

A karnitin-anyagcsere vizsgálata tandem
tömegspektrometriával terhességben, rheumatoid
arthritis, szisztémás szklerózis és IBD betegségekben

Ph.D. értekezés

Talián Csaba Gábor

Programvezető és témavezető: Dr. Melegh Béla

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar
Orvosi Genetikai és Gyermekefejlődéstani Intézet

2008, Pécs

TARTALOMJEGYZÉK

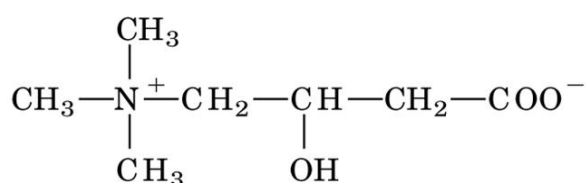
RÖVIDÍTÉSEK.....	2
1. BEVEZETÉS	3
1.1. A karnitin forgalma	3
1.2. A karnitin az anyagcserében	4
1.3. A karnitin és a terhesség	6
1.4. Gyulladásos betegségek és a karnitin	7
1.5. A tandem tömegspektrometria bioanalitikai alkalmazása	10
2. CÉLKITŰZÉSEK	11
3. MÓDSZEREK	12
3.1. A vizsgálatokban résztvevő személyek.....	12
3.2. Genotípus meghatározás.....	13
3.3. Tömegspektrometria	14
3.3.1. <i>A tömegspektrométer felépítése és működési elve</i>	<i>14</i>
3.3.2. <i>Mintaelőkészítés</i>	<i>15</i>
3.3.3. <i>A mérések kivitelezése</i>	<i>16</i>
3.4. Statisztika	17
3.5. Karnitinészterek jelölése.....	17
4. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS.....	18
4.1. A karnitin a terhességben	18
4.1.1. <i>Karnitinprofil a terhesség második felében</i>	<i>18</i>
4.1.2. <i>Karnitinprofil az újszülöttekben</i>	<i>20</i>
4.2. A karnitin és az immunbetegségek	23
4.2.1. <i>Rheumatoid arthritis</i>	<i>23</i>
4.2.2. <i>Szisztémás szklerózis</i>	<i>27</i>
4.2.3. <i>Gyulladásos bélbetegség (IBD).....</i>	<i>30</i>
4.2.4. <i>A karnitin és az immunbetegségek kapcsolata</i>	<i>34</i>
5. ÖSSZEFOGLALÁS	36
6. IRODALOMJEGYZÉK.....	38
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	52

RÖVIDÍTÉSEK

CACT:	karnitin-acilkarnitin transzlokáz (carnitine-acylcarnitine translocase)
CAT:	karnitin-acetil transzferáz (carnitine acetyltransferase)
CD:	Crohn-betegség (Crohn's disease)
CID:	ütközés kiváltotta bomlás (collision induced decay)
COT:	karnitin-oktanoil transzferáz (carnitine octanoyltransferase)
CPT:	karnitin-palmitoil transzferáz (carnitine palmitoyltransferase)
ESI:	elektrospray ionizáció
HPLC:	nagynyomású folyadékkromatográfia (high-pressure liquid chromatography)
IBD:	gyulladásos bélbetegség (inflammatory bowel disease)
LCAC:	hosszú szénláncú acilkarnitin (long-chain acylcarnitine)
MCAC:	közepes szénláncú acilkarnitin (medium-chain acylcarnitine)
OCTN:	szerves kation transzporter (organic cation transporter)
PS:	anyaion vagy prekursor ion pásztázás (parent scan)
RA:	reumás ízületi gyulladás (rheumatoid arthritis)
RFLP:	restriction fragment length polymorphism
SCAC:	rövid szénláncú acilkarnitin (short-chain acylcarnitine)
SNP:	single nucleotide polymorphism
SSc:	szisztémás szklerózis (systemic sclerosis)
UC:	colitis ulcerosa (ulcerative colitis)

1. BEVEZETÉS

Az eukarióta sejtekben az egyes szervecskék koenzimkészlete általában egymástól elkülönül, és szabályozásuk szigorúan önálló. Ezért szükség van olyan kisegítő molekulákra, amelyek ingajáratszerű működésükkel összekapcsolnak egyes sejtalkotókat, és szubsztrátokat vagy atomcsoportokat szállítanak egyikből a másikba. Ilyen molekula a karnitin is (3-hidroxi-4-N-trimetil-aminobutánsav; **1. ábra**), amely sokrétű működést ellátó, vitaminszerű tápanyag (Bieber 1988, Steiber et al. 2004). Nevét a latin *caro, carnis f*: hús szóból nyerte, mivel legnagyobb mennyiségben a harántcsíktól és a szívizomban található.



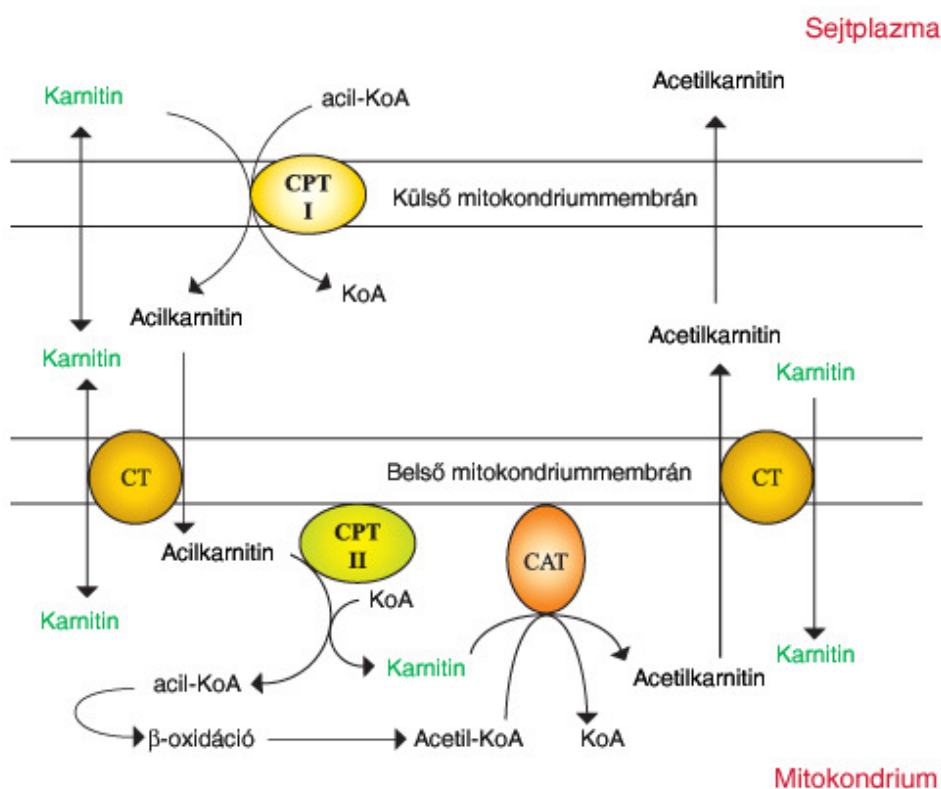
1. ábra: A karnitinmolekula.

1.1. A karnitin forgalma

A karnitint kisebb mértékben a szervezet is képes előállítani a vesében és a májban (Vaz et al. 2002), döntő mértékben mégis a táplálékkal vesszük magunkhoz, melyből főként a vékonybélben szívódik fel (Hamilton et al. 1986). A legnagyobb raktárak a májban és az izmokban találhatóak. Eredetileg a karnitin transzportjával kapcsolatban két homológ gént írtak le az emberi szervezetben: *slc22a4* és *slc22a5* (solute carrier 22 géncsalád), melyek termékei az OCTN1, illetve OCTN2 szállítófehérjék (Tamai et al. 1997, 1998, Wu et al. 1998). Az előbbiről később kiderült, hogy élettani szubsztrátja az ergothionein (Grundemann et al. 2005), a karnitint csak kis hatékonysággal, magas K_m érték mellett veszi fel, így pontos szerepe nem tisztázott, viszont világossá vált, hogy az elsődleges, nagy affinitású szállítófehérje az OCTN2. Ez minden olyan sejt plazmamembránjában megtalálható, amely a karnitin forgalmában jelentős: a bélhámsejtekben a felszívást, a vesecsatornácskában a szűrlettel kiválasztott karnitin igen jelentős mértékű (>99%) visszatartását, az izomsejtekben a nyirokból való felvételt látja el. Az OCTN2-t kimutatták a méhlepényben is (Grube et al. 2005), az anya és a magzat közti karnitinforgalom tehát igen valószínű. Az *slc22a5* egyes mutációi a transzport zavarai révén súlyos szisztémás betegséget, életveszélyes állapotot, ún. elsődleges karnitinhányt eredményeznek (Nezu et al. 1999), amely orális vagy intravénás karnitinbevitellel jól kezelhető.

1.2. A karnitin az anyagcserében

A karnitin a hidroxilcsoport révén számos karbonsav jellegű vegyülettel képes észterképzésre. Elsőrendű biokémiai feladata a hosszú szénláncú zsírsavak szállítása a citoplazmából a mitokondrium mátrixába, összeköttetést teremtve a sejt két funkcionális terének koenzim A készlete között (Fritz és Yue 1963, Foster et al. 2004). A sejt plazmában található zsírsavakat először az acil-koenzim A szintetáz aktiválja és kapcsolja a szabad koenzimhez, majd az acilcsoportot a mitokondrium külső membránjában ülő I-típusú karnitin-palmitoil transzferáz (CPT-I) átviszi a karnitinra (Jogl et al. 2004). Ez az enzim szelektíven létesít észterkötést a hosszú szénláncú zsírsavak és a karnitin között. A mitokondrium belső membránjában elhelyezkedő karnitin-acilkarnitin transzlokáz (CT vagy CACT; Indiveri et al. 1997) szállítja tovább az acilkarnitinokat a mátrixba, ahol egy perifériás membránfehérje, a II-típusú karnitin-palmitoil transzferáz (CPT-II) újra a koenzim A molekulához kapcsolja a zsírsavat, amely így beléphet a béta-oxidációba, a szabaddá váló karnitin pedig a CT transzporterrel át elhagyja a mitokondriumot, és újra kezdi a kört (Ramsay et al. 2001). A leírt folyamatokat a **2. ábra** szemlélteti.



2. ábra. A karnitin szerepe a mitokondriális zsírsav-oxidációban.

Bár a rövidebb zsírsavak mennyisége és jelentősége a lebontás szempontjából kisebb, és többnyire szabad diffúzióval is képesek áthaladni a mitokondrium membránjain, létezik egy-egy szelektív működésű enzim a közepes és a rövid láncú csoport számára is: a karnitin-oktanoil transzferáz (COT vagy CROT) és a karnitin-acetil transzferáz (CAT vagy CRAT). Ha például intenzív izommunka esetén a felfokozott béta-oxidáció során felgyülemelő acetilkoenzim A már nem képes a túlterhelődött citrátkörbe belépni, létfontosságú, hogy a sejt megelőzze a mitokondrium koenzim A készletének kimerülését. Ilyenkor a CAT karnitinra viszi át a fölös acetilcsoportokat (Bieber et al. 1982), a keletkező észter pedig a transzlokázon keresztül elhagyja a mitokondriumot.

Ugyancsak fontos védőfeladatot lát el a karnitin, ha a mitokondriumban zajló zsírsav- vagy aminosav-lebontás egyik enzime meghibásodik. A továbbalakulni képtelen köztitermékek (telítetlen és hidroxilált zsírsavszármazékok, glutársav, metilmalonsav, valeriánsav stb.) normális esetben nem halmozódnak fel toxikus mértékben, mert karnitinnal észterkötést alkotva gyorsabban kiürülnek a sejtekből (Benett et al. 2000). A karnitinnak ez a „takarító” (scavenger) működése számos külső forrásból származó anyag esetén is hatásos, például egyes gyógyszerek (pivalát, valproát) alkalmazásakor (Melegh et al. 1987, Brass 2002). A szervezet huzamos ideig való megterhelése azonban kimerítheti a karnitinraktárakat, és másodlagos karnitinhiányos tüneteket okozhat (Longo et al. 2006).

