

Bakteriális infekciók és a komplementrendszer működésének összehasonlítása 2-es típusú diabéteszes és cukorbetegségben nem szenvedő egyéneknél

Doktori értekezés

Dr. Barkai László József

Semmelweis Egyetem
Elméleti és Transzlációs Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Hosszúfalusi Nóra, Ph.D., egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Szabó János, D.Sc., egyetemi tanár
Dr. Várkonyi Tamás, Ph.D., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Gerő László, D.Sc., egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Jermendy György, D.Sc., egyetemi tanár
Dr. Sárman Beatrix, Ph.D., egyetemi adjunktus

Budapest
2019

Tartalomjegyzék

1. Rövidítések jegyzéke	4
2. Bevezetés	6
2.1. Diabetes mellitus és infekciók.....	7
2.1.1. Fertőzés gyakoriság diabetes mellitusban.....	7
2.1.2. Infekciós mortalitás diabetes mellitusban.....	8
2.2. Az infekciók elleni csökkent védekezőképesség diabetes mellitusban.....	9
2.2.1. Eltérő kórokozó spektrum diabetes mellitusban.....	9
2.2.2. A megváltozott immunválasz diabetes mellitusban.....	11
2.3. A komplementrendszer és működése.....	13
2.3.1. A komplementrendszer főbb hatásai.....	13
2.3.2. A komplementrendszer aktiválódása.....	14
2.3.3. A komplementrendszer aktivációs útvonalai és azok főbb elemei.....	18
2.3.3.1. Klasszikus út.....	18
2.3.3.2. Lektin út.....	18
2.3.3.3. Alternatív út.....	20
2.3.3.4. Terminális vagy lítikus út.....	21
3. Célkitűzés	22
4. Módszerek	24
4.1. A vizsgálat felépítése.....	24
4.2. Etika.....	24
4.3. Adatgyűjtés.....	24
4.4. Vérvétel.....	25
4.5. A komplement paraméterek meghatározása.....	25
4.5.1. Funkcionális, in vitro aktiválhatóságok (F3-LP, MBL-LP, AP és CP).....	25
4.5.2. Komplement koncentrációk (Fikolin-1, -2, -3, MBL, C3, C4, C1-inh., C4d, sC5b-9).....	26
4.6. Rutin klinikai laboratóriumi paraméterek meghatározása.....	27
4.7. A szepszis és a társbetegségek definiálása.....	27
4.8. Halálozások idejének definiálása.....	29
4.9. Statisztika.....	29

5. Eredmények	30
5.1. Klinikai eredmények	30
5.1.1. Általános és az infekciót jellemző klinikai és laboratóriumi paraméterek	30
5.1.2. Az infekciók anatómiai lokalizáció szerinti jellemzése	32
5.1.3. Kórokozó spektrum és mikrobiológiai eredmények	34
5.1.4. Halálozások	38
5.2. Komplement eredmények	42
5.2.1. A vizsgálati csoportok komplement paramétereinek összehasonlítása	42
5.2.2. F3-LP és AP aktiváció és konzumpció különböző infekció típusokban	46
5.2.3. A komplement aktiváció klinikai paraméterekkel és halálozással való összefüggése	50
6. Megbeszélés	52
6.1. Klinikai eredmények	53
6.2. Komplement eredmények összehasonlítása	56
6.3. Komplement eredmények klinikai paraméterekkel és halálozással való összefüggésének vizsgálata	59
7. Következtetések	62
8. Összefoglalás	64
9. Summary	65
10. Irodalomjegyzék	66
11. Saját publikációk jegyzéke	82
12. Köszönetnyilvánítás	84

1. Rövidítések jegyzéke

AP	<u>A</u> lternative <u>P</u> athway: Alternatív útvonal
AGE	<u>A</u> dvanced <u>G</u> lycation <u>E</u> nd Products: Késői glikációs végtermékek
BAL	<u>B</u> roncho <u>a</u> lveoláris <u>l</u> avage
BMI	<u>B</u> ody <u>M</u> ass <u>I</u> ndex: Testtömeg-index (kg/m ²)
C1-inh.	<u>C</u> 1- <u>i</u> nhibitor = C1-észteráz inhibitor
C1q, C1r, C1s	<u>C</u> 1 komplex <u>q</u> , <u>r</u> , <u>s</u> alegységei
C3	<u>C</u> omplement component <u>3</u> : Komplement komponens 3
C3a	<u>C</u> omplement component <u>3a</u> : Komplement komponens 3a
C3b	<u>C</u> omplement component <u>3a</u> : Komplement komponens 3b
C4	<u>C</u> omplement component <u>4</u> : Komplement komponens 4
C4a	<u>C</u> omplement component <u>4a</u> : Komplement komponens 4a
C4b	<u>C</u> omplement component <u>4b</u> : Komplement komponens 4b
C4d	<u>C</u> omplement component <u>4d</u> : Komplement komponens 4d
C5	<u>C</u> omplement component <u>5</u> : Komplement komponens 5
C5a	<u>C</u> omplement component <u>5a</u> : Komplement komponens 5a
C5b	<u>C</u> omplement component <u>5b</u> : Komplement komponens 5b
C6	<u>C</u> omplement component <u>6</u> : Komplement komponens 6
C7	<u>C</u> omplement component <u>7</u> : Komplement komponens 7
C8	<u>C</u> omplement component <u>8</u> : Komplement komponens 8
C9	<u>C</u> omplement component <u>9</u> : Komplement komponens 9
CCI	<u>C</u> harlson <u>C</u> omorbidity <u>I</u> ndex: Charlson Komorbiditás Index
CP	<u>C</u> lassical <u>P</u> athway: klasszikus útvonal
CRP	<u>C</u> - <u>r</u> eaktív protein
hsCRP	<u>h</u> igh- <u>s</u> ensitivity (ultraszenzitív) <u>C</u> - <u>r</u> eaktív protein
DAMP	<u>D</u> amage/ <u>D</u> anger- <u>A</u> ssociated <u>M</u> olecular <u>P</u> attern: stressz- / veszély- asszociált molekuláris mintázat
E. coli	<u>E</u> scherichia <u>c</u> oli
EDTA	<u>E</u> thylendiaminetetraacetic acid: Etilén-diamin-tetraecetsav
F1	<u>F</u> ikolin- <u>1</u>
F2	<u>F</u> ikolin- <u>2</u>

F3	<u>F</u> ikolin-3
F3-LP	<u>F</u> icolin-3-mediated <u>L</u> ectin <u>P</u> athway: fikolin-3-mediált lektin útvonal
HbA _{1c}	<u>H</u> emoglobin <u>A</u> _{1c}
ICAM-1	<u>I</u> nter <u>c</u> ellular <u>A</u> dhesion <u>M</u> olecule-1
IgG	<u>I</u> mmunglobulin <u>G</u>
LPS	<u>L</u> ipopolysaccharide: lipopolyszacharid
MAC	<u>M</u> embrane <u>A</u> ttack <u>C</u> omplex: membránkárosító komplex
MASP	<u>M</u> BL- <u>A</u> ssociated <u>S</u> erine <u>P</u> rotease: MBL-asszociált szerin-proteáz
MBL	<u>M</u> annose- <u>B</u> inding <u>L</u> ectin: mannózkötő lektin
MBL-LP	<u>M</u> BL-mediated <u>L</u> ectin <u>P</u> athway: MBL-mediált lektin útvonal
MODY	<u>M</u> aturity- <u>o</u> nset <u>d</u> iabetes of the <u>y</u> oung
ND	<u>N</u> em <u>D</u> iabéteszes (beteg)
NS	<u>N</u> em <u>s</u> zignifikáns
OAD	<u>O</u> rális <u>a</u> ntidiabetikumok
PAMP	<u>P</u> athogen- <u>A</u> ssociated <u>M</u> olecular <u>P</u> attern: Patogén-asszociált molekuláris mintázat
PCT	<u>P</u> ro <u>c</u> alcitonin: prokalcitonin
PRM	<u>P</u> attern <u>R</u> ecognition <u>M</u> olecule: mintázat felismerő molekula
PRR	<u>P</u> attern <u>R</u> ecognition <u>R</u> eceptor: mintázat felismerő receptor
RR	<u>R</u> elatív <u>R</u> izikó
sC5b-9	<u>s</u> oluble C5b-9: szolúbilis C5b-9 (a terminális komplement komplex szolúbilis formája)
SIRS	<u>S</u> ystemic <u>I</u> nflammatory <u>R</u> esponse <u>S</u> yndrom: Szisztémás gyulladásoo reakció
sMAP	<u>s</u> mall <u>M</u> BL- <u>a</u> ssociated <u>p</u> rotein: kis MBL-asszociált protein
SSTI	<u>S</u> kin and <u>S</u> oft <u>T</u> issue <u>I</u> nfection: Bőr- és lágyrész-fertőzőo
T2DM	<u>T</u> ype 2 <u>D</u> iabetes <u>M</u> ellitus: 2-es típusú cukorbetegség
TCC	<u>T</u> erminal <u>C</u> omplement <u>C</u> omplex: terminális komplement komplex
TIA	<u>T</u> ransient <u>I</u> schaemic <u>A</u> ttack: Átmeneti iszkémiás roham
SIRS	<u>S</u> ystemic <u>I</u> nflammatory <u>R</u> esponse <u>S</u> yndrom

2. Bevezetés

A cukorbetegség (diabetes mellitus) az egyik legfontosabb morbiditási és mortalitási tényező hazánkban és a világon egyaránt. A 2017-es magyar adatok szerint a cukorbetegség prevalenciája a 20-79 éves életkorúak között 9,5% [1], a betegek döntő hányada (több, mint 90%-ra becsült többségük) a 2-es típusú diabéteszes csoportba sorolandó [2].

A diabétesz nemzetközi prevalenciáját jól érzékelteti, hogy a világszerte élő cukorbetegek a harmadik legnépesebb országot alkotnák Kína és India után. A 2017-ben 425 millióra becsült számuk 2045-re mintegy 629 millióra növekedhet [1]. Egyes becslések szerint a fertőzésekkel kapcsolatos kórházi kezelések 6%-a, illetve ezen esetek halálzásának 12%-a a diabétesznek tulajdonítható [3]. Mindezek alapján a cukorbetegség már ma is súlyos terhet jelent az egész világra és Magyarországra nézve is.

2.1. Diabetes mellitus és infekciók

A cukorbeteg bakterialis infekcióiról a klinikai gyakorlatban elterjedt, hogy gyakrabban fordulnak elő, súlyosabbak és nagyobb mortalitással járhatnak, mint a nem diabéteszes egyének fertőzései [4]. A fent említett retrospektív vizsgálat megerősíti a cukorbeteg nem diabéteszesekhez viszonyított fokozott fertőzéses rizikóját [3]. Az epidemiológiai tanulmányok eredményei nagyban függenek az adott vizsgálat felépítésétől, és nem minden esetben találnak egyértelmű összefüggést mortalitással kapcsolatosan. Meglehetősen kevés a rendelkezésünkre álló prospektív, hospitalizált betegek eredményeit feldolgozó nemzetközi tanulmány, a téma kiemelkedő fontossága ellenére hazai vizsgálati eredmények szinte alig lelhetőek fel.

2.1.1. Fertőzés gyakoriság diabetes mellitusban

Avicenna (980–1027) már kb. 1000 évvel ezelőtt kapcsolatot talált a diabétesz és a tuberkulózis fertőzés gyakorisága között [4], ezt később a XX. század elején is megerősítették [4]. Szoros összefüggés ismert továbbá a cukorbetegség és a malignus otitis externa [5], az emphysemás pyelonephritis [6][7][8], az emphysemás cholecystitis [8], a *Klebsiella pneumoniae* baktérium okozta májtályog [9], valamint a melioidosis kórképekkel egyaránt [10]. Ezek a kórállapotok (bár napjainkban meglehetősen ritkák) főleg csak cukorbetegekben jelentkeznek. Ugyanakkor diabéteszben nem elsősorban a fentiekkel, hanem az átlagpopulációban előforduló infekciókkal találkozunk leginkább.

Egy több, mint 500 000 cukorbeteg és ugyanennyi nem cukorbeteg adatait feldolgozó kanadai tanulmány - a vizsgált egyéves követési periódus alatt - a diabéteszeseknél magasabb relatív infekciós kockázatot talált alsó légúti (RR: 1,18), húgyúti (RR: 1,39) valamint bőr- és lágyrész-fertőzésekre (RR: 1,81) vonatkozóan, mint a nem diabéteszes populációban [11]. Mindezt később egy holland prospektív vizsgálat is megerősítette, melyben az esélyhányadosok alsó légúti, húgyúti, illetve bőr- és lágyrész-infekciók tekintetében 1,32-nek, 1,24-nek, illetve 1,33-nak adódtak [12]. Noha a relatív rizikó eltér a különböző tanulmányokban, a legtöbb kutatás kiemeli, hogy a cukorbeteg

fogékonyabbak bőr- és légyszív-fertőzésekre [3][13]. Ausztráliából, Egyesült Államokból és Kanadából származó adatok abban is megegyeznek, hogy a cukorbeteg infekcióhoz társuló kórházi fekvőbeteg ellátása gyakrabban fordul elő a nem cukorbeteg populációhoz képest (2 feletti RR-k mindhárom tanulmányban) [11][14]. A cukorbeteg nagyobb fertőzési kockázatának oka nem kellően tisztázott. A fent részletezett vizsgálatok eredményét [11][12] - a nagy betegszámok ellenére – bizonyos tanulmányok megkérdőjelezzik. Egyesek a cukorbeteg gyakoribb orvoshoz fordulását írták le, ami szerintük torzíthatja az infekciós gyakoriságról alkotott képünket [15]. Mások azt vetik fel, hogy a különbséget ugyanazon cukorbeteg ismétlődő fertőzései okozzák, nem pedig az infekció miatt ellátott egyének száma különbözik a két csoport között, adott időintervallum alatt [16].

2.1.2. Infekciós mortalitás diabetes mellitusban

Bár elfogadott nézet, hogy a diabétesz ronthatja a fertőzések kimenetelét, az e témával kapcsolatos irodalom meglehetősen hiányos, olykor ellentmondásos. Számos vizsgálatban a fertőzések miatt bekövetkező halálozást a cukorbetegség jelentősen emelte [11][17][18][19][20][21]; máshol pozitív volt az összefüggés a diabétesz és az infekció miatti kórházi tartózkodás között [3][22]. A fentiek miatt egyesek az infekciót a diabétesz szövődményeként [11], a cukorbetegséget az infekciós mortalitás független rizikófaktoraként emlegetik [19]. Mindezekkel ellentétben mások nem találtak az infekcióhoz társuló halálozást illetően különbséget a cukorbeteg és a nem cukorbeteg között [23][24][25][26][27], sőt létezik olyan adat is, mely a cukorbeteg jobb túléléséről számolt be szepszisben [28].

Az egymásnak ellentmondó eredmények háttérében több tényező is állhat. Egyes kutatások csak a 2-es típusú diabéteszes betegeket választják be. Mások nem különítik el az 1-es típust a 2-estől, és általánosságban a diabéteszre vonnak le következtetéseket, miközben az előbbiről ismert, hogy nagyobb infekciós rizikóval, vagy akár halálozással is járhat [3][20]. Befolyásoló tényező lehet továbbá a vizsgálat felépítése és típusa (retrospektív vagy prospektív), a bevont egyének száma és életkora, a betegségek

súlyossága, az egyes országoként eltérő terápiás protokollok (antibiotikum kezelés, diabétesz ellátás), valamint a statisztikai elemzések heterogenitása is [29]. Bár a populációs vizsgálatokat általában kevésbé jellemzi a betegek kiválasztásából adódó torzítás, a kérdés megválaszolására a klinikai tanulmányok szolgálhatnak részletesebb információval. Utóbbiak száma a téma fontossága és aktualitása ellenére meglehetősen csekély. Fontos megjegyezni, hogy a cukorbetegség számos szövődménnyel jár együtt, ami befolyásolhatja az infekció kimenetelét. Ezeknek a statisztikai elemzés során való korrigálása – mivel épp a cukorbetegségből adódnak – vitatott [29][30].

2.2. Az infekciók elleni csökkent védekezőképesség diabetes mellitusban

Jelenleg is kutatás tárgya, miként befolyásolhatja a cukorbetegség a fertőzőgyakoriságot és/vagy mortalitást. A szervezet kórokozó ágensek elleni védelmében az ún. „barrier” védelmi mechanizmusok (intakt bőr és nyálkahártyák), a sejtes és a humorális immunitás, a citokin és kemokin produkció és a reaktív oxigén gyökök vesznek részt. A megfelelő védekezéshez összehangolt működésük rendkívül fontos, a cukorbetegség ezen mechanizmusok többségének funkcióját kóros irányban befolyásolhatja [31]. A neuropátia és/vagy angiopátia okozta szövődmények például részt vesznek a krónikus sebek, fekélyek és így a csökkent barrier védelem kialakulásában.

Vannak tanulmányok, melyek az infekciós kockázatot és a mortalitást a diabéteszhez társuló krónikus szövődményekkel, a glikációval, vagy magával a hiperglikémiával magyarázzák [18][31][32][33][34]. Az emelkedett vércukrot a nem cukorbetegnek rosszabb halálozási adataival is összefüggésbe hozták kórházi felvételt igénylő bakteriális infekciók kapcsán [21][35], ez cukorbetegben is a hiperglikémia fontosságát hangsúlyozhatja. A Fremantle Diabetes Study ezzel szemben nem talált egyértelmű kapcsolatot a diabéteszesek fokozott infekciós kockázata és a HbA_{1c} között [16].

2.2.1. Eltérő kórokozó spektrum diabetes mellitusban

Számos adat szól a cukorbetegnek infekcióinak eltérő kórokozó spektrumáról, agresszívebb ágensek jelenlétéről. Húgyúti infekció esetén a kórokozók között a

monopatogénes *Escherichia coli* (*E. coli*) fertőzés kisebb [36], míg a *Klebsiella*, az *Aerococcus*, a B csoportú *Streptococcus* [37], valamint a *Proteus* és az *Enterococcus* törzsek nagyobb arányban fordulnak elő, mint a nem cukorbetegnek hasonló típusú fertőzéseiben [38]. Az *E. coli* jobban kötődhet a diabéteszesek uroepithelsejtjeihez azok glikációjára miatt [39][40]. Egyes közlemények fokozott antibiotikum (ofloxacin és cefixim) rezisztenciáról számolnak be baktériumtípustól függetlenül [41]. Ugyancsak elterjedtebb az aszimptomatikus bakteriuria, mely miatt korábban felmerült az antibiotikum kezelés szükségessége is, azonban a komplikációkat mindez nem csökkentette. Jelenleg ezért a tünetmentes bakteriuria szűrése és kezelése cukorbetegségben nem szerepel a terápiás ajánlások között [7][42].

Légúti fertőzésekkel kapcsolatosan leírták, hogy a *Pneumococcus* gyakrabban okoz bacteriaemiát, továbbá alsó légúti fertőzés háttérben olyan kórokozó is állhat, mely nem cukorbetegségben meglehetősen ritkán fordul elő (*Streptococcus agalactiae*) [38].

A lágyrész-infekciókat tekintve a diabéteszes láb mára egy önálló klinikai entitássá vált. Általában polimikrobás fertőzésként jellemezhető, a leginkább gyakori Gram-pozitív aerob kórokozók mellett nagy számban fordulhatnak elő Gram-negatív és anaerob patogének is. Gondolni kell továbbá MRSA-ra és egyéb multirezisztens törzsekre [38]. Egy bangladesi vizsgálat a diabéteszes és nem diabéteszes láb fertőzések patogén spektrumát hasonlította össze [43]. Tenyésztési eredményeik szerint mindkét csoporton belül előfordultak *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Staphylococcus* és *Acinetobacter* törzsek, azonban *Enterococcus* és *Klebsiella* csak a diabéteszes, míg *Citrobacter* csak nem cukorbetegnek esetén volt jelen.

A jelenlegi hazai és nemzetközi (Egyesült Királyság) ajánlásokban az fertőzés nem szerepel önálló diabétesz szövődményként, és nem találunk specifikusan eltérő terápiás utasítást diabéteszes betegek fertőzéseire vonatkozóan [2][44].

2.2.2. A megváltozott immunválasz diabetes mellitusban

Már 1904-ben felvetették, hogy a magas glükózszt szint bakteriális tápanyagforrásként szerepet játszhat a diabéteszben fellépő infekciók kialakulásában [29][45]. Később a glükózszt szint baktériumok osztódására gyakorolt hatását nem tudták igazolni, helyette a szervezet hiperglikémia kapcsán megváltozott immunfunkcióját kezdték feltételezni [46].

Ismertté vált a neutrofil granulociták integrin és az endotélium adhéziós molekuláinak megnövekedett expressziója, mely szerepet játszik a neutrofilek fokozott adhéziós képességében, mely ronthatja a neutrofilek migrációs képességét [29][47]. A glükóz továbbá önmagában is képes az endotél sejtek ICAM-1 expresszióját stimulálni [48][49][50][51][52][53]. A kemotaxisal kapcsolatos eredmények némiképp megoszlanak (valószínűleg technikai kivitelezésből adódóan), ám úgy tűnik, az is zavart szenved diabéteszben [47][54]. A neutrofilek fagocitózisáról ellentmondó eredmények születtek. Egyesek a diabéteszesek vércukor kontrolljától függően károsodott [55][56][57][58], mások megtartott fagocitafunkciót dokumentáltak [47][59]. Később kiderült, hogy a neutrofilek fagocitózisa indirekt módon, a csökkent opszonizáció eredményeként romlik cukorbetegben [57]. Mindez tehát humorális (opszoninokhoz köthető) eredetet feltételez. A bekebelezett baktériumok elpusztítása („intracellular killing”) alapesetben szuperoxid anionokkal és más szabadgyökökkel történik. Diabéteszben számos kórokozóra nézve ennek a folyamatnak is leírták már a defektusát (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Candida albicans*) [60][61][62][63], mely a glikémiás kontrollal párhuzamosan javulni képes [64]. Végül egyes eredmények csökkent degranulációról, valamint a citokin és kemokin gének alacsonyabb expressziójáról számoltak be [65][66].

A monocitákkal kapcsolatos kutatások száma diabéteszben csekélyebb, mégis - a neutrofilekhez hasonlóan - ismert a károsodott kemotaxisuk, fagocitózisuk és fokozott adherenciájuk [67][68][69][70][71]. Cukorbeteg monocitái esetén – a neutrofilekkel ellentétben – a nem diabéteszesekhez képest erőteljesebb intracelluláris killing mechanizmust találtak, ami a toxikus szabadgyökök fokozott termelése révén akár sejtkárosodáshoz is vezethet [72].

