

Szérumfehérjék polimorfizmus vizsgálata
gyulladásos kórképekben:
a humán Fetuin-A rs4917 és rs4918
polimorfizmusainak szerepe kardiovaszkuláris
betegségekben és a mannóz-kötő lektin (MBL2)
polimorfizmusainak vizsgálata systemás lupus
erythematosusban

Doktori értekezés

Dr. Temesszentandrás György István

Semmelweis Egyetem
Molekuláris Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Kalabay László, tanszékvezető egyetemi tanár, az orvostudomány kandidátusa

Hivatalos bírálók: Dr. Tóth-Zsámboki Emese, PhD, főorvos, adjunktus
Dr. Németh Tamás, PhD, egyetemi adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Somogyi Anikó, DSc, egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Nagy György, med. habil. PhD,
osztályvezető főorvos
Dr. Réthy Lajos, med. habil. PhD,
osztályvezető főorvos

Budapest, 2018

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	7
1.1 A humán Fetuin-A (AHSG) rs4917 és rs4918 polimorfizmusainak szerepe kardiovaszkuláris betegségekben.....	7
1.1.2 A szív és érrendszeri betegségek epidemiológiája	7
1.1.3 A Fetuin-A általános leírása	10
1.1.4 A Fetuin-A szerkezete	10
1.1.5 A Fetuin-A funkciói	11
1.1.6 A Fetuin-A szerepe kardiovaszkuláris és egyéb betegségekben	13
1.1.7 A Fetuin-A polimorfizmusai	20
1.2. A Mannóz-Kötő Lektin (MBL2) polimorfizmusainak vizsgálata systemás lupus erythematosusban	23
1.2.1 A komplementrendszer	23
1.2.2. Az MBL szerkezete és funkciója.....	24
1.2.3 Az MBL genotípusai és plazma koncentrációja.....	26
1.2.4 Az MBL, mint betegségre hajlamosító, illetve betegség moduláló tényező	28
1.2.5 A komplementrendszer és SLE	29
2. Célkitűzések	31
3. Csoportok és vizsgálati módszerek	32
3.1 Fetuin-A polimorfizmusok vizsgálatai	32
3.1.1 Kontroll és referencia csoport	32
3.1.2 Myocardialis infarctuson átesett betegek	32
3.2 MBL2 polimorfizmus vizsgálatok.....	33
3.2.1 Vizsgálati csoportok.....	33
3.3 Laboratóriumi módszerek: Fetuin-A	36
3.3.1 Genotipizálás.....	36
3.3.2 Laboratóriumi mérések	36
3.4 MBL2 genotipizálás.....	37
3.5 Statisztikai analízis.....	37
4. Eredmények	38
4.1 rs4917 polimorfizmus vizsgálatával kapcsolatos eredmények	38
4.1.1 Az rs4917 allélikus eloszlása	38
4.1.2 Az rs4917 genotípusainak összehasonlítása és vizsgálata laboratóriumi paraméterek függvényében	39

4.2 rs4918 polimorfizmus vizsgálatával kapcsolatos eredmények	47
4.2.1 Az rs4918 allélikus eloszlása	47
4.2.2 Az rs4918 genotípusainak összehasonlítása és vizsgálata laboratóriumi paraméterek függvényében	48
4.3 MBL2 polimorfizmus vizsgálatok és SLE-vel való összefüggések	56
5. Megbeszélés	62
5.1 A Fetuin-A rs4917 és rs4918 polimorfizmusai.....	62
5.2 MBL2.....	69
6. Következtetések	73
7. Összefoglalás	74
8. Summary	75
9. Irodalomjegyzék	76
10. Publikációk jegyzéke	103
10. 1 A disszertációhoz kapcsolódó közlemények jegyzéke	103
10.2 A disszertációhoz nem kapcsolódó közlemények jegyzéke.....	103
11. Köszönetnyilvánítás.....	107

Rövidítések jegyzéke

- ADRB2 – β_2 -adrenerg receptor
- AHSG – α_2 -Heremans-Schmid glikoprotein
- AKT1/2 – Szerin/treonin protein kináz
- AMPK – AMP-aktivált proteinkináz
- BMI – Body Mass Index (testtömegindex)
- BMP – Bone morphogenetic protein (csont morfogenetikus fehérje)
- C – citozin
- CAC – Coronary Artery Calcification (koronária kalcifikáció)
- CAD – coronary artery disease (koszorúér-betegség)
- CIMT – Carotis Intima Media Thickness ratio (carotis intima-media vastagság)
- CP - Child-Pugh Score (Child-Pugh pontszám)
- CPP – Calciprotein particle (kalciprotein részecske)
- CRP – C-reaktív protein
- CV – Cardiovascular (kardiovaszkuláris)
- CVD – Cardiovascular Disease (kardiovaszkuláris betegség)
- C1 – C1-molekulakomplex
- DNS – dezoxiribonukleinsav
- EDTA – etiléndiamin-tetraecetsav
- ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay (enzimkapcsolt immunoszorbens esszé)
- Erk1/2 – extracelluláris szignál-regulált kináz
- FDA – Food and Drug Administration (Amerikai Gyógyszer- és Élelmiszerellenőrző Hatóság)
- FFA – Free Fatty Acid (szabad zsírsav)
- FMC – Fetuin-Mineral Complex (fetuin-ásványi só komplex)
- FVS – Fehérvérsejtszám
- (e)GFR – (estimated) Glomerular Filtration Rate ((becsült) glomerulus filtrációs ráta)
- EKG – elektrokardiográfia, elektrokardiogram
- G – guanin
- GLUT4 – Glükóz transzporter-4

HbA1c – Hemoglobin A1c

HEK293 – Human Embryonic Kidney 293 cells (humán embrionális vese sejt)

HDL – High Density Lipoprotein (magas sűrűségű lipoprotein)

HOMA-A (IR) – (Homeostatic Model Assessment) inzulinhatás jellemzésére alkalmazott matematikai modell

HOMA-B – (Homeostatic Model Assessment) β -sejt-működés jellemzésére használt matematikai modell

IACV – intraassay koefficiens eltérés

IECV – interassay koefficiens eltérés

IFG – Impaired Fasting Glucose (emelkedett éhomi vércukor)

IFN α - γ – Interferon α - γ

IGF-I – Insulin Like Growth Factor – I (inzulinszerű növekedési faktor – I)

IgG – immunglobulin G

IGT – Impaired Glucose Tolerance (csökkent glükóztolerancia)

IL-1 – Interleukin-1

IL-6 – Interleukin-6

IL-8 – Interleukin-8

InsR – Inzulinreceptor

IRS-1 – inzulin receptor-szubsztrát-1 fehérje

ISZB – Ischaemiás szívbetegség

JNK – c-Jun N-terminális kináz

LD – linkage disequilibrium (kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanság)

LDL – Low Density Lipoprotein (alacsony sűrűségű lipoprotein)

LIF – Leukemia Inhibitory Factor (leukémia gátló faktor)

MASP – mannose-associated serine protease (mannóz kötő lektin asszociált szerin proteáz)

MCP-1 – monocyte chemoattractant protein-1 (monocyta kemoattraktáns fehérje-1)

MI – myocardialis infarctus

Met – metionin

mRNS – messenger ribonukleinsav

NAFLD – Nonalcoholic Fatty Liver Disease (nem alkoholos zsírmáj)

NF- κ B – Nukleáris faktor - κ B, transzkripciós faktor

NK sejt – Természetes ölösejt

NS – Nem szignifikáns

PAD – Peripheral Artery Disease (perifériás érbetegség)

PCR – polymerase chain reaction (polimeráz-lánreakció)

PIK3R1 – phosphatidylinositol-3 kináz

pMI – poszt-myocardiális infarctusos betegek

PPAR- γ – Peroxiszóma proliferátor aktivált receptor- γ

RA – rheumatoid arthritis

RIA – radioimmunoassay

rs – reference SNP (referencia SNP)

SCORE – Systematic COronary Risk Evaluation (szisztémás koronária rizikóbecslés)

Ser – szerin

SLE – szisztémás lupus erythematosus

SNP – Single-nucleotide polymorphism (egyponos nukleotid-polimorfizmus)

STEMI – ST-elevációs miokardiális infarctus

T – timidin

T2DM – 2-es típusú diabetes mellitus

TGF- β – Transforming Growth Factor- β (transzformáló növekedési faktor- β)

Thr – treonin

TLR4 – Toll-like receptor-4

TNF α – Tumor necrosis faktor-alpha

TNFR – tumor necrosis faktor receptor

TRAP – Thrombospondin-related adhesive protein (thrombospondin-rokon adhezív fehérje)

WHO – World Health Organization (Egészségügyi Világszervezet)

1. Bevezetés

Az atherosclerosis egy dinamikus, a szervezet válaszreakcióját is magába foglaló aktív folyamat, az érfalban történő lipid visszatartás, lipid oxidáció és lipid modifikáció által kiváltott nem megfelelően kontrollált krónikus gyulladós folyamat. Az innate és adaptív immunitás szerepe egyértelműnek tekinthető, a hyperlipidémia, egyéb kardiovaszkuláris rizikófaktorok, illetve az alapbetegség jelentősége változó. A krónikus gyulladós kórképekhez társuló másodlagos atherosclerosis és kardiovaszkuláris betegségek kialakulása régóta ismert. Az akut és krónikus gyulladós folyamatok szerepét az atherosclerosis patogenezisében számos vizsgálat alátámasztja. Az akcelerált (felgyorsult) atherosclerosis és a következményes megnövekedett kardiovaszkuláris morbiditás és mortalitás gyulladós hátterének feltárására intenzív kutatások zajlanak. A fejlett országokban általában és hazánkban is a szív és érrendszeri betegségek (atherosclerosis és atheroma, coronária betegségek, myocardialis infarctus, trombembólia, cerebrovaszkuláris betegségek (stroke), perifériás érbetegségek, malignus hipertónia, aorta aneurizma, szívelégtelenség, aritmiák) vezetnek a halálozási statisztikákat. A kardiovaszkuláris megbetegedések száma a fejlett országokban a primer prevenciónak köszönhetően csökkent.

1.1 A humán Fetuin-A (AHSG) rs4917 és rs4918 polimorfizmusainak szerepe kardiovaszkuláris betegségekben

A Fetuin A szérumszintje szív- és érrendszeri betegségek számos rizikófaktorával együtt változik, ezzel kapcsolatban ellentmondásos eredményeket közöltek. Polimorfizmusainak kapcsolata a myocardialis infarctussal, egyes kockázati tényezőkkel még kevésbé ismert.

1.1.2 A szív- és érrendszeri betegségek epidemiológiája

A szív- és érrendszeri megbetegedések által okozott halandóság legfontosabb kockázati tényezői a magasvérnyomás-betegség, a dyslipidémia, az elhízás, a magas

vércukorszint, a dohányzás, a túlzott alkoholfogyasztás, a mozgásszegény életmód és az egészségtelen étrend. Általános, nem befolyásolható kockázati tényezők az életkor, nem, etnikum és az öröklött tényezők.

A WHO 2012-ben több mint 17,5 millióra becsülte a kardiovaszkuláris betegségben elhunytak számát világszerte, ez a szám 2030-ra 23,5 millióra növekedhet. Az American Heart Association [1] részletes statisztikai adatai szerint az Egyesült Államokban 2011-ben minden harmadik halálok szív és érrendszeri betegségből következett be. Több mint 85 millió amerikai állampolgár él valamilyen kardiovaszkuláris betegséggel vagy stroke utáni tünetekkel. A felnőtt afroamerikai lakosok majdnem fele szenved valamilyen szív és érrendszeri betegségben. A kardiovaszkuláris megbetegedések kezelésének direkt és indirekt költségei meghaladták az évi 320 milliárd dollárt. A kardiovaszkuláris betegek közel 20%-a dohányzik, a felnőtt lakosság több mint harmada egyáltalán nem sportol. Általános a felesleges kalóriabevitel: az amerikai felnőtt lakosság közel 70%-a túlsúlyos vagy elhízott. A gyermekek 30%-a túlsúlyos, közülük 13 millió (17%) elhízott. Az amerikai lakosság 40%-ának magas (200 mg/dl feletti) az összkoleszterin-szintje, emellett a felnőtt lakosság 33%-a él magasvérnyomás-betegséggel. A Föld populációi közül az afroamerikai lakosság körében a legmagasabb a magasvérnyomás-betegséggel élők száma. Világszinten nagyjából 1 milliárd ember élt a becslések szerint magas vérnyomással 2000-ben, ez a szám az óta csak emelkedett. A szintén népbetegségnek tekinthető diabétesz prevalenciája 2010-ben 6,4%-ra volt tehető, mintegy 21 millió (a felnőtt lakosság 9%-a) amerikai állampolgár élt igazolt cukorbetegséggel, 35%-uk prediabétesssel, s a megbetegedések száma növekvő tendenciát mutat.

2008-ban a túlsúlyos vagy elhízott felnőtt lakosság becsült száma több mint 1,4 milliárdra tehető világszerte.

Az elmúlt évtizedben a szív és érrendszeri betegségek okozta halandóság csökkenésében a megelőző és gyógyító medicina - magasvérnyomás-betegség, a cukorbetegség és a dyslipidémiák korszerű kezelése, a már kialakult szívkoszorúér-betegségek, pangásos szívelégtelenség, ritmuszavarok és agyérbetegségek gyógyszeres illetve intervenciós terápiája-, az egészséges életmódra való törekvés, a dohányzás visszaszorítása együttesen meghatározó szerepet játszik. A leglátványosabb eredmény az intervenciós kardiológia fejlődésének köszönhető. Hazánkban a várható élettartam növekedés ellenére a szív-érrendszeri halandóság még mindig több mint kétszerese az

EU-15-ök átlagának, az összes halálozás csaknem felét teszik ki [2]. Magyarországon százezer lakosra 779 szív- és érrendszeri halálozás jutott 2012-ben [3].

A klasszikus rizikófaktorok megismerése és az azok alapján kidolgozott rizikóbecslés a beteg kezelésében fontos támpontot nyújt, a kardiovaszkuláris betegség kockázata is viszonylag jól előre jelezhető.

A Framingham-vizsgálat adatbázisának segítségével dolgozták ki koszorúér-betegség rizikófaktorainak kimutatásán túl a koszorúér-esemény bekövetkezésére vonatkozó rizikószint meghatározásának módszerét és standardizált értékeit is. A SCORE rizikóbecslő rendszert, illetve a Heart SCORE-nak nevezett modellt európai populációk körében végzett nagyszámú, prospektív vizsgálatok egyesített adatbázisából hozták létre. Az öt fő rizikófaktor: kor, nem, vérnyomás, dohányzás és koleszterinszint. A VI. Konszenzus Konferencia alapján a magyar ajánlás a súlyos kockázati tényezők közé sorolja a krónikus vesebetegséget (eGFR 30-60 ml/min/1,73 m²) és/vagy proteinuria bármilyen formáját, illetve a metabolikus szindrómát is. Az újabb, különböző betegcsoportokat megcélzó és nagy, populációs vizsgálatok során felfedezett biomarkerek áttörést hoztak a hagyományos kockázati tényezők által nem azonosított magas kockázatú betegek azonosítására. A genetikai varianciák megléte fokozhatja a betegségre való hajlamot, egyes lókuszek egyértelmű összefüggést mutatnak a myocardialis infarctus kockázatával [4], illetve befolyásolhatják a kardiovaszkuláris megbetegedésekben is alkalmazott és egyéb gyógyszerek hatékonyságát is.

A kardiovaszkuláris betegségek tényleges manifesztációja természetesen a klasszikus kockázati tényezőkkel együtt értelmezhető pontosan, a genetikai rizikóbecslés a klasszikus kockázati tényezőkhöz képest additív. Szerepe lehet abban, hogy a rizikót fokozó genetikai variancia megléte esetében felhívja a figyelmet a fokozott prevenció szükségességére. Korábban leírt markereknek tekinthetők a vesefunkció, az anyagcsere egyes paraméterei: mikroalbumin, albumin/kreatinin hányados, eGFR, húgysav, homocisztein és a hemoglobin A1c. Avena és munkatársai nem-genetikai rizikófaktorokként írtak le biomarkereket, mint például CRP, az endothel diszfunkció kialakításában is szerepet játszó TNF α [5], fibrinogén, kemoattraktánsok, metalloproteázok, egyes interleukinok [6]. A CRP szignifikánsan javította a pozitív családi anamnézissel egyetemben a tradicionális rizikófaktorokon alapuló kockázatbecslést [7, 8].

Az új biomarker vizsgálatok egyik igen érdekes, és újabban a szív- és érbeteg egyének kezelésében is sok új információt jelentő eredménye a genetikai varianciák és azok kombinációjának feltérképezése.

1.1.3 A Fetuin-A általános leírása

A Fetuin-A multifunkcionális plazmafehérje. Kai O. Pedersen fedezte fel borjú szérumban először, 1944-ben [9]. A humán homológot évekkel később, egymástól függetlenül J. F. Heremans (1960-ban) [10], illetve K. Schmid és W. Bürgi (1961-ben) izolálta [11]. A molekula eredeti nevét (α_2 -Heremans-Schmid HS glikoprotein, AHSG; Fetuin-A) az első leírók nevének kezdőbetűje után kapta egy évvel később [12].

1.1.4 A Fetuin-A szerkezete

A Fetuin-A fehérje a cisztatin szupercsaládba tartozik. A cisztatinok a C1 cisztein proteázok (papain, calpain, cathepsin és kaszpáz proteázok) klasszikus reverzibilis kompetitív inhibitorai.

A szupercsalád három, cisztein proteáz gátló aktivitással bíró molekulákat magába foglaló családja mellett külön családba soroljuk a cisztatin-szerű szekvenciákat tartalmazó, ám proteáz gátló aktivitással nem bíró fehérjéket, mint például a Hisztidin-gazdag glycoproteint (HRG), Fetuin B-t, kininogént és a Fetuin-A-t. A cisztein proteáz aktivitással bíró molekulák három családjába tartoznak a stefinek (stefin A és B), cisztatinok (cisztatin C, D, S, SA és SN) és kininogének [13].

A Fetuin-A két polipeptid láncból (A és B) áll, diszulfid hidakkal összekapcsolva [14, 15]. A főtális fejlődés során a legtöbb szerv, többek között az agy, csontok, máj, vesék, gasztorintesztinális traktus, légzőszervrendszer, szív- és érrendszer, gonádok és a bőr termel Fetuin-A-t [16, 17]. A születést követően szinte kizárólag a májban és a zsírszövetben termelődik [18].

A plazmában magas koncentrációban megtalálható glikoprotein. Az érett, keringő két peptid láncból álló forma egyláncú prekursorból alakul ki, számos poszttranszlációs

modifikációt - proteolitikus processzálást, komplex glikolizációt, szerin és treonin oldalláncon történő foszforiláció és szulfatációt - követően [19-21].

Az érett Fetuin-A 3 doménből áll. A Fetuin-A aminoterminális cisztatin-szerű 1-es domén részben savmaradékokban gazdag, erősen negatív töltésű, nagy affinitást kölcsönözve ezzel a kalcium foszfátokhoz való kötődéshez [22]. A 2-es doménen három N-glikolizációs hely, és Ser120 pozícióban egy foszforilációs hely található. A 3-as doménen két O-glikolizációs hely található Ser312 pozícióban egy második foszforilációs hellyel egyetemben [21, 23].

A Fetuin-A-t kódoló gén a 3q27 kromoszómán található. Az AHSG gén számos allélvariánsát azonosították, a poszttranszlációs módosítások és allélvariánsok szabályozhatják a Fetuin-A fehérje expressziós szintjét, stabilitását és biológiai aktivitását is. A foszforiláció elengedhetetlen az inzulin receptorral való kölcsönhatáshoz [24-26], míg az ásványi sókkal való kapcsolódáshoz nem tűnik szükségesnek [27].

1.1.5 A Fetuin-A funkciói

A Fetuin-A szerteágazó szerepet tölt be, gyakran ellentétes hatásúakat.

A Fetuin-A negatív akutfázis fehérje. Az akutfázis-reakció során felszabaduló inflammatórikus citokinek (IL-1, IL-6, IL-8, IFN α -, γ , LIF, TNF α , stb.) a máj fehérjeszintézis-mintázatának változásában is szerepet játszanak. Egyes fehérjék szintézise fokozódik (pozitív akutfázis-fehérjék), mások termelődése, így a Fetuin-A termelődése is csökken (negatív akutfázis-fehérjék), s feedback regulációk korlátozzák a választ annak megszűnéséig, amennyiben a kiváltó ok megszűnik. *In vitro* és állatkísérletek eredményei szerint LPS kezelés hatására a Fetuin-A szint csökken [28-31]. Paradox módon azok a szeptikus állapotba juttatott egerek, melyek kiegészítő Fetuin-A kezelést is kaptak, nagyobb eséllyel éltek túl, mint a kiegészítő Fetuin-A kezelést nem kapó társaik [30]. A Fetuin-A védő szerepe annak köszönhető *in vitro* eredmények alapján, hogy a Fetuin-A képes a proinflammatórikus citokinek pl.: IL-1 és TNF termelésének csökkentésére [32, 33]. A Fetuin-A gátolja a TNF termelést, elősegíti a terhesség megmaradását, illetve esszenciális a spermin anti-inflammatórikus

hatásának kifejtéséhez [34]. Nagy esetszámú keresztmetszeti vizsgálatokban leírták, hogy a Fetuin-A plazmaszintje fordítottan korrelál a CRP koncentrációjával egyes betegcsoportokban, elsősorban a tumoros és gyulladásos betegségekben [28], valamint krónikus veseelégtelenségben [35, 36]. Ez utóbbi betegségben a túlélés független prediktora [37]. Vörös Krisztián és munkatársai infarctuson átesett betegekben vizsgálták a Fetuin-A plazmaszintje és gyulladásos paraméterek (rezisztin, TNF α , CRP) között fennálló kapcsolatot. Nem találtak összefüggést a Fetuin-A és az általuk vizsgált gyulladásos paraméterek értékei között [38].

A Fetuin-A 1-es doménjében egy TGF- β kötőhely is található, mely lehetővé teszi, hogy befolyásolja a sejtdifferenciációt és proliferációt [39, 40]. A Fetuin-A a TGF- β és a csont morfogenetikus protein (BMP) természetes antagonistája [39, 40, 41]. A Fetuin-A egyaránt kötődik a TGF- β 1-hez és TGF- β 2-höz, a TGF- β kötött BMP-2, BMP-4 és BMP-6 fehérjékhez nagyobb affinitással. A TGF- β II receptor és a Fetuin-A között szekvencia homológiát találtak, és azt, hogy a Fetuin-A TGF- β receptor II szekvenciahomológ doménje kötődik a csont morfogenetikus protein 2-höz (BMP-2) [39]. AHSR knock out (Fetuin-A $-/-$) egerekben alátámasztották az AHSR reguláló szerepét, az osteoblast sejtek TGF- β /BMP jelátviteli útvonalának gátlása révén [42].

Minerális chaperonként is funkcionál, gátolja az ectopiás kalcifikációt [43, 44]. A hidroxipatit kristályok által kiváltott neutrofil granulocita aktiválódást gátolja [45]. Fenti tulajdonságai révén fontos szerepe van az osteogenezisben és szerepe lehet kardiovaszkuláris betegségek kialakulásában is [46, 39, 40]. *In vitro* opsoninként részt vesz a makrofágok deaktiválásában is [47].

Plasmodium berghei sporozoiták thrombospondin-kapcsolt adhezív proteinjének (TRAP) extracelluláris régiójával kölcsönhatva a Fetuin-A elősegíti a parazita májsejtbe való bejutását [48].

A keringő Fetuin-A mennyiségét számos tényező befolyásolja, így a referenciaértékek meghatározása nem könnyű.

A probléma az egyes kereskedelmi forgalomban kapható Fetuin-A mennyiségi meghatározására szolgáló kiték referencia értékeinek különbözőségeiben van, és abban, hogy a detektáláshoz használt antitestek a Fetuin-A molekula eltérő régióihoz kötődnek.

A jelenleg rendelkezésre álló adatok alapján a Fetuin-A szint kisgyermekkorban a legmagasabb, majd idővel szintje csökken, s felnőttekben változó értékeket mutat [49, 50, 51].

Magas plazmakoncentrációját és számos ligandummal való kölcsönhatását figyelembe véve az albuminhoz hasonlóan szállító és takarító szerepet is tulajdoníthatunk neki [52].

1.1.6 A Fetuin-A szerepe kardiovaszkuláris és egyéb betegségekben

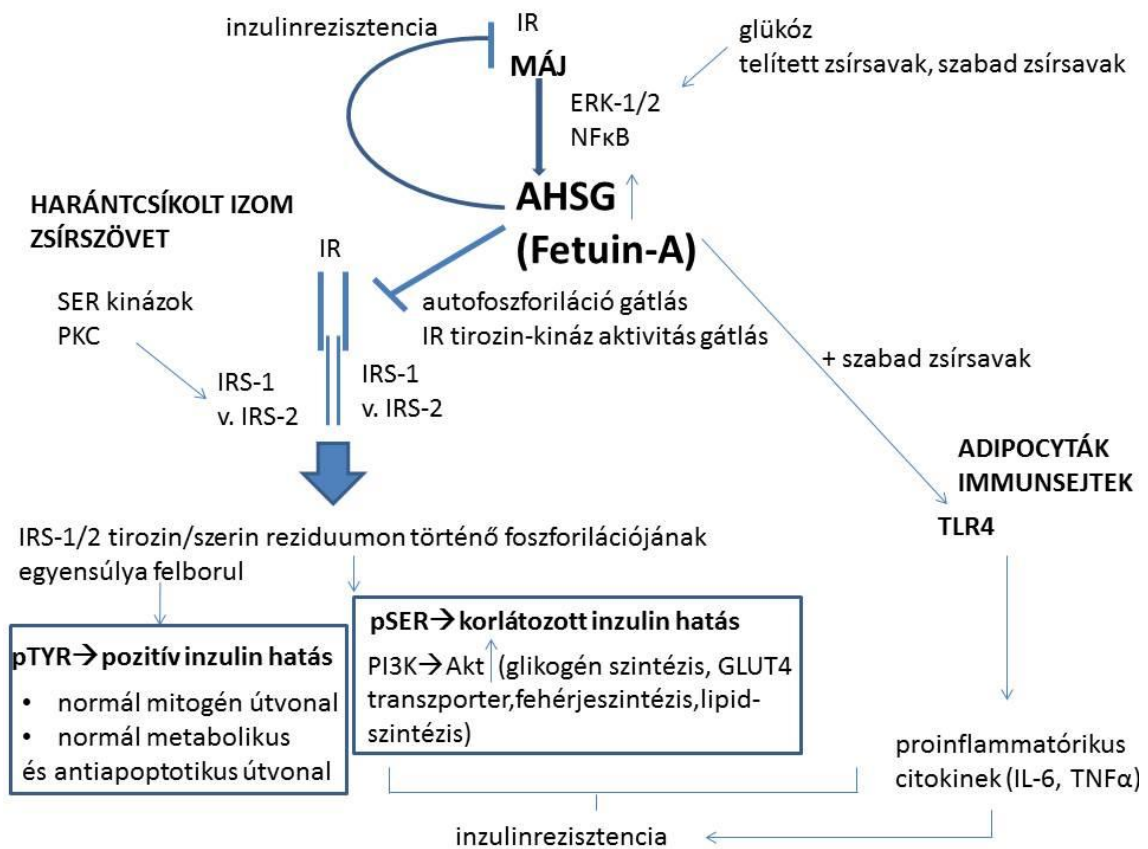
A feleslegesen bevitt kalória, lipidek, bizonyos fertőzések, illetve szepszis okozta gyulladás befolyásolhatják az inzulinra érzékeny szöveteket (máj, izom, zsírszövet, hypothalamus), inzulinrezisztenciát, a jelátviteli útvonalak és a homeosztázis megváltozását okozva. Krónikus metabolikus eltérésekben a Fetuin-A befolyással van az inzulin rezisztencia, 2-es típusú diabetes és kardiovaszkuláris betegségek klinikai lefolyására.

Ismert, hogy a Fetuin-A az inzulin receptor tirozin-kináz fiziológiás inhibitora. Állatkísérletekben gátolja mind az inzulin receptor, mind az inzulin receptor-szubsztrát-1 fehérje (IRS-1) autofoszforilációját [24, 53]. Hepatoma sejtekben gátolja az IRS-1 asszociációját phosphatidylinositol-3 kináz (PIK3R1) p85 alegységéhez [54]. Inzulinreceptor (InsR) transzfektált HEK293 sejtekben kimutatták, hogy az inzulinreceptor aktivációja által kiváltott metabolikus történések antagonistája, anélkül, hogy befolyásolná magát az inzulinkötést [55]. Az inzulinreceptor β -alegységéhez való kötődést követően a Fetuin-A az Erk1/2 mitogén hatását gátolja, egér myoblast sejtekben az Akt1/2 útvonalat és a Glut4 transzporter transzlokációját is gátolja [55]. A Fetuin-A rekombináns formájának és plazmából tisztított formájának inzulinreceptor gátló aktivitásában jelentős, mintegy 100-szoros különbséget találtak [56, 57].

AHSG knock-out egerekben az inzulin receptor magasabb alapaktivitása és inzulin stimulálta foszforilációja volt kimutatható. Rekombináns Fetuin-A adására az inzulinszenzitivitás jelentősen javult [58]. Humán adatok azt támasztják alá, hogy májban kumulálódó zsír mennyiségével és az ezt kísérő egyre magasabb Fetuin-A-szinttel párhuzamosan csökken az inzulinérzékenység is [59], és ez a 2-es típusú diabetes kialakulásának fokozott kockázatát jelenti [60]. Szénhidrátanyagcsere-zavarokban betöltött szerepe nemcsak inzulinreceptor-gátló funkciója alapján merült fel.

A szabad zsírsavak TLR4 útvonalon keresztül gyulladáscitokinek expresszióját stimulálják adipocytákban, inzulinrezisztencia kialakulásához vezetve. A korábbi eredmények azt sugallták, hogy a szabad zsírsavak nem közvetlenül kötődnek a TLR4 receptorhoz, hanem közrejátszhat egy endogén ligandum is. Pal és munkatársai AHSZG knock-out egerekben kimutatták, hogy a Fetuin-A endogén ligandumként szerepet játszik a lipidek által indukált inzulinrezisztencia kialakításában TLR4-NF- κ B útvonalon keresztül [61]. Ugyanezt embereken, statisztikai úton Norbert Stefan is leírta [62]. A szabad zsírsavak és glükóz hatására a májban a Fetuin-A expressziója fokozódik [63], a Fetuin-A az MCP-1 (monocytá kemoattraktáns protein-1) mellett kemokinként fokozza a zsírszövetbe vándorló makrofágok számát, s ott M1-proinflammatorikus makrofággá polarizálódását is elősegíti. Mindezen folyamatokon keresztül a korábban gondolthoz képest nagyobb mértékben hozzájárul az obezitás-indukálta gyulladás, illetve inzulinrezisztencia kialakulásához [64].

Az 1. ábrán a fokozott Fetuin-A termelés következményeit és metabolikus hatásait foglaltuk össze.