A karnitin nélkülözhetetlen a sejtek anyagcseréje számára, mivel elősegíti a hosszú szénláncú zsírsavak szállítását a mitokondrium belső membránján keresztül. A zsírsavlebontás vagy a kapcsolódó biokémiai folyamatok zavarai jellemzően módosítják a vérben keringő karnitínészter profilt (Chace et al. 2003, Schulze et al. 2003). A karnitintranszport fehérjéit kódoló gének mutációi ugyancsak hatással lehetnek a vér karnitintartalmára.

Bár mind a karnitint, mind a tömegspektrometriát nagyjából száz éve ismerjük, a két terület összekapcsolódása sokkal újabb keletű. A karnitin által képzett észterek, csakúgy, mint a szabad karnitinmolekula, mind megjelennek a vérben és a vizeletben is, ahol többféle módszerrel kimutathatók és mérhetőek. Részletes karnitinprofil, vagyis az egyes karnitínészterek elkülönült, megbízható, minőségi és mennyiségi jellemzése csak a tandem tömegspektrometria alkalmazása óta lehetséges (Chace et al. 2003). A korábbi, radioenzimatikus módszerek a szabad karnitin mellett többnyire csak a karnitínészterek kumulatív mennyiségének (acilkarnitin, összészter), valamint a kettő összegének (összkarnitin) megállapítását tették lehetővé. Ezeket az adatokat bizonyos informatív értékük miatt gyakran ma is meghatározzuk és használjuk.

1.3. A karnitin és a terhesség

Az emberi újszülött nagy mennyiségű zsírt raktároz, amely testtömegének mintegy 15-16%-át teszi ki. A fehér zsírszövet felhalmozódása zömmel a terhesség utolsó harmadára esik (Hahn és Novak 1974). A magzati szövetekben ekkor egyre fokozódik a *de novo* zsírsavszintézis, ami nagymértékben az anya felől érkező tápanyagokra utalja a fejlődő szervezetet. A terhesség során így az anya anyagcseréje fokozatosan alkalmazkodik a magzat igényeihez: először a zsírraktárak feltöltődnek a táplálékból, majd a lipidek lebontása lesz jellemző a várandósság késői szakaszában (King et al. 1994). A keringő szabad zsírsavak szintje ugyan jelentősen megemelkedik, de csak korlátozottan képesek átlépni a méhlepényen, ehelyett a májban ketontestekké alakulnak, és ebben a formában érik el a magzatot (Herrera 2000, Herrera és Amusquivar 2000). Itt energiahordozóként és a lipidek felépítéséhez szükséges anyagként is alapvető jelentőségük van, mivel a magzati ketogenezis igen alacsony mértékű (Shambaugh 1985).

Az irodalomban közölt adatok a karnitinmetabolitok változásairól a terhesség során a radioenzimatikus módszeren alapultak, részletes észterprofil vizsgálatot eddig még nem írtak le. A kisszámú követéses tanulmány egységes abban, hogy a szabad karnitin fokozatosan csökken a várandósság alatt (Hahn et al. 1977, Scholte et al. 1978), más publikációkban pedig emellett szintén csökkenő (Winter et al. 1995) vagy változatlan (Cederblad et al. 1986) összészter szintet közöltek. Ugyancsak egyöntetű az a kép, hogy a terhesség alatt és végén mért szabad karnitin, összészter és összkarnitin szignifikánsan alacsonyabb, mint a hasonló korú, nem várandós nőkben (Bargen-Lockner et al. 1981, Cederblad et al. 1985, Winter et al. 1995, Koumantakis et al. 2001). A csökkenés döntő része az első trimeszterre esik, és az értékek a szülés után néhány héttel újra eléri a nem terhes nőkre jellemző szinteket. A változások hátterében többféle folyamat feltételezhető. Részben felelős lehet a test folyadéktartalmának emelkedése a terhesség során, illetve valamilyen fokozott igény a karnitin iránt, például toxikus acilcsoportok nagyobb fokú ürítése karnitinhoz kötött formában, vagy a fejlődő magzat számára történő intenzívebb transzport (Koumantakis et al. 2001). Ráadásul a terhesség alatt magasabb acilkarnitin clearance-t mértek (Cederblad et al. 1986), ami ugyancsak a káros anyagok megnövekedett mértékű eltávolítására utalhat.

A karnitin a fejlődő magzat számára is létfontosságú (Melegh et al. 1996), és a terhesség végső szakaszában fokozódó mértékben raktározódik a májban és az izomban (Nakano et al. 1989). A méhlepényben kimutatható mind a zsírsav-oxidáció enzimeinek (Rakheya et al. 2002), mind az OCTN2 szállítófehérjének (Grube et al. 2005) a jelenléte, ami egyrészt a

placenta saját karnitinfelhasználását, másrészt az aktív transzportfolyamatokat igazolja. Az anyai vért és a köldökzsinórvért összehasonlítva egyesek magasabb koncentrációjú szabad és acilkarnitint közöltek a magzatban (Bargen-Lockner et al. 1981, Cederblad et al. 1985, Sachan et al. 1989, Winter et al. 1995, Koumantakis et al. 2001), másoknál az anyai összészter szint nagyobb, a szabad karnitin pedig alacsonyabb volt, mint a magzati (Schmidt-Sommerfeld et al. 1981). Megint máshol csökkent összészter és összkarnitin, illetve emelkedett szabad karnitin szintet találtak az anyai plazmában a köldökzsinórhoz hasonlóan (Novak et al. 1981), de beszámoltak magasabb anyai szabad és összkarnitin koncentrációról is alacsonyabb acilkarnitinszint mellett (Hromadova et al. 1994).

1.4. Gyulladásos betegségek és a karnitin

Noha az immunológiai kórképek tünetei és patomechanizmusai igen változatosak, nem egyenél felmerült már, hogy összefüggésben állhatnak a karnitin-anyagcsere zavarával. A szervezet jelentős részét vagy egyes kulcsfontosságú szerveket érintő krónikus gyulladás megzavarhatja a karnitinnal kapcsolatos metabolizmust, másrészt pedig az elégtelen karnitinellátás is hozzájárulhat kóros állapotok kialakulásához.

Szisztémás szklerózis (SSc). A gyulladásos kórképek és a karnitin-anyagcsere kapcsolatát tárgyaló legkorábbi közlemények szerint a karnitin kezelés jótékony hatással lehet a szisztémás szklerózis egyes tüneteire (Nietzscher 1974, Schneider 1974). Tartós alkalmazás mellett a javulás elsősorban a végtagizületek mozgékonyosságát és a bőr lazaságát érintette. Feltételezték, hogy a karnitinnak a megváltozott kollagén-anyagcserére lehet befolyása. A korabeli eltérő terminológia, a kis esetszámok és a kontrollok hiánya miatt azonban ezek az eredmények nehezen értelmezhetők. Ma már a betegségnek két jól elkülöníthető és klinikailag nagyban eltérő, lokalizált, illetve diffúz altípusát különböztetik meg. Egy újabb rövid közleményben (Famularo et al. 1999) említést tesznek róla, hogy a szabad karnitin és az összkarnitin szintje szignifikánsan kisebb a betegekben, de csak a diffúz altípus esetén, szemben a lokalizált SSc normál értékeivel.

Gluténérzékenység (cöliákia). A bélcsatorna gyulladásos betegségeinek és a karnitin-anyagcsere változásainak összefüggésével kapcsolatban is folynak kutatások. A cöliákia esetében főleg gyermekek vizsgálatával nyert adatokkal rendelkezünk. Az aktív betegségben az összkarnitin szint szignifikánsan alacsonyabb az egészségesekhez képest, ennek mértéke viszont nem függ a bél nyálkahártyájának károsodási fokától (Lerner et al. 1993). Ugyanakkor a gluténmentes diétával kezelt állapotban nem mutatkozott az említett különbség. Egy másik közleményben a szabad karnitin szintjének csökkenését írták le a beteg gyermekekben (Yüce

et al. 2004). Egy 18 hónapos fiú egyedi esetében mind a szabad, mind az összkarnitin mennyisége jelentősen csökkent, a gluténmentes étrend pedig itt is javított a gyermek állapotán (Fitzgerald et al. 2003).

Gyulladásos bélbetegség (IBD). Két kórképet ölel fel: a Crohn-betegséget (CD) és a fekélyes vastagbélgyulladást (colitis ulcerosa, UC). Mindkét betegség kórmechanizmusában egyaránt szerepet játszik az öröklött és a környezeti háttér (Rogler 2004), vannak közös genetikai hajlamosító tényezők (Orholm et al. 1991), továbbá egyes tünetekben előfordulhatnak átfedések. Az 5q31 lókuszt IBD5 kromoszómaszakaszáról egyértelműen, azóta többször megismételve megállapították, hogy a CD kialakulásának emelkedett kockázata társítható hozzá (Rioux et al. 2000). Néhány közleményben az UC-vel kapcsolatban is hasonló eredményre jutottak (Giallourakis et al. 2003, McGovern et al. 2003). Az IBD5 régió belül azonosítottak egy mintegy 250 kb kiterjedésű haplotípust, amely hordozza a CD-re való hajlamosító képességet (Rioux et al. 2001), és egyebek mellett itt helyezkednek el az *slc22a4* és *slc22a5* gének is. Ez a tény felvetette annak gondolatát, hogy funkcionális kapcsolat lehet a karnitin szállítása és az IBD között.

Az *slc22a4* 9-es exonjában elhelyezkedő C1672T és az *slc22a5* promóter régiójában található G-207C polimorfizmusok együttesen egy kockázati haplotípust alkotnak, és a TC genotípus szignifikánsan gyakrabban fordul elő a Crohn-betegekben (Peltekova et al. 2004). Ezt azóta a legtöbb ismétléses tanulmány megerősítette, de közöltek ellentétes eredményeket is (Bene et al. 2006b, Tosa et al. 2006), amit feltehetően a vizsgált populációk közti különbségek magyarázhatnak. Az UC-vel kapcsolatban ugyancsak születtek a TC haplotípus szerepét igazoló (Palmieri et al. 2006, Waller et al. 2006), illetve elvető cikkek (Peltekova et al. 2004, Tosa et al. 2006, Magyarai et al. 2007). A két említett variáns és az IBD betegségek kapcsolata további polimorfizmusoktól (IGR2096, IGR2198 és IGR2230) is függhet, amelyek egy kiterjesztett kockázati haplotípust hoznak létre (Noble et al. 2005, Torquist et al. 2007). Ennek a haplotípusnak az elemeiről, így az *slc22a5* gén 2. intronjában elhelyezkedő IGR2230a_1 SNP-ről (GenBank: rs17622208) is megállapították, hogy szignifikánsan társul a Crohn-betegséggel (Noble et al. 2005, Babusukumar et al. 2006, Silverberg et al. 2007).

A karnitin-anyagcsere és az IBD kapcsolatáról eddig viszonylag keveset tudunk. A hagyományos enzimatikus radiokémiai meghatározással csökkent szabad és összkarnitinszintet mértek gyermek CD betegekben (Demirkol et al. 1994), valamint emelkedett hosszú szénláncú és összkarnitin, de alacsonyabb szabad karnitin koncentrációt felnőttekben (Adlouni et al. 1988). Az *slc22a* TC haplotípus fibroblasztban módosíthatja az OCTN fehérjék kifejeződését és szállítóképességét, ezáltal felmerül a krónikus gyulladással

összefüggő funkcionális zavar lehetősége (Peltekova et al. 2004). Tömegspektrometriás karnitin profil vizsgálat során néhány észter szintjének kisebb mértékű megváltozását tapasztalták CD betegek plazmájában, ami független volt a TC haplotípustól, vagy annak elemeitől (Bene et al. 2007).

