

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

Kockázati és aktivitási tényezők diabétesz mellituszban és proteinuriában

Dr. Mohás Márton

Iskolavezető: Prof. Dr. Komoly Sámuel

Programvezető: Prof. Dr. Nagy Judit

Témavezetők:

Prof. Dr. Wittmann István

Prof. Dr. Melegh Béla

Készült:

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, II. számú Belgyógyászati Klinika
és Nephrológiai Centrum

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Genetika Intézet



Pécs, 2011

TARTALOMJEGYZÉK

1. RÖVIDÍTÉSEK	4
2. BEVEZETÉS	5
2. 1. A2-es típusú diabétesz mellitusz	5
2. 1. 1. A diabétesz mellitusz – pandémia	5
2. 1. 2. A diabéteszes mikrovaszkuláris szövődmények – a diabéteszes nefropátia	6
2. 1. 3. A 2-es típusú diabétesz mellitusz genetikai háttere	8
2. 2. Azelőrehaladottglikációs végtermékek	10
2. 2. 1. Az előrehaladott glikációs végtermékek képződése	10
2. 2. 2. A HbA _{1c} klinikai szerepe	11
2. 2. 3. Az előrehaladott glikációs végtermékek szerepe a diabéteszes nefropátiában	11
2. 3. A fruktózamin-3-kináz enzim	12
2. 3. 1. A fruktózamin-3-kináz enzim élettani szerepe	12
2. 3. 2. A fruktózamin-3-kináz enzim genetikai háttere	13
2. 4. A metabolikus szindróma	14
2. 4. 1. A metabolikus szindróma klasszifikációja	14
2. 4. 2. A metabolikus szindróma prevalenciája, patogenezise és komplex kezelése	15
2. 5. A glukokináz enzim	16
2. 6. A glukokináz-regulátor-fehérje	17
2. 6. 1. A glukokináz-regulátor-fehérje élettani működése	17
2. 6. 2. Aglukokináz-regulátor-fehérje genetikai háttere	17
2. 6. 3. A glukokináz-regulátor-fehérje, mint kandidáns diabétesz gén	18
2. 7. A nefrózis szindróma	19
2. 7. 1. Anefrózis szindrómáról általában	19
2. 7. 2. A proteinuria vesekárosító hatása	19
2. 7. 3. A laktát dehidrogenáz enzim	21
3. CÉLKITŰZÉSEK	22
4. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK	23
4. 1. A fruktózamin-3-kináz enzim G900C génpolimorfizmusának vizsgálata	23
4. 1. 1. Betegek és kontroll személyek	23
4. 1. 2. Genotipizálás	23
4. 1. 3. Statisztikai elemzés	24
4. 2. Aglukokináz-regulátor-fehérjefunkcionális variánsainak vizsgálata	24

4. 2. 1. A vizsgálatban szereplő betegek	24
4. 2. 2. Klinikai adatok	25
4. 2. 3. Genotipizálás	26
4. 2. 4. Statisztikai analízis	26
4. 3. Alaktát dehidrogenázenzim és izoenzimeinek vizsgálata	27
4. 3. 1. Betegcsoportok	27
4. 3. 2. Klinikai adatok és a laktát dehidrogenáz izoenzimek meghatározása	28
4. 3. 3. Statisztikai analízis	28
5. EREDMÉNYEK	30
5. 1. Afruktózamin-3-kináz enzim G900C génpolimorfizmusának vizsgálata	30
5. 2. Aglukokináz-regulátor-fehérje génvariánsainak vizsgálata	35
5. 3. A laktát dehidrogenáz enzim vizsgálata nefrózis szindrómás, nem-nefrózis szindrómás vesebetegekben és a kontrollokban	44
6. MEGBESZÉLÉS	54
6. 1. Afruktózamin-3-kináz G900C polimorfizmusának vizsgálata	54
6. 2. Aglukokináz-regulátor-fehérjefunkcionális génvariánsainak vizsgálata	57
6. 3. A laktát dehidrogenáz és izoenzimeinek vizsgálata	59
7. ÖSSZEFOGLALÁS	62
8. PhD TÉZISEK	64
9. IRODALOMJEGYZÉK	65
10. KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE	76
11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	87
12. MELLÉKLETEK	89

1. RÖVIDÍTÉSEK

AGE	advanced glycation endproduct - előrehaladott glikációs végtermék
BMI	body mass index - testtömeg index
CIMT	carotis intima media thickness - artéria karotisz intima-média vastagság
FN3K	fruktózamin-3-kináz
GCKR	glucokinase regulatory protein
GFR	glomeruláris filtrációs ráta
GGT	gamma-glutamil transzpeptidáz
GOT	glutarát-oxálacetát transzamináz
GPT	glutamát-piruvát transzamináz
HDL	high density lipoprotein - magas sűrűségű lipoprotein
KDOQI	Kidney Disease Quality Outcomes Initiative
LDH	laktát dehidrogenáz
LDL	low density lipoprotein - alacsony sűrűségű lipoprotein
MDRD	Modification Diet in Renal Diseases
MODY	maturity onset diabetes of the young
NEG	nem-enzimatis glikáció
PCR	polimerase chain reaction - polimeráz láncreakció
RFLP	restriction fragment length polymorphism
SNP	single nucleotide polymorphism - egyszerű nukleotid polimorfizmus
T2DM	2-es típusú diabétesz mellitusz
VLDL	very low density lipoprotein – nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein

2. BEVEZETÉS

2. 1. A2-estípusúdiabétesz mellitusz

2. 1. 1. A diabétesz mellitusz– pandémia

Diabétesz mellituszban az inzulin hiánya, vagy hatástalansága miatt hiperglikémia és glukózintolerancia alakul ki. A WHO klasszifikációja szerint a cukorbetegséget etiológia szerint a következő típusokba sorolhatjuk: (1.) 1-es típusú diabétesz mellitusz, (2.) 2-es típusú diabétesz mellitusz (T2DM), (3.) gesztációs diabétesz mellitusz, (4.) egyéb speciális altípusok.

A T2DM-ben szenvedő betegekre jellemző az inzulinrezisztencia, illetve a relatív/abszolút inzulinhiány. Gyakran a betegség éveken keresztül felismeretlen marad, a klasszikus tünetek (poliuria, polidipszia, polifágia, testsúly csökkenés, fertőzésekre való hajlam) nem jelentkeznek, ilyen esetekben a diagnózis csak későn, már a diabéteszes szövődmények kialakulása után születik meg. A betegség dominálón a 40 év feletti populációt érinti, azonban sajnálatos módon manapság egyre gyakoribb a gyermekkorban manifesztálódó T2DM. A kialakulásában szerepet játszó környezeti és egyéb faktorok közül fontos kiemelni az elhízást, a nem megfelelő étkezési szokásokat, a dohányzást, a fizikai inaktivitást, az inzulinrezisztenciát, az idős életkort, az intrauterin károsító tényezőket, a magas vérnyomást, a diszlipidémiát, melyeket megfelelő egészséges életmóddal befolyásolni lehet. A betegség azonban családi halmozódást is mutat, és jelentősen gyakrabban fordul elő színesbőrű populációkban. Ez a jelenség megerősíti azt a tényt, hogy a genetikai hajlam a patogenezisben elhanyagolhatatlan (Harris 1997).

A Föld lakossága fokozatosan előregedik, az urbanizáció nagyütemben felgyorsult, az elhízása lakosság, újabban a gyermekek és a fiatalok körében is, egyre nagyobb méreteket öltött. A legfrissebb felmérések szerint 2000-ben a világon több mint 170 millióan szenvedtek T2DM-ben és a betegek száma a becslések szerint 2030-ra megduplázódhat, és elérheti az ijesztő 360 milliós számot (Wild 2004). Gondozásuk és a cukorbetegséghez társult diabéteszes makrovaszkuláris és mikrovaszkuláris szövődmények által okozott morbiditás rendkívüli mértékben terheli majd az egészségügyet.

A T2DM és az azt megelőző állapotok diagnózisát orális glukóz tolerancia tesztelvégezéssel állíthatjuk fel, elvégzése indokolt, ha az éhomi vércukorszint 6,1 mmol/l feletti, vagyis károsodott éhomi vércukorszint esetén. Ha a vizsgálattal kapott érték 7,8-11

mmol/l közötti, akkor károsodott glukóz toleranciátállapíthatunk meg. Mindkettő úgynevezett „prediabétesz” állapot és akárosodott glukóz toleranciamár önmagában is fokozott kardiovaszkuláris kockázatot jelent. Az ilyen betegek harmada 10 év elteltével cukorbeteggé válik (Pratley 2002). Ha az orális glukóz tolerancia teszt értéke 11,1 mmol/l-t meghaladja, vagy az éhomi vércukorszint nagyobb, mint 7 mmol/l definitív T2DM-ről beszélünk.

Az American Diabetes Association legújabb konszenzusa szerint a diabétesz mellitusz diagnózisának kimondásához a 6,5 % feletti HbA_{1c}-szintet ajánlják.

2. 1. 2. A diabéteszes mikrovaszkuláris szövődmények – a diabéteszes nefropátia

A diabéteszes mikrovaszkuláris szövődmények (diabéteszes nefro-, neuro-, retinopátia) jelentős terhet jelentenek mind a betegek, mind az egészségügy számára, ezért a cukorbeteg gondozása során a szövődmények megelőzése és kezelése a fő cél. A patogenezisben kulcsfontosságú szerepe van a rossz szénhidrát anyagcsere kontrollnak, az oxidatív stressznek (Giugliano 1996), genetikai tényezőknek (Dudley 1995) és az előrehaladott glikációs végtermékeknek (advanced glycation endproducts, AGE) (Vlassara 1994).

A cukorbeteg számának növekedésével párhuzamosan emelkedik a diabéteszes nefropátia előfordulása is. Bár az 1-es típusú diabétesz mellituszban megjelenése gyakoribb (10-20 %) mint a 2-es típusban (5-10 %), mégis a prevalencia növekedéséért a 2-es típusú cukorbeteg ugrásszerűen megnövekedett száma tehető felelőssé. A prevalencia emelkedését az eredményes kezelés következtében megnövekedett életkor is magyarázhatja. Fontos továbbá az a tény is, hogy a végstádiumú veseelégtelenség kialakulásának leggyakoribb oka a diabéteszes nefropátia (Wittmann 2002, Nagy 2002). Ezekben a betegekben a nehezen elérhető vesetranszplantáció és a költséges krónikus művesekezelés jelenthet megoldást..

A diabéteszes nefropátiát a T2DM késői mikrovaszkuláris szövődményeiközé soroljuk, megjelenése általában 10 évnél hosszabb kórlefordulás esetén várható, kialakulásának kockázata a cukorbetegség fennállásával szorosan korrelál. Cukorbeteg esetén, ha kóros albuminürítés áll fenn és minden egyéb nem-diabéteszes vesebetegség kizárható, diabéteszes nefropátia fennállásáról beszélhetünk (Adler 2003). Kórosnak tekinthető a napi 30 mg-nál nagyobb mértékű vizelettel történő albuminürítés. Mikroalbuminuria diagnózisát jelenti a férfiaknál 2,5, nők esetében pedig a 3,5 mg/mmol-nál nagyobb vizelet albumin/kreatinin hányados is. A diabéteszes nefropátia stádiumait az **1. táblázat** foglalja össze.

1. táblázat: A diabéteszes nefropátia stádiumbeosztása

	Mogensen-féle	KDOQI a GFR szerint
1. stádium	Normoalbuminuria, hiperfiltráció	>90*
2. stádium	Normoalbuminuria, csökkenő filtráció	60-89
3. stádium	Mikroalbuminuria, csökkenő filtráció	30-59
4. stádium	Makroalbuminuria, csökkenő filtráció	15-29
5. stádium	Végállapotú veseelégtelenség	<15

*: hozzátartoznak ehhez a vesekárosodásra utaló egyéb eltérések, pl. vér, vizelet abnormalitások és képző eljárásokkal kimutatható elváltozások. *KDOQI, Kidney Disease Quality Outcomes Initiative*

A diabéteszes nefropátia progresszív glomerulus filtrációs ráta (GFR) csökkenéssel és proteinuriával járó tünetegyüttes, aminek háttérében specifikus szövettani elváltozások állnak (glomerulus bazális membrán megvastagodás, mezangiális mátrix expansió, noduláris glomeruloszklerózis, arteriola hialinózis, stb). Ezen elváltozásoknak többnyire differenciál-diagnosztikai szerepük van, hiszen diabéteszes nefropátiában csak megfelelő indikációk esetén, ritkán végzünk vesebiopsziát.

A Mogensen-féle beosztás szerint a diabéteszes nefropátia a GFR növekedésével kezdődik (hiperfiltráció), ebben a stádiumban még nem mutatható ki a mikroalbuminuria, de a vese már megnagyobbodott. A KDOQI-féle klasszifikáció (Kidney Disease Quality Outcomes Initiative) hiányossága, hogy a hiperfiltrációt nem jeleníti meg. A Modification Diet in Renal Diseases (MDRD) képlet sajnálatos módon nem mutatja meg a hiperfiltrációt, ennek kimutatása a 24-órás endogén kreatinin „clearance”, vagy az „izotóp-clearance” vizsgálattal lehetséges.

A diabéteszes nefropátia 2. stádiumában a vesebetegség progressziója miatt a GFR csökken, és már átmenetileg mikroalbuminuriás periódusokat figyelhetünk meg, melyeknek háttérében lázas állapot, húgyúti infekció, fizikai megterhelés és fokozott diétás proteinbevitel lehet. Három mérés szükséges az albuminuria igazolására.

A diabéteszes nefropátia 3. stádiumában stabil mikroalbuminuria (30-300 mg/nap albuminürítés, vagy nők esetében 3,5-35 mg/mmol, férfiaknál 2,5-25 mg/mmol albumin/kreatinin hányados) és GFR-csökkenés mutatható ki. A progresszió megítélésénél az albuminuriát és a GFR-t egyszerre kell értékelni, mivel a GFR-csökkenés és az albuminuria-növekedés gyakran szétválík egymástól.

A diabéteszes nefropátia 4. stádiumában makroalbuminuria (>300 mg/nap albuminürítés, nők esetében >35 mg/mmol, férfiaknál >25 mg/mmol albumin/kreatinin hányados) és jelentős GFR csökkenés alakul ki. A proteinuria akár elérheti a nefrotikus mértéket és nefrózis szindróma alakulhat ki.

Sajnos a modern terápiás lehetőségek ellenére is a diabéteszes nefropátiás betegek nagy része végállapotú veseelégtelen lesz (5. stádium).

A diabéteszes nefropátiakialakulásának háttérében számos tényező áll, mint például a hiperglikémia mértéke, a magas vérnyomás, a fokozott fehérjebevitel, a dohányzás, a diszlipidémia, az obezitás és a genetikai prediszpozíció. A legfontosabb rizikófaktor azonban a hiperglikémia, amelynek következtében fokozódik a nem-enzimatis glikáció (NEG) és aAGE-kszérum szintje megnő. A diabéteszes nefropátia komoly egészségügyi jelentősége abban áll, hogy a cukorbetegségben szenvedők 3-6-szoros kardiovaszkuláris rizikóját 15-20-szorosra fokozza. A kóros albuminuria a generalizált endotél diszfunkciót jelzi, így kardiovaszkuláris rizikómarkernek tekinthető.

2. 1. 3. A 2-es típusú diabétesz mellitusz genetikai háttere

A cukorbetegséggel foglalkozó kutatások bebizonyították, hogy a környezeti hatásokon túl bizonyos genetikai eltérések is hajlamosítanak a betegség kialakulására. A T2DM családon belül halmozódik, együttes előfordulása az egypetéjű ikrekben megközelíti a 100 %-ot. A genetikai prediszpozíciót mutatja az a megfigyelés is, miszerint a betegség kialakulásának rizikója ingadozik a fehér és az ázsiai populációban tapasztalt 5-8 %, és a déltengeri bennszülöttek, vagy az amerikai pima indiánok körében észlelt 50 % feletti rizikó között.

A T2DM háttérében a „perifériás” szövetekben, döntően a máj-, az izom- és a zsírszövetben megfigyelhető inzulinrezisztencia áll. Mindehhez társul a hasnyálmirigy Langerhans-szigeteiben a béta-sejtek inzulinszekréciós zavara. Mindkét eltérés megelőzi a T2DM kialakulását, a betegek első fokú hozzátartozóiban már kimutatható, tehát öröklött eltérések.

A T2DM genetikai háttere nagyon komplex és kevésbé tisztázott. A betegség kialakulásához vezető folyamatokban számos gén és géntermék vesz részt, amelyek kölcsönhatásaként, és/vagy az egyes diabetogén gének eltérő fenotípusa eredőjeként határozható meg a genetikai hajlam, amelyet nagymértékben befolyásol az etnikai hovatartozás és az egyéb környezeti faktorok (Beck-Nielsen 1994). A T2DM háttérében álló hajlamosító géneket, vagy más néven kandidáns géneket az alacsony penetranciájú gének között kell keresni. A betegség kialakulásában a génelterések együttes hatásának van szerepe, azaz a betegség poligénes. A genetikai hajlam jelenlétére dolgozták ki az úgynevezett „thrifty” genotípus hipotézist (Neel 1962).

Ismert az inzulin szerkezetét módosító három mutáció (Chicago-, Los Angeles- és Wakayama-inzulin mutáció), amely autoszomális domináns módon öröklődik és az endogén inzulin hatástalanságát, illetve csökkent hatását okozza (Tager 1979, Haneda 1984, Nanjo 1987). Az inzulinreceptor génjében, inzulinreceptor-tirozin-kináz és inzulinreceptor-szubsztrát-1-ben talált egyszerű nukleotid polimorfizmusok (single nucleotide polymorphism, SNP) összefüggést mutattak az inzulinrezisztenciával.

A tumor nekrozis faktor alfa promóter régiójában azonosított SNP összefüggésben áll az elhízással és az inzulinrezisztenciával (Ishii 2000). A peroxiszoma-proliferátor-aktivált receptor- gamma mutációit korai megjelenésű T2DM-mel, hipertóniával hozták kapcsolatba (Barosso 1999). A glukóztranszporter génelterései kaukázusi populációkban nem, csak japánok között mutatott kapcsolatot a T2DM-mel (Tao 1995). Az inzulin anyagcsereutáiban szerepet betöltő enzimek mutációit (hexokináz-II, glikogén szintáz) széleskörben vizsgálják, mint kandidáns diabetogén génelteréseket (Orho 1995). A mitokondriális genetikai eltérések is kapcsolatot mutatnak a T2DM kialakulásával (Van Den Ouwenland 1992).

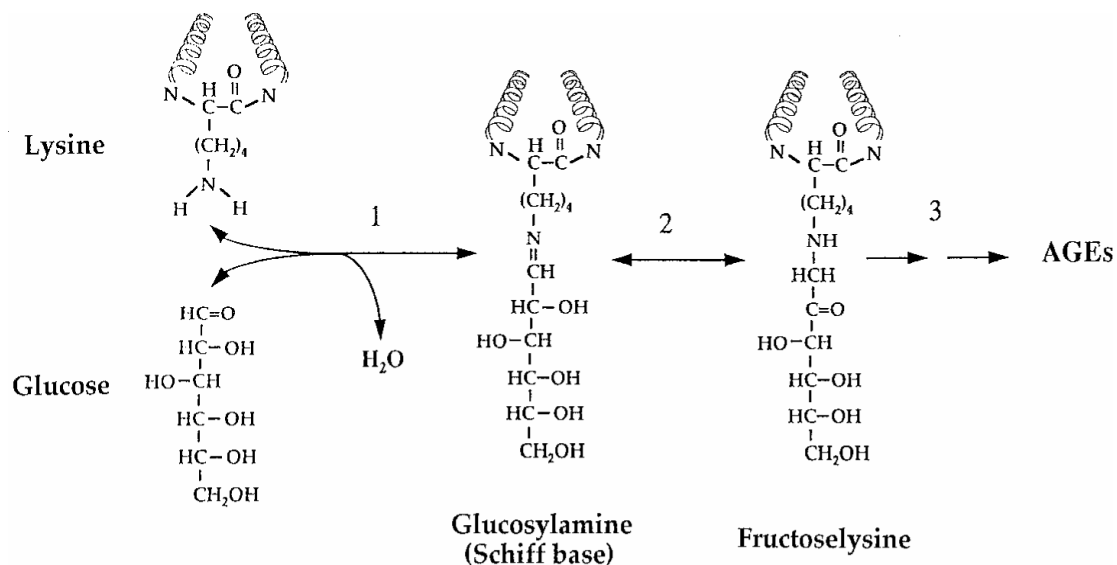
Az autoszomálishan domináns módon öröklődő MODY-nak (maturity onset diabetes of the young) 5 génelterését ismerjük. Az inzulin promóter faktor-1 transzkripciós faktorban azonosított „frameshift” és „missense” mutációk esetében pankreász agenézist, ifjúkori nem inzulindependens diabéteszt és fokozott rizikót találtak a T2DM kialakulására (McFarlane 1999). A MODY-1 esetében a hepatocita nukleáris transzkripciós faktor 4 alfa ritka mutációja áll fenn, a MODY-2-ben a glukokináz enzim, a MODY-3-ban a hepatocita nukleáris

transzkripció faktor 1 alfa génelterése, a MODY-4 esetében az inzulin promóter faktor-1, míg a MODY-5 típus esetében a hepatocita nukleáris transzkripció faktor 1 béta génmutációját írták le (Bell 1991, Shepherd 2001).

2. 2. Azelőrehaladottglikációs végtermékek

2. 2. 1. Az előrehaladott glikációs végtermékek képződése

A NEG során, cukrok spontán módon (enzim által nem katalizált módon) képesek intra- és extracelluláris fehérjék oldalláncaihoz kötődni. Az így képződött korai glikációs termékek (Schiff-bázis) instabil vegyületek, melyek hosszabb idő elteltével, további kémiai átrendeződéssel, sokkal stabilabb szerkezetű Amadori-termékké alakulnak. Ezt követően az Amadori-termékből több, irreverzibilis reakció eredményeképpen AGE-k keletkeznek. A NEG folyamatát 'Maillard' reakciónak is nevezzük (1. ábra).



1. ábra: Az előrehaladott glikációs végtermékek (AGE) képződése. (1.) Cukrok (glucose) spontán módon és reverzibilisen kötődnek aminosavak oldalláncához (lysine) Schiff-bázist (Schiff base) alkotva. (2.) Reverzibilis átrendeződéssel Amadori-termékek képződnek (fructoselysine). (3.) Hosszabb idő alatt, irreverzibilis reakciókat követően alakulnak ki az AGE-k. (Szwergold 2001)

Az így képződött AGE-k rendkívül toxikus vegyületek, specifikus receptoraikhoz kötődve növekedési faktorok, citokinek termelődését váltják ki és oxidatív stresszt okoznak.

Az AGE-knak bizonyítottan fontos patogenetikai szerepük van a diabéteszes mikrovaszkuláris szövődmények kialakulásában (Szwergold 2001, Vlassara 1996, Ziyadeh 1993).

2. 2. 2. A HbA_{1c} klinikai szerepe

A fehérjék glikációjának kutatása a vörösvértestekben található gliko-hemoglobin felismerésével vette kezdetét. A hemoglobin glikációja során cukrok kötődnek a fehérjelánc aminosavainak oldalláncához, döntően a β -lánc N-terminális részéhez. Az így képződött gliko-hemoglobin a HbA_{1c}, melynek rendkívül fontos klinikai szerepe van, mivel szintje megbízhatóan jelzi három hónapra visszamenőleg a cukorbetegéktől átlagos glikémiás állapotát és a terápia hatékonyságát, továbbá a cukorbetegség szövődményeinek kockázati tényezőjeként is szolgál (Jeppson 2002).

2. 2. 3. Az előrehaladott glikációs végtermékek szerepe a diabéteszes nefropátiában

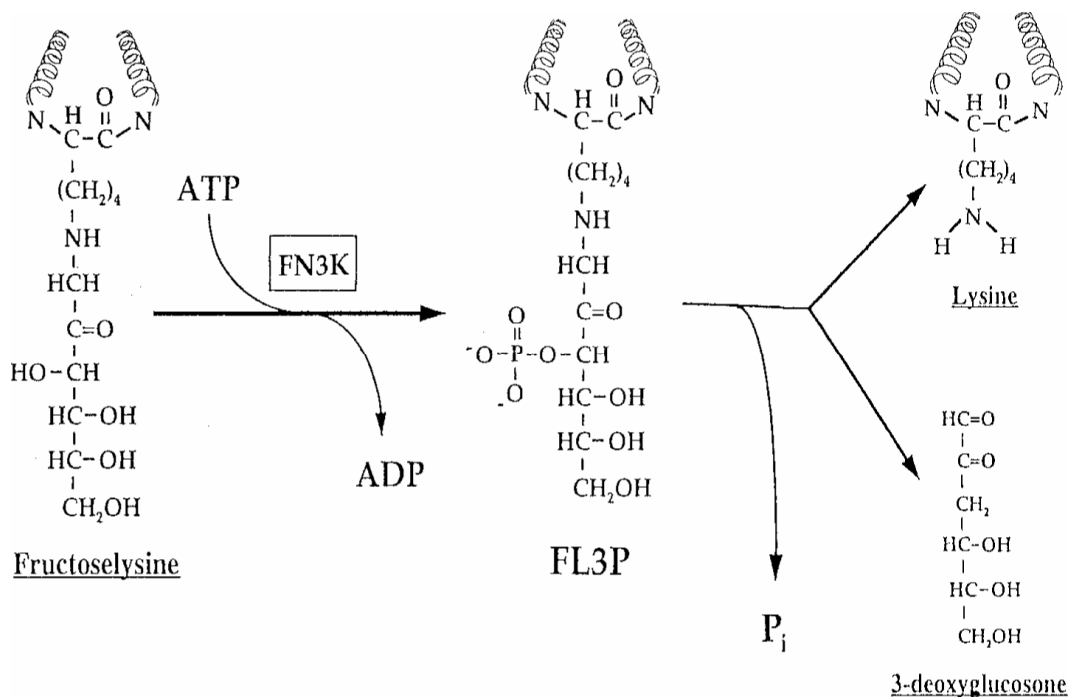
Az AGE-k a szöveteinkben 'in situ' képződve felhalmozódhatnak, illetve a keringés útján különböző szövetekben lerakódnak, specifikus receptorokat aktiválva adhéziós molekulák termelődnek és a szubendoteliális térbe vándorló makrofágok a végtermékeket bekebelezik és degradálják. Ez a folyamat azonban korántsem detoxifikálja az AGE-kat, hiszen változatlanul toxikus, kisebb molekulású, ezáltal még mobilisebb köztes termékek jönnek létre, fokozva a szöveti károsító hatás mértékét.

Az AGE-k és fragmentumaik kizárólag a vesén keresztül tudnak eliminálódni, ez azt is jelenti, hogy károsító hatásuknak fő célszerve maga a vese. A glomerulusokban szabadon filtrálódva, magát a glomerulust is károsítva, a proximális tubuláris sejtekhez jutnak, ahol receptor-aktivációt hoznak létre következményes gyulladással, amely végeredményben a vese károsodásához és albuminuria megjelenéséhez vezet (diabéteszes nefropátia), súlyosabb esetben a proteinuria akár a nefrotikus mértékig is fokozódhat. A fokozódó proteinuria miatt a vese funkcionálisan károsodik és csökken a GFR, így elkezdődik egy „circulus vitiosus”, hiszen az AGE-k szérum szintje tartósan növekedni kezd (Wittmann 1999, Gugliucci 1996).

2. 3. A fruktózamin-3-kináz enzim

2. 3. 1. A fruktózamin-3-kináz enzim élettani szerepe

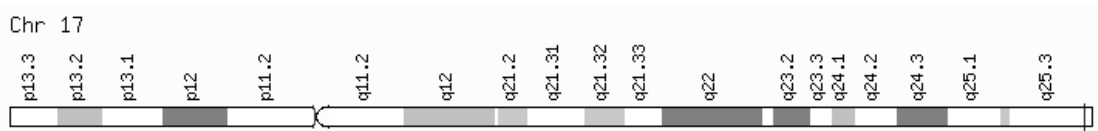
Látható, hogy az AGE-k a monocita-makrofág rendszer általi eliminációja további veszélyeket rejt magában. A NEG-et sokáig irreverzibilis folyamatnak tekintették, azonban néhány évvel ezelőtt a fruktózamin-3-kináz enzim (FN3K) felfedezésével egy új, intracelluláris enzimátikus deglikációs folyamat került felismerésre (Delpierre 2002, Delpierre 2003, Szwegold2003). A deglikációértfelelős enzim alacsony molekulásúlyú fruktózaminokat (pl. fruktózlizin) és egyéb fehérjékhez kötött fruktózaminokat foszforilál a harmadik szénatomon, melynek következtében egy instabil vegyület keletkezik, ami spontán módon (pár órás felezési idő alatt) bomlik szervesen foszfátra, 3-dezoxiglukozonra és a deglikált aminocsoportra (**2. ábra**) (Szwegold 2001, Vlassara 1994, Delpierre 2002, Delpierre 2003, Szwegold 2003, Delpierre 2004).