1. ábra – az emelkedett vércukorszint (ERK-1/2 jelátviteli útvonal aktiválásán keresztül), a magas telített zsírsav szint (NFκB aktiváción keresztül) a Fetuin-A expresszióját fokozza. A Fetuin-A gátolja az inzulinreceptor működését a májban is. A keringő, egyláncú Fetuin-A az inzulinérzékeny szövetek inzulinreceptoraihoz kötve gátolja az inzulinreceptor jelátvitelt. A Fetuin-A gátolja az inzulin receptor ligand indukálta tirozin foszforilációját, illetve az IRS-1 SH2 doménon keresztüli citoplazmatikus toborzását is. Az inzulin jelátvitel legfontosabb útjai a PI3K/Akt és ERK/MAPK utak, melyek sokféle sejtes funkciót szabályoznak pl.: proliferációt, glükóz anyagcserét, apoptózist, intracelluláris transzportot. Amennyiben az IRS-1 szerin vagy tirozin reziduumon történő foszforilációjának egyensúlya zavart szenved (szerinen foszforilált IRS-1 kerül túlsúlyba), a jelátviteli útvonal megváltozása inzulinrezisztencia kialakulásához vezet. A szabad zsírsavak TLR4/NFκB útvonalon proinflammatorikus citokinek termelését indukálják. A Fetuin-A endogén ligandumként mintegy összeköttetést teremt a zsírsavak és TLR4 receptor között. A proinflammatorikus citokinek szintén inzulinrezisztencia kialakulását segítik elő, PKC aktiváción keresztül az IRS-1 szerin foszforilációját okozzák, erősítve a tirozin/szerin foszforiláció balansz eltolódását.

A Fetuin-A elősegíti a trigliceridekbe történő exogén zsírsavbeépülést is [65, 66, 67]. A Heart and Soul vizsgálatban kimutatták, hogy a nem diabéteszes koronária betegekben a magasabb Fetuin-A szint „metabolikus szindrómával” és atherogén lipid profillal korrelál [68, 69, 70].

Számos májbetegségben (krónikus hepatitis, alkoholos és primer biliaris cirrhosis, primer hepatocellularis carcinoma) szintje markáns csökkenést mutat [71, 72, 73]. Májbetegekben, lázas periódusokban és fertőzések alatt a Fetuin-A nem mutatott szoros összefüggést az akut fázis reakcióval, szérum szintje nem csökkent markánsan, ellenben erősen korrelált a máj proteintermelő képességét legjobban jelző prothrombin aktivitással. Kalabay és munkatársai azt is kimutatták, hogy az alacsony Fetuin-A szérum szint a máj cirrhózisban és hepatocelluláris carcinómában szenvedő betegek esetén, a rövidtávon bekövetkező mortalitás indikátorának tekinthető [73].

A Fetuin-A szint pozitívan korrelál a májsejtekben felhalmozódó zsír mennyiségével. Az akkumulálódott zsír mennyiségét mágneses rezonancia spektroszkópiával (MRS)

határozták meg egy olyan vizsgálati csoportban, ahol a családi anamnézisben T2DM szerepelt, a vizsgált betegek BMI $> 27 \text{ kg/m}^2$ volt jellemző, a korábbi diagnózis gestációs diabetes vagy inzulinrezisztencia volt [59]. Az egyik leggyakoribb krónikus májbetegségben, nem alkoholos eredetű zsírmáj (NAFLD) [74] esetében is magasabb Fetuin-A szérumszintet írtak le [18, 75].

Elhízott, már steatosisban szenvedő gyermekekben magasabb Fetuin-A plazmaszintet igazoltak, mint májérintettség nélküli elhízott, illetve egészséges gyermekekben. Stefan és munkatársai így azt a hipotézist állították fel, hogy steatosis hepatis fennállása esetén a Fetuin-A expressziója fokozódik. Feltevésüket állatmodellel is igazolták [59, 76, 77]. Ez alapján felmerül a Fetuin-A lehetséges összekötő szerepe az inzulin-rezisztencia és a zsírmáj kialakulása között.

Egészséges terhességben minden trimeszterben nő a szérum Fetuin-A koncentrációja. A vizsgálati csoportokban a terhesség alatt legmagasabb szérum Fetuin-A szinttel rendelkező nők újszülöttjei alacsonyabb testsúllyal, kisebb testhosszúsággal és kisebb átlagos fejkörfogattal születtek. Elképzelhető, hogy a túl magas Fetuin-A koncentráció már negatív hatásokkal jár. Fiziológiásan a Fetuin-A a normál csontképződés szabályzásában vesz részt [78].

A Fetuin-A adipogén tulajdonságokkal is rendelkezik. *In vitro* és *in vivo* az atheroprotektív hatású adipokin, az adiponektin expresszióját csökkenti [36, 70, 79]. Humán vizsgálatokban a Fetuin-A és adiponektin szérumkoncentrációja között negatív korreláció állt fenn diabetesre hajlamos betegekben (kontroll csoporthoz képest magasabb éhomi vércukorszint, megnövekedett viscerális zsír, magasabb triglicerid szint és alacsonyabb HDL-koleszterin szint volt jellemző) [80], illetve stabil coronariabetegekben is [81]. A magasabb Fetuin-A és alacsonyabb adiponektin szérumkoncentrációknak szerepe lehet az obezitás indukálta inzulinrezisztencia és diabetes kialakulásában [80].

Myocardialis infarctuson átesett betegekben is negatív korrelációt találtak a Fetuin-A és az adiponektin között [38]. Egy húsz éves követéses vizsgálatban kaukázusi származású idősebb emberekben az adiponektin negatívan korrelált BMI-vel, trigliceriddel, pozitívan a HDL koleszterinnel [82]. Habár Mori és munkatársai nem találtak különbséget diabéteszes és nem diabéteszes betegek Fetuin-A plazmaszintje között, a

nem diabéteszes csoportban inzulinrezisztencia leírására alkotott modellben a Fetuin-A pozitívan korrelált a BMI-vel és triglicerid szinttel. A diabéteszes csoportban ez az összefüggés nem volt érvényben [83]. Mori és munkatársai azt is leírták, hogy diabéteszes betegekben a szelektív PPAR γ -agonista pioglitazon kezelés hatására a Fetuin-A plazmaszint csökken, míg metformin hatására nem [84]. Cukorbetegben, a pioglitazon kezelés hatására az adiponektin szint emelkedett, szoros összefüggést mutatva a máj zsírtartalmának csökkenésével és a perifériás szövetek inzulinérzékenységének növekedésével [85]. Több vizsgálat adatait összevetve Lincoff és munkatársai azt találták, hogy a pioglitazont szedő diabéteszes betegek etnikailag diverz csoportjaiban a myocardialis infarctus, stroke és elhalálozás rizikója kisebb, ám a súlyos szívelégtelenség esélye és ebből kialakuló mortalitás kockázata magasabb [86]. PPAR γ növeli az adiponektin szintet és szekrécióját azáltal, hogy stimulálja olyan fehérjék expresszióját, melyek az adiponektin multimer formálódásában és szekréciójában játszanak szerepet. Humán monocyta eredetű sejtvonalban a Fetuin-A kezelés TNF és IL-1 β mRNS expressziót indukált, a visfatin és resistin mRNS expresszióját nem modulálta. *In vitro* differenciáltatott adipocytákban az adiponektin mRNS expressziója csökkent, a Fetuin-A inflammatórikus citokinek expresszióját indukálta [79]. Az adiponektin csökkenti a glukoneogenezist, csökkenti a szabad zsírsavak májba való áramlását, illetve növeli a szabad zsírsavak oxidációját. Az alacsonyabb adiponektin szint elősegíti a máj zsírosodását. Az inzulin növeli az adiponektin expressziót, a TNF α csökkenti az adiponektin gén expresszióját aktiváló fehérjék expressziós szintjét, mint a PPAR γ . A szabad zsírsavak magas szintje mellett a steatosis is fokozza a Fetuin-A termelődését, az emelkedő Fetuin-A szint és a csökkenő adiponektin szint egymással kölcsönhatásban állhat [59, 87].

Elhízás hatására a Fetuin-A expressziója fokozódik.

Két, ketogén diétára adott hízásra való hajlamban eltérő patkány törzset vizsgálva azt találták, hogy a hízásra hajlamos törzsből a Fetuin-A mRNS expresszió fokozott, a ketogén diéta ezekben a patkányokban inzulinrezisztencia kialakulásához vezet [88]. A fentiekkel összhangban áll, hogy AHSZ knock-out egerekben a testsúlygyarapodás ketogén diétával is csak mérsékelt [58].

Nagy esetszámú kohorsz vizsgálatban, idősebb betegekben a magasabb Fetuin-A értékhez gyakrabban társult vizcerális obezitás [89]. Egészséges japán férfiak

vizsgálatakor azt találták, hogy az emelkedett Fetuin-A plazmaszint inzulinrezisztenciához társul [90]. Extrém elhízott betegekben a Fetuin-A szintje szignifikánsan magasabb, mint egészséges kontrollokban [91]. Gyomor bypass műtétet követően a BMI csökkenés mellett a Fetuin-A plazmaszint is alacsonyabbá vált. Rendszeresen sportoló, aktív életmódot folytató férfiakban a Fetuin-A plazmaszint alacsonyabb értéket mutat kevesebbet mozgó kortársaikhoz képest [92]. A fizikai aktivitással való összefüggés a vizsgálatban résztvevők életkorától függetlenül igaz volt.

Az atherosclerosisra szubklinikus gyulladás jellemző. A pentraxinok, különösen a CRP, illetve a fibrinogén keringő szintjének emelkedése kardiovaszkuláris betegségek független rizikófaktorának tekinthető [93].

Krónikus gyulladásos betegségekben (pl. RA), szisztémás autoimmun kórképekben (pl. SLE) az atherosclerosis kialakulása gyorsabb, szövődményei gyakoribbak, mint az egészséges populációban.

Mint fentebb említettük, a Fetuin-A negatív akutfázis fehérje. Szérum szintjének összefüggése egyéb faktorokkal, magával az atherosclerosisral nem feltétlenül oki kapcsolat, a metabolikus eltéréseket kísérő szubklinikus gyulladás is állhat a háttérben. Az életkor előrehaladtával és atherogén tényezők hatására a nagyerek intimájában kalcifikáció alakul ki. A coronaria kalcifikáció a kardiovaszkuláris események független prediktora [94]. A Fetuin-A alacsonyabb szérum szintje az erek kalcifikációjával mutat összefüggést. Védelmet nyújt a patológiás mineralizáció ellen. *In vitro* a kalcium-foszfát precipitációját gátolja, részt vesz a fehérje-ásványkomplex képzésében és stabilizálásában. Albumint és Fetuin-A-t tartalmazó kalciumprotein részecskék nyújtanak védelmet a túltelítődő szérumban bekövetkező *de novo* kikristályosodás ellen. A Fetuin-A az egyike, de nem egyedülje a patológiás mineralizáció inhibitorainak. AHSR knock-out egerek normál fenotípusúnak tűnnek, csak szuprafiziológiás calcitriol és foszfátgazdag etetés mellett alakult ki nephrocalcinosis és pulmonális, myocardialis kalcifikáció [52].

Az alacsonyabb Fetuin-A plazmaszint és ektópiás kalcifikáció összefüggései különböző patofiziológiai állapotokat takarhatnak: egyrészt a csökkent termelés következtében fennálló alacsonyabb Fetuin-A szint ektópiás kalcifikáció kialakulását eredményezheti, másrészt a fokozott kalcifikációval járó állapotokban a Fetuin-A megnövekedett

felhasználása okoz alacsony Fetuin-A szintet és ez az alacsony szint kalcifikációs stresszt is jelenthet [22, 95].

A kalciprotein részecskéket a máj Kupffer-sejtjei felveszik, a szérumban hidroxipapatit kristályaihoz képest azonban kevésbé aktiválják a makrofágokat. A kalciprotein részecskék növelik a makrofágokban a scavenger-A receptor expresszióját, hozzájárulva saját eliminálásuk hatékonyságához [46, 96].

A jelenleg rendelkezésre álló és rohamosan növekvő számú adatok birtokában úgy tűnik, hogy a Fetuin-A szerepe igen összetett és sokirányú az atherosclerosis kialakulásának folyamatában.

Egyfelől emelkedett szintje korrelál az atherosclerosis számos rizikófaktorával, másfelől az alacsony Fetuin-A szint mellett fokozott a szérumban hidroxipapatit kristályok érfalban történő lerakódása. Plazmaszintje pozitívan korrelál intima-media vastagsággal, endothel diszfunkcióval egészséges kontrollokban és myocardialis infarctuson átesett, normál vesefunkciójú betegekben. Szérumszintje myocardialis infarctust túlélő betegekben szignifikánsan magasabb, mint egészségesekben [38, 97].

A Fetuin-A plazmaszintje nagy esetszámú keresztmetszeti vizsgálatban coronariabetegségben fordítottan korrelált a coronariameszesedés súlyosságával, függetlenül a hagyományos kardiovaszkuláris kockázati tényezőktől és vesefunkciótól. Ezzel szemben a Fetuin-A szint cIMT-tel (common and internal intima media thickness) és perifériás érbetegség meglétével nem mutatott összefüggést.

Mivel az alacsony Fetuin-A szint a koszorúér-meszesedés súlyosságával mutatott összefüggést, az intima-media vastagsággal és perifériás artériás betegséggel nem, felmerül, hogy a Fetuin-A a szubklinikus coronaria atherosclerosis-sal mutat csak összefüggést, más vaszkuláris atherosclerosis-sal nem [98].

Krónikus vesebetegek esetén nagyobb a kardiovaszkuláris szövődmények kialakulásának esélye, mint normál vesefunkciójú egyéneknél. Ezekben a betegekben kardiovaszkuláris és szöveti kalcifikáció jelentkezik, malnutritio és krónikus gyulladás áll fenn. Mivel alultápláltság esetén romlik a májfunkció, csökken a májfehérjék termelése, így nem meglepő, hogy a Fetuin-A termelése is csökken [37].

Egy kohorsz vizsgálatban több mint 300 hemodialízált beteget vizsgáltak, s megállapították, hogy a Fetuin-A szérumszintjének legalacsonyabb tercilise magas kardiovaszkuláris mortalitással jár [99].

Végstádiumú vesebetegek vizsgálata során a Fetuin-A alacsonyabb plazmaszintje korrelált a mortalitási rizikóval, az alacsony Fetuin-A szint rossz prognózist jelentett. E végstádiumú vesebeteg csoport vizsgálatakor leírtak egy Thr256Ser polimorfizmust is. 256Ser-hordozók esetén alacsonyabb volt a Fetuin-A szérumszintje, 256Thr hordozókéval összevetve [100].

Peritoneális dializált betegek vizsgálata során a Fetuin-A alacsony szérumszintje az alultápláltság-gyulladás (magasabb CRP) fennállásával és a következményes előrehaladott atherosclerosis okozta cardiovascularis történésekkel és ebből következő mortalitással mutatott összefüggést. Ebben a vizsgálatban a billentyűmeszesedés és az alacsony Fetuin-A szint közötti összefüggésre is rámutattak [101].

Egy kisebb dializált betegekből álló kohorsz vizsgálatban szignifikáns összefüggést találtak az alacsony Fetuin-A szint és a coronaria kalcifikáció mértéke között [102]. A fenti megfigyelések alapján dializált betegekben a Fetuin-A alacsony szintje fontos gyulladás-mediált kapocs lehet a cardiovascularis kalcifikáció mértéke és a dializált betegek mortalitása között. Ennek megítélését azonban nehezíti, hogy maga a dialízis is csökkenti a szérum Fetuin-A szintet [103].

A cukorbetegség, illetve egyéb metabolikus kórállapotok egyik gyakori szövődménye a perifériás érbetegség, melyre sokszor jellemző az előrehaladott, több ponton is megjelenő atherosclerosis. A Fetuin-A szérumszintjének összefüggései perifériás érbetegségekkel is társuló betegségekben nehezen megítélhetők, az eredmények ellentmondásosak.

Krónikus alsóvégtagi obliteratív verőérbetegségben szenvedő, nem urémiás betegekben a Fetuin-A szintje negatívan korrelált az atherosclerosis kiterjedésével. A Fetuin-A szint és a kalcifikáció mértéke közti összefüggés független volt a hagyományos rizikótényezőktől [104].

Stabil angina pectorisban szenvedő betegek esetén a Fetuin-A szintje mérsékelten alacsonyabb, akut myocardialis infarctusban szenvedő betegekben szintje kifejezetten csökkent egészséges kontrollokhoz viszonyítva. Akut szívinfarctusban a csökkent Fetuin-A szintet már korábban is leírták [105, 106].

1.1.7 A Fetuin-A polimorfizmusai

Az egy pontos nukleotid polimorfizmus (elterjedt angol nevén Single Nucleotide Polymorphism, SNP) egy olyan DNS-szekvenciavariáció, ami akkor jön létre, ha egy nukleotid megváltozik a genom adott területén. A létrejött variációt csak akkor tekintjük egyedi nukleotid-polimorfizmusnak, ha a populáció legalább 1%-ában megjelenik. A humán genetikai variációk 90%-át a SNP-k teszik ki [107, 108].

Az AHSZ génje a 3q27.3 lókuszon helyezkedik el.

Az AHSZ polimorf, két allélje van, az AHSZ*1 (Thr-248/Thr-256) és az AHSZ*2 (Met-248/Ser-256) [109].

Fontosabb leírt AHSZ polimorfizmusok az rs7633550, rs4917 (Met248Thr), rs4918 (Ser256Thr), rs70961709 és az rs35457250 [110, 111].

Haplotípus analízis során Ota és munkatársai azt találták, hogy az AHSZ génnek alacsony a mutációs rátája, nincsenek apparentis rekombinációs események. A talált szubsztitúciók inhomogéne oszlanak el a lókuszon. Négy nemszinoním szubsztitúció a carboxy-terminális doménre koncentrálódik [111].

Osawa és munkatársai megállapították, hogy Japán egyénekben a két fő AHSZ genotípus közül az AHSZ*2 haplotípusra homozigóták Fetuin-A szérumszintje alacsonyabb és negatívan korrelál a szérum szabad foszfát szintjével [112].

Lavebratt és munkatársai svéd férfiakat vizsgáltak 4 SNP-re, és azt találták, hogy az AHSZ*2 haplotípusra homozigóták nagyobb eséllyel kórosan soványak [115].

Lehtinen és munkatársai megállapították, hogy egy diabéteszes, kaukázusi Egyesült Államok-beli vizsgálati csoportban az AHSZ gén rs4917, rs1029353 és rs4918 szekvenciavariánsai befolyásolják a koszorúsér-meszesedés kiterjedését [116].

A minor allélekre homozigóta genotípusú thaiok esetén pedig összefüggést találtak a vesekő kialakulásával, habár a vizsgált SNP-k allél és genotípus frekvenciája nem mutatott szignifikáns különbséget a beteg és egészséges csoportban [117].

Az EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) -Potsdam prospektív tanulmányban az AHSZ rs2248690, rs2070633, rs2070635 és rs4917 polimorfizmusait genotipizálták, az rs4917 C-allél szignifikáns összefüggést mutatott a MI rizikójával [118, 119].

Három polimorfizmus (rs2248690, rs2077119 és rs4917) mutatott összefüggést a plazma koleszterin szintjével 291 svéd nőt vizsgálva, akiknél az egyik SNP inzulinmediálta lipolízissel is mutatott összefüggést.

Dahlman és munkatársai szerint a Fetuin-A nem erős jelölt az obezitás és diabetes vizsgálatában, ellenben a zsírszövetek lipolitikus funkciójának, zavarának vizsgálatában hasznosnak tűnik [120].

Az rs4918 allélt, mely szinte tökéletes kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanságban (LD) van az rs4917 alléllal, 176 japán egyénben vizsgálták a Fetuin-A szérumszintjével összefüggésben.

Az rs4918 allél szoros összefüggést mutat a Fetuin-A szérumszintjével [114].

Az rs4917 (Met248Thr) és rs4918 (Ser256Thr) polimorfizmusok linkage disequilibriumban vannak egy harmadik variánssal is, az rs2593813 (IVS1-903A>G)-val. Ez utóbbi polimorfizmusról azt találták 504 svéd páciens vizsgálva, hogy önmagában is, vagy haplotípus kombinációban az rs4917 és az rs4918 variánsokkal, túlsúllyal, elhízással hozható kapcsolatba [115].

Egy francia vizsgálatban 1655 résztvevő bevonásával a Fetuin-A-t újraszekvenálták és a gyakori SNP-ket vizsgálták diabétesssel összefüggésben [121] és azt találták, hogy az rs1071592 (Thr270Thr) összefüggést mutat a diabétesssel.

Az AHSG variációinak lehetséges szerepe van a lipolízisben. A rs4917 összefüggést mutat a β_2 -adrenerg receptorhoz (ADRB2) való megnövekedett szenzitivitással a szubkután zsírszövetben 93 svéd férfit vizsgálva. A humán adipocyták számos α - és β -adrenergreceptort expresszálnak, s csak a receptorok egy része ad maximális választ. A receptordenzitás határozza meg az agonisták által kiváltott stimuláció érzékenységét, az alkalmazott agonista koncentrációját a maximális válasz eléréséhez.

A Met-allél-homozigóta férfiak zsírszövetjeinek β_2 -adrenoreceptor érzékenysége mintegy 35-ször magasabb terbutalin alkalmazása esetén, mint Thr/Met vagy Thr/Thr genotípusú férfiaké. Azaz, a Met/Met hordozó férfiakban a lipolysis stimulációjának EC_{50} értéke mintegy 35-ször alacsonyabb terbutalin koncentrációnál van, szemben a Thr/Met vagy Thr/Thr genotípusokkal.

Nem volt különbség a különböző genotípusok tekintetében a β_1 -adrenerg receptorok dobutaminra adott érzékenységében vagy az α_2A -adrenerg receptorok clonidinre adott érzékenységében [122].

Ezek az eredmények összhangban állnak korábbi eredményeikkel: az *rs2593813:G–rs4917: Met–rs4918:Ser* homozigóta haplotípus sokkal gyakoribb a vékony, mint a túlsúlyos vagy obesez férfiakban [115].

Eredményeik felvetik a Met-allél védő szerepét az elhízás kialakulásában.

Andersen és munkatársai 7683 középkorú, dán résztvevő bevonásával készült vizsgálatban arra jutottak, hogy a -469T>G és IVS6+98C>T variánsok szignifikáns összefüggést mutatnak a 2-es típusú diabéteszsel. Ugyanakkor eredményeik nem mutattak összefüggést a Fetuin-A varianciák és túlsúlyosság között [123].

1.2. A Mannóz-Kötő Lektin (MBL2) polimorfizmusainak vizsgálata systemás lupus erythematosusban

1.2.1 A komplementrendszer

A veleszületett immunitás központi szereplője a komplementrendszer, legkevesebb 35 szolubilis felismerő fehérjéből, a hozzájuk asszociált effektor enzimekből, a komplementrendszer regulációjáért felelős szabályzó molekulákból, és a különböző sejtek felszínén megjelenő komplementreceptorokból áll.

Komplex szerepet tölt be a mikroorganizmusok eliminációjában, az apoptotikus sejtek eltávolításában, illetve erősíti, irányítja a szerzett immunválaszt [124-126].

A választ kiváltó ágens természetétől függően a komplement kaszkád aktivációja három útvonalon történhet: klasszikus, lektin útvonalon, illetve alternatív útvonalon keresztül. Mindhárom útvonal által kiváltott enzim kaszkád végső soron a C3 hasításához vezet.

A klasszikus útvonal antigén-antitest komplex (immunkomplex) kialakulása után aktiválódik. A C1q immunkomplexekhez való kötődése erősíti az aktivációs folyamatot. A C1q mintegy hídként, összekötő elemként működik a veleszületett és szerzett immunitás között [127].

A komplementrendszer a lektin útvonalon is aktiválódhat, miután a mannóz kötő lektin vagy fikolinok a mikroorganizmusok felszíni ismétlődő cukor szerkezeti elemeihez kötődnek. Kötődés után az MBL-kapcsolt szerin proteázok (MASP) aktiválják a kaszkádot [125].

A komplement aktiválódás alternatív útja a C3b vagy C3(H₂O) mikroorganizmusokhoz való direkt kötődésének auto-aktivációján alapul.

A komplementrendszer fő effektor funkciói:

1. Opszonizáció, a C3b, iC3b, és C3d fragmensek a célfelszínhez, molekulákhoz kovalensen kötődnek, mintegy hídként szolgálnak a fagocita sejtek felszínén található komplementreceptorok (CR1 and CR3) és a patogének vagy gazdasejtek között [128].
2. Fagocyták chemotaxisának elősegítése anafilatoxinok, chemotaktikus faktorok, gyulladásos mediátorok által (pl.: C3a, C5a) [129].
3. Antitest termelés elősegítése, az antigénnel kötésben lévő C3d kölcsönhat a B-lymphocyták CR2 és BCR-val, aktiválódás után proliferálnak és nagyobb mennyiségben termelnek specifikus antitestet. Ezek a C3d-vel fedett antigének a folliculáris dendritikus sejtekkel is kölcsönhatásba lépnek, ezen antigénprezentáló sejtek közreműködésével nagy-affinitású B-sejtek képződnek a lymphoid szervek germinális centrumaiban [130].
4. Immunkomplexek eltávolítása, a C4b és C3b fragmensek kovalensen kötődnek az immunkomplexekhez, majd az erythrocyta-CR1 kötik a C3b/C4b fedett immunkomplexeket, a keringésből a lépben és májban kerülnek eltávolításra.
5. MAC (membrane attack complex) kialakulásával ozmotikus sejtlyzisz következik be.
6. Apoptotikus sejtek és sejtörmelék eltávolítása, a C1q, C4b és C3b fragmensek elősegítik a fagocitózist [131, 132].

A lektin út a lektin típusú mintázat felismerő receptorairól (lectin pathway pattern recognition receptors, LPR) kapta nevét. Az LPR-ek közé tartoznak a különböző kollektinek, fikolinok és a mannóz-kötő lektin (MBL).

1.2.2. Az MBL szerkezete és funkciója

1978-ban nyúl májból izolálták először az MBL-t [133], majd pár évvel később patkány és humán májból is [134].

Az MBL a C-típusú lektinek szupercsaládjába, a kollektin fehérjék családjába tartozik. Az MBL molekula 32 kDa polipeptid láncokból épül fel és négy régióból áll: egy szénhidrát felismerő domén (carbohydrate recognition domain, CRD), egy α -helikális hidrofób nyak, egy kollagén-szerű régió glicin-X-Y ismétlődésekkel (X és Y egyéb aminosavakat jelöl) és egy cisztein-gazdag N-terminális régió alkotja. Az N-terminálison található cisztein reziduumok diszulfid hidakkal stabilizálják a 3 polipeptid lánc által alkotott tripla helixet (monomer alegység) [135, 136]. Az N-terminális linker régió diszulfid hídjai felelősek a monomer alegységek oligomerré kapcsolódásában [137]. Az MBL oligomer formái a dimertől a tulipánszerű hexamer formáig előfordulnak.

Az MBL, mint a veleszületett immunrendszer tagja, szolubilis mintázatfelismerő molekulaként funkcionál, a mikroorganizmusok sejtfelszíni ismétlődő mannan, mannóz, N-acetil-D-glükózamin, petóz vagy fukóz mintázatait ismeri fel, illetve megváltozott vagy apoptotikus sejtek felszíni mintázatát [137, 138].

E lipopoliszacharidok szerkezete, összetétele döntő szerepet játszik az MBL kötődésében és a saját antigének nem-sajáttól vagy megváltozott-sajáttól való megkülönböztetésében. Az MBL szénhidrát felismerő domén kötődése kalcium dependens, és relatív alacsony affinitással történik. Az oligomerek szénhidrát felismerő doménjeinek egyidejű kötődése mégis nagy aviditású kötődést tesz lehetővé [135].

Az MBL komplexekben kering az effektor funkciót biztosító, a szerin proteázok családjába tartozó mannóz-kötött szerin proteázokkal (MASP) [140, 141], (MASP-1 [141], -2 [142], -3 [143]), illetve a feltételezett szabályozó szerepet betöltő MBL-asszociált proteinekkal (MAp19, -44) [144-147], amelyeket együttesen lektin út effektoroknak (lectin pathway effectors, LPE) nevezünk.

A MASP-ok MBL-lel, fikolinokkal Ca^{2+} -dependens komplexekben zymogénként funkcionálnak.

A komplementaktiválást a klasszikus, illetve a lektinúton elindító molekulakomplexek sok szempontból hasonlóak egymáshoz. A MASP-okra jellemző a C1 komplex C1r- és C1s-alegységeivel (enzimatikus komponenseivel) azonos domén szerveződés [147].

1.2.3 Az MBL genotípusai és plazma koncentrációja

A human MBL-t a 10q11.2-q21 kromoszómán található *MBL2* gén kódolja [135].

Az *MBL1* egy pszeudogén, nem kódol funkcionális fehérjét.

Az *MBL2* gén négy exonból áll. Az 1-es exon kódolja a cisztein gazdag régiót, a szignál peptidet, és az ismétlődő glicin-X-Y motívumok 7 kópiáját, melyek a kollagénszerű struktúra tripla helix formációjára jellemzőek. A 2-es exon az egyéb ismétlődő glicin struktúrák 12 kópiáját kódolja. A 3-as exon kódolja a nyaki régiót, a 4-es exon a szénhidrátkötő domént [149, 150].

Az MBL szérumkoncentrációja nagy varianciát mutat, 5 ng/ml (kimutathatósági határ) és 5 µg/ml fölötti értékek között változhat, az átlagos plazmakoncentrációja 1,5 µg/ml érték körül alakul [150, 151].

Az egyéni MBL plazmaszinteket nagyban meghatározzák az *MBL2* gén SNP-i.

Az 1-es exon 52-es kodon (D variáns, rs5030737), 54-es kodon (B variáns, rs1800450) és az 57-es kodon (C variáns, rs1800451) pozícióiban található SNP-ek a kollagén régió Gly-X-Y mintázatának változásához vezetnek. Az O allél reprezentálja együtt a B, C és D alléleket. Az A variáns tekinthető a vad típusnak, így a három genotípus AA, AO vagy OO [152 -154].

A SNP-ben fellelhető nukleotid-, illetve aminosav csere megakadályozza a molekula oligomerizációját, mely a keringő MBL szintjének csökkenéséhez vezet [157, 158].

A homozigóta vad típusú AA- genotípusú egyének MBL szérum koncentrációja a legmagasabb.

Azok az egyének, akik a B, C vagy D allélre nézve homozigóták, MBL-deficiensek.

A heterozigóta egyének MBL szérumkoncentrációja közepes tartományba esik. A három, 1-es exonban található mutáció frekvenciája különböző a vizsgált populációkban, a B allél (54-es kodon) általánosságban a kaukázusi populációra jellemző, míg a C allél (57-es kodon) inkább afrikai populációkban figyelhető meg [151]. Az 1-es exon SNP-k frekvenciája megközelítőleg 25-35% a kaukázusi populációban [134]. Az 1-es exon mutációi mellett a promoter régió 3 SNP-je (H/L vagy X/Y) szintén az MBL plazmakoncentrációjának változását okozza [156, 157].

Két promoter variáns, H és L -550 pozícióban (H/L, rs11003125), linkage disequilibriumban van a -221 pozícióban X és Y variánssal (X/Y, rs7096206). Három

haplotípusként található meg, mint HY, LY and LX. Az MBL legmagasabb plazmaszintje HY haplotípussal asszociált, az LY haplotípus közepes plazmaszintet eredményez, míg az LX haplotípus a legalacsonyabb keringő MBL plazmaszinttel párosul [157].