A vastagbél hámsejtjeinek fontos energiaforrását jelentik a rövid szénláncú zsírsavak karnitínészterei (SCAC), elsősorban a butiril-karnitin, melynek anyagcsereje UC-ben zavart szenved (Roediger 1980, Roediger et al. 1982, Cummings et al. 1995). A klinikai vizsgálatok alapján a rövid szénláncú zsírsavakat tartalmazó beöntések javítottak egyes kóros tüneteken (Vernia et al. 1995), propionil-karnitin alkalmazása pedig szintén hatásosnak bizonyult (Gasbarrini et al. 2003). Az utóbbinak kettős jótékony hatása is lehet, mivel a propionsav (akárcsak a vajsav), energiahordozóként szolgálhat, a karnitin pedig egyrészt a vajsav lebontásának sebesség-meghatározó eleme (D'Argenio et al. 2006), másrészt csökkentheti azt az oxidatív stresszt, amely vélhetően az UC kórmechanizmusában is szerepet játszik (Cetinkaya et al. 2006). Nemrégiben patkány modellben azt is kimutatták, hogy a kísérletesen kiváltott vastagbélgyulladás során csökken az OCTN2 kifejeződése, és ennek következtében a vajsav oxidációja is, ami karnitinkezeléssel visszafordítható (D'Argenio et al. 2006). Ráadásul a butiril-karnitin bélben történő felszívódásának nagy affinitású szállítófehérjéje éppen az OCTN2 (Srinivas et al. 2007), így az *slc22a5* gént érintő változások befolyásolhatják ezt a folyamatot. A tömegspektrometriás vizsgálatok hasonló jellegű változásokról számolnak be, mint a Crohn-betegség kapcsán; a csökkent SCAC szint a megfelelő zsírsavak korlátozott elérhetőségét tükrözheti (Bene et al. 2006a).

Rheumatoid arthritis (RA). Egy japán csoporton végzett vizsgálat során összefüggést találtak az RA és az *slc22a4* gén egyik intronikus polimorfizmusa, az *slc2f2* (C6607T; GenBank: rs3792876) között (Tokuhira et al. 2003), ami felvetette a karnitin rendszerrel való kapcsolat lehetőségét is. A kérdéses nukleotidcsere a gén kifejeződését gátló RUNX1 transzkripciófaktor (Maeda et al. 2007) felismerőhelyében található, és kimutatták, hogy a szabályozófehérje erősebben kötődik a mutáns allélhoz. A RUNX1 génjében szintén felfedeztek egy intronikus SNP-t (G24658C; GenBank: rs2268277), amely ugyancsak szignifikánsan, és az előzőtől függetlenül társult a betegséggel. Mivel mind az *slc22a4*, mind az *slc22a5* gén több potenciális felismerőhelyet tartalmaz a transzkripciófaktor számára, felmerült, hogy esetleg a karnitin transzportjának módosulása is szerepet játszhat a kórfolyamatban. A karnitin-anyagcsere és a RA összefüggésének gyanúját tovább erősítette az a tény, hogy az OCTN1 jelen van a betegek ízületi szöveteiben, egérben pedig a homológ fehérjét kimutatták a kollagénnel kiváltott gyulladásos ízületekben.

1.5. A tandem tömegspektrometria bioanalitikai alkalmazása

A tömegspektrometriás eljárások több évtizede járulnak hozzá a fizikai, kémiai, biológiai és orvosi kutatásokhoz. A tandem tömegspektrométerek alkalmazhatósága az élettudományok területén rendkívül széleskörű. A modern tömegspektrometria fejlődésében alapvető fontosságú volt a mátrix segített lézereszorpciós ionizáció (MALDI, Matrix Assisted Laser Desorption Ionization) és az elektropray ionizáció (ESI, Electrospray Ionization) technikák kidolgozása, hiszen segítségével lehetőség nyílt nagy molekulatömegű, nem illékony biopolimerek, peptidok, fehérjék, valamint szintetikus rendszerek szerkezetének összetett tanulmányozására is. A kisebb poláros biomolekulák kutatására elsősorban a HPLC-vel kapcsolt elektropray tandem quadrupol készülékek terjedtek el. Lényegében bármely olyan anyag vizsgálatára mód van, amely egy egyszerű szerves oldószer (többnyire acetonitril vagy metanol) és víz elegyében feloldható.

Mindezt az orvosi diagnosztika is egyre növekvő mértékben hasznosítja. Az 1990-es évektől kezdve, a tömegspektrometria bevezetésével a klinikai laboratóriumi eszköztárba, ma már több országban (például Németországban vagy az Egyesült Államokban) végeznek tömegspektrométerrel teljes körű újszülöttkori szűrést egyes veleszületett anyagcsere-betegségekkel kapcsolatban. A korábbi egy teszt - egy betegség megközelítés helyett, a tandem készülékek előnyeit kihasználva, egyetlen méréssel mintegy 30-50 metabolit szintje vizsgálható, és mintegy 20-25 anyagcsere-betegségre adható diagnosztikai vélemény. Bár egy tömegspektrometriai laboratórium felszerelése költséges, a tesztelés más módszerekkel összevetve a legolcsóbb, a vizsgálati panelhez pedig egyszerűen és kis ráfordítással lehet új elemeket hozzáadni. Napjainkban a rutin tömegspektrométeres labordiagnosztikai gyakorlatban három fő anyagcsoport szűrését végzik: a karnitinhoz kapcsolt zsírsavak, valamint különféle kismolekulájú szerves savak és az aminosavak (Chace et al. 2003).

Az utóbbi években a készülékek méretének és árának jelentős csökkenése lehetővé tette a módszerek mind rohamosabb elterjedését, így jelenleg a tömegspektrometria az egyik legdinamikusabban fejlődő és legtöbbet alkalmazott eljárás. Nagy előnye, hogy magas mintaszám mellett is rutinszerűen alkalmazható széles tömeg- és polaritás-tartományban különféle vegyületek tömegének és szerkezetének vizsgálatára. Általánosan kijelenthető, hogy a tömegspektrométerek rendkívül kis mennyiségű anyagok gyors, pontos, megbízható elemzésére alkalmas és az elválasztástechnikában használatos módszerekkel jól kombinálható készülékek.

2. CÉLKITÚZÉSEK

Munkánk során ESI tandem tömegspektrometria alkalmazásával a következő kérdésekre kerestünk választ:

- Hogyan változik a terhes anyákban a karnitinprofil a várandósság második felében?
- Milyen a köldökzsinórvérből vizsgálható karnitinprofil az újszülöttek édesanyjához és nem terhes nőkhöz viszonyítva?
- Van-e korreláció a magzati és az anyai karnitinszterek, illetve a szabad karnitin mennyisége között?
- Milyen következtetésekre juthatunk az eredményekből a magzati és az anyai karnitinforgalom kapcsolatáról?
- Milyen hatással van a rheumatoid arthritis a betegek karnitinprofiljára az egészséges kontrollokkal összevetve?
- A kockázati faktornak vélt *slc2f2* és *runx1* polimorfizmusok befolyásolják-e a karnitinháztartást a betegekben és a kontrollokbán?
- Milyen hatással van a szisztémás szklerózis a betegek karnitinprofiljára az egészséges kontrollokkal összehasonlítva?
- Van-e jelentősége az SSc altípusainak a karnitin-anyagcsere szempontjából?
- Befolyásolja-e az IGR2230 genotípus a karnitinprofilt, a karnitin anyagcseréjét IBD betegekben, illetve egészséges kontroll személyekben?

3. MÓDSZEREK

3.1. A vizsgálatokban résztvevő személyek.

A munkánk során mintát adó személyeknél kizárható volt az elsődleges karnitinhiány, a máj, a vese, az endokrin szervek betegsége, a keringési vagy az idegrendszer szisztémás megbetegedése, továbbá - a vizsgált betegcsoportok kivételével - kiterjedt gyulladás. A rheumatoid arthritisban, illetve szisztémás szklerózisban szenvedők a Pécsi Tudományegyetem Immunológiai és Reumatológiai Klinikájának páciensei közül kerültek ki, a terhes anyák és gyermekeik pedig az egyetemünk Gyermekgyógyászati Klinikáján zajló kutatás résztvevői voltak. Az IBD betegeket a Pécsi Tudományegyetem I. számú és a Semmelweis Egyetem II. Számú Belgyógyászati Klinikáján kezelték. Mivel az aktuális táplálkozás jelentősen befolyásolhatja az egyes karnitinszterek koncentrációit a testfolyadékokban, minden személytől éhgyomri vért vettünk le a reggeli órákban, kivéve természetesen a szülő anyáktól és a köldökzsinórvér esetében.

Terhes anya program. A kísérletekbe bevont 37 anya egy olyan nemzetközi kutatási együttműködés (NUHEAL) résztvevője volt, amely főként a lipid-anyagcsere változásaira és a táplálkozási kiegészítők hatására irányult a terhesség második felében (Decsi et al. 2005). Alapvető szempont volt a 18 és 40 év közötti életkor ($29,0 \pm 0,9$ év; átlag \pm SEM), illetve a 20. terhességi héten 50 és 90 kg közötti testtömeg ($68,8 \pm 2,0$ kg). Minden anya informált hozzájárulását adta a vizsgálatokhoz, és egy részletes kérdőívet töltött ki. A terhesség során a résztvevők testi paramétereit, klinikai és laboratóriumi eredményeit, életvitelük és táplálkozásuk fontos jellemzőit részletesen rögzítették. A szülés körülményeit, az újszülöttek orvosi és laboratóriumi kivizsgálásának eredményeit, valamint táplálkozási sajátosságait egészen a 24. hétig ugyancsak feljegyezték.

A szülések komplikációmentesen zajlottak: húsz fiú (54%) és tizenhét lány (46%) jött világra, ikerterhesség nem volt (születési kor $36,7 \pm 0,3$ hét, hossz 50 ± 1 cm, testtömeg $3,24 \pm 0,08$ kg). Mind az 1, mind az 5 perces Apgar pontszámok normálisak voltak (≥ 7 , illetve ≥ 9) az összes esetben. Hat koraszülés történt, de a terhességi idő náluk is meghaladta a 35 hetet. A gyermekek közül hústól rendelkezünk köldökzsinór-vérmintával.

Kontrollként 22 egészséges, átlagos táplálkozású, korban illeszkedő ($28,5 \pm 1,4$ év) nem várandós nő csoportja szolgált, akiknél nem merült fel fogamzástelenség. A terhes anya programban alvadásgátolt vérből nyert plazmát használtunk mintának.

Rheumatoid arthritis. Az American College of Rheumatology szempontjai (Arnett et al. 1988) alapján betegnek diagnosztizált 209 személytől (169 nő, 40 férfi; életkoruk $57,3 \pm 1,0$

év) állt rendelkezésre DNS minta; 73 %-uk pozitív volt rheumatoid faktorra is. A kontroll csoport 217 egészséges, hasonló életkorú személyből állt (122 nő és 95 férfi; életkoruk $56,5 \pm 0,7$ év), akiknek kórtörténetében bármely szisztémás betegség - különösképpen ízületi gyulladás - kizárható volt. Valamennyi betegtől és 142 kontroll személytől rendelkezünk éhgyomri szérum mintával a karnitin vizsgálat elvégzéséhez.

Szisztémás szklerózis. 107 beteg (95 nő és 12 férfi; életkoruk $53,8 \pm 1,1$ év) szolgáltatott szérum mintát a vizsgálatokhoz; a betegség követése során nyert klinikai és laboratóriumi információkat adatbázisban rögzítették (Nagy és Czirják 1997, 2005). A pácienseket lokalizált és diffúz SSc alcsoportokba sorolták (78, illetve 29 fő). Kontrollként az előzőekhez hasonlóan kiválasztott 47 egészséges személy (32 nő és 15 férfi; életkoruk $51,7 \pm 2,1$ év) mintáját használtuk.