2. ábra: A fruktózamin-3-kináz enzim (FN3K) feltételezett működése. Az enzim ATP-dependens módon foszforilálja a fruktózlizin (fructoselysine) harmadik szénatomját, így egy instabil vegyület képződik (fruktózlizin-3-foszfát, FL3P), mely spontán módon lizinre (lysine), 3-dezoxiglukozonra (3-deoxyglucosone) és anorganikus foszfátra (P_i) hasad (Szwegold 2001).

2. 3. 2. A fruktózamin-3-kináz enzim genetikai háttere

A FN3Kgén a 17q25 lókuszban található, 6 exonja egy 309 aminosavból álló, 35 kDa molekulású enzimet kódol, mely ubikviter módon fejeződik ki szöveteinkben. Az FN3K-gén kromoszómán lévő lokalizációját a **3. ábrán** mutatjuk be. A gén által kódolt fehérje aminosav-szekvenciáját a **4. ábra** demonstrálja.



3. ábra: A fruktózamin-3-kináz enzim génjének lokalizációját a 17. kromoszómán (Chr 17) a hosszú karon a vonal jelzi (<http://www.genecards.org>)

10	20	30	40	50	60
MEQLLRAELR	TATLRAFGGP	GAGCISEGRA	YDTDAGPVFV	KVNRRTQARQ	MFEGEVASLE
70	80	90	100	110	120
ALRSTGLVRV	PRPMKVIDLP	GGGAAFVMEH	LKMKSLSSQA	SKLGEQMADL	HLYNQKLRK
130	140	150	160	170	180
LKEEENTVGR	RGEGAEPQYV	DKFGFHTVTC	CGFIPQVNEW	QDDWPTFFAR	HLQAQLDLI
190	200	210	220	230	240
EKDYADREAR	ELWSRLQVKI	PDLFCGLEIV	PALLHGDLWS	GNVAEDDVGP	IIYDPASFYG
250	260	270	280	290	300
HSEFELAIAL	MFGGFPRSF	TAYHRKIPKA	PGFDQRLLLY	QLFNLYLNHWN	HFGREYRSPS
LGTMRRLK					

4. ábra: Az FN3Kgén által kódolt fehérje aminosav-szekvenciája (www.uniprot.org)

Megfigyelték azonban, hogy azokban a szövetekben (pl.: idegszövet, vese, szív, vörösvértestek), amelyek nagymértékben ki vannak téve a cukorkárosító hatásának, expressziója fokozottabb (Collard 2003, Conner 2004).

Az FN3K deglikációban betöltött szerepét állatkísérletes modellben is igazolták. FN3K -/- egerekben az intracelluláris glikált fehérjék szintje két és félszer magasabb volt a kontroll

egerekhez képest (Veiga-da-Cunha 2006). Az FN3K-génben hat SNP-t írtak le, melyek közül három mutatott összefüggést az enzim aktivitásával (Delpierre 2006). Az irodalmi adatokat összegezve megállapítható, hogy az FN3K fontos szerepet tölt be a deglikáció folyamatában és ez által lényegesen enzim a NEG kivédésében.

2. 4. A metabolikus szindróma

2. 4. 1. A metabolikus szindróma klasszifikációja

A metabolikus szindróma korunk egyik legfontosabb egészségügyi problémáját jelenti. Ahogy a nevében is benne van, komplex tünetegyüttes jellemzi. A szindrómát alkotó komponensek körül a mai napig élénk szakmai vita zajlik, ennek köszönhetően nem áll rendelkezésünkre egy körülhatárolt definíció, több kritériumrendszer van érvényben párhuzamosan (Wittmann 2005). Különböző kritériumrendszerek azért jöttek létre, mert a szindróma patogenezisét/patomechanizmusát illetően sem alakult ki szilárd konszenzus. A betegség négy alappilléret az inzulinrezisztencia/glukóztolerancia, a centrális elhízás, a magas vérnyomás betegség és az aterogén diszlipidémia alkotja, de szerepet kap az endotél diszfunkció, a mikroalbuminuria, a hiperurikémia, a hiperfibrinogénémia, az emelkedett C-reaktív-protein szint, továbbá a plazminogén aktivátor inhibitor I szintjének növekedése is (Eckel 2005, Wittmann 2005). A glukóztolerancia jelenthet károsodott éhomi vércukorszintet, károsodott glukóztoleranciát, illetve manifeszt T2DM-et. A szindróma komponensei önmagukban külön-külön is, együttes előfordulásuk esetén pedig különösen fokozott kockázatot jelentenek a szív- és érrendszeri betegségekre.

A WHO ajánlása szerint metabolikus szindrómáról beszélünk, ha glukóztolerancia mellett az alábbiakban ismertetett tényezők közül három, vagy több van jelen: (1.) inzulinrezisztencia, (2.) 140/90 Hgmm-t elérő, vagy meghaladó vérnyomás, (3.) 1,7 mmol/l értéket meghaladó szérumtriglicerid-szint és/vagy férfiakban 0,9 mmol/l, nőkben 1,0 mmol/l érték alatt magas sűrűségű lipoprotein (HDL-koleszterin) szint, (4.) centrális (abdominális) elhízás (derék-csípő hányados férfiakban nagyobb, mint 0,9, nőkben pedig 0,85 és/vagy a testtömegindex (body mass index, BMI) nagyobb, mint 30 kg/m^2 , (5.) továbbá az albuminürítés nagyobb, mint $20 \text{ }\mu\text{g/perc}$, vagy a vizelet albumin-kreatinin hányados meghaladja a $2,5 \text{ mg/mmol}$ (nők esetén), illetve $3,5 \text{ mg/mmol}$ (férfiak esetén) értéket.

Az Amerikai Egyesült Államokban kidolgozott kritériumrendszer (National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III) szerint az alábbi tulajdonságok

közül háromnak kell jelen lennie a metabolikus szindróma diagnózisához: (1.) abdominális elhízás (derékkörfogat férfiakban nagyobb, mint 102 cm, nőkben nagyobb, mint 88 cm (2.) 1,7 mmol/l-t elérő, vagy ezt meghaladó triglicerid szint (3.) HDL-koleszterin szint férfiakban kevesebb, mint 1,04 mmol/l, nőkben pedig alacsonyabb mint 1,29 mmol/l (4.) 130/85 Hgmm-t meghaladó vérnyomás, vagy gyógyszeres antihipertenzív kezelés (5.) 6,1 mmol/l-t meghaladó éhomi vércukorszint.

A Nemzetközi Diabétesz Társaság (International Diabetes Federation, IDF) ajánlása szerint a diagnózis felállításához kötelező kritérium a centrális típusú elhízás (derékkörfogat férfiak esetében nagyobb mint 94 cm, nőknél nagyobb mint 80 cm), és emellett teljesülnie kell a következő négy kritérium közül legalább kettőnek: (1.) szérumtriglicerid-szint nagyobb mint 1,7 mmol/l, vagy a hipertrigliceridémia miatti gyógyszeres kezelés (2.) férfiak esetében a HDL-koleszterin szint alacsonyabb mint 1,03 mmol/l, nők esetében pedig alacsonyabb mint 1,29 mmol/l (3.) 130/85 Hgmm értéket elérő, vagy azt meghaladó vérnyomás, illetve hipertóniára irányuló gyógyszeres kezelés (4.) 5,6 mmol/l értéket meghaladó éhomi vércukorszint, károsodott glukóz toleranciát, vagy manifeszt T2DM.

Az International Diabetes Federation, az American Heart Association és a National Heart, Lung and Blood Institute legújabb konszenzus ajánlása szerint a korábbi IDF kritériumrendszer használható, azonban az ötdiagnosztikus kritérium közül bármely háromnak kell teljesülnie a metabolikus szindróma diagnózisához és a megnövekedett haskörfogat nem elengedhetetlen feltétel. A haskörfogat normálértéke különböző populációkra vonatkoztatva eltérő és továbbra is a szindróma kórjelzője (Alberti 2009).

2. 4. 2. A metabolikus szindróma prevalenciája, patogenezeise és komplex kezelése

A metabolikus szindróma prevalenciája magas a gazdaságilag fejlett országokban, előfordulása körülbelül 25-35 %-ra tehető. Az életkor növekedésével kialakulásának kockázata folyamatosan növekszik, azonban sajnálatos módon napjainkban már gyermekkorban is megjelenik, ami komoly terhet jelent a jövőre nézve.

A metabolikus szindróma patogenezisét tekintve multifaktoriális, kialakulásában a környezeti hatások mellett, úgymint a dohányzás, az elhízás, a fizikai aktivitás hiánya, a rossz táplálkozási szokások, a genetikai prediszpozíciónak is komoly szerepe van (Pollex 2006, Poulsen 2001, Groop 2000).

A metabolikus szindróma patogenezisét tekintve két felfogás terjedt el. Az egyik megközelítés szerint a szindróma középpontjában a hiperinzulinémia-inzulinrezisztencia áll, ebből fakad a csökkent glukózérzékenység, az obezitás, a magas vérnyomás, a diszlipidémia és a többi komponens, melyeknek közös eredője eredményeképpen alakul ki az ateroszklerózis. A másik felfogás szerint a patofiziológiai történések háttérében az endotél-diszfunkció helyezkedik el, amely maga után vonja a szindróma többi komponensének kialakulását. Tekintetbe véve, hogy a magyar populációra a metabolikus szindróma kritériumrendszerei közül bármelyik alkalmazható, könnyű kivitelezhetősége miatt mi az ATP-III rendszer módosított változatát használtuk fel munkánk során, mivel a BMI képezte az obezitás megítélésének alapját. A módosított ATP-III kritériumrendszer alkalmazása általánosan elfogadott, mind a hazai, mind a nemzetközi tudományos életben.

A metabolikus szindróma komplex rendellenesség, ezért a kezelése is komplex kell, hogy legyen, ami magában foglalja a megfelelő diétát, a megfelelő testmozgást, a magas vérnyomás, a szénhidrát anyagcsere- és zsíryanycsere eltéréseinek gyógyszeres kezelését, és nem utolsósorban a rendszeres kontrollvizsgálatokat.

2. 5. A glukokináz enzim

A glukokináz döntően a májban és a pancreas Langerhans-szigeteiben található glukózt foszforiláló enzim, amely egy úgynevezett „glukóz-szenzorként” a glukózhomeosztázist és a vércukorszint által indukált inzulin kibocsátást szabályozza (Matschinsky 1998).

A glukokináz a glikolízis folyamatának egyik fontos enzime, ezáltal jelentős szerepet játszik a szénhidrát anyagcserében. A glikolízis első lépésében a glukóz glukóz-6-foszfáttá foszforilálódik, ezt a reakciót a hexokináz és a glukokináz katalizálja. A hexokináz minden sejtben megtalálható, a glukokináz azonban csak a máj parenchymasejtjeiben, illetve a Langerhans-szigetek β -sejtjeiben termelődik. A két enzim között jelentős funkcionális különbség van: a hexokináz nem specifikus glukózra, míg a glukokináz csak glukózt foszforilál. A glukokináz viszonylag magas K_M -értéke magyarázza, hogy a vércukorkoncentráció kismértékű emelkedése fokozza a glukóznak glukóz-6-foszfáttá átalakulást, vagyis a májban a glukóz felhasználást, ezáltal csökkenti a vércukorszintet.

A glukokináz működése összefügg az ellentétes irányú reakciót katalizáló glukóz-6-foszfát működésével. Ezt az enzimet is magas K_M -érték jellemzi, így a glukóz \leftrightarrow glukóz-6-foszfát

átalakulás irányát a koncentrációviszonyok szabják meg. Öt mmol/l körüli vércukor-koncentrációnál az ellentétes folyamatok egyensúlyban vannak.

Tanulmányok bebizonyították, hogy alacsony glukóz-koncentrációk esetén a glukokináz a májsejtek sejtmagjában található. Metabolikus változások következtében (magasabb glukóz-, és fruktóz-koncentrációk) transzlokálódik a citoplazmába, a folyamatot a glukagon megfordíthatja. A fruktóz hatását markánsabbnak és gyorsabbnak vélték, mint a magas koncentrációjú glukóz hatását. Továbbá azt is kimutatták, hogy a nukleáris-citoplazmatikus transzporthoz a glukokináz-regulátor-fehérje is szükséges.

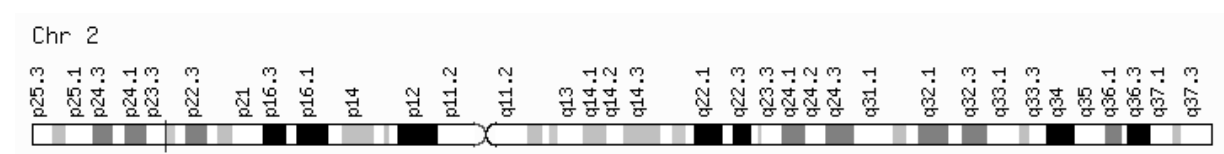
2. 6. A glukokináz-regulátor-fehérje

2. 6. 1. A glukokináz-regulátor-fehérje élettani működése

A májban és a pankreász béta-sejtjeiben kifejeződik egy, a glukokináz enzimet szabályozó fehérje (glucokinase regulatory protein, GCKR), amely vércukorszinttől függően, kompetitív módon a glukokináz enzimhez kötődve egy inaktív heterodimert képezve gátolja a glukokinázt. Fruktóz-6-foszfát jelenlétében a GCKR gátló hatása fokozódik, míg fruktóz-1-foszfát mellett csökken (Veiga-da-Cunha 1996).

2. 6. 2. Aglukokináz-regulátor-fehérje genetikai háttere

A 27 kb hosszúságú GCKRgén a 2p23 kromoszómán található és egy 19 exonból álló 68 kDa nagyságú fehérjét kódol (Warner 1995, Veiga-da-Cunha 2003). A második kromoszómán lévő lokalizációját az **5. ábra** mutatja be. A gén által kódolt fehérje aminosav-szekvenciáját a **6. ábra** demonstrálja.



5. ábra: Az GCKRgénjének a 2. kromoszómán (Chr 2) lévő lokalizációját a vonal mutatja(<http://www.genecards.org>)

2. 6. 3. A glukokináz-regulátor-fehérje, mint kandidáns diabétesz gén

Az egész genomra kiterjedő asszociációs vizsgálatok kimutatták, hogy a GCKRgén variánsai összefüggésben állnak az éhomi vércukorszinttel, az inzulinszinttel és a szérumtriglicerid-szinttel. A GCKRgénben található két SNP (rs780094 és rs1260326) csökkenti az éhomi vércukorszintet, javítja az inzulinrezisztenciát, mindemellett inverz módon növeli a szérumtriglicerid-szintet (Køster 2005, Vaxillaire 2008, Orho-Melander 2008, Sparsø 2008, Tam 2009, Saxena 2007, Willer 2008). Továbbá, számos tanulmányban vizsgálták őket, mint a T2DM-mel szemben védő és diszlipidémiára hajlamosító génvariánsokat (Sparsø 2008, Vaxillaire 2008, Qi 2009). Ismert, hogy a magas szérumtriglicerid-szint a kardiovaszkuláris megbetegedések független prediktora (Ridker 2002, Stampfer 1996, Bansal 2007), ennek megfelelően a GCKRgénvariánsok metabolikus hatásainak tanulmányozása új perspektívát nyithat a kardiovaszkuláris megbetegedések kialakulásának megértésében is.

10	20	30	40	50	60
MPGTRKRFQHV	IETPEPGKWE	LSGYEAAVPI	TEKSNPLTQD	LDKADAENIV	RLLGQCDAEI
70	80	90	100	110	120
FQEEGQALST	YQRLYSESIL	TTMVQVAGKV	QEVLKEPDGG	LVLVLSGGGTS	GRMAFLMSVS
130	140	150	160	170	180
FNQLMKGLGQ	KPLYTYLIAG	GDRSVVASRE	GTEDSALHGI	EELKKVAAGK	KRVIVIGISV
190	200	210	220	230	240
GLSAPFVAGQ	MDCCMNNTAV	FLPVLVGFNP	VSMARNDPIE	DWSSTFRQVA	ERMQKMQEKQ
250	260	270	280	290	300
KAFVLNPAIG	PEGLSGSSRM	KGGSATKILL	ETLLLLAAHKT	VDQGIAASQR	CLLEILRTFE
310	320	330	340	350	360
RAHQVTYSQS	PKIATLMKSV	STSLEKKGHV	YLVGWQTLGI	IAIMDGVECI	HTFGADFRDV
370	380	390	400	410	420
RGFLIGDHSD	MFNQKAELTN	QGPQFTFSQE	DFLTSILPSL	TEIDTVVFIF	TLDDNLTEVQ
430	440	450	460	470	480
TIVEQVKEKT	NHIQALAHST	VGQTLPIPLK	KLFPSIISIT	WPLFFFEYEG	NFIQKFQREL
490	500	510	520	530	540
STKWVLNTVS	TGAHVLLGKI	LQNHMLDLRI	SNSKLFWRAL	AMLQRFSGQS	KARCIESLLR
550	560	570	580	590	600
AIHFPQPLSD	DIRAAPISCH	VQVAHEKEQV	IPIALLSLLF	RCSITEAQAH	LAAAPSVCEA
	610		620		
	VRSALAGPGQ		KRTADPLEIL		EPDVQ

6. ábra: Az GCKRgén általkódolt fehérje aminosav-szekvenciája (www.uniprot.org)

2. 7. A nefrózis szindróma

2. 7. 1. Anefrózis szindrómáról általában

Nefrózis szindrómában a veseglomerulusok károsodása miatt 3,5 g/nap feletti proteinuria jön létre következményes hipoproteinémiával, hypoalbuminémiával, generalizált ödémával és általában diszlipidémiával. A nefrózis szindróma hátterében számos - a vesét magát, vagy a szervezet egészét érintő - kórfolyamat állhat, diabéteszes nefropátia mellett a leggyakoribb okok a primer glomerulopátiák, melyek közül a 'minimal change' glomerulonefritisz, a membranózus glomerulonefritisz, a fokális szegmentális glomerulonefritisz és a mezangiokapilláris, vagy más néven a membranoproliferatív glomerulonefritiszemelhető ki.. A sokszínű etiológiai háttér miatt a korai pontos diagnózis a terápiás lehetőségek és a progresszió szempontjából alapvető fontosságú. A proteinuria mértéke, a szérumszfehérje-szint és a szérumalbuminszint csökkenése, valamint a diszlipidémia megjelenése régóta használt paraméterek a nefrózis szindróma súlyosságának megítélésére (Quiros 2005, Togawa 2004).A nefrózis szindrómát okozó betegségekben tapasztalható klinikai kép gyakran változatos formában jelenik meg, valamint a klinikai kép hátterében is számos kórok lehetséges. A pontos diagnosztizáláshoz vesebiopszia elvégzése indokolt. Az így kapott szövettani lelet alapján nagy biztonsággal felállítható a terápiás stratégia és megítélhető a várható prognózis. Sajnos ma még nem létezik olyan klinikai „rutin” laboratóriumi vizsgálat, amely lehetővé tenné a nefrózis szindróma pontos etiológiai tisztázását és felvilágosítást adna a betegség várható lefolyásáról.

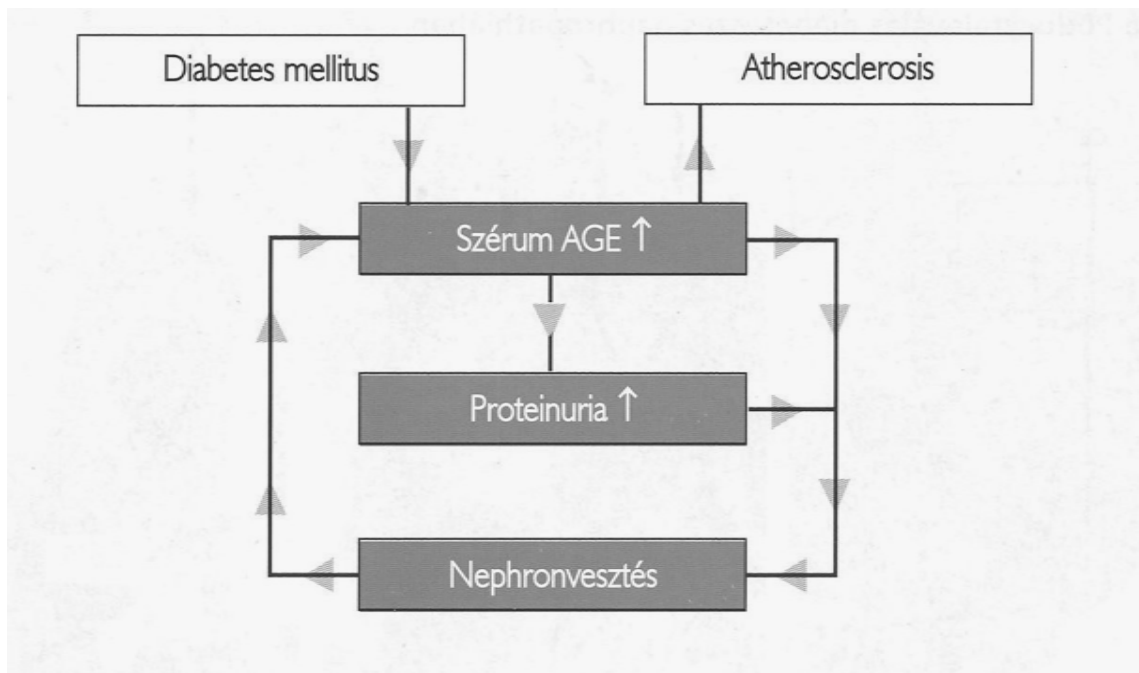
2. 7. 2. A proteinuria vesekárosító hatása

A proteinuria és a vesepusztulás, valamint a proteinuria és az ateroszklerózis között szoros kapcsolatot mutattak ki. A patogenetikai összefüggést sokféleképpen képzelik el: egyesek szerint a proteinuria, különösen T2DM-ben az endotél és a vese károsodásának markere. Mások szerint a proteinuria nem csupán marker, hanem „marker”, vagyis a nefronpusztulásban oki szerepet játszik.A proteinuria nem csak a glomerulusokat károsítja. A vizeletben megjelenő protein a proximális tubuláris sejtek által aktív módon reabszorbeálódik. Tartós és nagymértékű proteinuria esetében, hatásán felül, a tubuláris sejtek kimerülnek és károsodnak, gyulladós mediátorok szabadulnak fel és a tubulointersticiális fibrózis végeredményeként a

nefron elpusztul. Ez a folyamat tulajdonképpen megvédi a szervezetet a létfontosságú fehérjék elvesztésétől, azonban ha a vese minden egyes nefronja érintett, mint például T2DM-ben, akkor az egész veseállomány károsodik és kialakul a veseelégtelenség. Ismert tény továbbá, hogy a diabéteszben felgyorsult ütemben képződő AGE-k legfontosabb eliminációs szerve a vese. A korábban már ismertetett módon az AGE-k a glomerulusok károsításával nefronpusztuláshoz vezetnek, amely következtében proteinuria alakul ki, amely hosszútávon a vesefunkció romlásával a glikációs végtermékek szintjének további emelkedéséhez vezet. Tekintetbe véve, hogy az AGE-k aterogén hatásúak, az így kialakult „circulus vitiosus” következtében ateroszklerózis alakul ki (7. ábra).

A diabéteszes- és nem diabéteszes vesebetegségekben megjelenő proteinuriának számos rizikófaktora ismert. A magas vércukor központi szerepén túl, kockázatot jelent az AGE-k magas szérumszintje, a túlzott fehérjebevitel, a hiperurikémia, a magas vérnyomás, a bonyolult és pontosan még nem tisztázott genetikai hajlam és nem utolsósorban a metabolikus okok közül a lipidanyagcsere eltérései.

Kézenfekvő, hogy az AGE-k szérumszintjét befolyásoló, a plazmaglukózsztintet befolyásoló és a diszlipidémia kialakulásában szerepet vállaló génpolimorfizmusok asszociációs vizsgálata a diabéteszes- (diabéteszes nefropátia) és nem diabéteszes vesebetegségek kockázatának megítélésében kiemelkedő szerepet tölthet.



7. ábra: A proteinuria nefronpusztuláshoz és ezáltal ateroszklerózishoz vezet. (Wittmann I 2005)

2. 7. 3. A laktát dehidrogenáz enzim

A laktát dehidrogenáz (LDH) enzim különböző mennyiségben szervezetünk minden sejtjében megtalálható, feladata a piruvát laktáttá alakítása. Szerkezetileg négy polipeptid láncból épül fel, a láncok H (heart) és M (muscle) típusúak lehetnek. Az alegységek kombinációjából öt izoenzim jöhet létre: LDH-1 (H₄), LDH-2 (H₃M), LDH-3 (H₂M₂), LDH-4 (H₁M₃), LDH-5 (M₄), melyek elektroforetikus úton elválaszthatók. A szívizomban, a vörösvértestekben és a vesében az LDH-1 és az LDH-2 izoenzim dominál. A lépben, a tüdőben, a nyirokcsomókban és a trombocitákban az LDH-3 izoenzim található meg a legnagyobb arányban. A máj és a vázizomzat sejtjeire pedig az LDH-4 és az LDH-5 előfordulása jellemző. A vesében előforduló LDH-1 és LDH-2 közül az LDH-2 a domináns izoforma (Javed 1999, Johnston 1983, Kang 1991).

Az LDH közismert, a napi rutin laboratóriumi diagnosztikában alkalmazott paraméter. Aktivitásának mérése jól használható számos sejtsejtéssel járó kórképben, mint például különböző hepatológiai, hematológiai, kardiológiai és tumoros megbetegedésben (Huijgen 1997). Nefrózis szindrómában a jelentős proteinuria miatt károsodnak a tubuláris sejtek (Burton 2001, Scherberich 1989). Hipotézisünk szerint, nefrózis szindrómában az LDH szérumszintje megemelkedik, aminek oka a vese károsodása.

3. CÉLKITŰZÉSEK

Három célt tűztünk ki magunk elé:

1. Megvizsgáltuk, hogy az FN3K enzim gén G900C polimorfizmus (rs1056534) összefüggését a T2DM-mel, az allélfrekvenciák eloszlását T2DM-ben szenvedő betegekben és egészséges kontrollokban. Tanulmányoztuk továbbá a diabéteszes mikrovaszkuláris szövődményekre, különös tekintettel a diabéteszes nefropátiára való esetleges hajlamosító/védő hatását.
2. Megvizsgáltuk a GCKRgén rs 780094 és rs 1260326 funkcionális variánsok és a szénhidrát- és lipid-metabolizmus közötti összefüggést, az allélfrekvenciák megoszlását, továbbá az artéria karotisz intima-média vastagsággal (CIMT) és a diabéteszes nefropátiával való összefüggést T2DM-ben, metabolikus szindrómában szenvedő betegekben és egészséges kontroll személyekben.
3. Célul tűztük ki az LDH és izoenzimeinek vizsgálatát nefrózis szindrómás, nem-nefrózis szindrómás vesebetegekben és kontroll populációban. Tanulmányoztuk az LDH nefrózis szindrómában betöltött prognosztikai szerepét.

4. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

4. 1. Afruktózamin-3-kináz enzim G900C génpolimorfizmusának vizsgálata

4. 1. 1. Betegek és kontroll személyek

A tanulmányunkba 859 T2DM-ben szenvedő beteget és 265 egészséges kontroll személyt vontunk be. A betegek a Pécsi Tudományegyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika és Nephrologia Centrum gondozásában állnak. A kontroll csoportot traumatológiai osztályok betegei, véréadó donorok és egyetemi dolgozók szolgáltatták, esetükben klinikai anamnézisük, fizikális vizsgálatuk, illetve labor paramétereik alapján cukorbetegség, illetve egyéb krónikus belgyógyászati betegség nem igazolódott. A T2DM-et a WHO kritériumai alapján diagnosztizáltuk (Puavilai 1999). A klinikai paramétereket rutin laboratóriumi módszerekkel határoztuk meg. A betegektől nyert DNS-mintákat és a klinikai adatokat a Pécsi Tudományegyetem Orvosi Genetika Intézet biobankjában tároljuk. A kutatásban résztvevő egyének írásos beleegyező nyilatkozatot tettek, és munkánkat a Pécsi Tudományegyetem Regionális Kutatásetikai Bizottsága jóváhagyta.