A limfociták bakteriális vagy mitogén antigénre adott transzformációs válaszána mérése egy jó lehetőség, mellyel funkciójukat lehet jellemezni. Az ezzel kapcsolatos vizsgálatok többsége 1-es típusú cukorbetegben történt: megfelelően kontrollált betegek esetén megtartott, rossz anyagcseréjűeknél azonban csökkent limfocita transzformációs választ találtak [73][74]. Ezen túlmenően cukorbetegben ismert a T-limfociták antigénre adott károsodott proliferációja is [75].

A megváltozott humorális immunitáshoz kapcsolódik a neutrofilek fent már említett fagocitózisának csökkent opszonizáció révén való károsodása [57], de a rossz HbA_{1c}-vel rendelkező 1-es típusú cukorbeteg alacsonyabb immunglobulin (IgG) szintjeit [76], és az IgG nem enzimátikus glikációját (mely az antigén-antitest kapcsolódás gátlását okozhatja) is kimutatták [77]. Számos vizsgálat foglalkozik a vakcinációra adott immunválasszal és annak lehetséges megváltozásával diabéteszben. Nem cukorbeteghez viszonyítva alacsonyabb agglutinin választ találtak tífusz elleni vakcina [78][79], és csökkent antitest választ többek között hepatitis A, diftéria [80], hepatitis B [81][82][83][84], sőt egyesek influenza vakcina oltását követően is [85].

A komplementrendszerrel, a veleszületett immunitás humorális alkotójával – a fentiekkel szemben - kevesen foglalkoztak diabéteszben. A tanulmányok többsége inkább a cukorbeteg szövődményeivel hozta összefüggésbe, a diabéteszesek infekcióiban való lehetséges szerepe még kevésbé ismert. A komplementrendszer fiziológiás működésének, aktivációs útvonalainak és elemeinek részletes ismertetése a következő alfejezet tárgya. Itt megemlítendő, hogy egyik kulcselemének, a C3-nak emelkedett koncentrációját írták le elhízáshoz társuló hiperinzulinémiában (melyek 2-es típusú cukorbetegségben jelen vannak) [85], továbbá feltételezik, hogy a cukorbeteg csökkent opszonizációs képessége a C3 glikációjával kapcsolatosan történik, mivel az így nem képes a bakteriális felszínhez kötődni [29][86]. A diabétesz MODY típusában (maturity-onset diabetes of the young) továbbá a C5 és a C8-as komplementek emelkedett szintjeit találtak [87]. Egy lehetséges magyarázat mindezen eltérésekre a glikált immunglobulinok komplementrendszerre gyakorolt aktiváló hatása [88]. *In vitro* eredmények alapján az emelkedett glükóz koncentráció a klasszikus és az alternatív komplement aktivációs

útvonalakra úgy tűnik, hogy nincs hatással, azonban a mannózkötő fehérje- (Mannose-Binding Lectin: MBL) mediált lektin útvonal esetén csökkent aktivációt találtak [89].

2.3. A komplementrendszer és működése

A komplementrendszer a veleszületett (természetes, nem specifikus, aspecifikus) humorális (nem-sejtes) immunitás részeként egy több, mint 30, a vérben és más testnedvekben többnyire inaktív formában jelen lévő glikoproteinekből álló kaszkárendszer [90][91]. Fiziológiásan megfelelő inger hatására, szabályozott proteolízis révén képes aktiválódni és hatását kifejteni. Nevét egy XIX. század végi kutatási eredmény révén kapta, mely során bizonyították, hogy az antitestek által kiváltott sejtölő hatáshoz szükség van a normál szérumban jelen lévő „kiegészítő anyagra”, ún. komplementre. Meglehetősen ősi rendszer, mely a veleszületett immunitás részeként aspecifikusan, azaz T-sejtek és antitestek jelenléte nélkül is képes aktiválódni. Újabb adatok szerint a komplementrendszer mindezekén túl fontos szerepet játszik az adaptív (szerzett, specifikus) immunitással való kommunikációban, illetve a patogének T és B sejtek általi eliminálásában és az immunológiai memória kialakításában is [92].

2.3.1. A komplementrendszer főbb hatásai [91]

Alapvető feladata az immunhomeosztázis megtartása, azaz a szervezetre veszélyes elemektől való védelem:

1. Lízis, azaz vírusok, baktériumok, gombák, protozoonok, bizonyos sejtek „feloldása”
2. Opszonizáció, azaz a veszélyes antigének komplement fehérjék általi megjelölése, mely így a fagocitózist segíti elő

3. Gyulladásos reakció kialakítása anafilatoxinok által, kemotaxis és diapedesis révén (inflammatorikus sejtek toborzása, és migrációjuknak valamint aktivációjuknak elősegítése)
4. Immunkomplexek és sejtörmelékek eliminálása
5. Az alvadási, a fibrinolitikus és a kinin/kallikrein rendszerekkel való kapcsolódás, azok regulációja.

2.3.2. A komplementrendszer aktiválódása

A komplementrendszer aktiválódása kétélű fegyver: hatékony működése fontos szerepet játszik egyrészt a veszélyes ágensek eltávolításában (a fent leírtak szerint), ugyanakkor ez a folyamat a saját szervezetet is károsíthatja. Kulcsfontosságú ezért a saját-nem saját antigén precíz módon való elkülönítése, a megfelelő helyen és időben történő immunválasz kialakítása, erősségének szabályozása [93]. Ebben elengedhetetlen szerepet játszanak az evolúciós szempontból konzervált, úgynevezett patogén-asszociált-, valamint a stressz- vagy veszély-asszociált molekuláris mintázatok (PAMP: Pathogen-Associated Molecular Pattern, DAMP: Damage/Danger-Associated Molecular Pattern). A PAMP-ok a mikrobákra jellemző általános mintázatok (pl. baktérium felszínén lévő szénhidrátstruktúra, lipopolichacharid: LPS, stb.), DAMP-ok pedig a stressz hatására megjelenő struktúrák (pl. sejtek nekrozisa vagy sérülése során kiszabaduló DNS, intracelluláris fehérjék, stb.). Ezeket a molekuláris mintázatokat - a többnyire az aspecifikus immunitás részeként funkcionáló – mintázat felismerő molekulák és receptorok (PRM: Pattern Recognition Molecule, PRR: Pattern Recognition Receptor) képesek azonosítani, és ezáltal az immunválaszt elindítani. A PRM és PRR-ek az immunrendszer számos sejtjén, makromolekuláján jelen vannak (pl. neutrofil és eozinofil granulociták, makrofágok, lektin komplementút tagjai, C3, C1q, stb.) [94].

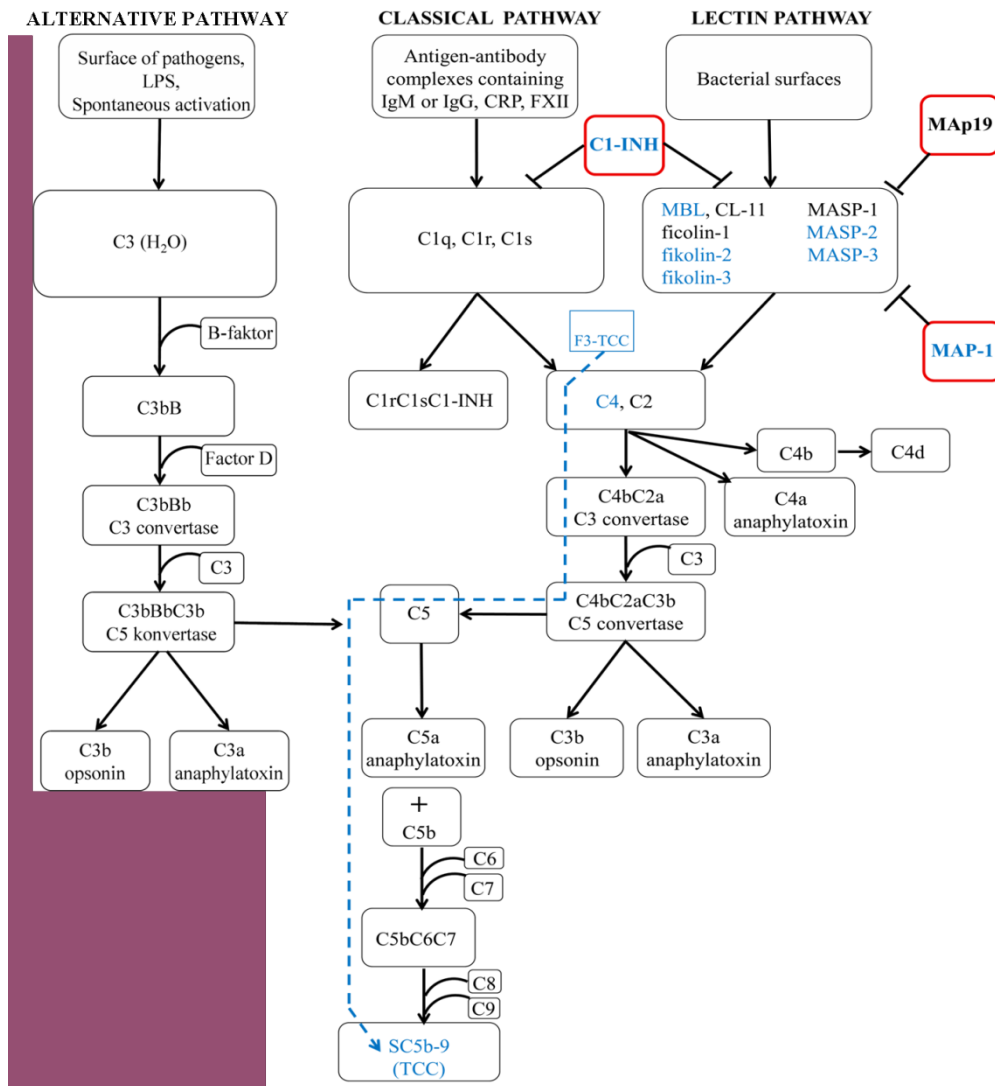
A komplementrendszer lényegében három útvonalon keresztül képes aktiválódni (1. ábra) [90]:

1. Klasszikus út
2. Lektin út
3. Alternatív út

Mindhárom útvonal esetén fontos tényező egy központi molekulának, a C3-nak az enzimatis hasítása (limitált proteolízis), és annak ezáltal bekövetkező aktivációja. Ezt a lépést az egyes útvonalak során eltérő módon kialakuló, különböző struktúrájú, de azonos funkciójú C3-konvertázok katalizálják [90][91].

A három reakcióút ettől a ponttól összekapcsolódik egy negyedik, végső közös (terminális vagy lítikus) útvonallá, melynek végén létrejön az úgynevezett terminális komplement komplex (TCC: Terminál Complement Complex). A TCC kialakulása független attól, hogy mely útvonal során képződött C3-konvertáz indította ezt a lépést (1. ábra). A kialakult TCC felelős a 2.3.1-es fejezetben már említett lízis létrejöttében.

Fontos megemlíteni, hogy az útvonalak között számos kapcsolódási pont létezik különböző mediátorokon, regulátorokon keresztül, létrehozva egy igen finoman szabályozott kaszkárendszer.



1. ábra: A komplementrendszer aktiválódása [90]

1. Alternatív út (Alternative pathway): Az alternatív út a C3 hidrolízise révén spontán is aktiválódik, ezt LPS és „idegen” felszínnek fokozhatják. A képződő C3b B-faktort köt, a szervezetben aktívan keringő D-faktor így a B-faktort hasítani tudja, létrejön a C3bBb komplex, azaz az alternatív út C3-konvertáza, amit a properdin nevű molekula stabilizál. A C3bBb további C3 hidrolízist végez (amplifikáció), és újabb C3b molekulát köt, ami a C3bBbC3b komplex, azaz az alternatív út C5-konvertázának létrejöttét eredményezi. A „melléktermékként” keletkező C3b opsoninként, a C3a anafilatoxinként funkcionál.

2. Klasszikus út (Classical pathway): A klasszikus útvonal központjában a C1 komplex (C1q, C1r és C1s alegységek) áll. Az útvonalat aktiválni képes antigénekhez való

kötődésben a C1q bír fontos szereppel, így a C1r aktiválódik és hasítja a C1s-t. A C1s a C4 és C2 hasításért felelős: a C4 egy nagyobb (C4b) és egy kisebb (C4a) fragmentumra oszlik, a C2 a C4b-hez kötődik, majd maga is kettéválik. Az így keletkező C4b2a-t nevezzük a klasszikus útvonal C3-konvertázának, míg a C4a anafilatoxinként funkcionál. A C3-konvertáz a C3 molekulát C3a-ra és C3b-re fragmentálja, melynek révén kialakul a C4bC2aC3b, más néven a klasszikus út C5-konvertáza.

3. Lektin út (Lectin pathway): A lektin útvonal elemei, a lektinek (fikolin-1, -2, -3, MBL, kollektin-10 és 11) a mikróbák felszínén lévő szénhidrát oldalláncokat képesek felismerni, és így a velük komplexet alkotó MASP-okat (MBL-Associated Serine Protease: MBL-asszociált szerin-proteáz) aktiválni. A MASP-1 és -2 molekula a C4 és C2 hasításban játszik szerepet, mely C4b2a, azaz C3-konvertáz létrejöttét eredményezi.

A folyamatára alsó fele a terminális útvonalat ábrázolja sematikusán. A C5-konvertázok a C5-öt C5a-ra és C5b-re hasítják, mely utóbbi C6, C7, C8, C9-et köt és kialakul a TCC. A C5a anafilatoxinként funkcionál.

2.3.3. *A komplementrendszer aktivációs útvonalai és azok főbb elemei (1. ábra)* [90][91][93][94]

2.3.3.1. *Klasszikus út*

A klasszikus útvonal komponenseit C1-től C9-ig jelölik. Aktiválása IgM és IgG típusú antitest-antigén komplexek, CRP, XII véralvadási faktor, egyes vírusok és mycoplasmák, intracelluláris komponensek (DNS, mitokondrium), stb. révén történhet.

Központi szerepe van a C1 komplexnek az antigénekhez való kötődésben, ezáltal pedig a további enzimikus folyamatok elindításában (C4, majd C2 hasítás). Az így létrejövő C4b2a-t nevezzük a klasszikus útvonal C3-konvertázának, ez a C3-at képes hasítani. Az így kialakuló C4bC2aC3b-t hívjuk a klasszikus út C5-konvertázának, melynek jelentőségére a terminális komplementút leírásakor térek ki. A „melléktermékként” keletkező molekulák anafilatoxinként viselkedhetnek (C4a), illetve részt vehetnek az opszonizációban (C4b). A C4 aktiváció melléktermékeként (klasszikus és lektin út esetén) C4d molekula keletkezik, melynek biológiai funkciója ismeretlen, stabilitása miatt azonban lehetőséget ad a C4 aktiváció, így a klasszikus és a lektin úton át történő komplement aktiválódás jellemzésére. Emiatt a C4d-nek fontos szerepe van a komplement diagnosztikában [95].

A C1-észteráz inhibitor (C1-inhibitor) szerin-proteáz gátló működéssel bíró fehérje, mely az aktivált C1 komplexen és a lektin úton fejt ki hatását [96]. Emellett fontos gátló szereppel bír a kinin-kallikrein, a véralvadás (aktivált XII-es faktoron keresztül), valamint a fibrinolysis rendszereire is.

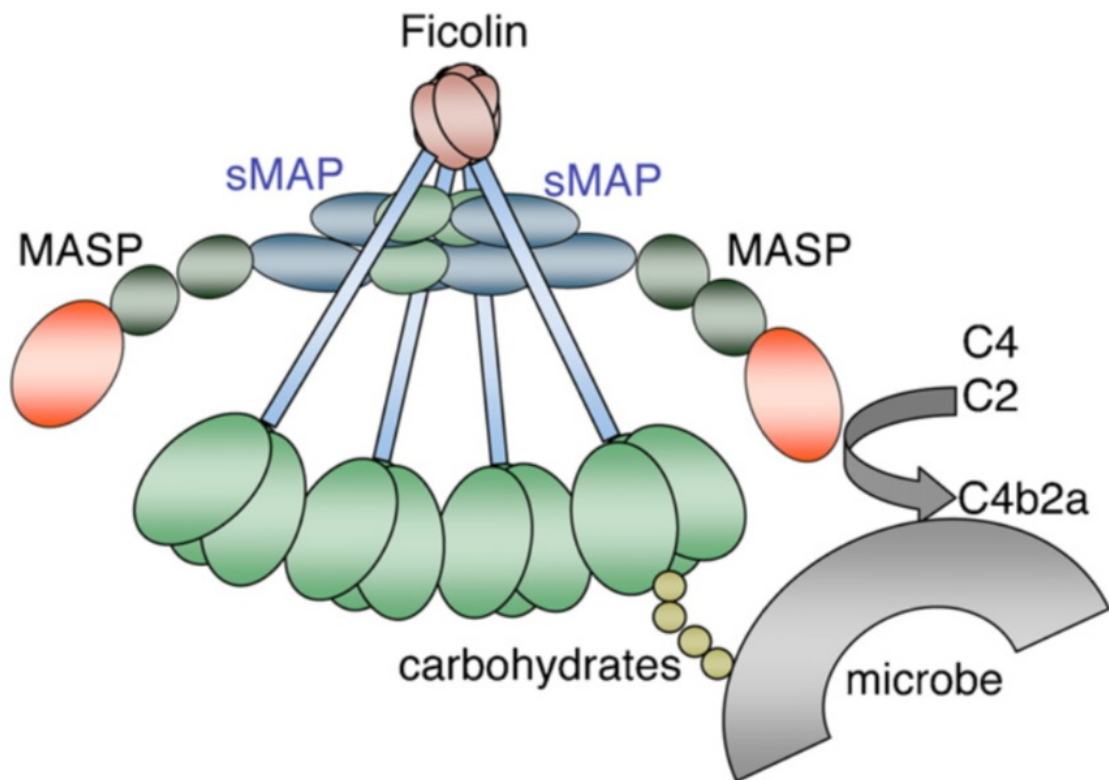
2.3.3.2. *Lektin út*

A lektin útvonal nevét a folyamat iniciátorairól, a lektinekről kapta: mannoz-kötő lektin (MBL: mannose-binding lectin), fikolin-1 (M-fikolin), fikolin-2 (L-fikolin), fikolin-3 (H-fikolin vagy Hakata antigén), kollektin-10 és kollektin-11. Ezek a mintázatfelismerő

molekulák (PRM-ek) a mikróbák felszínén lévő oligoszacharid oldalláncokat képesek megkötni, és ezáltal aktiválni a lektin komplement útvonalat [97][98]. Funkcionálisan tehát hasonló szerepet töltenek be, mint a C1q a klasszikus út esetén. A lektinek mintázatfelismerő képességük alapján is elkülöníthetők: az MBL főleg mannózhoz és fukózhoz, a fikolin-1 és fikolin-3 N-acetil glükózaminhoz, N-acetil galaktózaminhoz, a fikolin-3 ezen túlmenően glükózhoz és fukózhoz is, míg a fikolin-2 az 1,3- β -glukánhoz, lipoteicholsavakhoz (pl. Gram-pozitív baktériumok és gombák felszínén) képes kötődni [99][100][101][102][103]. Ezek az oligoszacharid mintázatok általában a mikrobiális felszín alkotói, humán makromolekulákon való előfordulásuk nem jellemző.

A lektinek szerin-proteáz tulajdonságú effektorokat, az MBL-asszociált szerin-proteázokat (MASP: MBL-Associated Serine Protease) képesek aktiválni, míg a komplexben jelen lévő, szerin-proteáz aktivitással nemrendelkező sMAP-ok (small MBL-associated protein) úgy tűnik, szabályozó szereppel bírnak. Megjegyzendő, hogy a MASP-ok a nevüket az MBL-hez való kapcsolódásuk után kapták, azóta azonban más lektinekről is kiderült (így a fikolinokról is), hogy képesek a MASP-okkal komplexeket alkotni. Egyes tanulmányok a fikolin-3-at tekintik a lektin útvonal legerősebb aktivátorának [104].

A MASP-1 és a MASP-2 a lektin út aktivátorai, a C4 és C2 hasítás révén C4b2a, azaz C3-konvertáz létrejöttében játszanak szerepet (2. ábra). A folyamat inentől a klasszikus útnál leírtakhoz hasonlóan folytatódik. A MASP-3 a lektin útvonalon regulátor/inaktivátor szerepet tölt be, újabban az alternatív utat aktiváló funkcióját is leírták [105]. A C1-inhibitor a már említett, a lektin utat reguláló szerepét a MASP-2-n keresztül fejt ki.



2. ábra: A lektin út aktiválódása fikolinok által [97]

A fikolin a mikrobiális felszínre jellemző szénhidrát láncot felismeri, és aktiválja a vele komplexet alkotó MASP-ot (MASP: MBL-Associated Serine Protease). A szintén a komplexben lévő sMAP-ok (small MBL-associated protein) nem rendelkeznek enzimatis aktivitással, és vélhetően regulátor funkcióval bírnak. A MASP C4 és C2 hasítás kapcsán C4b2a (azaz a C3-konvertáz) létrejöttét eredményezi.

2.3.3.3. Alternatív út

Az alternatív útvonal kis mértékű aktiválódása normál esetben is megtörténik a C3 molekula spontán hidrolízise révén, melynek eredményeként C3b képződik. A folyamatot LPS, és „idegen” felszínek fokozhatják. Idegennek számít a sztiálsavtól megfosztott felszín, mivel a sztiálsav az emberi szervezetben „saját” jelzésnek számít, és gátolja az alternatív út aktiválódását. Az alternatív út elemeit nagy nyomtatott betűkkel azonosított faktorokkal jelöljük (B-, D-, H- és I-faktorok).

A C3b B-faktort köt, amit a D-faktor hasítani képes létrehozva a C3bBb komplexet. A C3bBb komplexet a properdinnek nevezett molekula stabilizálja, így keletkezik az alternatív út C3-konvertáza. A C3-konvertáz további C3 molekula hidrolízisére képes egy önerősítő folyamatot generálva, amit amplifikációnak nevezünk. A C3-konvertázhoz újabb C3b kötődhet: C3bBbC3b komplex, ami alatt az alternatív út C5-konvertázát értjük (1. ábra). A H- és I-faktorok az alternatív út regulációjában játszanak szerepet.