IBD. Részletes klinikai és szövettani vizsgálattal diagnosztizált 200 CD (103 nő és 97 férfi; életkoruk $39,4 \pm 1,0$ év) és 246 UC beteg (138 nő és 108 férfi; életkoruk $44,0 \pm 1,0$ év), illetve 187 egészséges személy (81 nő és 106 férfi; életkoruk $37,7 \pm 0,8$ év) DNS mintáját használtuk a munkánk során. Közülük 76 Crohn-beteg, 43 UC beteg és 45 kontroll személy éhgyomri plazma mintájából tudunk karnitin profilt mérni.

Az általunk vizsgált személyek részletes felvilágosítás mellett beleegyezésüket adták mintáik felhasználásához a kutatásban. Munkánk során mindvégig a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karának Etikai Bizottsága által megállapított szabályokat és az irányadó nemzetközi egyezmények előírásait követtük.

3.2. Genotípus meghatározás

Az IBD betegek és kontrolljaik IGR2230a_1 genotípusának meghatározása PCR-RFLP alapú módszer segítségével történt. A kérdéses polimorfizmus körülötti szakasz felsokszorozására az 5' CAG AAG AAT GCC CTT GAT GTG 3' forward és az 5' TCA GAA GCT GTC CAT CCC AC 3' reverse primereket használtuk, amelyek egy 438 bp hosszúságú terméket fogtak közre. A reakcióelegy 50 μ l végtérfogatú volt, 2 egység Taq polimerázt, 5 μ l reakciópuffert (100 mM Tris-HCl, pH 9,0; 500 mM KCl, 15 mM MgCl₂), minden dNTP-ből 200 μ M-t, a két primerből 0,2-0,2 μ M-t valamint 1 μ g genomi DNS-t tartalmazott. MJ Research PTC-200 készülékben 35 ciklust alkalmaztunk a következő hőprogramon: elődenaturáció - 2 perc 95°C, denaturáció - 30 s 95°C, primerkötődés - 30 s 54°C, szintézis - 30 s 72°C, utólagos lánckiegészítés - 5 min 72°C. A keletkező amplikont *DdeI* enzimmal emésztettük 37°C-on éjszakán át, és a hasítási termékeket 1 % agaróz gélben

futtattuk etídium-bromid festés mellett. A vad típusú G allél esetén 122, 128 és 188 bp, az A allél esetében pedig 128 és 310 bp méretű sávokat kaptunk.

3.3. Tömegspektrometria

3.3.1. A tömegspektrométer felépítése és működési elve

A tömegspektrometria olyan szerkezetvizsgáló és analitikai módszer, amely a minta részecskéiből gázfázisú ionokat (atomionok, molekulaionok, ezek kombinációi vagy csoportosulásai egymással vagy töltetlen részekkel, fehérjék, nukleinsavak stb.) állít elő, majd ezeket a relatív tömegük és töltésük nagysága, pontosabban a kettő aránya (m/z) alapján szétválasztja egymástól. Egy készülék általában a következő részekből áll: mintabevitel, ionforrás, analizátor, detektor, vákuumrendszer, vezérlés és adatkezelés; mindegyikre többféle technikai megoldást fejlesztettek ki. A forrásban képződő szabad ionokat az analizátorban különítik el egymástól, a röppályájuk elektromágneses térben való eltérése vagy a detektorig tartó repülési idejük alapján. A nagyvákuum a nem kívánt részecske-ütközések elkerülése miatt szükséges: ezek módosíthatják az ionok repülési pályáit, vagy kiolthatják töltésüket, illetve kémiai változásokat okozhatnak. A biológiai mintákban található poláros szerves kismolekulák vizsgálatára leggyakrabban elektropray ionizációt és quadrupol analizátort használnak, többnyire gáz- vagy folyadékkromatográffal kombinálva.

Az elektropray ionizáció (ESI) során a kromatográfból érkező minta egy fűtött fém kapillárison halad keresztül, amelyre nagyfeszültséget kapcsolnak. A kapilláris és a tőle 1-2 cm-re elhelyezett ellentétes töltésű elektród között erős elektrosztatikus tér képződik, s a kapilláris körül elhelyezkedő külső csövön vezetett inert porlasztógáz (többnyire nitrogén) segítségével töltött aeroszol jön létre pneumatikusan a folyadékmintából. A folyadékcseppekből az oldószer párolgását további, nagy mennyiségű, fűtött nitrogén árammal segítik elő. A párolgás során a cseppecskék térfogata csökken, így a felületi töltéssűrűség növekszik, ami végül a cseppek felbomlását (Coulomb-robbanás) okozza. A folyamat végén a mintából származó szabad ionokat kapunk, amelyeket elektromos terelőlemezek révén az analizátorba juttatunk.

Az egyik legelterjedtebb analizátor típus, az ún. *quadrupol*, tömegszűrő elven működik. Itt az ionok négy párhuzamos, hengeres rúd között haladnak, amelyekre egyenáramot és nagyfrekvenciás váltóáramot kapcsolnak. A szemben lévő rudak mindig azonos, a szomszédosak ellentétes polaritásúak, így közöttük oszcilláló elektromos tér alakul ki. Az ide bejutó ionok különböző amplitúdójú kitéréseket végezve haladnak, s a rudak közti pályát csak meghatározott m/z értékű ionok képesek tartani, ami a szétválasztásuk alapját jelenti. A

quadrupol készülékek viszonylag egyszerűen működtethetők, gyorsak, jól kombinálhatók különféle ionforrásokkal. Hátrányuk, hogy tömegpontosságuk és felbontóképességük alacsony.

Ha viszonylag kis energiával ionizáljuk a vizsgálandó anyagunkat, akkor a molekulák egészben maradnak: a tömegükre és töltésükre jellemző ún. molekulacsúcsot kapunk. Többnyire azonban jóval nagyobb mennyiségű információ nyerhető, illetve speciális problémákra (pl. több anyag elkülönítése) jobb megoldást jelent, ha a részecskéket további energia hozzáadásával szabályozottan szétördeljük, például inert gázzal való ütköztetés révén (collision induced dissociation, CID). A keletkező fragmentumok kémiai felépítése és aránya az anyaion anyagi minőségétől és az alkalmazott energiától függ, és további tömegspektrometriás vizsgálatra felhasználható. Természetesen csak azok a fragmentumok, más szóval leányionok jönnek szóba, amelyek az eredeti töltést tovább hordozzák. Ezt a jelenséget használja ki a tandem tömegspektrometria (jelölése: MS/MS), amikor két egymás után kapcsolt analizátor közé egy jellemzően argon vagy nitrogén gázzal működtetett ütközési cellát iktatnak. Itt lehetőség van az első analizátorban szétválasztott ionok egyedi fragmentálására, és a leányionok szelektív vizsgálatára. A tandem üzemmód teljesen új vizsgálati módokat tesz lehetővé, amelyekre az egyanalizátoros készülék nem képes, bár a rutinszerűen használt készüléktípusokban a fragmentáció az ionintenzitás, így az érzékenység 1-2 nagyságrenddel való csökkenését okozza.

A tömegspektrométer két alapvető működési módja az egyedi ion vizsgálat (single/selected ion recording, SIR) rögzített m/z érték mellett, illetve egy bizonyos m/z tartomány fokozatosan végigpásztázása (scan). *Anyaiion pásztázás* (parent ion scan, PS) során az első analizátor egy tartományt pásztáz, a második pedig egy bizonyos m/z értékű ionokat enged át. Azokat az ionokat vizsgálhatjuk így, amelyekből egy jellemző méretű töltött fragmentum képződik.

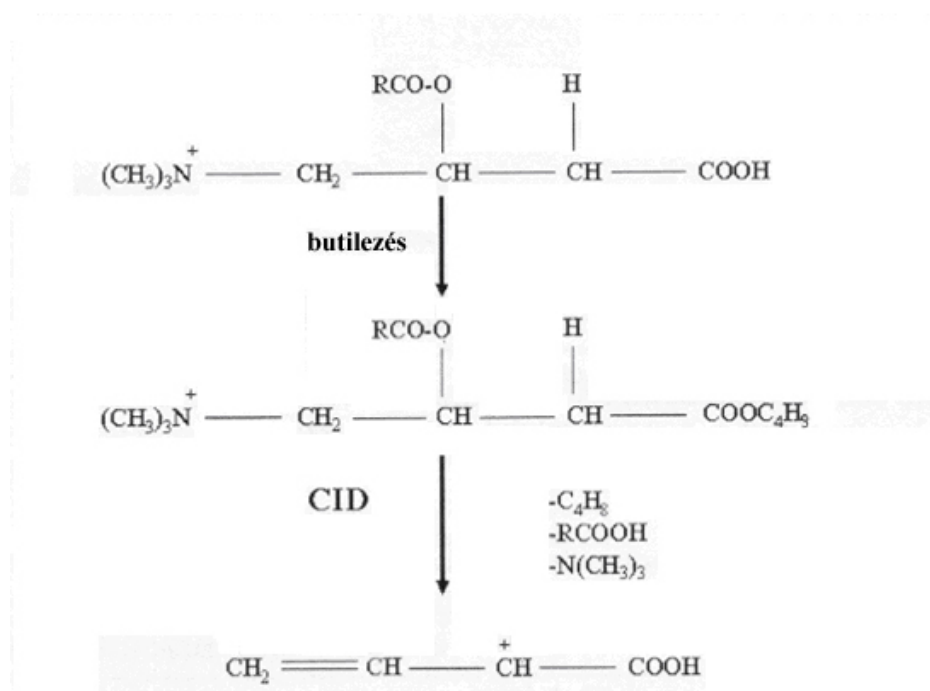
3.3.2. Mintaelőkészítés

A vérből centrifugálással (3.000 rpm, 15 perc) nyertük ki a szérumot vagy a plazmát, amelyet felhasználásig -80°C hőmérsékleten tároltunk. Tíz μl vortexeléssel homogenizált mintát szűrőpapírra (Schleicher&Schüell 2992) cseppentettünk és 2 órán át hagytuk beszáradni. A képződött foltot pontosan kivágtuk a papírból és 200 μl metanolba helyeztük, amely belső standardként a következő, deutérium-izotóppal jelölt anyagokat tartalmazta: 0,76 $\mu\text{mol/l}$ $^2\text{H}_3$ -karnitin, 0,04 $\mu\text{mol/l}$ $^2\text{H}_3$ -propionil-karnitin, 0,04 $\mu\text{mol/l}$ $^2\text{H}_3$ -oktanoil-karnitin és 0,08 $\mu\text{mol/l}$ $^2\text{H}_3$ -palmitoil-karnitin. Enyhe rázatás mellett 20 percig inkubáltuk, majd a

folyadékot új csőbe pipettáztuk, és N₂ áramlás alatt 40°C-on bepároltuk. Hozzáadtunk 100 µl izobutanol-HCl (3M) elegyet és 65°C-on állni hagytuk 15 percig, majd az előzőek szerint újra bepároltuk száradásig. A folyamat során a karnitin karboxilcsoportja az alkohollal észterkötést hoz létre, s ez a későbbiekben fokozza az ionizáció határfokát, továbbá jellemző méretű lehasadó csoportot biztosít, ami a mérési módszer alapját képezi. A keletkező származékokat acetonitril és víz 80:20 térfogat-százalékos elegyében oldottuk fel.