4. 1. 2. Genotipizálás

A genetikai vizsgálatokat a Pécsi Tudományegyetem Orvosi Genetika Intézetében végeztük. A vizsgálandó DNS-mintákat rutin kisózásos módszerrel (pontos metodika mellékletben csatolva) perifériás vér leukocitáiból nyertük. A genotipizálást polimeráz láncreakció/restríktós fragmentumhossz polimorfizmus (PCR/RFLP) módszer segítségével végeztük.

A DNS-minták G900C SNP analízise során a vizsgálandó szakaszt PCR-rel történő felsokszorozásához a következő specifikus oligonukleotid primerpárokat alkalmaztuk: forward 5'- GGT TTC CCC AGA TCC TTC TTC; reverse 5'- GAC AGG GGG ATT GGT ATG TG. A keletkezett 400 bázispár (bp) hosszúságú PCR terméket agaróz gélelektroforézissel 1,5 %-os gélben vizsgáltuk. A PCR termékből 15 µl-t 1U Eco130I (StyI) restríktós endonukleázzal (Fermentas, Glen Burnie, MD, USA) hasítottuk, és a keletkezett fragmentumokat 3 %-os etídium-bromidos (Fluka Chemie GmbH, Buchs, Svájc) agaróz

gélben analizáltuk. A módszer egy obligát Eco130I enzimhasítási helyet tartalmaz, mely a PCR terméket 139 és 261 bázispár hosszúságú fragmentumokra hasítja GG genotípusú minta esetében. CC genotípus esetén 43 bp, 96 bp és 261 bp hosszúságú szakaszok detektálhatók. Az amplifikációt MJ Research PTC 200 típusú PCR készülék (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) segítségével végeztük a következő hőprogramot alkalmazva: 1. lépés 96°C 2 perc; 2. lépés 96°C 0,5 perc; 3. lépés 60°C 0,5 perc, 4. lépés 72°C 0,5 perc 30 ciklusban ismételve, majd ezt követően 72 °C 5 perc végső extenzió.

Az amplifikáció 50 µl végtérfogatban zajlott, mely 30µl vizet, 10 µl Betaine-t, 5 µl reakciópuffert (500 mM KCl, 14 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl, pH 9,0), 1 – 1 µl specifikus primer párt, 1µl dNTP-t, illetve 1µl Taq polimerázt tartalmazott. A mixbe 1µg DNS-t tettünk.

4. 1. 3. Statisztikai elemzés

Statisztikai elemzéshez az SPSS program 15.0-ás verzióját használtuk (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). A szignifikancia szintet $p < 0,05$ -ben határoztuk meg. A folytonos adatok összehasonlításához az ANOVA-t, illetve a Kruskal-Wallis tesztet követő Mann-Whitney U-próbát használtuk. A potenciális zavaró faktorokra korrigáltan kovariencia-analízist (ANCOVA) végeztünk. A kvalitatív adatok esetében a chi-négyzet próbát, a késői diabéteszes komplikációk kialakulásának rizikó becsléséhez logisztikus regressziós analízist alkalmaztunk.

4. 2. Aglukokináz-regulátor-fehérjefunkcionális variánsainak vizsgálata

4. 2. 1. A vizsgálatban szereplő betegek

Tanulmányunkba 321 T2DM-ben szenvedő beteget (162 férfi, 139 nő, kor: $61,3 \pm 12,2$ év), 455 metabolikus szindrómában szenvedő beteget (200 férfi, 254 nő, kor: $61,7 \pm 10,7$) és 172 egészséges kontroll személyt (49 férfi, 123 nő, kor: $56,5 \pm 15,2$)vontunk be. Az összes résztvevő a kaukázusi magyar populációból került ki.

A betegek a Pécsi Tudományegyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika és Nephrologiai Centrum gondozásában állnak. A T2DM-eta WHO kritériumai alapján definiáltuk. A haskőrfogatra vonatkozó adatok nem álltak rendelkezésünkre, így a metabolikus szindróma

diagnózisának felállításához a National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III módosított kritériumrendszerét alkalmaztuk. A kritériumrendszer alapján a következő feltételek közül három, vagy több faktor fennállása esetén beszélhetünk metabolikus szindrómáról: a BMI több, mint 30 kg/m^2 ; a HDL-koleszterin-szint kevesebb, mint $0,9 \text{ mmol/l}$ (férfiaknál), illetve $1,1 \text{ mmol/l}$ (nőknél); a vérnyomás eléri, vagy meghaladja a $130/85 \text{ Hgmm}$ értéket, vagy vérnyomáscsökkentő szedése; az éhomi vércukorszint eléri, vagy magasabb, mint $5,6 \text{ mmol/l}$, vagy antiglikémiás kezelés; illetve az éhomi trigliceridszint eléri, vagy meghaladja a $1,7 \text{ mmol/l}$ -es értéket, vagy lipidcsökkentő kezelés fennállása (Grundy 2002). A kontroll csoportot traumatológiai osztályok betegei, véradó donorok és egyetemi dolgozók szolgáltatták, esetükben klinikai anamnéziséjük, fizikális vizsgálatuk, illetve labor paramétereik alapján cukorbetegség, metabolikus szindróma, illetve egyéb krónikus belgyógyászati betegség nem igazolódott.

A DNS-mintákat és a klinikai adatokat a Pécsi Tudományegyetem által működtetett, nemzetközileg koordinált (pan-European Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure, <http://bbmri.eu/bbmri/>), az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága (ETT-TUKEB) által jóváhagyott Központi Biobankban helyeztük el (www.biobank.hu). A kutatásban résztvevők írásos beleegyező nyilatkozatot tettek és munkánkat a Pécsi Tudományegyetem Regionális Kutatásetikai Bizottsága jóváhagyta.

4. 2. 2. Klinikai adatok

A tanulmányban résztvevők részletes orvosi kivizsgáláson estek át. Klinikai paramétereiket rutin laboratóriumi módszerek segítségével 12 órás éhezést követően nyert vérmintákból végeztük. A BMI-t a testsúly (kg) osztva a testmagasság négyzetével (m^2) képlet használatával számoltuk. A GFR-t az MDRD képlet segítségével becsültük. ACIMT-et B-módú ultrahang készülékkel, nagyfelbontású 10 MHz lineáris transzdúcer felhasználásával mértük (ALOKA 4000, Tokyo, Japan). A vizsgálatokat az artéria carotis interna kezdeti szakaszán végeztük, proximálisan 2 cm távolságra a bulbustól, egy teljesen plakkmentes területen. CIMT értékeket mintkét oldalon elvégzett mérésekből adódó legmagasabb eredmény átlagával jellemeztük.

4. 2. 3. Genotipizálás

A DNS-mintákat rutin kisózásos módszerrel (pontos metodika mellékletben csatolva) perifériás vér leukocitáiból nyertük. A PCR-al történő felsokszorozáshoz a következő specifikus oligonukleotid primerpárokat alkalmaztuk; GCKR rs1260326: forward 5'-TGC AGA CTA TAG TGG AGC CG-3' and reverse 5'-CAT CAC ATG GCC ACT GCT TT-3'; GCKR rs780094: forward 5'-GAT TGT CTC AGG CAA ACC TGG TAG-3' and reverse 5'-CTA GGA GTG GTG GCA TAC ACC TG-3' (MWG-Biotech AG, Ebersberg, Germany). Az amplifikációt MJ Research PTC 200 típusú PCR készülék (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) segítségével végeztük a következő hőprogramot alkalmazva: predenaturáció 96°C, 2 perc; 35 ciklusban denaturáció 96°C, 20 perc (rs1260326 esetében), 30 ciklusban 96°C, 20 perc (rs780094 esetében); primer hibridizáció 60°C 20 perc (rs1260326 esetében) és 62°C 30 perc (rs780094 esetében); primer extenzió 30 perc 72°C; végső extenzió 72°C 5 perc. Az amplikonok emésztését az rs1260326 SNP esetében a HpaII, az rs780094 SNP esetében pedig a PscI restrikciós endonukleázzal végeztük (Fermentas, Burlington, ON, Canada). A folyamat az rs1260326-nél a 231 bp nagyságú amplikonemésztése CC genotípus esetében 18, 63, 150 bp hosszúságú fragmentumokat, a TT genotípus esetében 18 és 213 bp hosszúságú fragmentumokat, míg a heterozigótáknál 18, 63, 150, 213 bp hosszúságú fragmentumokat eredményezett. Az rs780094 SNP 427 bp hosszúságú amplikon emésztése során a következő fragmentumokat detektáltuk, GG: 62, 177, 188 bp; AA: 62, 365 bp; GA: 62, 177, 188, 365 bp. A módszer egy obligát hasítási helyet tartalmaz, amely lehetővé teszi az emésztés hatékonyságának ellenőrzését.

4. 2. 4. Statisztikai analízis

A BMI-t, az éhomi plazmaglukóz-koncentrációt, a szérumtriglicerid-szintet és a HDL-koleszterin-szintet logtranszformáltuk, mivel nem voltak normál eloszlásúak. Az eredményeket átlagokban (\pm szórás) és mediánokban (minimum-maximum) adtuk meg eloszlásuknak megfelelően. A minták eloszlásának meghatározásához a Kolmogorov-Smirnov-tesztet alkalmaztuk. A chi-négyzet próba segítségével határoztuk meg, hogy melyik genotípus eloszlás követi a Hardy-Weinberg-egyensúlyt és segítségével hasonlítottuk össze a kvalitatív adatokat. A betegek klinikai jellemzőit és laborparamétereit ANOVA-val hasonlítottuk össze. Az egyes GCKR SNP-k esetében a nemre, az életkorra és a BMI-re

korrigált statisztikai különbségeket kovariancia-elemzéssel (ANCOVA) állapítottuk meg. A Jonckheere-Terpstra-teszttel adtuk meg az éhomi vércukorszint esetében tapasztalt statisztikai különbséget. A genotípusok rizikóbecsléséhez többváltozós logisztikus regressziót alkalmaztunk, melyet az életkorra, a nemre, a szérumösszcholeszterin-szintre, a koszorúsér-betegségekre és a statin terápiára korrigáltunk. Valamennyi statisztikai elemzéshez az SPSS program 15.0 verzióját használtuk (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). A szignifikancia szintet $p < 0,05$ -tel jellemeztük.

4. 3. Alaktát dehidrogenázenzim és izoenzimeinek vizsgálata

4. 3. 1. Betegcsoportok

A retrospektív keresztmetszeti vizsgálatban a PTE ÁOK II. sz. Belgyógyászati Klinika és Nephrologiai Centrum Nephrologiai Osztályán 1993 és 2003 között gondozott nefrózis szindrómás, nem-nefrózis szindrómás vesebetegek és hipoalbuminémiás kontroll személyek adatait dolgoztuk fel. Tanulmányunkba összesen 118 beteget vontunk be, akiket három csoportra osztottunk: a NEPHR csoportba a nefrózis szindrómás betegek kerültek ($n=62$), a NON-NEPHR csoportba nem-nefrózis szindrómás, különböző eredetű proteinuriás betegeket válogattunk be ($n=30$). Kontroll csoportként (KONTR, $n=26$) nem vesebeteg, hanem különböző gasztrointesztinális megbetegedésben szenvedő hipoalbuminémiás pozitív kontroll személyek szerepeltek. A nefrózis szindróma hátterében a következő kórképek fordultak elő: membranózus glomerulonefritisz ($n=26$), diabéteszes nefropátia ($n=10$), fokális szegmentális glomeruloszklerózis ($n=7$), szisztémás lupusz eritematózus nefropátia ($n=5$), 'minimal change' glomerulonefritisz ($n=6$), membranoproliferatív glomerulonefritisz ($n=2$), és kisebb arányban egyéb kórképek, mint az IgA nefropátia, Henoch-Schönlein nefropátia és terhességi nefropátia ($n=6$). A NON-NEPHR csoport betegeinél a leggyakoribb kórkép az IgA nefropátia volt ($n=17$), ezt követte a membranoproliferatív glomerulonefritisz ($n=2$), membranózus glomerulonefritisz ($n=2$) és olyan egyéb kórképek, mint az IgM nefropátia, a 'minimal change' glomerulonefritisz és a fokális szegmentális glomeruloszklerózis ($n=3$). A KONTR csoportba a következő hipoalbuminémiával járó gasztrointesztinális betegségben szenvedő személyeket válogattuk be: Crohn-betegség ($n = 7$), malabszorpció ($n = 9$), gyomor rák ($n = 4$), kolitisz ulceróza ($n = 4$). A betegek közül kizárásra kerültek azok, akik a vesebetegségük mellett olyan kórfolyamatban szenvedtek, amelyek a szérum-LDH-aktivitás emelkedésével járhatnak, úgymint tumorok, trombózis, embólia, hemolízis, hepatitisz,

pankreatitisz és súlyos iszkémiás szívbetegség (New York Heart Association II klasszifikáció felett). A KONTR csoportból nem kerültek kizárásra a rosszindulatú daganatos megbetegedések. A két csoportban a vesebiopszia napján a biopszia előtt vett vérmintákban megvizsgáltuk a szérumszintű LDH-aktivitást és egyéb klinikai paramétereket.

4. 3. 2. Klinikai adatok és a laktát dehidrogenáz izoenzimek meghatározása

Az LDH-izoenzimek meghatározását (mintázatát) a betegek diagnosztikus vesebiopsziáját megelőzően vett, majd lefagyasztott szérummintákból random módon válogatva, összesen 46 betegben végeztük el. Az LDH izoenzimeket agaróz gélben elektroforézissel választottuk el és aktivitásuk alapján denzitometriásan határoztuk meg arányaikat. Az eljáráshoz SEBIA HYDRASYS rendszert (SEBIA, Cedex, Franciaország) és Hydragel ISO LDH tesztet (No:4136) használtunk.

Az így kiválasztott betegek klinikai paraméterei szignifikánsan nem különböztek a teljes csoporttól. Továbbá megvizsgáltuk 60, a beválasztási kritériumoknak megfelelő hemodializált, urémiás beteg szérumszintű LDH-aktivitását. A NEPHR betegcsoport csak a nefrózis szindrómát jellemző paraméterekben különbözött a NON-NEPHR csoporttól, a KONTR csoport a vesebetegekre jellemző paraméterekben, továbbá a szérumszintű triglicerid-szintben, a szérumszintű koleszterin-szintben, a szérumszintű bilirubin-szintben, a glutarát-oxálacetát transzamináz (GOT) szintjében, nemben és korban különböztek a betegcsoportokhoz képest.

Nefrózis szindrómás betegeink esetében a vesefunkcióra jellemző paramétereket átlagosan 300 hétig követtük, vese-túlélésüket a medián alatti és feletti LDH-szint szerint hasonlítottuk össze. Primer végpontok a következők voltak: a kiindulási szérumszintű kreatinin-szint megduplázódása, a kiindulási GFR megfelelővé válása, a szérumszintű kreatinin „point of no return” szintjének (265 $\mu\text{mol/l}$) elérése és a vesepótló dialízis kezelés megkezdése.

4. 3. 3. Statisztikai analízis

A csoportok közötti statisztikai különbségeket normál eloszlású változók esetében ANOVA segítségével, míg nem-normál eloszlású változók esetében a Kruskal-Wallis tesztet követő Mann-Whitney teszt segítségével végeztük. Az eloszlások vizsgálatára a Kolmogorov-Smirnov-teszt szolgált. A kategórikus változókat a chi-négyzet teszttel hasonlítottuk össze. A csoportok közötti, nemre, korra, szérumszintű albuminszintre és szérumszintű összfehérje-szintre korrigált

statisztikai különbségek kimutatására a kovariencia (ANCOVA) tesztet használtuk. Korrelációs vizsgálataink során a Pearson és Spearman's rho korrelációs teszteket alkalmaztuk, a változók eloszlásától függően. A szérum-LDH és az izoenzimek szintjének független prediktorait lineáris regressziós vizsgálatok segítségével határoztuk meg. A túlélési vizsgálatokat a Kaplan-Meier módszerrel számoltuk, a görbéket a log-rank teszttel hasonlítottuk össze. Statisztikailag szignifikánsnak a $p \leq 0,05$ értékeket vettük. A statisztikai analízist az SPSS 13.0 (SPSS Inc., IL, USA) szoftverrel végeztük.

5. EREDMÉNYEK

5. 1. A fruktózamin-3-kináz enzim G900C génpolimorfizmusának vizsgálata

Tanulmányunkban az FN3K enzim G900C polimorfizmusának T2DM-re gyakorolt hatását, továbbá a diabéteszesmikrovaszkuláris szövődeményekkel való kapcsolatát kutattuk. A kapott genotípus eloszlást a **2. táblázat** foglalja össze. A betegcsoportok között az egyes genotípusokban nem volt szignifikáns különbség, továbbá a genotípus eloszlás követte a Hardy-Weinberg egyensúlyt. A betegek klinikai jellemzőit, laborparamétereit a **3. táblázat** foglalja össze genotípusok szerinti csoportosításban.

2. táblázat: A fruktózamin-3-kináz G900C polimorfizmusának genotípus szerinti eloszlása T2DM-ben és egészséges kontroll személyekben

	FN3K G900C		
	GG (%)	GC (%)	CC (%)
T2DM	41	54	5
egészséges kontroll személyek	43	51	6

FN3K: fruktózamin-3-kináz; T2DM: 2-es típusú diabétesz mellitus

3. táblázat: A 2-es típusú cukorbetegség és az egészséges kontroll személyek fő klinikai jellemzői és laborparamétereit a fruktózamin-3-kináz gén G900C polimorfizmusának genotípusai szerint

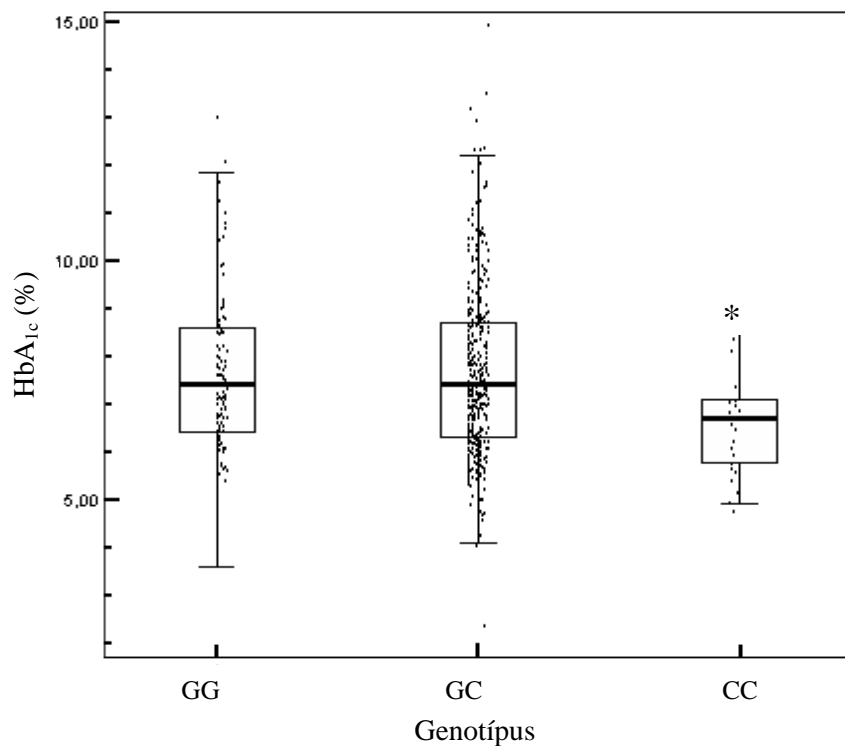
	Kontroll személyek			T2DM		
	GG n=116	GC n=135	CC n=14	GG n=349	GC n=467	CC n=43
Nem (fő/nő)	57/59	55/80	5/9	162/187	224/243	17/26
Kor (év)	52,4±1,13	54,4±1,10	51,7±1,41	62,5±0,71	64,4±0,62	65,0±1,90

	Kontroll személyek			T2DM		
	GG	GC	CC	GG	GC	CC
	n=116	n=135	n=14	n=349	n=467	n=43
Testtömeg index (kg/m ²)	26,0±0,35	25,6±0,34	27,8±0,65	31,5±0,33	31,6±0,28	33,0±0,92
Fruktózamin (μmol/l)	N/A	N/A	N/A	342±5,66	344±4,85	350±14,2
Éhomi vércukor (mmol/l)	N/A	N/A	N/A	8,78±0,20	8,93±0,17	8,85±0,52
Szérum kreatinin (μmol/l)	N/A	N/A	N/A	119,1±9,94	122,7±8,44	127,4±18,0
eGFR, MDRD (ml/min)	N/A	N/A	N/A	59,5±1,91	59,3±1,67	59,0±5,09
Szérum összkoleszterin (mmol/l)	5,30±0,09	5,41±0,07	5,28±0,30	4,73±0,06	4,81±0,06	4,70±0,19
Szérum LDL-koleszterin (mmol/l)	N/A	N/A	N/A	2,67±0,05	2,73±0,04	2,72±0,15
Szérum HDL-koleszterin (mmol/l)	N/A	N/A	N/A	1,28±0,02	1,31±0,02	1,24±0,05
Szérum triglicerid (mmol/l)	1,56±0,04	1,51±0,05	1,47±0,08	2,04±0,09	2,29±0,09	2,28±0,21
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	139±1,70	135±1,40	133±4,92	135±0,98	134±0,88	137±2,28
Diasztolés vérnyomás (Hgmm)	85±0,84	85±1,25	83±1,99	80±0,54	81±0,52	81±1,44
Diabéteszes nefropátia (%)	0,0	0,0	0,0	30,5	33,1	27,3
Mikroalbuminuria (%)	N/A	N/A	N/A	25,6	25,8	38,5
Dialízis (%)	0,0	0,0	0,0	9,5	10,0	7,1
Diabéteszes neuropátia (%)	0,0	0,0	0,0	31,3	32,5	43,7
Diabéteszes retinopátia (%)	0,0	0,0	0,0	19,9	22,8	25,0
Magas vérnyomás (%)	31,1	25,2	21,4	90,8	88,6	93,7
Metabolikus szindróma (%)	0,0	0,0	0,0	48,9	51,2	48,8
Iszkémiás szívbetegség (%)	0,0	0,0	0,0	32,5	33,3	48,8
Akut miokardiális infarktus (%)	0,0	0,0	0,0	8,1	8,8	6,3

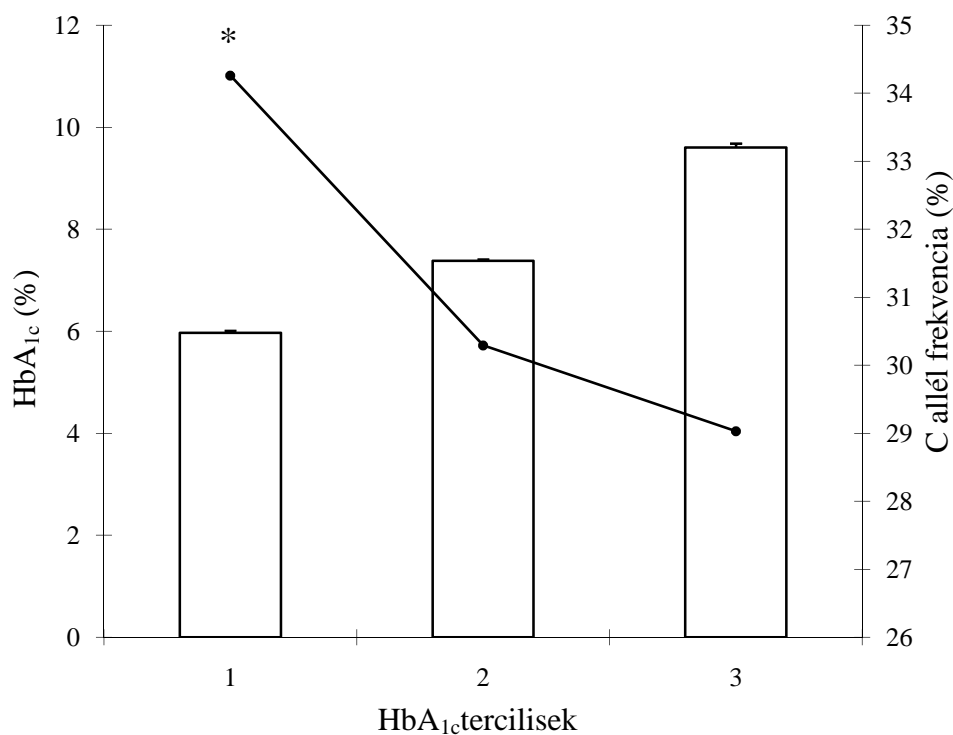
	Kontroll személyek			T2DM		
	GG	GC	CC	GG	GC	CC
	n=116	n=135	n=14	n=349	n=467	n=43
Agyi infarktus (%)	0,0	0,0	0,0	4,4	7,3	12,3
Artéria karotiszszűkület (%)	0,0	0,0	0,0	9,8	10,5	12,9
Perifériás érbetegség (%)	0,0	0,0	0,0	12,1	12,0	18,7
Diéta (%)	-	-	-	5,1	5,4	5,6
Orális antidiabetikum (%)	-	-	-	33,8	31,9	30,6
Inzulinkezelés (%)	-	-	-	61,1	62,7	63,9
Statinkezelés (%)	N/A	N/A	N/A	55,1	52,2	51,4
RAAS-gátlás (%)	N/A	N/A	N/A	77,9	75,9	73,7

eGFR: becsült glomerulus filtrációs ráta; MDRD: Modification of Diet in Renal Disease; N/A adat nem áll rendelkezésre; RAAS: Renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer; T2DM: 2-es típusú diabétesz mellitusz. Az adatok átlag±SEM-ben vannak feltüntetve.

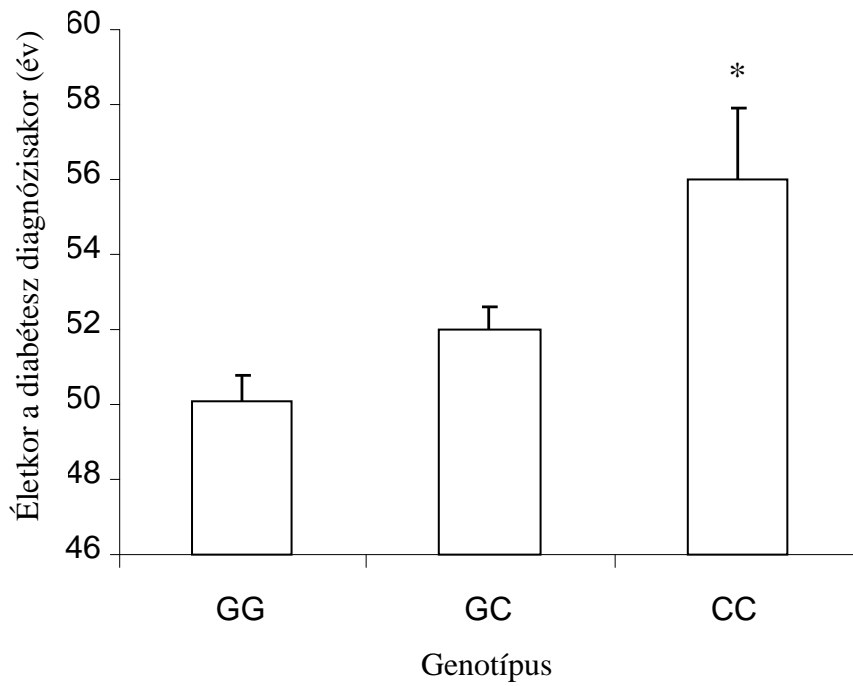
A CC genotípusú egyéneknél a HbA_{1c} értéke szignifikánsan alacsonyabbnak mutatkozott a többi genotípushoz képest ($p < 0,001$, **8. ábra**). A **9. ábra** a HbA_{1c}-tercilisek alapján létrehozott csoportokban mutatja be a C allél frekvenciáját. Látható, hogy a rosszabb glikémás kontroll esetén a C allél gyakorisága szignifikánsan alacsonyabb, vagyis a vizsgált polimorfizmus esetén a CC genotípus pozitív módon függ össze a szénhidrát-anyagcsere háztartással ($p < 0,05$). A **10. ábrán** látható oszlopdiaagram a diabétesz diagnózisakor megállapított életkort mutatja az egyes genotípusokban. Homozigóta C egyéneknél a diabétesz szignifikánsan idősebb életkorban került diagnózisra és így diabétesz időtartamuk is rövidebb ($p < 0,05$). A **11. ábrán** látható Box-and-whiskers diagrammon a diabétesz fennállásának időtartama látható a genotípusok szerint ($p < 0,05$). A G900C polimorfizmus és a késői diabéteszes szövődmények megjelenése között logisztikus regresszióval szignifikáns összefüggést nem tudunk kimutatni (**4. táblázat**).



