segítséget és útmutatást kaptam tőlük.

Mély hálámat fejezem ki Dr. Hegyi Péternek, a Transzlációs Orvostudományi Doktori Program vezetőjének, hogy részt vehettem az általa szervezett metaanalízis képzésen. Ezúton is szeretném megragadni az alkalmat, hogy köszönetet mondjak a Termofiziológiai Tanszék kutatócsoportjának minden tagjának a jó légkör megteremtéséért, a folyamatos tanácsadásért és szakmai segítségért az elmúlt évek során, valamint azért, hogy a kutatómunka mellett lehetőséget biztosítottak az oktatásra is. Kísérleti munkámat nem tudtam volna elvégezni az Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézet vezetőinek segítségével, akiknek szaktudása a projekt során végig felbecsülhetetlen értékű volt. Külön köszönöm Dr. Mühl Diána, Dr. Bogár Lajos és Dr. Csontos Csaba támogatását. Szeretnék köszönetet mondani Girán Juditnak a kiváló technikai segítségnyújtásért.

Végül, nem tudok elég hálás lenni a családomnak, hogy mellettem álltak, a feleségemnek és a két lányomnak, hogy türelmükkel és szeretetükkel támogattak a tudományos utam során.