2.3.3.4. Terminális vagy lítikus út

A különböző utakon kialakult C5-konvertáz enzimek a C5-nek a C5a-ra és C5b-re való fragmentációját végzik. A C5a igen erős anafilatoxin. A C5b C6-ot, C7-et, C8-at és C9-et köt kialakítva a terminális komplement komplexet (TCC). A TCC létrejöhet a lizálandó ágens felszínén, ekkor membránkárosító komplexnek (MAC: Membrane Attack Complex) nevezzük, vagy leválhat arról, és a keringésből szolúbilis formában válhat kimutathatóvá (sC5b-9). A szérumból mérhető sC5b-9 koncentráció a komplementaktiváció egyik markere.

3. Célkitűzés

A diabéteszes betegek infekcióhoz társuló mortalitása nem egyértelműen kedvezőtlenebb a nem cukorbetegekben észlelthez képest, ugyanakkor a fertőzés gyakoriság diabéteszben nagyobbak tűnik.

Az immunrendszer számos komponenséről leírták, hogy bakteriális infekcióban cukorbetegségben kórosan működik. Hasonló jellegű kutatások a komplementrendszerre vonatkozóan meglehetősen hiányosak. A lektinek ismertek a mikrobák felszínén lévő, glükózhoz hasonló szénhidrátláncokhoz való kötődés révén aktiválják a komplementrendszert. Így **hipotézisünk** szerint feltételezhető, hogy cukorbeteg akut bakteriális infekciója esetén az emelkedett vércukor és/vagy a glikáció negatívan befolyásolhatja a komplementrendszer aktiválódását a komplementek konzumpciója és/vagy funkciójuk károsodása révén. Eddigi ismereteink alapján mindez főként a lektin útvonalon, azon belül is a legpotensebb aktivátor, a fikolin-3 esetén tűnik a legvalószínűbbnek, de a többi útvonallal való számos, sok esetben még nem teljesen feltárt kapcsolódási ponton keresztül az alternatív vagy a klasszikus útvonal is érintve lehet.

Mindezek alapján **az alábbi kérdésekre kerestem választ:**

1. Van-e különbség a területen szerzett, bakteriális infekció miatt belgyógyászati fekvőbeteg osztályon hospitalizációt igénylő 2-es típusú cukorbeteg és nem cukorbetegek között az alábbi szempontok tekintetében:
 - a. az infekció helye,
 - b. a kórokozó spektruma,
 - c. a kórházon belüli és a felvételt követő 3 hónapos mortalitás?

2. Van-e különbség a komplementrendszer működésében az infekció alatt a területen szerzett, bakteriális infekció miatt belgyógyászati fekvőbeteg osztályon hospitalizációt igénylő 2-es típusú cukorbeteg és nem cukorbeteg között:
 - a. Eltér-e a komplement útvonalak elemeinek koncentrációja és az útvonalak funkcionális aktiválódása a két csoportban?
 - b. Összefügg-e a komplementrendszer működése egyes klinikai paraméterekkel és a halálozással?

4. Módszerek

4.1. A vizsgálat felépítése

Prospektív, obszervációs vizsgálatunkba területen szerzett bakteriális infekció klinikai diagnózisa miatt belgyógyászati fekvőbeteg osztályon hospitalizált betegeket válogattunk be 2013. szeptember és 2016. december között, konzekutív módon. Felmérésünk a döntően a Semmelweis Egyetem, III. Sz. Belgyógyászati Klinikán történt, de a beteg beválasztás kiterjedt a MH EK Sürgősségi Centrum és a Pest Megyei Flór Ferenc Kórházra is.

A betegeket két csoportra osztottuk a 2-es típusú cukorbetegség WHO kritériumok [106] szerinti megléte (T2DM) és hiánya (ND) alapján. A statisztikai power-analízis alapján célunk mindkét csoportba 200-200 beteg bevonása volt. Beválasztási kritériumnak számított a minimum 18 éves életkor és valamely belgyógyászati fekvőbeteg osztályos felvétel szükségessége bakteriális infekció miatt. Bármely hematológiai, onkológiai vagy immunológiai alapbetegség – a komplementrendszer befolyásoló esetleges hatása miatt - a vizsgálatból való kizárást eredményezte.

A betegek utánkövetése során a kórházba kerüléstől számított 3 hónapos időtartamban bekövetkező halálozást elemeztük.

4.2. Etika

A vizsgálati protokollt a Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (TUKEB 396/2013-31584/2013/EKU) engedélyezte. A vizsgálatba bevont résztvevőket előzőleg részletesen tájékoztattuk, majd írásos beleegyezésüket kértük a Helsinki Deklarációnak megfelelően.

4.3. Adatgyűjtés

A betegek kórlapjait és orvosi dokumentumait számítógépes rendszerbe rögzítettük, és összehasonlítottuk őket a már korábbról fellelhető adataikkal. A hiányzó információkat

az általuk megadott saját és/vagy legközelebbi hozzátartozó telefonszámán keresztül gyűjtöttük be.

Minden, a kutatásban résztvevő esetén regisztráltuk az általános klinikai jellemzőket (életkor, nem, vérnyomás, szívfrekvencia, testtömeg-index /Body Mass Index - BMI/, társbetegségek), a fertőzésre és hospitalizációra vonatkozó adataikat (infekció lokalizációja, antibiotikus kezelés minősége és időtartama, kórházban töltött napok száma, szepszis megléte, bentfekvési és kórházba kerülést követő 3 hónapos halálozás), mikrobiológiai tenyésztési eredményeiket az infekció lokalizációjától függően (vizelettenyésztés, sebváladék-tenyésztés, hemokultúra), valamint a laborvizsgálati eredményeiket (teljes vérkép, CRP, procalcitonin, ionok és vesefunkció, májfunkció, véralvadás, lipidek, pajzsmirigy funkció). A vércukor és glikációs paramétereket szintén mindkét csoportban meghatároztuk (felvételi vércukorszint, fruktózamin, HbA_{1c}, késői glikációs végtermékek /AGE: Advanced Glycation End Products/). A cukorbetegség esetén rögzítettük a betegségük tartamát, antidiabetikus terápiájukat, és a C-peptid szintet.

4.4. Vérvétel

Mindkét csoport esetén szérum, EDTA-antikoagulált és nátrium-citrát-antikoagulált plazma mintákat gyűjtöttünk a betegek elülső kubitális vénáiból, a bentfekvés első 3 napjában. A komplement paraméterek meghatározására szánt vérminták esetén a sejteket a felülúszótól centrifugálással elkülönítettük (2000x g), majd az egyenlő részekre osztott szérum és plazma mintákat felhasználásig -70 °C-on tároltuk.

4.5. A komplement paraméterek meghatározása

4.5.1. Funkcionális, in vitro aktiválhatóságok (F3-LP, MBL-LP, AP és CP)

A fikolin-3-mediált lektin (F3-LP), az MBL-mediált lektin (MBL-LP) és az alternatív (AP) komplement útvonalak aktiválhatóságának vérszérumból való funkcionális

meghatározása az *in vitro*, szelektíven aktivált útvonalak során keletkezett terminális komplement komplex koncentrációjának mérésével történt. Ehhez kereskedelmi forgalomban kapható ELISA kitéket használtunk a gyártó utasításai szerint (Wieslab, Eurodiagnostica, Malmö, Svédország). A szelektív aktiválás MBL-LP esetén mannózzal, fikolin-3 esetén acetilált BSA-val (acetilált marha szérumalbumin), AP során lipopoliszachariddal történt. Referencia intervallumok az egészséges donorokból származó minták eredményei alapján: F3-LP: 25-130%, MBL-LP: 30-130%, AP: 70-125%. A klasszikus útvonal (CP) aktiválhatóság szérumbeli meghatározása laboratóriumunk standardizált juh-eritrocita hemolitikus titrációs tesztjével történt (referencia érték: CH50 48-103 U/mL).

Fontos megjegyezni, hogy a fenti *in vitro* aktiválhatósági vizsgálatok reziduális, azaz maradék komplement aktiválhatóságot mérnek: vagyis az alacsonyabb *in vitro* aktiválhatóság magasabb *in vivo* aktivációra és/vagy fokozottabb konzumpcióra, míg a magasabb *in vitro* aktiválhatóság alacsonyabb *in vivo* aktivációra és/vagy csökkent konzumpcióra utal [107].

4.5.2. Komplement koncentrációk (Fikolin-1, -2, -3, MBL, C3, C4, C1-inh., C4d, sC5b-9)

A fikolin-1 (F1) [108], fikolin-2 (F2) [109], fikolin-3 (F3) [110] és MBL [111] szérumbeli koncentrációk mérése standardizált ELISA technikával, szendvics-módszer elvén történt. Az ELISA lemezeket az egyes fehérjékre specifikus monoklonális ellenanyagokkal vontuk be, majd a minták inkubációját követően biotinilált ellenanyagokat alkalmaztunk, végül a detektáláshoz streptavidin/HRP komplexeket használtunk.

Referencia intervallumok: F1: 10–1890 ng/mL, F2: 1,00–12,20 µg/mL, F3: 3–54 µg/mL, MBL: 0–5000 ng/mL.

A vérszérumok komplement C3 és C4 koncentrációinak meghatározása turbidimetriás módszerrel (Beckman Coulter, Brea, CA), a C1-inhibitor (C1-észteráz inhibitor, C1-inh.)

antigén szintje radiális immundiffúziós módszerrel, poliklonális kecske anti-humán C1-inhibitor (Quidel, San Diego, CA, USA) segítségével történt.

Referencia értékek: C3: 0,90–1,80 g/L, C4: 0,15–0,55 g/L, C1-inh.: 0,15–0,30 g/L.

A C4d és az sC5b9 (a terminális útvonal aktivációs komplexének szolúbilis formája) szintjeinek mérése kereskedelmi forgalomban kapható ELISA kitékkel (Quidel, San Diego, CA, USA) EDTA plazmából történt, a gyártó utasításai szerint.

Referencia intervallumok: C4d: 0,70–6,30 µg/mL, sC5b-9: 110–252 ng/mL.

4.6. Rutin klinikai laboratóriumi paraméterek meghatározása

A CRP-t (hsCRP) turbidimetriás módszerrel (Beckman Coulter, Brea, CA), a többi klinikai laborparamétert Beckman Coulter (Brea, CA) vagy Cell-Dyn 3500 hematology analyzerrel határoztuk meg. A vércukrot hexokináz assay-vel, a fruktózaminszinteket Roche Fructosamine kolorimetriás kittel (nitrotetrazolium blue chloride, Beckman Analyzer AU680, referenciaszint: 205-280 µmol/L), a HbA_{1c}-t ioncsere nagynyomású folyadékkromatográfiával (HPLC, referenciaszint: 4,0-6,0%) határoztuk meg. A késői glikációs végtermékeket (AGE) a bőrből, noninvazív autofluoreszcens technika (AGE Reader mu, DiagnOptics) segítségével, a gyártó utasításai szerint adtuk meg [112].

4.7. A szepszis és a társbetegségek definiálása

A szepszist a SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome) kritériumok alapján definiáltuk: 1. testhőmérséklet >38°C vagy <36°C, 2. szívfrekvencia >90/perc, 3. légzésszám >20/perc vagy artériás PCO₂ <32 Hgmm, 4. fehérvérsejtszám >12000/mm³ vagy <4000/mm³.

A társbetegségeket a Charlson Komorbiditás Index (CCI) kalkulálásához szükséges pontrendszer alapján adtuk meg [113]. A CCI a betegek (társ)betegségeit a pontozási skála alapján összesítve képes a 10 éves túlélésüket %-os érték szerint megbecsülni. A

két csoport komorbiditásának összehasonlíthatósága végett meghatároztuk CCI pontjainak átlagát az alábbi faktorok figyelembevételével: az anamnézisben szereplő miokardiális infarktus, pangásos szívelégtelenség, perifériás érbetegség, stroke/TIA, demencia, COPD, peptikus fekély, májelégtelenség (enyhe, közepes/súlyos), hemiplégia, közepes/súlyos veseelégtelenség és AIDS betegség (1. táblázat). A T2DM csoport CCI pontjaiba a cukorbetegségből adódó értékeket nem számoltuk bele (1. táblázat).

1. táblázat: Charlson Komorbiditási Index pontok számítása a két betegcsoportban

A táblázat a Charlson Komorbiditási Index pontok számításához szükséges, anamnézisben szereplő faktorokat, valamint a hozzájuk rendelt pontokat tünteti fel.

<u>Komorbiditások</u>	<u>Pontok</u>	
<u>Miokardiális infarktus</u>	+1	
<u>Pangásos szívelégtelenség</u>	+1	
<u>Perifériás érbetegség</u>	+1	
<u>Stroke/TIA</u>	+1	
<u>Demencia</u>	+1	
<u>COPD</u>	+1	
<u>Peptikus fekély</u>	+1	
<u>Májelégtelenség</u>	Enyhe	+1
	Közepes/Súlyos	+3
<u>Hemiplégia</u>	+2	
<u>Veseelégtelenség (közepes/súlyos)</u>	+2	
<u>AIDS</u>	+6	

A T2DM csoport kórházon belüli glükózyanyagcsere vezetése a napi többszöri preprandiális vércukormérési eredmények alapján történt, vércukor terápiájukat ennek megfelelően módosítottuk (preprandiális vércukorszint célérték: 5-8 mmol/L).

4.8. Halálozások idejének definiálása

Minden beteget kórházi tartózkodásuk alatt és azt követően klinikailag utánköveztünk: rögzítettük a halálozásukat a kórházi kezelés során, valamint 3 hónappal azt követően.

4.9. Statisztika

A statisztikai számításokat GraphPad Prism 5 (Graphpad Software, USA, www.graphpad.com) szoftver segítségével végeztük. A folyamatos változókat median és 25-75% percentilisben, a kategorikusakat N; %-ban adtuk meg. A két független csoport közti különbséget Mann-Whitney, Fisher-egzakt teszttel vagy khi-négyzet próbával kalkuláltuk. A változók közti összefüggést Spearman korreláció segítségével adtuk meg. Minden statisztikai analízis kétoldali (two-tailed) volt, a szignifikancia határa $p=0,05$.

5. Eredmények

5.1. Klinikai eredmények

5.1.1. Általános és az infekciót jellemző klinikai és laboratóriumi paraméterek

A két vizsgálati csoport (T2DM n= 205 és ND n=202 beteg) általános klinikai és laboratóriumi jellemzőit foglalja össze az 2. táblázat. Életkor és nembeli megoszlásukban, valamint az egészségügyi állapotukat és társbetegségeiket jellemző Charlson Komorbiditás Index (CCI) pontjaikban, lipidparamétereikben (össz-koleszterin, HDL-koleszterin, trigliceridek) nem találtunk különbséget.

A T2DM csoport medián cukorbetegség tartama 14 év, HbA_{1c} értéke 7,5% volt; esetükben magasabb felvételi vércukorszintet, valamint rövid- (fruktózamin), közepes- (HbA_{1c}) és hosszútávú glikációs paramétereket (AGE), és testtömeg-indexet (BMI) találtunk, mint a kontroll csoportnál (p=0,0004 az AGE, p<0,0001 a többi paraméter esetén).

A fertőzést jellemző klinikai laboratóriumi eredmények (CRP, PCT, fehérvérsejtszám) mindegyike - mindkét betegpopuláció esetén - meghaladta a felső a referencia határt. A SIRS kritériumok alapján kalkulált szepszis prevalencia a T2DM esetén 56%, az ND során 61% felett volt. A két csoport között különbséget egyik paraméter esetén sem találtunk. A szepszis megléte mindkét csoporton belül pozitív korrelációt mutatott a CRP-vel (p<0,0001, r=0,34 a T2DM és p=0,003, r=0,21 az ND esetén), továbbá a T2DM csoport esetén a felvételi vércukorral is (p=0,004, r=0,21).

2. táblázat: Klinikai paraméterek a 2-es típusú diabéteszes (T2DM) és a nem diabéteszes (ND) csoportban felvételkor

Az értékek a **mediánt** [25-75% percentilis] jelölik, kivéve a CCI (Charlson Comorbidity Index) pontokat, ami **átlag** \pm SE-t jelent. OAD: orális antidiabetikumok, AGE: késői glikációs végtermékek (Advanced Glycation End Products), AU: Arbitrary Unit, BMI: testtömeg-index, CRP: C-reaktív protein, PCT: prokalcitonin. A szepszist a SIRS kritériumok alapján definiáltuk: 1. testhőmérséklet $>38^{\circ}\text{C}$ vagy $<36^{\circ}\text{C}$, 2. szívfrekvencia $>90/\text{perc}$, 3. légzésszám $>20/\text{perc}$ vagy artériás $\text{PCO}_2 <32 \text{ Hgmm}$, 4. fehérvérsejtszám $>12000/\text{mm}^3$ vagy $<4000/\text{mm}^3$. A két csoport közti szignifikáns különbségek meghatározására Mann-Whitney vagy khi-négyzet tesztet végeztünk.

	T2DM (n=205)	ND (n=202)	Szignifikancia
Férfi/nő arány	97/108	97/105	NS
Életkor - év	72 [64,0-80,0]	73 [59,0-82,0]	NS
Diabétesz tartam - év	14,0 [6,0-23,8]	-	-
Diabétesz terápia	Csak diéta 34 (16,6%)	-	-
	OAD 86 (41,9%)		
	OAD + inzulin 33 (16,1%)		
	Csak inzulin 52 (25,4%)		
Felvételi vércukor - mmol/L	10,8 [7,9-16,0]	6,5 [5,8-7,7]	p<0,0001
Fruktózamin - $\mu\text{mol/L}$	231,9 [205,9-316,8]	193,5 [169,7-204,8]	p<0,0001
HbA_{1c} - %	7,5 [6,4-8,8]	5,6 [5,2-5,9]	p<0,0001

AGE – bőr autofluoreszcencia (AU)	1,17 [1,1-1,4]	1,07 [0,9-1,2]	p=0,0004
BMI – kg/m²	28,5 [25,1-34,1]	25,7 [22,6-29,4]	p<0,0001
CCI pontok	1,93 ± 0,11	1,75 ± 0,11	NS
CRP - mg/L	135,1 [67,3-232,7]	152,7 [83,2-220,8]	NS
Fehérvérsejtszám - G/L	12,5 [9,6-17,2]	13,8 [10,5-18,6]	NS
PCT - ng/mL	0,86 [0,26-6,64]	2,04 [0,40-7,42]	NS
Szepszis prevalencia - %	56,1	61,9	NS
Halálozás (bentfekvés során) – %	10,7	9,9	NS
Halálozás (3 hó) – %	19,0	20,8	NS
Össz. koleszterin – mmol/L	3,4 [2,7-4,1]	3,6 [3,0-4,3]	NS
HDL koleszterin – mmol/L	0,78 [0,58-1,02]	0,82 [0,55-1,12]	NS
Triglicerid – mmol/L	1,46 [1,03-1,86]	1,37 [1,0-1,85]	NS

5.1.2. Az infekciók anatómiai lokalizáció szerinti jellemzése

A fertőzéseket a lokalizáció szerint négy csoportra osztottuk: légúti, húgyúti, bőr- és lágyrész-fertőzés (SSTI: skin and soft tissue infections) és egyéb infekciók (3. táblázat). A légútiak között leginkább pneumonia és COPD akut exacerbációja, húgyútiaknál főként akut pyelonephritis, SSTI-k között erysipelas, cellulitis, diabéteszes láb, az egyéb kategóriában főként akut cholecystitis, diverticulitis, és cholangitis fordult elő. A

leggyakoribb infekció típus a cukorbetegekben a bőr- és lágyrész-fertőzés (37,1%), a nem cukorbetegekben a légúti infekció volt (37,1%). Ezeket mindkét csoportban a húgyúti infekciók követték (31,2% vs. 31,7%).

A két betegcsoport egyes infekció típusait összehasonlítva T2DM betegeknél a bőr- és lágyrész-lokalizációjuk nagyobb, míg a légúti infekciók kisebb arányban fordultak elő, mint az ND csoportban (37,1% vs. 22,8%, $p=0,0017$ az SSTI-re, 22,4% vs. 37,1%, $p=0,0024$ a légútira vonatkozóan) (3. táblázat). Az SSTI-k közül cukorbetegek esetén 66/76, nem diabéteszeseknél 36/46 volt alsó végtagon megtalálható, ezen számokra nézve a két csoport közötti különbség továbbra is szignifikánsnak mutatkozott ($p=0,0009$). Húgyúti és egyéb fertőzések előfordulását illetően nem találtunk eltérést a két csoport között.

3. táblázat: Az egyes infekciók előfordulása lokalizáció szerint a 2-es típusú diabéteszes (T2DM) és a nem diabéteszes (ND) csoportban

Az értékek a betegek számát és %-ban megadott, összes infekcióhoz viszonyított relatív gyakoriságát jelölik az infekció lokalizációja szerint csoportosítva. SSTI (Skin- and Soft Tissue Infection): bőr- és lágyrész-fertőzés. A két csoport közti különbségek meghatározása Fisher-egzakt teszttel történt.

Infekció típus		T2DM (n=205)	ND (n=202)	Szignifikancia
Légúti		46; 22,4%	75; 37,1%	p=0,0024
Húgyúti		64; 31,2%	64; 31,7%	NS
SSTI	Összesen	76; 37,1%	46; 22,8%	p=0,0017
	Csak alsó végtagon	66/76; 86,8%	36/46; 78,3%	p=0,0009
Egyéb		19; 9,3%	17; 8,4%	NS

5.1.3. Kórokozó spektrum és mikrobiológiai eredmények

A betegek tüneteinek megfelelően mikrobiológiai tenyésztés céljából mintákat vettünk (hemokultúra, vizelet- és sebváladék-tenyésztés). Alsó légúti tenyésztés (BAL: bronchoalveolaris lavage) nem történt. Pozitív tenyésztési eredményt a cukorbeteg 55,1%-nál és a nem cukorbeteg 48,5%-nál találtunk (4/A. táblázat). A szeptikus betegek hemokultúra pozitivitása a T2DM betegek esetén 36,9%, a ND csoportban 47% volt. A kórokozókat részben Gram-festés szerint csoportosítottuk: csak Gram-pozitív (Gram+), csak Gram-negatív (Gram-), és Gram+ és Gram- kórokozókat egyaránt tartalmazó alcsoportok (4/A. és /B. táblázat). A Gram+ és Gram- kórokozókat egyaránt tartalmazó tenyésztések száma a T2DM csoportban magasabb volt, mint a nem cukorbetegéknél (pozitív tenyésztések 23,1%-a vs. 9,2%-a, $p=0,0089$) (4/A. táblázat). Ezt a különbséget az infekció helyét tekintve leginkább a bőr- és légyszív-fertőzések okozták: a T2DM csoport ezen infekcióiban magasabb volt a Gram+ és Gram- kórokozókat egyaránt tartalmazó esetek relatív gyakorisága, mint a nem cukorbeteg csoportban (23/76 vs. 5/46, $p=0,0149$), míg húgyúti infekciókra nézve ebben a vonatkozásban nem tapasztaltunk különbséget (4/B. táblázat). Az alacsony pozitív mikrobiológiai (hemokultúra) mintaszám és a BAL hiányában a légúti, az alacsony esetszám miatt az egyéb fertőzések a táblázatban nem kerültek feltüntetésre. A mindkét vizsgálati csoportban leggyakoribb „Csak Gram-negatív” patogének relatív előfordulása a T2DM és a ND egyének körében nem különbözött szignifikánsan (4/A. táblázat).