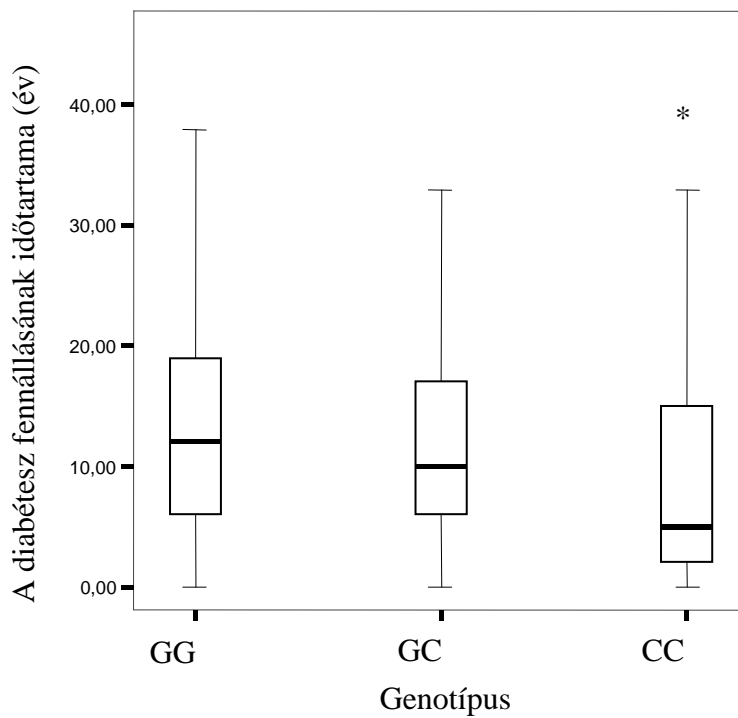
8. ábra: A Box-and-whiskers diagram a HbA_{1c}-szinteket mutatja be genotípusok szerint. * $p < 0,001$ vs. GC és GG



9. ábra: A C allél frekvenciája a HbA_{1c}-tercilisek szerint. A bal oldali tengely az oszlopdiagramon feltüntetett tercilisek HbA_{1c} átlagát, a jobb oldali tengely a vonal diagrammon bemutatott, a tercilisekhez tartozó C allél frekvenciáját mutatja. A hibasávok az átlag standard hibáját (SEM) jelzik. * $p < 0,05$ vs. 3. tercilis



10. ábra: A T2DM diagnózisakor megállapított életkor a genotípusok szerint. * $p < 0,05$ vs. GG



11. ábra: A T2DM fennállásának időtartama a genotípusok szerint. * $p < 0,05$ vs. GG

4. táblázat: Diabéteszes mikrovaszkuláris szövődmények előfordulása a fruktózamin-3-kináz enzim G900C polimorfizmusának genotípusai szerint és az esély hányadosok a szövődmények kialakulása tekintetében

Mikrovaszkuláris szövődmények előfordulása (%)	Genotípusok			Esély hányados (95 % CI)	p-érték
	CC	GC	GG		
Diabéteszes nefropátia	27,3	33,1	30,5	0,796 (0,364-1,744)	0,569
Diabéteszes neuropátia	43,7	32,5	31,3	1,754 (0,806-3,393)	0,170
Diabéteszes retinopátia	25,0	22,8	19,9	1,213 (0,470-3,132)	0,690

CI, konfidencia intervallum

5. 2. Aglukokináz-regulátor-fehérje génvariánsainak vizsgálata

A betegek és a kontroll csoport klinikai jellemzőit és laborparamétereit az **5. táblázatban** tüntettük fel. Az egyes csoportok nemből és BMI-ben szignifikánsan különböztek, illetve a kontroll személyek szignifikánsan fiatalabbak voltak, mint a diabéteszes és metabolikus szindrómás betegek, ezeknek megfelelően a statisztikai tesztek nemre, életkorra és BMI-re korrigáltak. A HbA_{1c}-szint, a fruktózamin-szint, az éhomi plazma glukóz-koncentráció, a szérumkreatinin-szint, a GFR, az low density lipoprotein (alacsony sűrűségű lipoprotein, LDL) és HDL-koleszterin-szint, a vérnyomás és a CIMT a kontroll egyéneknél nem állt rendelkezésre. A szérumtriglicerid-szint a kontroll csoportban a többi csoporthoz képest szignifikánsan alacsonyabbnak mutatkozott. A genotípuseloszlás, illetve a minor allél gyakoriság a **6. táblázatban** látható, amely minden csoportban követte a Hardy-Weinberg-egyensúlyt. Az allél-gyakoriság esetében nem találtunk különbséget a csoportok között.

5. táblázat: A betegek és a kontroll csoport klinikai jellemzői

	Kontroll n=172	T2DM n=321	MS n=455	p-érték
Nem (férfi/nő)	49/123	162/139	200/254	<0,001
Kor (év)	56,5±15,2	61,3±12,2	61,7±10,7	<0,001*
Testtömeg index (kg/m ²)	23,9±2,15	29,5±5,87	33,3±5,48	<0,001 ^{*#}
Éhomi vércukor (mmol/l)	N/A	8,70 (2,30-22,8)	9,00 (3,00-30,8)	0,249
Szérum összkoleszterin (mmol/l)	4,78±1,10	5,16±1,25	5,37±0,94	<0,001 [†]
Szérum LDL-koleszterin (mmol/l)	N/A	2,74±0,86	2,83±0,84	0,256
Szérum HDL-koleszterin (mmol/l)	N/A	1,19 (0,55-2,12)	1,23 (0,55-2,49)	<0,001
Szérum triglicerid szint (mmol/l)	1,50 (0,50-3,60)	1,62 (0,35-14,8)	1,98 (0,35-14,5)	<0,001 ^{#†}
CIMT (mm)	N/A	0,88±0,44	1,22±0,74	0,265
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	N/A	130 (87,0-210)	140 (70,0-200)	<0,001 [#]
Diasztolés vérnyomás (Hgmm)	N/A	80,0 (50,0-130)	80,0 (60,0-137)	<0,001 [#]
Hipertónia (%)	22,7	77,5	90,4	<0,001
Iszkémiás szívbetegeesség (%)	4,1	25,3	25,4	<0,001

*CIMT: artéria karotisz intima-média vastagság; HDL: magas sűrűségű lipoprotein; LDL: alacsony sűrűségű lipoprotein; N/A: nincs adat; MS: metabolikus szindróma, T2DM: 2-es típusú diabétesz mellitusz; * Kontroll vs. T2DM és MS; # T2DM vs. MS; † Kontroll vs. MS; Az adatokat eloszlásuknak megfelelően átlag±SD, illetve medián (minimum-maximum) formában adtuk meg.*

6. táblázat. Genotípus eloszlás (esetszámokkal) és az allél frekvenciák (%) a különböző csoportokban.

		Kontroll	T2DM	MS
GCKR (rs780094)	GG	44	77	121
	GA	93	151	217
	AA	35	78	100
	A allél (%)	47,4	46,9	47,6
GCKR (rs1260326)	CC	48	80	118
	CT	80	155	219
	TT	44	63	91
	T allél (%)	48,8	47,1	46,8

GRKR:glukokináz-regulátor-fehérje; MS: metabolikus szindróma;T2DM: 2-es típusú diabétesz mellitusz

A **7/A** és **7/B. táblázatban** a GCKRgén két funkcionális polimorfizmusában genotípusok szerint mutatja be a lipid-értékeket, a plazmaglukóz-koncentrációt, a BMI-t és a CIMT-et. A BMI esetében nem találtunk összefüggést sem az rs780094 polimorfizmussal, sem az rs1260326 polimorfizmussal. Mindkét variáns összefüggést mutatott az éhomi glukózszinttel ($p < 0,05$). Összefüggést találtunk az rs780094 és az rs1260326 minor allél és az emelkedett szérumtriglicerid-szint között valamennyi csoportban. A GCKRgénvariánsai és a szérumösszkoleszterin-szint között nem igazolódott összefüggés. A HDL-koleszterinszint szignifikánsan alacsonyabb volt T2DM-ben, az LDL-koleszterinszint viszont szignifikánsan magasabb volt metabolikus szindrómában mindkét variáns esetében, a minor allélre homozigóta egyénekben. T2DM-ben és metabolikus szindrómában mindkét vizsgált génpolimorfizmus (rs780094, rs1260326) összefüggést mutatott az ateroszklerózis és a kardiovaszkuláris megbetegedés szubklinikus markerével, a CIMT-tel.

7/A. táblázat: A GCKR rs780094 génvariáns esetében kapott BMI, éhomi plazmaglükóz, lipid-profil és CIMT metabolikus szindrómás egyéneknél, T2DM-ben és a kontrollokban.

	Kontroll			T2DM			MS		
	GG	GA	AA	GG	GA	AA	GG	GA	AA
	n=44	n=93	n=35	n=77	n=151	N=78	n=121	n=217	n=100
BMI (kg/m ²)	23,6 (21,2-28,6)	23,9 (15,8-32,8)	23,8 (13,7-26,8)	29,2 (17,0-48,6)	29,0 (18,3-45,9)	27,3 (18,3-43,4)	32,5 (22,5-52,5)	32,7 (20,4-48,1)	32,9 (19,4-60,5)
Éhomi plazma glükóz (mmol/l)	N/A	N/A	N/A	9,50 (3,00-17,0)	9,20 (3,80-22,8)	8,90 (2,30-17,1)*	9,60 (3,80-19,1)	8,80 (3,00-30,8)	8,50 (4,51-16,6)*
Szérum triglicerid (mmol/l)	1,35 (0,50-2,90)	1,50 (0,80-3,60)	1,70 (0,70-3,20)*	1,77 (0,38-8,23)	1,81 (0,35-6,22)	2,24 (0,66-14,8)*	2,07 (0,49-7,76)	2,68 (0,35-14,2)*	3,07 (0,78-12,3)#
Összkoleszterin (mmol/l)	5,48±0,80	5,44±0,94	5,04±1,04	5,01±1,02	4,60±1,12	4,75±1,10	5,03±1,05	5,15±1,36	5,35±1,26
HDL-koleszterin (mmol/l)	N/A	N/A	N/A	1,39 (0,76-2,48)	1,25 (0,68-2,37)	1,19 (0,62-2,49)*	1,21 (0,77-1,99)	1,22 (0,55-2,12)	1,17 (0,79-1,88)
LDL-koleszterin (mmol/l)	N/A	N/A	N/A	2,84±0,90	2,64±0,83	2,75±0,89	2,08±0,81	2,70±0,83	3,06±0,92*
CIMT (mm)	N/A	N/A	N/A	0,81±0,42	0,86±0,38	0,95±0,44	0,79±0,28	0,87±0,32	1,06±0,26*

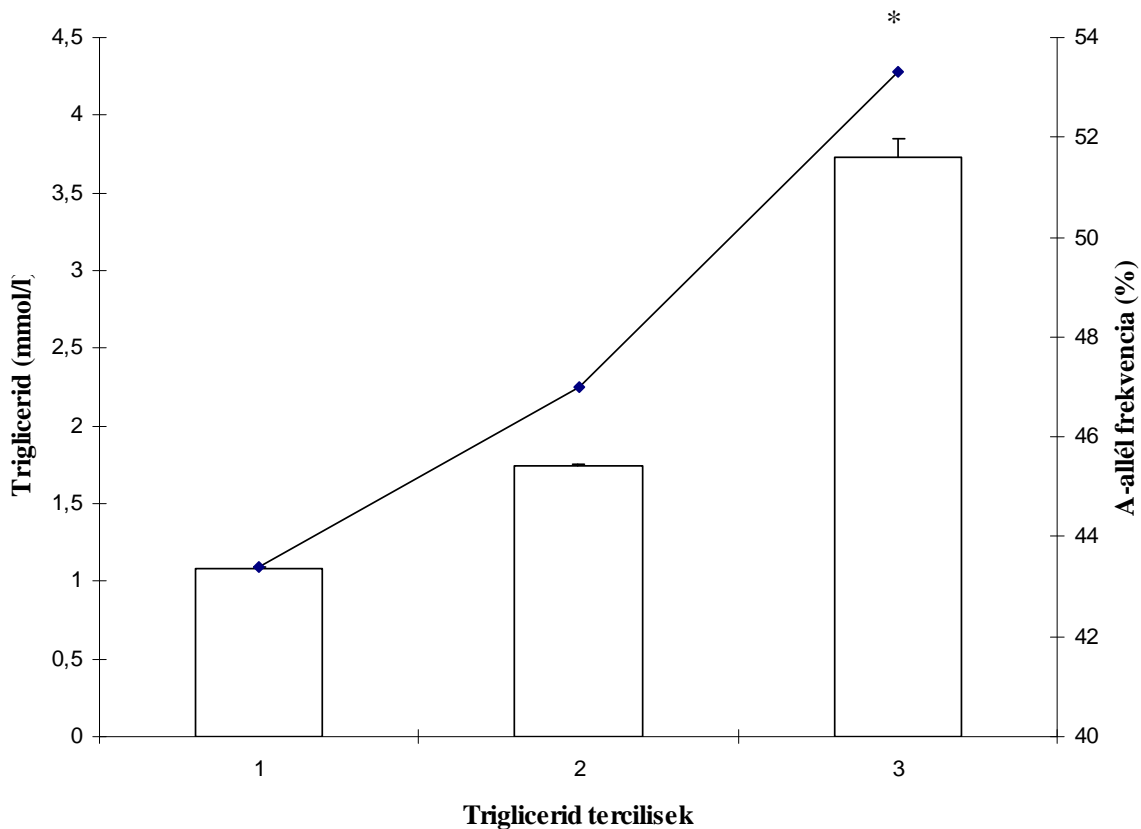
* $p < 0,05$ vs. GG; # $p < 0,001$ vs. GG; BMI: testtömegindex; CIMT: karotis intima-média vastagság; HDL: magas denzitású lipoprotein; LDL: alacsony denzitású lipoprotein; MS: metabolikus szindróma; T2DM: 2-es típusú diabétesz mellitusz; Az adatok átlagokban (\pm szórás) és mediánokban (minimum-maximum) vannak megadva.

7/B. táblázat: A GCKR rs1260326 génvariáns esetében kapott BMI, éhomi plazmaglükóz, lipid-profil és CIMT metabolikus szindrómás egyéneknél, T2DM-ben és a kontrollokban.

	Kontroll			T2DM			MS		
	CC	TC	TT	CC	TC	TT	CC	TC	TT
	n=48	n=80	n=44	n=80	n=155	n=63	n=118	n=219	n=91
BMI (kg/m ²)	23,7 (20,8-28,6)	23,8 (15,8-32,8)	23,8 (13,7-26,8)	29,2 (17,0-37,6)	29,3 (18,3-45,9)	28,9 (18,3-38,6)	31,8 (20,4-49,57)	32,8 (19,4-52,5)	33,4 (25,0-60,5)
Éhomi plazma glükóz (mmol/l)	N/A	N/A	N/A	9,05 (3,00-16,9)	8,90 (2,30-17,1)	8,70 (2,30-22,8)*	9,80 (3,20-20,0)	8,60 (3,90-30,8)	8,40 (3,00-16,6)*
Szérum triglicerid (mmol/l)	1,51 (0,50-2,90)	1,55 (0,70-2,90)	1,68 (0,80-3,60)*	1,45 (0,35-4,28)	1,87 (0,39-8,23)*	2,32 (0,59-14,9)*	2,19 (0,70-7,86)	2,72 (0,35-14,4)*	2,91 (0,78-11,5)*
Szérum összkoleszterin (mmol/l)	5,44±0,87	5,41±0,96	5,20±0,99	5,03±1,11	4,64±0,97	4,72±1,32	5,10±1,02	5,21±1,38	5,20±1,27
Szérum HDL- koleszterin (mmol/l)	N/A	N/A	N/A	1,39 (0,76-2,48)	1,27 (0,68-2,47)	1,17 (0,62-2,49)*	1,23 (0,70-1,96)	1,16 (0,55-2,12)	1,23 (0,79-1,88)
Szérum LDL-koleszterin (mmol/l)	N/A	N/A	N/A	2,85±0,88	2,63±0,78	2,78±1,05	2,71±0,81	2,85±0,82	3,00±0,93*
CIMT (mm)	N/A	N/A	N/A	0,81±0,41	0,88±0,43	0,95±0,44	0,83±0,30	0,87±0,38	1,05±0,28*

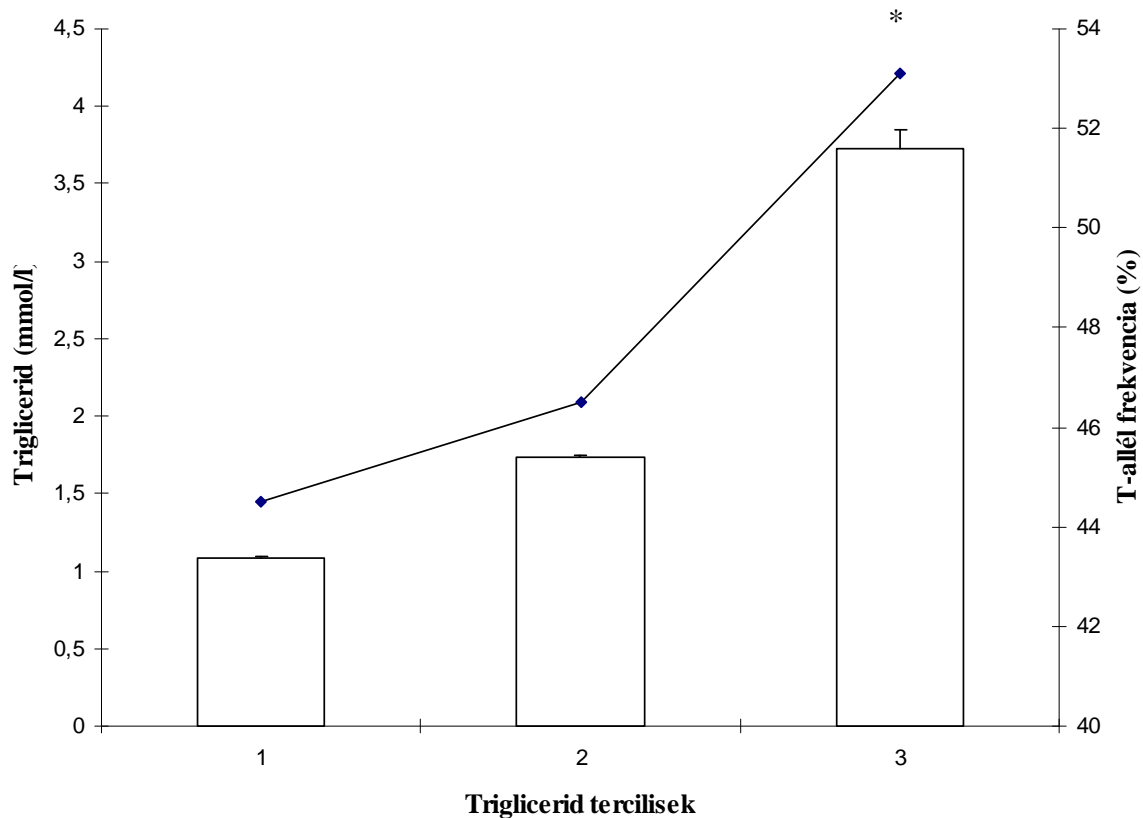
* $p < 0,05$ vs. CC; # $p < 0,001$ vs. CC; BMI: testtömegindex; CIMT: karotis intima-média vastagság; HDL: magas denzitású lipoprotein; LDL: alacsony denzitású lipoprotein; MS: metabolikus szindróma; T2DM: 2-es típusú diabétesz mellitusz; Az adatok átlagokban (\pm szórás) és mediánokban (minimum-maximum) vannak megadva.

A **12. ábra** a triglicerid tercilek alapján létrehozott csoportokban mutatja be azA-allél frekvenciáját az rs780094 génvariáns esetében. Látható, hogy minél magasabb a szérumtriglicerid-szint annál gyakoribb az A-allél előfordulási frekvenciája és ez az összefüggés szignifikáns volt ($p < 0,05$). A tercilek létrehozásakor a betegcsoportokat egybevontuk, így 948 személyből álló nem-szelektált populációra vonatkozó eredményeket mutatunk be.



12. ábra: AzA-allél frekvenciája a triglicerid tercilek szerint. A bal oldali tengely az oszlopdiagramon feltüntetett tercilek triglicerid átlagát, a jobb oldali tengely a vonal diagrammon bemutatott, a tercilekhez tartozó A-allél frekvenciáját mutatja. A hibasávok az átlag standard hibáját (SEM) jelzik. * $p < 0,05$ vs. 1. tercilis.

A **13. ábra** a triglicerid tercilisek alapján létrehozott csoportokban mutatja be az T-allél frekvenciáját az rs1260326 génvariáns esetében. Látható, hogy a T-allél frekvenciája a szérumtriglicerid-szint növekedésével párhuzamosan folyamatosan nő. Az 1. tercilis és a 3. tercilis közötti frekvenciakülönbség szignifikánsnak adódott ($p < 0,05$).



13. ábra: A T-allél frekvenciája a triglicerid tercilisek szerint. A bal oldali tengely az oszlopdiaqramon feltüntetett tercilisek triglicerid átlagát, a jobb oldali tengely a vonal diagrammon bemutatott, a tercilisekhez tartozó T-allél frekvenciáját mutatja. A hibasávok az átlag standard hibáját (SEM) jelzik. * $p < 0,05$ vs. 1. tercilis.

Mindkét GCKR funkcionális variáns esetében a minor allél előfordulási gyakorisága, a szérumtriglicerid-szinthez hasonló módon, a teljes populációban vizsgálva, a plazmaglukóz tercilisekben is szignifikáns összefüggést mutattak az éhomi vércukorszinttel ($p < 0,05$) (az eredményeket ábrán nem mutatjuk be).

A **8. táblázatban** a hipertrigliceridémiára vonatkozó relatív rizikó látható a GCKR gén rs780094 és rs1260326 polimorfizmusai szerint, amit többváltozós logisztikus regressziós analízissel

számítottunk ki. A regressziós analízis igazolta, hogy mindkétgénpolimorfizmus hajlamosít a hipertrigliceridémia kialakulására. Nemre, életkorra, szérumszékosterinre, koszorúsérbetegségre és statin-terápiára történő korrigálást követően az összefüggés kifejezettebbé vált. Továbbá a GCKRgén egyik általunk vizsgált génvariánsa esetében sem sikerült a T2DM-re, a metabolikus szindrómára, illetve a mikrovaszkuláris szövődményekre gyakorolt hajlamosító/védő hatást kimutatni (9. táblázat).

8. táblázat: A GCKRgén rs780094 és rs1260326 polimorfizmusai esetében összetettlogisztikus regressziós analízissel kapott hipertrigliceridémia kialakulására vonatkozó esélyhányadosok

Hipertrigliceridémia		
	Esélyhányados (95% CI)	Korrigált esélyhányados* (95% CI)
	1,748	5,335
GCKR (rs780094)	(1,256-2,435) p=0,001	(1,779-15,99) p=0,003
	1,311	4,523
GCKR (rs1260326)	(1,078-1,596) p=0,007	(1,458-14,03) p=0,009

*Életkorra, nemre, BMI-re, szérumszékosterinre, koszorúsérbetegségre és statin-terápiára korrigálva. CI, konfidencia intervallum

9. táblázat: A GCKRgén rs780094 és rs1260326 polimorfizmusai esetében összetett logisztikus regressziós analízissel kapott a mikrovaszkuláris szövődeményeinek kialakulására vonatkozó esélyhányadosok.

	Diabéteszes nefropátia		Diabéteszes neuropátia		Diabéteszes retinopátia	
	Esélyhányados (95% CI)	Korrigált esélyhányados* (95% CI)	Esélyhányados (95% CI)	Korrigált esélyhányados* (95% CI)	Esélyhányados (95% CI)	Korrigált esélyhányados* (95% CI)
GCKR (rs780094)	0,682 (0,390-1,190)	1,283 (0,430-3,825)	0,801 (0,523-1,227)	0,705 (0,193-2,575)	0,740 (0,408-1,341)	1,546 (0,316-7,532)
GCKR (rs1260326)	0,656 (0,365-1,179)	1,246 (0,806-1,837)	0,683 (0,430-1,085)	0,986 (0,221-4,440)	0,943 (0,531-1,673)	1,586 (0,385-6,566)

*Életkorra, nemre, BMI-re, szérumszékoleszterinre, koszorúsérbetegségre és statin-terápiára korrigálva. CI, konfidencia intervallum

5. 3. A laktát dehidrogenáz enzim vizsgálata nefrózis szindrómás, nem-nefrózis szindrómás vesebetegekben és a kontrollokban

A BMI, a szérumszfehérje-szint, a szérumalbumin-szint, a szérumbilirubin-szint, a szérumszszkoleszterin-szint és a proteinuria mértéke különbözött szignifikánsan a betegcsoportok között. A NON-NEPHR csoport BMI-ben, a szérumszfehérje-szintben, a szérumalbuminszintben, a szérumszszkoleszterin-szintben és a proteinuria mértékében különbözött szignifikánsan a NEPHR csoporttól. A BMI-ben talált különbségért a nefrotikus ödéma tehető felelőssé. A KONTR csoport nembn, korban, szérumkreatinin-szintben, a szérumszfehérje szintjében, a szérumalbumin szintjében, a szérumtriglicerid-és szérumszszkoleszterin-szintben, az alkalikus foszfátáz szérumszintjében, a szérumszszbilirubin szintjében és a proteinuria mértékében szignifikánsan különbözött a NEPHR csoporttól. A KONTR csoport összes résztvevője hipoalbuminémiás volt. A betegek klinikai jellemzőit az **10. táblázatban** tüntettük fel.

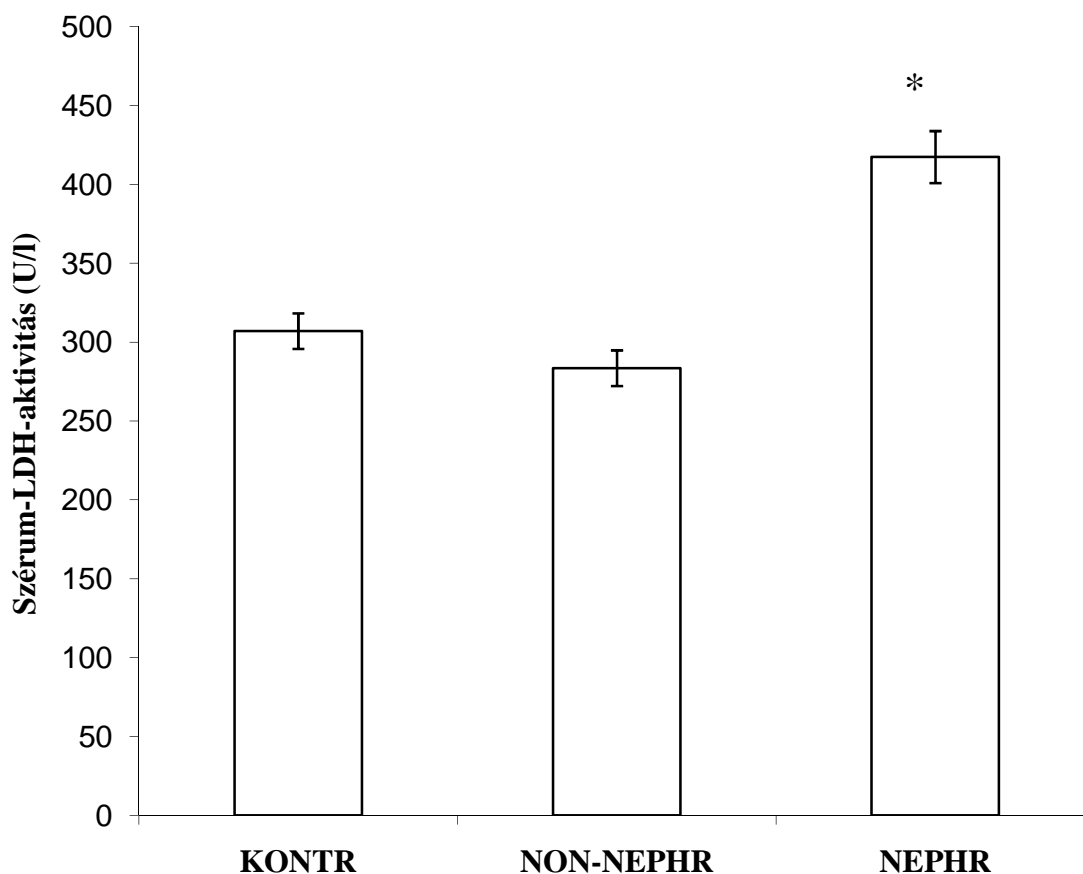
A NEPHR csoportban a szérum-LDH-aktivitás szignifikánsan magasabb volt a NON-NEPHR és a KONTR csoporthoz képest (**14. ábra**), a NON-NEPHR csoportban a szérum-LDH-aktivitás nem különbözött a KONTR csoporthoz képest, de szignifikánsan alacsonyabb volt a NEPHR csoporthoz képest ($p < 0,001$). A szérum-LDH-aktivitás egyik betegcsoportban sem korrelált a májfunkciót jelző paraméterekkel (adatok nincsenek bemutatva). Az LDH izoenzimeket a három betegcsoportból random módon kiválasztott csoportokban határoztuk meg (NEPHR, $n = 34$; NON-NEPHR, $n = 12$; KONTR, $n = 21$). A vesespecifikus LDH-2 szérum-aktivitása és százalékos aránya szignifikánsan magasabb volt a NEPHR csoportban a NON-NEPHR és a KONTR csoporthoz képest ($p < 0,001$) (**15 és 16. ábra**).