Az egyéni haplotípusok alapján három, az MBL plazmakoncentrációjával szoros összefüggést mutató csoportot képezhetünk. Az MBL plazmakoncentrációk és haplotípusok összefüggéseit az 1. táblázatban foglaltuk össze.

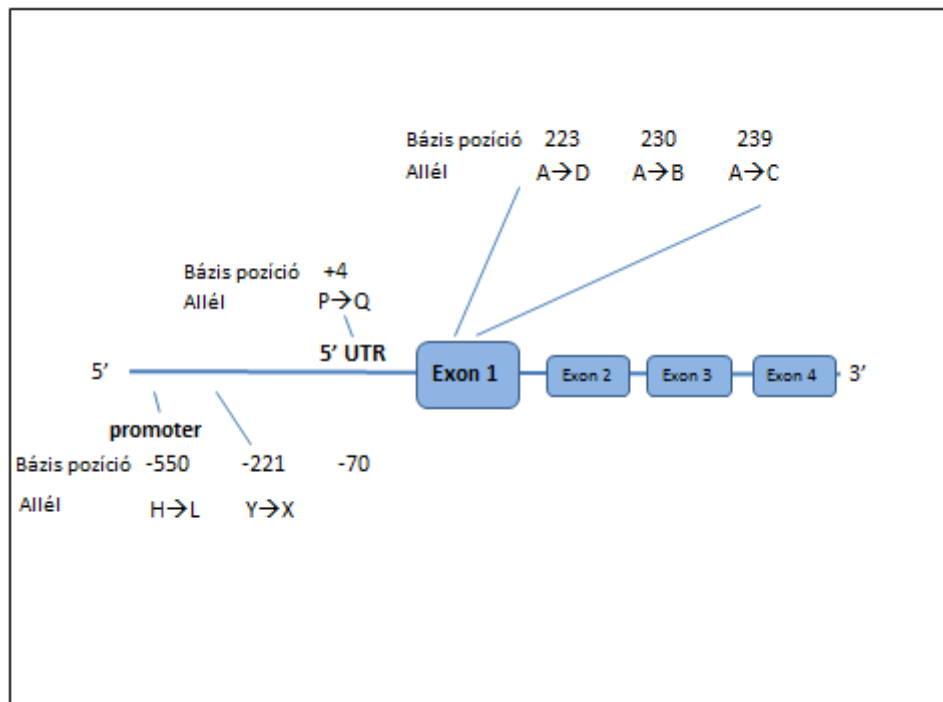
1. táblázat - Különböző MBL plazmakoncentrációval rendelkező csoportok és MBL genotípusok összefüggései

MBL csoport	MBL szérum koncentráció (µg/ml)	Incidencia (%)	Genotípusok
magas	1,3-5,0	57	(H vagy L) YA / (H vagy L) YA és (H vagy L) YA / LXA
közepes	0,6-1,3	27,5	LXA / LXA és (H vagy L) YA / O
alacsony	0-0,6	15,5	LXA / O és O / O

Az MBL haplotípusok számát növelik még az addicionális bázis szubsztitúciók/deléciók (-70 pozícióban lévő variánst is magába foglalóan) +4 pozícióban, a nem transzlálódó régióban (P/Q variáns) és a promoter régióban [157].

A promoter régió és az 1-es exon szoros kapcsoltságú egyensúlytalanságban van. Az elméletileg lehetséges 64 MBL haplotípusból csak 7 található meg a kaukázusi populációban (HYPA, LYPA, LYQA, LXPA, LYPB, LYQC and HYPD) [158].

A 2. ábra szemlélteti az *MBL2* gén polimorfizmusait.



2. ábra – Az *MBL2* gén és polimorfizmusai. Az *MBL2* gén 4 exont tartalmaz. Az 1-es exon és promotor régió polimorfizmusait (allél) ábráztuk, feltüntetve a nukleotid pozíciókat.

Az *MBL2* génben jelenlévő SNP-ok mellett az MBL plazmakoncentrációját az akut fázis reakció is befolyásolja [149].

A MBL C-reaktív proteinhez képest lassú választ adó (7 nap), közepes szinten változó akut fázis molekula (az alapérték mintegy háromszorosára növekszik), ahogy azt műtéti beavatkozások után vagy malária infekció kapcsán Thiel és munkatársai leírták [159].

1.2.4 Az MBL, mint betegsége hajlamosító, illetve betegség moduláló tényező

Számos tanulmányban igazolták, hogy az MBL deficiencia extracelluláris patogénekkal szembeni nagyobb fogékonyságot eredményez [160, 161].

Az MBL deficiencia mellett nagyobb az autoimmun kórképek kialakulásának veszélye.

A mutáns *MBL2* allélek gyakoribbak SLE-s betegekben [162, 163].

Az is bizonyítást nyert, hogy az MBL autoimmun betegségekben, gyulladásozó immunfolyamatokban moduláló szerepet is betölt.

Az *MBL2* variáns allélt hordozó RA-s betegekben a tünetek súlyossága és a betegség korai manifesztációja jellemző [164, 165]. Mások azt tapasztalták, hogy a vad típusú *MBL2* gén RA-ben szenvedő betegek érintett ízületeinek perzisztáló gyulladásával mutat összefüggést [166].

1.2.5 A komplementrendszer és SLE

Az SLE komplex poligénes betegség, melynek öröklődése nem követi a Mendeli szabályokat. Ritkán azonban egy gén defektusa is vezethet SLE kialakulásához, például a klasszikus komplement útvonal egyes génjeinek homozigóta deficienciái pl.: C1q, C1r, C1s vagy C4a [167].

A kapcsoltsági analízisek arra is szolgáltatottak bizonyítékot, hogy a poligénes additív modell inkább egyszerűnek tekinthető SLE esetében, hiszen az SLE genetikai komplexitásához még nagyban hozzájárul a genetikai heterogenitás, allélikus heterogenitás illetve az inkomplett penetrancia [168].

Összefüggést igazoltak például az 1q23 (*FCGR2A*, *FCGR3A*) [169], 1q25 (*TNFSF4*) [169, 170], 2q37 (*PDCDI*) [171] és 19q13 (Kallikrein gene cluster (*KLKs*)) [172] kromoszóma régiók között.

A komplementrendszerrel összefüggésben azt találták, hogy a klasszikus útvonalat érintő deficienciák megnövekedett kockázatot jelentenek az SLE kialakulására [174].

Az MBL deficiencia SLE-re hajlamosító tényező lehet.

Az SLE klinikai lefolyását befolyásoló genetikailag meghatározott MBL deficiencia szerepét vizsgálták 143 SLE beteg bevonásával, és azt tapasztalták, hogy az alacsony MBL szintnek jelentéktelen a hatása az SLE-ben észlelt érrendszeri szövődményekre (cerebrovascularis történés, acut coronaria szindróma, perifériás érbetegség), összehasonlítva olyan hagyományos rizikófaktorokkal, mint a dohányzás, magas vérnyomás, alkoholfogyasztás vagy magasabb szérum triglicerid szint. Nem találtak bizonyítékot arra sem, hogy SLE-ben összefüggés lenne a fertőzések és az MBL deficiencia között [175].

Mások viszont azt találták, hogy SLE-ben a légúti infekciók gyakorisága összefüggést mutat az MBL deficienciával [176].

Genetikailag meghatározott magasabb MBL szérumszint és az agalactosyl IgG RA-ben szenvedő betegekben nagyobb rizikót jelent ischaemiás szívbetegség kialakulására [177]. Ezzel ellentétben mások arról számoltak be, hogy az alacsonyabb MBL szint más betegekben akcelerált atherosclerosis társul [178].

Összefoglalva, az MBL szerepe az SLE klinikai lefolyását illetően még nem tisztázott, hajlamosító tényező lehet részben fertőzésekre, részben autoimmun betegségek kialakítására [179].

2. Célkitűzések

2.1. Munkánk során célul tűztük ki, hogy infarctust túlélte betegek (pMI csoport) retrospektív vizsgálatával elemezzük a Fetuin-A rs4917 és rs4918 polimorfizmusainak eloszlását, továbbá összefüggéseit klinikai jellegzetességekkel.

a.) Összehasonlítottuk az rs4917 allélikus eloszlását egészségesek csoportjában és myocardialis infarctust túlélte betegekben. Összefüggést kerestünk az rs4917 allél és a szérum Fetuin-A szintek között, az elhízáshoz rendelt paraméterekkel, mint a BMI, lipid státusz, proinflammatorikus citokinek, adipokinek, vércukorszint és inzulin.

b.) Vizsgáltuk az rs4918 allélikus eloszlását egészséges magyar egyének és myocardialis infarctust túlélte betegek csoportjaiban. Tanulmányoztuk az rs4918 polimorfizmus kapcsolatát a szérum Fetuin-A szintekkel, és az elhízáshoz rendelt paraméterekkel, mint a BMI, lipid státusz, proinflammatorikus citokinek, adipokinek, vércukorszint és inzulin.

2.2 Munkánk során célul tűztük ki, hogy 315 szisztémás lupus erythematosus miatt gondozott beteg, illetve független, egészséges magyar populáció vizsgálatával leírjuk az *MBL2* gén 1-es exon O alléljainak (B allél, C allél, D allél), valamint a promoter régió -221-es pozícióban található polimorfizmusának előfordulását.

a.) Az SLE-ben szenvedő betegekben azt vizsgáltuk tovább, hogy a haplotípusok milyen összefüggést mutatnak a betegség korai kezdetével.

b.) Elemezni kívántuk az SLE betegek klinikai jellegzetességeit, szervi érintettségét (cutan lupus, arthritis, lupus nephritis, serositis (pleuritis, pericarditis), neuropszichiátriai és hematológiai eltérések), s arra kerestük a választ, hogy az *MBL2* gén polimorfizmusai és a klinikai kép között van-e összefüggés.

3. Csoportok és vizsgálati módszerek

3.1 Fetuin-A polimorfizmusok vizsgálatai

3.1.1 Kontroll és referencia csoport

Az allélikus eloszlást 477 személy bevonásával vizsgáltuk. A fizikális vizsgálatok alapján egészséges, normál testalkatú ($BMI < 30 \text{ kg/m}^2$) és normál laboratóriumi paraméterekkel rendelkező (össz-koleszterin, HDL-koleszterin, LDL-koleszterin, triglicerid, glükóz, inzulin) egyéneket korban illesztettük.

Az rs4917 SNP vizsgálatához 81 fő (16 férfi és 65 nő, átlagéletkor: $60,4 \pm 7,1$ év) részvételével a fenti nagy vizsgálati csoportból egészséges kontrollcsoportot alkottunk. Az rs4918 polimorfizmus vizsgálatára egészséges kontroll csoportot 82 személy (17 férfi és 65 nő, $60,1 \pm 6,9$ év átlagéletkorral) bevonásával alkottunk.

Az allélikus eloszlás vizsgálatához 239 főből (93 férfi és 146 nő, életkoruk: $41,8 \pm 22,2$ év) alkotott referenciacsoport tagjai egyéb, nem kardiovaszkuláris betegségben szenvedtek: 79 egyén gyermekkori elhízással, 41 fő pszichiátriai betegséggel, 55 fő gestációs diabéteszsel, 64 beteg allergiás rhinitisszel került beválogatásra.

3.1.2 Myocardiális infarctuson átesett betegek

A vizsgálatokba a beválasztást megelőző 6-24 hónapban infarctust túlélte betegeket vontunk be (103 férfi, 54 nő, életkor: $59,4 \pm 12,2$ év).

A diagnózis felállítása az EKG eltéréseken és troponin emelkedésen alapult, csak az ST-elevációs myocardiális infarctusos (STEMI) eseteket vontuk be. A kizárási kritériumok a következők voltak: akut infekció klinikai vagy laboratóriumi jelei, malignus tumor (a megelőző öt évben propagáció vagy onkológiai kezelés), májbetegségek, veseelégtelenség (60 ml/min alatti eGFR), immunszuppresszió, illetve egyéb súlyos lefolyású kórképek, mint például 6 hónapon belüli ismételt myocardiális infarctus, stroke (korábbi is), trauma vagy sebészi beavatkozás.

Az infarctust túlélte betegek közül 49 beteg 2-es típusú cukorbetegségben is szenvedett. A diabetes mellitus diagnózisát az aktuális WHO ajánlások alapján állítottuk fel. Ez alapján a diagnózist akkor állítottuk fel, ha a klasszikusan megfigyelhető tünetek mellett

az éhomi vércukorszint értéke két különböző alkalommal mérve meghaladta a $\geq 7,0$ mmol/l-t és/vagy étkezés után bármely időpontban mért (random) vércukorszint elérte, vagy meghaladta a $\geq 11,1$ mmol/l-t. A 2-es típusú diabéteszes betegek kezelése életmódkezeléssel (diéta, testsúlycsökkentés, fokozott mozgás), metforminnal és a kívánt éhomi vércukorszint elérése érdekében este adott inzulinval („bedtime” inzulin) történt.

Az infarctust túlélte betegek 55%-a szedett valamilyen sztatint és 70%-uk aspirint. Az infarctust kiállott betegek csoportja 42 elhízott és 115 normál testalkatú egyénből állt. Elhízottnak 30 kg/m^2 feletti BMI esetén tekintettük a betegeket.

Az inzulinhatás jellemzésére alkotott matematikai modell (HOMA-IR, HOMA-A) Mathews nyomán [180, 181] a következő képlet alapján került kiszámításra: $IR_{\text{HOMA}} = (I_0 \times G_0) / 22,5$, ahol az I_0 az éhomi plazma inzulin (IU), a G_0 éhomi plazma glükóz szint (mmol/l). A HOMA-B, a béta-sejt-működés jellemzésére szolgáló index, a következő formula alapján került kiszámításra: $\text{HOMA-B} = 20 \times I_0 / G_0 - 3,5$.

A vizsgálatba minden személy írásos beleegyezését adta. A vizsgálatok a Károlyi Sándor Kórház Etikai Bizottsága jóváhagyásával történtek.

3.2 MBL2 polimorfizmus vizsgálatok

3.2.1 Vizsgálati csoportok

Három centrumban: a Semmelweis Egyetem III. Belgyógyászati Klinikáján (A centrum), a Semmelweis Egyetem Központi Immunológiai Laboratóriumában (jelenleg: Semmelweis Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézet, B centrum) és a Pécsi Egyetem Immunológiai és Allergológiai Klinikáján (C centrum) gondozott SLE betegeket vontunk be a vizsgálatba.

A vizsgálatba bevont 315 beteg (26 férfi, 279 nő; átlagéletkoruk a vizsgálat idején: 44 év, interkvartilis terjedelem 35,3-53,8 év volt) mindegyike megfelelt az Amerikai Reumatológiai Társaság (ACR) által kidolgozott kritériumrendszernek (4 vagy több kritérium tünet jelentkezése).

Rögzítettük a betegek demográfiai adatait, nemét, életkorát a betegség diagnózisakor, a jellegzetes tünetek előfordulási gyakoriságát, valamint a diagnózis megállapítása és a különböző szervi érintettségek megjelenése között eltelt időt.

A betegek 21%-ánál találtunk antifoszfolipid antitest pozitivitást. Az SLE aktivitását a szisztémás lupus erythematosus aktivitási index (SLEDAI) segítségével határoztuk meg. Száznolcvankettő egészséges egyén (75 férfi, 107 nő; átlagéletkoruk: 48,5 év, interkvartilis terjedelem 41-56 év volt) bevonásával kontroll csoportot alkottunk.

A vizsgálatba bevont 315 fő SLE-s beteg fő demográfiai és klinikai adatait a 2. táblázatban összegeztük.

2. táblázat A vizsgált SLE betegek fő demográfiai és klinikai adatainak összegzése

Paraméterek	SLE megjelenése			
	20 év vagy az alatti életkorban (n=46)	20 éves kor felett (n=269)	p értékek	Minden beteg (n=315)
Diagnózis-felállítása kori életkor, medián (interkvartilis tartomány)	16,0 (13,0-18,5)	32,0 (14,0-39,0)	-	28,0 (24,3-37,0)
Életkor a vizsgálat idején, medián (interkvartilis tartomány)	37,0 (29,5–44,5)	45,0 (37,0–55,0)	<0,001	44,0 (35,3–53,8)
Nem, férfi/nő	4/42 (9%/91%)	32/237 (12%/88%)	0,528	36/279
Bőr manifesztációk a diagnózis óta, igen/nem	35/11 (76%/24%)	185/84 (69%/31%)	0,318	220/95
Ízületi manifesztáció a diagnózis óta, igen/nem	43/3 (93%/7%)	212/57 (79%/21%)	0,019	255/60
Serositis a diagnózis óta, igen/nem	11/35 (24%/76%)	64/205 (24%/76%)	0,986	75/240
Nephritis a diagnózis óta, igen/nem	24/22 (52%/48%)	101/168 (41%/59%)	0,061	125/190
Neuropszichiátriai manifesztáció a diagnózis óta, igen/nem	15/31 (33%/67%)	101/168 (41%/59%)	0,521	116/199
Haematológiai manifesztáció, igen/nem	29/17 (63%/37%)	153/116 (62%/38%)	0,434	182/133
Antifoszfolipid antitest, igen/nem	7/39 (15%/85%)	19/250 (24%/76%)	0,301	26/289
AntiDNS antitest, igen/nem	31/15 (67%/33%)	177/92 (72%/28%)	0,833	208/107
SLEDAI score, vizsgálat idején, medián (interkvartilis tartomány)	4,0 (2,0–5,0)	3,0 (0,0–6,0)	0,963	3,5 (1,0–6,0)
Centrum A/B/C	14/13/19 (30%/28%/41%)	51/42/176 (21%/17%/72%)	0,008	65/55/195

3.3 Laboratóriumi módszerek: Fetuin-A

3.3.1 Genotipizálás

A homo- vagy heterozigóta rs4917 és rs4918 polimorfizmusok kimutatására kompetitív allélspecifikus PCR (KASP®, LGC Genomics) módszert alkalmaztunk. A KASP genotipizálás során a gyártó útmutatásait követtük. A genomiális DNS-t fehérvérsejtekből nyertük. A PCR reakció kondíciói a következők voltak: 8 µl térfogatban mintánként 20 ng genomiális DNS, 37 ciklus. A PCR reakciót 7900 HT Fast Real-Time PCR System készüléken (Life Technologies) futtatuk. A genotipizálás minden mérésnél 9 párhuzamosból állt (3 parallel CC, CT és TT genotípusokra).

3.3.2 Laboratóriumi mérések

3.3.2.1 Fetuin-A szérumkoncentráció meghatározása

A Fetuin-A szérumszintjét radiális immundiffúzióval határoztuk meg. Röviden összefoglalva: a betegek ötszörösre hígított szérumból 5 µl-t vittünk fel 11,5 ml Litex agaróz gélre (Sigma), majd a 48 órás inkubációt követően az immundiffúzióhoz monoklonális anti-humán AHSG IgG antitestet (Incstar) használtunk 10 µg/ml gél végső koncentrációban. Az intra- (IACV) és interassay koefficiens eltérés (IECV) 4,11% és 4,85% volt.

3.3.2.2 További laboratóriumi mérések

A vérkép és egyéb paraméterek meghatározása rutin laboratóriumi módszerekkel történt.

A vizsgálat során az egészségesek és betegek szérumból TNFα-t, adiponektint és rezisztint is meghatároztunk. A szérumból TNFα szintet (Sigma; IACV: 4,8%, IECV: 6,7%) rezisztint (Linco Research Inc; IACV: 4,0%, IECV: 7,0%) és leptint (DRG International, IACV%: 4.6%, IECV%: 6.6%) értékeket egyaránt ELISA segítségével határoztuk meg.

Az adiponektin szérumszintjének meghatározása RIA-vel (Linco Research Inc; IACV: 3,6%, IECV: 8,47%) történt.

Az inzulin koncentrációt direkt ELISA Kit (Invitrogen, IACV: 4,8%, IECV: 81%) felhasználásával határoztuk meg.

A C-peptid mennyiségét RIA (Biodata, IACV: 5,6%, IECV: 7,3%) módszerrel állapítottuk meg.

3.4 MBL2 genotipizálás

EDTA kezelt teljes vérből kisózással genomiális DNS-t izoláltunk. Az *MBL2* gén genotipizálását a strukturális variánsokra, mint B (kodon 54), C (kodon 57) és D (kodon 52) illetve egy a promoter régióban down-reguláló variánsra Y/X (-221) tervezett szekvencia-specifikus primerekkel PCR reakcióval végeztük. A PCR reakciót Garred és munkatársainak leírása alapján végeztük [179].

A strukturális variáns allélekből (B, C és D) egy csoportot képeztünk (O).

A normál allélt A-nak nevezzük. Az Y/X promoter variáns csak a normál A allél előtt fordul elő, a variáns allélek előtt nem.

3.5 Statisztikai analízis

A statisztikai elemzéseket SPSS v.21 szoftverrel végeztük (SPSS Software, IBM). A 0,05 alatti p értéket tekintettük szignifikánsnak.

4. Eredmények

4.1 rs4917 polimorfizmus vizsgálatával kapcsolatos eredmények

4.1.1 Az rs4917 allélikus eloszlása

Az rs4917 allélikus eloszlását az egészséges kontrollcsoportban és az infarctust túlélő betegek csoportjában a 3. táblázatban foglaltuk össze.

3. táblázat Az rs4917 allélikus eloszlása a kontroll és infarctust kiállott betegek csoportjában

	rs4917 polimorfizmus				nukleotid szám		nukleotid frekvencia	
	CC	CT	TT	Összes	C	T	C	T
kontroll csoport	38	32	11	81	108	54	0,667	0,333
pMI csoport	81	61	15	157	223	91	0,710	0,290

$$\chi^2 = 1,033, p=0,597$$

A kontrollcsoportban genotípusoknak megfelelő nemi arányok (férfi/nő) a következők voltak: CC: 7/31, CT: 7/25, TT: 2/9. A betegek alkotta csoportban ugyanez az arány a következő volt: CC: 48/30, CT: 40/18, TT: 15/6. A vizsgálati csoportokban az rs4917 allélikus eloszlásában nem volt szignifikáns különbség. A három vizsgálati csoport genotipizálásának eredményeit a 4. táblázat mutatja.

4. táblázat Az rs4917 polimorfizmus a kontroll, infarctust kiállott betegek és referencia (egyéb, nem CVD betegek) csoportokban

csoport	rs4917 polimorfizmus*				nukleotid szám		nukleotid frekvencia**	
	CC	CT	TT	Összes	C	T	C	T
kontroll	38	32	11	81	108	54	0,667	0,333
pMI	81	61	15	157	223	91	0,710	0,290
referencia	117	106	16	239	340	138	0,711	0,289
Összes	236	199	42	477	671	283	0,703	0,297

* A CC, CT és TT eloszlásának összehasonlítása a kontroll, pMI és referencia csoportokban: $\chi^2 = 4,471, p = 0,346$

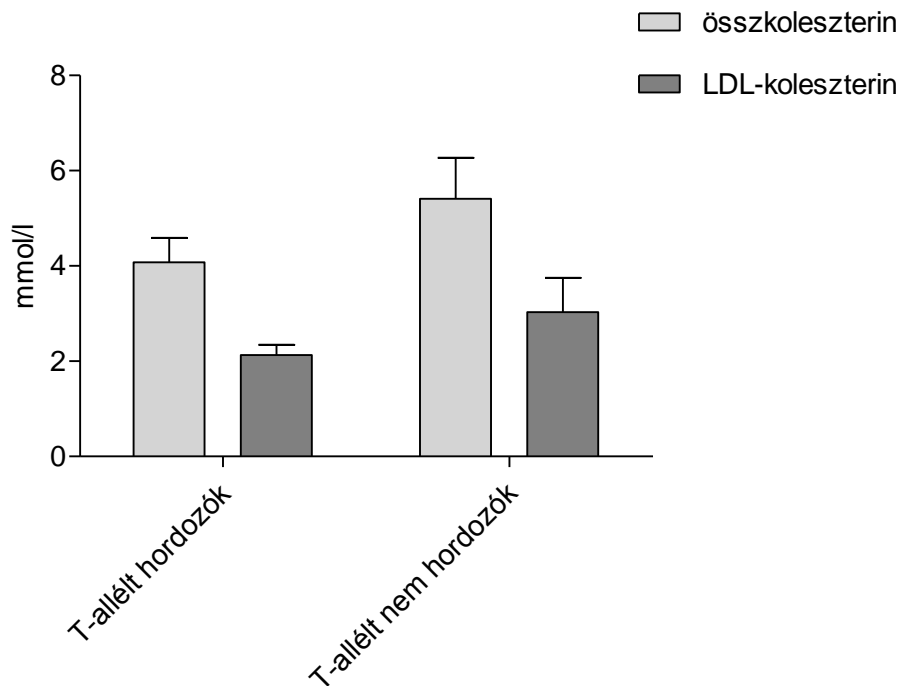
** A C és T nukleotidok eloszlásának összehasonlítása a kontroll, pMI és referencia csoportokban: $\chi^2 = 1,260, p = 0,533$

Az rs4917 C és T nukleotid frekvenciája 0,703 és 0,297 volt. Statisztikailag nem volt szignifikáns különbség a három vizsgálati csoportban a C/T nukleotid frekvenciákban.

4.1.2 Az rs4917 genotípusainak összehasonlítása és vizsgálata laboratóriumi paraméterek függvényében

Az egészséges kontrollcsoportot vizsgálva az LDL koleszterin és a TNF α szintekben találtunk szignifikáns különbséget a különböző genotípusok tekintetében (5. táblázat).

Elmondható, hogy a T allélt hordozók esetében a szérum összkoleszterin szint alacsonyabb ($p=0,018$). Sőt a T nukleotid jelenléte nem csak ezzel, hanem alacsonyabb LDL koleszterin ($2,28 \pm 0,32$ vs. $3,39 \pm 0,44$ mmol/l, $p = 0,020$) (3. ábra) és TNF α szintekkel ($3,90 \pm 0,021$ vs. $4,10 \pm 0,24$ pg/ml, $p = 0,010$) is párosult.



3. ábra Összkoleszterin és LDL-koleszterin plazmakoncentrációk T-allélt hordozó (n=43) és nem hordozó kontroll személyekben (n=38)

CC homozigóták a TT homozigótákhoz képest magasabb LDL koleszterin és TNF α szintekkel rendelkeznek (Mann-Whitney U-teszt, $p=0,017$ mindkét paraméterre).

5. táblázat Kontrollcsoport rs4917 genotípusaihoz tartozó klinikai adatok összehasonlítása (Átlag \pm SD)

Paraméter	CC homozigóták (n=38)	CT heterozigóták (n=32)	TT homozigóták (n=11)	p*
Fetuin-A, mg/l	609 \pm 85	625 \pm 88	573 \pm 100	0,269
BMI, kg/m ²	24,0 \pm 1,8	24,1 \pm 1,5	24,1 \pm 1,6	0,831
Haskőrfogat, cm	87 \pm 11	88 \pm 9	85 \pm 11	0,610
Összkoleszterin, mmol/l	5,41 \pm 0,86	4,99 \pm 0,83	4,80 \pm 0,51	0,492
LDL koleszterin, mmol/l	3,39 \pm 0,44	2,66 \pm 0,82	2,28 \pm 0,32	0,020 0,027†
HDL koleszterin, mmol/l	1,33 \pm 0,14	1,55 \pm 0,28	1,57 \pm 0,30	0,174
Triglicerid, mmol/l	1,91 \pm 1,14	1,69 \pm 0,88	1,54 \pm 0,72	0,497
TNF α , pg/ml	4,11 \pm 0,27	4,09 \pm 0,02	3,89 \pm 0,21	0,017 0,037†
Adiponektin, μ g/ml	12,23 \pm 3,40	12,80 \pm 2,80	13,80 \pm 2,74	0,101
Rezisztin, ng/ml	6,76 \pm 2,31	5,60 \pm 2,57	6,95 \pm 3,36	0,113
Glükóz, mmol/l	4,56 \pm 0,42	4,41 \pm 0,37	4,29 \pm 0,40	0,102
Inzulin, μ U/ml	5,26 \pm 1,15	5,13 \pm 1,10	5,54 \pm 0,73	0,337

*Kruskal-Wallis teszt minden paraméterre

†CC vs TT post hoc p, ha szignifikáns

A kontroll csoport rs4917 CC és TT homozigótákban a szérumban Fetuin-A koncentrációban nem találtunk szignifikáns különbséget ($p = 0,838$). Akkor sem tudtunk statisztikailag szignifikáns különbségre lelni, ha a C allél meglétét vagy hiányát vizsgáltuk ($p = 0,675$). Ugyanez igaz volt, amikor a T allélt vizsgáltuk ($p = 0,300$).

A C nukleotid hordozók plazmájában mért ghrelin koncentrációban marginális különbséget fedeztünk fel a C nukleotidot nem hordozókkal összehasonlítva.

Fentebb leírtuk, hogy az rs4917 T nukleotidot hordozó személyek LDL-koleszterin szintje szignifikánsan alacsonyabb. A T nukleotidot hordozókban a T nukleotidot nem hordozókhöz képest emelkedett a leptin plazmakoncentrációja, a vércukorszintet alacsonyabbnak találtuk.

A szérumban Fetuin-A koncentrációk és a mért laboratóriumi paraméterek között nem találtunk összefüggést.

Az rs4917 TT homozigótákban erős pozitív korrelációt találtunk az adiponektin szintekkel. Ez a szignifikáns összefüggés nem állt fenn, amennyiben a C nukleotid volt jelen. Habár a szérumban a Fetuin-A koncentráció nem mutatott összefüggést egyik laboratóriumi értékkel sem, a T nukleotid jelenlétében a C-peptid/vércukorszint szignifikánsan korrelált a szérumban a Fetuin-A koncentrációval.

A myocardialis infarctust túlélő csoport (pMI) egészét tekintve jellemző volt, hogy Fetuin-A szérumkoncentrációja, a TNF α , ghrelin, leptin, C-peptid, C-peptid/glükóz, glükóz és inzulin szintje magasabb, míg a HDL-koleszterin szintje alacsonyabb volt. A CC vagy TT alléllal rendelkező betegekben, illetve a C nukleotid jelenlétének függvényében sem találtunk szignifikáns különbséget e paraméterek tekintetében.

A myocardialis infarctust túlélő betegek csoportjában azt találtuk, hogy a T allélt hordozók (n=76) derék- (102 ± 9 vs. 106 ± 8 cm, $p = 0,003$) és haskörfogata (101 ± 12 vs. 103 ± 10 cm, $p = 0,040$), valamint BMI értékeik ($27,2 \pm 4,6$ vs. $28,6 \pm 3,8$ kg/m², $p = 0,019$) is alacsonyabbak, mint a T allélt nem hordozóké (n = 81). A genotípusokra vonatkozó eredményeket a 6. táblázatban foglaltuk össze.