4/A. táblázat: Kórokozók a pozitív mikrobiológiai tenyésztési eredmények alapján, Gram-festés szerint csoportosítva a 2-es típusú diabéteszes (T2DM) és a nem diabéteszes (ND) csoportban

Az összes pozitív tenyésztés (vizelettenyésztés, sebváladék-tenyésztés, hemokultúra) esetszámát követő %-os érték az összes infekcióhoz viszonyított relatív gyakoriságot jelöli. A Gram+ (Gram pozitív), Gram- (Gram negatív), és Gram+ és Gram- egyaránt alcsoportok esetén az esetszámot követő %-os érték az összes pozitív tenyésztéshez viszonyított relatív gyakoriságot jelöli. Az egyes T2DM és ND alcsoportok közti különbségek meghatározása Fisher-egzakt teszttel történt.

Infekció típus	<u>T2DM</u> (n=205)	<u>ND</u> (n=202)	Szignifikancia
Pozitív tenyésztések – összes	113; (55,1%)	98; (48,5%)	NS
Csak Gram+	17; 15%	17; 17,3%	NS
Csak Gram-	70; 61,9%	72; 73,5%	NS
Gram+ és Gram- egyaránt	26; 23,1%	9; 9,2%	p=0,0089

4/B. táblázat: Kórokozók a pozitív mikrobiológiai tenyésztési eredmények alapján, Gram-festés szerint csoportosítva húgyúti, valamint bőr- és lágyrész-infekciók esetén a 2-es típusú diabéteszes (T2DM) és a nem diabéteszes (ND) csoportban

Pozitív tenyésztések (vizelettenyésztés, sebváladék-tenyésztés, hemokultúra) előfordulása az adott infekciós lokalizációban. SSTI (Skin- and Soft Tissue Infection): bőr- és lágyrész-fertőzés. Nem kerültek feltüntetésre a légúti infekciók a relatíve alacsony pozitív tenyésztési (hemokultúra) eredmény és a BAL mintavétel hiányából adódóan, valamint az egyéb infekciók az alacsony esetszám miatt. Az egyes T2DM és ND alcsoportok közti különbségek meghatározása Fisher-egzakt teszttel történt.

Infekció típus		<u>T2DM</u>	<u>ND</u>	Szignifikancia
Húgyúti	Pozitív tenyésztések	47/64	53/64	NS
	Csak Gram+	0;	2	NS
	Csak Gram-	45	49	NS
	Gram+ és Gram- egyaránt	2	2	NS
SSTI	Pozitív tenyésztések	47/76	20/46	NS
	Csak Gram+	13	10	NS
	Csak Gram-	11	5	NS
	Gram+ és Gram- egyaránt	23	5	p=0,0149

A húgyúti infekciók elemzése során a patogéneket a pozitív vizelet- és/vagy hemokultúra tenyésztések alapján az alábbi csoportokra osztottuk: csak *E. coli*, csak *Klebsiella* (*Klebsiella pneumoniae* és *oxytaca*), egyéb monopatógének (*Enterococcus faecalis* és *faecium* / *Proteus mirabilis* / *Providentia stuartii* / *Morganella morganii* / *Pseudomonas aeruginosa* / *Staphylococcus aureus*), és polimikróbás (5. táblázat). A polimikróbás csoportba azon tenyésztési eredmények kerültek, melyekből több, mint egy uropatógén

tenyésztett ki. Az összes pozitív tenyésztési gyakoriságot illetően nem találtunk különbséget a T2DM és ND csoport között (73,4 vs. 82,8%, NS). A T2DM csoport polimikróbás infekciói nagyobb arányban fordultak elő az ND csoportéival összehasonlítva (34 vs. 15,1%, $p=0,0335$). A kizárólag *E. coli* okozta fertőzések mindkét csoportban a leggyakoribbnak bizonyultak; a cukorbetegeknek mintegy 43%-ában, a nem cukorbetegeknek pedig több, mint 60%-ában, statisztikailag azonban ez a különbség nem bizonyult szignifikánsnak. *Klebsiella* és egyéb kórokozókat tekintve nem volt eltérés a két betegpopuláció között (5. táblázat).

5. táblázat: Pozitív vizelet- és/vagy hemokultúra tenyésztés eredmények húgyúti infekciók esetén a 2-es típusú diabéteszes (T2DM) és a nem diabéteszes (ND) csoportban *E. coli*: *Escherichia coli*, Csak *Klebsiella*: *Klebsiella pneumoniae* / *oxytaca*. A „polimikróbás” csoportba azon tenyésztési eredmények kerültek bele, melyekből több, mint egy uropatogén baktérium tenyésztett ki. Az összes pozitív tenyésztés esetszámát követő %-os érték az összes húgyúti infekcióhoz viszonyított relatív gyakoriságot jelöli. Az alcsoportok esetén az esetszámot követő %-os érték az összes pozitív tenyésztéshez viszonyított relatív gyakoriságot jelöli. A két csoport közti különbségek meghatározása Fisher-egzakt teszttel történt.

Tenyésztési eredmények	<u>T2DM</u> (n=64)	<u>ND</u> (n=64)	Szignifikancia
Pozitív tenyésztés (összes)	47; 73,4%	53; 82,8%	NS
Csak <i>E. coli</i>	20; 42,6%	32; 60,4%	NS
Csak <i>Klebsiella</i>	4; 8,5%	7; 13,2%	NS
Egyéb monopatógén	7; 14,9%	6; 11,3%	NS
Polimikróbás	16; 34%	8; 15,1%	p=0,0335

Az egyes infekciókban, a leggyakrabban választott antibiotikumokat - mindkét csoportot összesítve - mutatja be az 6. táblázat. Légúti fertőzéseknél ceftriaxon (\pm clarithromycin) vagy fluorokinolon, húgyúti esetén cephalosporin (leginkább ceftriaxon), míg SSTI esetén penicillinszármazékok (leginkább amoxicillin/klavulánsav) voltak az elsőként választott empirikus szerek. Obszervációs vizsgálatunkban azt tapasztaltuk, hogy az empirikus antibiotikum választást nem befolyásolta a cukorbetegség megléte vagy hiánya.

6. táblázat: Az elsőként választott, empirikus antibiotikus terápia az infekció helye szerint, az összes vizsgált beteg adatait együttesen elemezve

Infekció típus	1. leggyakoribb empirikus antibiotikum	2. leggyakoribb empirikus antibiotikum
Légúti	Cephalosporin \pm makrolid / fluorokinolon	Penicillinszármazék (főleg amoxicillin/klavulánsav)
Húgyúti	Cephalosporin	Carbapenem / fluorokinolon
Bőr és lágyrész	Penicillinszármazék (főleg amoxicillin/klavulánsav)	Cephalosporin / carbapenem / ciprofloxacin + clindamycin

5.1.4. Halálozások

Sem a bentfekvéskori, sem a felvételt követő 3. hónapos mortalitásban nem találtunk eltérést a két csoport között (10,7% és 19,0% a T2DM vs. 9,9% és 20,8% az ND betegek esetén) (2. és 7. táblázat). Vezető halálozás a T2DM esetén a bőr- és lágyrész-fertőzés (23,7%), nem cukorbetegéknél pedig a légúti infekció (17,4%) volt. A T2DM betegek bőr- és lágyrész-infekcióinak relatív mortalitása magasabbnak, a légúti fertőzéseké pedig alacsonyabbnak tűnik, mint a nem cukorbeteg ezen infekciós halálozásai, azonban

szignifikáns különbséget sem e tekintetben, sem a többi infekciós lokalizáció esetén nem találtunk (7. táblázat).

7. táblázat: 3 hónapos mortalitások az egyes infekciókban a 2-es típusú diabéteszes (T2DM) és a nem diabéteszes (ND) csoportban

Az összes (halálozásnál) a mortalitás az összes infekcióra vonatkozik. Az egyes infekciós lokalizációknál a mortalitás az adott infekciótípusra értendő (adott infekcióban meghalt/összes adott infekció száma; %-ban kifejezett gyakoriság). SSTI (Skin and Soft Tissue Infection): bőr- és lágyrész-fertőzés. A két csoport közti különbségek meghatározása Fisher-egzakt teszttel történt.

Infekció típus	T2DM (n=205)	ND (n=202)	Szignifikancia
Összes	39/205; 19,0%	42/202; 20,8%	NS
Légúti	10/46; 21,7%	22/75; 29,3%	NS
Húgyúti	9/64; 14,1%	10/64; 15,6%	NS
SSTI	18/76; 23,7%	8/46; 17,4%	NS
Egyéb	2/19; 10,5%	2/17; 11,8%	NS

Mind a kórházi bentfekvés során, mind az azt követő 3 hónapban elhunytak esetén magasabb Charlson Komorbiditás Indexet lehetett kimutatni a túlélőkhöz képest mindkét vizsgálati csoport esetén (T2DM: bentfekvés soráni halálozásnál $p=0,0007$, 3 hónapos halálozásra nézve $p<0,0001$; ND: bentfekvés soráni halálozásnál $p=0,0026$, 3 hónapos halálozásra nézve $p=0,0001$) (8/A. és /B. táblázat). A cukorbetegségben nem szenvedők körében az elhunytak (mindkét halálozás típusra nézve) magasabb életkorral rendelkeztek a túlélőkhöz képest (bentfekvés soráni halálozásnál 80 vs. 71 év, $p=0,0046$; 3 hónapos halálozásra nézve 80 vs. 69 év, $p<0,0001$). A hospitalizáció kapcsán meghalt cukorbetegknél magasabb fehérvérsejtszámot regisztráltunk az el nem hunytakhoz

képest (15,3 vs. 12,4 G/L, $p=0,0225$) (8/A. és /B. táblázat). CRP és vesefunkcióbeli különbséget a meghaltak és a túlélők között egyik csoporton belül sem találtunk.

8/A. táblázat: A kórházi tartózkodás során valamint az azt követő 3 hónapban elhunyt T2DM betegek összehasonlítása a túlélőkkel

Az értékek a **mediánt** [25-75% percentilis], illetve az **átlag** \pm SE-t jelölik. CCI: Charlson Komorbiditás Index.

		<u>Elhunytak</u> <u>adatai</u>	<u>Túlélők adatai</u>	Szignifikancia
CCI pontok	Bentfekvés soráni halálozásra nézve	3,28 \pm 0,39	1,83 \pm 0,11	p=0,0007
	3 hónapos halálozásra nézve	3,15 \pm 0,24	1,71 \pm 0,12	p<0,0001
Életkor - év	Bentfekvés soráni halálozásra nézve	76 [67,5-87,5]	72 [64,0-80,0]	NS
	3 hónapos halálozásra nézve	75 [68,8-84,3]	72 [64,0-79,5]	p=0,0133
Fehérvér-sejtszám - G/L	Bentfekvés soráni halálozásra nézve	15,3 [12,2-21,1]	12,4 [9,5-16,8]	p=0,0225
	3 hónapos halálozásra nézve	13,2 [12,0-19,0]	12,4 [9,5-16,9]	NS
Felvételi vércukor - mmol/L	Bentfekvés soráni halálozásra nézve	10,6 \pm 1,5	13,1 \pm 0,6	NS
	3 hónapos halálozásra nézve	10,3 \pm 1,0	13,4 \pm 0,7	p=0,0388

8/B. táblázat: A kórházi tartózkodás során valamint az azt követő 3 hónapban elhunyt ND betegek összehasonlítása a túlélőkkel

Az értékek a **mediánt** [25-75% percentilis], illetve az **átlag** \pm SE-t jelölik. CCI: Charlson Komorbiditás Index.

		<u>Elhunytak</u> <u>adatai</u>	<u>Túlélők adatai</u>	Szignifikancia
CCI pontok	Bentfekvés soráni halálozásra nézve	2,59 \pm 0,31	1,61 \pm 0,12	p=0,0026
	3 hónapos halálozásra nézve	2,51 \pm 0,23	1,52 \pm 0,12	p=0,0001
Életkor - év	Bentfekvés soráni halálozásra nézve	80 [70,0-86,0]	71 [58,0-81,0]	p=0,0046
	3 hónapos halálozásra nézve	80 [71,5-86,8]	69 [56,0-79,8]	p<0,0001
Fehérvér-sejtszám - G/L	Bentfekvés soráni halálozásra nézve	15,9 [8,7-19,8]	13,6 [10,4-18,1]	NS
	3 hónapos halálozásra nézve	14,4 [9,1-18,1]	13,8 [10,4-18,5]	NS
Felvételi vércukor - mmol/L	Bentfekvés soráni halálozásra nézve	8,4 \pm 1,1	7,2 \pm 0,3	NS
	3 hónapos halálozásra nézve	8,0 \pm 0,6	7,1 \pm 0,4	NS

5.2. Komplement eredmények

5.2.1. A vizsgálati csoportok komplement paramétereinek összehasonlítása

Ahhoz, hogy a komplementrendszerrel széleskörű, részletes képet alkothassunk, megmértük a lektin út szénhidrátfelismerő molekulák (fikolin-1,-2,-3, és MBL), a központi komplement alkotók (C3, C4), a klasszikus és lektin út aktivációs termék (C4d) és a komplement aktiválódást teljességében jellemző terminális komplex (sC5b-9) koncentrációját. Meghatároztuk továbbá a fikolin-3-mediált (F3-LP) és az MBL-mediált lektin út (MBL-LP), valamint a klasszikus (CP) és az alternatív (AP) komplement út funkcionális aktiválhatóságát.

A 9. táblázatban összefoglalt eredmények közül a ND csoportnál talált magas sC5b9 koncentráció erős komplement aktivációra utal az infekció alatt. A T2DM esetén a referenciatartományhoz képest szintén emelkedett, az ND csoporthoz viszonyítva azonban alacsonyabb ($p=0,0022$) terminális út aktiválódást tapasztaltunk. A komplement aktivációs útvonalak közül a klasszikus esetén (CP, CH50) nem találtunk különbséget a két csoport között. Ezzel szemben a cukorbeteg F3-LP és AP aktiválhatósága *in vitro* magasabb volt, mint a kontrolloké (19 és 47%-al magasabb értékek a T2DM csoportnál, $p=0,0354$ és $p=0,0013$). Kulcsfontosságú hangsúlyozni, hogy ezen *in vitro* értékek a reziduális, azaz a maradék komplement aktiválhatóságot jelentik, vagyis a magasabb *in vitro* aktiválhatóság alacsonyabb *in vivo* aktivációra és/vagy konzumpcióra utal. A diabéteszesek (*in vivo*) gyengébb F3-LP és AP aktivációja nem az eltérő szénhidrátfelismerő molekulák vagy központi komplementek (F1, F2, F3, MBL, C3, C4) szintjéből fakadt, mivel ezek a T2DM csoport esetén nem voltak alacsonyabbak, mint az ND betegekéi; a C3 esetén pedig némileg még magasabb értéket is találtunk ($p=0,0482$). MBL aktiválhatóság-beli (MBL-LP) eltérést nem észleltünk a csoportok között. A cukorbetegknél csökkent C4d aktivációs termék szintet ($p=0,0063$) és magasabb C1-inhibitor koncentrációt ($p<0,0001$) találtunk az ND csoporthoz viszonyítva (9. táblázat).

9. táblázat: A 2-es típusú diabéteszes (T2DM) és a nem diabéteszes (ND) csoportok komplement eredményeinek összehasonlítása

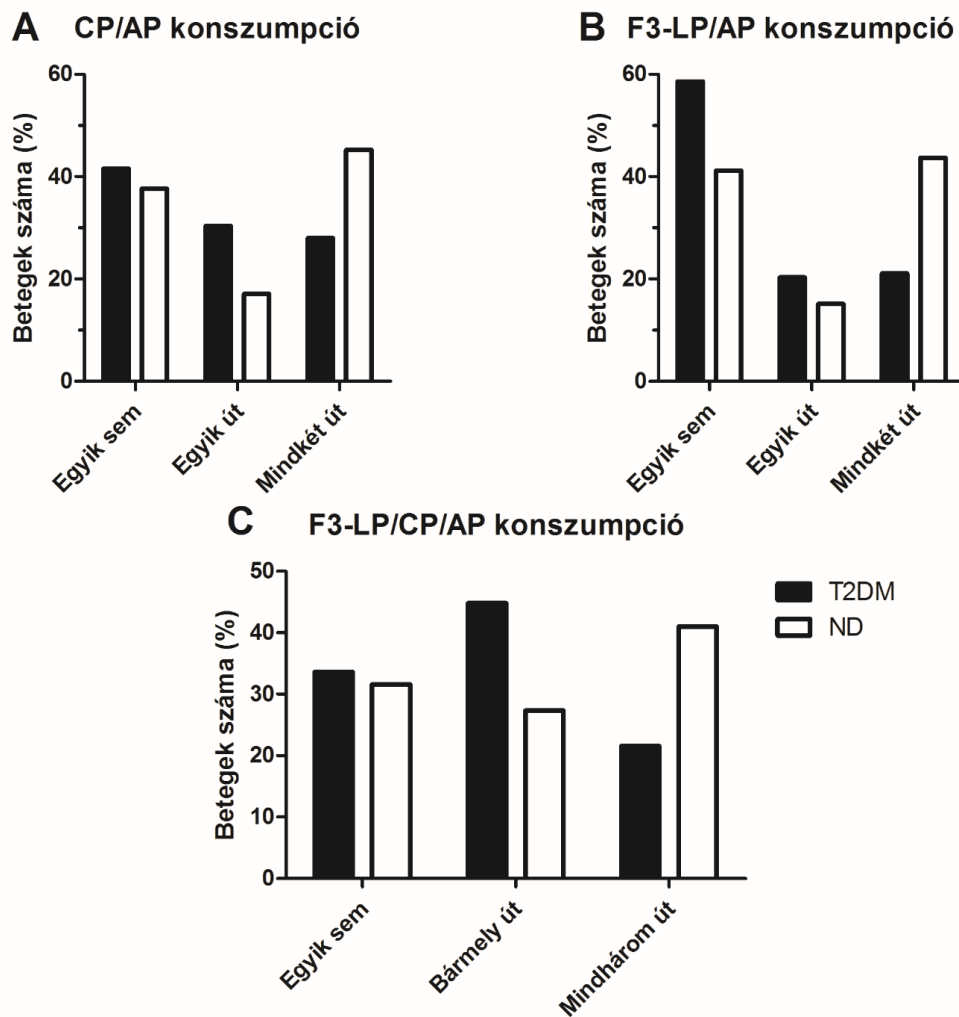
Az "n" az egyének számát jelenti. Az értékek **mediánt** [25-75% percentilis] jelölnek.

Konc.: koncentráció. A változók összehasonlítása Mann-Whitney próbával történt.

Komplement paraméterek (referencia tartomány)	T2DM (n=197)	ND (n=196)	Szignifikancia
F3-LP - % (25-130%)	64 [25-111]	45 [16-92]	p=0,0354
F3 konc. - µg/mL (3-54 µg/mL)	36 [24-56]	34 [22-52]	NS
F1 konc. - ng/mL (10–1890 ng/mL)	558 [354-983]	568 [327-943]	NS
F2 konc. - µg/mL (1,00–12,20 µg/mL)	1,60 [1,01-2,39]	1,50 [0,94-2,40]	NS
MBL-LP - % (30-130%)	73 [5-116]	50 [5-111]	NS
MBL konc. - ng/mL (0–5000 ng/mL)	982 [178-2082]	888 [285-1963]	NS
AP - % (70-125%)	75 [18-98]	28 [0-92]	p=0,0013
CP (CH50) – U/mL (48-103 U/mL)	30,00 [13-63]	30,00 [13-60]	NS
C1-inhibitor – g/L (0,15-0,30 g/L)	0,30 [0,26-0,34]	0,27 [0,22-0,31]	p<0,0001
C3 konc. - g/L (0,90-1,80 g/L)	1,87 [1,59-2,18]	1,76 [1,46-2,17]	p=0,0482
C4 konc. - g/L (0,15-0,55 g/L)	0,43 [0,34-0,52]	0,42 [0,33-0,53]	NS
C4d konc. - µg/mL (0,70-6,30 µg/mL)	6,51 [4,27-10,75]	7,87 [5,5-11,61]	p=0,0063
sC5b-9 konc. - ng/mL (110-252 ng/mL)	457 [341-643]	516 [410-669]	p=0,0022

A konzumpciók részletesebb megértése céljából elemeztük és összehasonlítottuk a két csoport különböző komplementútjainak (CP, AP, F3-LP) párhuzamos aktivációit (3. ábra). A konzumpciót az egyes komplementutak referencia tartományának alsó határa szerint definiáltuk (CP: <48 U/mL, AP: <70%, F3-LP: <25%): „konzumpció hiányának” az ezen határral egyenlő vagy a felett lévő értékek számítottak. Ahogy a 3. ábrán látható, az ND csoport esetén polarizált megoszlást tapasztaltunk: a betegek jelentős hányada esett a konzumpció nélküli alcsoportba (CP/AP során 38%, F3-LP/AP esetén 41%), míg szintén nagy arányban találtunk két útvonalbeli párhuzamos konzumpciót (CP/AP esetén 45%, F3-LP/AP során 44%) (3/A. és /B. ábra). Ezzel szemben a T2DM csoportnál más eloszlás figyelhető meg: CP/AP konzumpció hiánya a betegek 42%-ában, F3-LP/AP hiánya 59%-ukban fordult elő, míg a két útvonal párhuzamos aktivációja CP/AP-ra nézve csak 28%, F3-LP/AP-t tekintve pedig csak 21%-ban mutatkozott. A T2DM betegek esetében az ND csoporthoz viszonyítva szignifikánsan kisebb arányban találtunk párhuzamos konzumpciót F3-LP és AP-ra nézve ($p=0,0007$) (3/B. ábra).