A szérum-LDH-aktivitás, a transzamináz-szintek, az alkalikus-foszfátáz-aktivitás, illetve a gamma glutamil transzpeptidáz (GGT) között nem volt összefüggés. Korrelációs vizsgálataink során a szérum-LDH-aktivitás a szérumszfehérje-szinttel és a szérumalbuminszinttel negatívan ($r = -0,549$, $p < 0,001$; $r = -0,596$, $p < 0,001$), míg a proteinuriával és a szérumszszkoleszterinnel pozitívan ($r = 0,456$, $p = 0,01$; $r = 0,523$, $p < 0,001$) korrelált (**17/A-17/D**). A szérumszfehérje-szint és a szérumalbuminszint negatívan ($r = -0,656$, $p < 0,001$; $r = -0,587$, $p < 0,001$), míg a proteinuria és a szérumszszkoleszterin-szint pozitívan korrelált a szérum-LDH-2-aktivitással ($r = 0,628$, $p < 0,001$; $r = 0,648$, $p < 0,001$) (**18A-18D ábra**). Továbbá, szignifikáns, pozitív összefüggést mutatott a szérum-LDH-aktivitás a szérum LDH-2 izoenzim-aktivitásával ($r = 0,943$, $p < 0,001$) és százalékos arányával ($r = 0,655$, $p < 0,001$). Ezt az összefüggést ábrán nem mutatjuk be.

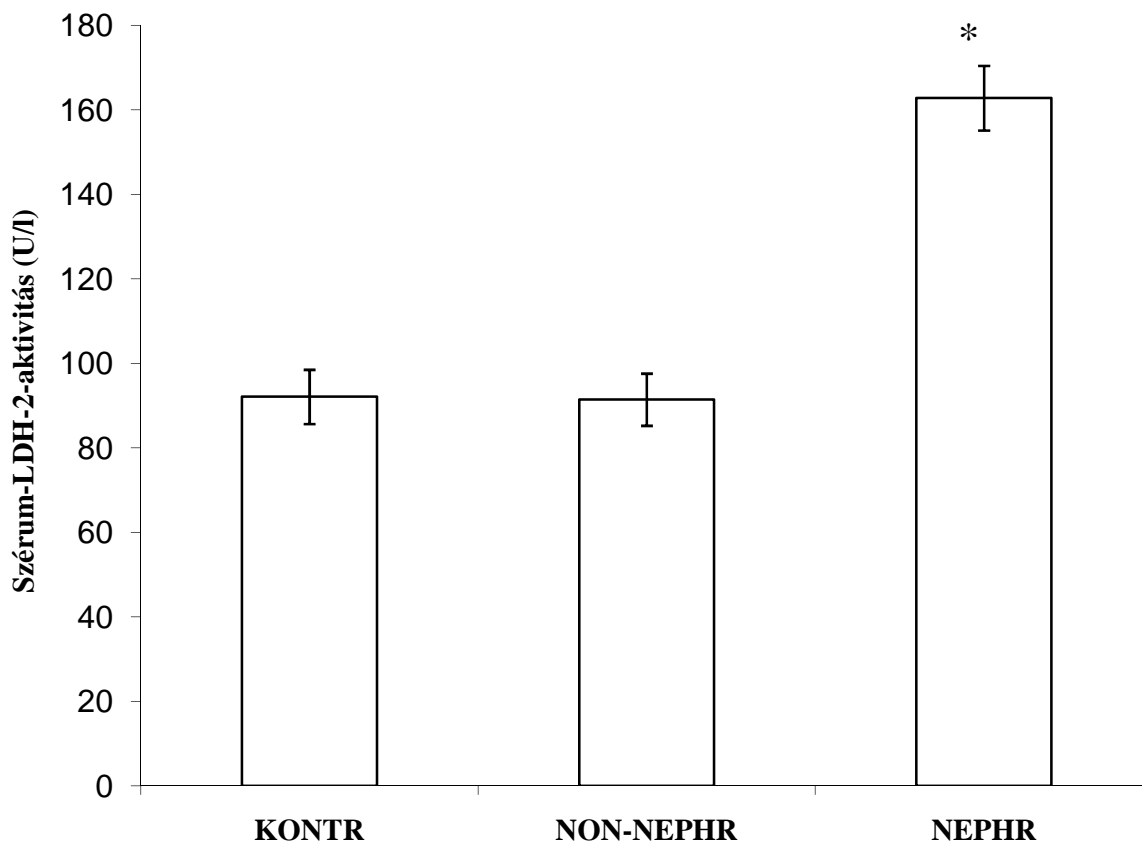
10. táblázat: Nefrózis szindrómás (NEPHR), nem-nefrózis szindrómás, különböző eredetű proteinuriás betegek (NON-NEPHR) és a hipoalbuminémiás gasztrointesztinális megbetegedésben szenvedő kontroll (KONTR) betegek klinikai jellemzői.

	NEPHR n=62	NON-NEPHR n=30	KONTR n=26
Nem (férfi/nő)	38/24	18/12	7/19 ^d
Kor (év)	51±2	47±3	65±4 ^c
Testtömeg index (kg/m ²)	28±1	24±1 ^a	25±2
Szérum kálium (mmol/l)	4,2±0,1	4,3±0,1	4,1±0,1
Szérum kreatinin (μmol/l)	157,2±17,0	121,5±14,6	73,2±4,2 ^c
GFR (ml/perc)	75,1±5,6	79,3±6,4	92,7±15,2
Szérum összfehérje (g/l)	50,9±1,0	70,1±1,5 ^c	64,0±1,6 ^c
Szérum albumin (g/l)	25,8±0,7	40,7±1,2 ^c	31,9±0,8 ^c
GOT (U/l)	22±1	22±3	18±1
GPT (U/l)	19±2	20±3	15±2
GGT (U/l)	28±2	28±4	31±4
ALP (U/l)	175±8	177±17	231±14 ^b
Szérum bilirubin (μmol/l)	5,0±0,5	9,7±1,4 ^c	8,4±0,7 ^c
Szérum triglicerid (mmol/l)	2,8±0,2	2,5±0,4	1,37±0,1 ^c
Szérum koleszterin (mmol/l)	8,4±0,4	5,5±0,3 ^c	3,83±0,2 ^c
Proteinuria (g/nap)	3,96±0,71	1,08±0,22 ^c	0,13±0,04 ^c
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	135±3	134±3	124±3
Diasztolés vérnyomás (Hgmm)	84±1	84±2	78±2

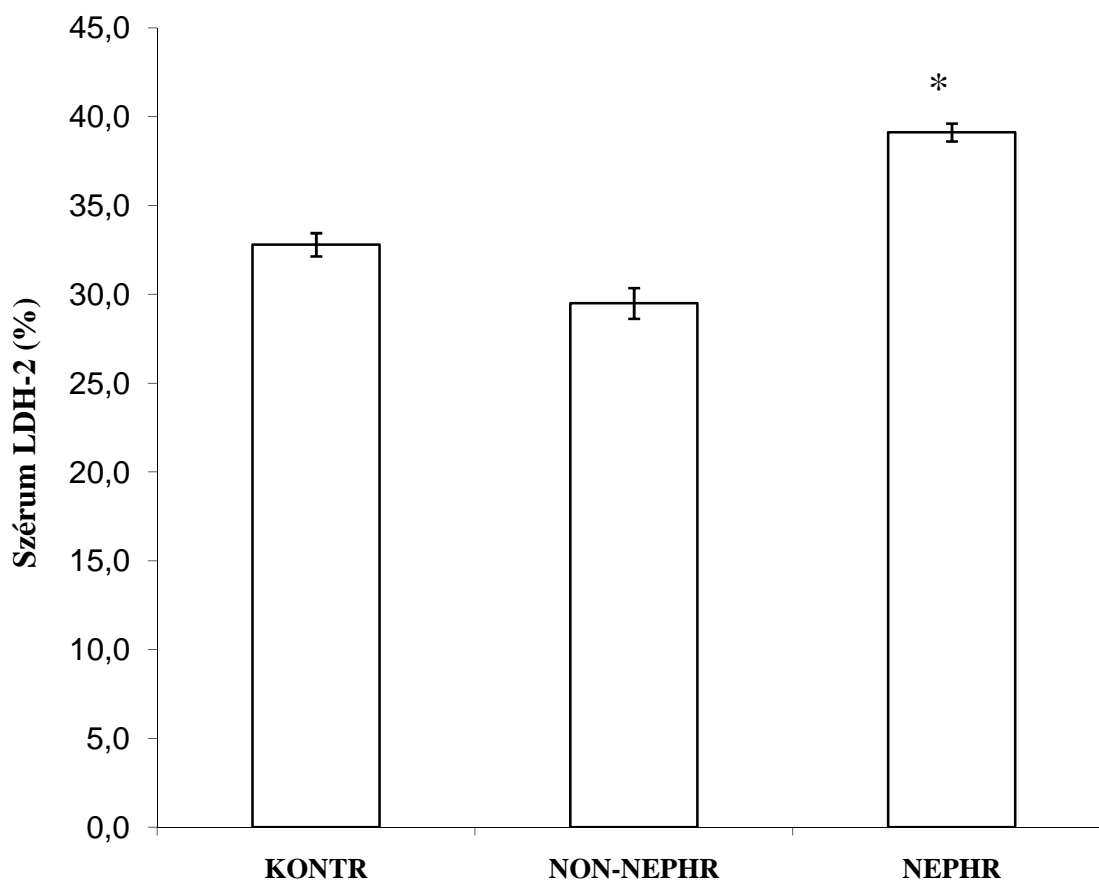
GFR: glomeruláris filtrációs ráta; GOT: glutarát-oxálacetát transzamináz; GPT: glutamát-piruvát transzamináz; GGT: gamma-glutamil transzpeptidáz; ALP: alkalikus-foszfataz. Az adatokat átlag ± standard deviációban tüntettük fel. ^ap=0,049, ^bp=0,003, ^cp<0,001, ^dp=0,009, ^ep=0,001 vs. NEPHR



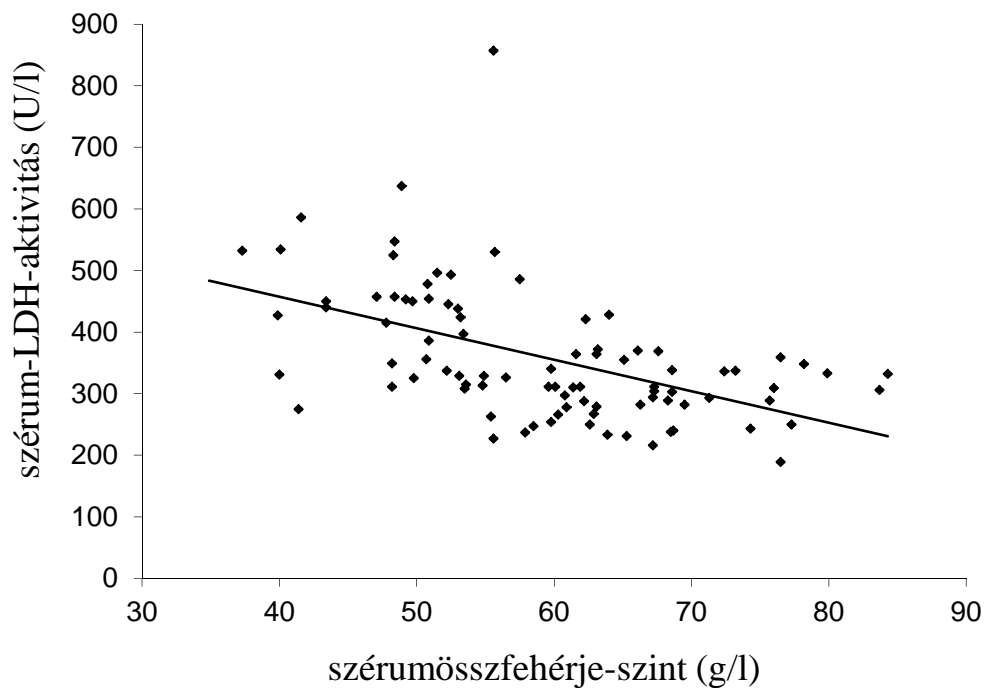
14. ábra. A szérum-LDH-aktivitás a betegcsoportokban. A nefrózis szindrómás csoportban (NEPHR) a szérum-LDH-aktivitás szignifikánsan magasabb a nem-nefrózis szindrómás, különböző eredetű proteinuriás csoporthoz (NON-NEPHR) és a KONTR csoporthoz képest (* $p < 0,001$). Az adatokat korra, nemre, szérumösszfehérje-szintre, szérumalbuminszintre korrigálva a különbség szignifikáns maradt ($p < 0,001$).



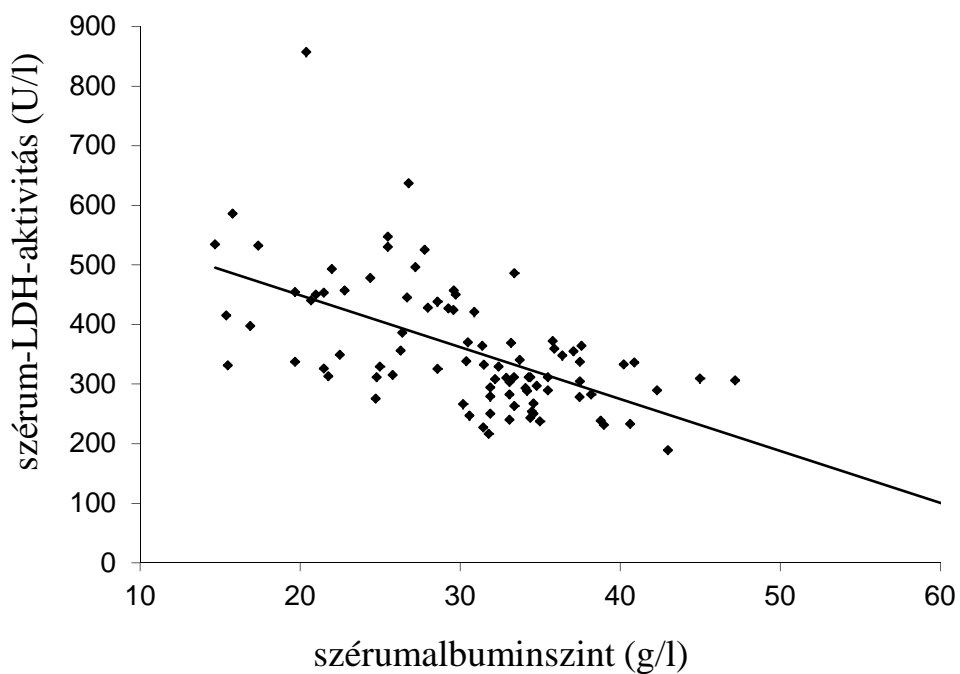
15. ábra. A szérum-LDH-2-aktivitás a betegcsoportokban. A nefrózis szindrómás csoportban (NEPHR) a szérum-LDH-2-aktivitás szignifikánsan magasabb a nem-nefrózisszindrómás, különböző eredetű proteinuriás csoporthoz (NON-NEPHR) és a KONTR csoporthoz képest (* $p < 0,001$). Az adatokat korra, nemre, szérumösszfehérje-szintre, szérumalbumin-szintre korrigálva a különbség szignifikáns maradt ($p < 0,001$).



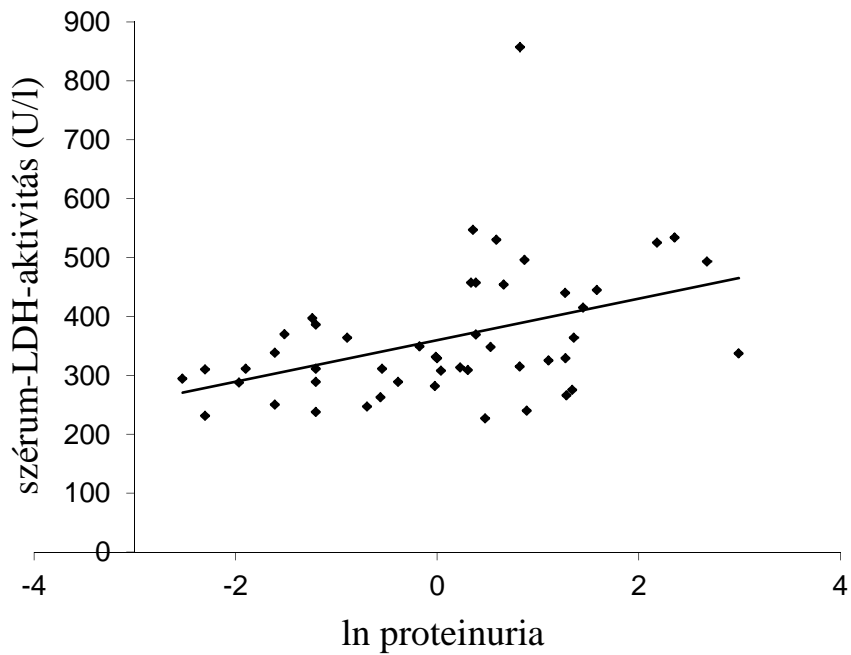
16. ábra. A szérum-LDH-2-aktivitás százalékos aránya a betegcsoportokban. A nefrózisszindrómás csoportban (NEPHR) a szérum-LDH-2-aktivitás százalékos aránya szignifikánsan magasabb a nem-nefrózisszindrómás, különböző eredetű proteinuriás csoporthoz (NON-NEPHR) és a KONTR csoporthoz képest (* $p < 0,001$). Az adatokat korra, nemre, szérumösszfehérje-szintre, szérumalbuminszintre korrigálva a különbség szignifikáns maradt ($p < 0,001$).



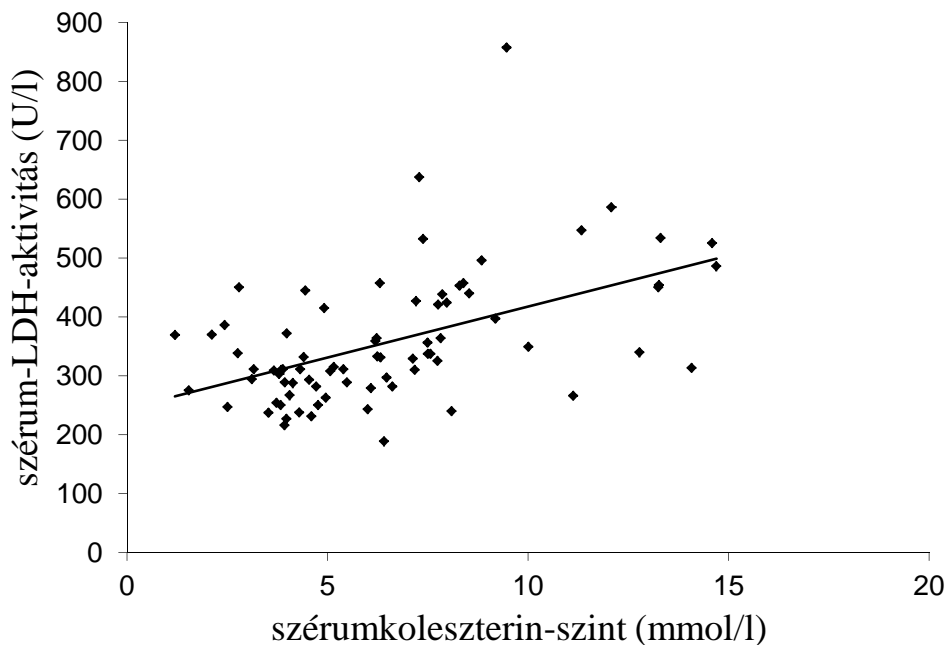
17/A ábra. A szérumszfehérje-szint ($n=64$) korrelál a szérum-LDH-aktivitással ($r= -0,549$ $p<0,001$).



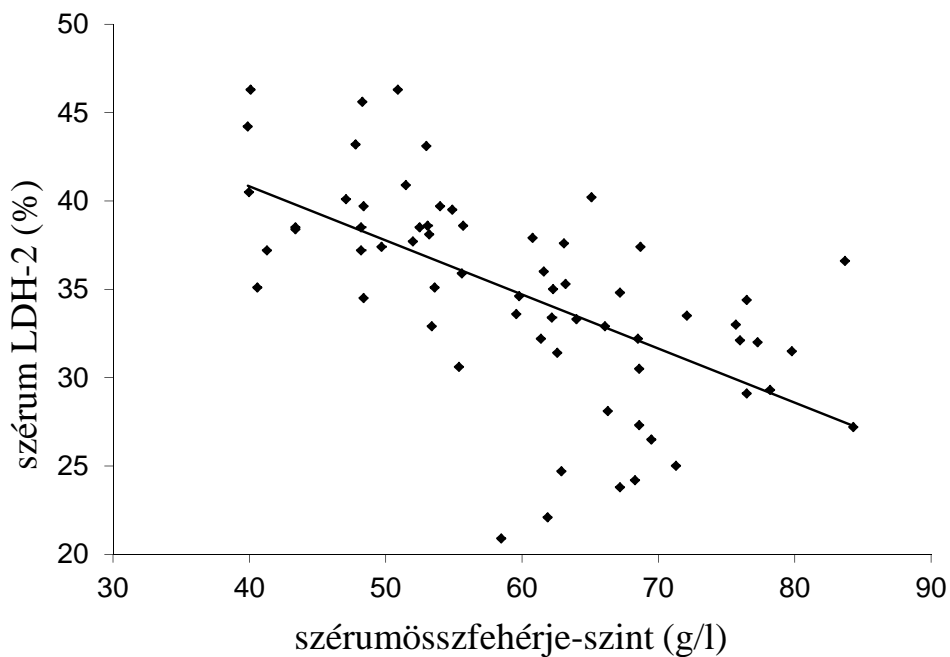
17/B ábra. A szérumalbuminszint ($n=64$) korrelál a szérum-LDH-aktivitással ($r= -0,596$ $p<0,001$).



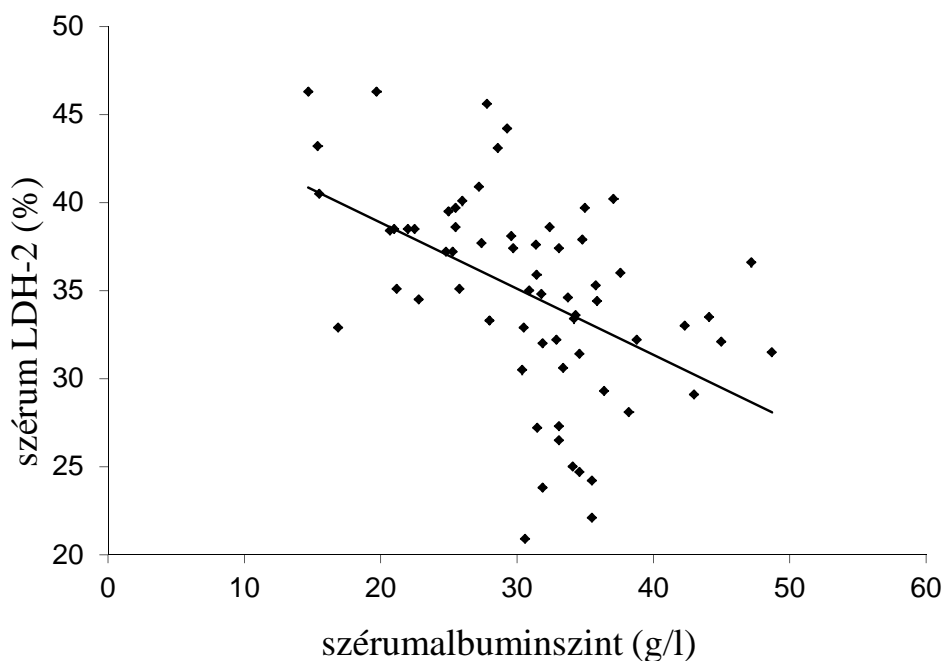
17/C ábra. A proteinuria (n=38) korrelál a szérum-LDH-aktivitással ($r= 0,456$, $p<0,001$). Mivel a proteinuria nem volt normál eloszlású, a korreláció ábrázolásához annak természetes alapú logaritmusát kellett vennünk (\ln proteinuria); a korrelációs együttható így a következőnek adódott: $r= 0,523$ $p=0,037$.



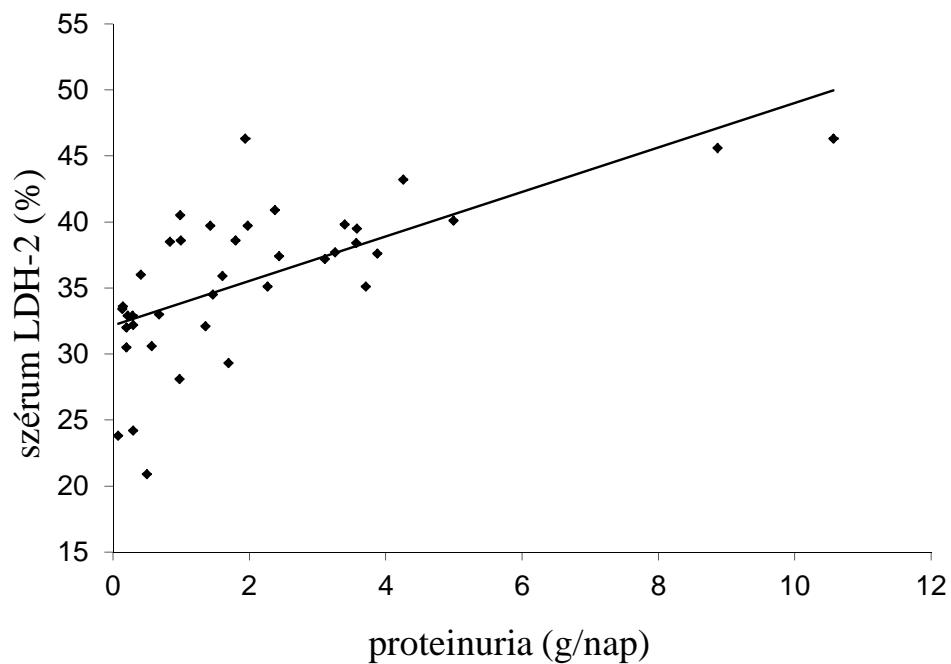
17/D ábra. A szérumösszkoleszterin-szint (n=64) korrelált a szérum-LDH-aktivitással ($r= 0,523$, $p<0,001$).