6. táblázat pMI csoport rs4917 genotípusaihoz tartozó paraméterek összehasonlítása (Átlag \pm SD)

Paraméterek	CC homozigóták (n=81)	CT heterozigóták (n=61)	TT homozigóták (n=15)	p*
Fetuin-A, mg/l	668 \pm 112	689 \pm 112	641 \pm 103	0,483
BMI, kg/m ²	28,6 \pm 3,8	27,2 \pm 4,5	27,5 \pm 5,0	0,065
Haskörfogat, cm	103 \pm 10	101 \pm 13	100 \pm 11	0,418
Derékkörfogat, cm	106 \pm 8	102 \pm 9	102 \pm 9	0,009 0,034†
Összkoleszterin, mmol/l	5,37 \pm 1,28	5,12 \pm 1,13	5,53 \pm 1,24	0,623
LDL koleszterin, mmol/l	3,39 \pm 0,44	2,66 \pm 0,82	2,28 \pm 0,32	0,567
HDL koleszterin, mmol/l	1,23 \pm 0,28	1,20 \pm 0,28	1,13 \pm 0,29	0,275
Triglicerid, mmol/l	1,90 \pm 1,17	1,75 \pm 0,80	1,67 \pm 0,58	0,963
TNF α , pg/ml	6,09 \pm 1,72	6,15 \pm 1,88	5,89 \pm 1,75	0,841
Adiponektin, μ g/ml	9,45 \pm 4,35	8,63 \pm 4,30	8,53 \pm 3,21	0,419
Rezisztin, ng/ml	9,25 \pm 5,72	10,19 \pm 7,11	8,93 \pm 4,03	0,784
Glükóz, mmol/l	5,52 \pm 1,67	5,93 \pm 1,74	5,43 \pm 0,75	0,317
Inzulin, μ U/ml	24,09 \pm 16,02	22,14 \pm 12,93	27,62 \pm 22,62	0,883

*Kruskal-Wallis teszt minden paraméterre

†CC vs TT post hoc p, ha szignifikáns

Mint korábban már leírták, infarctust túlélő betegeknél a Fetuin-A szérumszintje magasabb (673 ± 111 mg/l) volt a kontroll csoportéhoz (619 ± 97 mg/l) viszonyítva ($p < 0,001$) [38].

A korábban infarctuson átesett betegek csoportjában az rs4917 CC vagy TT homozigótái esetében nem tudunk leírni szignifikáns különbséget a szérumszintje tekintetében ($p = 0,824$). Ha csak a C nukleotid jelenlétének függvényében vizsgáltuk a Fetuin-A szérumszintje közötti különbségeket, akkor sem találtunk szignifikáns differenciát ($p = 0,601$). Ugyanígy a T nukleotid jelenléte sem okozott eltérést a Fetuin-A szintben ($p = 0,391$).

A pMI betegek csoportjában 49 vizsgált beteg 2-es típusú diabéteszben szenvedett. Összehasonlítva a 108 nem diabéteszes beteg vizsgálati eredményeivel, a szénhidrát háztartásra vonatkozólag találtunk szignifikáns különbséget.

A vércukorszintek összehasonlításban $7,19 \pm 2,13$ vs. $5,03 \pm 0,68$ mmol/l, $p < 0,001$ értéket mutattak, az inzulin szérumszintje $28,3 \pm 16,3$ vs. $21,7 \pm 14,08$ μ U/ml, $p = 0,008$ volt.

A C-peptid szérumszintjében találtunk különbséget ($3,91 \pm 2,25$ ng/ml vs. $3,00 \pm 2,13$ ng/ml, $p = 0,008$), illetve HOMA-IR modell ($7,69 \pm 3,46$ vs. $4,67 \pm 3,04$, $p < 0,001$), és HOMA-B (191 ± 133 vs. 260 ± 147 , $p = 0,004$) értékekben.

Az elhízással kapcsolatos fizikális paraméterekkel, úgymint BMI ($28,8 \pm 4,47$ vs. $27,7 \pm 3,93$ kg/m², $p = 0,176$), és haskörfogat (104 ± 12 vs. 101 ± 11 cm, $p = 0,232$) vagy derékkörfogat (105 ± 9 vs. 104 ± 8 cm, $p = 0,420$) kapcsolatban nem találtunk szignifikáns különbséget a cukorbeteg és nem cukorbeteg alcsoportokban.

A cukorbeteg alacsonyabb száma miatt nem volt lehetséges a genotípusokhoz tartozó értékek és összefüggések vizsgálata. A diabéteszes alcsoport genotípus megoszlása a következő volt: 25 CC homozigóta és 3 TT homozigóta, a 49 vizsgált személyből 46 C hordozó volt, 3 pedig nem. Ha a T-allélt hordozók értékeit összehasonlítottuk a nem T-hordozókkal nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbségeket.

A 108 nem cukorbeteg myocardiális infarctuson átesett, CC genotípusú ($n = 50$) egyén vizsgálati paraméterei nem mutattak szignifikáns különbséget a TT genotípusúakéhoz ($n = 8$) képest.

Nem adódott különbség a vizsgálati paraméterekben a C allélt hordozók (n = 56) és nem C hordozók (n = 52) összehasonlításakor sem. A T-allélt hordozó (n = 52) és a T-allélt nem hordozó (n = 56) nem cukorbeteg, pMI betegek esetén a BMI ($26,4 \pm 4,0$ vs. $28,6 \pm 3,8$ kg/m², p < 0,002) és derékkörfogat értékek (101 ± 7 vs. 106 ± 8 cm, p < 0,001) mutattak különbséget. A pMI betegek csoportján belül a 30 kg/m² BMI felettiek elhízottnak tekintettük. Ez alapján a 157 betegből 42 beteg elhízott volt. A BMI ($33,2 \pm 3,01$ vs. $26,0 \pm 2,43$ kg/m², p < 0,001), haskörfogat (112 ± 8 vs. 98 ± 9 cm, p < 0,001) derékkörfogat (112 ± 9 vs. 102 ± 7 cm, p < 0,001), derék-csípő arány ($1,01 \pm 0,07$ vs. $0,97 \pm 0,08$ cm, p < 0,001) és TNF α ($6,69 \pm 1,17$ vs. $5,91 \pm 1,72$ pg/ml, p = 0,009) értékein kívül egyéb paraméterekben nem találtunk szignifikáns különbséget az elhízott és nem elhízott betegek (n = 115) összehasonlításakor. A genotípusok alapján megfigyeltük, hogy a TT genotípusúak közül kevesebben elhízottak, mint a CC genotípusúak közül. Eredményeinket a 7. táblázat foglalja össze. Hogy az eredményeinket még kifejezőbbé tegyük, megvizsgáltuk a T-allél kapcsolatát az elhízással, az eredményeket a 8. táblázatban összegezzük.

7. táblázat rs4917 genotípusainak megoszlása az elhízottság alapján

	rs4917 polimorfizmus genotípusok			
	CC	CT	TT	Összes
elhízott	28	11	3	42
nem elhízott	53	50	12	115
összes	81	61	15	157

$$\chi^2 = 5,241, p = 0,073.$$

8. táblázat rs4917 allélmegoszlása az obezitás függvényében

	T	nem-T	Összes
Elhízott	14	28	42
nem elhízott	62	53	115
Összes	76	81	157
$\chi^2 = 5,217, p = 0,022; RR: 0,618 (95\% CI: 0,390-0,979); OR: 0,427 (95\% CI: 0,204-0,895).$			
	C	nem-C	Összes
Elhízott	39	3	42
nem elhízott	103	12	115
Összes	142	15	157
Fisher's Exact Teszt, p = 0,761; RR: 1,037 (95% CI: 0,934 – 1,151); OR: 1,515 (95% CI: 0,405 – 5,659).			

A 8. táblázatban összefoglalt eredményekből arra következtethetünk, hogy a T-allél gyakoribb a normál testalkatúak között. Az elhízott betegek csoportján belül végzett további összehasonlítások nem hoztak szignifikáns különbséget sem az antropometrikus, sem a vizsgált értékekben.

A Fetuin-A szerepet játszik mind az elhízás, mind a cukorbetegség kialakulásában, ezért kíváncsiak voltunk, hogy az egészséges kontrollcsoportban leírt különbségeket megtaláljuk-e a nem elhízott, nem cukorbeteg pMI betegek csoportjában is.

Ebbe az alcsoportba a 157 vizsgált betegből 83 tartozik. Genotipizálás alapján nem találtunk különbséget a 32 CC, 5 TT homozigóta, és a 74 C-allélt hordozó, illetve 9 C-allélt nem hordozó vizsgált személy között. A T-allélt hordozók és a T-allélt nem hordozók között szignifikáns különbséget csak a BMI ($25,3 \pm 2,6$, $n = 46$ vs. $26,5 \pm 2,3$ kg/m^2 , $n = 37$; $p = 0,048$) és derékkörfogatban (99 ± 7 vs. 103 ± 6 cm, $p = 0,026$) tudtunk leírni. A haskörfogatban is volt különbség, nem szignifikáns mértékben. Sem az egészséges kontroll csoportra jellemző alacsonyabb összkoleszterin, LDL-koleszterin, TNF α szintek, sem más paraméter nem mutatott szignifikáns különbséget a T-allélt hordozók és T-allélt nem hordozók vizsgálatakor.

Többszörös lineáris regressziós modellben vizsgáltuk az általunk vizsgált paraméterek hatását (beleértve az rs4917 és az rs4918 polimorfizmusokét is) a szérum Fetuin-A szintre. Az alábbi paraméterek és a szérum Fetuin-A közötti kapcsolat vizsgálata többszörös backward lineáris regressziós modellben: BMI, haskörfogat, koleszterin, LDL- és HDL-koleszterin, triglicerid, TNF α , adiponektin, rezisztin, leptin, C-peptid, glükóz és inzulin értékek. A többszörös lineáris regressziós backward modellben egyik genotípus sem bizonyult a Fetuin-A szint szignifikáns prediktorának. A kiértékeléskor kezdetben mindegyik paraméter szerepelt, majd szépen sorban kiesnek azok, amelyek a különböző modellekben a legkisebb meghatározó erővel bírnak. Amelyek megmaradnak és szignifikánsak, azok tekinthetők a legerősebb prediktoroknak.

Az alábbiakra: rs4917 CC/CT/TT, kontroll; rs4917 C allél, kontroll és rs4917 T allél, kontroll alkotott modellekben egyik paraméter sem szignifikáns determináns. Model fit: $p = 0,063$.

A 9. táblázatban a szignifikáns összefüggéseket foglaltuk össze.

9. táblázat Többszörös backward lineáris regressziós modell rs4917 polimorfizmusra kontroll és pMI betegek csoportjaiban

rs4917 CC/CT/TT, kontroll + pMI együtt			rs4917 C allél, kontroll + pMI együtt			rs4917 T allél, kontroll + pMI együtt		
Paraméter	β	p	Paraméter	β	p	Paraméter	β	p
leptin	0,344	0,002	leptin	0,344	0,002	leptin	0,344	0,002
LDL	0,234	0,035	LDL	-0,234	0,035	LDL	0,234	0,035
Modell fit: p = 0,002			Modell fit: p = 0,002			Modell fit: p = 0,002		

A 10. táblázat a pMI betegek csoportjára alkotott modell szignifikáns (félkövér), illetve nem szignifikáns összefüggéseit szemlélteti.

10. táblázat Többszörös backward lineáris regressziós modell rs4917 polimorfizmusra pMI betegek csoportjában

rs4917 CC/CT/TT, pMI			rs4917 C allél, pMI			rs4917 T allél, pMI		
Paraméter	β	p	Paraméter	β	p	Paraméter	β	p
leptin	0,267	0,020	leptin	0,275	0,019	leptin	0,265	0,022
inzulin	0,208	0,069	inzulin	0,218	0,062	inzulin	0,220	0,056
koleszterin	0,335	0,004	koleszterin	0,309	0,009	koleszterin	0,339	0,004
rs4917 CC/CT/TT	0,216	0,061				rs4917 T allél	0,197	0,088
Modell fit: p = 0,001			Modell fit: p = 0,003			Modell fit: p = 0,002		

4.2 rs4918 polimorfizmus vizsgálatával kapcsolatos eredmények

4.2.1 Az rs4918 allélikus eloszlása

Az rs4918 allélikus eloszlását az egészséges kontrollcsoportban és a pMI csoportban az 11. táblázatban foglaltuk össze.

11. táblázat rs4918 allélikus eloszlása a kontroll és pMI csoportokban

	rs4918 polimorfizmus				nukleotid szám		nukleotid frekvencia	
	CC	CG	GG	összes	C	G	C	G
kontroll csoport	39	32	10	81	110	52	0,679	0,321
pMI csoport	81	61	15	157	223	91	0,710	0,290

$$\chi^2 = 0,528, p=0,768$$

A kontrollcsoportban genotípusoknak megfelelő nemi arányok (férfi/nő) a következők voltak: CC: 8/31, CG: 7/25, GG: 2/8.

A betegek alkotta csoportban ugyanez az arány a következő volt: CC: 48/30, CG: 40/18, GG: 15/6. A kontroll és pMI csoportokban az rs4918 allélfrekvencia tekintetében nem volt szignifikáns különbség.

A 12. táblázatban a 3 vizsgálati csoport genotipizálásának eredményeit foglaltuk össze.

12. táblázat rs4918 polimorfizmus a kontroll, infarctust kiállott betegek és referencia csoportokban

csoport	rs4918 polimorfizmus*				nukleotid szám		nukleotid frekvencia**	
	CC	CG	GG	Összes	C	G	C	G
kontroll	39	32	10	81	110	52	0,679	0,321
pMI	80	61	15	156	221	91	0,708	0,292
referencia	118	105	16	239	341	137	0,713	0,287
Összes	237	198	41	476	672	280	0,706	0,294

* CC, CG és GG eloszlások összehasonlítása kontroll, pMI és referencia csoportokban: $\chi^2 = 3,267, p = 0,514$

** C és G nukleotidok eloszlása a 3 vizsgálati csoportban: $\chi^2 = 0,702, p = 0,704$

Az rs4918 C és G nukleotid frekvenciája 0,706 és 0,294 volt. A három vizsgált csoportban nem adódott szignifikáns különbség a C/G nukleotid frekvenciában.

4.2.2 Az rs4918 genotípusainak összehasonlítása és vizsgálata laboratóriumi paraméterek függvényében

Többváltozós regresszió-analízis segítségével az egészségesek csoportjában szignifikáns különbséget tapasztaltunk a TNF α szintjében.

A G-allélt nem hordozókhöz képest (n = 39) a G-allél jelenléte (n = 42) alacsonyabb TNF α szintet eredményezett ($4,10 \pm 0,23$ vs. $3,85 \pm 0,22$ pg/ml, p = 0,003). A G-allélt hordozóknál magasabb leptin ($13,9 \pm 9,23$ vs. $10,7 \pm 9,19$ ng/ml, p = 0,036), és magasabb adiponektin értékek voltak jellemzőek ($12,4 \pm 3,14$ vs. $14,3 \pm 2,30$ μ g/ml, p = 0,047).

A többi paraméter esetén nem találtunk statisztikailag szignifikáns eltérést. A mért és kiértékelt eredményeket a 13. táblázat foglalja össze.

13. táblázat rs4918 genotípusok klinikai paramétereinek összehasonlítása a kontroll csoportban (átlag \pm SD)

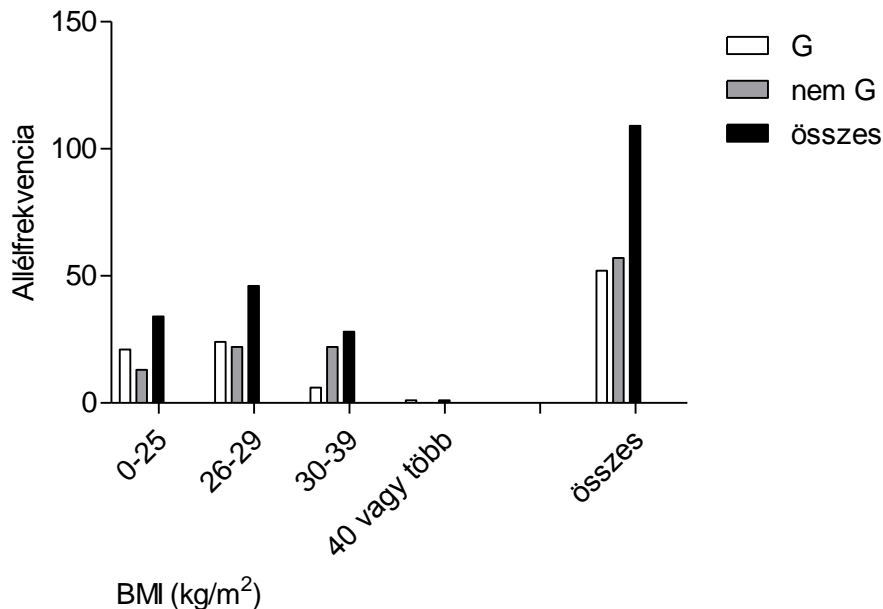
Paraméterek	CC homozigóták (n=39)	CG heterozigóták (n=32)	GG homozigóták (n=10)	p*
Fetuin-A, mg/l	605 \pm 84	627 \pm 85	613 \pm 127	0,185
BMI, kg/m ²	23,9 \pm 1,7	24,1 \pm 1,4	24,5 \pm 1,6	0,257
Haskőrfogat, cm	87 \pm 11	88 \pm 8	87 \pm 10	0,872
Összkoleszterin, mmol/l	4,98 \pm 1,07	4,96 \pm 0,83	5,13 \pm 1,35	0,930
LDL koleszterin, mmol/l	3,13 \pm 0,64	2,65 \pm 0,82	2,93 \pm 0,40	0,292
HDL koleszterin, mmol/l	1,39 \pm 0,20	1,54 \pm 0,27	1,49 \pm 0,41	0,597
Triglicerid, mmol/l	1,85 \pm 1,13	1,71 \pm 0,88	1,64 \pm 0,75	0,950
TNF α , pg/ml	4,11 \pm 0,25	4,10 \pm 0,20	3,85 \pm 0,22	0,013 0,007†
Adiponektin, μ g/ml	12,3 \pm 3,37	12,7 \pm 2,87	14,3 \pm 2,30	0,131
Rezisztin, ng/ml	6,64 \pm 2,24	5,76 \pm 2,67	6,96 \pm 3,52	0,264
Leptin, ng/ml	10,7 \pm 9,2	13,8 \pm 9,2	14,1 \pm 9,8	0,109
C-peptid, ng/ml	1,07 \pm 0,31	1,15 \pm 0,42	1,07 \pm 0,29	0,247
Glükóz, mmol/l	4,58 \pm 0,42	4,39 \pm 0,36	4,22 \pm 0,34	0,052
Inzulin, μ U/ml	5,30 \pm 1,16	5,05 \pm 0,99	5,62 \pm 0,93	0,348

*Kruskal-Wallis teszt minden paraméterre

†CC vs GG post hoc, p<0,05

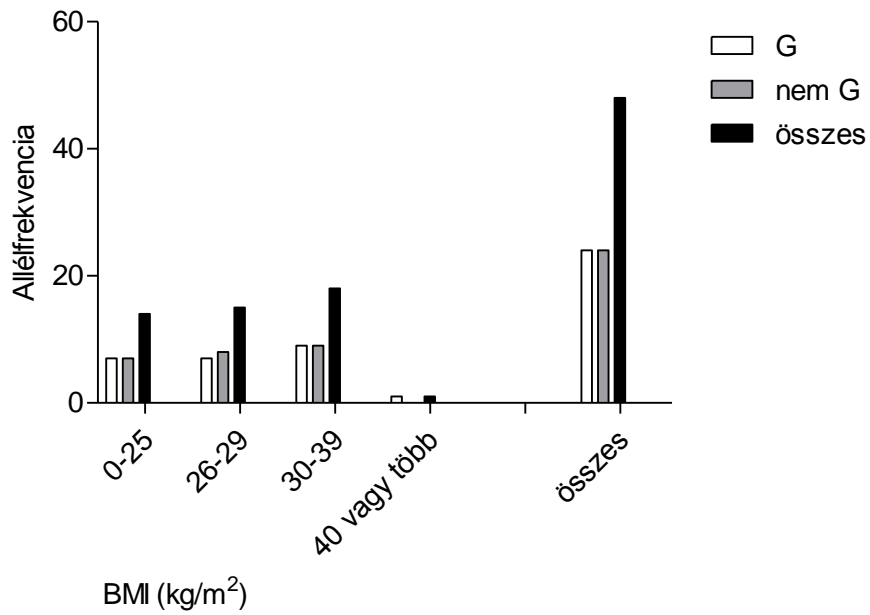
A myocardialis infarktust túlélte betegek csoportjában többszörös elemzéseket végezve lényeges különbséget találtunk a derékkörfogatokban. A G-allélt hordozók esetén megfigyelhető a pozitív kapcsolat, az elhízottságot mérő paraméterekkel összefüggésben. Szignifikánsan alacsonyabb BMI értékei vannak ($27,3 \pm 4,6$ vs. $28,6 \pm 3,8$ kg/m^2 , $p = 0,017$) a G-allélt hordozóknak, az összefüggés megfigyelhető a derékkörfogat (102 ± 9 vs. 106 ± 8 cm, $p = 0,002$) esetén is, a G-allélt nem hordozókkal összehasonlítva ($n = 81$).

A G-allél frekvenciáját a BMI függvényében nem cukorbeteg alcsoportjában a 4. ábrán, a cukorbeteg alcsoportjában az 5. ábrán, a myocardialis infarktust túlélte betegek egész csoportjára nézve a 6. ábrán szemléltetjük.



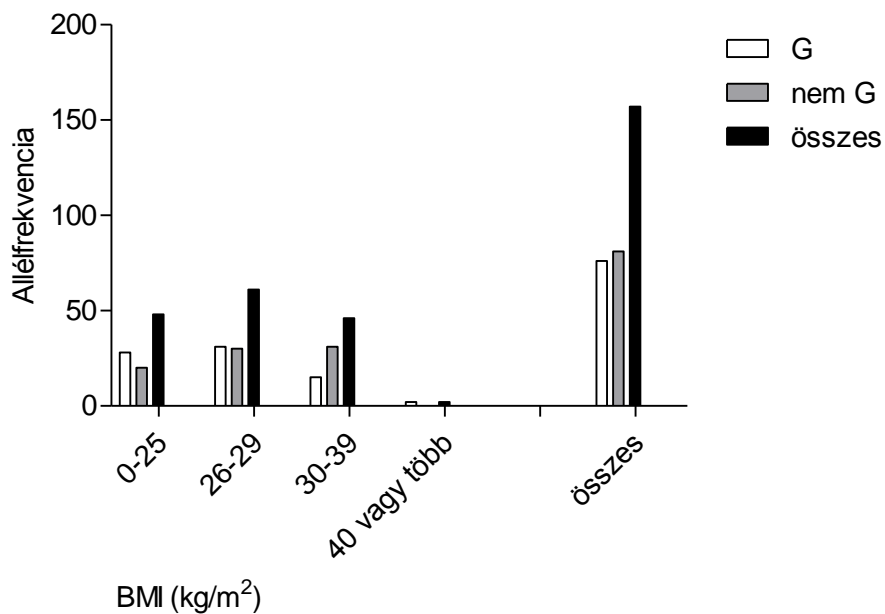
χ^2 : 11,908, $p=0,008$; asszociációs együttható: 7,420, $p=0,006$

4. ábra Myocardialis infarktuson átesett nem cukorbeteg páciensek G-allélfrekvenciája a BMI függvényében



χ^2 : 1,067 p=0,785; asszociációs együttható: 0,111, p=0,739

5. ábra Myocardiális infarctuson átesett cukorbeteg páciensek G-allél frekvenciája a BMI függvényében



χ^2 : 11,479 p=0,075; asszociációs együttható: 3,314, p=0,075

6. ábra Infarctuson átesett páciensek G-allélfrekvenciája a BMI függvényében

Sem a haskörfogat (101 ± 12 vs. 104 ± 10 cm, $p = 0,168$), sem egyéb paraméterek tekintetében nem találtunk jelentős összefüggést az rs4918 genotípusok és a vizsgált paraméterek között. A 14. táblázat adja meg az rs4918 genotípusok függvényében kapott paraméterek eredményeit. A 15. táblázatban a BMI és rs4918 polimorfizmus összefüggéseit foglaltuk össze részletezve.

14. táblázat pMI csoport rs4918 genotípusainak összehasonlítása (Átlag \pm SD)

Paraméterek	CC homozigóták (n=81)	CG heterozigóták (n=61)	GG homozigóták (n=15)	p*
Fetuin-A, mg/l	682 \pm 125	680 \pm 94	611 \pm 102	0,185
BMI, kg/m ²	28,6 \pm 3,8	27,2 \pm 4,5	27,5 \pm 5,0	0,048 0,204†
Haskörfogat, cm	103 \pm 10	101 \pm 12	100 \pm 11	0,333
Derékkörfogat, cm	106 \pm 8	102 \pm 9	102 \pm 9	0,005 0,026†
Összkoleszterin, mmol/l	5,38 \pm 1,26	5,10 \pm 1,13	5,43 \pm 1,25	0,673
LDL koleszterin, mmol/l	3,23 \pm 0,97	3,11 \pm 0,96	3,32 \pm 0,76	0,618
HDL koleszterin, mmol/l	1,23 \pm 0,28	1,20 \pm 0,27	1,10 \pm 0,27	0,112
Triglicerid, mmol/l	1,90 \pm 1,17	1,76 \pm 0,80	1,66 \pm 0,58	0,934
TNF α , pg/ml	6,07 \pm 1,70	6,15 \pm 1,88	5,89 \pm 1,75	0,848
Adiponektin, μ g/ml	9,29 \pm 4,13	8,63 \pm 4,30	8,53 \pm 3,21	0,486
Rezsztin, ng/ml	9,24 \pm 5,73	10,19 \pm 7,11	8,93 \pm 4,03	0,756
Leptin, ng/ml	32,2 \pm 19,3	29,2 \pm 18,0	31,0 \pm 10,6	0,676
C-peptid, ng/ml	3,36 \pm 2,26	3,05 \pm 1,79	3,87 \pm 3,35	0,866
Glükóz, mmol/l	5,51 \pm 1,68	5,93 \pm 1,74	5,43 \pm 0,75	0,275
Inzulin, μ U/ml	24,2 \pm 16,0	22,1 \pm 12,9	27,6 \pm 22,6	0,850

* Kruskal-Wallis teszt minden paraméterre; †CC vs. GG, ha post hoc $p < 0,05$

15. táblázat BMI értékek összefüggései az rs4918 SNP genotípusaival

Vizsgált csoport	Genotípus	Összes				Összes
		0-25	26-29	30-39	40 vagy több	
Nem cukorbeteg	CC	13	22	22	0	57
	CG	16	20	4	0	40
	GG	5	4	2	1	12
	Összes	34	46	28	1	109
χ^2 : 19,671, p=0,003; asszociációs együttható: 4,416, p=0,036						
Cukorbeteg	CC	7	8	9	0	24
	CG	6	5	9	1	21
	GG	1	2	0	0	3
	Összes	14	15	18	1	48
χ^2 : 4,201, p=0,649; asszociációs együttható: 0,011, p=0,918						
Összes pMI beteg	CC	20	30	31	0	81
	CG	22	25	13	1	61
	GG	6	6	2	1	15
	Összes	48	61	46	2	157
χ^2 : 11,479, p=0,075; asszociációs együttható: 3,314, p=0,075						

Mantel-Haenszel statisztika

Negyvennyolc személy 2-es típusú cukorbeteg volt az infarctust túlélte betegek csoportjában. Összehasonlítva a 109 nem diabéteszes beteg vizsgálati eredményeivel, csak a szénhidrát háztartásra vonatkozólag találtunk szignifikáns különbséget. A diabéteszben szenvedők körében tapasztalt mérsékelt emelkedett éhomi vércukorszintekhez ($7,08 \pm 1,99$ vs. $5,03 \pm 0,68$ mmol/l) magasabb szérumszint társult ($28,4 \pm 16,4$ vs. $21,7 \pm 14,8$ μ U/ml). A különbség mindkét változó esetében szignifikáns volt ($p < 0,001$). A C-peptid szérumszintjében találtunk különbséget ($3,93 \pm 2,27$ ng/ml vs. $3,00 \pm 2,13$ ng/ml, $p = 0,008$), illetve HOMA-A ($7,62 \pm 3,45$ vs. $4,67 \pm 3,04$; $p < 0,001$), és HOMA-B (194 ± 133 vs. 260 ± 147 , $p = 0,004$) értékekben. Az elhízással kapcsolatos fizikális paraméterekkel BMI ($28,8 \pm 4,51$ vs. $27,7 \pm 3,93$ kg/m², $p = 0,187$) és háskörfogat (104 ± 12 vs. 101 ± 10 cm, $p = 0,200$) vagy derékkörfogat (105 ± 10 vs. 104 ± 8 cm, $p = 0,510$) kapcsolatban nem találtunk szignifikáns különbséget a cukorbeteg és nem cukorbeteg alcsoportokban.

Variancia analízist nem tudtunk végezni, mert a cukorbeteg körében a G minor allél túlságosan ritkán fordul elő GG (n=3), a másik két genotípus a következőként alakult: CC (n=24) és CG (n=21). Nem találtuk szignifikáns különbséget akkor sem, amikor a G-allélt hordozókat (n=24) és nem hordozókat (n=24), valamint a C allélt hordozókat (n=45) és nem hordozókat (n=3) hasonlítottuk össze.

A nem cukorbeteg CC és GG homozigóták összehasonlítása nem adott lényeges különbséget. Nem szignifikáns különbségek adódtak a G-allélt hordozók Fetuin-A (602 ± 108 vs. 676 ± 110 mg/l, $p = 0,043$), BMI ($26,4 \pm 4,0$ vs. $28,7 \pm 3,8$ kg/m², $p = 0,001$), és derékkörfogat (100 ± 7 vs. 106 ± 8 cm, $p < 0,001$) értékeiben. Még enyhébb különbség volt leírható a haskörfogatokban (99 ± 11 vs. 103 ± 10 cm, $p = 0,068$) a G-allélt nem hordozókkal ($n = 57$) összehasonlítva.

30 kg/m² vagy annál magasabb BMI értékkel rendelkező 48 klinikailag túlsúlyos vagy elhízott beteg a myocardiális infarctust túlélte betegek csoportjában. A nem elhízott páciensekkel összevetve csak a BMI, has- és derékkörfogat, derék-csípő hányados és TNF α szintekben találtunk szignifikáns különbségeket. A többi vizsgált paraméter nem mutatott szignifikáns eltérést, a Fetuin-A és rezisztin koncentrációkban mutatkozott elhanyagolható differencia.

A 32 betegből 3 GG homozigóta volt, míg a normális testalkatúak esetén 64 betegből 12 fő volt ilyen genotípusú. Ennek megfelelően a G minorallél frekvenciája sokkal magasabb volt a normál testalkatúak (114/62), mint elhízottak esetén (43/14) (χ^2 : 5,957, RR=1,067, (95% CI=1,053–2,651, $p=0,015$)).

A Fetuin-A és a cukorbetegség, valamint elhízás közötti kapcsolatot számos irodalmi adat alátámasztja, elemeztük az rs4918 polimorfizmus szerepét, allélikus eloszlását az elhízott és nem elhízott pMI betegek körében. Cukorbetegség esetén a különböző genotípusokat és G-allélt vizsgálva nem fedezhetők fel különbségek a BMI értékét tekintve. Nem diabéteszes betegek esetén viszont a G-allél frekvenciájával szoros linearitást mutatnak az alacsonyabb BMI értékek. Az elhízott betegek további vizsgálatakor azonban a különböző genotípusokhoz, allélekhez nem tudtunk szignifikáns különbséget adó antropometrikus és metabolikus paramétereket rendelni.

Az elhízott és nem elhízott betegek laboratóriumi és antropometrikus paramétereit a 16. táblázat foglalja össze.