Mindhárom útvonalat együtt vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy párhuzamos aktiváció és konzumpció az ND betegek 48%-ában, míg a T2DM egyéneknek csupán 27%-ában fordult elő; ez szignifikáns eltérésnek bizonyult ($p=0,037$) (3/C. ábra). Ezt a különbséget főleg a cukorbetegség csökkent F3-LP és AP *in vivo* aktivációja magyarázza.



3. ábra: Komplement konzumpció előfordulása a két vizsgálati csoportban.

Az oszlopok a betegek százalékos előfordulását jelölik. **A:** konzumpció nélkül (egyik sem), csak az egyik, vagy mindkét útvonal konzumpciója esetén CP/AP-ra nézve ($p=0,0518$, khi-négyzet próba) **B:** konzumpció nélkül (egyik sem), csak az egyik, vagy mindkét útvonal konzumpciója esetén F3-LP/AP-ra nézve. ($p=0,0007$, khi-négyzet próba) **C:** konzumpció nélkül (egyik sem), bármely, vagy mindhárom útvonal konzumpciója esetén ($p=0,037$, khi-négyzet próba).

A komplement konzumpciót a referencia tartományok alsó határának megfelelően definiáltuk a 9. táblázat szerint. CP: klasszikus útvonal, AP: alternatív útvonal, F3-LP: fikolin-3-mediált lektin útvonal. Khi-négyzet próba a T2DM / ND között 0, 1 vagy több útvonal konzumpcióját tekintve.

5.2.2. F3-LP és AP aktiváció és konzumpció különböző infekció típusokban

Az infekciókat az 5.1.2. fejezetben leírtakhoz hasonlóan anatómiai lokalizáció szerint alcsoportokra osztottuk. Az eredményeinket a 10. és 11. táblázat mutatja. Ismét kiemelendő, hogy az alacsonyabb *in vitro* aktiválhatóság nagyobb *in vivo* aktivációt jelent, és fordítva a nagyobb *in vitro* aktiválhatóság kisebb *in vivo* aktivációra utal.

A T2DM csoport ND-hez viszonyított alacsonyabb *in vivo* F3-LP és AP aktivációja (konzumpció hiánya) legkifejezettebben a húgyúti infekcióknál volt megfigyelhető: F3-LP-re nézve T2DM esetén átlagosan 30%-al magasabb *in vitro* funkcionális aktiválhatóságot mértünk, mint a nem cukorbeteg csoportnál (67% [21–102] vs. 37% [8–79], $p=0,0456$) (10. és 11. táblázat). Húgyúti szepszis esetén ez a különbség szintén látható volt (67% [20–102] vs. 27% [6–73], $p=0,038$, 10. táblázat). A légúti infekcióknál látott hasonló irányú tendencia nem érte el a szignifikancia határát. A többi lokalizációban nem találtunk különbséget a csoportok között F3-LP-t illetően.

AP-t tekintve csökkent *in vivo* aktivációt (magasabb *in vitro* értékeket) tapasztaltunk a cukorbetegség légúti és húgyúti infekcióinál az ND-hez képest (Légútiak: 77% [1-103] vs. 17% [0-71], $p=0,0276$; Húgyútiak: 73% [18-98] vs. 22% [0-83], $p=0,0092$) (11. táblázat).

SSTI esetén nem találtunk különbséget sem az F3-LP, sem az AP aktiválhatóságában a T2DM és az ND csoport között, sőt mindkét esetben számszerűleg a cukorbetegségben volt kisebb az *in vitro* aktiválhatóság, mely nagyobb *in vivo* aktivációra utal (10. és 11. táblázat).

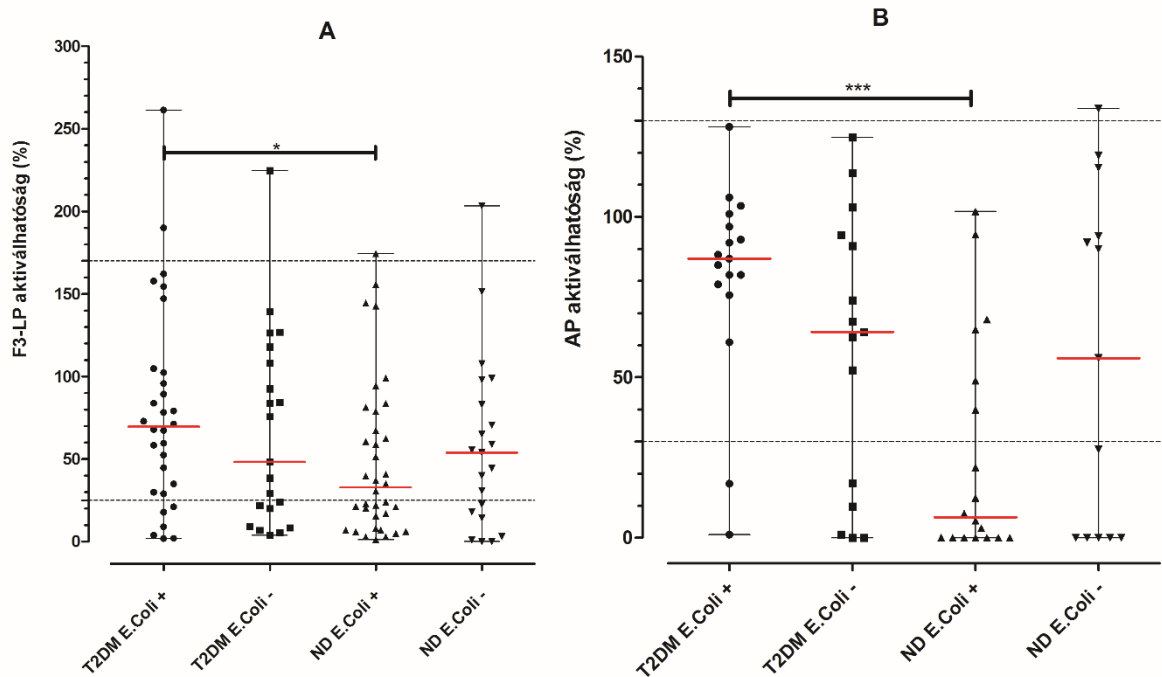
10. táblázat: F3-LP *in vitro* aktiválhatóság az infekciók anatómiai lokalizációi szerint csoportosítva a 2-es típusú diabéteszes (T2DM) és a nem diabéteszes (ND) csoportban
 Az F3-LP *in vitro* aktiválhatóság értékek %-ban értendők. Referencia intervallum: 25-130%. A táblázatban az alacsony esetszám miatt az „Egyéb” infekciók szepszisei nincsenek feltüntetve. SSTI (Skin and Soft Tissue Infection): bőr- és lágyrész-fertőzés. Az „n” az egyének számát jelöli. Az értékek **medián** [25-75% percentilis]-ben értendők. A csoportok összehasonlítása Mann-Whitney próbával történt.

Infekció típus	T2DM (n=197)		ND (n=196)		Szignifikancia
Légúti	Össz.:	67	Össz.:	44	NS
	n=46	[23-132]	n=74	[15-89]	
	Szepszis:	52	Szepszis:	39	NS
	n=31	[12-103]	n=49	[9-74]	
Húgyúti	Össz.:	67	Össz.:	37	p=0,0456
	n=60	[21-102]	n=61	[8-79]	
	Szepszis:	67	Szepszis:	27	p=0,038
	n=40	[20-102]	n=43)	[6-73]	
SSTI	Össz.:	53	Össz.:	68	NS
	n=75	[25-100]	n=47	[18-114]	
	Szepszis:	53	Szepszis:	72	NS
	n=31	[30-85]	n=21	[10-123]	
Egyéb	Össz.:	59	Össz.:	63	NS
	n=16	[21-136]	n=14	[21-117]	

11. táblázat AP *in vitro* aktiválhatóság az infekciók anatómiai lokalizációi szerint csoportosítva a 2-es típusú diabéteszes (T2DM) és a nem diabéteszes (ND) csoportban
 Az AP *in vitro* aktiválhatóság értékek %-ban értendők. Referencia intervallum: 70-125%.
 A táblázatban az alacsony esetszám miatt az „Egyéb” infekciók szepszisei nincsenek feltüntetve. SSTI (Skin and Soft Tissue Infection): bőr- és lágyrész-fertőzés. Az "n" az egyének számát jelöli. Az értékek **medián** [25-75% percentilis]-ben értendők. A csoportok összehasonlítása Mann-Whitney próbával történt.

Infekció típus	<u>T2DM</u> (n=197)		<u>ND</u> (n=196)		Szignifikancia
Légúti	Össz.: 77 n=46 [1-103]	Össz.: 17 n=74 [0-71]			p=0,0276
	Szepszis: 68 n=31 [0-101]	Szepszis: 6 n=49 [0-72]			NS
Húgyúti	Össz.: 73 n=60 [18-98]	Össz.: 22 n=61 [0-83]			p=0,0092
	Szepszis: 67 n=40 [8-96]	Szepszis: 17 n=43 [0-91]			NS
SSTI	Össz.: 77 n=75 [18-89]	Össz.: 82 n=47 [0-102]			NS
	Szepszis: 48 n=31 [6-81]	Szepszis: 6 n=21 [0-102]			NS
Egyéb	Össz.: 68 n=16 [27-110]	Össz.: 32 n=14 [0-106]			NS

A húgyúti infekciónál látott F3-LP és AP-beli szignifikáns különbségek miatt ezt az alcsoportot tovább elemeztük (4. ábra).



4. ábra: F3-LP és AP aktiválhatóság húgyúti infekciók során, pozitív mikrobiológiai tenyésztési eredménnyel rendelkező 2-es típusú diabéteszes (T2DM) és nem diabéteszes (ND) egyéneknél.

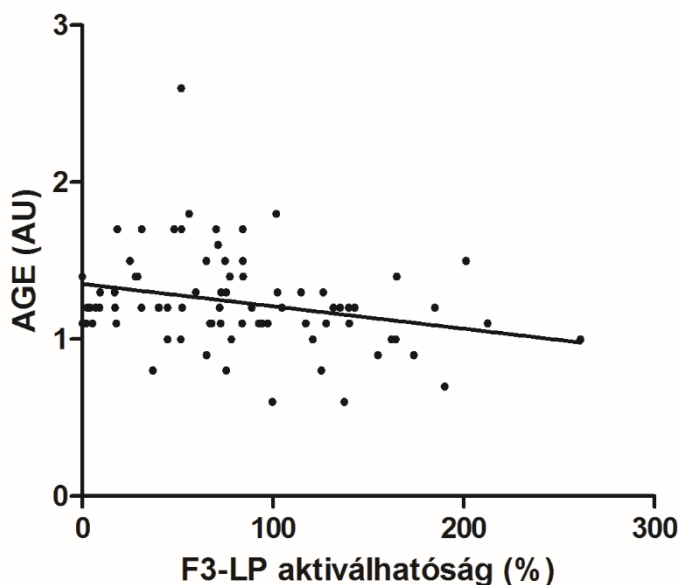
A: F3-LP (*in vitro*) és **B:** AP (*in vitro*) aktiválhatóságok pozitív mikrobiológiai (vizelettenyésztés/hemokultúra) eredményekkel rendelkező húgyúti infekciói esetén, mindkét csoportra nézve. A csoportokat *E. coli* baktérium jelenléte/hiánya szerint alcsoportokra osztottuk. Az F3-LP értékek magasabbak voltak az *E. coli* pozitív tenyésztéssel rendelkező T2DM csoportban, mint az ND betegeknél (70% [30-103] vs. 33% [16-91], $p=0,0286$). AP-ra nézve hasonló eredményt tapasztaltunk (87% [77-99] vs. 6% [0-53], $p=0,0003$).

F3-LP: fikolin-3-mediált lektin útvonal, AP: alternatív útvonal. A csoportok összehasonlítása Mann-Whitney próbával történt. *: $p<0,05$, ***: $p<0,001$. A vízszintes szaggatott vonalak a referencia tartományok határait jelölik, a vízszintes piros vonal az értékek mediánjait.

A 4. ábra A panelén látható, hogy az F3-LP *in vitro* aktiválódás magasabb (*in vivo* értékekre vetítve tehát alacsonyabb) volt azon cukorbetegben, akiknek mikrobiológiai (vizelettenyésztés/hemokultúra) eredményük *Escherichia coli* baktériumot (*E. coli*) tartalmazott, mint a hasonló infekcióban szenvedő ND betegekéi (70% [30–103] vs. 33% [16–91], $p=0,0286$). Hasonló, még kifejezettebb különbséget találtunk AP vonatkozásában is (87% [77–99] vs. 6% [0–53], $p=0,0003$; 4. ábra B panel). A nem *E. coli*-mediált húgyúti fertőzéseknél ilyen eltérés nem látszódott egyik komplementút vonatkozásában sem (4. ábra).

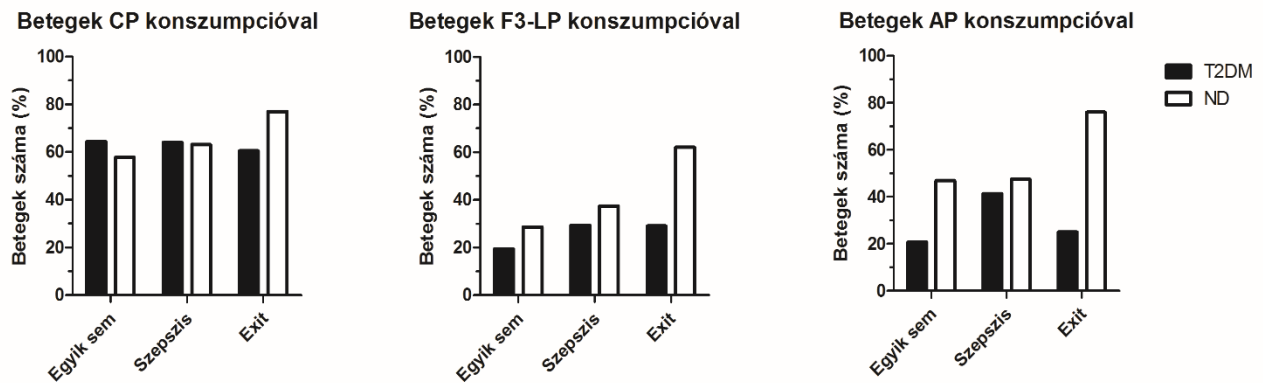
5.2.3. A komplement aktiváció klinikai paraméterekkel és halálzással való összefüggése

A komplement aktiváció és a klinikai, beleértve a glikációs paraméterek viszonyának meghatározására Spearman korrelációt végeztünk. Sem az F3-LP, sem az AP nem mutatott összefüggést a vércukorszinttel, a fruktózámmal, vagy a HbA_{1c}-vel, azonban a T2DM csoportban gyenge, de szignifikáns inverz korrelációt tapasztaltunk az F3-LP és a hosszútávú glikációs marker, az AGE között ($p=0,0143$, $r = -0,2765$, 5. ábra).



5. ábra: Az F3-LP *in vitro* aktiválhatóság és az AGE viszonya 2-es típusú diabéteszes betegekben. $p=0,0143$, $r = -0,2765$. F3-LP: fikolin-3-mediált lektin út, AGE: késői glikációs végtermékek (Advanced Glycation End Products).

Halálozásbeli különbséget nem találtunk a két csoport között (2. és 7. táblázat), azonban a T2DM betegek F3-LP és AP aktiváció/konzumpció hiánya összefüggést mutatott a 3 hónapos mortalitással (F3-LP esetén $p=0,012$ és AP esetén $p=0,025$, 6. ábra): míg a meghalt ND betegek esetén a CP, F3-LP és AP aktiváció a betegek 77, 62 és 76%-ában fordult elő, ez a tendencia a T2DM csoport esetén nem látszódott. Az elhunyt cukorbeteg 60%-ában megfigyelhető volt CP aktiváció és konzumpció, míg F3-LP-re nézve mindez csak 29%, AP-t illetően pedig 25% volt (6. ábra). Szepszist illetően komplement konzumpció előfordulásbeli különbséget nem találtunk a két csoport között (6. ábra).



6. ábra: Konzumpció előfordulása 2-es típusú diabéteszes (T2DM) és nem diabéteszes (ND) betegekben.

Az oszlopok a betegek százalékos előfordulását jelölik klasszikus (bal oldal), F3-LP (középső) és AP konzumpcióra nézve, szepszís és 3 hónapos mortalitás alapján alcsoportokra bontva. Az „Exit” csoport az összes halálesetet magában foglalja, függetlenül a szepszís meglététől vagy hiányától. Bal panel: nem szignifikáns ($p=0,278$), középső panel: $p=0,012$, jobb panel: $p=0,025$, khi-négyzet próba. CP: klasszikus útvonal, F3-LP: fikolin-3-mediált lektin útvonal, AP: alternatív útvonal.

6. Megbeszélés

A téma - a komplementrendszer működésének vizsgálata bakteriális infekciók kapcsán cukorbetegségben a nem cukorbeteg kontroll csoporthoz hasonlítva – újszerűségét mutatja, hogy a miénkhez kapcsolódó vizsgálati eredmény a nemzetközi irodalomban is alig lelhető fel, klinikai vizsgálatról pedig egyáltalán nincs tudomásunk.

A konzekutív módon bevont betegek száma kellően nagy ahhoz, hogy jellemezhető és összehasonlíthatók legyenek a bakteriális infekció miatt kórházi, belgyógyászati osztályos felvételt igénylő 2-es típusú cukorbeteg a nem cukorbetegekkel. Prospektív vizsgálatunk erőssége a kellően magas betegszám és az, hogy a két csoport között érdemi nemi és életkorbeli különbség nem volt kimutatható. Kutatásunknak nem volt célja az infekciós rizikó meghatározása 2-es típusú cukorbetegségben, így eredményeink nem adnak választ arra a kérdésre, hogy időegység alatt több vagy kevesebb-e az infekció miatti kórházi felvétel 2-es típusú cukorbetegéknél a nem cukorbeteg népességhez képest. A betegekkel való első kontaktusunk sürgősségi centrumon és sürgősségi belgyógyászati osztályon keresztül történt, így a közvetlenül más társzakták fekvőbeteg intézményeibe (sebészet, urológia, légzés- és/vagy keringéstámogatási igény esetén tüdőgyógyászat vagy intenzív osztály) kerülő betegek nem kerülhettek a látóterünkbe. A hematológiai, onkológiai és immunológiai betegek esetén nagy számban fordulnak elő ismeretlen eredetű és/vagy az alapbetegségből adódó fertőzések, illetve ezen kórképek befolyásolhatják a komplementrendszer működését is. Emiatt ezek kizáró diagnózisnak számítottak annak ellenére, hogy a cukorbetegségben ismertén magasabb a malignus betegségek előfordulása [114].

6.1. Klinikai eredmények

A klinikai eredmények a kórházi, belgyógyászati fekvőbeteg felvételt igénylő, területen szerzett, bakteriális infekciók részletesebb elemzéséül szolgálnak 2-es típusú cukorbetegségben, és lehetővé teszik a nem cukorbeteg populáció hasonló infekcióival illetve a nemzetközi vizsgálatokkal való összehasonlítást. A T2DM betegek között a bőr- és légúti fertőzések nagyobb, a légúti infekciók kisebb arányban fordultak elő, mint nem cukorbeteg esetében. Mindkét csoportban a húgyúti fertőzések jelentették a 2. leggyakoribb infekciót. A fertőzést jellemző laborparaméterekben (CRP, PCT, fehérvérsejtszám) és a szepszis gyakoriságában nem volt különbség a két csoport között. A kórokozóspektrumot illetően a cukorbeteg bőr- és légúti fertőzésekben nagyobb számban lehetett egyidejűleg Gram+ és Gram- baktériumokat, a húgyúti fertőzésekben polimikrobás eredetet kimutatni, mint a nem cukorbetegéknél. A csoportok között a kórházi bentfekvés alatti és azt követő háromhónapos halálozás tekintetében sem összességében, sem az egyes infekciókra vonatkozóan nem volt különbség. Mindkét csoportban nagyobb volt a társbetegségek száma a kórházban elhunytak között. A bentfekvés alatti halálozás a cukorbetegéknél a nagyobb felvételi fehérvérsejtszámmal, a nem cukorbeteg esetén a magasabb életkorral állt összefüggésben.

Eredményeinkhez hasonlóan T2DM betegekben a bőr- és légúti fertőzések gyakoribb előfordulását írta le egy nemrégiben megjelent tanulmány, mely bakteriális fertőzés miatt hospitalizált mintegy 8000 izraeli beteg adatait dolgozta fel [21]. *Akirov* és munkatársai azonban velünk ellentétben légúti fertőzésbeli különbséget a két csoport között nem tapasztalt. Kiemelendő, hogy a betegek vizsgálatba történő beválasztása ebben a felmérésben – a miénkhez hasonlóan – sürgősségi és sürgősségi belgyógyászati osztályokról történt. A mi T2DM csoportunknál kiugróan magas volt a bőr- és légúti fertőzések aránya a fenti közlemény adataival összehasonlítva (37,1% vs. 16%) [21]. Vélhetően ez is szerepet játszott a relatíve alacsonyabb légúti fertőzés előfordulással kapcsolatos megfigyeléseinkben. A háttérben állhat még az a körülmény is, hogy a légúti fertőzésben szenvedő betegek súlyosságuk és diagnózisuk alapján más profilú osztályra, illetve intézménybe kerülhettek. Annak a lehetősége is felmerül, hogy cukorbeteg nagyobb valószínűséggel élnek a légúti fertőzések elleni védőoltásokkal (pl.