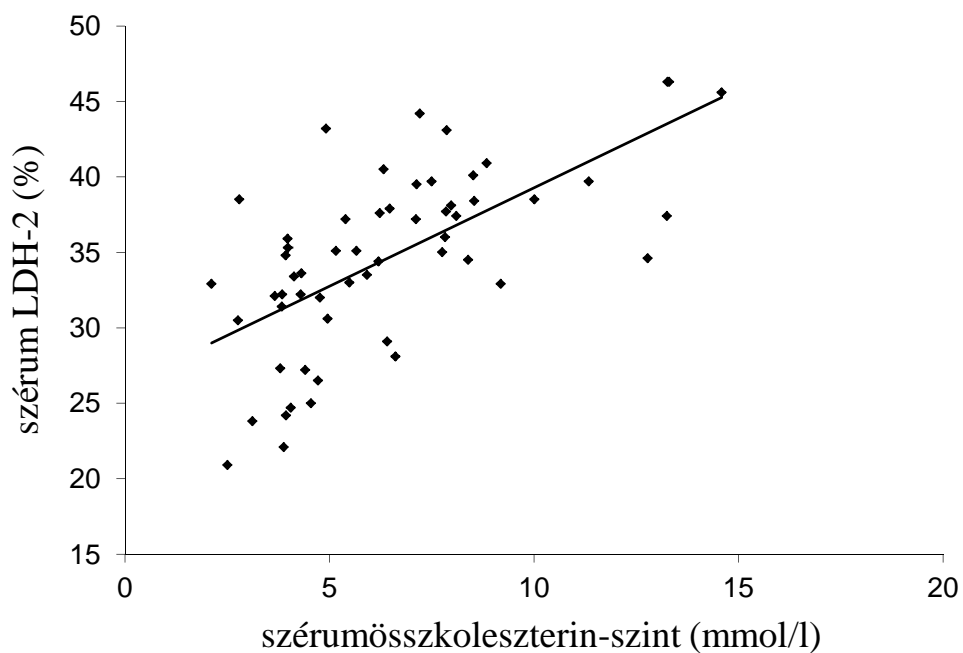
18/A ábra. A szérumszfehérje-szint ($n=44$) korrelált a szérumLDH-2arányával ($r=-0,656$, $p<0,001$).



18/B ábra. A szérumalbuminszint ($n=44$) korrelált a szérum LDH-2 arányával ($r= -0,587$, $p<0,001$).



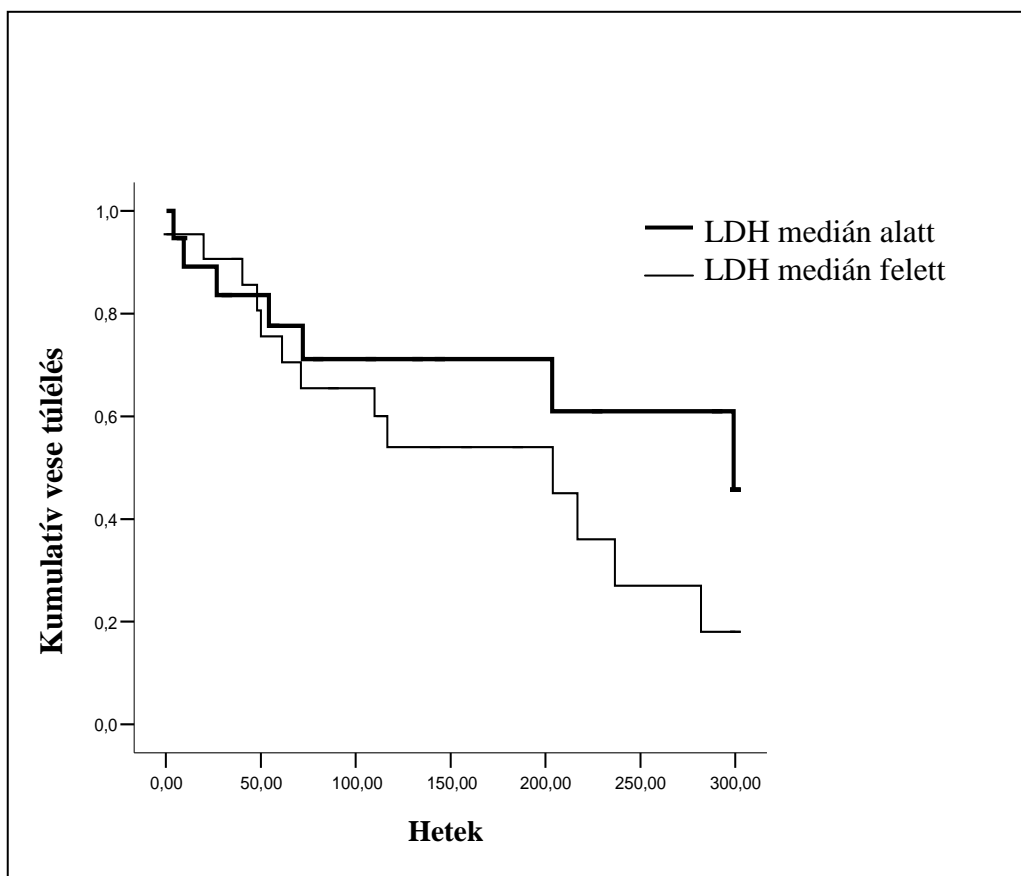
18/C ábra. A proteinuria (n=30) korrelált a szérum LDH-2 arányával ($r=0,628$, $p<0,001$).



18/D ábra.. A szérumösszkoleszterin-szint (n=37) korrelált a szérum-LDH-2 arányával ($r=0,648$, $p<0,001$).

Lineáris regressziós vizsgálatunk eredménye alapján a szérumszfehérje-szint a szérums-LDH-nak ($B=-5,831$ $\beta=-0,648$ $p<0,001$), míg a szérumszfehérje-szint és a proteinuria az LDH-2-nek (szérumszfehérje-szint esetén: $B= -0,273$ $\beta= -0,428$ $p=0,007$; proteinuria esetén: $B= 1,121$, $\beta=0,428$, $p=0,011$) független prediktorai. A vizsgálatokban a dependens változók az LDH illetve az LDH-2, míg az independents változók a nem, a kor, a BMI, a szérumskreatinin-szint, a GFR, aszérumszfehérje-szint, a szérumsalbuminszint, a proteinuria, a GOT, aglutamát-piruvát transzamináz(GPT) azalkalikus foszfatáz, a GGT, a szérumbilirubin-szint,a szisztolés és a diasztolés vérnyomásés az LDH (csak az LDH-2 esetében) voltak.

Az átlagosan 300 hetes követési periódus alatt az LDH medián alatti és feletti szinttel rendelkező betegek vese túlélési görbéi elváltak egymástól, azonban a közöttük lévő különbség nem volt szignifikáns ($p = 0,196$) (**19. ábra**).



19. ábra: Az LDH medián alatti és feletti szinttel rendelkező betegek vese túlélése a kompozitvégpont szerint (szérumskreatinin-szint duplázódása, becsült GFRfeleződése, a szérums kreatinin „point of no return” elérése, dialízis kezelés megkezdése)

6.MEGBESZÉLÉS

6. 1. Afruktózamin-3-kináz G900C polimorfizmusának vizsgálata

A NEG során keletkezett termékek toxikusak. Cukorbetegségben a magas plazmaglukózszint miatt képződésük fokozódik és szintjük, mind intracellulárisan, mind extracellulárisan megemelkedik. Az intracellulárisan zajló glikáció során, a sejteken belül található fehérjék funkciója károsodik (Ziyadeh 1993). Közismert, hogy szervezetünkben a DNS hibáinak kijavítására külön enzimek állnak rendelkezésre. Mikroorganizmusokban specifikus oxidáz enzimek, például az úgynevezett amadoriázok képesek lebontani az alacsony molekulású fruktózaminokat, azonban ezek az enzimek emlősökben nincsenek jelen (Gerhardinger 1995). Az elmúlt évek kutatásainak eredményeképpen igazolódott, hogy a vörösvértestekben egy enzim a fruktózból fruktóz-3-foszfátot képez, amely erőteljes glikáló ágens. Felismerték, hogy egy szintetikus fruktózamin, az 1-deoxi-1-morfolinofruktóz a reakció erőteljes inhibitoraként szerepel. További kutatások eredményeképpen azonosították az enzimet, amely mind a két folyamat lezajlásáért felelős; ez az enzim az FN3K (Delpierre 2000). Szintén fontos megfigyelés az, hogy a fehérjékhez kötött fruktóz (fruktózamin) lényegesen erősebb szubsztrátja az FN3K-nak, mint a „szabad” fruktóz. Az intracelluláris FN3K enzim működése során mind az alacsony molekulású, mind a fehérjékhez kötött fruktózaminokat foszforilálja, ezáltal a bevezetőben már ismertetett mechanizmus útján a glikált fehérjéket *in vivo* „megjavítja” és funkciójukat helyreállítja. Tehát egy „emberben” is jelenlévő, *in vivo* fehérje-„repair” enzimet azonosítottak (Swergold 2001, Delpierre 2003). Az FN3K intracelluláris enzim, csak intakt sejtekben működőképes, *in vitro* kísérletek alapján valószínűleg a glukóz jobbra forgató izomere által okozott glikációt képes befolyásolni, a balra forgató izomer által okozott glikációt megszüntetni nem tudja. Az 1-deoxi-1-morfolinofruktózzintetikus vegyület az enzim kompetitív inhibitora. Az enzim működése során a deglikáció végtermékeként a szintén toxikus 3-dezoxiglukozon keletkezik, amely egy potens glikáló ágens, mely gátolja a sejtnövekedést, a sejtosztódást és valószínűleg a diabéteszes anyagokban megfigyelt magzatkárosodásért is felelős (Erikson 1998). Káros hatását azonban nem tudja kifejteni, mivel 3-dezoxifruktózzá redukálódik, majd, feltételezhetően a retinaldehid dehidrogenáz enzim által nem-toxikus 2-keto-3-dezoxiglukonáttá oxidálódik és a vesén át kiürül (Delpierre 2002).

Megfigyelték, hogy az FN3K enzim ubikviter módon fejeződik ki, génje a klasszikus „housekeeping” génekéhez hasonló, azonban olyan szövetekben, melyekben a diabéteszes

szövődmények gyakoriak, például a vesében, szívben, idegrendszerben, kifejeződése jelentősen megnövekszik. Külső stimuláló hatásokra azonban (pl: hiperglikémia, inzulinhatás, IL-1 β) átíródása nem változik. A lizinben gazdag intracelluláris fehérjéket (pl: hisztonok, krisztallinok, kollagén) védi, valószínűleg a sejttúlélésben is szerepet játszik (Swergold 2001). Az FN3K enzimnek létezik egy homológja az FN3K „related protein”, melynek génje nagyon közel található az FN3K génjéhez, azonos hosszúságú fehérjét kódol (309 aminosav) és aminosav-szekvenciájuk 65 százalékos identitást mutat. Szöveti megoszlása szintén hasonló, mint az FN3K-nak, legmagasabb koncentrációban, a vesében, a csontvelőben és az agyban expresszálódik. Ellentétben az FN3K-val kifejeződik a herékben és a tüdőben, ahol az FN3K igen kis mértékben van jelen. Az FN3K „related protein”-nek nem szubsztrátjai a fruktózaminok, működése során a ribulózaminokat, eritrolózaminokat és pszikózaminokat foszforilálja. Mivel ezek a vegyületek az emberi szervezetben nagyon alacsony koncentrációban fordulnak elő, az enzim fiziológiai szerepe még nem teljesen tisztázott. Valószínűleg az enzimatis deglikáció folyamatában az FN3K kiegészítő enzimeként tölt be szerepet (Collard 2003).

Az FN3K génjében több SNP összefüggést mutat az enzim aktivitásával. Az általunk is vizsgált G900C variáns esetében a báziscsere nem okoz a kódolt fehérje aminosav-szekvenciájában változást, továbbá a „splicing”-ot sem befolyásolja, így valószínű, hogy az enzimaktivitás változásáért nem a SNP önmagában, hanem feltételezhetően más „enhancer” elemek polimorfizmusával való „linkage” a felelős. Ezeket az összefüggéseket jelen tanulmányunkban nem vizsgáltuk.

Az FN3K enzim intracelluláris aktivitással rendelkezik, az extracelluláris glikációra nincs hatással. Ismert továbbá az is, hogy a vörösvértestekben nagymértékben kifejeződik. Állatkísérletek szerint, az FN3K $-/-$ egerekben a szérumfruktózamin-szintekben nincs különbség az FN3K $+/+$ egerekhez képest. Ezt a megfigyelést saját in vivo eredményeink is alátámasztják, hiszen szérumszintjében nem találtunk különbséget.

A HbA_{1c} klinikailag kiemelkedően fontos jelentőségű glikoprotein, hiszen a betegek átlagos glikémiás állapotát három hónapra visszamenőleg jelzi, ezáltal lényeges információt nyújt a terápia hatékonyságáról. Számos közleményben felvetették annak lehetőségét, hogy az FN3K enzim aktivitása összefüggést mutat az össz-glikált hemoglobin mennyiségével, és a HbA_{1c}-vel. Delpierre és mtsai. azonban arról számoltak be, hogy szignifikáns és inverz a korreláció az enzimaktivitás és az össz-glikált hemoglobin mennyiség között, de a HbA_{1c}-vel összefüggést találtak. Ezt azzal magyarázták, hogy a hemoglobin glikációja esetén nem mindegy, hogy melyik aminosavon történik a cukor kötődése, hiszen ez alapvetően

meghatározza, hogy mennyire erős szubsztrátja az FN3K enzimnek (Delpierre 2002). Továbbá azt is leírták, hogy meglepő módon, 8% feletti HbA_{1c} esetén figyelhető meg a vörösvérsejtekben a foszforilált fruktózlizin szintjének emelkedése. Erre tényleges magyarázat jelenleg még nem áll rendelkezésre. Lehetséges, hogy az FN3K-n kívül létezik más deglikációs rendszer is a sejtekben, amely túl magas és tartós hiperglikémia esetén már kimerül? (Swergold 2001).

Az irodalomban többször volt arról szó, hogy a hemoglobin β láncának N-terminális glikált valinja gyenge szubsztrátja az FN3K enzimnek. Ezt *in vitro* kísérletek alapján igazolták, azonban nagyon kevés irodalmi adat áll rendelkezésre az FN3K *in vivo* betöltött szerepéről. Az intracelluláris deglikációs hipotézis szerint az FN3K enzim által katalizált reakciónak hatása lehet a klinikailag kiemelt fontosságú HbA_{1c} szintjének változásában. Sőt, genetikai variánsai, eltérő módon befolyásolhatják annak értékét. Ikrekben történt vizsgálat is megmutatta, hogy a HbA_{1c} szintje genetikailag determinált (Sneider 2001).

Több tanulmány felvetette az összefüggést az FN3K enzim génpolimorfizmusai és a diabéteszes mikrovaszkuláris szövődmények között. Tanulmányunkban mi is vizsgáltuk ezt és logisztikus regressziós vizsgálatunk azt igazolta, hogy a G900C SNP és a szövődmények jelenléte között nincs összefüggés, tehát a polimorfizmus patogenetikai szerepét nem tudtuk igazolni. Újabb megfigyelések szerint diabéteszes nefropátiában, a progresszorokban, az FN3K mRNS szintje szignifikánsan alacsonyabb volt a nem-progresszorokban és a kontrollokban mérthez képest. Ez felveti annak lehetőségét, hogy az enzimnek esetleg szerepe lehet a diabéteszes nefropátia progressziójában.

Az FN3K enzimnek nem csak a cukorbetegségben lehet kóros szerepe. Az irodalomban nemrég közölték az összefüggést az enzim és a kolorektális rák kialakulása között. A szerzők azt találták, hogy a rákos sejtekben az enzim mRNS szintje szignifikánsan alacsonyabb volt a környező, egészséges mukóza sejtekben mért szinthez képest. Ebből arra következtettek, hogy az enzimnek szerepe lehet a vastagbélrák patogenezisében és esetleg progressziójában.

Összefoglalva eredményeinket arra a következtetésre jutottunk, hogy az FN3K enzim G900C polimorfizmus CC variánsa pozitív módon függ össze a szénhidrát-anyagcserével, továbbá a CC variáns esetében a diabétesz idősebb életkorban kezdődik. A mikrovaszkuláris szövődmények kialakulásával azonban nem mutatott összefüggést. A G900C polimorfizmus T2DM-re gyakorolt hatásának tisztázásához azonban további genetikai és klinikai vizsgálatok szükségesek.

6. 2. Aglukokináz-regulátor-fehérjefunkcionális génvariánsainak vizsgálata

Az elmúlt évek kutatási eredményeinek hatására a GCKRgén természetesen előforduló funkcionális variánsait az irodalomban, mint a T2DM kandidáns hajlamosító/védő mutációjaként vizsgálták. Az egész genomra kiterjedő asszociációs vizsgálatok (genome-wide association studies) felhívták a figyelmet T2DM-ben a GCKRgén rs780094 egyszerű nukleotid polimorfizmusa és a hipertrigliceridémia közötti összefüggésre (Saxena 2007, Willer 2007). Egy dán ikrekben végzett tanulmányban pedig a GCKRgén egy másik polimorfizmusát (rs1260326) nagyobb inzulin szekrécióval és alacsonyabb éhomi vércukor szintekkel hozták kapcsolatba. Ezek alapján sokan a fent említett génpolimorfizmusokat a T2DM ellen védő faktorokként kezelik (Koster 2005). A trigliceridszintet emelő és ugyanakkor vércukorszintet csökkentő inverz hatást számos populációban tanulmányozták és megerősítették (európai fehérekben, amerikai fehérekben, afroamerikaiakban és egyéb populációkban is) (Orho-Melander 2008, Vaxillaire 2008, Reiling 2009). Mindezekén túl, a GCKR kandidáns génpolimorfizmusok és a metabolikus szindróma kapcsolata aktív kutatás tárgya. A skandináv populációban leírták a GCKRgén rs1260326 polimorfizmusának ellentétes, trigliceridszintet növelő és vércukorszintet csökkentő hatását. Azonban a metabolikus szindróma kialakulásában a hajlamosító szerepét nem sikerült igazolni (Sjögren 2008).

A GCKR kompetitíve gátolja a glukokinázt, így meghatározó szerepet játszik az inzulin-szekréció szabályozásában és a glikogén-anyagcserében. Tanulmányok bizonyították, hogy alacsony glukóz-koncentráció esetén mind a glukokináz, mind a GCKR a májsejtek sejtmagjában található, metabolikus változások következtében (magasabb glukóz-, és fruktóz-koncentráció) a glukokináza GCKR segítségével transzlokálódik a citoplazmába (Brown 1997, Fernández-Novell 1999, de la Iglesia 1999, Shiota 1999, Iynedjian 2009).

Az rs1260326 SNP esetében egy citozin/timin nukleotid csere jön létre, amely következtében a kódolt aminosavak szekvenciájában az egyik prolin helyett leucin épül be. Ez a változás nagy valószínűséggel a kódolt fehérje strukturális változását hozza magával és abban az esetben, ha a szerkezetváltozás a fruktóz-6-foszfát, illetve a fruktóz-1-foszfát kötőhelyét érinti, úgy a fehérje (enzim) funkcionális változását okozza.

GCKR-expresszió fokozódásával csökken a hepatikus glikolízis, a glukóz-6-foszfátáz downregulálódik, a glukokináz, a foszfofruktokináz és a zsírsav-szintetáz upregulálódik, a malonil-CoA-termelés és a nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein (very low density

lipoprotein, VLDL) és triglicerid-szintézis fokozódik. Ezek a biokémiai változások magyarázhatják a magasabb triglicerid-szintek mellé társuló alacsonyabb plazmaglukóz értékeket (Perez-Martinez 2009). Az állatmodellek bebizonyították, hogy a GCKR a glukokináz expresszióját is befolyásolja.

Az adatokat összegezve elmondható, hogy a GCKR, mint regulátor fehérje fontos szerepet tölt be a szénhidrát-, és lipid-metabolizmusban. Hatásmechanizmusát tekintve több elmélet látott napvilágot, azonban pontos kórélettani szerepe jelenleg még nem tisztázott. A GCKR gén két funkcionális variánsa (rs780094 és rs1260326) egymással nagyon szoros linkage disequilibrium-ban áll ($r^2=0.96$) a HapMap adatai szerint (www.hapmap.org).

Jelen vizsgálatunkban azt próbáltuk felderíteni, hogy GCKR gén általunk vizsgált variánsai összefüggésben állnak-e a lipid-, és szénhidrát-anyagcserével. A legújabb vizsgálatokkal egybehangzóan, a mi eredményeink is megerősítik azt a megfigyelést, hogy a génavariánsok fordított kapcsolatban állnak a szérumtriglicerid-, és plazmaglukóz-szintekkel T2DM-ben és metabolikus szindrómás egyéneknél. A minor allél gyakoriság hasonlóan adódott más, korábban leközölt eredményekhez, illetve a különböző betegcsoportokban a genotípusok gyakorisága között nem volt szignifikáns különbség.

A hipertrigliceridémia magasabb kardiovaszkuláris rizikót jelent (Nordestgaard 2007). A GCKR gén variánsai, túl a trigliceridszintet emelő hatásukon, összefüggésben állnak az emelkedett C-reaktív protein szinttel, amely szintén fontos ateroszklerotikus marker. A korábbi irodalmi adatok tükrében, tanulmányunkban nem csak a szénhidrát-, és lipid-profil vizsgáltuk, hanem betegeinkben meghatároztuk a CIMT-et is, mely az ateroszklerózist előrejelző marker. Vizsgálatunkban arra az eredményre jutottunk, hogy a GCKR gén rs780094 és rs1260326 variánsai összefüggésben állnak a CIMT-tel. A korábbi irodalmi adatokkal megegyezően azt találtuk, hogy a GCKR gén variánsai nem játszanak sem védő, sem hajlamosító szerepet a metabolikus szindróma kialakulásában. Korábbi tanulmányokból ismert, hogy bár a GCKR rs780094 és rs1260326 minor allél-variánsai magasabb rizikót jelentenek a diszlipidémia kialakulására, mégis védő hatásuk van a T2DM kialakulásával szemben (Sparso 2008). Ellentétben a korábbi irodalmi adatokkal összefüggést találtunk a HDL-koleszterinnel T2DM-ben és az LDL-koleszterinnel metabolikus szindrómás egyéneknél. A hipertrigliceridémiára való hajlamosító hatást tanulmányunkban mi is igazoltuk, azonban nem sikerült alátámasztani a T2DM-ben tapasztalt protektív hatást, bár alacsonyabb plazmaglukózszinteket észleltünk a homozigótákban.

Következtetésképpen elmondható, hogy megerősítettük a GCKR gén variánsainak (rs780094 és rs1260326) inverz kapcsolatát a hipertrigliceridémiával és az éhomi

plazmaglukóz-szinttel, továbbá a CIMT-méréseink alapján T2DM-ben és metabolikus szindrómában a variánsok előrejelezhetik a kardiovaszkuláris rizikót, azonban nincsenek összefüggésben a mikrovaszkuláris szövődményekkel.

6. 3. A laktát dehidrogenáz és izoenzimeinek vizsgálata

A szérum-LDH-aktivitás mérése fontos laboratóriumi diagnosztikai eszköz a szövetkárosodással járó kórfolyamatokban, mivel a szövetszétesés során az enzim a sejtekből a keringésbe kerül (Burton 2001, Scherberich 1989). Az LDH eredetének tisztázásában nyújt segítséget az LDH izoenzim meghatározás. A szérum-LDH-aktivitás vesebetegségekben betöltött diagnosztikus szerepét napjainkig kevés tanulmányban vizsgálták.

Nefrózis szindrómában a filtrált fehérje az elsődleges szűrlettel a proximális tubulusokba kerül, ahol a tubulussejtek endocitózissal a filtrált fehérjemennyiséget aktívan visszajuttatják a keringésbe. Mivel ez a folyamat rendkívül energiaigényes, a tubulussejtek energetikailag hamar „kimerülhetnek” és károsodnak. A nagy mennyiségű fehérje a tubulussejtekre toxikus hatással van: fokozza a sejtek apoptózisát és proliferációját, így a proximális tubulus sejteinek a „turnovere” felgyorsul. A folyamat háttérben azt feltételezik, hogy, bizonyos szérumfehérjék (pl. albumin, transferrin), amelyek normális esetben nem juthatnak át a glomeruláris bazálmembránon, a proximális tubulusba jutva gyulladós folyamatot indítanak be. A folyamat végeredményeképp a tubulussejtek apikális és bazolaterális membránja is sérül, ezáltal az LDH mind a szérumba, mind a vizeletbe szabadon kiáramolhat a citoplazmából. A nagyfokú proteinuria tubulussejtekre gyakorolt toxikus hatását patkányból származó vesetubulussejtekben is sikerült modellezni (Burton 2001).

Mojžiš és munkacsoportja a vizelet LDH-aktivitását vizsgálta nefrózis szindrómás és nem-nefrózis szindrómás, de glomerulonefritiszos betegekben és szignifikáns, pozitív korrelációt találtak a proteinuria mértékével (Mojžiš 1970). Egy másik munkacsoport nefrózis szindrómás és egészséges személyek vizeletében határozta meg az LDH aktivitást illetve izomerjeinek arányát. A nefrózis szindrómás betegekben mért vizelet LDH-aktivitás szignifikánsan magasabbnak bizonyult a kontroll egyénekhez viszonyítva, az izoenzimek közül pedig dominálón az LDH-1 és az LDH-2 volt jelen a vizeletben. Nem találtak azonban összefüggést a proteinuria és a vizelet LDH-aktivitása között. Feltételezésük szerint az LDH-aktivitás emelkedésének háttérben a proximális tubulussejtek károsodása állhat (Serban 1973). Murdock és munkacsoportja nemcsak a vizeletben, hanem a szérumban is vizsgálta az LDH-aktivitás és izoenzimeinek változását nefrózis szindrómás gyerekek négy csoportjában

(relapszusban lévő betegek, remisszióban lévő betegek szteroid kezeléssel 21 napos kezeléson belül illetve azon túl, és szteroid kezelés nélküli betegekben). Mind a vizelet, mind a szérumban LDH-aktivitását nagyobbak találták relapszusban a többi csoporthoz képest. Az izoenzim vizsgálat során egyértelmű következtetésre nem jutottak a vizsgált betegcsoportokban (Murdock 1981).

Murdock és munkatársaival szemben, mi felnőtt populációban, nefrózis szindrómás és nem-nefrózis szindrómás betegekben a vesebiopszia időpontjában, továbbá pozitív kontrollként hipoalbuminémiás különböző gasztrointesztinális betegekben vizsgáltuk a szérumban LDH-aktivitását illetve az izoenzim arányát. Murdock és munkatársai emelkedett szérumban LDH-aktivitást találtak a relapszusban lévő csoportban. Saját eredményeink szerint a szérumban LDH és LDH-2-aktivitás a NEPHR csoportban szignifikánsan magasabb volt a NON-NEPHR és KONTR csoporthoz képest. Vizsgálatunkban ezen kívül – ellentétben az eddig fellelhető irodalommal – a nefrózis szindrómát jellemző összes klinikai paramétert megvizsgáltuk a szérumban LDH-aktivitás illetve a vesére jellemző izoenzim tekintetében. A szérumban LDH-aktivitás és a LDH-2-aktivitás negatív módon korrelált a szérumban összfehérjével és a szérumban albuminnal, míg pozitív módon a proteinuriával és a szérumban összkoleszterin-szinttel. Murdock és munkatársaival ellentétben az LDH izoenzim vizsgálata alapján egyértelműen azt kaptuk, hogy nefrózisszindrómában a vesére jellemző LDH-2 izoenzim frakció emelkedik meg. Regressziós vizsgálatunk arra is rámutatott, hogy a szérumban LDH-2 független prediktora a szérumban albuminszint és a proteinuria, azaz a szérumban albuminszint csökkenése és a proteinuria mértéke egymástól függetlenül is meghatározzák a szérumban LDH-2-szintjét, vagyis a vese károsodásának mértékét.

Betegeinket átlagosan 300 hétig követve az LDH medián feletti és alatti szinttel rendelkező betegekben a vesetűlélést jellemző görbék elválnak egymástól, habár a közöttük lévő különbség nem volt szignifikáns.