3.3.3. A mérések kivitelezése

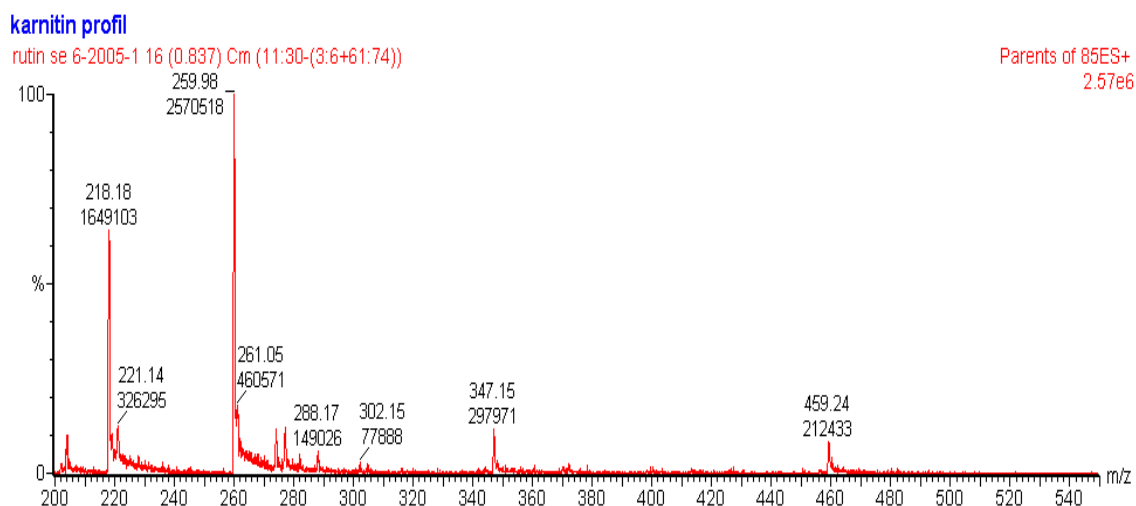
Egy Waters 2795 HPLC készülék (Waters Corporation, Milford, MA, USA) biztosította a 80:20 térfogat-százalékos acetonitril-víz eluens folyamatos, 100 µl/perc sebességű áramlását, amelybe a mintákból 10 µl-t fecskendeztünk be (flow injection üzemmód). A méréseket egy Micromass Quattro Ultima tandem quadrupole tömegspektrométer készüléken (Waters, Manchester, UK) végeztük, melyet elektropray ionforrással szereltünk föl. A karnitinszármazékokból jellemzően egy 85Da molekulatömegű pozitív töltésű részlet hasad ki, ezért 85 m/z anyaion pásztázás üzemmódot használtunk pozitív ion módban. A vizsgálat során történő kémiai változásokat a **3. ábra** mutatja.



3. ábra. A karnitinmetabolitok kémiai módosítása és bomlása a vizsgálatok során

Minden mérés 4 percig tartott és 78 független pásztázásból állt, ahol az első analízátor a 200-550 m/z tartományon haladt végig, a másodikat pedig az említett fragmentum tömegméretére állítottuk be. A mérésekhez és a számításokhoz a MassLynx 4.0

szoftvercsomagot használtuk. A kapilláris hőmérséklete 100°C volt, a porlasztáshoz (70 l/perc) és az eluens elpárologtatásához (400 l/perc, 350°C) nitrogéngázt használtunk, az ütközési gáz argon volt. Az optimalizált kapillárisfeszültség, kónuszfeszültség és ütközési energia értékei rendre 2,5 kV, 55 V, illetve 26 eV voltak. Jellegzetes karnitínészter profilt mutat a **4. ábra**.



4. ábra. Egészséges karnitínészter profil. Mennyiségileg kiemelkedik a szabad karnitín (218) és az acetil-karnitín (260). A belső standardok csúcsai a 221, 277, 347 és 459 m/z értékeknél jelentkeznek.

3.4. Statisztika

Minden mintát háromszor mértünk le egymás után, és ezek átlagát tekintettük egy mérési eredménynek. A különböző csoportok karnitín eredményeinek összehasonlítására a Student féle *t*-teszt párosítatlan változatát, az azonos személyek különböző időpontokból származó eredményeihez pedig a párosított tesztet használtuk. A szignifikancia határértéke 0,01 volt. A korreláció elemzéséhez a Pearson-féle kétváltozós tesztet alkalmaztuk, a genotípusok eloszlásának vizsgálatához pedig a χ^2 tesztet; a szignifikancia határértékét mindkét esetben 0,05-nél állapítottuk meg. A számításokat Excel, illetve SPSS 11.5 programokkal végeztük.

3.5. Karnitínészterek jelölése

A karnitín-anyagcsere jellemzésekor a szabályos kémiai, illetve triviális nevek mellett vagy helyett gyakrabban az egyes észterek rövidített neveit használják. Itt „C” és egy szám jelöli a karnitínmolekulához kapcsolódó oldallánc szénatomszámát, kettőspont és szám a telítetlen kötések mennyiségét pozíciótól függetlenül, „DC” a kettős karbonsavakat (pl. glutársav), „OH” pedig a hidroxilációt. Pl. **C18:2-OH** 18 szénatomos, két kettős kötést tartalmazó és hidroxilált zsírsav oldalláncot jelent. A szabad karnitint **C0** jelöli.

4. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

A karnitinmolekula egy alapvetően fontos biokémiai folyamatban vesz részt: a hosszú szénláncú zsírsavakat szállítja a mitokondriumba, ahol azok lebomlanak, és a keletkező acetyl-coenzim A az energiaszolgáltató vagy a bioszintetikus folyamatok egyik kiindulópontja lehet. Az olyan szövetekben, mint a szív- vagy a vázizom, ahol az energiaforrások zömét a zsírégetés jelenti, a karnitin is nélkülözhetetlen. Mindezek mellett az utóbbi két évtizedben egyre több megfigyelés látott napvilágot arról, hogy a karnitinnak számos, azelőtt nem sejtett kapcsolata lehet az élő szervezet más részeivel, működéseivel vagy zavaraiival. Ezek közé tartozik például a II-típusú cukorbetegség (Ferrannini et al. 1988, Mingrone et al. 1999), az öregedés (Ames és Liu 2004), egyes hormonok hatása (Alesci et al. 2004, Strack et al. 1962, Benavenga et al. 2000) vagy akár az AIDS betegség (De Simone et al. 1992, Youle et al. 2007).

4.1. A karnitin a terhességben

A várandós anya és fejlődő gyermeke közti élénk anyagforgalomban a karnitin is részt vesz. Munkánk során azt vizsgáltuk, hogyan változik a plazma karnitinprofilja a terhesség, illetve az anya-magzat kapcsolat szempontjából. A rendelkezésre álló minták lehetővé tették, hogy összehasonlításokat tegyünk 1, a terhesség 20. és 30. hetében, valamint a szüléskor; 2, terhes és nem terhes nők között; 3, az újszülöttek (köldökzsínórvér) és az édesanyák, valamint nem várandós nők között. Eredményeink alapján a vérben keringő karnitinvegyületek mennyisége összetett és dinamikus változásokat mutat a várandóssággal összefüggésben.

4.1.1. *Karnitinprofil a terhesség második felében*

A karnitinprofil számszerű adatai és a szignifikáns különbségek az **1. táblázatban** láthatók. A szabad karnitin koncentrációjában szignifikáns (mintegy 15%-os) csökkenést tapasztaltunk a 20. és 30. hét között, amely a további szakaszban már nem változott. Az észterek közül a közepes szénláncúak enyhe, a hosszú láncúak erőteljesebb emelkedést mutattak; a változás döntő mértékben a 30. hét és a szülés közti szakaszban következett be. Hasonlóan viselkedett az acetilkarnitin, a többi rövid láncú észter pedig lényegében változatlan maradt. A folyamatok eredőjeként az összesített észterszint ugyancsak szignifikánsan megnőtt az utolsó 10 hétben, az összesített karnitinszint pedig először lecsökkent, majd visszaállt az eredeti állapotra.

1. táblázat: Plazma karnitinprofil a terhesség különböző időpontjaiban, kontroll nőkben és köldökzsinórvérben ($\mu\text{mol/l}$; átlag \pm SEM)

	terhes anya (n=37)			kontroll (n=22)	újszülött (n=20)
	20. hét	30. hét	szülés		
összkarnitin	27,27 \pm 1,46 †	24,38 \pm 1,35 §	27,17 \pm 1,20	43,93 \pm 2,12 §	33,18 \pm 2,59 § *
C0	19,61 \pm 1,25 § †	16,72 \pm 0,93	16,75 \pm 0,90	27,90 \pm 1,42 §	20,00 \pm 1,30 *
acilkarnitin	7,66 \pm 0,36 §	7,67 \pm 0,59 §	10,42 \pm 0,54	16,04 \pm 0,88 §	13,19 \pm 1,54
SCAC					
C2	6,24 \pm 0,32 §	6,30 \pm 0,56 §	8,48 \pm 0,49	13,76 \pm 0,80 §	11,24 \pm 1,56
C3	0,11 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,20 \pm 0,01 §	0,22 \pm 0,02 §
C4	0,26 \pm 0,01	0,24 \pm 0,01	0,24 \pm 0,01	0,33 \pm 0,01 §	0,32 \pm 0,02 §
C5	0,07 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01 §	0,14 \pm 0,02 §
C6	0,06 \pm 0,01 §	0,07 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01 §	0,11 \pm 0,01 §
MCAC					
C8:1	0,06 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01
C8	0,05 \pm 0,01 §	0,05 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01 §	0,05 \pm 0,01 § *
C10:1	0,04 \pm 0,01 §	0,05 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01 §	0,04 \pm 0,01 § *
C10	0,05 \pm 0,01 §	0,06 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01 §	0,04 \pm 0,01 § *
LCAC					
C16	0,07 \pm 0,01 §	0,07 \pm 0,01 §	0,13 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01
C18:2	0,08 \pm 0,01 §	0,08 \pm 0,01 §	0,16 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01 §	0,12 \pm 0,01 §
C18:1	0,11 \pm 0,01 §	0,11 \pm 0,01 §	0,24 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01 §	0,12 \pm 0,01 §
C18	0,07 \pm 0,01 § †	0,05 \pm 0,01 §	0,09 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01

†: $p < 0,01$ vs 30. hét §: $p < 0,01$ vs szülés *: $p < 0,01$ újszülött vs kontroll

A szüléskor mérhető szabad karnitin és észter koncentrációk szinte mind szignifikánsan alacsonyabbak voltak a nem terhes nők vérplazmájában talált értékeknél, kivéve a hosszú szénláncú észtereket, amelyek az anyákban voltak magasabbak. Az összészter és összkarnitin szintje ugyancsak az anyákban volt szignifikánsan alacsonyabb (**1. táblázat**).

Bár számos fontos felismerést hozott, a radioenzimatikus módszer mégsem tette lehetővé, hogy a változások részleteit is feltárják, így egy egyszerűsített kép alakult ki, ahol a karnitinmetabolitok szintje egységesen süllyedő tendenciát mutatott a terhességben. Az ESI/MS/MS technológia révén lehetett felismerni, hogy a folyamatok ennél összetettebbek, és a terhességre sajátosan jellemző karnitin-anyagcseréről beszélhetünk. A várandósság alatt fokozatosan csökken a szabad és az észteresített karnitin, de az utolsó szakaszban a hosszú szénláncú észterek és az acetilkarnitin szintje újra emelkedésnek indul, vagy legalábbis a szüléskor magasabb, mint a 30. héten. A terhesség utolsó heteiben a lipolízis és a zsírsavak lebontása fokozódik az anyai szervezetben (Herrera és Amusquivar 2000). Ez alapján felmerült, hogy ez a folyamat további megnövekedett karnitinigénnyel társul, ami alacsonyabban tarthatja a szabad karnitin szintjét (Novak et al. 1981, Koumantakis et al. 2001). A mi eredményeink összhangban állnak ezzel a gondolattal, hiszen a terhesség végén éppen annak az észtercsoportnak a szintje növekszik meg, amelyik jellemzően a hosszú láncú zsírsavak oxidációjával kapcsolatos. Véleményünk szerint tehát a várandósság során megváltozó profil a karnitinháztartás sajátos átalakulását tükrözi, amelyben minden bizonnyal szerepe van az anyai szervezet fokozott zsírsav-felhasználásának is. Emellett az is ismeretes, hogy a szülés során csökkenő inzulinszint mellett a glükózon kívül a szabad zsírsavak koncentrációja is jelentősen megemelkedik az anya vérében (Kashyap et al. 1976). A méhösszehúzódások fokozott és hosszan tartó izommunkája ugyancsak a fokozott zsírsav-lebomlás, s ennek következtében a jellegzetes karnitinészter profil alapja lehet.