Pneumococcus, Influenza), azonban az erre vonatkozó vizsgálati adataink utólag nem bizonyultak kellően megbízhatónak, így nem kerültek feldolgozásra. A cukorbeteg fertőzései közül az SSTI-vel talált legerősebb rizikóbeli összefüggést egy másik, az alapellátásban kezelt betegek eredményeit feldolgozó kanadai követéses vizsgálat is [13]. Hazai, nagyszámú, a cukorbeteg bakteriális fertőzéseit felmérő tanulmány tudomásunk szerint nem áll rendelkezésre. Ennek hiányában és a mi eredményünket figyelembe véve nehéz választ adni arra, hogy a hazai cukorbeteg - más országokhoz viszonyítva - nagyobb veszélyben volnának-e a bőr- és lágyrész-fertőzést illetően. Tény, hogy Magyarországon közel háromszor annyi a lábamputációk száma, mint az Európai Unió többi országában, és ennek jelentős része a diabéteszhez köthető [115]. Ezt a szomorú adatot főleg a kevesebb érsebészeti beavatkozásnak tulajdonítják. Ezen túlmenően fontos különbség lehet, a külföldön önálló „lábambulanciák”, valamint a független podiáter szakképesítés megléte is, amik sajnos hazánkban még hiányoznak, illetve kevésbé szervezeten működnek. Nem lehet elégszer hangsúlyozni a primer prevenció fontosságát a diabéteszes láb szövődmények megelőzésében. Fontos továbbá, hogy mindenki számára elérhető legyen a megfelelő érsebészeti kivizsgálás és ellátás. Jelentős előrelépést jelent, hogy 2018-ban - az érintett szakmák bevonásával - külön szakmai irányelv jelent meg a diabéteszes láb diagnosztikájának, terápiájának és megelőzésének vonatkozásában, valamint az elmúlt években hazánkban is elindult a podiáter képzés [116].

A T2DM csoport bőr- és lágyrész-infekciói során a Gram+ és Gram- kórokozók együttes jelenléte, a nem diabéteszesek SSTI-nél a Gram+ baktériumok fordultak elő leggyakrabban. Egy, a bőr- és lágyrész-infekciók kórokozóit jellemző korábbi összehasonlító tanulmány a Gram-negatív kórokozókat inkább a diabéteszes, a Gram-pozitívakat pedig a nem diabéteszes betegekkel hozta összefüggésbe [117]. Ezen túlmenően a nem cukorbeteg infekciói során nagyobb valószínűséggel talált monomikrobiális eredetet, mint cukorbetegben, ami párhuzamba hozható a mi eredményeinkkel. Meg kell jegyezni, hogy nem minden vizsgálat ír le ilyen éles különbséget Gram+ és Gram- patogénekre vonatkozóan, és a bevezetésben említett bangladesi tanulmány is mindkét csoport fertőzéseinek inkább polimikróbás természetéről számol be [43].

A cukorbetegségben fellépő húgyúti infekciók relatíve alacsonyabb monopatógén *E. coli* előfordulásáról már szó esett [36][37][38][118]. Vizsgálatunkban a T2DM csoportban számszerűen kevesebb *E. coli* okozta (monopatógén) húgyúti fertőzés volt a nem diabéteszes csoporthoz képest, a különbség a két csoport között azonban nem bizonyult szignifikánsnak. Vélhetően ez az esetszámmal állhat összefüggésben. Nem elhanyagolható szempont lehet, hogy a betegeink területen szerzett, nem pedig nozokomiális infekciókban szenvedtek, míg az ezzel kapcsolatos nemzetközi eredmények általában nem tesznek különbséget e tekintetben. A cukorbetegéknél talált magasabb polimikrobás eredetű húgyúti fertőzés gyakoriság megfelel a korábbi nemzetközi irodalmi adatoknak [119].

A vizsgálatunk nem mutatott halálozásbeli különbséget a két csoport között (sem a bentfekvés alatti, sem a háromhónapos mortalitást tekintve). Két nemrég publikált nagy betegszámú (901 136 és 29 683) tanulmány hozzánk hasonlóan nem talált eltérést sem a kórházi tartózkodás alatti, sem az azt követő 28. napos mortalitás terén a cukorbeteg és nem cukorbetegek között [27][120]. Korábban, pneumonia miatt kórházba került összesen 29 900 beteg követéses vizsgálatában a cukorbetegéknél rosszabb 30 napos és 3 hónapos mortalitást találtak (*Kornum és mtsai.*) [18]. *Akirov és munkatársai* a már előzőleg említett több, mint 8000 betegre vonatkozó tanulmányában szintén hasonló következtetéseket vont le [21]. Ez a két utóbbi vizsgálat a magasabb halálozást a felvételtől magas vércukorral is összefüggésbe hozta (*Kornum*: ≥ 14 mmol/L [18]; *Akirov*: ≥ 180 mg/dL [21]), azonban a betegek korábbi krónikus glikációs paraméterei és a diabétesztartam nem, vagy csak részben voltak ismertek; az előbbinél pedig a cukorbetegek medián életkora magasabb volt, mint a kontroll csoporté [18]. Nemzetközi adatok alapján a különböző lokalizációjú infekciók közül az SSTI kórházi halálozása általában kisebb, mint a légúti fertőzéseké [18][21][120]. A mi vizsgálatunkban a T2DM csoport leggyakoribb fertőzése az SSTI (nemzetközi adatokhoz képest is kiemelkedő arányban), míg a nem diabéteszes csoportban a légúti volt. A felvételi vércukorszint a T2DM csoportban - az infekció ellenére - legtöbb esetben elfogadhatónak számított (medián 10,8 mmol/L). Ezek részben magyarázhatják, hogy miért nem volt tapasztalható halálozásbeli különbség a két betegcsoport között. Kiemelendő, hogy a nem

cukorbetegünk kórházon belüli mortalitása gyakorlatilag megegyezik *Akirov*-ék eredményeivel (9,9% vs. 10%) [21]. Ez amellet szól, hogy a mi vizsgálatunkban a két betegcsoport azonos kórházon belüli halálozását a cukorbetegek relatíve jobb túlélése okozhatta. Ennek egyik oka az infekció alatt folytatott ellátásuk lehet. Az említett vizsgálatokban nem esik szó az antibiotikus terápiáról, ezek hiányában nehéz erre vonatkozó következtetést levonni [18][21]. A vizsgálatba bevont cukorbetegünk nál naponta többször mértünk preprandiális vércukorszintet, ellátásukat ennek megfelelően módosítottuk, törekedve a közel-normoglykaemia elérésére (preprandiális vércukorszint célérték: 5-8 mmol/L). Egy másik lehetséges tényező a cukorbetegünk relatíve elfogadható HbA_{1c} státusza még úgy is, hogy a HbA_{1c}-t ismerten súlyozottan befolyásolja a mérést megelőző néhány hét átlagos vércukorszintje, így a gyulladás okozta stressz kapcsán mért HbA_{1c} értékeink valószínűleg némiképp még magasabbak is, mint egyébként lennének [121]. Ezek a faktorok mind szerepet játszhattak a T2DM csoport - a fenti vizsgálatok eredményeihez képest - kedvezőbb mortalitási mutatóiban.

Figyelemreméltó eredmény, hogy az életkor a bentfekvés soráni halálozást befolyásoló faktor volt a nem cukorbeteg populációban: az elhunytak között főleg idősebbeket találunk (elhunyt vs. túlélte átlag életkor 80 vs. 71 év). Ugyanakkor az életkornak a hospitalizációs halálozást befolyásoló hatását cukorbetegünk nál nem észleltük, az elhunytak között voltak fiatalabb életkorúak is. A mindkét csoport elhunytjai között észlelt, a túlélőkhöz viszonyított magasabb CCI pontszám nem meglepő, a társbetegségek fokozott jelentőségére hívják fel a figyelmet.

6.2. Komplement eredmények összehasonlítása

A 2-es típusú cukorbetegünk nál bakteriális infekciók esetén csökkent fikolin-3-mediált lektin és alternatív komplement út aktivációt találtunk a nem cukorbetegékhez viszonyítva, míg az MBL-mediált lektin és a klasszikus út esetén nem volt kimutatható különbség a csoportok között.

Az általunk használt F3-LP, MBL-LP, CP vagy AP funkcionális tesztek az adott minta maradék (tartalék / reziduális) TCC képződését detektálják, ami a minták specifikus

aktivátorok (F3-LP: acetilált marha szérumalbumin, MBL-LP: mannóz, CP: immunkomplexek, AP: lipopoliszacharid) által történő *in vitro* komplementút aktiválhatóságán alapul. Tehát a T2DM csoportnál mért magasabb *in vitro* F3-LP és AP aktiválhatóság azt jelzi, hogy a fikolin-3-mediált lektin és az alternatív komplement útvonal a cukorbetegekben *in vivo* nem aktiválódott megfelelően. Ezzel összefüggésben a T2DM betegekben csökkent *in vivo* össz-komplement aktivációra utal az észlelt, az ND csoporthoz viszonyítva kevésbé emelkedett sC5b-9 koncentráció. Továbbá a T2DM csoport *in vivo* csökkent fikolin-3-mediált lektin út aktivációja mellett szól az alacsonyabb C4d (a klasszikus és a lektin útban szereplő C4 aktivációját jelző marker) és a magasabb C1-inhibitor koncentráció is. Mivel a klasszikus út és az MBL-mediált-lektin út aktiválódása a T2DM csoportban hasonló volt az ND-hez képest, a kisebb C4d koncentráció a csökkent F3-LP út aktivációját tükrözi. A T2DM csoportban talált magasabb C1-inhibitor szint - gátló hatás révén - szerepet játszhat a fikolin-3-mediált lektin út csökkent aktivitásában.

Az F3-LP, AP és CP útvonalak együttes analízise során a cukorbetegek csupán 27%-ánál találtuk a három útvonal párhuzamos aktivációját szemben a nem cukorbetegek 48%-ával. Ez a különbség főként a cukorbetegek csökkent F3-LP és AP aktiválódásának volt tulajdonítható.

A fertőzések anatómiai lokalizáció szerinti elemzése azt jelezték, hogy a cukorbetegek *in vivo* F3-LP és AP aktivációi húgyúti infekció során alacsonyabbak voltak, mint a nem cukorbetegéi. A T2DM csoport légúti fertőzéseit tekintve az *in vivo* AP aktiváció szignifikánsan, az F3-LP csupán tendencia-szerűen volt csökkentebb, míg SSTI és egyéb fertőzéseknél nem találtunk komplementút aktivációbeli különbséget a két csoport között. Annak eldöntésére, hogy a fertőzések lokalizációk között megfigyelt F3-LP és AP aktivációbeli különbség háttérében az egyes fertőzéseknek megfelelő eltérő lokalizáció, vagy a különböző kórokozó baktériumok állnak-e, további vizsgálatok szükségesek.

Egyre több, a komplementrendszer a cukorbetegséggel összekapcsoló tanulmány jelenik meg, azonban többségük a diabétesz krónikus komplikációira összpontosít. Egy nemrég megjelent összefoglaló tanulmányban *Ghosh és munkatársai* bemutatták, hogy a fokozott

komplement aktivációnak hatása lehet a cukorbetegséghez társuló vaszkuláris szövődmények patogenezésére [122]. A C3, mint központi molekula, és ennek aktivációja mind mikro- és makrovaszkuláris szövődmények kialakulásához vezethet [123][124][125][126][127]. Figyelemre méltó, hogy magasabb sC5b9 szinteket és azok vesében történő lerakódását találták cukorbetegben, és voltak párhuzamot a diabéteszes nefropátia kialakulásával [128]. Továbbá 2-es típusú cukorbetegben csökkent klasszikus út általi komplement aktivációs kapacitást regisztráltak és hozták azt összefüggésbe az emelkedett szabad sziálsav szintekkel. A szabad sziálsavat így a komplement aktiváció potenciális modulátorának tekintik diabéteszben [129]. Fontos kiemelni, hogy ezekben a vizsgálatokban a betegeket rendre infekciómentes állapotukban válogatták be. A komplementrendszerrel fertőzés során, magas vércukor jelenlétében leíró tanulmányok száma korlátozott. Egy korábbi vizsgálat egészséges donorok hiperglikémiás (glükóz koncentráció: 10–17 mmol/L) állapotából származó szérumát alkalmazva a patogén *Staphylococcus aureus* baktérium és a C3 komplement interakciójának károsodását találta *in vitro* [130]. A kutatásunkhoz hasonló komplex vizsgálatról, mely a bakteriális fertőzések során bekövetkező komplement aktiváció jellemzését célozza meg és hasonlítja össze azt cukorbeteg és nem diabéteszes egyéneknél, nincs tudomásunk. A részletes mérési eredményeink alapján a cukorbeteg bakteriális fertőzés alatti csökkent F3-LP és AP aktivációja nem az alacsonyabb lektin (F1, F2, F3, MBL), C4 vagy C3 szintekből adódott; ezen komplement komponensek antigénikus koncentrációja nem különbözött a csoportok között, illetve C3 tekintetében még magasabb is volt a T2DM betegekben. A diabéteszeseknél talált emelkedettebb C3 koncentráció megfelel a korábbi megfigyeléseknek (noha azok a vizsgálatok is rendre infekciómentes állapotban történtek) [128][130][131]; a jelenség háttere továbbra sem egyértelmű.

A lektin útvonal elemeinek átlagos koncentrációit ezelőtt már meghatározták [98][132][133], a szintjeiket számos tanulmány bakteriális fertőzésekre is megadta (nem cukorbetegben) [134][135][136], ám célzottan, 2-es típusú cukorbetegségre vonatkozó adatok nem állnak rendelkezésre. Nem cukorbetegre vonatkozó mérési eredményeink az itt szereplő értékekkel nagyságrendileg párhuzamba vonhatók [134][135][136]. Fontos hangsúlyozni, hogy ezek a komponensek nem csupán az életkortól, de számos,

alapvetően nem immuneredetű komorbiditástól (pl. iszkémiás stroke, szívelégtelenség) is függenek [133][137][138][139]. Mindezek tükrében eredményeink erősségére hívja fel a figyelmet az, hogy a két vizsgálati betegcsoportunk között Charlson Komorbiditás Index-beli különbség nem volt. A bevezetésben már említettek szerint a cukorbetegségből adódó szövődményekre való statisztikai korrekció vitatott [29][30]. Ezen két ok miatt az eredményeink értékelésekor mi sem törekedtünk a szövődmények statisztikai normalizálására, kivéve, hogy a cukorbetegség meglétét nem számoltuk bele a CCI pontokba. A különböző patogének, valamint a fertőzés súlyosságának a komplement aktivációra gyakorolt potenciálisan eltérő hatásainak részletesebb megítélésére további, ezt célzó vizsgálatok szükségesek.

6.3. Komplement eredmények klinikai paraméterekkel és halálzással való összefüggésének vizsgálata

A csökkent F3-LP aktiváció és AP amplifikációra potenciális magyarázat lehet a komplement elemek harmadlagos szerkezetének és/vagy glikációs mintázatának magas vércukor következtében történő megváltozása, továbbá a magas vércukor fehérje-oligoszacharid kapcsolódásra kifejtett kompetitív gátló hatása. Korábban a magas glükózszinthez társulóan a C3 harmadlagos szerkezetének módosulásáról és a C3-mediált effektor funkciók gátlásáról már beszámoltak [130]. A membránkárosító komplexet (MAC) fiziológiásan gátló hatású komplement regulátor fehérje (CD59) glikáció révén inaktiválódik, így a MAC aktiválódása gátlásoldás révén fokozódhat, ami szerepet játszhat a diabéteszes komplikációk kialakulásában [122][140][141][142]. Az alternatív komplement útvonal elemének, a B-faktornak *in vitro* glikációját szintén leírták, sőt ennek a diabéteszesek csökkent immunválaszában betöltött potenciális szerepét is felvetették [143]. Mindez a mi csökkent AP amplifikációt érintő eredményünkkel összefüggésben állhat. Egy másik *in vitro* vizsgálatban az MBL szénhidrátkötő képességét a magas glükóz koncentrációk (20 mM) jelenlétében károsodottnak találták, okként pedig a fehérje-oligoszacharid kapcsolódás kompetitív gátlódását adták meg [89]. Fikolinokkal kapcsolatos hasonló eredményekről nincs tudomásunk. A fikolinok a lektin komplement útra gyakorolt aktiváló hatására időben később derült fény, a korábbi

vizsgálatok főleg ezért összpontosítanak az MBL-re. Az MBL-mediált lektin út aktiválhatóságában betegcsoportjaink között nem találtunk különbséget, a fikolin-3-mediált lektin *in vivo* aktiválódás azonban a T2DM csoportban csökkentnek bizonyult. Az MBL-hez rendkívül hasonló szerkezetéből adódóan így a fikolin-3-ról is valószínűsíthető, hogy a magas glükóz koncentráció a szénhidrátfelismerő képességét ronthatja a fenti, MBL-el kapcsolatos vizsgálatban találtaknak megfelelően [89]. Megjegyzendő, hogy ezen vizsgálat során a méréseket zsírszövetből származó mintákon végezték, és eredményeik szerint a magas glükóz a klasszikus és az alternatív út aktivációjára nem volt hatással. Ez alapján feltételezhető, hogy a mi AP-t érintő megfigyelésünk hátterében nem a glükóz általi kompetitív gátlás, hanem inkább egyéb, az útvonalak közötti megváltozott szabályozás állhat.

Vizsgálatunkban a vércukorszint, a rövid (fruktózamin), a közepes (HbA_{1c}) és a hosszútávú (AGE) glikémiás markerek a T2DM betegeknél *per se* magasabbak voltak, mint az ND csoportban. Sem az F3-LP, sem az AP aktiváció és/vagy konzumpció esetén nem találtunk egyértelmű összefüggést ezen glikémiás markerekkel, kivéve egy gyenge inverz korrelációt az *in vitro* F3-LP aktiválhatóság és az AGE között, cukorbetegekben. Egy lehetséges magyarázat mindezekre, hogy bár a T2DM csoport ezen paraméterei emelkedettebbek voltak, ám az infekció környéki glikémiás kontrolljuk relatíve jónak mondható volt, mint azt a nem kirívóan magas vércukor, fruktózamin és HbA_{1c} értékeik is mutatják. További, rossz anyagcseréjű és glikémiás paraméterekkel rendelkező betegeket célzó vizsgálatok az általunk találtak okára egyértelműbb magyarázatot hozhat.

A halálozások száma nem különbözött a két csoport között, azonban a fikolin-3-mediált lektin út aktiválódás és az alternatív út amplifikálódás hiánya a T2DM csoportban összefüggésben állt a 3 hónapos halálozással. A két csoport szeptikus betegei nem különböztek egymástól komplement konzumpció előfordulását illetően.

A különböző bakteriális fertőzés típusok közül a legfigyelemre méltóbb különbség a két csoport F3-LP és AP aktivációját illetően a húgyúti infekciók, azon belül is az *E. coli* baktériumhoz kapcsolatok során mutatkozott. A fikolin-3 az egyik leghatékonyabb aktivátora a lektin útvonalnak [104], noha a humán patogénekkal való interakciójáról

keveset tudunk. Korábban csupán egy ritka, opportunista patogénről, a *Hafnia alvei*-ről írták le, hogy képes a fikolin-3 révén aktiválni a komplementrendszer lektin útját [144]. Ezen túlmenően a fikolin-3-at az *Aerococcus viridans* osztódásának gátlásával is kapcsolatba hozták [145]. Az *E. coli* baktériummal való kapcsolódás a mai napig nem teljesen egyértelmű. Egy interakciót vizsgáló tanulmány a *Pasteurella pneumotropica* és két patogén *E. coli* törzs (enteroaggregatív *E. coli* O71 és enteropatogén *E. coli* O111 ab:H2) fikolin-3 által történő immunológiai felismerését dokumentálta [146]. Ezzel szemben mások nem tudtak kötődést kimutatni rekombináns fikolin-3 és négy enteroaggregatív *E. coli* törzs oldallánca között [147]. A T2DM betegek *E. coli* baktériumhoz társult húgyúti fertőzéseinél észlelt, az ND csoporthoz képest csökkent *in vivo* F3-LP aktiváció és AP amplifikáció felveti az *E. coli* törzs fikolin-3 általi komplement aktivációs képességét nem diabéteszes egyéneknél. Ezt – eredményeink alapján - a diabétesz ismeretlen okból kifolyólag károsíthatja. Mindez tovább árnyalhatja a fikolin-3 és az *E. coli* interakciójával kapcsolatos kérdéseket. Le kell szögezni azonban, hogy a vizsgálatunk nem e kérdés megválaszolását célozta. Ezzel párhuzamosan a (pl. glikáció kapcsán) megváltozott H-faktor szintén szerepet játszhat ezirányú megfigyeléseinkben, ismertek továbbá az *E. coli* baktérium komplementrendszer felismerése elől „kibúvó”, vagy azt „megkerülő” stratégiái is: a komplementaktiválódást reguláló fehérjék megkötése, a komplement fehérjékkel való interakció gátlása vagy azok inaktivációja enzimatisz degradáció révén [148].

7. Következtetések

A területen szerzett bakteriális infekció miatt belgyógyászati fekvőbeteg osztályos hospitalizációt igénylő 2-es típusú cukorbetegség és nem cukorbetegség klinikai jellemzőinek és komplement aktiválódásának összehasonlítását célzó kutatásunk jelentős megállapításai az alábbiak:

1. a.) 2-es típusú cukorbetegség esetén a leggyakoribb fertőzés az infekció helyét tekintve a bőr és lágyrész eredetű volt. Az előfordulási gyakoriság a nemzetközi adatokhoz képest is kiemelkedően nagy arányú volt. Mindez a primer prevenció fontosságára és hazai elégtelenségére hívja fel a figyelmet 2-es típusú cukorbetegségben.

b.) A kórokozó spektrumot tekintve a cukorbetegség bőr-és lágyrész-fertőzés kórokozóiként leggyakrabban Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok együttes jelenlétét tudtuk kimutatni, ami különbözött a nem diabéteszes csoport hasonló típusú infekcióihoz képest. Húgyúti fertőzés során nagyobb valószínűséggel talákoztunk polimikrobás infekcióval a cukorbetegség körében.

c.) Nem találtunk különbséget sem a kórházon belüli, sem a felvételt követő 3 hónapos halálozás tekintetében az infekció miatt hospitalizált cukorbetegség és nem cukorbetegség között, mely a hasonló nemzetközi irodalmi adatok támogató bizonyítékeként szolgál. Mindkét típusú mortalitásra vonatkozóan, mindkét csoport elhunytjai között magasabb Charlson Komorbiditás Index pontokat, a nem diabéteszes csoportban ezen túlmenően magasabb életkort regisztráltunk.
2. a.) 2-es típusú cukorbetegségben bakteriális infekció alatt kevésbé emelkedett terminális komplement komplex képződést, és alacsonyabb *in vivo* fikolin-3-mediált lektin és alternatív útvonal aktiválódást tapasztaltunk a nem cukorbetegséghez képest. Az MBL-mediált lektin és a klasszikus útvonal komplement aktiválódása nem különbözött a két csoport között. A fikolin-3-mediált lektin, a klasszikus és az alternatív útvonalakra vonatkozó párhuzamos

konzumpció a cukorbetegség kisebb hányadában volt kimutatható, mint a nem cukorbetegségben. Mindezek arra utalnak, hogy a 2-es típusú cukorbetegség csökkent komplement aktiválásában a fikolin-3-mediált lektin és az alternatív útvonal játszik szerepet.

b.) A cukorbetegség esetén a fikolin-3-mediált lektin és az alternatív útvonalak nem mutattak egyértelmű összefüggést a glikációs paraméterekkel. E két útvonal aktivációja/konzumpciója elmaradt a bentfekvéstől számított 3 hónapon belül elhunyt cukorbetegségben.