A kapott eredmény alapján számos kérdés merülhet fel. Vajon nem a vesefunkció romlása, azaz a retenció a szérumban LDH-aktivitás emelkedésének az oka? Ennek a lehetőségnek ellentmond az, hogy urémiás betegekben (n=68) a dialízis megelőzően a szérumban LDH-aktivitás (308 ± 7 U/l) nem különbözött szignifikánsan ($p=0,703$) a KONTR csoporthoz képest. Azaz a szérumban LDH-aktivitás nem retenció marker. Nefrózisszindrómában gyakori a látens trombózis is, mivel a vizelettel az antitrombotikus fehérjetermészetű faktorok (antitrombin-III, protein-C, protein-S, stb.) is ürülnek, ami a fokozott fibrinogén szintézissel együtt prokoaguláns állapotot hoz létre a szervezetben. Ennek alapján felmerült, hogy a magasabb szérumban LDH-aktivitás ennek a következménye. Ezt a

feltételezésünket azonban az LDH izoenzim vizsgálatok kizárták, mivel trombembóliában az LDH-3 izomer aránya emelkedett volna meg, de a csoportok között ennek aránya nem különbözött szignifikánsan ($p=0,119$). Krónikus vesebetegségekben, különösen a diabéteszes nefropátiában számolni lehet a neocitolízis megjelenésével, mivel a nagyfokú proteinuria a tubulointersticiális sejteket károsíthatja, ami az EPO-termelés csökkenéséhez vezethet. Ennek azonban ellentmond az a megfigyelésünk, hogy a hemoglobin és hematokrit értékek egyik csoportban sem korreláltak a szérum-LDH-aktivitással, az LDH-2 izoenzim arányával és a proteinuriával. Miután betegeinknél a beválasztási kritériumoknak megfelelően minden egyéb, szérum LDH-aktivitás emelkedést okozó kórképet kizártunk, és az izoenzimvizsgálatok a vesére jellemző LDH-2 frakcióban mutattak emelkedést, úgy tűnik, hogy az emelkedés oka a nefrózisszindróma illetve a kórképben kialakuló vesekárosodás.

Ezekalapján úgy gondoljuk, hogy nefrózisszindrómában az emelkedett szérum-LDH-aktivitás a betegség markere, ezért a szérum LDH és az LDH izoenzimek rutinszerű meghatározása a betegség súlyosságáról és aktivitásáról fontos információval szolgálhat.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A NEG során képződött AGE-k fontos szerepet játszanak a diabéteszes mikrovaszkuláris szövődmények kialakulásában. Az FN3K olyan intracelluláris enzim, amely a szabad és a fehérjékhez kötött fruktózaminokat foszforilálja. Az így képződött fruktózamin-3-foszfát instabil vegyület, amely spontán módon 3-dezoxiglukozonra, szervesetlen foszfátcsoporthoz és a nem glikált fehérjére bomlik. Több tanulmányban felvetették az FN3K szerepét a diabéteszes mikrovaszkuláris szövődmények kialakulásában, továbbá leírták azt is, hogy az FN3KG900C polimorfizmusa (rs1056534) összefüggést mutat az enzim aktivitásával. Ismert, hogy a magas szérumtriglicerid-szint jelentősen fokozza a kardiovaszkuláris megbetegedések kockázatát. A GCKR funkcionális génvariánsai (rs780094, rs1260326), inverz módon, megemelkedett szérumtriglicerid-szinttel és alacsonyabb éhomi vércukorszinttel társulnak. A proteinuria mértéke, a szérumösszfehérje-szint, a szérumalbuminszint, illetve a szérumlipidprofil a nefrózis szindróma diagnosztikájában régóta használt és közismert laborparaméterek. Az LDH a sejtkárosodással járó kórképek jó markere.

Célul tűztük ki az FN3K G900C génpolimorfizmusának T2DM-mel és a diabéteszes mikrovaszkuláris szövődményekkel való kapcsolatának vizsgálatát, továbbá megvizsgáltuk a GCKR gén két funkcionális génvariánsának összefüggését a szénhidrát-, lipidanyagcserével, valamint a mikrovaszkuláris szövődményekkel T2DM-ben és metabolikus szindrómában szenvedő betegekben. Összefüggést kerestünk a GCKR génvariánsai és a CIMT között. Összehasonlítottuk a fenti génpolimorfizmusok eloszlását a betegcsoportokban és egészséges kontroll személyekben. További célkitűzésünk volt a szérum-LDH és izoenzimeinek vizsgálata diabéteszes és nem-diabéteszes nefrózis szindrómás és nem-nefrózis szindrómás betegekben.

Az FN3K gén G900C génpolimorfizmusát 859 T2DM-ben szenvedő és 265 egészséges kontroll személyben, a GCKR génvariánsait 321 T2DM-ben, 455 metabolikus szindrómásban és 172 egészséges kontroll személyben PCR-RFLP módszerrel határoztuk meg. Retrospektív keresztmetszeti vizsgálattal 62 nefrózis szindrómás (NEPHR), 30 nem-nefrózis szindrómás, diabéteszes és nem-diabéteszes proteinuriás betegben (NON-NEPHR) és 21 hypoalbuminémiás gasztrointesztinális betegben (KONTR) hasonlítottuk össze a szérum-LDH és izoenzimeinek aktivitását.

Az FN3K G900C polimorfizmus genotípus eloszlása (GG: 41%, GC: 54%, CC: 5%) követte a Hardy-Weinberg eloszlást. A CC genotípus esetében, a HbA_{1c} értéke szignifikánsan

alacsonyabb volt a többi genotípushoz képest (CC: $6,48 \pm 0,15$ %; GC: $7,66 \pm 0,09$ %; GG: $7,68 \pm 0,09$ %; $p < 0,001$), náluk a diabéteszt szignifikánsan idősebb életkorban diagnosztizáltuk (CC: $56,0 \pm 1,90$ év; GC: $52,0 \pm 0,62$ év; GG: $50,1 \pm 0,71$ év; $p < 0,05$). Logisztikus regressziós analízissel a polimorfizmus és a diabéteszes mikrovaszkuláris szövődmények között szignifikáns összefüggés nem igazolódott (diabéteszes nefropátia: OR=0,796, 95% CI: 0,364-1,744, $p=0,569$; diabéteszes neuropátia: OR=1,754, 95% CI: 0,806-3,393 $p=0,170$; diabéteszes retinopátia: OR=1,213, 95% CI: 0,470-3,132, $p=0,690$). A GCKR mindkét génvariánsa (rs780094, rs1260326) összefüggést mutatott a szérumtriglicerid-szinttel, az éhomi vércukorszinttel és a CIMT-tel. Logisztikus regressziós vizsgálatunk alapján mindkét génvariáns a hipertrigliceridémia kockázati faktoraként kezelendő, azonban sem a T2DM-mel, sem a metabolikus szindrómával, sem a diabéteszes mikrovaszkuláris szövődményekkel nem sikerült kimutatnunk szignifikáns összefüggést. A NEPHR csoportban a NON-NEPHR és KONTR csoporthoz képest szignifikánsan magasabb szérum-LDH-aktivitást találtunk ($p < 0,001$). A szérum-LDH-aktivitás korrelált a szérumösszfehérje-szinttel ($r = -0,483$, $p < 0,001$), a szérumalbuminszinttel ($r = -0,563$, $p < 0,001$), a proteinúriával ($r = 0,412$, $p = 0,01$) és a szérumösszkoleszterin-szinttel ($r = 0,457$, $p = 0,001$). Diabéteszes és nem-diabéteszes nefrózis szindrómás betegekben az LDH-2 izoenzim aktivitása szignifikánsan magasabb volt a kontrollokhoz képest ($p < 0,001$), és korrelált a szérumösszfehérje-szinttel ($r = -0,656$, $p < 0,001$), a szérumalbuminszinttel ($r = -0,587$, $p < 0,001$), a proteinúriával ($r = 0,628$, $p < 0,001$), a szérumösszkoleszterin-szinttel ($r = 0,509$, $p < 0,001$). Lineáris regressziós vizsgálat eredménye alapján a szérum-LDH-aktivitás független prediktorai a szérumösszfehérje-szint, míg az LDH-2 izoenzim esetében a szérumalbuminszint és a proteinuria. Átlagosan 300 hetes követési periódus alatt az LDH medián alatti és feletti szinttel rendelkező betegek vese túlélési görbéi elváltak egymástól, azonban a közöttük lévő különbség nem volt szignifikáns.

A kapott eredmények alapján arra következtetünk, hogy T2DM-ben az FN3KG900C génpolimorfizmusa összefüggést mutat a HbA_{1c}-vel, azonban nem függ össze a diabéteszes mikrovaszkuláris szövődményekkel. Eredményeink tovább erősítik azt a megfigyelést, hogy a GCKR rs780094 és az rs1260326 génvariánsok összefüggést mutatnak a szérumtriglicerid- és az éhomi vércukorszinttel. Kimutattuk, hogy mindkét variáns összefügg a CIMT-tel. Azonban nem találtunk esetükben összefüggést sem a T2DM-mel, sem a metabolikus szindrómával, sem a diabéteszes mikrovaszkuláris szövődményekkel. További következtetésünk, hogy nefrózis szindrómában a szérum-LDH és LDH-2 aktivitás emelkedése a nefrózis szindróma aktivitását jelezheti, azonban a betegség progressziójában nincs prediktív szerepe.

8. PhD TÉZISEK

1. Az FN3Kgén G900C gőnpolimorfizmusa (rs1056534) összefőggést mutat a HbA_{1c}-szinttel, a T2DM diagnózisakor megállapított életkorral és a diabétesz fennállásának időtartamával, azonban nem függ össze a diabéteszes mikrovaszkuláris szővődményekkel.
2. AGCKRgén két funkcionális gőnpolimorfizmusa (rs780094, rs1260326) T2DM-ben összefőggésben áll a szőrumtriglicerid-szinttel, az őhomi vércukorszinttel és a HDL-koleszterin szinttel. Metabolikus szindrómás betegekben összefőggést mutat a szőrumtriglicerid-szinttel, az őhomi vércukorszinttel és az LDL-koleszterin szinttel.
3. A GCKRgén két funkcionális gőnpolimorfizmusa (rs780094, rs1260326) összefőggésben áll metabolikus szindrómás egyőnekekben és T2DM-ben, az ateroszklerózist és kardiovaszkuláris rizikót előrejelző markerrel, a CIMT-el, azonban nem függ össze a diabéteszes mikrovaszkuláris szővődményekkel.
4. Diabéteszes- és nem-diabéteszes eredetű nefrózis szindrómában a szőrum-LDH-szint korrelál a nefrózis szindrómát jellemző rutin laboratóriumi paraméterekkel. Az LDH szőrumszintje és a vese-specifikus LDH-2 izoenzim szintje a nefrózis szindróma aktivitását jelzi, azonban a betegség progressziójában nincs prediktív szerepe.

9. IRODALOMJEGYZÉK

Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, Bilous RW, Cull CA, Holman RR, UKPDS GROUP: Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney Int* 2003;63(1):225-232.

Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC Jr; International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; International Association for the Study of Obesity: Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009;120(16):1640-1645.

Bansal S, Buring JE, Rifai N, Mora S, Sacks FM, Ridker PM: Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *JAMA* 2007;298(3):309-316.

Barroso I, Gurnell M, Crowley VE, Agostini M, Schwabe JW, Soos MA, Maslen GL, Williams TD, Lewis H, Schafer AJ, Chatterjee VK, O'Rahilly S: Dominant negative mutations in human PPAR γ associated with severe insulin resistance, diabetes mellitus and hypertension. *Nature* 1999;402(6764):880-883.

Beck-Nielsen H, Groop LC: Metabolic and genetic characterization of prediabetic states. Sequence of events leading to non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1994;94(5):1714-1721.

Bell GI, Xiang KS, Newman MV, Wu SH, Wright LG, Fajans SS, Spielman RS, Cox NJ: Gene for non-insulin-dependent diabetes mellitus (maturity-onset diabetes of the young subtype) is linked to DNA polymorphism on human chromosome 20q. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88(4):1484-1488.

BrownKS, Kalinowski SS, Megill JR, DurhamSK, Mookhtiar KA: Glucokinase regulatory protein may interact with glucokinase in the hepatocyte nucleus. *Diabetes* 1997;46(2):179-186.

Burton JC, Harper JS, Bailey E, Feehally J, Harris GPK, Walls J: Turnover of human tubular cells exposed to protein *in vivo* and *in vitro*. *Kidney Int* 2001;59:507-514.

Collard F, Delpierre G, Stroobant V, Matthijs G, Van Schaftingen E: A mammalian protein homologous to fructosamine-3-kinase is a ketosamine-3-kinase acting on psicosamines and ribulosamines but not on fructosamines. *Diabetes* 2003;52:2888-2895.

Conner JR, Beisswenger PJ, Szwegold BS: The expression of the genes for fructosamine-3-kinase and fructosamine-3-kinase-related protein appears to be constitutive and unaffected by environmental signals. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;323:932-936.

Delpierre G, Collard F, Fortpied J, Van Schaftingen E: Fructosamine 3-kinase is involved in an intracellular deglycation pathway in human erythrocytes. *Biochem J* 2002;365:801-808.

Delpierre G, Van Schaftingen E: Fructosamine 3-kinase, an enzyme involved in protein deglycation. *Biochem Soc Trans* 2003;31:1354-1357.

Delpierre G, Vanstapel F, Stroobant V, Van Schaftingen E: Conversion of a synthetic fructosamine into its 3-phospho derivative in human erythrocytes. *Biochem J* 2000;352(3):835-839.

Delpierre G, Veiga-da-Cunha M, Vertommen D, Buyschaert M, Van Schaftingen E: Variability in erythrocyte fructosamine 3-kinase activity in humans correlates with polymorphisms in the FN3K gene and impacts on haemoglobin glycation at specific sites. *Diabetes Metab* 2006;32:31-39.

Delpierre G, Vertommen D, Communi D, Rider MH, Van Schaftingen E: Identification of fructosamine residues deglycated by fructosamine-3-kinase in human hemoglobin. *J Biol Chem* 2004;279:27613-27620.

Dudley CR, Keavney B, Stratton IM, Turner RC, Ratcliffe PJ: U.K. Prospective Diabetes Study. XV: Relationship of renin-angiotensin system gene polymorphisms with microalbuminuria in NIDDM. *Kidney Int* 1995;48(6):1907-1911.

Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ: The metabolic syndrome. *Lancet*. 2005;365(9468):1415-1428.

Eriksson UJ, Wentzel P, Minhas HS, Thornalley PJ: Teratogenicity of 3-deoxyglucosone and diabetic embryopathy. *Diabetes*. 1998;47(12):1960-1966.

Fernández-Novell JM, Castel S, Bellido D, Ferrer JC, Vilaró S, Guinovart JJ: Intracellular distribution of hepatic glucokinase and glucokinase regulatory protein during the fasted to refeed transition in rats. *FEBS Lett*. 1999;459(2):211-214.

Gerhardinger C, Marion MS, Rovner A, Glomb M, Monnier VM: Novel degradation pathway of glycated amino acids into free fructosamine by a *Pseudomonas* sp. soil strain extract. *J Biol Chem* 1995;270(1):218-224.

Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G: Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996;19(3):257-267.

Groop L: Genetics of the metabolic syndrome. *Br J Nutr* 2000;83 Suppl 1:S39-48.

Grundy SM.: Obesity, metabolic syndrome, and coronary atherosclerosis. *Circulation* 2002;105(23):2696-2698.

Gugliucci A, Bendayan M: Renal fate of circulating advanced glycated end products (AGE): evidence for reabsorption and catabolism of AGE-peptides by renal proximal tubular cells. *Diabetologia*. 1996;39(2):149-160.

Haneda M, Polonsky KS, Bergenstal RM, Jaspan JB, Shoelson SE, Blix PM, Chan SJ, Kwok SC, Wishner WB, Zeidler A: Familial hyperinsulinemia due to a structurally abnormal

insulin. Definition of an emerging new clinical syndrome. *N Engl J Med* 1984;310(20):1288-1294.

Harris M, Zimmet P: Classification of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. In Alberti K, Zimmet P, Defronzo R, editors. *International Textbook of Diabetes Mellitus Second Edition* Chichester: John Wiley and Sons Ltd; 1997;9-23.

Huijgen HJ, Sanders GT, Koster RW, Vreeken J, Bossuyt PM: The clinical value of lactate dehydrogenase in serum: a quantitative review. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997;35:569-579.

dela Iglesia N, Veiga-da-Cunha M, Van Schaftingen E, Guinovart JJ, Ferrer JC: Glucokinase regulatory protein is essential for the proper subcellular localisation of liver glucokinase. *FEBS Lett.* 1999;456(2):332-338.

Ishii T, Hirose H, Saito I, Nishikai K, Maruyama H, Saruta T: Tumor necrosis factor alpha gene G-308A polymorphism, insulin resistance, and fasting plasma glucose in young, older, and diabetic Japanese men. *Metabolism* 2000;49(12):1616-1618.

Iynedjian PB: Molecular physiology of mammalian glucokinase. *Cell Mol Life Sci* 2009;66(1):27-42.

Javed MH, Jafri AH, Yousuf FA: Detection of lactate dehydrogenase isoenzyme-M in body fluids containing albumin. *Ann Clin Biochem* 1999;36:250-251.

Jeppsson JO, Kobold U, Barr J, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, Miedema K, Mosca A, Mauri P, Paroni R, Thienpont L, Umemoto M, Weykamp C, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC): Approved IFCC reference method for the measurement of HbA_{1c} in human blood. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:78-89.

Johnston ID, Jones NF, Scoble JE, Yuen CT, Price RG: The diagnostic value of urinary enzyme measurements in hypertension. *Clin Chim Acta* 1983;133:317-325.

KangKS, Ha YC, Cho HK, ParkKS, Kim HU: Changes of lactate dehydrogenase and its isoenzyme activity in renal diseases. *Nephron* 1991;57:55-59.

Køster B, Fenger M, Poulsen P, Vaag A, Bentzen J: Novel polymorphisms in the GCKR gene and their influence on glucose and insulin levels in a Danish twin population. *Diabet Med* 2005;22(12):1677-1682.

Macfarlane WM, Frayling TM, Ellard S, Evans JC, Allen LI, Bulman MP, Ayers S, Shepherd M, Clark P, Millward A, Demaine A, Wilken T, Docherty K, Hattersley AT: Missense mutations in the insulin promoter factor-1 gene predispose to type 2 diabetes *J Clin Invest*. 2000;06(5):717.

Matschinsky FM, Glaser B, Magnuson MA: Pancreatic beta-cell glucokinase: closing the gap between theoretical concepts and experimental realities. *Diabetes* 1998;47(3):307-315.

Mojžiš A, Ninger E: Relation of the activity of urinary lactate dehydrogenase to the activity of glomerulonephritis. *Clin Chim Acta* 1970;27:145-148.

MurdockBC, Baker JP, DeLong E, Roe RC, Osofsky GS: Urine and serum lactic dehydrogenase, lactic dehydrogenase isoenzymes, and alkaline phosphatase in the nephrotic syndrome. *Kidney Int* 1981;19:710-715.

Nagy J, Wittmann I, Kammerer L: Vesezővődmények diabetesben. *Diabetes mellitus. Elmélet és klinikum Medicina* 2002;450-478.

Nanjo K, Miyano M, Kondo M, Sanke T, Nishimura S, Miyamura K, Inouye K, Given BD, Chan SJ, Polonsky KS, et al. Insulin Wakayama: familial mutant insulin syndrome in Japan. *Diabetologia* 1987;30(2):87-92.

Neel JV.: Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? *Am J Hum Genet* 1962;14:353-362.

Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A: Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *JAMA* 2007;298(3):299-308.

Orho M, Nikula-Ijäs P, Schalin-Jääntti C, Permutt MA, Groop LC: Isolation and characterization of the human muscle glycogen synthase gene. *Diabetes* 1995;44(9):1099-1105.

Orho-Melander M, Melander O, Guiducci C, Perez-Martinez P, Corella D, Roos C, Tewhey R, Rieder MJ, Hall J, Abecasis G, Tai ES, Welch C, Arnett DK, Lyssenko V, Lindholm E, Saxena R, de Bakker PI, Burt N, Voight BF, Hirschhorn JN, Tucker KL, Hedner T, Tuomi T, Isomaa B, Eriksson KF, Taskinen MR, Wahlstrand B, Hughes TE, Parnell LD, Lai CQ, Berglund G, Peltonen L, Vartiainen E, Jousilahti P, Havulinna AS, Salomaa V, Nilsson P, Groop L, Altshuler D, Ordovas JM, Kathiresan S: Common missense variant in the glucokinase regulatory protein gene is associated with increased plasma triglyceride and C-reactive protein but lower fasting glucose concentrations. *Diabetes* 2008;57(11):3112-3121.

Perez-Martinez P, Corella D, Shen J, Arnett DK, Yiannakouris N, Tai ES, Orho-Melander M, Tucker KL, Tsai M, Straka RJ, Province M, Kai CS, Perez-Jimenez F, Lai CQ, Lopez-Miranda J, Guillen M, Parnell LD, Borecki I, Kathiresan S, Ordovas JM: Association between glucokinase regulatory protein (GCKR) and apolipoprotein A5 (APOA5) gene polymorphisms and triacylglycerol concentrations in fasting, postprandial, and fenofibrate-treated states. *Am J Clin Nutr* 2009;89(1):391-399.

Pollex RL, Hegele RA: Genetic determinants of the metabolic syndrome. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006;3(9):482-489.

Poulsen P, Vaag A, Kyvik K, Beck-Nielsen H: Genetic versus environmental aetiology of the metabolic syndrome among male and female twins. *Diabetologia* 2001;44(5):537-543.

Pratley RE, Weyer C: Progression from IGT to type 2 diabetes mellitus: the central role of impaired early insulin secretion. *Curr Diab Rep* 2002;2(3):242-248.

Puavilai G, Chanprasertyotin S, Sriphrapradaeng A: Diagnostic criteria for diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance: 1997 criteria by the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (ADA), 1998 WHO consultation criteria, and 1985 WHO criteria. *World Health Organization. Diabetes Res Clin Pract* 1999;44:21-26.

Qi Q, Wu Y, Li H, Loos RJ, Hu FB, Sun L, Lu L, Pan A, Liu C, Wu H, Chen L, Yu Z, Lin X: Association of GCKR rs780094, alone or in combination with GCK rs1799884, with type 2 diabetes and related traits in a Han Chinese population. *Diabetologia* 2009;52(5):834-843.

Quiros PL, Ceballos M, Remon C, Lozano A, del Castillo R, Aznar E, Perez Perez-Ruilopez MA, Rivero M, Fernandez RE: Study of the biopsed nephrotic syndrome for 20 years in the Cadiz Bay Area: histological correspondence, renal prognosis and clinical prognostic factors. *Nefrologia* 2005;25:147-154.

Reiling E, van 't Riet E, Groenewoud MJ, Welschen LM, van Hove EC, Nijpels G, Maassen JA, Dekker JM, 't Hart LM: Combined effects of single-nucleotide polymorphisms in GCK, GCKR, G6PC2 and MTNR1B on fasting plasma glucose and type 2 diabetes risk. *Diabetologia* 2009;52(9):1866-1870.

Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR: Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002;347(20):1557-1565.

Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, Burt NP, de Bakker PI, Chen H, Roix JJ, Kathiresan S, Hirschhorn JN, Daly MJ, Hughes TE, Groop L, Altshuler D, Almgren P, Florez JC, Meyer J, Ardlie K, Bengtsson Boström K, Isomaa B, Lettre G, Lindblad U, Lyon HN, Melander O, Newton-Cheh C, Nilsson P, Orho-Melander M, Råstam L, Speliotes EK, Taskinen MR, Tuomi T, Guiducci C, Berglund A, Carlson J, Gianniny L, Hackett R, Hall L, Holmkvist J, Laurila E, Sjögren M, Sterner M, Surti A, Svensson M, Svensson M, Tewhey R, Blumenstiel B, Parkin M, Defelice M, Barry R, Brodeur W, Camarata J, Chia N, Fava M, Gibbons J, Handsaker B, Healy C, Nguyen K, Gates C, Sougnez C, Gage D, Nizzari M, Gabriel SB, Chirn GW, Ma Q, Parikh H, Richardson D, Ricke D, Purcell S: Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science* 2007;316(5829):1331-1336.

Scherberich JE: Immunological and ultrastructural analysis of loss of tubular membrane-bound enzymes in patients with renal damage. *Clin Chim Acta* 1989;185:271-282.

Serban M: Urinary LDH activity and its isoenzyme pattern in renal pathology. *Rev Roum Méd Int* 1973;10:43-47.

Shepherd M, Ellis I, Ahmad AM, Todd PJ, Bowen-Jones D, Mannion G, Ellard S, Sparkes AC, Hattersley AT: Predictive genetic testing in maturity-onset diabetes of the young (MODY). *Diabet Med* 2001;18(5):417-421.

Shiota C, Coffey J, Grimsby J, Grippo JF, Magnuson MA: Nuclear import of hepatic glucokinase depends upon glucokinase regulatory protein, whereas export is due to a nuclear export signal sequence in glucokinase. *J Biol Chem* 1999;274(52):37125-37130.

Sjögren M, Lyssenko V, Jonsson A, Berglund G, Nilsson P, Groop L, Orho-Melander M: The search for putative unifying genetic factors for components of the metabolic syndrome. *Diabetologia* 2008;51(12):2242-2251.

Snieder H, Sawtell PA, Ross L, Walker J, Spector TD, Leslie RD: HbA_{1c} levels are genetically determined even in type 1 diabetes: evidence from healthy and diabetic twins. *Diabetes*. 2001;50(12):2858-2863.

Sparsø T, Andersen G, Nielsen T, BurgdorfKS, Gjesing AP, Nielsen AL, Albrechtsen A, Rasmussen SS, Jørgensen T, Borch-Johnsen K, Sandbaek A, Lauritzen T, Madsbad S, Hansen T, Pedersen O: The GCKR rs780094 polymorphism is associated with elevated fasting serum triacylglycerol, reduced fasting and OGTT-related insulinaemia, and reduced risk of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2008;51(1):70-75.

Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, Blanche PJ, Holl LG, Sacks FM, Hennekens CH: A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1996;276(11):882-888.

Szwegold BS, Beisswenger PJ: Enzymatic deglycation--a new paradigm or an epiphenomenon? *Biochem Soc Trans* 2003;31:1428-1432.

Szwegold BS, Howell S, Beisswenger PJ: Human fructosamine-3-kinase: purification, sequencing, substrate specificity, and evidence of activity in vivo. *Diabetes* 2001;50:2139-2147.

Tager H, Given B, Baldwin D, Mako M, Markese J, Rubenstein A, Olefsky J, Kobayashi M, Kolterman O, Poucher R: A structurally abnormal insulin causing human diabetes. *Nature* 1979;281(5727):122-125.

Tam CH, Ma RC, So WY, Wang Y, Lam VK, Germer S, Martin M, Chan JC, Ng MC: Interaction effect of genetic polymorphisms in glucokinase (GCK) and glucokinase regulatory protein (GCKR) on metabolic traits in healthy Chinese adults and adolescents. *Diabetes* 2009;58(3):765-769.

Tao T, Tanizawa Y, Matsutani A, Matsubara A, Kaneko T, Kaku K: HepG2/erythrocyte glucose transporter (GLUT1) gene in NIDDM: a population association study and molecular scanning in Japanese subjects. *Diabetologia* 1995;38(8):942-947.

Togawa A, Yamamoto T, Hishida A: Nephrotic syndrome: pathophysiology, classification and diagnostic criteria. *Nippon Rinsho* 2004;62:1777-1783.

van den Ouweland JM, Lemkes HH, Ruitenbeek W, Sandkuijl LA, de Vijlder MF, Struyvenberg PA, van de Kamp JJ, Maassen JA.: Mutation in mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) gene in a large pedigree with maternally transmitted type II diabetes mellitus and deafness. *Nat Genet* 1992;1(5):368-371.

Vaxillaire M, Cavalcanti-Proença C, Dechaume A, Tichet J, Marre M, Balkau B, Froguel P; DESIR Study Group: The common P446L polymorphism in GCKR inversely modulates fasting glucose and triglyceride levels and reduces type 2 diabetes risk in the DESIR prospective general French population. *Diabetes* 2008;57(8):2253-2257.

Veiga da-Cunha M, Jacquemin P, Delpierre G, Godfraind C, Théate I, Vertommen D, Clotman F, Lemaigre F, Devuyst O, Van Schaftingen E: Increased protein glycation in fructosamine 3-kinase-deficient mice. *Biochem J* 2006;399:257-264.

Veiga-da-Cunha M, Delplanque J, Gillain A, Bonthron DT, Boutin P, Van Schaftingen E, Froguel P: Mutations in the glucokinase regulatory protein gene in 2p23 in obese French caucasians. *Diabetologia* 2003;46(5):704-711.

Veiga-da-Cunha M, Xu LZ, Lee YH, Marotta D, Pilkis SJ, Van Schaftingen E: Effect of mutations on the sensitivity of human beta-cell glucokinase to liver regulatory protein. *Diabetologia* 1996;39(10):1173-1179.

Vlassara H, Bucala R: Recent progress in advanced glycation and diabetic vascular disease: role of advanced glycation end product receptors. *Diabetes* 1996;45 Suppl 3:S65-66.

Vlassara H, Bucala R, Striker L: Pathogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biologic, and clinical implications for diabetes and aging. *Lab Invest* 1994;70:138-151.