4.1.2. Karnitinprofil az újszülöttekben

A köldökzsinórvérben a szabad karnitin és a rövid szénláncú észterek szintje szignifikánsan magasabb volt, mint az édesanyákban, a közepes és hosszú szénláncú észtereké pedig többnyire alacsonyabb. A nem terhes kontroll nőkhöz viszonyítva az újszülöttekben az acetilkarnitin nem szignifikánsan, az összkarnitin, a szabad karnitin és a közepes hosszúságú észterek szignifikánsan alacsonyabb, a rövid és hosszú láncú észterek pedig nagyjából hasonló koncentrációban voltak jelen (**1. táblázat**). Így az újszülöttkori karnitinprofil nagymértékben egyedi mintázatot képvisel, amit különböző korcsoportok vizsgálatával teljes vérből is igazoltak (Meyburg et al. 2001, Cavedon et al. 2005).

Megvizsgáltuk az anyák és újszülötteik között az egyes karnitinmetabolitok szintjének korrelációját is. Azt találtuk, hogy a legerősebb összefüggést a szabad karnitin mutatta, ezen kívül szignifikáns pozitív korreláció adódott a C8:1, C18:1 és C18:2 esetében is (**2. táblázat**). Az irodalmi adatok szerint többnyire felfedezhető pozitív korreláció: szabad karnitin, összészter és összkarnitin esetére (Schmidt-Sommerfeld et al. 1981), vagy csak szabad karnitinra (Novak et al. 1981, Cederblad et al. 1985), míg mások nem találtak szignifikáns összefüggést (Koumantakis et al. 2001).

2. táblázat Az anyai és a magzati karnitinmetabolitok közti korreláció

	korrelációs együttható	p
összkarnitin	0,344	0,192
C0	0,645	0,007 §
acilkarnitin	- 0,014	0,958
SCAC		
C2	- 0,003	0,992
C3	0,429	0,097
C4	0,283	0,289
C5	0,003	0,991
C6	0,166	0,539
MCAC		
C8:1	0,529	0,035 §
C8	0,319	0,228
C10:1	- 0,190	0,482
C10	- 0,109	0,687
LCAC		
C16	0,404	0,120
C18:2	0,596	0,015 §
C18:1	0,598	0,014 §
C18	0,067	0,805

§: $p < 0,05$

Az anyai és a köldökzsinórvér karnitintartalmát illetően az irodalom sok tekintetben ellentmondásos, ami megnehezíti az adatok értékelését. Egyesek a miénkhez hasonló eredményeket közöltek, mások részben vagy teljesen eltérőt (lásd irodalmi bevezető). Ugyanígy az anya és a magzat közti karnitinforgalom, valamint a magzat, illetve a méhlepény karnitin-anyagcseréje még korántsem tisztázott minden részletében. A szabad és az acilkarnitinszintben egyesek nem találtak különbséget a köldökzsinór artériás és vénás vére között (Novak et al. 1981, Schmidt-Sommerfeld et al. 1981), máshol a köldökzsinór artériában magasabb szabad karnitin szintet mértek, mint a vénában (Hahn et al. 1977). Ezek

az eredmények inkább amellel szóltak, hogy a magzatban (legalábbis közvetlenül a szülés ideje körül) a karnitinhoz kapcsolt anyagcsere intenzitása nem jelentős.

Ezt támasztotta alá az a korábban általánosan elfogadott nézet, hogy a magzat elsősorban glükózt hasznosít táplálékként, és a zsírsavak lebontása nem jelentős a születés előtt. Azóta kiderült azonban, hogy a magzati, sőt, az embrionális szövetekben is kifejeződnek a zsírsav-oxidáció enzimeit, bár aktivitásuk jóval a felnőttkori értékek alatt marad, a magzati keringésben pedig jelen vannak a karnitínészterek, noha alacsonyabb koncentrációban, mint a születés után (Oey et al. 2005, 2006a). Ezeket az eredményeket azonban egyelőre óvatosan kell értelmezni, mivel kisszámú *post mortem* mintából származnak.

Az mindenesetre bizonyosnak látszik, hogy röviddel a szülés után a terhesség alatt felhalmozott zsírok válnak az újszülött fő energiaforrásává, és a szervezet a glükózégetésről jórészt a zsírsavak oxidációjára áll át (Wolf et al. 1974). Mivel ebben az időszakban a táplálékbevitel még gyakran csekély, az utód megfelelő karnitinnellátottsága kulcsfontosságúvá válik, és a karnitinprofil is jellemző változásokon megy át (Meyburg et al. 2001). Számos karnitínészter szintje jelentősen megemelkedik a vérben, majd néhány hét alatt újra lecsökken. A születés idején mi sem találtunk fokozott zsírsavlebontásra utaló jeleket a magzati karnitinprofilban, ami azt jelentheti, hogy az újszülött májának időre van szüksége a zsírsavak felhasználására való átálláshoz, a máj szénhidrátkészleteinek csökkenésével párhuzamosan. Ezt az a megfigyelés is alátámasztja, hogy a születés után a folyamatos táplálékellátástól hirtelen megfosztott újszülöttben a szabad zsírsavak koncentrációja igen hamar, néhány óra alatt megemelkedik, azonban ezt csak később (1/2-1 nap) követi a ketonszint növekedése (Hahn és Novak 1984).

A karnitinnellátás már az utód fejlődése számára is nélkülözhetetlen (Melegh et al. 1996, Arenas et al. 1998), a karnitin pedig a terhesség utolsó szakaszában egyre nagyobb mennyiségben raktározódik a magzati májban és az izomban (Nakano et al. 1989). A magzat és az újszülött saját szintetikus kapacitása karnitinnra nézve valószínűleg meglehetősen korlátozott (Rebouche 1980, Shenai és Borum 1984, Melegh 1990), amit az is alátámaszt, hogy teljes parenterális táplálás mellett a plazma karnitinszintje jelentősen lecsökken (Schmidt-Sommerfeld és Penn 1990). A karnitinszintézis képessége vélhetőleg egyes magzati szövetekre és a méhlepényre korlátozódik (Oey et al. 2006). Ezek alapján feltételezhető, hogy a magzati és a születéskor mért karnitinszintek nagymértékben az anyai értékektől függenek. A korrelációs vizsgálatok eredménye is megerősíti ezt a feltevést, legalábbis ami a szabad karnitint illeti. A transzport pontos mechanizmusa még nem ismert teljes mértékben. A passzív diffúzióról szóló korábbi vélemények (Schmidt-Sommerfeld et al. 1985) mellett

ismertté vált, hogy a nagy affinitású karnitranszporter OCTN2 fehérje a méhlepényben is kifejeződik (Grube et al. 2005). Ezek a tények azt az elméletet látszanak igazolni, hogy a magzat elsődleges karnitinforrása az anya, és az alacsony szintű magzati és placentális szintézis mellett az anyából aktív transzporttal jut át a karnitin az utód keringésébe.

Kimutatták továbbá azt is, hogy az OCTN2 jelenléte egerekben szükséges a karnitin placentában és magzatban történő felhalmozódásához (Shekhawat et al. 2004). A placenta egyik alapvető energiaforrását a zsírsavak jelentik, a béta-oxidáció enzimrendszere itt is megtalálható és aktív (Rakheya et al. 2002, Oey et al. 2003, Shekhawat et al. 2003). Ezek alapján feltételezhető, hogy a méhlepényből visszajutó karnitinészterek is hozzájárulhatnak az anyai vérben tapasztalható emelkedéshez. A magzati és az anyai karnitinészterek szintje közti különbségek jelentősek, de heterogének, és lényegében nem figyelhető meg korreláció a kettő között. A kérdést nehezíti, hogy a terhes nőben, a placentában és a magzatban lévő eltérő anyagcsere-állapotok, valamint a karnitinnak és észtereinek mindkét irányú forgalma együttesen határozzák meg a vérben mérhető koncentrációkat. A magzatból az anyai keringésbe visszajutó észterek mennyisége és jelentősége, kórélettani szerepe napjainkban is tudományos vita tárgya (Strauss 2005). Bár a transzport mechanizmusa bizonytalan, az OCTN2 fehérje mellett a széles szubsztrátkörű ATB(0,+)⁺ szállítófehérje (Kekuda et al. 1996) is szóba jön.

4.2. A karnitin és az immunbetegségek

4.2.1. Rheumatoid arthritis

A rheumatoid arthritis krónikus gyulladáshoz vezető betegség (Jarvinen és Aho 1994), mely a lakosság kb. 1%-át sújtja, nőkben halmozottan fordul elő (Kiss et al. 2005). Elsősorban a kéz kisebb, előrehaladott esetben a végtagok nagyobb ízületeit is érinti, súlyossága és kiterjedtsége változatos. Számos kísérő tünet társulhat hozzá, pl. izombántalmak, amelyeket az izomerő csökkenése kísér. Kórmechanizmusa összetett, öröklött (Dieude és Cornelis 2005) és környezeti tényezők egyaránt szerepet játszanak benne.

Rendelkezésünkre álltak a betegek és a kontrollok *slc2f2*, illetve *runx1* SNP genotípus eredményei (ezek meghatározása nem tartozik a jelen értekezés hatáskörébe). Minthogy az *slc2f2* esetében a betegek és a kontrollok között is csak egy TT genotípus akadt, itt egyféle felosztást tudunk alkalmazni: homozigóta vad (CC) és hordozó (CT+TT). (A formai statisztikai adatok kiszámolásához a TT genotípusú személyeknél a három párhuzamos mérést használtuk fel.) A *runx1* SNP esetében nem volt ilyen szélsőséges az eloszlás, így kétféle

módon tudunk a statisztikai összehasonlítás számára csoportokat alkotni: homozigóta vad (GG) és hordozó (GC+CC), valamint homozigóta mutáns (CC) és egyéb (GG+GC).

A betegek és a kontrollok egyesített csoportjainak karnitinprofilját összehasonlítva (**3. táblázat**) azt tapasztaltuk, hogy az előbbieknél több észter és a szabad karnitin esetében is kismértékű csökkenés történt, ezek közül a C3, C4, C8:1 és C18:2 érte el a statisztikai szignifikanciaszintet.

3. táblázat: RA betegek és kontrollok szérum karnitinprofilja ($\mu\text{mol/l}$; átlag \pm SEM)

	beteg (n=209)	kontroll (n=142)
C0	41,07 \pm 0,77	43,43 \pm 0,64
SCAC		
C2	11,13 \pm 0,37	12,19 \pm 0,31
C3	0,21 \pm 0,01	0,24 \pm 0,01 §
C4	0,32 \pm 0,02	0,37 \pm 0,01 §
C5	0,12 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01
C6	0,09 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01
MCAC		
C8	0,12 \pm 0,02	0,12 \pm 0,01
C8:1	0,09 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01 §
C10	0,15 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02
C10:1	0,11 \pm 0,02	0,11 \pm 0,01
LCAC		
C16	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01
C18	0,08 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01
C18:1	0,17 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01
C18:2	0,10 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01 §

§: $p < 0,01$

Az egyes genotípuscsoportok karnitínészter profiljai a **4.** és a **5. táblázatban** láthatók. A betegeknél egyetlen esetben találtunk eltérést: a *runx1* polimorfizmusnál a hordozók szignifikánsan magasabb szabad karnitinszinttel rendelkeztek, mint akik nem hordozók. A kontrolloknál ugyanez fordított volt: a homozigóta hordozók szabad karnitinja alacsonyabb volt a többiekénél. Ezen kívül még két eltérés (*slc2f2* C3 és *runx1* C18; lásd a táblázatok) volt megfigyelhető. Az eredmények azt jelzik, hogy a vizsgált allélokra specifikus eltéréseket a karnitinprofilban nem találtunk. A betegek a kontrollokhoz képest elhanyagolható mértékben csökkent észterszinteket mutattak. Más szerzők hasonló kis mértékű csökkenésről (Kiziltunc 1998), illetve emelkedésről (Krahenbuhl 1999) számoltak be RA esetében.