8. Összefoglalás

Korábban azt gondoltuk, hogy a bakteriális fertőzések cukorbetegekben gyakoribbak, és nagyobb halálozással járnak, mint a nem-cukorbetegek körében. Az újabb megfigyelések azonban ellentmondásosak. A cukorbeteg fertőzésre adott immunválaszában a komplementrendszer szerepét eddig még nem vizsgálták.

A komplementrendszer lektin útja a baktériumok felszínén lévő oligoszacharidok által aktiválódik, így hipotézisünk szerint a fokozott glikáció diabéteszben a komplement aktiválódás megváltozásához vezethet. Prospektív, obszervációs vizsgálatunk célja az volt, hogy összehasonlítsuk 2-es típusú cukorbeteg és nem cukorbeteg területen szerzett, belgyógyászati osztályos felvételt igénylő bakteriális infekcióit lokalizáció, kórokozó spektrum és halálozás tekintetében. Továbbá, jellemezni és összehasonlítani kívántuk a két csoport komplement aktiválódását mindhárom útvonalra nézve (klasszikus, alternatív és lektin), és összefüggést kívántunk találni a klinikai paraméterekkel és a halálozással.

A cukorbetegéknél a nem cukorbetegekhez képest emelkedettebb bőr- és légyszélőfordulást tapasztaltunk, mely a nemzetközi adatokhoz viszonyítva kiugróan magasnak tűnik. A diabéteszes csoportnál ezen infekció típusban magasabb volt a Gram-pozitív és Gram-negatív kórokozók együttes jelenléte, húgyúti fertőzéseiknél pedig a polimikróbás kórokozó, mint a nem cukorbetegéknél. Halálozásbeli különbséget nem találtunk a két csoport között. A 2-es típusú cukorbeteg esetén alacsonyabb *in vivo* komplement aktiválódást tapasztaltunk a fikolin-3-mediált lektin és az alternatív utakra nézve, mint nem cukorbetegekben. A két útvonal konzumpciójának hiánya külön-külön összefüggést mutatott a 3 hónapos halálozással. A cukorbetegéknél továbbá kevésbé emelkedett terminális komplement aktiválódást észleltünk.

Eredményeink károsodott komplementrendszer mediált immunválaszra utalnak a 2-es típusú cukorbeteg bakteriális infekciói esetén, és felhívják a figyelmet a primer prevenció fontosságára és hazai elégtelenségére a cukorbeteg bőr- és légyszél-fertőzés megelőzésében.

9. Summary

Previously, bacterial infections in patients with diabetes were thought to be more common with higher mortality rates in comparison with non-diabetics. Recent observations, however, are controversial. The role of the complement system in the immune response to bacterial infections of diabetic patients has not yet been investigated.

The lectin complement pathway is activated by oligosaccharides of the bacterial surface, hence, according to our hypothesis, increased glycation in diabetes may lead to an altered complement activation. The aim of our prospective observational study was to compare patients with type 2 diabetes mellitus, hospitalised due to community-acquired bacterial infections, to those of non-diabetics, in terms of infection localisation, pathogen spectrum, and mortality. Furthermore, we aimed to characterize and compare the complement activation and its three pathways (classical, alternative and lectin) between the two groups, and to find a relation with certain clinical parameters and mortality.

The incidence of skin and soft tissue infection in type 2 diabetes was higher than in non-diabetic patients. When compared to international data, this incidence was outstandingly increased. In the diabetic group we found more frequent co-presence of Gram-positive and Gram-negative pathogens in the skin and soft tissue infections, and higher polymicrobial source within the urinary tract infections, when compared to non-diabetics. No difference between the two groups regarding mortality was seen. Lower *in vivo* complement activation was observed regarding ficolin-3-mediated lectin and alternative pathways in patients with type 2 diabetes, than in non-diabetics. Lack of consumption of the two pathways independently associated with the 3-month mortality. In addition, less increased terminal complement activation was observed in the type 2 diabetic group compared to non-diabetics.

Our findings suggest an impaired complement-mediated immune response to bacterial infections among patients with type 2 diabetes mellitus, and draws attention to the importance of primary prevention of the skin and soft-tissue infections along with its insufficiency in Hungary.

10. Irodalomjegyzék

- [1] International Diabetes Federation. (2017) IDF Diabetes Atlas, 8th edn.: 2–146.
- [2] Gaál Z, Hidvégi T, Jermendy G, Kempler P, Winkler G, Wittmann I. (2017) Egészségügyi szakmai irányelv – A diabetes mellitus kórismézéséről, a cukorbetegség antihyperglykaemiás kezeléséről és gondozásáról felnőttkorban. *Diabetol Hungarica*, 25(1): 3–77.
- [3] Carey IM, Critchley JA, Dewilde S, Harris T, Hosking FJ, Cook DG. (2018) Risk of infection in type 1 and type 2 diabetes compared with the general population: A matched cohort study. *Diabetes Care*, 41(3): 513–521.
- [4] Knapp S. (2013) Diabetes and infection: Is there a link? - A mini-review. *Gerontology*, 59(2): 99–104.
- [5] Carfrae MJ, Kesser BW. (2008) Malignant Otitis Externa. *Otolaryngol Clin North Am*, 41(3): 537–549.
- [6] Falagas ME, Alexiou VG, Giannopoulou KP, Siempos II. (2007) Risk Factors for Mortality in Patients With Emphysematous Pyelonephritis: A Meta-Analysis. *J Urol*, 178(3): 880–885.
- [7] Ludwig E. (2008) Húgyúti infekciók diabetes mellitusban. *Orv Hetil*, 149(13): 597–600.
- [8] Khaira A, Gupta A, Rana DS, Gupta A, Bhalla A, Khullar D. (2009) Retrospective analysis of clinical profile prognostic factors and outcomes of 19 patients of emphysematous pyelonephritis. *Int Urol Nephrol*, 41(4): 959–966.
- [9] Tsai FC, Huang YT, Chang LY, Wang JT. (2008) Pyogenic liver abscess as endemic disease, Taiwan. *Emerg Infect Dis*, 14(10): 1592–1600.
- [10] Cheng AC, Currie BJ. (2005) Melioidosis: Epidemiology, pathophysiology, and management. *Clin Microbiol Rev*, 18(2): 383–416.
- [11] Shah BR, Hux JE. (2003) Quantifying the risk of infectious diseases for people with diabetes. *Diabetes Care*, 26(2): 510–513.

- [12] Muller LM, Gorter KJ, Hak E, Goudzwaard WL, Schellevis FG, Hoepelman AI, Rutten GE. (2005) Increased risk of common infections in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Clin Infect Dis*, 41(3): 281–288.
- [13] Abu-Ashour W, Twells LK, Valcour JE, Gamble JM. (2018) Diabetes and the occurrence of infection in primary care: A matched cohort study. *BMC Infect Dis*, 18(1): 67.
- [14] Korbel L, Spencer JD. (2015) Diabetes mellitus and infection: An evaluation of hospital utilization and management costs in the United States. *J Diabetes Complications*, 29(2): 192-195.
- [15] Jackson LA. (2005) Evaluating Diabetes Mellitus as a Risk Factor for Community-Acquired Infections. *Clin Infect Dis*, 41(3): 289–290.
- [16] Davis TME, Weeraratne T, Foong Y, Mason C, Davis WA. (2005) Community-acquired infections in type 2 diabetic patients and their nondiabetic partners: The Fremantle Diabetes Study. *J Diabetes Complications*, 19(5): 259–263.
- [17] Bertoni AG, Saydah S, Brancati FL. (2001) Diabetes and the risk of infection-related mortality in the U.S. *Diabetes Care*, 24(6): 1044–1049.
- [18] Kornum JB, Thomsen RW, Riis A, Lervang H-H, Schonheyder HC, Sorensen HT. (2007) Type 2 Diabetes and Pneumonia Outcomes: A population-based cohort study. *Diabetes Care*, 30(9): 2251–2257.
- [19] Rao Kondapally Seshasai S, Kaptoge S, Thompson A, Di Angelantonio E, Gao P, Sarwar N, Whincup PH, Mukamal KJ, Gillum RF, Holme I, Njølstad I, Fletcher A, Nilsson P, Lewington S, Collins R, Gudnason V, Thompson SG, Sattar N, Selvin E, Hu FB, Danesh J. (2011) Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death. *N Engl J Med*, 364(9): 829–841.
- [20] Magliano DJ, Harding JL, Cohen K, Huxley RR, Davis WA, Shaw JE. (2015) Excess Risk of Dying From Infectious Causes in Those With Type 1 and Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 38(7): 1274–1280.
- [21] Akirov A, Diker-Cohen T, Masri-Iraqi H, Duskin-Bitan H, Shimon I, Gorshtein A. (2018) Outcomes of hyperglycemia in patients with and without diabetes hospitalized for infectious diseases. *Diabetes Metab Res Rev*, 34(7): e3027.

- [22] Benfield T, Jensen JS, Nordestgaard BG. (2007) Influence of diabetes and hyperglycaemia on infectious disease hospitalisation and outcome. *Diabetologia*, 50(3): 549–554.
- [23] Kaplan V, Angus DC, Griffin MF, Clermont G, Scott Watson R, Linde-Zwirble WT. (2002) Hospitalized Community-acquired Pneumonia in the Elderly. *Am J Respir Crit Care Med*, 165(6): 766–772.
- [24] Stegenga ME, Vincent J-L, Vail GM, Xie J, Haney DJ, Williams MD, Bernard GR, van der Poll T. (2010) Diabetes does not alter mortality or hemostatic and inflammatory responses in patients with severe sepsis*. *Crit Care Med*, 38(2): 539–545.
- [25] Tsai CL, Lee CC, Ma MH, Fang CC, Chen SY, Chen WJ, Chang SC, Mehta SH. (2007) Impact of diabetes on mortality among patients with community-acquired bacteremia. *J Infect*, 55(1): 27–33.
- [26] Thomsen RW, Hundborg HH, Lervang H-H, Johnsen SP, Sørensen HT, Schønheyder HC. (2004) Diabetes and outcome of community-acquired pneumococcal bacteremia: a 10-year population-based cohort study. *Diabetes Care*, 27(1): 70–76.
- [27] López-de-Andrés A, de Miguel-Díez J, Jiménez-Trujillo I, Hernández-Barrera V, de Miguel-Yanes JM, Méndez-Bailón M, Pérez-Farinós N, Salinero-Fort MÁ, Jiménez-García R. (2017) Hospitalisation with community-acquired pneumonia among patients with type 2 diabetes: an observational population-based study in Spain from 2004 to 2013. *BMJ Open*, 7(1): e013097.
- [28] Esper AM, Moss M, Martin GS. (2009) The effect of diabetes mellitus on organ dysfunction with sepsis: An epidemiological study. *Crit Care*, 13(1): R18.
- [29] Koh GCKW, Peacock SJ, van der Poll T, Wiersinga WJ. (2012) The impact of diabetes on the pathogenesis of sepsis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 31(4): 379–388.
- [30] Hennekens CH, Buring JE. *Epidemiology in Medicine*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 1987, 287.

- [31] Pearson-Stuttard J, Blundell S, Harris T, Cook DG, Critchley J. (2016) Diabetes and infection: Assessing the association with glycaemic control in population-based studies. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 4(2): 148–158.
- [32] Mor A, Dekkers OM, Nielsen JS, Beck-Nielsen H, Sørensen HT, Thomsen RW. (2017) Impact of Glycemic Control on Risk of Infections in Patients with Type 2 Diabetes: A Population-Based Cohort Study. *Am J Epidemiol*, 186(2): 227–236.
- [33] Leibovici L, Yehezkeli Y, Porter A, Regev A, Krauze I, Harell D. (1996) Influence of Diabetes Mellitus and Glycaemic Control on the Characteristics and Outcome of Common Infections. *Diabet Med*, 13(5): 457–463.
- [34] Bochicchio GV, Bochicchio KM, Joshi M, Ilahi O, Scalea TM. (2010) Acute Glucose Elevation Is Highly Predictive of Infection and Outcome in Critically Injured Trauma Patients. *Trans Meet Am Surg Assoc*, 128(4): 199–205.
- [35] Falciglia M, Freyberg RW, Almenoff PL, D'Alessio DA, Render ML. (2009) Hyperglycemia-related mortality in critically ill patients varies with admission diagnosis*. *Crit Care Med*, 37(12): 3001–3009.
- [36] Brown JS, Wessells H, Chancellor MB, Howards SS, Stamm WE, Stapleton AE, Steers WD, Van Den Eeden SK, McVary KT. (2005) Urologic complications of diabetes. *Diabetes Care*, 28(1): 177–185.
- [37] Ronald A, Ludwig E. (2001) Urinary tract infections in adults with diabetes. *Int J Antimicrob Agents*, 17(4): 287–292.
- [38] Timár László dr. (2007) Diabetes és infekciók. *Diabetol Hungarica*, 15(4): 313-322.
- [39] Wang M-C, Tseng CC, Wu AB, Lin WH, Teng CH, Yan JJ, Wu JJ. (2013) Bacterial characteristics and glycaemic control in diabetic patients with *Escherichia coli* urinary tract infection. *J Microbiol Immunol Infect*, 46(1): 24–29.
- [40] Geerlings SE, Meiland R, van Lith EC, Brouwer EC, Gaastra W, Hoepelman AIM. (2002) Adherence of type 1-fimbriated *Escherichia coli* to uroepithelial cells: more in diabetic women than in control subjects. *Diabetes Care*, 25(8): 1405–1409.

- [41] Malmartel A, Ghasarossian C. (2016) Bacterial resistance in urinary tract infections in patients with diabetes matched with patients without diabetes. *J Diabetes Complications*, 30(4): 705–709.
- [42] Harding GKM, Zhanel GG, Nicolle LE, Cheang M. (2002) Antimicrobial Treatment in Diabetic Women with Asymptomatic Bacteriuria. *N Engl J Med*, 347(20): 1576–1583.
- [43] Karmaker M, Sanyal SK, Sultana M, Hossain MA. (2016) Association of bacteria in diabetic and non-diabetic foot infection – An investigation in patients from Bangladesh. *J Infect Public Health*, 9(3): 267–277.
- [44] National Institute for Health and Care Excellence. (2019) Type 2 diabetes in adults: management | NICE guideline (NG28). www.nice.org.uk/guidance/ng28
- [45] Lassar O. (1904) XI. Ernährungstherapie bei Hautkrankheiten. *Dermatology*, 11(3): 189–209.
- [46] Handmann E. (1911) Über die Ursache der verminderten Resistenz des Diabetikers gegen Infektionen. *Dtsch Arch Klin Med*, (102): 1–14.
- [47] Delamaire M, Maugendre D, Moreno M, Le Goff MC, Allannic H, Genetet B. (1997) Impaired leucocyte functions in diabetic patients. *Diabet Med*, 14(1): 29–34.
- [48] Li J, Jin H-B, Sun Y-M, Su Y, Wang L-F. (2010) KB-R7943 inhibits high glucose-induced endothelial ICAM-1 expression and monocyte-endothelial adhesion. *Biochem Biophys Res Commun*, 392(4): 516–519.
- [49] Takami S, Yamashita S, Kihara S, Kameda-Takemura K, Matsuzawa Y. (1998) High concentration of glucose induces the expression of intercellular adhesion molecule-1 in human umbilical vein endothelial cells. *Atherosclerosis*, 138(1): 35–41.
- [50] Altannavch TS, Roubalová K, Kucera P, Andel M. (2004) Effect of high glucose concentrations on expression of ELAM-1, VCAM-1 and ICAM-1 in HUVEC with and without cytokine activation. *Physiol Res*, 53(1): 77–82.

- [51] Morigi M, Angioletti S, Imberti B, Donadelli R, Micheletti G, Figliuzzi M, Remuzzi A, Zoja C, Remuzzi G. (1998) Leukocyte-endothelial interaction is augmented by high glucose concentrations and hyperglycemia in a NF- κ B-dependent fashion. *J Clin Invest*, 101(9): 1905–1915.
- [52] Taki H, Kashiwagi A, Tanaka Y, Horiike K. (1996) Expression of intercellular adhesion molecules 1 (ICAM-1) via an osmotic effect in human umbilical vein endothelial cells exposed to high glucose medium. *Life Sci*, 58(20): 1713–1721.
- [53] Park CW, Kim JH, Lee JH, Kim YS, Ahn HJ, Shin YS, Kim SY, Choi EJ, Chang YS, Bang BK. (2000) High glucose-induced intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression through an osmotic effect in rat mesangial cells is PKC-NF- κ B-dependent. *Diabetologia*, 43(12): 1544–1553.
- [54] Tater D, Tepaut B, Bercovici J, Youinou P. (1987) Polymorphonuclear Cell Derangements in Type I Diabetes. *Horm Metab Res*, 19(12): 642–647.
- [55] Bybee JD, Rogers DE. (1964) The phagocytic activity of polymorphonuclear leukocytes obtained from patients with diabetes mellitus. *J Lab Clin Med*, 64: 1–13.
- [56] Bagdade JD, Root RK, Bulger RJ. (1974) Impaired Leukocyte Function in Patients with Poorly Controlled Diabetes. *Diabetes*, 23(1): 9–15.
- [57] Bagdade JD. (1976) Phagocytic and microbicidal function in diabetes mellitus. *Acta Endocrinol Suppl (Copenh)*, 205: 27–34.
- [58] Alexiewicz JM, Kumar D, Smogorzewski M, Klin M, Massry SG. (1995) Polymorphonuclear Leukocytes in Non-Insulin-dependent Diabetes Mellitus: Abnormalities in Metabolism and Function. *Ann Intern Med*, 123(12): 919.
- [59] Davidson NJ, Sowden JM, Fletcher J. (1984) Defective phagocytosis in insulin controlled diabetics: evidence for a reaction between glucose and opsonising proteins. *J Clin Pathol*, 37: 783–786.
- [60] Dziatkowiak H, Kowalska M, Denys A. (1982) Phagocytic and bactericidal activity of granulocytes in diabetic children. *Diabetes*, 31(12): 1041–1043.

- [61] Tan JS, Anderson JL, Watanakunakorn C, Phair JP. (1975) Neutrophil dysfunction in diabetes mellitus. *J Lab Clin Med*, 85(1): 26–33.
- [62] Bagdade JD, Nielson KL, Bulger RJ. (1972) Reversible abnormalities in phagocytic function in poorly controlled diabetic patients. *Am J Med Sci*, 263(6): 451–456.
- [63] Wilson RM, Reeves WG. (1986) Neutrophil phagocytosis and killing in insulin-dependent diabetes. *Clin Exp Immunol*, 63(2): 478–484.
- [64] Sato N, Kashima K, Tanaka Y, Shimizu H, Mori M. (1997) Effect of granulocyte-colony stimulating factor on generation of oxygen-derived free radicals and myeloperoxidase activity in neutrophils from poorly controlled NIDDM patients. *Diabetes*, 46(1): 133–137.
- [65] Stegenga ME, van der Crabben SN, Blümer RM, Levi M, Meijers JC, Serlie MJ, Tanck MW, Sauerwein HP, van der Poll T. (2008) Hyperglycemia enhances coagulation and reduces neutrophil degranulation, whereas hyperinsulinemia inhibits fibrinolysis during human endotoxemia. *Blood*, 112(1): 82-89
- [66] Stegenga ME, van der Crabben SN, Dessing MC, Pater JM, van den Pangaart PS, de Vos AF, Tanck MW, Roos D, Sauerwein HP, van der Poll T. (2008) Effect of acute hyperglycaemia and/or hyperinsulinaemia on proinflammatory gene expression, cytokine production and neutrophil function in humans. *Diabet Med*, 25(2): 157–164.
- [67] Hill HR, Augustine NH, Rallison ML, Santos JI. (1983) Defective monocyte chemotactic responses in diabetes mellitus. *J Clin Immunol*, 3(1): 70–77.
- [68] Geisler C, Almdal T, Bennedsen J, Rhodes JM, Kølendorf K. (1982) Monocyte functions in diabetes mellitus. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand C*, 90(1): 33–37.
- [69] Katz S, Klein B, Elian I, Fishman P, Djaldetti M. (1983) Phagocytotic Activity of Monocytes from Diabetic Patients. *Diabetes Care*, 6(5): 479–482.
- [70] Nandy D, Janardhanan R, Mukhopadhyay D, Basu A. (2011) Effect of hyperglycemia on human monocyte activation. *J Investig Med*, 59(4): 661–667.

- [71] Rattan V, Shen Y, Sultana C, Kumar D, Kalra VK. (1996) Glucose-induced transmigration of monocytes is linked to phosphorylation of PECAM-1 in cultured endothelial cells. *Am J Physiol Metab*, 271(4): E711–717.
- [72] Kitahara M, Eyre HJ, Lynch RE, Rallison ML, Hill HR. (1980) Metabolic Activity of Diabetic Monocytes. *Diabetes*, 29(4): 251–256.
- [73] MacCuish AC, Urbaniak SJ, Campbell CJ, Duncan LJ, Irvine WJ. (1974) Phytohemagglutinin transformation and circulating lymphocyte subpopulations in insulin dependent diabetic patients. *Diabetes*, 23(8): 708–712.
- [74] Speert DP, Silva J. (1978) Abnormalities of In Vitro Lymphocyte Response to Mitogens in Diabetic Children During Acute Ketoacidosis. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 132(10): 1014.
- [75] Daoud AK, Tayyar MA, Fouda IM, Harfeil NA. (2009) Effects of diabetes mellitus vs. *in vitro* hyperglycemia on select immune cell functions. *J Immunotoxicol*, 6(1): 36–41.
- [76] Liberatore RR Jr, Barbosa SF, Alkimin Md, Bellinati-Pires R, Florido MP, Isaac L, Kirschfink M, Grumach AS. (2005) Is immunity in diabetic patients influencing the susceptibility to infections? Immunoglobulins, complement and phagocytic function in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes*, 6(4): 206–212.
- [77] Lapolla A, Tonani R, Fedele D, Garboglio M, Senesi A, Seraglia R, Favretto D, Traldi P. (2002) Non-enzymatic glycation of IgG: An *in vivo* study. *Horm Metab Res*, 34(5): 260–264.
- [78] Moen JK, Reimann HA. (1933) Immune reactions in diabetes. *Arch Intern Med*, 51(5): 789.
- [79] Richardson R. (1933) Immunity in diabetes: Influence of diabetes on the development of antibacterial properties in the blood. *J Clin Invest*, 12(6): 1143–1149.
- [80] Eibl N, Spatz M, Fischer GF, Mayr WR, Samstag A, Wolf HM, Schernthaner G, Eibl MM. (2002) Impaired primary immune response in type-1 diabetes: Results from a controlled vaccination study. *Clin Immunol*, 103(3 I): 249–259.