Warner JP, Leek JP, Intody S, Markham AF, Bonthron DT: Human glucokinase regulatory protein (GCKR): cDNA and genomic cloning, complete primary structure, and chromosomal localization. *Mamm Genome* 1995;6(8):532-536.

Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H: Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004;27(5):1047-1053.

Willer CJ, Sanna S, Jackson AU, Scuteri A, Bonnycastle LL, Clarke R, Heath SC, Timpson NJ, Najjar SS, Stringham HM, Strait J, Duren WL, Maschio A, Busonero F, Mulas A, Albai G, Swift AJ, Morken MA, Narisu N, Bennett D, Parish S, Shen H, Galan P, Meneton P, Hercberg S, Zelenika D, Chen WM, Li Y, Scott LJ, Scheet PA, Sundvall J, Watanabe RM, Nagaraja R, Ebrahim S, Lawlor DA, Ben-Shlomo Y, Davey-Smith G, Shuldiner AR, Collins R, Bergman RN, Uda M, Tuomilehto J, Cao A, Collins FS, Lakatta E, Lathrop GM, Boehnke M, Schlessinger D, Mohlke KL, Abecasis GR: Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease. *Nat Genet* 2008;40(2):161-169.

Wittmann I, Molnár GA, Degrell P, Wagner Z, Tamaskó M, Laczy B, Brasnyó P, Wagner L, Nagy J: Prevention and treatment of diabetic nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract* 2005;68(S1):S36-42.

Wittman I, Molnár GA, Wagner L, Wagner Z, Tamasko M, Laczy B, Brasnyó P, Halmai R, Markó L, Nagy J: A metabolikus szindróma két koncepciójának összehasonlítása: WHO-kritériumok és ATP III feltételrendszer. *Diabetologia Hungarica* 2005;13(4):263-272.

Wittmann I, Wagner Z, Wagner L, Mazák I, Késői I, Molnar G, Nagy J: A diabeteses nephropathia jelentősége és korszerű kezelése- a genetikai kutatásoktól a betegágyig. *Háziorvos Továbbképző Szemle* 2002;7:291-292.

Wittmann I, Wagner Z, Wagner L, Mazák I, Nagy J: A nem-enzimatis glikáció szerepe az öregedés, az atherosclerosis és a diabeteses nephropathia patofiziológiájában és klinikai képeznek kialakulásában. *Diab Hung* 1999;1: 23-28.

Ziyadeh FN, Cohen MP: Effects of glycated albumin on mesangial cells: evidence for a role in diabetic nephropathy. *Mol Cell Biochem* 1993;125(1):19-25.

10.KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

A dolgozat alapjául szolgáló eredeti közlemények

1. **Mohás M**, Markó L, Molnár GA, Cseh J, Laczy B, Tamaskó M, Balla J, Kappelmayer J, Wagner L, Wagner Z, Csiky B, Nagy J, Wittmann I: A szérum-LDH-aktivitás és a vese-LDH izoenzim jelentősége nephrosis szindrómában. *Magyar Belorv Arch* 2007;62:47-52.
2. **Mohás M**, Szigeti N, Markó L, Molnár GA, Cseh J, Laczy B, Tamaskó M, Balla J, Kappelmayer J, Wagner L, Wagner Z, Csiky B, Nagy J, Wittmann I: Serum total LDH activity and LDH-2 isozyme in nephrotic syndrome. *Kidney Blood Press Res* 2008;31(1):47-54.
Impakt faktor: 1,268
3. **Mohás M**, Kisfali P, Baricza E, Mérei Á, MaászA, Cseh J, Mikolás E, Szijártó IA, Melegh B, Wittmann I: A polymorphism within the fructosamine-3-kinase gene is associated with HbA_{1c} levels and the onset of type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*2010;118(3):209-212.
Impakt faktor: 1,826
4. **Mohás M**,Kisfali P, Járomi L, Maász A, Fehér E, Csöngéi V, Polgár N, Sáfrány E, Cseh J, Sümegi K, Hetyésy K, Wittmann I, Melegh B: GCKR gene functional variants in type 2 diabetes and metabolic syndrome: do the rare variants associate with increased carotid intima-media thickness? *Cardiovasc Diabetol*2010;29(9):79.
Impakt faktor: 2,720
5. **Mohás M**, Kisfali P, Baricza E, Mérei Á,Duga B, Maász A, Cseh J, Mikolás E, Szijártó I, Melegh B, Wittmann I: A fruktózamin-3-kináz enzim C900G gén polimorfizmusának vizsgálata 2-es típusú cukorbetegekben. *Diabetologica Hungarica* 2011;19(1):43-48.

Egyéb közlemények

1. Tamaskó M, Kalmár Nagy K, Degrell P, Molnár GA, Dérczy K, Schmidt E, Kalabay L, Wagner L, Wagner Z, Mazák I, Laczy B, Markó L, **Mohás M**, Nagy J, Wittmann I: Végtagi gangraenát okozó calciphylaxis pancreas-vese transzplantáción átesett betegünkben. A fetuin lehetséges szerepe. *Magyar Belorv Arch* 2004;57:190-193.
2. Molnár GA, Wagner Z, Markó L, Kőszegi T, **Mohás M**, Kocsis B, Matus Z, Wagner L, Tamaskó M, Mazák I, Laczy B, Nagy J, Wittmann I: Urinary ortho-tyrosine excretion in diabetes mellitus and renal failure: evidence for hydroxyl radical production. *Kidney Int* 2005;68(5):2281-2287.
Impakt faktor: 4,927
3. Wittmann I, Markó L, Degrell P, Molnár GA, Tamaskó M, Laczy B, **Mohás M**, Wagner Z, Wagner L, Nagy J: A proteinuria nefronpusztuláshoz és ezáltal atherosclerosishoz vezet diabetes mellitusban. *Focus Medicinae* 2005;7(1):19-22.
4. Szelestei T, Wagner Z, Molnár GA, Tamaskó M, Wagner L, Kocsis B, Markó L, **Mohás M**, Laczy B, Nagy J, Wittmann I: L-arginin szérumszintje, valamint a glutation-peroxidáz és kataláz gének variációi 2-es típusú cukorbetegekben. *Magyar Belorv Arch* 2005;58(1):7-10.
5. Tamaskó M, Molnár GA, Wagner Z, Mazák I, Vágási K, Wagner L, Laczy B, Markó L, **Mohás M**, Nagy J, Wittmann I: Folyamatos intersticiális cukormonitorozással (CGMS) javítható a glikémia diabeteszes betegekben. Előzetes eredmények. *Diabetologia Hungarica* 2005;13(4):229-235.
6. Wittmann I, Markó L, Wagner L, Wagner Z, Molnár GA, Tamaskó M, Laczy B, **Mohás M**, Boros AG, Nagy J: Proteinuria diabetes mellitusban. *Medicus Anonymus* 2005;13(12):13-15.
7. Wittmann I, Markó L, Degrell P, Molnár GA, Tamaskó M, Laczy B, **Mohás M**, Wagner Z, Wagner L, Nagy J: A proteinuria nephronpusztuláshoz és ezáltal atherosclerosishoz vezet diabetes mellitusban. *Nephrológiai Útmutató. A Magyar*

Nephrológiai Társaság szakmai irányelvei. Szerk.: Túri S., Mátyus J., Kiss I., Kárpáti I. Medition Kiadó, Budapest, 2005. 147-152. old.

8. Wittmann I, Wagner L, Wagner Z, Molnár GA, Tamaskó M, Laczy B, Markó L, **Mohás M**, Nagy J: Cukorbetegség kóros albuminúriája mint cardiovascularis kockázati tényező. *Lege Artis Med* 2005;15(12):891-894.
9. Wittmann I, Markó L, Molnár GA, Tamaskó M, Laczy B, **Mohás M**, Cseh J, Wagner Z, Wagner L: Az endotheldysfunctio gyógyszeres kezelése. *Granum* 2006;9(4):7-10.
10. Laczy B, Molnár GA, Kőszegi T, Wagner L, Wagner Z, Tamaskó M, Markó L, **Mohás M**, Wittmann I: Az acetil-szalicilsav egyszeri, nagy dózisban javítja az anaemiát 2-es típusú diabetes mellitusban és krónikus veseelégtelenségben a neocytolysis gátlásán keresztül. *Magyar Belorv Arch* 2006;61(4):274-280.
11. Wittmann I, Molnár GA, Tamaskó M, Laczy B, Markó L, **Mohás M**, Cseh J, Wagner Z, Wagner L: A protein kináz C- β szelektív gátlásának jelentősége a diabeteszes microvascularis szövődmények kezelésében. *Diabetologia Hungarica* 2006;14(Suppl 4):13-18.
12. Wagner L, Laczy B, Tamaskó M, Mazák I, Markó L, Molnár GA, Wagner Z, **Mohás M**, Cseh J, Fekete A, Wittmann I: Cigarette smoke-induced alterations in endothelial nitric oxid synthase phosphorylation: role of protein kinase C. *Endothelium* 2007;14(4):245-255.

Impakt faktor: 1,740

13. Maász A, Kisfali P, Horvatovich K, **Mohás M**, Markó L, Csöngői V, Faragó B, Járomi L, Magyar L, Sáfrány E, Sipeky Cs, Wittmann I, Melegh B: Apolipoprotein A5 T-1131Cvariant confers risk for metabolic syndrome. *Pathol Oncol Res* 2007;13(3):243-247.

Impakt faktor: 1,272

14. Wittmann I, Wagner L, Markó L, Tamaskó M, Laczy B, **Mohás M**, Cseh J, Melegh B: A hereditær haemochromatosis jelentősége a diabeteszes betegek gondozásában. *Orv Hetil* 2007;148(3):111-115.
15. Wagner Z, Wagner L, Tamaskó M, Markó L, **Mohás M**, Cseh J, Wittmann I: A renin-angiotenzin-rendszer patogenetikai szerepe az érkárosodás kialakulásában. *Háziorvos Továbbképző Szemle* 2007;12(1):47-51.
16. Laczy B, Markó L, Tamaskó M, Cseh J, Kőszegi T, Wagner L, Wagner Z, Molnár GA, **Mohás M**, Wittmann I: A pentoxifyllin és pentosan polysulphat kombinációs kezelés hatása a diabeteszes neuropathiára 2-es típusú diabetes mellitusban. *Diabetologia Hungarica* 2007;15(1):21-29.
17. Wittmann I, Molnár GA, Wagner L, Kőszegi T, Wagner Z, Laczy B, Tamaskó M, Markó L, **Mohás M**, Nagy J: Single dose of acetylsalicylic acid in patients with Type 2 diabetes mellitus and/or chronic renal failure ameliorates anaemia by decreasing the rate of neocytolysis. *Acta Physiol Hung* 2007;94(1-2):159-166.

Impakt faktor: 0,453

18. Wagner L, Bekő V, Wagner Z, Markó L, **Mohás M**, Nagy J, Wittmann I: Az anaemia korrekciójának jelentősége a diabeteszes nephropathia komplex kezelésében. *Háziorvosi Továbbképző Szemle* 2007;12:73-78.
19. Wittmann I, Laczy B, Mikolás E, Markó L, **Mohás M**, Cseh J, Wagner L: A dohányzás inzulinrezisztenciát okoz és növeli a 2-es típusú diabetes mellitus, illetve a metabolikus syndroma kialakulásának kockázatát. *Diabetologia Hungarica* 2007;15(4):305-311.
20. Kisfali P, **Mohás M**, Maasz A, Hadarits F, Markó L, Horvatovich K, Oroszlán T, Bagosi Z, Bujtor Z, Gasztonyi B, Wittmann I, Melegh B: Apolipoprotein A5IVS3+476A allelic variant associates with increased triglyceride levels and confers risk for development of metabolic syndrome in Hungarians. *Circ J* 2008;72:40-43.

Impakt faktor: 2,387

21. Degrell P, Wagner Z, Szijártó I, Wagner L, Markó L, **Mohás M**, Cseh J, Wittmann I: Morphology of glomerular hematuria is reproduced in vitro by carbonyl stress. *Nephron Exp Nephrol* 2008;110(1):25-30.

Impakt faktor: 1,596

22. Markó L, Molnár GA, Wagner Z, Kőszegi T, Matus Z, **Mohás M**, Kuzma M., Szijártó IA, Wittmann I: Immunnephelometria és nagyteljesítményű folyadékkromatográfia a microalbuminuria vizsgálatában. Újonnan javasolt határértékek vizsgálata. *Orv Hetil* 2008;149(2):59-67.

23. Kisfali P, **Mohás M**, Maász A, Hadarits F, Markó L, Oroszlán T, Bagosi Z, Lupkovic G, Gasztonyi B, Wittmann I, Melegh B: Az Apolipoprotein A5 gén IVS3+476A és 1259C allélvariánsok vizsgálata metabolikus szindrómában szenvedő betegekben. *Magyar Belorv Arch* 2008;61:123-127.

24. Csiky B, Markó L, **Mohás M**, Cseh J, Mikolás E, Szijártó I, Wittmann I.: The pleiotropic effects of losartan--the importance of decreasing uric acid level. *Lege Artis Med* 2008;18(10):663-6.

25. Vas T, Markó L, **Mohás M**, Cseh J, Mikolás E, Szijártó I, Wittmann I: Cardiovascularis rizikócsökkenés vesebetegekben. *Gránium* 2008;11(4):17-22.

26. Laczy B, Cseh J, **Mohás M**, Markó L, Tamaskó M, Kőszegi T, Molnár GA, Wagner Z, Wagner L, Wittmann I: Effects of pentoxifylline and pentosan polysulphate combination therapy on diabetic neuropathy in type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 2009;46(2):105-11.

Impakt faktor: 1,549

27. Degrell P, Cseh J, **Mohás M**, Molnár GA, Pajor L, Chatham JC, Fülöp N, Wittmann I.: Evidence of O-linked N-acetylglucosamine in diabetic nephropathy. *Life Sci* 2009;84(13-14):389-93.

Impakt faktor: 2,560

28. Markó L, Cseh J, Kőszegi T, Szabó Z, Molnár GA, **Mohás M**, Szigeti N, Wittmann I.: Storage at -80 degrees C decreases the concentration of HPLC-detected urinary albumin: possible mechanisms and implications. *J Nephrol* 2009;22(3):397-402.
Impakt faktor: 1,252
29. Szigeti N, Markó L, Molnár GA, Fábrián G, Cseh J, **Mohás M**, Figler M, Király A, Kőszegi T, Wittmann I.: Microalbuminuria in inflammatory bowel diseases using immunoturbidimetry and high-performance liquid chromatography. *Acta Gastroenterol Belg* 2009;72(4):394-401.
Impakt faktor: 1,010
30. Kiszfali P, **Mohás M**, Maász A, Hadarits F, Markó L, Brasnyó P, Horvatovich K, Oroszlán T, Bagosi Z, Bujtor Z, Gasztonyi B, Rinfel J, Wittmann I, Melegh B: Haplotype analysis of the apolipoprotein A5 gene in patients with metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*2010;20(7):505-11.
Impakt faktor: 3,438
31. Járomi L, Csöngéi V, Polgár N, Szolnoki Z, Maász A, Horvatovich K, Faragó B, Sipeky C, Sáfrány E, Magyar L, Kiszfali P, **Mohás M**, Janicsek I, Lakner L, Melegh B: Functional variants of glucokinase regulatory protein and apolipoprotein A5 genes in ischemic stroke. *J Mol Neurosci* 2010;41(1):121-128.
Impakt faktor: 2,922
32. Hadarits F, Kiszfali P, **Mohás M**, Maász A, Sümegi K, Szabó M, Hetyésy K, Valasek A, Janicsek I, Wittmann I, Melegh B: Stepwise positive association between APOA5 minor allele frequencies and increasing plasma triglyceride quartiles in random patients with hypertriglyceridemia of unclarified origin. *Pathol Oncol Res*2011;17(1):39-44.
Impakt faktor: 1,483 (2010)

33. Brasnyó P, Molnár GA, **Mohás M**, Markó L, Laczy B, Cseh J, Mikolás E, Szijártó IA, Mérei A, Halmai R, Mészáros LG, Sümegi B, Wittmann I: Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. *Br J Nutr* 2011;106(3):383-389.

Impakt faktor: 3,072 (2010)

34. Hadarits F, Kisfali P, **Mohás M**, Maász A, Duga B, Janicsek I, Wittmann I, Melegh B: Common functional variants of APOA5 and GCKR accumulate gradually in association with triglyceride increase in metabolic syndrome patients. *Mol Biol Rep* 2011. Közlésre elfogadva.

Impakt faktor: 1,875 (2010)

Összesített impakt faktor (idézhető absztraktok nélkül):37,350

Idézhető absztraktok

1. Markó L, Molnár GA, Wagner Z, Kőszegi T, Tamaskó M, Laczy B, Wagner L, Mazák I, Degrell P, Matus Z, Kocsis B, **Mohás M**, Nagy J, Wittmann I: Összefüggés egy vizelet hidroxil szabad gyök marker és a vörösvértestképzés között. *Hypertonia és Nephrologia* 2004;8(S4):94.
2. Tamaskó M, Wagner L, Laczy B, Molnár GA, Wagner Z, Markó L, **Mohás M**, Nagy J, Wittmann I: Az endotheliális nitrogén monoxid szintáz (eNOS) enzim foszforilációjának szerepe a dohányzás okozta endotél diszfunkció kialakulásában vörösvértestképzés között. *Hypertonia és Nephrologia* 2004;8(S4):115.
3. Wagner L, Laczy B, Wagner Z, Molnár GA, Tamaskó M, Mazák I, Markó L, **Mohás M**, Nagy J, Wittmann I: Az azotaemiában és 2-es típusú diabetes mellitusban (DM) kialakuló erythropoetin (EPO) rezisztencia acetilszalicilsavval áttörhető. *Hypertonia és Nephrologia* 2004;8(S4):94.
4. Wagner Z, Molnár M, Molnár GA, Tamaskó M, Laczy B, Markó L, **Mohás M**, Nagy J, Wittmann I: Az előrehaladott glikációs végtermékek szérum szintjét meghatározó tényezők dializált betegekben. *Hypertonia és Nephrologia* 2004;8(S4):95.
5. Wittmann I, Wagner L, Laczy B, Molnár GA, Wagner Z, Tamaskó M, Mazák I, Markó L, **Mohás M**, Nagy J: A 2-es típusú diabetes mellitusban és azotaemiában kialakuló erythropoetin-rezisztencia acetilszalicilsavval áttörhető. *Magyar Belorvosi Archivum* 2004;(S2):145.
6. Tamaskó M, **Mohás M**, Vas T, Kőszegi T, Molnár GA, Laczy B, Wagner L, Wagner Z, Markó L, Plávicz E, Nagy J, Wittmann I: A szérum-laktát dehidrogenáz aktivitás prediktív értéke nephrosis szindrómában. *Hypertonia és Nephrologia* 2005;9(S4):71.
7. Wittmann I, Markó L, Degrell P, Molnár GA, Tamaskó M, Laczy B, **Mohás M**, Wagner Z, Wagner L, Nagy J: Proteinuria leads to nephron-loss and this way to

atherosclerosis in diabetes mellitus *Acta Physiologia Hungarica* 2005;92(3-4):322-323.

8. Laczy B, Tamaskó M, Wagner Z, Wagner L, Kőszegi T, Molnár GA, Markó L, **Mohás M**, Cseh J, Nagy J, Wittmann I: A pentoxifyllin- és pentozán-poliszulfát kombinációs kezelés előnyösen befolyásolja a diabeteses neuropathiát és az albuminuriát. *Magyar Belorvosi Archivum* 2006;59(S2):104-105.
9. Markó L, Molnár GA, Wagner Z, Wagner L, Matus Z, Kőszegi T, Laczy B, Tamaskó M, **Mohás M**, Cseh J, Nagy J, Wittmann I: Vizelet fehérje glikoxidációs termékek meghatározása diabeteses betegekben. *Magyar Belorvosi Archivum* 2006;59(S2):111-112.
10. Markó L, Molnár GA, Wagner Z, Wagner L, Matus Z, Kőszegi T, Laczy B, Tamaskó M, **Mohás M**, Cseh J, Nagy J, Wittmann I: Determination of protein glycoxidation-products in the urine of diabetic patients. *Acta Physiologia Hungarica* 2006;93(2-3):210.
11. Wagner L, Laczy B, Tamaskó M, Mazák I, Markó L, Molnár GA, Wagner Z, **Mohás M**, Cseh J, Fekete A, Wittmann I: The effect of cigarette smoke on the phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase: role of protein kinase C. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22(S6):243-244.
12. Kisfali P, Horvatovich K, **Mohás M**, Maász A, Markó L, Csongei V, Faragó B, Járomi L, Magyari L, Sáfrány E, Sipeky C, Wittmann I, Melegh B: Common allelic variants of APOA5 gene in the metabolic syndrome. *Eur J Hum Genet* 2007;15(S1):210
13. Maász A, Horvatovich K, Kisfali P, **Mohás M**, Markó L, Csongei V, Faragó B, Járomi L, Magyari L, Sáfrány E, Sipeky C, Wittmann I, Melegh B: Apolipoprotein A5 T-1131C variant confers risk for metabolic syndrome. *Eur J Hum Genet*, 2007;15 (S1):178

14. Cseh J, Brasnyó P, **Mohás M**, Laczy B, Tamaskó M, Molnár GA, Wagner Z: Transzverzteratrol in vivo hatásainak vizsgálata 2-es típusú diabetes mellitusos betegekben. Előzetes eredmények. *Folia Hepatologica* 2007;11 (S3): 12-13
15. Wagner L, Laczy B, Boros AG, Tamaskó M, Mikolás E, Szijártó IA, Markó L, **Mohás M**, Cseh J, Fekete A, Wittmann I: Kivédhető-e a dohányzás nitrogén monoxid-termelést csökkentő hatása? *Folia Hepatologica* 2007;11(S3):40-41.
16. Cseh J, Degrell P, Fülöp N, Markó L, **Mohás M**, Pajor L, Chatham JC, Wittmann I: Diabéteszes nefrotátiában emelkedik az O-glikoziláció mennyisége a tubulusokban és a glomerulusokban. *Hypertonia és Nephrológia* 2008;12(S5):241.
17. Szigeti N, Markó L, Molnár GA, Cseh J, **Mohás M**, Mikolás E, Kőszegi T, Fábián Gy, Figler M, Király Á, Wittmann I: Microalbuminuria vizsgálata nagyteljesítményű folyadékkromatográfiás (HPLC) és immunturbidimetriás (IT) módszerrel gyulladásoos bélbetegségekben. *Hypertonia és Nephrológia* 2008;12(S5):238.
18. Markó L, Cseh J, Kőszegi T, Szabó Z, Molnár GA, **Mohás M**, Szigeti N, Szijártó I, Wittmann I: A HPLC-vel mérhető vizelet albumin mennyisége a -80°C-os tárolás során jelentősen csökken. Lehetséges mechanizmusok és következmények. *Hypertonia és Nephrológia* 2008;12(S5):222.
19. Kisfali P, **Mohás M**, Maász A, Hadarits F, Markó L, Késői I, Oroszlán T, Bagosi Z, Bujtor Z, Rinfel J, Gasztonyi B, Wittmann I, Melegh B: Apolipoprotein A5 gene APOA5*2 haplotype variant confers risk for the development of metabolic syndrome. *Eur J Hum Genet*, 2008;12 (S2):335
20. Kisfali P, **Mohás M**, MaaszA, Hadarits F, Késői I, Markó L, Horvatovich K, Oroszlán T, Bagosi Z, Bujtor Z, Gasztonyi B, Wittmann I, Melegh B: Haplotypes of APOA5 gene in the metabolic syndrome. *Clin Chem Lab Med* 2008;46(8):34.
21. **Mohás M**, Kisfali P, Baricza E, Mérei Á, Duga B, Maász A, Cseh J, Mikolás E, Szijártó IA, Melegh B, Wittmann I: A polymorphism within the fructosamine-3-kinase

gene associates with HbA_{1c} and the onset of type 2 diabetes. European Human Genetics Conference 2009. *Eur J Hum Genet* 2009;17(S2):380.

22. Kisfali P, **Mohás M**, Maasz A, Hadarits F, Oroszlán T, Bagosi Z, Bujtor Z, Gasztonyi B, Wittmann I, Melegh B: APOA5 gene polymorphism and triglyceride levels in metabolic syndrome patients. *Eur J Hum Genet* 2009;17(S2):263.
23. **Mohás M**, Kisfali P, Járomi L, Maász A, Fehér E, Csöngéi V, Polgár N, Sáfrány E, Cseh J, Sümegi K, Hetyésy K, Wittmann I, Melegh B: GCKR gene functional variants in patients with type 2 diabetes and metabolic syndrome: do the rare variants also associate with an increased carotid intima-media thickness in metabolic syndrome? *J Hum Genet* 2010;18(S1):256.
24. **Mohás M**, Kisfali P, Mérei Á, Maász A, Cseh J, Mikolás E, Szijártó I, Melegh B: A fruktózamin-3-kináz G900C génpolimorfizmusa összefügg a HbA_{1c}-szinttel és a 2-es típusú diabetes mellitus diagnózisakor megállapított életkorral. *Diabetologica Hungarica* 2010;18:(S1):168-169.
25. Kisfali P, **Mohás M**, Maász A, Hadarits F, Hetyésy K, Melegh B: GALNT2 and TRIB1 genes polymorphisms and triglyceride levels in metabolic syndrome patients. *Eur J Hum Genet* 2010;18(S1):265.
26. Brasnyó P, Molnár GA, Mohás M, Markó L, Laczy B, Cseh J, Mikolás E, Szijártó IA, Mérei Á, Halmai R, Mészáros LG, Sümegi B, Wittmann I: Effect of resveratrol on insulin sensitivity, oxidative stress and Akt pathway in humans. *Diabetologia* 2010;53(S1):301.

11.KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A Ph.D.disszertációm alapjául szolgáló kutatómunkát a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karán a II. sz. Belgyógyászati Klinika és Nephrologiai Centrumban, továbbá a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karán az Orvosi Genetika Intézetben végeztem.

Elsőként, szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, **Dr. Wittmann István** Professzor Úrnak és **Dr. Melegh Béla** Professzor Úrnak a támogatásért, bizalomért, tudományos munkámban nyújtott folyamatos, gondos irányításért és az építő kritikai bírálatokért.

Szeretnék köszönetet mondani Prof. Dr. Nagy Juditnak, a számos értékes klinikai és tudományos észrevételért.

Köszönöm Dr. Brasnyó Pálnak, Dr. Csiky Botondnak, Dr. Degrell Péternek, Dr. Halmai Richárdnak, Dr. Kassai Gábornak, Dr. Laczy Boglárkának, Dr. Molnár Gergőnek, Dr. Pintér Istvánnak, Dr. Szigeti Nórának, Dr. Tamaskó Mónikának, Dr. Wagner Lászlónak, Dr. Wagner Zoltánnak a munkám alapját képező beteganyag összegyűjtésében nyújtott segítséget és a klinikai észrevételeket. Köszönöm Dr. Fehér Eszternek, Dr. Vas Tibornak a radiológiai és statisztikai kérdésekben nyújtott iránymutatást.

Külön köszönet illeti Prof. Dr. Figler Máriát, aki segített az Országos Véradó Szolgálattal való kollaboráció megszervezésében.

Köszönettel tartozom a Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Karáról Prof. Dr. Balla Józsefnek és Dr. Kappelmayer Jánosnak a laboratóriumi vizsgálatokért és hasznos tudományos észrevételeikért.

Köszönet illeti Ph.D. hallgató társaimat, Dr. Markó Lajost, Dr. Cseh Juditot, Dr. Szijártó Istvánt, Dr. Mikolás Esztellát hogy munkámat hasznos tanácsaikkal segítették.

Továbbá köszönettel tartozom a klinika összes szakdolgozójának, a laboratóriumban dolgozó valamennyi asszisztensnek, és TDK hallgatónak.

Hálás köszönettel tartozom az Orvosi Genetika Intézet összes szakdolgozójának, hogy munkámat segítették. Külön köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Maász Anitának és Kisfali Péternek, akik szakmai tudásukkal és hasznos tanácsaikkal rengeteget segítettek a genetikai vizsgálatok kivitelezésében.

Végül, de nem utolsósorban őszinte hálával tartozom Családomnak, Édesanyámnak, Feleségemnek és Barátaimnak, hogy végtelen türelemmel, szerető gondoskodással mindig mellettem álltak, erőt adva még a legnehezebb pillanatokban is.

12. MELLÉKLETEK

Az értekezés alapjául szolgáló eredeti közlemények.
A DNS izolálás metodikai leírása.