16. táblázat Az elhízott és nem elhízott betegek antropometrikus és laboratóriumi paramétereit

Paraméterek	Elhízottak (n=48)	Nem elhízottak (n=109)	p*
Fetuin-A, mg/l	699±126	661±105	0,053
BMI, kg/m ²	26,0±2,4	23,1±2,9	<0,001
Haskőrfogat, cm	111±8	102±7	<0,001
Derékkőrfogat, cm	111±8	102±7	<0,001
Derék-csípő hányados	1,00±0,07	0,96±0,08	<0,001
Összkoleszterin, mmol/l	5,20±1,31	5,29±1,14	0,520
LDL koleszterin, mmol/l	3,14±0,99	3,20±0,90	0,653
HDL koleszterin, mmol/l	1,14±0,23	1,22±0,29	0,107
Triglicerid, mmol/l	1,99±1,04	1,80±0,95	0,066
TNFα, pg/ml	6,69±1,77	5,91±1,72	0,009
Adiponektin, μg/ml	8,53±4,78	9,24±4,12	0,198
Rezisztin, ng/ml	11,6±8,13	8,96±5,58	0,057
Leptin, ng/ml	38,1±20,5	29,9±17,4	0,122
C-peptid, ng/ml	3,76±2,41	3,10±2,10	0,097
Glükóz, mmol/l	5,69±1,47	5,70±1,71	0,553
Inzulin, μU/ml	27,0±16,9	22,4±14,8	0,106

* Mann-Whitney teszt

A 157 pMI betegből 83 fő nem elhízott és nem cukorbeteg. Genotípus vizsgálatok alapján szignifikáns különbségeket nem találtunk. A G-allélt hordozók kiemelkedő különbséget mutattak derékbőségben, s kevésbé kifejező különbséget a BMI értékekben. Egyéb, általunk vizsgált paraméterben sem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget.

Többszörös lineáris regressziós modellben vizsgáltuk az általunk vizsgált paraméterek hatását (beleértve az rs4917 és az rs4918 polimorfizmusokét is) a szérumban Fetuin-A szintre. Az alábbi paraméterek és a szérumban Fetuin-A közötti kapcsolat vizsgálata többszörös backward lineáris regressziós modellben: BMI, haskőrfogat, koleszterin, LDL- és HDL-koleszterin, triglicerid, TNFα, adiponektin, rezisztin, leptin, C-peptid, glükóz és inzulin értékek.

Az alábbiakra: rs4918 CC/CG/GG, kontroll; rs4918 C allél, kontroll és rs4918 G allél, kontroll alkotott modellekben egyik paraméter sem szignifikáns determináns. Modell fit: $p = 0,063$.

A 17. táblázatban a szignifikáns és nem szignifikáns összefüggéseket foglaltuk össze.

17. táblázat Többszörös backward lineáris regressziós modell rs4918 polimorfizmusra kontroll és pMI betegek csoportjaiban

rs4918 CC/CG/GG, kontroll + pMI együtt			rs4918 C allél, kontroll + pMI együtt			rs4918 G allél, kontroll + pMI együtt		
Paraméter	β	p	Paraméter	β	p	Paraméter	β	p
leptin	0,330	0,004	leptin	0,330	0,004	leptin	0,330	0,004
LDL	0,217	0,052	LDL	0,217	0,052	LDL	0,217	0,052
Modell fit: $p = 0,003$			Modell fit: $p = 0,003$			Modell fit: $p = 0,003$		

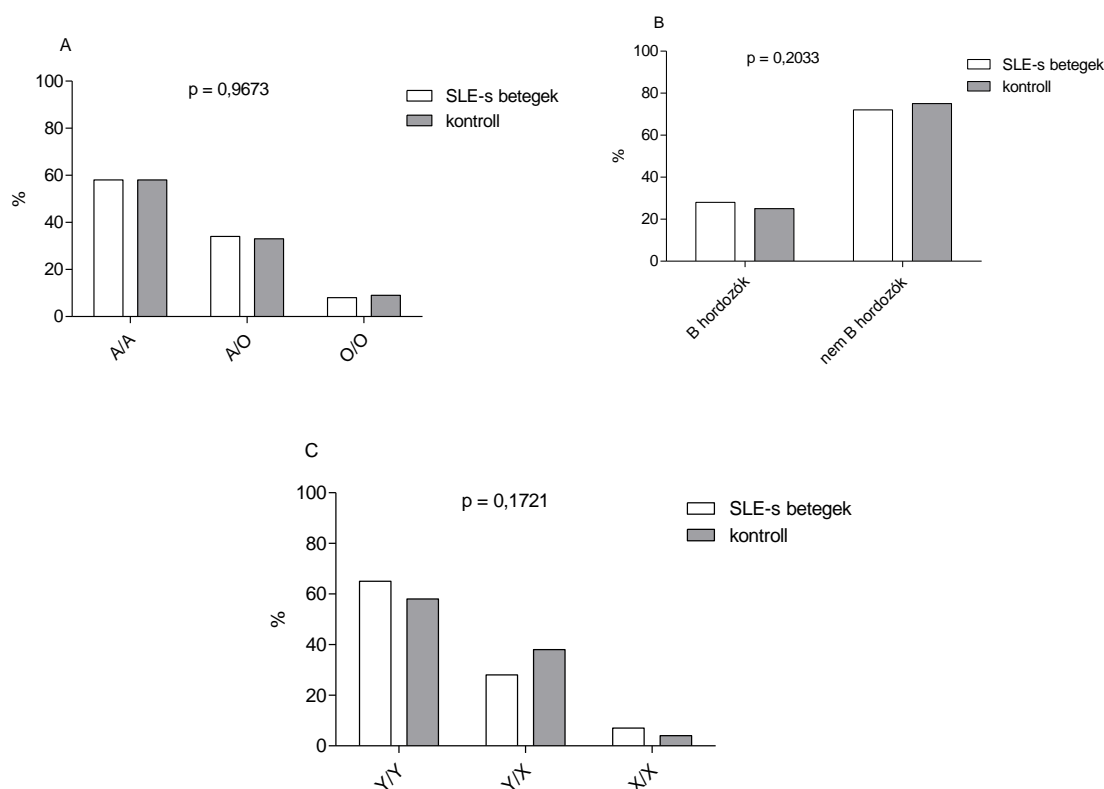
A 18. táblázatban a szignifikáns és nem szignifikáns összefüggéseket foglaltuk össze.

18. táblázat Többszörös backward lineáris regressziós modell rs4918 polimorfizmusra kontroll és pMI betegek csoportjaiban

rs4918 CC/CG/GG, pMI			rs4918 C allél, pMI			rs4918 G allél, pMI		
Paraméter	β	p	Paraméter	β	p	Paraméter	β	p
leptin	0,225	0,052	leptin	0,240	0,046	leptin	0,220	0,058
inzulin	0,268	0,022	inzulin	0,265	0,028	inzulin	0,289	0,014
LDL	0,303	0,010	LDL	0,280	0,021	LDL	0,318	0,007
rs4918 CC/CG/GG	0,267	0,022				rs4918 G allél	0,275	0,020
Modell fit: $p = 0,001$			Modell fit: $p = 0,003$			Modell fit: $p = 0,001$		

4.3 MBL2 polimorfizmus vizsgálatok és SLE-vel való összefüggések

Meghatároztuk az *MBL2* gén általunk vizsgált alléljainak eloszlását a kontroll és SLE-s betegek csoportjában. Az allélek eloszlása a vizsgált csoportokban nem különbözik szignifikánsan. Valamennyi genotípus- és allélmegoszlás Hardy-Weinberg egyensúlyban volt mindkét vizsgált csoportban. Az *MBL2* 1-es exon és promoter vizsgálatának eredményeit százalékos értékben a 7. ábrán ábrázoltuk. Az ábra (A) része azt mutatja, hogy a vizsgálati csoportokban nem volt különbség az A/A, A/O és O/O hordozók eloszlásában, a (B) panelen a B variáns allélhordozók eloszlását, a (C) panelen az X/Y promoter polimorfizmus allélikus eloszlását tüntettük fel.



7. ábra Az *MBL2* 1-es exon normál/variáns allélek frekvenciája (A), a B variáns hordozók allélfrekvenciája (B), és az X/Y promoter variáns allélfrekvenciája (C) a 315 főből képzett SLE beteg és 182 főből képzett egészséges kontroll csoportokban. χ^2 teszt p értékeit az ábrán feltüntettük.

Megvizsgáltuk az SLE-s betegekben az életkori megoszlást az *MBL2* genotípusok szerint, nem találtunk szignifikáns különbséget a strukturális variánsok genotípusai és allélfrekvenciái tekintetében. Nem adódott szignifikáns különbség az életkor eloszlás és

az A/A, A/O vagy O/O genotípust hordozók között, mint ahogy a B allélt hordozók és nem-hordozók tekintetében sem.

Ezzel szemben, szignifikáns különbséget ($p=0,017$, Kruskal-Wallis teszttel számolva) találtunk az SLE kezdetének időpontjára vonatkozóan az X/X homozigóták, X/Y heterozigóták és Y/Y homozigóták között. A betegség megjelenéskori életkor medián (interkvartilis tartomány) 23,0 (17,0–38,0) év; 33,5 (23,0–43,8) év; és 28,0 (21,5– 39,5) év volt a három csoportban. Mindez azt mutatja, hogy a -221 pozícióban található Y/X polimorfizmusnál az X/X homozigótákban betegség korábban jelenik meg a többi genotípussal (XY vagy YY) összevetve ($p=0,017$).

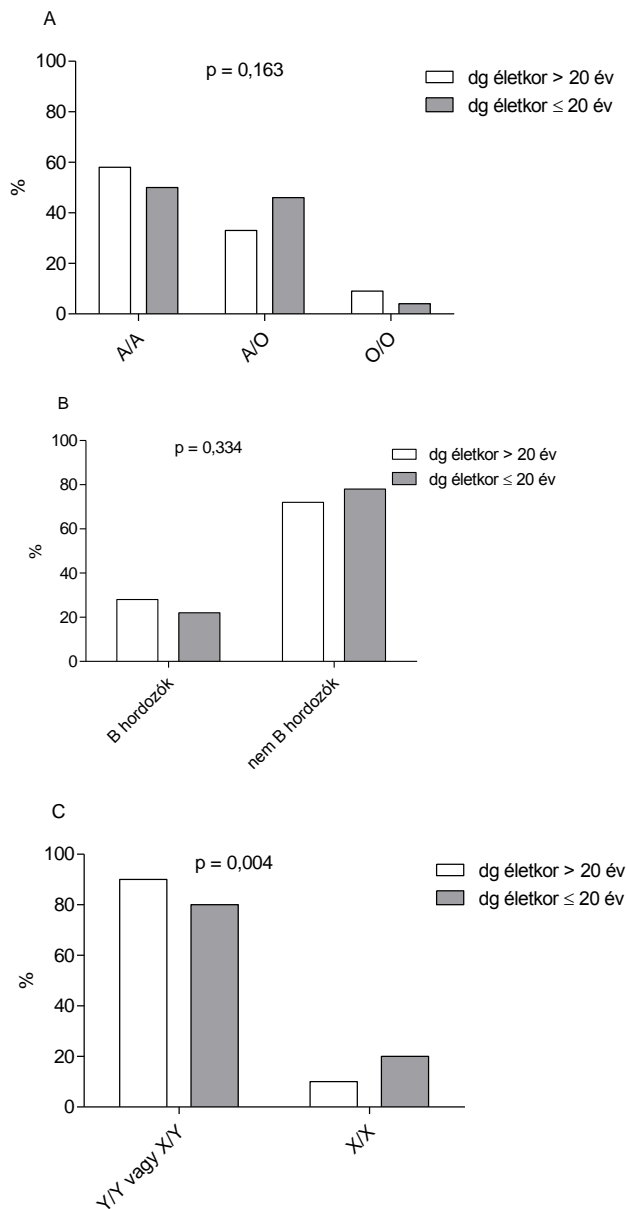
A kimutatott jelentős eltérést további analízissel szeretnénk volna megerősíteni.

A továbbiakban az SLE-ben szenvedő betegeket az életkor alapján két csoportra osztottuk: a 20 éves vagy annál fiatalabbak alkották a fiatalkorban kezdődő SLE-s csoportot, míg a többi beteg alkotta a felnőtt megjelenésű csoportot. Az 1-es exon és promoter polimorfizmusainak összehasonlítását az SLE-s betegek két csoportjában a 8. ábrán összegeztük.

Az X/Y variáns X/X genotípusa szignifikánsan gyakrabban fordult elő a korai megjelenésű csoport betegei közt a felnőtt megjelenésű csoporttal összehasonlítva ($p=0,004$) (C panel). Mindemellett, sokkal nagyobb számban ($p=0,0003$) alkották X/X homozigóták a korai megjelenésű SLE csoportot (17,4%) az egészséges kontrollokhoz képest (6,0%).

Ilyen szignifikáns különbséget nem találtunk a felnőtt kori megjelenésű SLE-s betegek csoportja (5,6%) és kontrollok között ($p = 0,840$).

A normál és strukturális variánsok vizsgálatakor nem észleltünk szignifikáns eltérést a két csoport között sem a genotípusok, sem az allélfrekvenciák tekintetében (A panel).



8. ábra Az *MBL2* 1-es exon normál/variáns allélek frekvenciája (A), a B variáns-hordozók allélfrekvenciája (B), és az X/Y promoter variáns allélfrekvenciája (C) az SLE betegek két csoportjában. χ^2 teszt p értékeit az ábrán feltüntettük.

Eredményeink szerint erősen szignifikáns ($p=0,004$) különbség van a homozigóta X allélhordozók és az Y allélhordozók között.

Az X/X genotípus hordozói sokkal gyakrabban fordultak elő a fiatalkori SLE-s csoportban, mint a felnőttek között. A két SLE-s csoportban a relatív kockázattal is szorosan összefüggő esélyhányadost számoltunk. Arra szeretnénk volna választ kapni, hogy a betegség korai manifesztációjának hányszor nagyobb az esélye az X/X

homozigótaság, mint kockázati tényező mellett, X/Y vagy Y/Y genotípusokkal összehasonlítva. A többdimenziós logisztikus regressziós analízis eredményeit a 19. táblázatban foglaltuk össze.

19. táblázat X/X homozigóta SLE-s betegek esélyhányadosa

Változó	Korai megjelenésű SLE (≤ 20 év) betegek (n=46)	Felnőtt kori megjelenésű SLE (> 20 év) betegek (n=269)	Esélyhányados	95% Konfidencia intervallum	p-érték
X/X versus X/Y vagy Y/Y hordozók	8/38 (17,5%)	15/254 (5,6%)	3,52	1,34–9,26	0,011
Nem, férfi/nő	4/42 (8,6%–91,4%)	32/237 (11,9%–88,1%)	2,06	0,62–6,83	0,215
A/B/C Centrum	14/13/19 (30,4%–28,2%–41,3%)	51/42/176 (19,0%–15,6%–65,4%)	0,63	0,43–0,90	0,013

Ebben az összehasonlításban is az X/X genotípus összefüggést mutat a betegek életkorával a diagnózis megszületésekor. Az X/X hordozók esélyhányadosa a korai SLE megjelenésre több mint 3, a többi SLE-s beteggel összehasonlítva.

Amennyiben a vizsgált csoportokat újraképeztük az életkori határt 18 évben megadva, szintén a fent említett szignifikáns különbséget kaptuk az XX genotípus tekintetében ($p < 0,001$). X/X homozigóták aránya a korai megjelenésű, juvenilis SLE-s betegek csoportjában 8/23 (34,8%) ezzel szemben 24/292 (8,2%) a felnőttkori megjelenésű csoportban.

Vizsgálataink során az SLE klinikai jellegzetességei között is találtunk különbséget a fiatal korban kezdődő (≤ 20 év) és a felnőtt korban kezdődő (> 20 év) betegcsoportok között. Adataink szerint az arthritis szignifikánsan gyakrabban ($p=0,018$) fordult elő a fiatalkori SLE betegekben és hasonló tendenciát találtunk a veseérintettség vonatkozásában is. Számításaink szerint az odds érték (valószínűség) az X/X genotípus esetében a 3-at meghaladta a fiatal korban kezdődő X/X hordozó SLE-s csoportban, ami határozott összefüggést igazol.

Hat SLE-ben klinikailag jellegzetes eltérés megjelenését (bőrtünetek, arthritis, veseérintettség, polyserositis (pleuritis/pericarditis), neuro-pszichiátriai és haematológiai érintettség) és az *MBL2* polimorfizmusok összefüggéseit is

megvizsgáltuk. A normál és strukturális variánsok genotípusai és a szervi tünetek megjelenése között nem találtunk összefüggést.

Ezzel szemben úgy találtuk, hogy a szervi érintettség kialakulása az X/Y promoter polimorfizmussal mutat összefüggést. A cutan manifesztáció és a polyserositis létrejötte szignifikánsan gyakrabban fordult elő az X/X homozigótákban ($p=0,003$ ill. $p=0,013$) és egy hasonló, bár nem szignifikáns tendencia volt megfigyelhető a vese manifesztáció vonatkozásában is, az XY vagy YY genotípusú betegekhez képest. Az *MBL2* genotípusok és szervi manifesztációk eloszlásának összefüggéseit a 20. táblázatban összegeztük.

20. táblázat Az SLE diagnózis felállítása óta megjelenő szervi manifesztációk eloszlása, az 1-es exon és a promoter SNP-ekkel összefüggésben

Szervi manifesztáció	1-es exon polimorfizmusok Betegek száma (%)				X/Y promoter SNP Betegek száma (%)			
	A/A (140)	A/O (91)	O/O (21)	p- érték*	Y/Y (154)	X/Y (79)	X/X (19)	p- érték*
Kután	127 (70,6)	75 (69,4)	18 (66,7)	0,914	129 (64,2)	72 (78,3)	19 (86,4)	0,003
Arthritis	146 (81,1)	88 (81,5)	21 (77,8)	0,905	160 (79,6)	77 (83,7)	18 (81,8)	0,502
Vese	66 (36,9)	49 (45,8)	10 (37,0)	0,329	74 (36,8)	39 (42,4)	12 (54,5)	0,094
Serositis	44 (24,4)	25 (23,1)	6 (22,2)	0,950	41 (20,4)	24 (26,1)	10 (45,5)	0,013
Neuro- pszichiátriai	68 (37,6)	36 (32,3)	12 (44,4)	0,519	74 (36,8)	32 (34,4)	10 (45,7)	0,749

* χ^2 teszt

Ha az életkort, nemet, SLEDAI pontokat is bevontuk a statisztikai elemzésbe, az X allél még mindig szignifikáns összefüggést mutatott a bőr érintettség kifejlődésével. A 21. táblázatban foglaltuk össze az X allél fentiekkel adott összefüggéseit többdimenziós logisztikus analízist használva.

21. táblázat X/Y promoter genotípusainak esélyhányadosának meghatározása a diagnózis felállítása utáni bőrtünetek megjelenésével összefüggésben

Változó	Esélyhányados	95% konfidencia intervallum	p-érték
X/X versus X/Y vs. Y/Y	2,61	1,21–5,60	0,014
Vizsgálat kori életkor (átlag±szórás)	1,00	0,97–1,03	0,915
Nem, férfi/nő	2,05	0,48–8,67	0,330
SLEDAI a vizsgálatkor (interkvartilis tartomány)	1,06	0,96–1,17	0,225
A/B/C Centrum	0,50	0,19–1,32	0,161

Sem az antifoszfolipid antitestek, sem az anti-DNS antitestek előfordulása nem mutatott összefüggést az általunk vizsgált *MBL2* genotípusokkal.

5. Megbeszélés

5.1 A Fetuin-A rs4917 és rs4918 polimorfizmusai

Az alacsony mintaszám ellenére eredményeink azt sugallják, hogy a T nukleotid jelenléte az rs4917 polimorfizmusban kedvezőbb lipidprofillal és alacsonyabb TNF α szinttel jár együtt egészséges egyénekben.

A T nukleotid előnyösebb antropometrikus paraméterekkel (BMI, has- és derékkörfogat) társul az infarctust túlélő betegcsoportban, különösen igaz ez a nem diabéteszes alcsoportban.

A kis esetszám miatt a diabéteszes betegek különböző alléljeinek alcsoportjait nem tudtuk elemezni.

A nem diabéteszes, nem obez infarctuson átesett betegek körében ezek a különbségek még mindig szignifikánsak voltak. A T allélt hordozók nagyobb eséllyel voltak normál testalkatúak.

Különbséget találtunk az egészséges és infarctuson átesett betegek csoportjai közt metabolikus paraméterek és testsúly tekintetében. A különbség magyarázata abban rejlik, hogy az egészséges vizsgálati személyek csoportját normál testalkatú emberek alkották (átlag BMI 25 kg/m²), ezzel szemben az infarctust túlélő betegek csoportjában kemény kardiovaszkuláris végpont (myocardiális infarctus), valamint többszörös kardiovaszkuláris rizikófaktorok (érbetegség, elhízás, diabetes, emelkedett proinflammatorikus citokin szint) megléte volt jellemző.

Számos vizsgálatban igazolták az rs4917 polimorfizmus jelentőségét hiperlipidémiával, elhízással és diabéteszsel összefüggésben. Ezek közül több tanulmány rámutat arra, hogy a Fetuin-A szerepet játszik az elhízás és inzulinrezisztencia kialakulásában [53, 24, 58, 59, 76, 70]. Az irodalomban számos olyan megfigyelést találunk, ami az rs4917 polimorfizmus és elhízás lehetséges kapcsolatára utal. Svéd férfiak vizsgálata során azt találták, hogy az rs4917 TT és az rs4918 GG haplotípusok rs2593813:G haplotípussal karöltve sovány testalkatúakra jellemzőek [183]. Az rs4917 a teljes testzsírtartalommal is összefüggésbe hozható [184]. Egy életmód változtatás hatását kutató klinikai intervenciós vizsgálatban felnőtt, obez nők kalóriabevitelét csökkentették és heti négy alkalommal testmozgást írtak elő. A Fetuin-A rs4917 CC homozigóta személyekben az izomtömeg és az alap metabolikus aktivitás nagyobb mértékben nőtt, míg a teljes

testzsírtartalom jobban csökkent, mint a T allélt hordozókban [185]. Mások ellenben nem találtak összefüggést az rs4917 variánsok és az elhízás között. Dahlman és munkatársai azt találták, hogy a CC variánsokban alacsonyabb az összkoleszterin szint, mint a TT allélt hordozókban. rs4917 CC allél rosszabb HOMA indexszel és megnövekedett éhomi és étkezés utáni szérum inzulinszinttel állt összefüggésben a TT allélt hordozókkal szemben. Ugyanakkor elhízással és a diabéteszrel ilyen kapcsolatot nem lehetett kimutatni.

Hozzánk hasonlóan Andersen és munkatársai sem találtak különbséget a CC és TT variánsok között az összkoleszterin, HDL koleszterin és triglicerid szintek tekintetében [123]. Egy vizsgálatban az rs4917 polimorfizmus és a diabétesz között szintén nem találtak összefüggést [120]. Egy Jensen és munkatársai által végzett vizsgálat szerint az rs4917 variánsok és a Fetuin-A plazmakoncentrációja között összefüggés áll fenn, illetve magasabb vércukorszintekhez magasabb Fetuin-A plazmakoncentráció társult [186]. A cseh Post-Monica vizsgálatban leírták, hogy az rs4917 T allél hordozóiban magasabb az összkoleszterin szint [187].

Elméletileg az rs4917 variáns a Fetuin-A szérumkoncentrációjának változását vagy a molekula megváltozott szerkezetéből eredő eltérő aktivitását okozhatja. Több vizsgálatban igazolták, hogy az AHSZG minor variánsát (AHSZG-A2*) hordozókban alacsonyabb a szérum Fetuin-A szintje [114, 115, 118, 183].

Vizsgálataink során nem találtunk szignifikáns összefüggéseket a Fetuin-A szérumszintek és az rs4917 polimorfizmus között. Mind az egészséges, mind a betegek alkotta csoportokban, a TT homozigótákban alacsonyabb Fetuin-A szérumszinteket mértünk, mint a CC homozigótákban. Ennek valószínű magyarázata az alacsony mintaszámban rejlik.

Az emelkedett Fetuin-A szérumszint egyértelmű összefüggést mutat a diabéteszre való hajlammal [60, 89, 187]. 2-es típusú diabéteszben szenvedő betegekben nem tudtak olyan összefüggéseket leírni a Fetuin-A szérumkoncentrációjának tekintetében, mint egészséges vagy túlsúlyos egyének vizsgálatakor [83, 188]. Diabéteszes betegek Fetuin-A szérumszintjének értékelésekor figyelembe kell venni olyan egyéb faktorokat is, mint a fennálló hiperlipidémiát [119, 122], és az alkalmazott antidiabetikus [84], illetve antilipémiás kezelést [38]. A sztatinok (HMG-CoA-reduktáz inhibitorok) pleiotróp hatással rendelkeznek. Újonnan diagnosztizált CAD betegek csoportjában a 6 hónapos

simvastatin kezelés szignifikánsan csökkentette a szérum Fetuin-A szintet, az összkoleszterin és LDL-koleszterin szintek csökkenésétől függetlenül [190]. Újonnan diagnosztizált 2-es típusú diabéteszes betegeknél a pioglitazon és metformin kezelés egyaránt csökkentette a szérum Fetuin-A szintet. A pioglitazon Fetuin-A plazmaszintcsökkentő hatása sokkal hatékonyabb volt férfiakban, mint nőkben [191].

A Fetuin-A rs4917 és rs2248690 variánsai szoros összefüggésben vannak a Fetuin-A plazma koncentrációjával. Az rs2248690 promotor variáns (T; frekvenciája kaukázusiakban ~26%) és a szoros kapcsoltságban lévő nem-szinoním aminosav szubsztitúcióval járó rs4917 (T; frekvenciája kaukázusiakban ~33%) és rs4918 (G; frekvenciája kaukázusiakban ~34%) variánsok minor alléljeit hordozók kevesebb Fetuin-A koncentrációval rendelkeznek a normál, vad típusú allélt hordozókkal összehasonlítva [114, 118].

Jensen és munkatársai nagy esetszámú prospektív vizsgálatukban az AHSG genetikai variánsai és a Fetuin-A plazma koncentrációja, illetve a diabétesz incidenciája között fennálló kapcsolatot találtak. Ismert, hogy a magasabb Fetuin-A plazma koncentráció nagyobb rizikót jelent 2-es típusú diabetes kialakulására [187, 192]. Jensen és munkatársai azt találták, hogy az alacsonyabb Fetuin-A plazma koncentrációkkal társuló polimorfizmusok nem mutatnak összefüggést a 2-es típusú diabetes rizikójával vagy az éhomi vércukorszinttel, vagyis a genetikailag meghatározott, emelkedett Fetuin-A plazma koncentráció nem lehet okozati összefüggésben a 2-es típusú diabéteszsel [186]. Az EPIC Potsdam Study keretén belül Fisher és munkatársai mendeli randomizáció módszerével vizsgálták az emelkedett Fetuin-A plazma koncentráció és a jövőbeni myocardialis infarctus közötti lehetséges okozati összefüggést. A Fetuin-A rs4917 C-allél genotípus és a myocardialis infarctus előfordulása közötti erős kapcsolatról számoltak be, a vad típusú rs4917 allél magasabb Fetuin-A plazma koncentrációval jár [118]. Az AHSG 6-os exont érintő rs4917 polimorfizmusa (a fehérje D3 domén régiója) megváltozott funkciót eredményezhet. Azon a megfigyelésen kívül, miszerint az rs4917 TT variánsok 35-ször magasabb lipolitikus érzékenységet mutatnak, mint a CC variánsok, ezidáig még nincs leírt egyéb bizonyíték az eltérő funkcionális aktivitásra [122].

A molekuláris mechanizmusok alaposabb megismerésének fényében következtethetünk arra, hogy a Fetuin-A a metabolikus változásokkal járó betegségek, gyulladás

kialakulásában szerepet játszhat, a Fetuin-A összekötheti a metabolikus eltéréseket a gyulladás folyamatával. [61, 62, 67].

Vizsgálatainknak is megvannak a korlátai. A keresztmetszeti vizsgálat nem teszi lehetővé, hogy az rs4917 és rs4918 polimorfizmusok és az általunk vizsgált metabolikus paraméterek közötti okozati összefüggéseket írjunk le.

A viszonylag alacsony mintaszám nem tette lehetővé az infarctust túlélte betegek csoportjában a minor (T) nukleotid frekvencia alacsony csoport vizsgálatát. A myocardiális infarctust túlélte betegcsoportban obese és nem obese alacsony csoportokat alkottunk. E két alacsony csoportot vizsgálva nem találtunk szignifikáns genotípus-asszociált különbségeket. Ennek lehetséges magyarázatai a következők lehetnek: egyfelől a mintaszám túl alacsony volt, másfelől az egészséges kontrollcsoportban fellelt különbségeket a betegcsoportban elfedhetik a kardiovaszkuláris megbetegedéshez kapcsolt patológiás elváltozások jelenléte, úgymint szubklinikus gyulladás, diabetes és elhízás.

Végül, de nem utolsó sorban a betegcsoport gyógyszereléséből (antihipertenzív, antilipémiás, antidiabetikus, acetilszalicilsav alkalmazása) eredő hatások elfedhetik a különböző genotípusokhoz tartozó lehetséges különbségeket.

Bár az rs4917 variánst elhízással kapcsolatban írták le, a T allélt hordozók kevésbé voltak elhízottak, mint a C allélt hordozók.

Eredményeink egybevágóak azokkal a megfigyelésekkel, miszerint az rs4917 minor T variánsa sokkal kedvezőbb paraméterekkel társul, mint a C allél. A Fetuin-A sokkal inkább összefüggést mutat az elhízással, mint inkább a diabetes mellitusszal.

A Fetuin-A rs4918 polimorfizmus vizsgálata során kapott eredményeink arra engednek következtetni, hogy a G nukleotid jelenléte egészséges egyéneknél a C nukleotid jelenlétével összehasonlítva alacsonyabb TNF α és adiponektin szinteket eredményez és magasabb leptin koncentrációt.

A myocardiális infarctust túlélte betegekben, a G allélt hordozókban a derékkörfogat és BMI értékeket alacsonyabbnak találtuk, mint C allélt hordozókban.

A betegcsoportban az rs4918 polimorfizmus és elhízás közötti összefüggés csak a nem diabéteszes betegek esetében volt releváns. A diabéteszes betegek csoportjában az alacsony mintaszám nem tette lehetővé további analízisek elvégzését.

Az elhízottság paraméterei és az rs4918 polimorfizmus közötti kapcsolat a nem elhízott és nem diabéteszes betegek esetében is megfigyelhető volt. A vékonyabb testalkat a G allél gyakoriságával kapcsolható össze.

Nyilvánvaló különbségek adódtak a két vizsgálati csoportban az antropometrikus és metabolikus értékek, illetve az adipokin és egyéb citokin szintek között, a két vizsgálati csoportot ilyen szempontból nem szándékoztunk összehasonlítani.

Egészségesek alkotta csoportban a BMI értékek a normál tartományba estek ($\leq 25 \text{ kg/m}^2$), míg az infarctust túlélte betegek többféle kardiovaszkuláris rizikófaktorról (obezitás, diabetes és emelkedett proinflammatorikus citokin szintek) is rendelkeztek.