- [81] Fiçicioğlu C, Mikla S, Midilli K, Aydın A, Cam H, Ergin S. (1995) Reduced immune response to hepatitis B vaccine in children with insulin dependent diabetes. *Acta Paediatr Jpn Overseas Ed*, 37(6): 687–690.
- [82] Pozzilli P, Arduini P, Visalli N, Sutherland J, Pezzella M, Galli C, Corradini SG, Biasio L, Gale EA, Andreani D. (1987) Reduced protection against hepatitis B virus following vaccination in patients with type 1 (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia*, 30(10): 817–819.
- [83] Alavian S-M, Tabatabaei SV. (2010) The effect of diabetes mellitus on immunological response to hepatitis B virus vaccine in individuals with chronic kidney disease: A meta-analysis of current literature. *Vaccine*, 28(22): 3773–3777.
- [84] Bouter KP, Diepersloot RJ, Wismans PJ, Gmelig Meyling FH, Hoekstra JB, Heijtkink RA, van Hattum J. Humoral immune response to a yeast-derived hepatitis B vaccine in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med*, 9(1): 66–69.
- [85] Muszkat M, Friedman G, Dannenberg HD, Greenbaum E, Lipo M, Heymann Y, Zakay-Rones Z, Ben-Yehuda A. (2003) Response to influenza vaccination in community and in nursing home residing elderly: relation to clinical factors. *Exp Gerontol*, 38(10): 1199–1203.
- [86] Hostetter MK. (1990) Handicaps to Host Defense: Effects of Hyperglycemia on C3 and *Candida albicans*. *Diabetes*, 39(3): 271–275.
- [87] Karlsson E, Shaat N, Groop L. (2008) Can complement factors 5 and 8 and transthyretin be used as biomarkers for MODY1 (HNF4A-MODY) and MODY3 (HNF1A-MODY)? *Diabet Med*, 25(7): 788–791.
- [88] Davin J, Bouts AH, Krediet RT, van der Weel M, Weening RS, Groothoff J, Out TA. (1997) IgG glycation and function during continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant*, 12(2): 310–314.
- [89] Ilyas R, Wallis R, Soilleux EJ, Townsend P, Zehnder D, Tan BK, Sim RB, Lehnert H, Randeva HS, Mitchell DA.. (2011) High Glucose Disrupts Oligosaccharide Recognition Function Via Competitive Inhibition: A Potential Mechanism for Immune Dysregulation in Diabetes Mellitus. Europe PMC Funders Group. *Immunobiology*, 216(12): 126–131.

- [90] Sarma JV, Ward PA. (2011) The complement system. *Cell Tissue Res*, 343(1): 227–235.
- [91] Falus A, Buzás E, Holub MC, Rajnavölgyi É. *Az immunológia alapjai*. Semmelweis Kiadó, Budapest 2014: 58–71.
- [92] Dunkelberger JR, Song W-C. (2010) Complement and its role in innate and adaptive immune responses. *Cell Res*, 20(1): 34–50.
- [93] Degn SE, Thiel S. (2013) Humoral Pattern Recognition and the Complement System. *Scand J Immunol*, 78(2): 181–193.
- [94] Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD. (2010) Complement: A key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol*. 11(9): 785-797.
- [95] Cohen D, Colvin RB, Daha MR, Drachenberg CB, Haas M, Nickleit V, Salmon JE, Sis B, Zhao MH, Bruijn JA, Bajema IM. (2012) Pros and cons for C4d as a biomarker. *Kidney Int*, 81(7): 628–639.
- [96] Paréj K, Dobó J, Závodszky P, Gál P. (2013) The control of the complement lectin pathway activation revisited: Both C1-inhibitor and antithrombin are likely physiological inhibitors, while α 2-macroglobulin is not. *Mol Immunol*, 54(3–4): 415–22.
- [97] Endo Y, Matsushita M, Fujita T. (2011) The role of ficolins in the lectin pathway of innate immunity. *Int J Biochem Cell Biol*, 43(5): 705–712.
- [98] Garred P, Genster N, Pilely K, Bayarri-Olmos R, Rosbjerg A, Ma YJ, Skjoedt MO. (2016) A journey through the lectin pathway of complement—MBL and beyond. *Immunol Rev*, 274(1): 74–97.
- [99] Endo Y, Nakazawa N, Liu Y, Iwaki D, Takahashi M, Fujita T, Nakata M, Matsushita M. (2005) Carbohydrate-binding specificities of mouse ficolin A, a splicing variant of ficolin A and ficolin B and their complex formation with MASP-2 and sMAP. *Immunogenetics*, 57(11): 837–844.
- [100] Matsushita M. (2009) Ficolins: Complement-activating lectins involved in innate immunity. *J Innate Immun*, 2(1): 24–32.

- [101] Endo Y, Iwaki D, Ishida Y, Takahashi M, Matsushita M, Fujita T. (2012) Mouse ficolin B has an ability to form complexes with mannose-binding lectin-associated serine proteases and activate complement through the lectin pathway. *J Biomed Biotechnol*, 2012: 1–7.
- [102] Turner MW. (1996) Mannose-binding lectin: The pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol Today*, 17(11): 532–540.
- [103] Ren Y, Ding Q, Zhang X. (2014) Ficolins and infectious diseases. *Virologica Sinica*, 29(1): 25–32.
- [104] Hummelshoj T, Fog LM, Madsen HO, Sim RB, Garred P. (2008) Comparative study of the human ficolins reveals unique features of Ficolin-3 (Hakata antigen). *Mol Immunol*, 45(6): 1623–1632.
- [105] Dobó J, Szakács D, Oroszlán G, Kortvely E, Kiss B, Boros E, Szász R, Závodszyk P, Gál P, Pál G. (2016) MASP-3 is the exclusive pro-factor D activator in resting blood: the lectin and the alternative complement pathways are fundamentally linked. *Sci Rep*, 6(1): 31877.
- [106] Alberti KGMM, Zimmet PZ. (1998) Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*, 15(7): 539–553.
- [107] Seelen MA, Roos A, Wieslander J, Mollnes TE, Sjöholm AG, Wurzner R, Loos M, Tedesco F, Sim RB, Garred P, Alexopoulos E, Turner MW, Daha MR. (2005) Functional analysis of the classical, alternative, and MBL pathways of the complement system: Standardization and validation of a simple ELISA. *J Immunol Methods*, 296(1–2): 187–198.
- [108] Munthe-Fog L, Hummelshoj T, Honoré C, Moller ME, Skjoedt MO, Palsgaard I, Borregaard N, Madsen HO, Garred P. (2012) Variation in FCN1 affects biosynthesis of ficolin-1 and is associated with outcome of systemic inflammation. *Genes Immun*, 13(7): 515–522.

- [109] Munthe-Fog L, Hummelshøj T, Hansen BE, Koch C, Madsen HO, Skjødt K, Garred P. (2007) The impact of FCN2 polymorphisms and haplotypes on the Ficolin-2 serum levels. *Scand J Immunol*, 65(4): 383–392.
- [110] Munthe-Fog L, Hummelshøj T, Ma YJ, Hansen BE, Koch C, Madsen HO, Skjødt K, Garred P. (2008) Characterization of a polymorphism in the coding sequence of FCN3 resulting in a Ficolin-3 (Hakata antigen) deficiency state. *Mol Immunol*, 45(9): 2660–2666.
- [111] Garred P, J. Strøm J, Quist L, Taaning E, Madsen HO. (2003) Association of Mannose-Binding Lectin Polymorphisms with Sepsis and Fatal Outcome, in Patients with Systemic Inflammatory Response Syndrome. *J Infect Dis*, 188(9): 1394–1403.
- [112] Meerwaldt R, Graaff R, Oomen PHN, Links TP, Jager JJ, Alderson NL, Thorpe SR, Baynes JW, Gans ROB, Smit AJ. (2004) Simple non-invasive assessment of advanced glycation endproduct accumulation. *Diabetologia*, 47(7): 1324–1330.
- [113] Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. (1987) A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis*, 40(5): 373–383.
- [114] Giovannucci E, Harlan DM, Archer MC, Bergenstal RM, Gapstur SM, Habel LA, Pollak M, Regensteiner JG, Yee D. (2010) Diabetes and cancer: A consensus report. *Diabetes Care*, 33(7): 1674–1685.
- [115] Behrendt CA, Sigvant B, Szeberin Z, Beiles B, Eldrup N, Thomson IA, Venermo M, Altreuther M, Menyhei G, Nordanstig J, Clarke M, Rieß HC, Björck M, Debus ES. (2018) International Variations in Amputation Practice: A VASCUNET Report. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 56(3): 391–399.
- [116] Jermendy G, Hidvégi T, Pécsvárady Z. (2018) Egészségügyi szakmai irányelv – A diabeteses láb szindrómában szenvedő cukorbetegék ellátása felnőttkorban (klinikai kép, diagnosztika, terápia, megelőzés). *Diabetol Hungarica*, 26(2): 79–116.

- [117] Murali TS, Kavitha S, Spoorthi J, Bhat DV, Prasad AS, Upton Z, Ramachandra L, Acharya RV, Satyamoorthy K. (2014) Characteristics of microbial drug resistance and its correlates in chronic diabetic foot ulcer infections. *J Med Microbiol*, 63(Pt_10): 1377–1385.
- [118] Lye WC, Chan RK, Lee EJ, Kumarasinghe G. (1992) Urinary tract infections in patients with diabetes mellitus. *J Infect*, 24(2): 169–174.
- [119] Kline KA, Lewis AL. (2016) Gram-Positive Uropathogens, Polymicrobial Urinary Tract Infection, and the Emerging Microbiota of the Urinary Tract. *Microbiol Spectr*, 4(2).
- [120] Donnelly JP, Nair S, Griffin R, Baddley JW, Safford MM, Wang HE, Shapiro NI. (2017) Association of diabetes and insulin therapy with risk of hospitalization for infection and 28-day mortality risk. *Clin Infect Dis*, 64(4): 435–442.
- [121] Mortensen HB, Vølund A. (1988) Application of a biokinetic model for prediction and assessment of glycated haemoglobins in diabetic patients. *Scand J Clin Lab Invest*, 48(6): 595–602.
- [122] Ghosh P, Sahoo R, Vaidya A, Chorev M, Halperin JA. (2015) Role of complement and complement regulatory proteins in the complications of diabetes. *Endocr Rev*. 36(3): 272–288.
- [123] Xiao X, Ma B, Dong B, Zhao P, Tai N, Chen L, Wong FS, Wen L. (2009) Cellular and humoral immune responses in the early stages of diabetic nephropathy in NOD mice. *J Autoimmun*, 32(2): 85–93.
- [124] Zhang J, Gerhardinger C, Lorenzi M. (2002) Early complement activation and decreased levels of glycosylphosphatidylinositol-anchored complement inhibitors in human and experimental diabetic retinopathy. *Diabetes*, 51(12): 3499–3504.
- [125] Gerl VB, Bohl J, Pitz S, Stoffelns B, Pfeiffer N, Bhakdi S. (2002) Extensive deposits of complement C3d and C5b-9 in the choriocapillaris of eyes of patients with diabetic retinopathy. *Investig Ophthalmol Vis Sci*, 43(4): 1104–1108.
- [126] Rosoklija GB, Dwork AJ, Younger DS, Karlikaya G, Latov N, Hays AP. (2000) Local activation of the complement system in endoneurial microvessels of diabetic neuropathy. *Acta Neuropathol*, 99(1): 55–62.

- [127] Hess K, Alzahrani SH, Mathai M, Schroeder V, Carter AM, Howell G, Koko T, Strachan MW, Price JF, Smith KA, Grant PJ, Ajjan RA. (2012) A novel mechanism for hypofibrinolysis in diabetes: The role of complement C3. *Diabetologia*, 55(4): 1103–1113.
- [128] Flyvbjerg A. (2017) The role of the complement system in diabetic nephropathy. *Nat Rev Nephrol*. 13(5): 311–318.
- [129] Fujita T, Hemmi S, Kajiwara M, Yabuki M, Fuke Y, Satomura A, Soma M. (2014) Diminished complement-activating capacity through the classical pathway in sera from type 2 diabetes mellitus. *Immunol Invest*, 43(2): 170–181.
- [130] Hair PS, Echague CG, Rohn RD, Krishna NK, Nyalwidhe JO, Cunnion KM. (2012) Hyperglycemic conditions inhibit C3-mediated immunologic control of *Staphylococcus aureus*. *J Transl Med*, 10(1): 35.
- [131] Borné Y, Muhammad IF, Lorés-Motta L, Hedblad B, Nilsson PM, Melander O, de Jong EK, Blom AM, den Hollander AI, Engström G. (2017) Complement C3 Associates With Incidence of Diabetes, but No Evidence of a Causal Relationship. *J Clin Endocrinol Metab*, 102(12): 4477–4485.
- [132] Pağowska-Klimek I, Cedzyński M. (2014) Mannan-Binding Lectin in Cardiovascular Disease. *Biomed Res Int*, 2014: 1–13.
- [133] Sallenbach S, Thiel S, Aebi C, Otth M, Bigler S, Jensenius JC, Schlapbach LJ, Ammann RA. (2011) Serum Concentrations Of Lectin-Pathway Components In Healthy Neonates, Children And Adults: Mannan-binding lectin (MBL), M-, L-, and H-ficolin, and MBL-associated serine protease-2 (MASP-2). *Pediatr Allergy Immunol*, 22(4): 424–430.
- [134] Schlapbach LJ, Aebi C, Hansen AG, Hirt A, Jensenius JC, Ammann RA. (2009) H-ficolin serum concentration and susceptibility to fever and neutropenia in paediatric cancer patients. *Clin Exp Immunol*, 157(1): 83–89.
- [135] Işlak Mutcalı S, Saltoğlu N, Balkan İİ, Özaras R, Yemişen M, Tabak F, Mert A, Öztürk R, Öngören Ş, Başlar Z, Aydın Y, Ferhanoğlu B, Soysal T. (2016) Early Changes of Mannose-Binding Lectin, H-Ficolin, and Procalcitonin in Patients with Febrile Neutropenia: A Prospective Observational Study. *Turkish J Haematol Off*

- J Turkish Soc Haematol, 33(4): 304–310.
- [136] Hansen MB, Rasmussen LS, Pilely K, Hellemann D, Hein E, Madsen MB, Hyldegaard O, Garred P. (2016) The lectin complement pathway in patients with necrotizing soft tissue infection. *J Innate Immun*, 8(5): 507–516.
- [137] Füst G, Munthe-Fog L, Illes Z, Széplaki G, Molnar T, Pusch G, Hirschberg K, Szegedi R, Széplaki Z, Prohászka Z, Skjoedt MO, Garred P. (2011) Low ficolin-3 levels in early follow-up serum samples are associated with the severity and unfavorable outcome of acute ischemic stroke. *J Neuroinflammation*, 8(1): 185.
- [138] Csuka D, Munthe-Fog L, Skjoedt MO, Kocsis A, Zotter Z, Gál P, Varga L, Farkas H, Füst G, Garred P. (2013) The role of ficolins and MASPs in hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Mol Immunol*, 54(3-4):271-277.
- [139] Prohászka Z, Munthe-Fog L, Ueland T, Gombos T, Yndestad A, Förhécz Z, Skjoedt MO, Pozsonyi Z, Gustavsen A, Jánoskúti L, Karádi I, Gullestad L, Dahl CP, Askevold ET, Füst G, Aukrust P, Mollnes TE, Garred P. (2013) Association of ficolin-3 with severity and outcome of chronic heart failure. *PLoS One*, 8(4): e60976.
- [140] Liu F, Sahoo R, Ge X, Wu L, Ghosh P, Qin X, Halperin JA. (2017) Deficiency of the complement regulatory protein CD59 accelerates the development of diabetes-induced atherosclerosis in mice. *J Diabetes Complications*, 31(2): 311–317.
- [141] Qin X, Goldfine A, Krumrei N, Grubissich L, Acosta J, Chorev M, Hays AP, Halperin JA. (2004) Glycation inactivation of the complement regulatory protein CD59: A possible role in the pathogenesis of the vascular complications of human diabetes. *Diabetes*, 53(10):2653-2661.
- [142] Acosta J, Hettinga J, Flückiger R, Krumrei N, Goldfine A, Angarita L, Halperin J. (2000) Molecular basis for a link between complement and the vascular complications of diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(10): 5450–5455.
- [143] Niemann MA, Bhowan AS, Miller EJ. (1991) The principal site of glycation of human complement factor B. *Biochem J*, 274 (Pt 2)(Pt 2): 473–480.

- [144] Michalski M, St Swierzko A, Lukaszewicz J, Man-Kupisinska A, Karwaciak I, Przygodzka P, Cedzynski M. (2015) Ficolin-3 activity towards the opportunistic pathogen, *Hafnia alvei*. *Immunobiology*, 220(1): 117–123.
- [145] Tsujimura M, Miyazaki T, Kojima E, Sagara Y, Shiraki H, Okochi K, Maeda Y. (2002) Serum concentration of Hakata antigen, a member of the ficolins, is linked with inhibition of *Aerococcus viridans* growth. *Clin Chim Acta*, 325(1–2): 139–146.
- [146] Sahagún-Ruiz A, Breda LC, Valencia MM, Elias WP, Munthe-Fog L, Garred P, Barbosa AS, Isaac L. (2015) Studies of the binding of ficolin-2 and ficolin-3 from the complement lectin pathway to *Leptospira biflexa*, *Pasteurella pneumotropica* and Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Immunobiology*, 220(10): 1177–1185.
- [147] Sørensen CA, Rosbjerg A, Jensen BH, Krogfelt KA, Garred P. (2018) The lectin complement pathway is involved in protection against Enteroaggregative *Escherichia coli* infection. *Front Immunol*, 9: 1153.
- [148] Lambris JD, Ricklin D, Geisbrecht B V. (2008) Complement evasion by human pathogens. *Nat Rev Microbiol*, 6(2): 132–42.

11. Saját publikációk jegyzéke

Megjelent közlemények összesített impakt faktora (IF): 9,856

11.1. A disszertáció alapjául szolgáló publikációk

Barkai LJ*, Sipter E*, Csuka D, Prohaszka Z, Pilely K, Garred P, Hosszúfalusi N. (2019) Decreased Ficolin-3-mediated Complement Lectin Pathway Activation and Alternative Pathway Amplification During Bacterial Infections in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *Front Immunol*, 10:509. **IF: 4,716**

(*megosztott első szerzők)

Barkai LJ, Sipter E, Csuka D, Baló T, Nébenführer Zs, Máthé A, Karádi I, Pánczél P, Prohaszka Z, Hosszúfalusi N. (2019) 2-es típusú diabéteszesek és nem-cukorbetegyek területen szerzett, belgyógyászati osztályos felvételt igénylő bakteriális infekcióinak klinikai összehasonlítása. *Orv Hetil*, 160(41): 1623–1632. **IF: 0,564**

11.2. A disszertáció témájától független publikációk

Kempler M, Baló T, Varga É, **Barkai LJ**, Körner A, Pánczél P, Hosszúfalusi N. (2019) Időnként semmi sem az, aminek látszik - A klasszifikáció jelentősége a cukorbetegség kezelésében négy eset kapcsán. *Diabetol Hungarica*, 27(2): 73-78.

Barkai LL, **Barkai LJ**. Pancreatic and islet cell transplantation. In: Tripathi K, Saboo B (szerk.), *Sadikot's International Textbook of Diabetes*. Jaypee Brothers Medical Publishers, New Delhi, London, Panama, 2019: 796-801.

Lukacs K, **Barkai LJ**, Palik E, Szabo AJ, Madacsy L, Hosszúfalusi N. (2016) Primary Hyperlipidemia, Acute Pancreatitis and ketoacidosis in an Adolescent with Type 2 Diabetes. *J Diabetes Metab*, 7: 651.

Szalai B, **Barkai LJ**, Turu G, Szidonya L, Varnai P, Hunyady L. (2012) Allosteric interactions within the AT1 angiotensin receptor homodimer: role of the conserved DRY motif. *Biochem Pharmacol*, 84:477. **IF: 4,576**

12. Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőmnek, Dr. Hosszúfalusi Nóra Tanárnőnek, aki lehetőséget adott bekapcsolódni a kutatásba, és aki az évek alatt folyamatosan támogatott, mentorommá vált. Tőle tanultam meg továbbá azt a kiváló klinikai szemléletet, mely minden bizonnyal egy életen át végigkísér majd.

Köszönettel tartozom Prohászka Zoltán Professzor Úrnak és dr. Csuka Dorottyanak, akik mindvégig segítettek, irányították a komplement mérések lebonyolítását, és akik nélkül számos kulcsfontosságú eredmény értelmezése elképzelhetetlen lett volna. Köszönet továbbá a laboratórium valamennyi dolgozójának, akik a mérésekben részt vettek.

Köszönöm Karádi István és Masszi Tamás Professzor Uraknak, hogy a munka feltételeit biztosították. Hálával tartozom dr. Sipter Emesének, akivel az évek alatt egymást támogatva igyekeztünk leküzdeni az előttünk álló nehézségeket, és aki mindig kiállt mellettem és a közös kutatási projektért. Köszönet továbbá a klinika valamennyi kollégájának, dolgozójának, akik segítettek a munkámat.

Köszönet az EFSD New Horizons Programnak, a Dr. Korányi András Alapítványnak és a Semmelweis Egyetem EFOP Projektjének a kutatás és a Ph.D. munkám támogatásáért.

Végül, de nem utolsó sorban hálásan köszönöm az egész családnak, barátaimnak a lelkesítést, és hogy mindvégig erőt adtak nekem. Nélkülük biztosan nem írhatnám le ezeket a sorokat.