4. táblázat: RA betegek szérum karnitinprofiljai slc2f2 és runx1 genotípusok szerinti megoszlásban (µmol/l; átlag ± SEM)

	Összes (n=209)	slc2f2				runx1				
		CC (n=180)	CT (n=28)	TT (n=1)	CC : (CT+TT)	GG (n=81)	GC (n=100)	CC (n=28)	GG : (GC+CC)	CC : (GG+GC)
C0	41,07 ± 0,77	41,55 ± 0,86	37,73 ± 1,57	49,85 ± 1,48	N.S.	37,60 ± 1,02	43,02 ± 1,21	39,58 ± 1,73	p < 0.01	N.S.
SCAC										
C2	11,13 ± 0,37	11,13 ± 0,41	11,28 ± 0,89	6,41 ± 0,08	N.S.	10,45 ± 0,39	11,78 ± 0,64	9,28 ± 0,82	N.S.	N.S.
C3	0,21 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,22 ± 0,04	N.S.	0,21 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,20 ± 0,02	N.S.	N.S.
C4	0,32 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,37 ± 0,03	0,22 ± 0,01	N.S.	0,32 ± 0,02	0,32 ± 0,01	0,29 ± 0,03	N.S.	N.S.
C5	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,08 ± 0,01	N.S.	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	N.S.	N.S.
MCAC										
C6	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,05 ± 0,01	N.S.	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,01	N.S.	N.S.
C8	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,03 ± 0,02	N.S.	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01	N.S.	N.S.
C8:1	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,01	N.S.	0,08 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,08 ± 0,01	N.S.	N.S.
C10	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,14 ± 0,02	0,03 ± 0,01	N.S.	0,14 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,14 ± 0,02	N.S.	N.S.
C10:1	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,06 ± 0,01	N.S.	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01	N.S.	N.S.
LCAC										
C16	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,04 ± 0,03	N.S.	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	N.S.	N.S.
C18	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,04 ± 0,03	N.S.	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	N.S.	N.S.
C18:1	0,17 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,07 ± 0,01	N.S.	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,17 ± 0,01	N.S.	N.S.
C18:2	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,05 ± 0,01	N.S.	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,01	N.S.	N.S.

N.S.: nem szignifikáns

5. táblázat: RA kontrollok szérum karnitinprofiljai slc2f2 és runx1 genotípusok szerinti megoszlásban (µmol/l; átlag ± SEM)

	slc2f2					runx1				
	Összes (n=142)	CC (n=119)	CT (n=22)	TT (n=1)	CC : (CT+TT)	GG (n=63)	GC (n=57)	CC (n=22)	GG : (GC+CC)	CC : (GG+GC)
C0 SCAC	43,43 ± 0,64	42,68 ± 0,70	46,94 ± 1,54	45,90 ± 1,61	N.S.	43,31 ± 0,90	46,38 ± 0,92	36,33 ± 1,62	N.S.	p < 0.01
C2	12,19 ± 0,31	12,19 ± 0,36	11,76 ± 0,52	15,41 ± 0,71	N.S.	12,34 ± 0,53	11,74 ± 0,41	12,55 ± 0,78	N.S.	N.S.
C3	0,24 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,36 ± 0,02	p < 0.01	0,25 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,23 ± 0,02	N.S.	N.S.
C4	0,37 ± 0,01	0,38 ± 0,02	0,34 ± 0,02	0,40 ± 0,05	N.S.	0,36 ± 0,02	0,39 ± 0,02	0,39 ± 0,06	N.S.	N.S.
C5 MCAC	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,19 ± 0,01	N.S.	0,14 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,14 ± 0,01	N.S.	N.S.
C6	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,01	N.S.	0,09 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,08 ± 0,01	N.S.	N.S.
C8	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,10 ± 0,02	N.S.	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,01	N.S.	N.S.
C8:1	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,10 ± 0,02	N.S.	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,10 ± 0,01	N.S.	N.S.
C10	0,14 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,12 ± 0,03	N.S.	0,14 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,15 ± 0,02	N.S.	N.S.
C10:1 LCAC	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,09 ± 0,01	N.S.	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01	N.S.	N.S.
C16	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,13 ± 0,05	N.S.	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01	N.S.	N.S.
C18	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,10 ± 0,03	N.S.	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,01	N.S.	p < 0.01
C18:1	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,22 ± 0,04	N.S.	0,15 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,18 ± 0,01	N.S.	N.S.
C18:2	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,14 ± 0,01	N.S.	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,01	N.S.	N.S.

N.S.: nem szignifikáns

A magyar populációban talált *slc2f2* allélgyakoriságok eltértek a japán népességben leírtaktól, de jó egyezést mutattak európai és kanadai vizsgálatokkal (Barton et al. 2005, Newman et al. 2005, Orozco et al. 2006). A *runx1* esetében a gyakoriságok hasonlóak voltak mind a japán, mind az európai (Orozco et al. 2006) eredményekhez. Minthogy sem a saját, sem az itt említett európai utánvizsgálatokban nem sikerült kapcsolatot kimutatni a vizsgált polimorfizmusok és a RA között (a betegek és a kontrollok genotípus-eloszlása nem mutatott szignifikáns különbséget), ezek a genetikai variánsok nem fogadhatók el általános érvényű, legfeljebb népességspecifikus kockázati tényezőnek.

Az a tény, hogy az OCTN1 kifejeződik az RA betegek ízületi szöveteiben, továbbá egér ízületben mesterségesen kiváltott gyulladás esetén is, elképzelhetővé teszi, hogy szerv- vagy szövetspecifikusan lehet helyi jelentősége a működésének. Bár a karnitin élettani transzportere az OCTN2 fehérje, a vele homológ és nagymértékben hasonló OCTN1 is rendelkezik némi szállítókapacitással, így az ízületekben befolyásolhatja a karnitin homeosztázisát. Ha ez genotípusfüggő módon megváltozik, akkor annak esetleg kihatása lehet a kórfolyamat lezajlására vagy súlyosságára. Eredményeink arra utalnak, hogy a rheumatoid arthritis nem áll lényegi összefüggésben a karnitin-anyagcserével, a szervezet valamely sajátos környezetében azonban nem zárható ki teljesen a kettő kapcsolata. Ennek eldöntésére nagyobb populáción kell további vizsgálatokat végezni, például ízületből vett mintákon.

4.2.2. Szisztémás szklerózis

A szisztémás szklerózis (SSc) autoimmun kötőszöveti betegség (Boin és Rosen 2007), melyre általában fibrózis, gyulladás és elzáródásos vagy atrófiás érbántalmak jellemzők. Két lényegesen eltérő klinikai altípusa van, jelentős szerológiai különbségekkel: a limitált forma (lSSc) csak a bőrt érinti, a diffúz (dSSc) pedig egyes zsigeri szerveket is.

Munkánk során mindkét alcsoportba tartozó betegek, illetve korban illeszkedő, egészséges kontrollok karnitinprofilját vizsgáltuk szérumban (**6. táblázat**). Statisztikailag szignifikáns csökkenést találtunk a betegekben C2, C8, C10:1, C10 esetében, növekedést pedig a C5 és C6 észterek szintjében a kontrollokhoz képest. Az összesített észter és karnitin koncentrációk ugyancsak szignifikáns csökkenést mutattak. A szabad karnitin szintje statisztikailag nem különbözött az egyes csoportokban. Amennyiben a közepes szénláncú észterek (C8-C14) összesített értékét vizsgáltuk meg, akkor azt találtuk, hogy ez szignifikáns csökkenést mutatott a betegekben a kontrollokhoz viszonyítva. A hosszú szénláncú észterek (C16-C18) esetén ugyanez volt tapasztalható, de kisebb mértékben.

A betegség altípusait külön megvizsgálva hasonló megállapításokat tettünk, továbbá a diffúz altípusban szenvedőknél a C18:2 statisztikailag szignifikáns csökkenését észleltük. Észrevehető volt ugyanakkor, hogy a ISSc betegek értékei az esetek többségében közelebb voltak a kontroll eredményekhez, mint a dSSc betegekéi. Limitált SSc mellett a közepes szénláncú észterek összesített értéke is lényegesen közelebb volt a normál szinthez, mint a diffúz SSc-ben; a hosszú szénláncúaknál ez a különbség elhanyagolható volt.

6. táblázat: SSc betegek és kontrollok szérumban karnitinprofilja ($\mu\text{mol/l}$; átlag \pm SEM)

	összes beteg (n=107)	limitált SSc (n=78)	diffúz SSc (n=29)	Kontroll (n=47)
összkarnitin	46,31 \pm 0,74	46,91 \pm 0,88	44,67 \pm 1,42	48,78 \pm 1,46
C0	33,41 \pm 0,59	33,64 \pm 0,67	32,75 \pm 1,27	31,81 \pm 0,99
acilkarnitin	12,90 \pm 0,27 §	13,27 \pm 0,33 §	11,92 \pm 0,39 §	16,97 \pm 0,64
SCAC				
C2	9,96 \pm 0,23 §	10,30 \pm 0,29 §	9,04 \pm 0,34 §	13,78 \pm 0,56
C3	0,27 \pm 0,01	0,28 \pm 0,01	0,26 \pm 0,01	0,31 \pm 0,01
C4	0,47 \pm 0,01	0,46 \pm 0,02	0,50 \pm 0,03	0,43 \pm 0,02
C5	0,34 \pm 0,01 §	0,34 \pm 0,01 §	0,33 \pm 0,02	0,29 \pm 0,01
C6	0,19 \pm 0,01 §	0,19 \pm 0,01 §	0,19 \pm 0,01 §	0,16 \pm 0,01
MCAC				
C8:1	0,07 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01
C8	0,12 \pm 0,01 §	0,13 \pm 0,01 §	0,12 \pm 0,01 §	0,17 \pm 0,01
C10:1	0,10 \pm 0,01 §	0,11 \pm 0,01 §	0,09 \pm 0,01 §	0,14 \pm 0,01
C10	0,14 \pm 0,01 §	0,14 \pm 0,01 §	0,13 \pm 0,01 §	0,20 \pm 0,01
LCAC				
C16	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01
C18:2	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01 §	0,13 \pm 0,01
C18:1	0,21 \pm 0,01	0,20 \pm 0,01	0,21 \pm 0,01	0,23 \pm 0,01
C18	0,08 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01
MCAC összesen	0,63 \pm 0,03 §	0,66 \pm 0,03 §	0,57 \pm 0,04 §	0,85 \pm 0,05
LCAC összesen	0,55 \pm 0,01 §	0,55 \pm 0,02 §	0,54 \pm 0,03 §	0,65 \pm 0,03

§: $p < 0.01$ vs. kontroll

Ismeretes, hogy a szisztémás szklerózis mintegy 8-10-szer gyakrabban fordul elő nőkben, férfiakban pedig a betegség kifejeződése sokszor súlyosabb. Vizsgálataink során nem állapítottunk meg nemre jellemző eltéréseket a betegek karnitinprofiljában. Ugyancsak nem találtunk sajátos eltéréseket azoknál, akiknek tüdő-, szív- vagy nyelőcső-érintettségük volt (nem bemutatott adatok). Érdekesnek bizonyulhatna viszont egy olyan kutatás, ahol a veseszövődményes betegek észtermintázatát elemeznék, mivel a vizeletből való visszaszívás a

karnitinháztartás egyik kulcseleme (Tamai et al. 2001, Vaz és Wanders 2002). Sajnos, a kis esetszám miatt erre nem nyílt módunk.