A Fetuin-A rs4918 polimorfizmussal kapcsolatban ellentmondásos eredményeket találunk az irodalomban. Svéd férfiak vizsgálata során azt találták, hogy az rs4917 TT és az rs4918 GG haplotípusok rs2593813:G haplotípussal karöltve sovány testalkatúakra jellemzőek [183]. Mint fentebb ismertettük, mi szintén azt találtuk, hogy az rs4917 minor T allélje nagyobb frekvenciával fordul elő vékony testalkatúakban [115].

Másrésről mások azt találták, hogy a rs4918 G allél jelenléte kevésbé előnyös tulajdonságokkal jár. Dializált betegek követéses vizsgálata során a CG és GG genotípusok kapcsolatát írták le a társuló alacsonyabb Fetuin-A plazmaszintekkel és enyhén megnövekedett mortalitással [193]. Vesetranszplantált betegek esetén az rs4918 G allél jelenléte alacsonyabb Fetuin-A szérumszinttel társult [114], ami összefüggésbe volt hozható az ezekben a betegekben észlelt aortameszesedéssel és magasabb mortalitással [194].

Mások azt találták, hogy a G allél jelenléte magasabb ischaemiás stroke rizikót jelent a C allél jelenlétével összehasonlítva. Ezzel párhuzamosan az Észak-kínai han populációt vizsgálva leírták, hogy a GG homozigóta genotípus, illetve a G heterozigóta genotípus nagyobb arányban fordul elő ischaemiás-cerebrovasculáris betegségekben szenvedőknél, mint egészségesebben [195].

Növekszik azoknak a megfigyeléseknek a száma, melyek azt sugallják, hogy a Fetuin-A különböző genotípus-vizsgálatok ellentmondásos eredményei háttérben rasszbéli különbségek is meghúzódnak.

Ismert, hogy kaukázusi nőkben az AHSR-2* minor variáns magasabb ösztadiol szinttel és nagyobb csontsűrűséggel jár együtt [196, 197]. Jiang és mások is, bizonyítékot

találtak kaukázusiakban a Fetuin-A rs4918-SacI polimorfizmus és csontgeometria szoros kapcsolatára, míg ugyanez nem volt igaz a vizsgált kínaiakra [198].

Kaukázusi és kínai populációkban más vizsgálatok is szignifikáns különbségeket találtak a genetikailag meghatározott csontsűrűségben [199, 200].

Elméletben az rs4918 variánsok által kódolt Fetuin-A fehérjében mind a szerkezeti, mind a működési, mind a szérumszintekben eltérések lehetnek. Ezek magyarázhatják az rs4918 variánsokban észlelhető eltérő aktivitást. Mint már fentebb részleteztük, az emelkedett Fetuin-A szérumszint szerepet játszik az elhízás és az inzulinrezisztencia kialakulásában.

A Fetuin-A polimorfizmusai, többek között az rs4918 első leírása óta számos vizsgálatban alátámasztották, hogy az AHS2* minor variáns alacsonyabb Fetuin-A szérumszintet eredményez [114, 118, 183].

Az alacsony mintaszám ellenére, mi is ezt a trendet figyeltük meg a betegek vizsgálati csoportjában. A Fetuin-A plazma szintek átlaga a GG homozigótákban alacsonyabb volt, mint a CC homozigótákban, bár ez a különbség statisztikailag nem szignifikáns.

Az emelkedett Fetuin-A szérumszint a diabetes kialakulásának esélyével mutat összefüggést, de ez a kapcsolat nem olyan világos, mint egészségesekben vagy nem cukorbeteg obese egyéneknél.

Mint már korábban is említettük, Jensen és munkatársai fordított korrelációt találtak a Fetuin-A szint és a kardiovaszkuláris mortalitás között idős, nem obese, nem cukorbeteg egyéneknél. Ez a jelenség diabetes fennállása esetén megfordult. Nem cukorbeteg egyéneknél az obezitás és inzulinrezisztencia hasonló hatásokat gyakorolt. Az emelkedett Fetuin-A szint és alacsonyabb mortalitás közötti kapcsolat csak a normál referencia tartományba eső HOMA indexszel rendelkező nem elhízott egyéneknél igaz [188].

A két kis, általunk vizsgált csoportban az rs4918 genotípusok és allélok tekintetében nem találtunk szignifikáns különbségeket.

Mindazonáltal figyelemreméltó, hogy az egészségesek alkotta kontrollcsoportban az TNF α szintekben szignifikáns különbségek adódtak az rs4918 homozigótákban.

A G allélhoz alacsonyabb TNF α és adiponektin, és magasabb leptin szint társult, mint a C allélhoz. Ezek a különbségek nem fedezhetők fel az infarctuson átesett betegek csoportjában, feltehetően a fennálló szubklinikus gyulladás és az obese betegek nagyobb aránya miatt.

Elméletben a 7-es intront befolyásoló rs4918 polimorfizmus is okozhatja a fehérje megváltozott funkcióját. Leírták, hogy az rs4917 TT variánsai 35-ször magasabb lipolitikus szenzitivitással rendelkeznek, mint a CC variánsok. Az rs4918 variánsok esetén még nem számoltak be funkcionális különbségekről.

Nagy esetszámú prospektív vizsgálatok szükségesek annak megállapítására, hogy felfedjék az AHSZG különböző variánsainak okozati összefüggéseit, a különböző variánsok által kódolt fehérje funkcionális különbségeit.

5.2 MBL2

Az MBL2 gén a 10q11.2-q21 kromoszómális régióban található. Az általa kódolt fehérje a természetes immunitás fő kaszkárendszerének, a komplementrendszernek tagja. A komplementrendszer lektin útvonalon való aktiválódásában tölt be szerepet, így a génjében bekövetkező változások kihatással lehetnek egyes immunfolyamatok megjelenésére, lefolyására.

Célunk az volt, hogy a magyar populációban és SLE-ben tanulmányozzuk az *MBL2* gén egyes bizonyos polimorfizmusait és azok esetleges hatását a betegség megjelenésére és lezajlására. Vizsgálataink során összesen 315 SLE-s beteg és 182 egészséges kontroll MBL2 polimorfizmusát elemeztük.

Az SLE-s betegek klinikai és laboratóriumi adatait összegyűjtöttük és összevetettük az MBL2 genotípusokkal. Klinikai megfigyelések szerint fiatalkori SLE-ben (amikor a diagnózis időpontjában a betegek életkora nem haladja meg a 20 évet) specifikus klinikai, immunológiai és genetikai jellegzetességek mutathatók ki, melyek eltérnek a felnőttkori SLE-s betegektől.

Az *MBL2* 1-es exon általunk vizsgált polimorfizmusainak eloszlásában nem találtunk lényeges szignifikáns különbséget az SLE-s betegek és az egészségesek csoportjaiban. A B allél variáns hordozók eloszlásában sem találtunk szignifikáns különbséget.

Lee és munkatársai által alkalmazott meta-analízist folytattunk a vizsgálatunkból kapott B allél variánssal kapcsolatos eredményekkel, így azt kaptuk, hogy a B allél gyenge hajlamosító tényezőnek számít [201].

Vizsgálataink szerint az Y/X polimorfizmus X/X genotípus emelkedett prevalenciát mutatott az SLE-s csoportban. Az X/X genotípust hordozó betegekben az SLE fiatalabb életkorban jelent meg.

Megfigyeltük azt is, hogy a homozigóta X allélt hordozók esetén nagyobb a rizikó a bőrtünetek, illetve a pleuritis/pericarditis megjelenésére.

Abban az esetben, ha az SLE-s betegeket két csoportba soroljuk (fiatalkori SLE, életkor a diagnóziskor ≤ 20 év és felnőttkori SLE, életkor a diagnóziskor > 20 év) bizonyítani tudtuk, hogy az X/X homozigóta SLE-s betegek százalékos aránya szignifikánsan magasabb a juvenilis SLE-s betegekben.

Ezen kívül azt találtuk, hogy az X/X genotípus gyakorisága a fiatalkori SLE csoportban majdnem háromszor nagyobb volt, mint az egészséges kontrollokban. Mások

eredményeivel összhangban az általunk vizsgált 1-es exon variánsok nem mutattak összefüggést a szervi manifesztációkkal [201].

Az MBL genotípusok és az SLE kapcsolatát számos tanulmány megerősítette. Egy tanulmányban az *MBL2* -550G/C (H/L), -221G/C (Y/X), Arg52Cys (D), Gly54Asp (B), Gly57Glu (C) polimorfizmusok szerepét vizsgálták, illetve a MBL szérum szinteket, mint rizikófaktort a felnőttkori DM és SLE kialakulásában, bolgár páciensekben. Egyik vizsgált *MBL2* polimorfizmus sem mutatott összefüggést a betegségek kialakulásával. Eredményeik azt tükrözik, hogy az általuk vizsgált *MBL2* polimorfizmusoknak inkább csak betegségmódosító szerepe van, a betegségre való hajlammal nem mutattak összefüggést [202].

Mások 134 brazil SLE beteg és 101 egészséges kontroll személy *MBL2* gén funkcionális polimorfizmusát vizsgálták az *MBL2* gén promoter régiójában és az 1-es exonban. Az *MBL2* A/O polimorfizmus genotípusok és allélfrekvenciák szignifikáns különbséget mutattak a brazil SLE betegek és egészséges kontrollok között, az O allél jelenléte (B, C vagy D) az SLE-re való növekedett rizikóval párosult. [203].

Ezzel szemben az általunk vizsgált, magyar SLE-s betegek és egészségesek csoportjai közt nem találtunk szignifikáns különbséget az említett polimorfizmusok kapcsán.

Azt is megfigyelték, hogy az alacsonyabb MBL szintet eredményező genotípusok megnövelik az SLE rizikóját. Ha az SLE betegek klinikai tüneteit és laborértékeit vizsgálták a különböző genotípusokban, az A/O genotípus és veseérintettség között, illetve az X/Y genotípus és antifoszfolipid szindróma között találtak összefüggést. Az alacsony MBL termeléssel járó genotípus sokkal gyakrabban fordult el veseérintettségben szenvedő SLE betegekben [203].

Tanha és munkatársai dán SLE-s beteget vizsgáltak követéses vizsgálatban, ahol az *MBL2* polimorfizmusok összefüggéseit kutatták lupus nephritissel, a lupus nephritis típusával, ESRD-vel és mortalitással [204]. Igazolták, hogy az MBL deficienciát okozó *MBL2* polimorfizmusok összefüggést mutatnak a lupus nephritis kialakulásával. A homozigóta vad típusú A/A allélt hordozó SLE-s betegekhez képest az MBL deficiens (O/O allélt hordozók) betegek esetében 2,6-szor nagyobb volt a rizikó a lupus nephritis kialakulására a követési periódusban, míg a heterozigóták esetén ez csak 1,1-szeres volt. Alátámasztották a korábbi eredményeiket is, miszerint az O/O allélt hordozók esetén az

MBL mérhetően alacsony a szérumban. Ez a 100 ng/ml alatti szérumszint a nephritis kialakulásának megnövekedett kockázatával jár [204].

Xu és munkatársai több etnikailag különböző SLE betegcsoport *MBL2* A/O polimorfizmusával kapcsolatos irodalomban fellelhető eredmény meta-analízisét végezte el. Nyolc vizsgálat (5 európai és 3 amerikai) eredményeit elemezték. Az *MBL2* A/O polimorfizmus tekintetében szignifikáns összefüggést találtak a polimorfizmus és SLE között allélikus összehasonlításban (Esélyhányados = 0,83, 95% konfidencia intervallum: 0,73-0,93, $p = 0,002$). Ha azonban az európai etnikumok szerint csoportosították, nem találtak szignifikáns összefüggést [205]. A különböző etnikumú SLE-s betegek és egészségesek csoportjaiban az *MBL2* promoter és 1-es exon polimorfizmusait vizsgálva a kaukázusi SLE-s betegek csoportjában nem találtak összefüggést a betegség klinikai lefolyása és a genotípusok között [206].

A fenti eredmények alapján Gergely és munkatársai magyar, juvenilis idiopathiás arthritsben szenvedő beteg *MBL2* genotipizálását és JIA-val való összefüggéseit vizsgálták. Az *MBL2* gén polimorfizmusai közül az exon 1 polimorfizmusok közül a kodon 52 és a kodon 57 polimorfizmusok szignifikánsan asszociáltak JIA-val. A kodon 54 polimorfizmus és a promoter polimorfizmusok esetében az allél és genotípus frekvenciák nem különböztek szignifikánsan a beteg és a kontroll csoportban. JIA betegekben az *MBL2* haplotípusok megoszlása szignifikánsan különbözött a kontroll csoport megoszlásától. A JIA betegek között szignifikánsan többen hordoztak alacsony MBL szérumszintet meghatározó *MBL2* genotípust [207]. Egy dél-brazíliai SLE-s betegekben végzett vizsgálat nem talált statisztikailag szignifikáns összefüggést a variáns allélek és klinikai kép között [208], míg egy másik, szintén dél-brazíliai populáción végzett vizsgálat a magasabb MBL plazmaszintnek (magasabb MBL termelő képességgel rendelkező genotípus) védő szerepet tulajdonít [203].

Ez összhangban áll eredményeinkkel, miszerint a homozigótaság a „alacsonyan expresszáló” *MBL2* promoter X allél -221 pozíciójában erősen szignifikáns kapcsolatot mutat a fiatalkori SLE-vel és bizonyos szervi manifesztációkkal, s így fontos szerepe van az SLE patogenezisében.

Több etnikumhoz tartozó SLE-s betegek *PPP2CA* polimorfizmus vizsgálatok eredményeink alapján a 20 éves életkort adták meg fiatalkori, illetve felnőttkori SLE diagnózis definiálására [209]. Brazil SLE-s betegek vizsgálatok – összhangban

eredményeinkkel - nem találtak szignifikáns eltérést az X/Y promoter polimorfizmus allél megoszlásban az SLE-s betegcsoport és kontroll csoport között [208].

Amador-Patarroyo összefoglaló közleményében leírja, hogy az SLE-vel asszociált gének mellett az MBL2 génnek szerepe van a fiatalkorban kezdődő SLE-ben [210].

A Nature Reviews Rheumatology egy összefoglaló közleményében leírják, hogy kevés genetikai polimorfizmus és SLE megjelenése közötti vizsgálatot végeztek. Ezek egyike ez a magyar populáción végzett vizsgálat, mely azt mutatta, hogy az SLE az MBL2 X/X homozigótákban korábban alakul ki [211].

6. Következtetések

- Az rs4917 C/T variánsok frekvenciái, illetve az rs4918 C/G variánsok frekvenciái beleillenek a korábbi európai vizsgálatok által leírt sorba. Mindkét allélra nézve a frekvencia: 0,65/0,35. Ismert európai adatok: 0,6/0,4 (Nagy-Britannia); 0,79/0,2 (Ibéria).
- Az rs4917 polimorfizmus minor T variánsa előnyösebb antropometrikus paraméterekkel (BMI, has- és derékkörfogat) társul az infarctust túlélő betegcsoportban, mint a C variáns. Különösen igaz ez a nem diabeteses alcsoportban. A T allélt hordozók nagyobb eséllyel voltak normál testalkatúak. A T nukleotid jelenléte az rs4917 polimorfizmusban kedvezőbb lipidprofillal és alacsonyabb TNF α szinttel jár együtt egészséges egyéneknél.
- Kaukázusi populációt tekintve (jelen esetben magyar) az rs4918 polimorfizmus minor G variánsa előnyösebb paraméterekkel társul, mint a C allél, alacsonyabb TNF α szinteket eredményez, illetve magasabb adiponectin és leptin koncentrációt. A szívinfarctust túlélő betegekben, a G allélt hordozókban a derékkörfogat és BMI értékeket alacsonyabbnak találtuk, mint C allélt hordozókban.
- A Fetuin-A plazmaszintje emelkedett myocardialis infarctust túlélő betegekben. Bár negatív akutfázis fehérje, szérumban koncentrációja az infarctust túlélő betegekben az inflammatorikus citokinekkal nem mutat összefüggést.
- Eredményeink jól korrelálnak azokkal az irodalmi adatokkal, melyek szerint a Fetuin-A inkább az obezitással korrelál, mint a 2-es típusú diabeteszel.
- Eredményeinket összegezve elmondhatjuk, hogy az *MBL2* promotor -221 pozíciójában található Y \rightarrow X polimorfizmusra X/X homozigótáknál az SLE fiatalabb életkorban jelent meg, és e lókusza a szervi érintettség kialakulásával is összefüggést mutat.

7. Összefoglalás

Összehasonlítottuk a Fetuin-A rs4917 és rs4918 polimorfizmusainak allélikus eloszlását egészségesek csoportjában és myocardialis infarctust túlélte betegekben. A csoportokban az rs4917 és rs4918 polimorfizmusok allélikus eloszlásában nem volt szignifikáns különbség. Egészségesekben a T nukleotid jelenléte az rs4917 polimorfizmusban kedvezőbb lipidprofillal és alacsonyabb TNF α szinttel jár együtt. A T nukleotid előnyösebb antropometrikus paraméterekkel társul a pMI csoportban, különösen igaz ez a nem diabeteses alcsoportban. A T allélt hordozók nagyobb eséllyel voltak normál testalkatúak. A pMI betegcsoportban obez és nem obez alcsoportokat alkottunk. E két alcsoportot vizsgálva nem találtunk szignifikáns genotípus-asszociált különbségeket. Ennek lehetséges magyarázatai: egyfelől a mintaszám túl alacsony volt, másfelől a kontrollcsoportban fellelt különbségeket a betegcsoportban elfedhetik a CVD-hez kapcsolt patológiás elváltozások jelenléte, illetve a pMI csoport gyógyszereléséből eredő hatások elfedhetik a különböző genotípusokhoz tartozó lehetséges különbségeket. A Fetuin-A rs4918 polimorfizmus vizsgálata során kapott eredményeink arra engednek következtetni, hogy a G nukleotid jelenléte egészséges egyéneknél a C nukleotid jelenlétével összehasonlítva alacsonyabb TNF α szinteket eredményez, illetve magasabb adiponektin és leptin koncentrációt. MI túlélte betegekben, a G allélt hordozókban a derékkörfogat és BMI értékeket alacsonyabbnak találtuk, mint C allélt hordozókban. A vékonyabb testalkat kapcsolatba hozható a G allél gyakoriságával. Vizsgálataink során nem találtunk szignifikáns összefüggéseket a Fetuin-A szérumszintek és az rs4917 polimorfizmus között. Az rs4918 polimorfizmust vizsgálva azt találtuk, hogy a Fetuin-A plazma szintek átlaga a GG homozigótákban alacsonyabb volt, mint a CC homozigótákban, bár ez a különbség statisztikailag nem szignifikáns.

Az MBL2 gén polimorfizmusa az SLE kialakulásának rizikó faktora. SLE-s betegekben és kontrollban az MBL2 polimorfizmust vizsgáltuk. Kimutattuk, hogy az MBL2 polimorfizmusában a homozigóta SLE-s betegekben szignifikánsan fiatalabb életkorban ($p=0,017$) kezdődik a betegség. XA/XA homozigótákban a fiatalkorban kezdődő SLE (≤ 20 év) előfordulási gyakorisága különösen magas volt és gyakrabban lehetett igazolni a bőr manifesztációk ($p=0,003$) és a pleuritis/pericarditis ($p=0,013$) kialakulását.

8. Summary

Fetuin-A rs4917 and rs4918 frequencies were determined in healthy controls and in patients with previous myocardial infarction. There was no significant difference in the frequencies of genotypes and alleles among healthy and pMI subjects. In healthy subjects the presence of T allele was associated with more favorable lipid profile and lower TNF α , as well. The association of the T nucleotide with more favourable anthropologic parameters could also be observed among patients with MI, essentially in those without diabetes. Leanness, again, was associated with higher prevalence of the T allele. A further analysis of the genotype and allelic distribution among obese and non-obese was performed. Subgroup analysis of the parameters in obese patients according to different genotypes and alleles did not result in significant statistical differences. The sample size was too low to allow for definite comparisons, which can partly explain the similar findings in the two groups. It is possible, that the observed associations in healthy subjects can become masked due to existing subclinical inflammation in the pMI group. In addition, medication masks putative differences of serum lipid and Fetuin-A concentrations, and their correlation between rs4917 variants. Nevertheless it is remarkable that in healthy subjects TNF α levels significantly differ among rs4918 homozygotes and the G is associated with lower TNF α , and higher adiponectin and leptin levels than the C allele. In pMI subjects the waist circumference and slightly BMI values were lower in G-carriers than in C-carriers. There are observations indicating the association between rs4917 and rs4918 and obesity. The rs4917 TT and rs4918 GG haplotypes, conferred for normal BMI. No significant correlations between serum Fetuin-A concentrations and rs4917 polymorphism were found. The mean of the Fetuin-A levels was lower in the GG than in the CC homozygotes although the difference was not statistically significant probably because of the small sample size.

The polymorphism of the MBL2 gene is a risk factor for the development of SLE. We investigated the MBL2 polymorphisms in SLE patients and controls. Within the group of patients, we found that homozygotes for an MBL2 promoter polymorphism were significantly ($p=0.017$) younger at diagnosis than the other patients. The frequency of juvenile-onset SLE was high among XA/XA homozygotes (≤ 20 years) (17,4%) ($p=0.004$), as well as the development of cutan manifestations ($p=0.003$) and pleuritis/pericarditis ($p=0.013$).

9. Irodalomjegyzék

1. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, de Ferranti S, Després JP, Fullerton HJ, Howard VJ, Huffman MD, Judd SE, Kissela BM, Lackland DT, Lichtman JH, Lisabeth LD, Liu S, Mackey RH, Matchar DB, McGuire DK, Mohler ER 3rd, Moy CS, Muntner P, Mussolino ME, Nasir K, Neumar RW, Nichol G, Palaniappan L, Pandey DK, Reeves MJ, Rodriguez CJ, Sorlie PD, Stein J, Towfighi A, Turan TN, Virani SS, Willey JZ, Woo D, Yeh RW, Turner MB; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. (2015) Heart disease and stroke statistics— 2015 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 131(4):e29-322
2. A szív- és érrendszeri megbetegedések magyarországi epidemiológiája. A Semmelweis Egyetem Kardiológiai Központjának stratégiai terve, 2011
3. KSH adatok
4. Nikpay M, Goel A, Won HH, Hall LM, Willenborg C, Kanoni, Saleheen, Kyriakou T Nelson CP, Hopewell JC, Webb TR, Zeng L, Dehghan A, Alver M, Armasu SM, Auro K, Bjornes A, Chasman DI, Chen S, Ford I, Franceschini N, Gieger C, Grace C, Gustafsson S, Huang J, Hwang SJ, Kim YK, Kleber ME, Lau KW, Lu X, Lu Y, Lyytikäinen LP, Mihailov E, Morrison AC, Pervjakova N, Qu L, Rose LM, Salfati E, Saxena R, Scholz M, Smith AV, Tikkanen E, Uitterlinden A, Yang X, Zhang W, Zhao W, de Andrade M, de Vries PS, van Zuydam NR, Anand SS, Bertram L, Beutner F, Dedoussis G, Frossard P, Gauguier D, Goodall AH, Gottesman O, Haber M, Han BG, Huang J, Jalilzadeh S, Kessler T, König IR, Lannfelt L, Lieb W, Lind L, Lindgren CM, Lokki ML, Magnusson PK, Mallick NH, Mehra N, Meitinger T, Memon FU, Morris AP, Nieminen MS, Pedersen NL, Peters A, Rallidis LS, Rasheed A, Samuel M, Shah SH, Sinisalo J, Stirrups KE, Trompet S, Wang L, Zaman KS, Ardissino D, Boerwinkle E, Borecki IB, Bottinger EP, Buring JE, Chambers JC, Collins R,

- Cupples LA, Danesh J, Demuth I, Elosua R, Epstein SE, Esko T, Feitosa MF, Franco OH, Franzosi MG, Granger CB, Gu D, Gudnason V, Hall AS, Hamsten A, Harris TB, Hazen SL, Hengstenberg C, Hofman A, Ingelsson E, Iribarren C, Jukema JW, Karhunen PJ, Kim BJ, Kooner JS, Kullo IJ, Lehtimäki T, Loos RJF, Melander O, Metspalu A, März W, Palmer CN, Perola M, Quertermous T, Rader DJ, Ridker PM, Ripatti S, Roberts R, Salomaa V, Sanghera DK, Schwartz SM, Seedorf U, Stewart AF, Stott DJ, Thiery J, Zalloua PA, O'Donnell CJ, Reilly MP, Assimes TL, Thompson JR, Erdmann J, Clarke R, Watkins H, Kathiresan S, McPherson R, Deloukas P, Schunkert H, Samani NJ, Farrall M (2015) A comprehensive 1000 Genomes-based genome-wide association meta-analysis of coronary artery disease. *Nat Genet.*, 10:1121-1130.
5. Tuomisto K, Jousilahti P, Sundvall J, Pajunen P and Salomaa V. (2006) C reactive protein, interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha as predictors of incident coronary and cardiovascular events and total mortality. A population based, prospective study. *Thromb Haemost*, 95 (3): 511-518.
 6. Averna M and Noto D. (2012) Clinical utility of novel biomarkers for cardiovascular disease risk stratification. *Intern Emerg Med*, 7 (Suppl 3): S263-S270.
 7. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, Pepys MB, Thompson SG, Collins R and Danesh J. (2010) C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet*, 375 (9709): 132-140.
 8. Ridker PM, Paynter NP, Rifai N, Gaziano JM and Cook NR. (2008) C-reactive protein and parental history improve global cardiovascular risk prediction: the Reynolds Risk Score for men. *Circulation*, 118 (22): 2243-2251.
 9. Kai O. Pedersen. (1944) Fetuin, a New Globulin Isolated from Serum. *Nature*, 154: 575-575
 10. Heremans JF. *Les Globulines Sériques du Système Gamma*. Brussels: Arscia, 1960.

11. Schmid K, Bürgi W. (1961) Preparation and properties of the human plasma Ba-alpha2-glycoproteins. *Biochim Biophys Acta*, 47: 440– 453
12. Schultze, H. E.; Heide, K.; Haupt, H. Charakterisierung eines niedermolekularen alpha2-Mukoids aus Humanserum. *Die Naturwissenschaften*, Volume 49, Issue 1, pp.15-15
13. Josiah Ochieng, Gautam Chaudhuri (2010) Cystatin Superfamily J Health Care Poor Underserved. 21(1 Suppl): 51–70.
14. Yoshioka Y, Gejyo F, Marti T, Rickli EE, Bürgi W, Offner GD, Troxler RF, Schmid K. (1986) The complete amino acid sequence of the A-chain of human plasma alpha 2HS-glycoprotein. *J Biol Chem*, 261(4):1665–1676.
15. Gejyo F, Chang JL, Bürgi W, Schmid K, Offner GD, Troxler RF, Van Halbeek H, Dorland L, Gerwig GJ, Vliegenthart JF. (1983) Characterization of the B-chain of human plasma alpha 2HS-glycoprotein. The complete amino acid sequence and primary structure of its heteroglycan. *J Biol Chem*, 258(8):4966–4971.
16. Dziegielewska KM, Møllgård K, Reynolds ML, Saunders NR. (1987) A fetuin-related glycoprotein (alpha 2HS) in human embryonic and fetal development. *Cell Tissue Res*, 248(1):33-41.
17. Terkelsen OB, Jahnen-Dechent W, Nielsen H, Moos T, Fink E, Nawratil P, Müller-Esterl W, Møllgård K. (1998) Rat fetuin: distribution of protein and mRNA in embryonic and neonatal rat tissues. *Anat Embryol (Berl)*, 197(2):125–133.
18. Trepanowski JF, Mey J, Varady KA (2015) Fetuin-A: a novel link between obesity and related complications. *Int J Obesity*, 39(5): 734-741.
19. Jahnen-Dechent W, Trindl A, Godovac-Zimmermann J, Müller-Esterl W. (1994) Posttranslational processing of human alpha 2-HS glycoprotein (human fetuin). Evidence for the production of a phosphorylated single-chain form by hepatoma cells. *Eur J Biochem*, 226: 59– 69.

20. Nawratil P, Lenzen S, Kellermann J, Haupt H, Schinke T, Müller-Esterl W, Jahnen-Dechent W. (1996) Limited proteolysis of human alpha2-HS glycoprotein/fetuin. Evidence that a chymotryptic activity can release the connecting peptide. *J Biol Chem*, 271: 31735– 31741.
21. Haglund AC, Ek B, Ek P. (2001) Phosphorylation of human plasma alpha2-Heremans-Schmid glycoprotein (human fetuin) in vivo. *Biochem J*, 357: 437–445.
22. Heiss A, DuChesne A, Denecke B, Grötzinger J, Yamamoto K, Renné T, Jahnen-Dechent W. (2003) Structural basis of calcification inhibition by alpha 2-HS glycoprotein/Fetuin-A. Formation of colloidal calciprotein particles. *J Biol Chem*, 278: 13333– 13341.
23. A.S. Goustin, A.B. Abou-Samra (2011) The “thrifty” gene encoding Fetuin-A/Fetuin-A meets the insulin receptor: Insights into the mechanism of insulin resistance, *Cell. Signal*, 23: 980-990.
24. Kalabay L, Chavin K, Lebreton JP, Robinson KA, Buse MG, Arnaud P. (1998) Human recombinant alpha 2-HS glycoprotein is produced in insect cells as a full length inhibitor of the insulin receptor tyrosine kinase. *Horm Metab Res*, 30(1):1-6.
25. Auberger P, Falquerho L, Contreres JO, Pages G, Le Cam G, Rossi B, Le Cam A. (1989) Characterization of a natural inhibitor of the insulin receptor tyrosine kinase: cDNA cloning, purification, and anti-mitogenic activity. *Cell*, 58: 631–640.
26. Mathews ST, Chellam N, Srinivas PR, Cintron VJ, Leon MA, Goustin AS, Grunberger G. (2000) Alpha2-HSG, a specific inhibitor of insulin receptor autophosphorylation, interacts with the insulin receptor. *Mol Cell Endocrinol*, 164: 87– 98.
27. Schinke T, Amendt C, Trindl A, Pöschke O, Müller-Esterl W, Jahnen-Dechent W. (1996) The serum protein alpha2-HS glycoprotein/fetuin inhibits apatite

- formation in vitro and in mineralizing calvaria cells. A possible role in mineralization and calcium homeostasis. *J Biol Chem*, 271: 20789– 20796.
28. Lebreton JP, Joisel F, Raoult JP, B Lannuzel, J P Rogez, and G Humbert. (1979) Serum concentration of human α 2-HS-glycoprotein during the inflammation process: evidence that α 2-HS-glycoprotein is a negative acute-phase reactant. *J Clin Invest*, 64:1118-1129
 29. Daveau M, Christian-Davrinche, Julien N, Hiron M, Arnaud P, Lebreton JP. (1988) The synthesis of human alpha-2-HS glycoprotein is down-regulated by cytokines in hepatoma HepG2 cells. *FEBS Lett*, 241: 191–194
 30. W. Li, S. Zhu, J. Li, Y. Huang, R. Zhou, X. Fan, H. Yang, X. Gong, N.T. Eissa, W. Jahnen-Dechent, P. Wang, K.J. Tracey, A.E. Sama, H. Wang. (2011) A hepatic protein, Fetuin-A, occupies a protective role in lethal systemic inflammation, *PLoS One* 6 0016945.
 31. P. Zhang, H. Shen, J. Huang, H. Wang, B. Zhang, R. Zhou, B. Zhong, X. Fan. (2014) Intraperitoneal administration of Fetuin-A attenuates D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced liver failure in mouse *Dig. Dis. Sci.* 59: 1789-1797.
 32. C. Akhoundi, M. Amiot, P. Auberger, A. Le Cam, B. Rossi. (1994) Insulin and interleukin-1 differentially regulate pp63, an acute phase phosphoprotein in hepatoma cell line, *J. Biol. Chem*, 269: 15925-15930.
 33. Ombrellino M, Wang H, Yang H, Zhang M, Vishnubhakat J, Frazier A, Scher LA, Friedman SG, Tracey KJ. (2001) Fetuin, a negative acute phase protein, attenuates TNF synthesis and the innate inflammatory response to carrageenan. *Shock*, 15: 181– 185.
 34. H. Wang, M. Zhang, K. Soda, A. Sama, K.J. Tracey. (1997) Fetuin protects the fetus from TNF, *Lancet*, 350: 861-862.
 35. Kettler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnken AH, Böhm R, Metzger T, Wanner C, Jahnen-Dechent W, Floege J. (2003) Association of low

- Fetuin-A (AHSG) concentration in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *The Lancet*, 361 (9360):827-33.
36. Chen HY, Chiu YL, Hsu SP, Pai MF, Lai CF, Peng YS, Kao TW, Hung KY, Tsai TJ, Wu KD. (2009) Association of serum Fetuin-A with truncal obesity and dyslipidemia in non-diabetic hemodialysis patients. *Eur J Endocrinol*, 160(55):777-83.
 37. Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, Lindholm B, Pecoits-Filho R, Riella M, Heimbürger O, Cederholm T, Girndt M. (2005) IL-10, IL-6, and TNF-alpha: central factors in the altered cytokine network of uremia--the good, the bad, and the ugly. *Kidney Int*, 67(4):1216-33.
 38. Voros, K., Graf, L. Jr., Prohaszka, Z., Gráf L, Szenthe P, Kaszás E, Böröcz Z, Cseh K, Kalabay L. (2011) Serum Fetuin-A in metabolic and inflammatory pathways in patients with myocardial infarction. *Eur. J. Clin. Invest*, 41, 703–709.
 39. M. Demetriou, C. Binkert, B. Sukhu, H. C. Tenenbaum, J. W. Dennis. (1996) Fetuin/ alpha2-HS glycoprotein is a transforming growth factor-beta type II receptor mimic and cytokine antagonist, *J. Biol. Chem*, 271: 12755-12761.
 40. W. Jahnen-Dechent, A. Heiss, C. Schaefer, M. Ketteler. (2011) Fetuin-A regulation of calcified matrix metabolism, *Circ. Res*, 108: 1494-1509
 41. A. Heiss, V. Pipich, W. Jahnen-Dechent, D. Schwahn. (2010) Fetuin-A is a mineral carrier protein: small angle neutron scattering provides new insight on Fetuin-A controlled calcification inhibition, *Biophys. J*, 99: 3986-3995.
 42. Szweras M, Liu D, Partridge EA, Pawling J, Sukhu B, Clokie C, Jahnen-Dechent W, Tenenbaum HC, Swallow CJ, Grynpas MD, Dennis JW. (2002) alpha 2-HS glycoprotein/fetuin, a transforming growth factor-beta/bone morphogenetic protein antagonist, regulates postnatal bone growth and remodeling. *J Biol Chem*, 277: 19991– 19997.

43. M.M. Cai, E.R. Smith, S.G. Holt. (2015) The role of Fetuin-A in mineral trafficking and deposition. *Bonekey Rep*, 4: 672.
44. L. Brylka, W. Jahnen-Dechent. (2013) The role of Fetuin-A in physiological and pathological mineralization. *Calcif. Tissue Int*, 93: 355-364
45. Terkeltaub RA, Santoro DA, Mandel G, Mandel N. (1988) Serum and plasma inhibit neutrophil stimulation by hydroxyapatite crystals. Evidence that serum alpha 2-HS glycoprotein is a potent and specific crystal-bound inhibitor. *Arthritis Rheum*, 31: 1081– 1089.
46. M. Herrmann, C. Schafer, A. Heiss, S. Graber, A. Kinkeldey, A. Buscher, M.M. Schmitt, J. Bornemann, F. Nimmerjahn, L. Helming, S. Gordon, W. Jahnen-Dechent. (2012) Clearance of Fetuin-A containing calciprotein particles is mediated by scavenger receptor-A, *Circ. Res*, 111: 575-584
47. Wang H, Zhang M, Bianchi M, Sherry B, Sama A, Tracey KJ. (1998) Fetuin (alpha2-HS-glycoprotein) opsonizes cationic macrophage deactivating molecules. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95: 14429– 14434.
48. Jethwaney D, Lepore T, Hassan S, Mello K, Rangarajan R, Jahnen-Dechent W, Wirth D, Sultan AA. (2005) Fetuin-A, a hepatocyte-specific protein that binds Plasmodium berghei thrombospondin-related adhesive protein: a potential role in infectivity. *Infect Immun*, 73: 5883– 5891.
49. M. Häusler, C. Schäfer, C. Osterwinter, W. Jahnen-Dechent. (2009) The physiologic development of Fetuin-A serum concentrations in children, *Pediatr. Res*, 66: 660-664.
50. M. Wigger, J. Schaible, J. Muscheites, G. Kundt, D. Haffner, D.C. Fischer. (2009) Fetuin-A serum concentrations in healthy children, *Ann. Clin. Biochem*, 46: 511-513.
51. K. M. Choi, K. A. Han, H. J. Ahn, S. Y. Lee, S. Y. Hwang, B.H. Kim, H. C. Hong, H. Y. Choi, S. J. Yang, H. J. Yoo, S. H. Baik, D.S. Choi, K. W. Min. (2013) The effects of caloric restriction on Fetuin-A and cardiovascular risk

- factors in rats and humans: a randomized controlled trial, *Clin. Endocrinol*, 79: 356-363
52. Willi Jahnen-Dechent, Thorsten Schinke, Andreas Trindl, Werner Müller-Esterl, Fred Sablitzky, Sibylle Kaiser, and Manfred Blessing. (1997) Cloning and Targeted Deletion of the Mouse Fetuin Gene *J Biol Chem*, 272, 50: 31496–31503
 53. Srinivas PR, Wagner AS, Reddy LV Deutsch DD, Leon MA, Goustin AS, Grunberger G. (1993) Serum alpha 2-HS-glycoprotein is an inhibitor of the human insulin receptor at the tyrosine kinase level. *Mol Endocrinol*, 7(11):1445-55.
 54. S.T. Mathews, P.R. Srinivas, M.A. Leon, G. Grunberger. (1997) Bovine fetuin is an inhibitor of insulin receptor tyrosine kinase. *Life Sci*, 61 (16): 1583.
 55. Goustin AS, Derar N and Abou-Samra AB. (2013) Fetuin-A-fetuin blocks the metabolic arm of insulin action through its interaction with the 95-kD betasubunit of the insulin receptor. *Cell. Signal*, 25(4): 981-988.
 56. P.R. Srinivas, D.D. Deutsch, S.T. Mathews, A.S. Goustin, M.A. Leon, G. Grunberger. (1996) Recombinant human alpha 2-HS glycoprotein inhibits insulin-stimulated mitogenic pathway without affecting metabolic signalling in Chinese hamster ovary cells overexpressing the human insulin receptor. *Cell. Signal*, 8 (8): 567.
 57. P.R. Srinivas, A.S. Goustin, G. Grunberger (1995) Baculoviral expression of a natural inhibitor of the human insulin receptor tyrosine kinase. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 208 (2): 879.
 58. Mathews, S. T., Singh, G. P., Ranalletta, M., Cintron VJ, Qiang X, Goustin AS, Jen KL, Charron MJ, Jahnen-Dechent W, Grunberger G. (2002) Improved insulin sensitivity and resistance to weight gain in mice null for the Fetuin-A gene. *Diabetes*, 51(8):2450-8.
 59. Stefan, N., Hennige, A. M., Staiger, H., Machann J, Schick F, Kröber SM, Machicao F, Fritsche A, Häring HU. (2006) Alpha2-Heremans– Schmid glycoprotein/Fetuin-A is associated with insulin resistance and fat accumulation in the liver in humans. *Diabetes Care*, 29: 853–857.

60. Stefan, N., Haring, H. U., Schulze, M. B. (2008) Association of Fetuin-A level and diabetes risk. *JAMA*, 300: 2247–2248
61. Pal D, Dasgupta S, Kundu R, Maitra S, Das G, Mukhopadhyay S, Ray S, Majumdar SS and Bhattacharya S. (2012) Fetuin-A acts as an endogenous ligand of TLR4 to promote lipid-induced insulin resistance. *Nat Med*, 18(8):1279-85.
62. Norbert Stefan, Hans-Ulrich Häring. (2013) The role of hepatokines in metabolism. *Nature Reviews Endocrinology*, 9: 144–152
63. Takata H, Ikeda Y, Suehiro T, Ishibashi A, Inoue M, Kumon Y, Terada Y. (2009) High glucose induces transactivation of the alpha2-HS glycoprotein gene through the ERK1/2 signaling pathway. *J Atheroscler Thromb*, 16: 448–456
64. Chatterjee P, Seal S, Mukherjee S, Kundu R, Mukherjee S, Ray S, Mukhopadhyay S, Majumdar SS, Bhattacharya S. (2013) Adipocyte Fetuin-A contributes to macrophage migration into adipose tissue and polarization of macrophages. *J Biol Chem*, 288 (39):28324-30.
65. Furuhashi M, Hotamisligil GS. (2008) Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets. *Nat Rev Drug Discov*, 7: 489–503.
66. Cayatte AJ, Kumbla L, Subbiah MT. (1990) Marked acceleration of exogenous fatty acid incorporation into cellular triglycerides by fetuin. *J Biol Chem*, 265: 5883– 5888
67. Dasgupta S, Bhattacharya S, Biswas A, Majumdar SS, Mukhopadhyay S, Ray S, Bhattacharya S. (2010) NF-kappaB mediates lipid-induced Fetuin-A expression in hepatocytes that impairs adipocyte function effecting insulin resistance. *Biochem J*, 429: 451– 462.
68. Wojtysiak-Duma B, Malecha Jędraszek A, Burska A, Duma D, Donica H. (2010) Serum Fetuin-A levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Ann UMCS Sect DDD*, 2(14):93-9.
69. Kaushik SV, Plaisance EP, Kim T, Huang EY, Mahurin AJ, Grandjean PW, Mathews ST. (2009) Extended-release niacin decreases serum Fetuin-A concentrations in individuals with metabolic syndrome. *Diabetes Metab Res Rev*, 25(5):427-4.

70. Ix JH, Shlipak MG, Brandenburg VM, Ali S, Ketteler M, Whooley MA. (2006) Association between human Fetuin-A and the metabolic syndrome: data from the Heart and Soul Study. *Circulation*, 113(14):1760-7.
71. Kalabay L, Szalay F, Nemesanszky E, Telegdy L, Jakab L and Romics L. (1997) Decreased serum alfa2-HS-glycoprotein concentration in patients with primary biliary cirrhosis. *J Hepatol*, 26(6): 1426-1427.
72. Kalabay L, Jakab L, Prohaszka Z, Fust G, Benko Z, Telegdy L, Lorincz Z, Zavodszky P, Arnaud P and Fekete B. (2002) Human fetuin/alpha2HSglycoprotein level as a novel indicator of liver cell function and short-term mortality in patients with liver cirrhosis and liver cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 14(4): 389-394
73. Kalabay, L., Graf, L., Voros, K., Jakab L, Benko Z, Telegdy L, Fekete B, Prohászka Z, Füst G. (2007) Human serum fetuin A/alpha 2HS-glycoprotein level is associated with long-term survival in patients with alcoholic liver cirrhosis, comparison with the Child-Pugh and MELD scores. *BMC Gastroenterol*, 7: 15.
74. Corey KE, Kaplan LM. (2014) Obesity and liver disease: the epidemic of the twenty-first century. *Clin Liver Dis*, 18:1–18.
75. Yilmaz Y, Yonal O, Kurt R, Ari F, Oral AY, Celikel CA, Korkmaz S, Ulukaya E, Ozdogan O, Imeryuz N, Avsar E, Kalayci C. (2010) Serum fetuin A/ α 2HSglycoprotein levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease: relation with liver fibrosis. *Ann Clin Biochem*, 47: 549-53.
76. Reinehr T, Roth CL. (2008) Fetuin-A and its relation to metabolic syndrome and fatty liver disease in obese children before and after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab*, 93(11): 4479-85.
77. Lebensztejn DM, Białokoz-Kalinowska I, Kłusek-Oksiuta M, Tarasów E, Wojtkowska M, Kaczmarek M. (2014) Serum fetuin A concentration is elevated in children with non-alcoholic fatty liver disease. *Adv Med Sci*, 59(1):81-4.
78. L. Kalabay, K. Cseh, A. Pajor, E. Baranyi, G.M. Csakany, Z. Melczer, G. Speer, M. Kovacs, G. Siller, I. Karadi, G. Winkler, (2002) Correlation of maternal serum fetuin/alpha(2)-HS-glycoprotein concentration with maternal insulin

- resistance and anthropometric parameters of neonates in normal pregnancy and gestational diabetes, *Eur. J. Endocrinol*, 147: 243-248
79. Hennige, A. M., Staiger H, Wicke C, Machicao F, Fritsche A, Häring HU, Stefan N. (2008) Fetuin-A induces cytokine expression and suppresses adiponectin production. *PLoS One*, 3(3):e1765.
 80. Ismail NA, Ragab S, Abd El Dayem SM, Elbaky AA, Salah N, Hamed M, Assal H, Koura H. (2012) Fetuin-A levels in obesity: differences in relation to metabolic syndrome and correlation with clinical and laboratory variables. *Arch Med Sci*, 8(5):826-3
 81. Ix JH, Sharma K. (2010) Mechanism linking obesity, chronic kidney disease and fatty liver disease: the roles of Fetuin-A, adiponectin and AMPK. *J Am Soc Nephrol*, 21(3):406-12
 82. Laughlin GA, Barrett-Connor E, May S and Langenberg C. (2007) Association of adiponectin with coronary heart disease and mortality: the Rancho Bernardo study. *Am J Epidemiol*, 165(2): 164-174.
 83. Mori K, Emoto M, Yokoyama H, Araki T, Teramura M, Koyama H, Shoji T, Inaba M and Nishizawa Y. (2006) Association of serum Fetuin-A with insulin resistance in type 2 diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes Care*, 29(2): 468.
 84. Mori K, Emoto M, Araki T, Yokoyama H, Lee E, Teramura M, Koyama H, Shoji T, Inaba M and Nishizawa Y. (2008) Effects of pioglitazone on serum Fetuin-A levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, 57(9): 1248-1252.
 85. Mandeep Bajaj Suraamornkul S, Piper P, Hardies LJ, Glass L, Cersosimo E, Pratipanawatr T, Miyazaki Y, DeFronzo RA. (2004) Decreased Plasma Adiponectin Concentrations Are Closely Related to Hepatic Fat Content and Hepatic Insulin Resistance in Pioglitazone-Treated Type 2 Diabetic Patients *J Clin Endocrinol Metab*, 89(1):200-6.
 86. Lincoff AM, Wolski K, Nicholls SJ, Nissen SE. (2007) Pioglitazone and risk of cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of randomized trials. *JAMA*, 298(10):1180-8.
 87. Shehzad A, Iqbal W, Shehzad O and Lee YS. (2012) Adiponectin: regulation of its production and its role in human diseases. *Hormones (Athens)*, 11(1): 8-20.

88. X., Braymer, Lin X, Braymer HD, Bray GA, York DA. (1998) Differential expression of insulin receptor tyrosine kinase inhibitor (fetuin) gene in a model of diet-induced obesity. *Life Sci*, 63: 145–153.
89. Ix JH, Wassel CL, Kanaya AM, Vittinghoff E, Johnson KC, Koster A, Cauley JA, Harris TB, Cummings SR, Shlipak MG and Health ABCS. (2008) Fetuin-A and incident diabetes mellitus in older persons. *JAMA*, 300(2): 182-188.
90. Ishibashi A, Ikeda Y, Ohguro T, Kumon Y, Yamanaka S, Takata H, Inoue M, Suehiro T, Terada Y (2010) Serum fetuin-A is an independent marker of insulin resistance in Japanese men. *J Atheroscler Thromb*, 17: 925-933
91. Brix JM, Stingl H, Hollerl F, Schernthaner GH, Kopp HP, Schernthaner G. (2010) Elevated fetuin-A concentrations in morbid obesity decrease aer dramatic weight loss. *J Clin Endocrinol Metab*, 95:4877-4881.
92. Jenkins NT, McKenzie JA, Hagberg JM and Witkowski S. (2011) Plasma Fetuin-A concentrations in young and older high- and low-active men. *Metabolism*, 60(2): 265–271.
93. Corrado E, Rizzo M, Coppola G, Fattouch K, Novo G, Marturana I, Ferrara F, Novo S. (2010) An update on the role of markers of inflammation in atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*, 17: 1-11.
94. Detrano R, Guerci AD, Carr JJ, Bild DE, Burke G, Folsom AR, Liu K, Shea S, Szklo M, Bluemke DA, O'Leary DH, Tracy R, Watson K, Wong ND, Kronmal RA. (2008) Coronary calcium as a predictor of coronary events in four racial or ethnic groups. *N Engl J Med*, 358(13):1336-45.
95. Schafer, C., Heiss, A., Schwarz, A., Westenfeld, R., Ketteler, M., Floege, J., Müller-Esterl, W., Schinke, T., Jahn-Dechent, W. (2003) The serum protein alpha(2)-Heremans–Schmid glycoprotein/Fetuin-A is a systemically acting inhibitor of ectopic calcification. *J. Clin. Invest*, 112: 357–366.
96. Smith ER, Hanssen E, McMahon LP and Holt SG. (2013) Fetuin-A-containing calciprotein particles reduce mineral stress in the macrophage. *PLoS One*, 8(4):e60904.
97. Katsuhito Mori, Masanori Emoto, Takahiro Araki, Hisayo Yokoyama, Megumi Teramura, Eiko Lee, Koka Motoyama, Hidenori Koyama, Tetsuo Shoji,

- Masaaki Inaba, Yoshiki Nishizawa (2007) Association of serum Fetuin-A with carotid arterial stiffness. *Clinical Endocrinology*, 66 (2): 246–250
98. Joachim H. Ix, Elizabeth Barrett-Connor, Christina L. Wassel, Kevin Cummins, Jaclyn Bergstrom, Lori B. Daniels, Gail A. Laughlin (2011) The associations of Fetuin-A with subclinical cardiovascular disease in community-dwelling persons: the Rancho Bernardo Study. *J Am Coll Cardiol*, 58(23): 2372–2379.
99. Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnken AH, Böhm R, Metzger T, Wanner C, Jahnke-Dechent W, Floege J. (2003) Association of low Fetuin-A (FETUIN-A) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *Lancet*, 361(9360):827-33.
100. Stenvinkel P, Wang K, Qureshi AR, Axelsson J, Pecoits-Filho R, Gao P, Barany P, Lindholm B, Jogestrand T, Heimbürger O, Holmes C, Schalling M, Nordfors L. (2005) Low Fetuin-A levels are associated with cardiovascular death: Impact of variations in the gene encoding fetuin. *Kidney Int*, 67(6):2383-92.
101. Wang AY, Jean Woo, Christopher Wai-Kei Lam, Mei Wang, Iris Hiu-Shuen Chan, Ping Gao, Siu-Fai Lui, Philip Kam-Tao Li, John E. Sanderson (2005) Associations of serum Fetuin-A with malnutrition, inflammation, atherosclerosis and valvular calcification syndrome and outcome in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 20: 1676– 1685.
102. Moe SM, Reslerova M, Ketteler M, O'Neill K, Duan D, Koczman J, Westenfeld R, Jahnke-Dechent W, Chen NX. (2005) Role of calcification inhibitors in the pathogenesis of vascular calcification in chronic kidney disease (CKD). *Kidney Int*, 67: 2295– 2304.
103. Ciaccio M, Bivona G, Di Sciacca R, Iatrino R, Di Natale E, Li Vecchi M, Bellia C. (2008) Changes in serum Fetuin-A and inflammatory markers levels in end-stage renal disease (ESRD): effect of a single session haemodialysis. *Clin Chem Lab Med*, 46:212–4.
104. Szeberin Z, Fehérvári M, Krepuska M, Apor A, Rimely E, Sarkadi H, Széplaki G, Prohászka Z, Kalabay L, Acsády G. (2011) Serum Fetuin-A levels inversely correlate with the severity of arterial calcification in patients with chronic lower extremity atherosclerosis without renal disease. *Int Angiol*, 30:474–450.

105. Snyder S, Durham BC, Iskandrian AS, Coodley EL and Linhart JW. (1975) Serum lipids and glycoproteins in acute myocardial infarction. *Am Heart J*, 90(5): 582-586
106. Bilgir O, Kebapcilar L, Bilgir F, Bozkaya G, Yildiz Y., Pinar P, Tastan A. (2010) Decreased serum fetuin-A levels are associated with coronary artery diseases. *Intern. Med*, 49: 1281-1285
107. Pennisi E. (2001) The human genome. *Science*, 291:1177-80
108. Taylor JG, Choi EH, Foster CB, Chanock SJ. (2001) Using genetic variation to study human disease. *Trends Mol Med*, 7:507-12
109. Thorisson GA, Stein LD. (2003) The SNP Consortium website: past, present and future. *Nucleic Acids Res*, 31:124-7
110. Osawa M., Umetsu K., Ohki T., Nagasawa T., Suzuki T., Takeichi S. (1997) Molecular evidence for human alpha 2-HS glycoprotein (AHSB) polymorphism. *Hum. Genet*, 99:18-21
111. Ota Suzuki Y, Nishikawa T, Otsuki T, Sugiyama T, Irie R, Wakamatsu A, Hayashi K, Sato H, Nagai K, Kimura K, Makita H, Sekine M, Obayashi M, Nishi T, Shibahara T, Tanaka T, Ishii S, Yamamoto J, Saito K, Kawai Y, Isono Y, Nakamura Y, Nagahari K, Murakami K, Yasuda T, Iwayanagi T, Wagatsuma M, Shiratori A, Sudo H, Hosoiri T, Kaku Y, Kodaira H, Kondo H, Sugawara M, Takahashi M, Kanda K, Yokoi T, Furuya T, Kikkawa E, Omura Y, Abe K, Kamihara K, Katsuta N, Sato K, Tanikawa M, Yamazaki M, Ninomiya K, Ishibashi T, Yamashita H, Murakawa K, Fujimori K, Tanai H, Kimata M, Watanabe M, Hiraoka S, Chiba Y, Ishida S, Ono Y, Takiguchi S, Watanabe S, Yosida M, Hotuta T, Kusano J, Kanehori K, Takahashi-Fujii A, Hara H, Tanase TO, Nomura Y, Togiya S, Komai F, Hara R, Takeuchi K, Arita M, Imose N, Musashino K, Yuuki H, Oshima A, Sasaki N, Aotsuka S, Yoshikawa Y, Matsunawa H, Ichihara T, Shiohata N, Sano S, Moriya S, Momiyama H, Satoh N, Takami S, Terashima Y, Suzuki O, Nakagawa S, Senoh A, Mizoguchi H, Goto Y, Shimizu F, Wakebe H, Hishigaki H, Watanabe T, Sugiyama A, Takemoto M, Kawakami B, Yamazaki M, Watanabe K, Kumagai A, Itakura S, Fukuzumi Y, Fujimori Y, Komiyama M, Tashiro H, Tanigami A, Fujiwara T, Ono T, Yamada K, Fujii Y, Ozaki K, Hirao M, Ohmori Y, Kawabata A, Hikiji

- T, Kobatake N, Inagaki H, Ikema Y, Okamoto S, Okitani R, Kawakami T, Noguchi S, Itoh T, Shigeta K, Senba T, Matsumura K, Nakajima Y, Mizuno T, Morinaga M, Sasaki M, Togashi T, Oyama M, Hata H, Watanabe M, Komatsu T, Mizushima-Sugano J, Satoh T, Shirai Y, Takahashi Y, Nakagawa K, Okumura K, Nagase T, Nomura N, Kikuchi H, Masuho Y, Yamashita R, Nakai K, Yada T, Nakamura Y, Ohara O, Isogai T, Sugano S. (2004) Complete sequencing and characterization of 21,243 full-length human cDNAs *Nature Genetics*, 36: 40 - 45
112. Osawa M, I. Yuasa, T. Kitano, J. Henke, M. Kaneko, T. Udono, N. Saitou, K. Umetsu (2001) Haplotype analysis of the human alpha2-HS glycoprotein (fetuin) gene *Ann Hum Genet*, 65(1):27-34.
113. Muzny D.M. Scherer SE, Kaul R, Wang J, Yu J, Sudbrak R, Buhay CJ, Chen R, Cree A, Ding Y, Dugan-Rocha S, Gill R, Gunaratne P, Harris RA, Hawes AC, Hernandez J, Hodgson AV, Hume J, Jackson A, Khan ZM, Kovar-Smith C, Lewis LR, Lozado RJ, Metzker ML, Milosavljevic A, Miner GR, Morgan MB, Nazareth LV, Scott G, Sodergren E, Song XZ, Steffen D, Wei S, Wheeler DA, Wright MW, Worley KC, Yuan Y, Zhang Z, Adams CQ, Ansari-Lari MA, Ayele M, Brown MJ, Chen G, Chen Z, Clendenning J, Clerc-Blankenburg KP, Chen R, Chen Z, Davis C, Delgado O, Dinh HH, Dong W, Draper H, Ernst S, Fu G, Gonzalez-Garay ML, Garcia DK, Gillett W, Gu J, Hao B, Haugen E, Havlak P, He X, Hennig S, Hu S, Huang W, Jackson LR, Jacob LS, Kelly SH, Kube M, Levy R, Li Z, Liu B, Liu J, Liu W, Lu J, Maheshwari M, Nguyen BV, Okwuonu GO, Palmeiri A, Pasternak S, Perez LM, Phelps KA, Plopper FJ, Qiang B, Raymond C, Rodriguez R, Saenphimmachak C, Santibanez J, Shen H, Shen Y, Subramanian S, Tabor PE, Verduzco D, Waldron L, Wang J, Wang J, Wang Q, Williams GA, Wong GK, Yao Z, Zhang J, Zhang X, Zhao G, Zhou J, Zhou Y, Nelson D, Lehrach H, Reinhardt R, Naylor SL, Yang H, Olson M, Weinstock G, Gibbs RA. (2006) The DNA sequence, annotation and analysis of human chromosome 3. *Nature*, 440(7088):1194-8.
114. Osawa, M., Tian, W., Horiuchi, H., Kaneko, M., Umetsu, K. (2005) Association of alpha-2-HS glycoprotein (AHS, Fetuin-A) polymorphism with AHS and phosphate serum levels. *Hum. Genet*, 116: 146-151

115. Lavebratt, C., S. Wahlqvist, L. Nordfors, J. Hoffstedt, P. Arner. (2005) AHSG gene variant is associated with leanness among Swedish men. *Hum. Genet*, 117: 54-60
116. Lehtinen, A. Kathryn P. Burdon, Joshua P. Lewis, Carl D. Langefeld, Julie T. Ziegler, Stephen S. Rich, Thomas C. Register, J. Jeffrey Carr, Barry I. Freedman, Donald W. Bowden. (2007) Association of alpha-2-Heremans-Schmid glycoprotein polymorphisms with subclinical atherosclerosis. *J. Clin. Endocr. Metab*, 92: 345-352,.
117. Rungroj N. Nettuwakul C, Sudtachat N, Praditsap O, Sawasdee N, Sritippayawan S, Chuawattana D, Yenchitsomanus PT. (2014) A whole genome SNP genotyping by DNA microarray and candidate gene association study for kidney stone disease. *BMC Med Genet*, 15:50
118. Fisher E, Norbert Stefan, Kathrin Saar, Dagmar Drogan, Matthias B. Schulze, Andreas Fritsche, Hans-Georg Joost, Hans-Ulrich Haring, Norbert Hubner, Heiner Boeing, Cornelia Weikert (2009) Association of Fetuin-A gene polymorphisms with Fetuin-A plasma levels and cardiovascular diseases in the EPIC-Potsdam study. *Circ Cardiovasc Genet*, 2:607-613.
119. Weikert C, Stefan N, Schulze MB, Pischon T, Berger K, Joost HG, Häring HU, Boeing H, Fritsche A. (2008) Plasma Fetuin-A levels and the risk of myocardial infarction and ischemic stroke. *Circulation*, 118(24):2555-62.
120. Dahlman I, Eriksson P, Kaaman M, Jiao H, Lindgren CM, Kere J, Arner P. (2004) alpha2-Heremans-Schmid glycoprotein gene polymorphisms are associated with adipocyte insulin action. *Diabetologia*, 47(11):1974-9.
121. Siddiq A, Lepretre F, Herberg S, Froguel P, Gibson F. (2005) A synonymous coding polymorphism in the α 2-Heremans-Schmid glycoprotein gene is associated with type 2 diabetes in French Caucasians. *Diabetes*, 54:2477-2481
122. C. Lavebratt, Elisabeth Dungner, Johan Hoffstedt (2005) Polymorphism of the AHSG gene is associated with increased adipocyte 2-adrenoceptor function. *J. Lipid Res*, 46:2278–2281.
123. Andersen G, Burgdorf KS, Sparsø T, Borch-Johnsen K, Jørgensen T, Hansen T, Pedersen O. (2008) Fetuin-A tag single nucleotide polymorphisms associate

- with type 2 diabetes and dyslipidemia: studies of metabolic traits in 7,683 white Danish subjects. *Diabetes*, 57(5):1427-32
124. Francis, K., van Beek, J., Canova, C., Neal, J.W., and Gasque, P. (2003) Innate immunity and brain inflammation: the key role of complement. *Expert Rev. Mol. Med*, 5: 1–19
125. Sim, R.B., and Tsiftoglou, S.A. (2004) Proteases of the complement system. *Biochem. Soc. Trans*, 32:21-27
126. Walport, M.J. (2001) Complement. Second of two parts. *N Engl J Med*, 344(15):1140-4
127. Wong, N. and Sim, R.B. (1997) Comparison of the complement system protein complexes formed by C1q and MBL. *Biochem Soc Trans*, 25:41S
128. Dempsey PW, Allison ME, Akkaraju S, Goodnow CC, Fearon DT. (1996) C3d of complement as a molecular adjuvant: bridging innate and acquired immunity. *Science*, 271(5247):348–50.
129. da Silva WD, Eisele JW, Lepow IH. (1967) Complement as a mediator of inflammation. Purification of the activity with anaphylatoxin properties generated by interaction of the first four components of complement and its identification as a cleavage product of C3. *J Exp Med*, 126(6):1027–48
130. Carroll MC. (2004) A protective role for innate immunity in systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Immunol*, 4(10):825–31
131. Korb LC, Ahearn JM. (1997) C1q binds directly and specifically to surface blebs of apoptotic human keratinocytes: complement deficiency and systemic lupus erythematosus revisited. *J Immunol*, 158(10):4525–8
132. Taylor PR, Carugati A, Fadok VA, Cook HT, Andrews M, Carroll MC, Savill JS, Henson PM, Botto M, Walport MJ. (2000) A hierarchical role for classical pathway complement proteins in the clearance of apoptotic cells in vivo. *J Exp Med*, 192(3):359-66
133. Kawasaki, T., Etoh, R., Yamashina, I. (1978) Isolation and characterization of a mannan-binding protein from rabbit liver. *Biochem Biophys Res Commun*, 81:1018-1024
134. Wild, J., Robinson, D., Winchester, B. (1983) Isolation of mannose-binding proteins from human and rat liver. *Biochem J*, 210:167-174.

135. Dommett, R.M., Klein, N., Turner, M.W. (2006) Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. *Tissue Antigens*, 68:193-209
136. Hansen, S., and Holmskov, U. (1998) Structural aspects of collectins and receptors for collectins. *Immunobiology*, 199:165-189
137. Hoppe, H.J., and Reid, K.B. (1994) Collectins--soluble proteins containing collagenous regions and lectin domains--and their roles in innate immunity. *Protein Sci*, 3:1143-1158
138. Thiel, S. (2007) Complement activating soluble pattern recognition molecules with collagen-like regions, mannan -binding lectin, ficolins and associated proteins. *Mol Immunol*, 44:3875-3888
139. Walport, M.J. (2001) Complement. First of two parts. *N Engl J Med*, 344:1058-1066
140. Sorensen, R., Thiel, S., and Jensenius, J.C. (2005) Mannan-binding-lectin-associated serine proteases, characteristics and disease associations. *Springer Semin Immunopathol*, 27:299-319
141. Takahashi, M., Mori, S., Shigeta, S., Fujita, T. (2007) Role of MBL-associated serine protease (MASP) on activation of the lectin complement pathway. *Adv Exp Med Biol*, 598:93-104
142. Presanis, J.S., Hajela, K., Ambrus, G., Gal, P., Sim, R.B. (2004) Differential substrate and inhibitor profiles for human MASP-1 and MASP-2. *Mol. Immunol*, 40:921-929
143. Thiel, S., Vorup-Jensen, T., Stover, C.M., Schwaeble, W., Laursen, S.B., Poulsen, K., Willis, A.C., Eggleton, P., Hansen, S., Holmskov, U. (1997) A second serine protease associated with mannan-binding lectin that activates complement. *Nature*, 386:506-510
144. Dahl, M.R., Thiel, S., Matsushita, M., Fujita, T., Willis, A.C., Christensen, T., Vorup-Jensen, T., Jensenius, J.C. (2001) MASP-3 and its association with distinct complexes of the mannan-binding lectin complement activation pathway. *Immunity*, 15:127-135.
145. Takahashi, M., Endo, Y., Fujita, T., and Matsushita, M. (1999) A truncated form of mannanose-binding lectin-associated serine protease (MASP)-2 expressed

- by alternative polyadenylation is a component of the lectin complement pathway. *Int Immunol*, 11:859-863
146. Rosbjerg A, Munthe-Fog L, Garred P, Skjoedt MO. (2014). Heterocomplex Formation between MBL/Ficolin/CL-11-Associated Serine Protease-1 and -3 and MBL/Ficolin/CL-11-Associated Protein-1. *J Immunol*, 192(9):4352-60
 147. Degn SE, Jensen L, Olszowski T, Jensenius JC, Thiel S. (2013). Co-complexes of MASP-1 and MASP-2 associated with the soluble pattern-recognition molecules drive lectin pathway activation in a manner inhibitable by MAp44. *J Immunol*, 191 (3):1334-45
 148. Sim, R.B., and Laich, A. (2000) Serine proteases of the complement system. *Biochem Soc Trans*, 28:545-550
 149. Ezekowitz, R.A., Day, L.E., and Herman, G.A. (1988) A human mannose-binding protein is an acute-phase reactant that shares sequence homology with other vertebrate lectins. *J Exp Med*, 167:1034-1046
 150. Sastry, K., Herman, G.A., Day, L., Deignan, E., Bruns, G., Morton, C.C., and Ezekowitz, R.A. (1989) The human mannose-binding protein gene. Exon structure reveals its evolutionary relationship to a human pulmonary surfactant gene and localization to chromosome 10. *J. Exp. Med*, 170:1175-1189
 151. Garred, P., Larsen, F., Seyfarth, J., Fujita, R., and Madsen, H.O. (2006) Mannose-binding lectin and its genetic variants. *Genes Immun*, 7:85-94
 152. Turner, M.W., and Hamvas, R.M. (2000) Mannose-binding lectin: structure, function, genetics and disease associations. *Rev. Immunogenet*, 2:305-322
 153. Lipscombe, R.J., Beatty, D.W., Ganczakowski, M., Goddard, E.A., Jenkins, T., Lau, Y.L., Spurdle, A.B., Sumiya, M., Summerfield, J.A., Turner, M.W. (1996) Mutations in the human mannose-binding protein gene: frequencies in several population groups. *Eur J Hum Genet*, 4:13-19
 154. Madsen, H.O., Garred, P., Kurtzhals, J.A., Lamm, L.U., Ryder, L.P., Thiel, S., Svejgaard, A. (1994) A new frequent allele is the missing link in the structural polymorphism of the human mannan-binding protein. *Immunogenetics*, 40:37-44
 155. Garred, P., Larsen, F., Madsen, H.O., Koch, C. (2003) Mannose-binding lectin deficiency--revisited. *Mol. Immunol*, 40:73-84

156. Turner, M.W. (1996) Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol. Today*, 17:532-540
157. Madsen, H.O., Garred, P., Thiel, S., Kurtzhals, J.A., Lamm, L.U., Ryder, L.P., Svejgaard, A. (1995) Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein. *J. Immunol*, 155:3013-3020
158. Madsen, H.O., Satz, M.L., Hogh, B., Svejgaard, A., Garred, P. (1998) Different molecular events result in low protein levels of mannan-binding lectin in populations from southeast Africa and South America. *J. Immunol*, 161:3169-3175
159. Thiel, S., Holmskov, U., Hviid, L., Laursen, S.B., Jensenius, J.C. (1992) The concentration of the C-type lectin, mannan-binding protein, in human plasma increases during an acute phase response. *Clin Exp Immunol*, 90:31-35
160. Summerfield, J.A., Sumiya, M., Levin, M., and Turner, M.W. (1997) Association of mutations in mannose binding protein gene with childhood infection in consecutive hospital series. *BMJ*, 314:1229-1232
161. Koch, A., Melbye, M., Sorensen, P., Homoe, P., Madsen, H.O., Molbak, K., Hansen, C.H., Andersen, L.H., Hahn, G.W., and Garred, P. (2001) Acute respiratory tract infections and mannose-binding lectin insufficiency during early childhood. *JAMA*, 285:1316-1321
162. Davies, E.J., Teh, L.S., Ordi-Ros, J., Snowden, N., Hillarby, M.C., Hajeer, A., Donn, R., Perez-Pemen, P., Vilardell-Tarres, M., and Ollier, W.E. (1997) A dysfunctional allele of the mannose binding protein gene associates with systemic lupus erythematosus in a Spanish population. *J Rheumatol*, 24:485-488
163. Sullivan, K.E., Wooten, C., Goldman, D., and Petri, M. (1996) Mannose-binding protein genetic polymorphisms in black patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*, 39:2046-2051
164. Graudal, N. (2004) The natural history and prognosis of rheumatoid arthritis: association of radiographic outcome with process variables, joint motion and immune proteins. *Scand. J. Rheumatol, Suppl*:1-38

165. Ip, W.K., Lau, Y.L., Chan, S.Y., Mok, C.C., Chan, D., Tong, K.K., and Lau, C.S. (2000) Mannose-binding lectin and rheumatoid arthritis in southern Chinese. *Arthritis Rheum*, 43:1679-1687
166. Garred, P., Madsen, H.O., Marquart, H., Hansen, T.M., Sorensen, S.F., Petersen, J., Volck, B., Svejgaard, A., Graudal, N.A., Rudd, P.M. (2000) Two edged role of mannose binding lectin in rheumatoid arthritis: a cross sectional study. *J. Rheumatol*, 27:26-34
167. Pickering, M.C., and Walport, M.J. (2000) Links between complement abnormalities and systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*, 39:133-141
168. van der Linden, M.W., van der Slik, A.R., Zanelli, E., Giphart, M.J., Pieterman, E., Schreuder, G.M., Westendorp, R.G., Huizinga, T.W. (2001) Six microsatellite markers on the short arm of chromosome 6 in relation to HLA-DR3 and TNF-A in systemic lupus erythematosus. *Genes Immun*, 2:373-380.
169. Magnusson, V., Johanneson, B., Lima, G., Odeberg, J., Alarcon-Segovia, D., and Alarcon-Riquelme, M.E. (2004) Both risk alleles for FcγRIIA and FcγRIIIA are susceptibility factors for SLE: a unifying hypothesis. *Genes Immun*, 5:130-137
170. Cunninghame Graham DS1, Graham RR, Manku H, Wong AK, Whittaker JC, Gaffney PM, Moser KL, Rioux JD, Altshuler D, Behrens TW, Vyse TJ. (2008) Polymorphism at the TNF superfamily gene TNFSF4 confers susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Nat Genet*, 40(1):83-9
171. Delgado-Vega, A.M., Abelson, A.K., Sanchez, E., Witte, T., D'Alfonso, S., Galeazzi, M., Jimenez-Alonso, J., Pons-Estel, B.A., Martin, J., Alarcon-Riquelme, M.E. (2009) Replication of the TNFSF4 (OX40L) promoter region association with systemic lupus erythematosus. *Genes Immun*, 10:248-253
172. Prokunina L, Castillejo-López C, Oberg F, Gunnarsson I, Berg L, Magnusson V, Brookes AJ, Tentler D, Kristjansdóttir H, Gröndal G, Bolstad AI, Svenungsson E, Lundberg I, Sturfelt G, Jönssen A, Truedsson L, Lima G, Alcocer-Varela J, Jonsson R, Gyllenstein UB, Harley JB, Alarcón-Segovia D, Steinsson K, Alarcón-Riquelme ME. (2002) A regulatory polymorphism in

- PDCD1 is associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus in humans. *Nat Genet*, 32(4):666-9
173. Liu K, Li QZ, Delgado-Vega AM, Abelson AK, Sánchez E, Kelly JA, Li L, Liu Y, Zhou J, Yan M, Ye Q, Liu S, Xie C, Zhou XJ, Chung SA, Pons-Estel B, Witte T, de Ramón E, Bae SC, Barizzone N, Sebastiani GD, Merrill JT, Gregersen PK, Gilkeson GG, Kimberly RP, Vyse TJ, Kim I, D'Alfonso S, Martin J, Harley JB, Criswell LA., Profile Study Group; Italian Collaborative Group; German Collaborative Group; Spanish Collaborative Group; Argentinian Collaborative Group; SLEGEN Consortium, Wakeland EK, Alarcón-Riquelme ME, Mohan C. (2009) Kallikrein genes are associated with lupus and glomerular basement membrane-specific antibody-induced nephritis in mice and humans. *J Clin Invest*, 119(4):911-23
174. Manderson AP, Botto M, Walport MJ. (2004) The role of complement in the development of systemic lupus erythematosus. *Annu Rev Immunol*, 22:431–456
175. Jönsen A, Gullstrand B, Güner N, Bengtsson AA, Nived O, Truedsson L, G. Strufelt (2007) Genetically determined mannan-binding lectin deficiency is of minor importance in determining susceptibility to severe infections and vascular organ damage in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 16(3):1–9
176. Garred P, Madsen HO, Halberg P, Petersen J, Kronborg G, Svejgaard A, Andersen V, Jacobsen S. (1999) Mannose-binding lectin polymorphisms and susceptibility to infection in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 42(10):2145-52
177. Troelsen LN, Garred P, Madsen HO, Jacobsen S. (2007) Genetically determined high serum levels of mannose-binding lectin and agalactosyl IgG are associated with ischemic heart disease in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 56(1):21–29
178. Madsen HO, Videm V, Svejgaard A, Svennevig JL, Garred P. (1998) Association of mannose-binding lectin deficiency with severe atherosclerosis. *Lancet*, 352(9132):959–960
179. Tsutsumi A, Takahashi R, Sumida T. (2005) Mannose binding lectin: Genetics and autoimmune disease. *Autoimmun Rev*, 4(6):364–372

180. P. Garred, J. S. J., L. Quist, E. Taaning, H. O. Madsen (2003) Association of mannose-binding lectin polymorphisms with sepsis and fatal outcome, in patients with systemic inflammatory response syndrome, *J. Infect. Dis*, 188 1394–1403
181. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. (1985) Homeostasis model assessment: Insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28:412–9
182. Tara M. Wallace, Jonathan C. Levy, David R. Matthews (2004) Use and Abuse of HOMA Modeling *Diabetes Care*, 27(6): 1487-1495
183. Stefan N, Haring HU. (2013) Circulating Fetuin-A and free fatty acids interact to predict insulin resistance in humans. *Nat Med*, 4:394-395
184. Müssig K, Staiger H, Machicao F, J. Machann, A. M. Hennige, F. Schick, C. D. Claussen, A. Fritsche, H.-U. Häring, N. Stefan (2009) AHSB Gene Variation is not Associated with Regional Body Fat Distribution – A Magnetic Resonance Study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 8:432-437
185. Suchanek P, Kralova-Lesna I, Poledne R, Lanska V, Hubacek JA (2011). An AHSB gene variant modulates basal metabolic rate and body composition development after a short-time lifestyle intervention. *Neuro Endocrinol Lett*, 32 Suppl 2: 32–36
186. Jensen MK, Bartz TM, Djousse L, JR Kizer, Susan J Ziemann, Eric B Rimm, David S Siscovick, Bruce M Psaty, Joachim H Ix, Kenneth J Mukamal (2013) Genetically elevated Fetuin-A levels, fasting glucose levels, and risk of type 2 diabetes: the cardiovascular health study. *Diabetes Care*, 10:3121-3127
187. Jurcikova L, Adamkova V, Lanska V, P.Suchanek, JA Hubacek (2013) Lack of association between variants within the FETUIN-A, HCRT and NPY2R genes and anthropometrical parameters in Czech Post-Monica Study. *Balkan J Med Genet*, 1:63-68
188. Stefan N, Fritsche A, Weikert C, Heiner Boeing, Hans-Georg Joost, Hans-Ulrich Haring, Matthias B. Schulze (2008) Plasma Fetuin-A levels and the risk of type 2 diabetes. *Diabetes*, 10:2762-2767

189. Jensen MK, Bartz TM, Mukamal KJ, Djoussé L, Kizer JR, Tracy RP, Zieman SJ, Rimm EB, Siscovick DS, Shlipak M, Ix JH. (2013) Fetuin-A, type 2 diabetes, and risk of cardiovascular disease in older adults: the cardiovascular health study. *Diabetes Care*, 5:1222-1228
190. Nikolaos P. E. Kadoglou, George Kottas, Stylianos Lampropoulos, Ioulia Vitta, Christos D. Liapis (2014) Serum Levels of Fetuin-A, Osteoprotegerin and Osteopontin in Patients with Coronary Artery Disease: Effects of Statin (HMGCoA-Reductase Inhibitor) Therapy *Clinical Drug Investigation*, 34 (3): 165–171
191. Esteghamati A, Afarideh M, Feyzi S, Noshad S, Nakhjavani M (2015) Comparative effects of metformin and pioglitazone on fetuin-A and osteoprotegerin concentrations in patients with newly diagnosed diabetes: A randomized clinical trial. *Diabetes Metab Syndr*, 9(4):258-65
192. Ix JH, Mary L. Biggs, Kenneth J. Mukamal, Jorge R. Kizer, Susan J. Zieman, David S. Siscovick, Dariush Mozzaffarian, Majken K. Jensen, Lauren Nelson, Neil Ruderman, Luc Djousse (2012) Association of fetuin-a with incident diabetes mellitus in community-living older adults: the Cardiovascular Health Study. *Circulation*, 125:2316–2322
193. Verduijn M, Prein RA, Stenvinkel P, Carrero JJ, Le Cessie S, Witasp A. (2011) Is fetuin-A a mortality risk factor in dialysis patients or a mere risk marker? A Mendelian randomization approach. *Nephrol Dial Transplant*, 26(1):239–45
194. Maréchal C, Schlieper G, Nguyen P, Krüger T, Coche E, Robert A, Floege J, Goffin E, Jadoul M, Devuyst O (2011) Serum fetuin-A levels are associated with vascular calcifications and predict cardiovascular events in renal transplant recipients. *Clin J Am Soc Nephrol*, 6:974–985
195. Ma S, He Z, Zhao J, Li L, Yuan L, Dai Y, Qiu J. Association of AHSG gene polymorphisms with ischemic stroke in a Han Chinese population. (2013) *Biochem Genet*, 11–12: 916–26
196. Eichner JE, Friedrich CA, Cauley JA, Kamboh MI, Gutai JP, Kuller LH, Ferrell RE. (1990) Alpha 2-HS glycoprotein phenotypes and quantitative hormone and bone measures in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*, 6: 345–49

197. Dickson IR, Gwilliam R, Arora M, Murphy S, Khaw KT, Phillips C, Lincoln P. (1994) Lumbar vertebral and femoral-neck bone-mineral density are higher in postmenopausal women with the alpha(2)HS-glycoprotein-2 phenotype. *Bone Mineral*, 3: 181–88
198. Jiang H, Lei SF, Xiao SM, Chen Y, Sun X, Yang F, Li LM, Wu S, Deng HW. (2007) Association and linkage analysis of COL1A1 and AHSG gene polymorphisms with femoral neck bone geometric parameters in both Caucasian and Chinese nuclear families. *Acta Pharmacol Sin*, 3: 375–81
199. Dvornyk V, Liu PY, Long JR, Zhang YY, Lei SF, Recker RR, Deng HW. (2005) Contribution of genotype and ethnicity to bone mineral density variation in Caucasians and Chinese: A test for five candidate genes for bone mass. *Chin Med J (Engl.)*, 15: 1235–44
200. Dvornyk V, Liu XH, Shen H, Lei SF, Zhao LJ, Huang QR, Qin YJ, Jiang DK, Long JR, Zhang YY, Gong G, Recker RR, Deng HW. (2003) Differentiation of Caucasians and Chinese at bone mass candidate genes: Implication for ethnic difference of bone mass. *Ann Human Genet*, 67: 216–27
201. Y.H. Lee, Witte T, Momot T, Schmidt RE, Kaufman KM, Harley JB, Sestak AL. (2005) The mannose-binding lectin gene polymorphisms and systemic lupus erythematosus: two case– control studies and a meta-analysis, *Arthritis Rheum*, 52 3966–3974
202. Hristova M, Dourmishev L, Kamenarska Z, Miteva L, Vinkov A, Kaneva R, Mitev V, Savov A. (2014) MBL2 polymorphisms - manifestations in Bulgarian patients with adult dermatomyositis and systemic lupus erythematosus. *Int J Immunogenet*, 41(2):119-25
203. Sandrin-Garcia P, Brandão LA, Coelho AV, Guimarães RL, Pancoto JA, Segat L, Donadi EA, de Lima-Filho JL, Crovella S. (2011) Mannose binding lectin gene (MBL2) functional polymorphisms are associated with systemic lupus erythematosus in southern Brazilians. *Hum Immunol*, 72(6):516-21
204. Tanha N, Troelsen L, From Hermansen ML, Kjær L, Faurschou M, Garred P, Jacobsen S. (2014) MBL2 gene variants coding for mannose-binding lectin deficiency are associated with increased risk of nephritis in Danish patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 23(11):1105-11

205. Xu WD, Peng H, Zhou M, Zhang M, Li BZ, Pan HF, Ye DQ. (2013) Association of RANTES and MBL gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*, 40(2):941-8
206. Glesse N, Monticielo OA, Mattevi VS, Brenol JC, Xavier RM, da Silva GK, Dos Santos BP, Rucatti GG, Chies JA. (2011) Association of mannose-binding lectin 2 gene polymorphic variants with susceptibility and clinical progression in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*, 29(6):983-90
207. Gergely P Jr, Pazár B, Nagy ZB, Gombos T, Rajczy K, Balogh Z, Orbán I, Sevcic K, Poór G. (2009) Structural polymorphisms in the mannose-binding lectin gene are associated with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol*, 36(4):843-7
208. OA Monticielo, JAB Chies, T. Mucenic, GG Rucatti, JMZ Júnior, GK da Silva, N. Glesse, BP dos Santos, JCT Brenol and RM Xavier (2010) Mannose-binding lectin gene polymorphisms in Brazilian patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 19: 280
209. Wenfeng Tan, Katsue Sunahori, Jian Zhao, Yun Deng, Kenneth M. Kaufman, Jennifer A. Kelly, Carl D. Langefeld, Adrienne H. Williams, Mary E. Comeau, Julie T. Ziegler, Miranda C. Marion, Sang-Cheol Bae, Joo Hyun Lee, Ji-Seon Lee, Deh-Ming Chang, Yeong Wook Song, Chack-Yung Yu, Robert P. Kimberly, Jeffrey C. Edberg, Elizabeth E. Brown, Michelle A. Petri, Rosalind Ramsey-Goldman, Luis M. Vila', John D. Reveille, Marta E. Alarco'n-Riquelme on behalf of the BIOLUPUS and GENLES Networks, John B. Harley, Susan A. Boackle, Anne M. Stevens, R. Hal Scofield, Joan T. Merrill, Barry I. Freedman, Juan-Manuel Anaya, Lindsey A. Criswell, Chaim O. Jacob, Timothy J. Vyse, Timothy B. Niewold, Patrick M. Gaffney, Kathy L. Moser, Gary S. Gilkeson, Diane L. Kamen, Judith A. James, Jennifer M. Grossman, Bevra H. Hahn, George C. Tsokos, and Betty P. Tsao (2011) Association of *PPP2CA* Polymorphisms With Systemic Lupus Erythematosus Susceptibility in Multiple Ethnic Groups *Arthritis Rheum*, 63(9): 2755–2763
210. Manuel J. Amador-Patarroyo, Alberto Rodriguez-Rodriguez, and Gladis Montoya-Ortiz (2012) How Does Age at Onset Influence the Outcome of Autoimmune Diseases? *Autoimmune Dis*, 2012: 251730

211. Ardoin SP, Schanberg LE (2012) Paediatric rheumatic disease: lessons from SLE: children are not little adults. *Nat Rev Rheumatol* 8: 444-445

10. Publikációk jegyzéke

10.1 A disszertációhoz kapcsolódó közlemények jegyzéke

1. Temesszentandrás G, Vörös K, Márkus B, Böröcz Z, Kaszás E, Prohászka Z, Falus A, Cseh K, Kalabay L. (2016) Human Fetuin-A Rs4918 Polymorphism and its Association with Obesity in Healthy Persons and in Patients with Myocardial Infarction in Two Hungarian Cohorts. *Med Sci Monit*, 22:2742-50
2. Temesszentandrás G, Vörös K, Böröcz Z, Kaszás E, Prohászka Z, Falus A, Cseh K, Kalabay L. (2015) Association of human Fetuin-A rs4917 polymorphism with obesity in 2 cohorts. *J Investig Med*, 63(3):548-53
3. Jakab L, Laki J, Sallai K, Temesszentandrás G, Pozsonyi T, Kalabay L, Varga L, Gombos T, Blaskó B, Bíró A, Madsen HO, Radics J, Gergely P, Füst G, Czirják L, Garred P, Fekete B. (2007) Association between early onset and organ manifestations of systemic lupus erythematosus (SLE) and a down-regulating promoter polymorphism in the MBL2 gene. *Clin Immunol*, 125(3):230-6
4. Mészáros T, Füst G, Farkas H, Jakab L, Temesszentandrás G, Nagy G, Kiss E, Gergely P, Zeher M, Griger Z, Czirják L, Hóbor R, Haris A, Polner K, Varga L. (2010) C1-inhibitor autoantibodies in SLE. *Lupus*, 19(5):634-8

10.2 A disszertációhoz nem kapcsolódó közlemények jegyzéke

1. Veszeli N, Kóhalmi KV, Kajdácsi E, Gulyás D, Temesszentandrás G, Cervenak L, Farkas H, Varga L. (2018) Complete kinetic follow-up of symptoms and complement parameters during a hereditary angioedema attack. *Allergy*, 73(2):516-520
2. Longhurst H, Cicardi M, Craig T, Bork K, Grattan C, Baker J, Li HH, Reshef A, Bonner J, Bernstein JA, Anderson J, Lumry WR, Farkas H, Katelaris CH, Sussman GL, Jacobs J, Riedl M, Manning ME, Hebert J, Keith PK, Kivity S, Neri S, Levy DS, Baeza ML, Nathan R, Schwartz LB, Caballero T, Yang W, Crisan I, Hernandez MD, Hussain I, Tarzi M, Ritchie B, Králíčková P, Guilarte M, Rehman SM, Banerji A, Gower RG, Bensen-Kennedy D, Edelman J, Feuersenger H, Lawo JP, Machnig T, Pawaskar D,

- Pragst I, Zuraw BL; COMPACT Investigators. (2017) Prevention of Hereditary Angioedema Attacks with a Subcutaneous C1 Inhibitor. *N Engl J Med*, 376(12):1131-1140
3. Farkas H, Veszeli N, Csuka D, Temesszentandrás G, Tóth F, Kőszegi L, Varga L. (2015) Management of pregnancies in a hereditary angioedema patient after treatment with attenuated androgens since childhood. *J Obstet Gynaecol*, 35(1):89-90
4. Zotter Z, Csuka D, Szabó E, Czaller I, Nébenführer Z, Temesszentandrás G, Fust G, Varga L, Farkas H. (2014) The influence of trigger factors on hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Orphanet J Rare Dis*, 9:44
5. Zsuzsanna Zotter, Dorottya Csuka, Lilian Varga, György Temesszentandrás, Henriette Farkas (2013) The efficacy and safety of self-injected icatibant administered as an acute treatment for hereditary angioedema due to C1-INH deficiency (HAE-C1-INH) in clinical practice. *The Journal of Angioedema*, 1:(1) 50
6. Farkas H, Zotter Z, Csuka D, Szabó E, Nébenführer Z, Temesszentandrás G, Jakab L, Varga L, Harmat G, Karádi I. (2012) Short-term prophylaxis in hereditary angioedema due to deficiency of the C1-inhibitor--a long-term survey. *Allergy*, 67 (12):1586-93
7. Farkas H, Csuka D, Zotter Z, Varga L, Böröcz Z, Temesszentandrás G, Jakab L, Karádi I. (2012) Home treatment of hereditary angioedema with icatibant administered by health care professionals. *J Allergy Clin Immunol*, 129 (3):851-852
8. D Csuka, G Füst, G Temesszentandrás, L Jakab, H Farkas, L Varga (2011) Differences of complement activation profile between type I and type II of hereditary angioedema due to C1 inhibitor deficiency. *Molecular Immunology*, 48:(14) 1720
9. Farkas H, Csuka D, Zotter Z, Varga L, Borocz Z, Temesszentandrasi G, Karadi I (2011) At-Home Treatment of Patients with Acute Attacks of Hereditary Angioedema with the Bradykinin B2 Receptor-Antagonist Icatibant *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 127:(S2) p AB233

10. Temesszentandrás György (2011) Kardiovaszkuláris rizikófaktorok és statinkezelés összefüggése szisztémás lupus erythematosusban (SLE). *Metabolizmus*, **9**:(5) 274-278
11. Mészáros T, Füst G, Farkas H, Jakab L, Temesszentandrás G, Nagy G, Kiss E, Gergely P, Zeher M, Griger Z, Czirják L, Hóbor R, Haris A, Polner K, Varga L. (2010) C1-inhibitor autoantibodies in SLE. *Lupus*, 19(5):634-8
12. Temesszentandrás G, Igaz P, Jakab L, Fekete B, Karádi I (2010) Autoimmun hypophysitis. *Magyar Belorvosi Archivum*, 2010:(2) 112
13. Temesszentandrás György (2010) A leggyakoribb allergiás kórképek. *Magyar Belorvosi Archivum*, 63:(Klinsz. 1.) 65-69
14. Temesszentandrás György (2010) Változások az allergia ellátásában: családorvosi teendők. *Magyar Családorvosok Lapja*, 2010:(4) 24-30.
15. Farkas H, Czaller I, Csuka D, Jakab L, Temesszentandrasi G, Varga L, Toth F, Vas A, Fekete B, Karadi I (2009) Efficacy and safety of human c1-inhibitor concentrate in a pregnant female patients with hereditary angioedema. *Allergy*, 64:(S90) 261
16. H Farkas, L Jakab, G Temesszentandrás, B Visy, G Harmat, G Füst, G Széplaki, B Fekete, I Karádi, L Varga (2009) Hereditary Angioedema: A decade of human C1-inhibitor concentrate therapy In: BL Zuraw, MM Frank (szerk.) *A Selection of Important Papers in Hereditary Angioedema: A Compilation of Key Peer-Reviewed Papers From Leading Journals*. Amsterdam: Excerpta Medica, pp. 216-222
17. Farkas H, Varga L, Szeplaki G, Temesszentandrasi G, Jakab L, Fekete B, Fust G, Karadi I (2008) Treatment of patients with acute attacks of hereditary angioedema due to C1-INH deficiency with the bradykinin B2 receptor-antagonist Icatibant. *Allergy*, 63:(Suppl. 88) 474-475
18. Farkas H, Jakab L, Temesszentandrás G, Visy B, Harmat G, Füst G, Széplaki G, Fekete B, Karádi I, Varga L. (2007) Hereditary angioedema: a decade of human C1-inhibitor concentrate therapy. *J Allergy Clin Immunol*, 120(4):941-7

19. Farkas H, Temesszentandrasi G, Visy B, Harmat G, Varga L, Fust G, Szeplaki G, Fekete B, Karadi I, Jakab L (2007) A decade of human c1-inhibitor concentrate therapy in pediatric hereditary angioedema patients. *Allergy*, 62:(Suppl. 83) 479
20. Farkas H, Temesszentandrasi G, Visy B, Harmat G, Varga L, Fust G, Szeplaki G, Karadi I, Fekete B, Jakab L (2007) Over 10 years of experience with the use of C1-inhibitor concentrate in hereditary angioedema, in retrospect. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 119:(Suppl. 1) p. S311
21. Jakab László, Temesszentandrasi György, Fekete Béla (2006) A krónikus kortikoszteroid kezelés problémái. *Háziorvos Továbbképző Szemle*, 11:(4) 366-369
22. Temesszentandrasi György (2005) A köszvény diétás kezelése. *Családorvosi Fórum*, 5: 62-63.

Összesített impaktfaktor: 107,555

11. Köszönetnyilvánítás

Ezúton mondok köszönetet Dr. Kalabay László tanszékvezető egyetemi tanárnak, témavezetőmnek, hogy segítette és támogatta munkámat. Hálával tartozom Dr. Karádi István Professzor Úrnak a munkámat segítő ösztönzésért. Köszönettel tartozom a III. Belgyógyászati Klinika immunológiai munkacsoportjának vezetőjének, Dr. Fekete Béla Professzor Úrnak. Köszönettel tartozom Dr. Pánczél Pál Professzor Úrnak opponensi munkájáért.

Köszönettel tartozom Mindenkinek, aki munkájával hozzájárult a dolgozat alapját képező tudományos munkák eredményeihez, kiváltképpen Dr. Jakab László egyetemi adjunktusnak.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni Szüleimnek és Családomnak a támogatást és segítséget, amit az elmúlt években nyújtottak.