Az eredményeket összefoglalva megállapítható, hogy a szisztémás szklerózisban szenvedő betegekben néhány karnitin észter, elsősorban az acetilkarnitin szintje csökken, egyeseké (C5, C6) pedig megemelkedik. A koncentrációk megváltozása csekély mértékű, így kizárható annak a lehetősége, hogy elsődleges tényezőként ez állna a kórfolyamatok hátterében. Mindazonáltal a karnitinészter szintek ilyen irányú és fokú eltolódásait eddig egyetlen ismert és vizsgált kóros vagy élettani állapotban sem találták (Chace et al. 2003, Schulze et al. 2003), így az általunk megfigyelt profil betegség-specifikusnak tekinthető. A szabad karnitin egészséges szintje azt mutatja, hogy a karnitin transzportja és elérhetősége nem károsodik. Így az az elképzelés, hogy szisztémás szklerózist gyakran kísérő felszívódási zavarok (Owens és Greenson 2007) kapcsolnák össze a betegséget a karnitin-anyagcsere megváltozásával, eredményeink alapján nem támogatható.

A karnitin elsődleges feladata, hogy a hosszú láncú zsírsavakat eljuttassa a lebomlásuk helyére, a béta-oxidáció során pedig jellemzően közepes és hosszabb szénláncú telített és módosított acilcsoportok keletkeznek köztiterméként. Mivel ezek mennyisége csökken a vérben, elképzelhető, hogy a betegség kisebb mértékben érinti a karnitin transzportfunkcióját. Az egyik lehetséges célpont a CPT-I enzim, amely a zsírsavlebontás egyik sebesség-meghatározó eleme (Eaton 2002, Doh et al. 2005). Kimutatták, hogy a szívizomban a CPT-I gátlódik szisztémás gyulladással, például szepszisben vagy ischaemia/reperfusio sérülés esetén (Eaton et al. 2003).

A karnitinkezelést védő hatásúnak találták a reperfusio sérülések esetében (Akar et al. 2001), amelyek igen gyakori folyamatok a szisztémás szklerózisban is (Generini 1996, Wigley 1996). A jelenségek hátterében részben az oxidatív stressz áll (Chung et al. 2006, Firuzi et al. 2006), és ismertek például olyan polimorfizmusok egyes gyökfogó enzimekben, amelyek kockázati tényezőt jelentenek a SSc kialakulása számára (Tikly et al. 2004). Ugyanakkor a karnitinról igazolták, hogy csökkenti a szabadgyökök mennyiségét és megakadályozza a felhalmozódásukat (Packer et al. 1991, Reznick et al. 1992, Vanella et al. 2000, Gulcin 2006). Ez az „utcaseprő” (scavenger) funkció kiterjed a lipid-peroxidok eltávolítására is, ezáltal a karnitin csillapítani tudja a bleomicinnel kiváltott tüdőfibrosis számos hatását (Daba et al. 2002, Sayed-Ahmed et al. 2004). Ez a daganatellenes terápiában használatos adriamicin-származék állatmodellben képes a szisztémás szklerózist utánozó tüneteket is kialakítani (Yamamoto et al. 1999). Az adriamicin-kezelés során keletkező szabadgyökök szívizom-bántalmakat is kiválthatnak (Singal et al. 2000), melyek ugyancsak

kedvezően befolyásolhatók propionil-karnitin adásával állatmodellekben és szövettényészetben (Alberts et al. 1978, Sayed-Ahmed 2001).

Bár a limitált és a diffúz SSc klinikailag eltérő kórfolyamatot jelentenek, a karnitinprofiljuk lényegében megegyező volt, ami arra utal, hogy a változások eredete közös lehet. Jóllehet a ISSc betegek értékei az esetek többségében közelebb estek a kontroll koncentrációkhoz, a betegség két altípusa közti különbségek általában csekélyek maradtak. Ezért a mi eredményeink nem támasztják alá azt az elképzelést, mely szerint a diffúz forma esetén a szabad és az összkarnitinszint szignifikánsan csökken, a lokalizált SSc mellett pedig változatlan marad (Famularo et al. 1999). Hasonlóképpen nem támogatják azt az elméletet, hogy a szisztémás szklerózisban a szabad karnitin hiánya miatt alakulna ki csökkent antioxidáns védőhatás, ami azután megemelné a szabadgyökök mennyiségét, vagy hogy ugyanez a hiány zavart okozna a citokinek hatásában, illetve a limfociták aktiválásában.

Mínt hogy karnitinhiányos állapotról nincs szó, nehéz felbecsülni egy karnitinkezelés esetleges előnyös hatásait is. A korábbiakban említett kísérletek és egyes újabb előzetes vizsgálatok (Montisci et al. 2007) is biztatóak lehetnek abból a szempontból, hogy a kívülről bejuttatott többlet karnitin talán önmagában is alkalmas bizonyos folyamatok kedvező irányba terelésére, de a betegség lényegét tekintve igazán jelentős eredmény valószínűleg nem várható.

Bár a SSc mérsékelt hatása a karnitin-anyagcserére igazolható volt, a kettő kapcsolata továbbra sem tisztázott. Ismeretes, hogy a betegség megváltoztathatja egyes lipidek, például a koleszterol vagy a trigliceridek anyagcseréjét (Borba et al. 2005, Kodera et al. 2005, Lippi et al. 2006). Szintén módosul az általános fehérjeháztartás, különösképp a kollagén lebomlása (Heickendorff et al. 1995). Az utóbbi években egyre több közlemény lát napvilágot a funkcionális genomika és proteomika területéről a különféle összetett hátterű betegségekkel, köztük számos autoimmun kórképpel kapcsolatban (Trcka és Kunz 2006). Remélhetőleg a hagyományos klinikai és biokémiai módszerek, valamint újfajta kísérleti megközelítések segítségével felderíthetőek lesznek a szisztémás szklerózis és a karnitin-anyagcsere összefüggései és azok jelentősége is.

4.2.3. Gyulladásos bélbetegség (IBD)

Az IBD a bél változó mértékben kiterjedt, krónikus gyulladása. Két klinikai típusa a Crohn-betegség (CD) és a fekélyes vastagbélgyulladás (colitis ulcerosa, UC). Elvégeztük az IGR2230a_1 genotípus meghatározását a felnőtt magyar lakosság köréből 200 CD és 246 UC betegben, illetve 187 egészséges kontroll személyben. A gyakorisági adatok összhangban

állnak máshol közölt értékekkel (Waller et al. 2006, Russel et al. 2006), valamint a SNP honlapján (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=17622208) elérhető eredményekkel. Mindhárom csoport Hardy-Weinberg egyensúlyban volt. A mutált A allél előfordulási gyakorisága és hordozási aránya magasabb volt a betegekben, mint a kontrollokban, a homozigóták aránya pedig az UC betegek között volt magasabb. A statisztikai elemzés során nem találtunk szignifikáns eltérést egyik csoportban sem a következő összehasonlítások mellett: vad típusú allél (G) – mutáns allél (A) gyakorisága, hordozók (AG + AA) – nem hordozók (GG) gyakorisága, valamint homozigóta vad típus (GG) – homozigóta mutáns allél (AA) gyakorisága (7. táblázat).

7. táblázat: *slc22a5* IGR2230a_1 genotípusok Crohn- és UC betegekben, illetve kontroll személyekben

IGR2230 genotípus	CD betegek (n = 200)		UC betegek (n = 246)		Kontrollok (n = 187)	
	n	%	n	%	N	%
GG	47	23,5	70	28,4	59	31,6
AG	112	56,0	120	48,8	89	47,6
AA	41	20,5	56	22,8	39	20,8
A allél gyakoriság		48,5		47,1		44,6

A negatív eredmények háttérében többféle ok is lehet, amely magyarázatul szolgálhat. Mivel az egyes csoportok között az azonos kategóriák gyakorisági értékei nem különböznek jelentősen, vélhetően a genotípus és a betegség közti társulás is kismértékű, amelynek érzékenyebb kimutatásához nagyobb számú személy mintáját kell megvizsgálni. Maga az IBD összetett háttérű és kialakulású betegség, ráadásul az IBD5 szakasz funkcionális feltérképezését és a fenotípushoz való finomabb hozzárendelését célzó erőfeszítések mindeddig nem hoztak következetes, ellentmondásmentes eredményeket (Silverberg 2006). Ezt részben az is magyarázhatja, hogy az etnikai vagy földrajzi különbségek nagyban befolyásolhatják a vizsgálatok kimenetelét. Tovább bonyolítja a képet, hogy mind a CD, mind az UC többféle fenotípus heterogén, egymással is átfedő csoportja, ami az esetek egy részében

téves diagnózishoz is vezethet, különösképpen vastagbél-érintettség esetén. Ennek háttérében valószínűleg az áll, hogy az egyes betegek eltérő kockázati allélkészlettel rendelkeznek, ami nagyban befolyásolja a kórkép adott megjelenési formáját. Ez alapján fogalmazódott meg olyan vélemény, hogy az IBD5 szakasz „fenotípus-specifikus” módon társul a Crohn-betegséghez, és ezt is további genetikai variánsok módosíthatják (Vermeire et al. 2005, Latiano et al. 2006).

Tandem tömegspektrometria segítségével megvizsgáltuk a CD és UC betegek, valamint az egészséges kontroll személyek karnitinszter profilját az IGR2230a_1 genotípus szerinti alcsoportokban. Kíváncsiak voltunk, hogy ez a SNP, befolyásolva az *slc22a5* gén működését, hatással van-e a karnitin anyagcseréjére. Egyetlen statisztikailag szignifikáns eltérést találtunk: az UC betegeknél a hordozókban jelentősen lecsökkent a C2 szint (**8., 9. és 10. táblázat**). A szabad karnitin koncentrációja mindenhol normális volt, ami megfelelő karnitin ellátottságra utal.

8. táblázat: Crohn-betegek (n = 66) szérum karnitinprofilja IGR2230a_1 genotípus szerinti megoszlásban ($\mu\text{mol/l}$; átlag \pm SEM)

Genotípus:	GG (n = 22)	AG (n = 43)	AA (n = 11)
C0	29,72 \pm 1,19	27,57 \pm 0,61	30,19 \pm 1,89
SCAC			
C2	15,93 \pm 0,54	16,54 \pm 0,54	18,26 \pm 1,42
C3	0,24 \pm 0,01	0,24 \pm 0,01	0,24 \pm 0,02
C4	0,29 \pm 0,02	0,26 \pm 0,01	0,26 \pm 0,02
C5	0,16 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,13 \pm 0,02
C6	0,10 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01
MCAC			
C8:1	0,08 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,02
C8	0,14 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	0,16 \pm 0,02
C10:1	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,11 \pm 0,02
C10	0,14 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	0,15 \pm 0,02
LCAC			
C16	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,02
C18:2	0,13 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,12 \pm 0,02
C18:1	0,18 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	0,21 \pm 0,02
C18	0,09 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01

9. táblázat: UC betegek (n = 43) szérumban karnitinprofilja IGR2230a_1 genotípus szerinti megoszlásban (µmol/l; átlag ± SEM)

Genotípus:	GG (n = 8)	AG (n = 26)	AA (n = 9)
C0	33,71 ± 3,73	30,30 ± 2,02	32,86 ± 2,51
SCAC			
C2	12,91 ± 1,32	8,30 ± 0,58	8,59 ± 1,35
C3	0,41 ± 0,05	0,30 ± 0,02	0,35 ± 0,05
C4	0,26 ± 0,03	0,20 ± 0,02	0,23 ± 0,04
C5	0,15 ± 0,03	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,01
C6	0,08 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,09 ± 0,02
MCAC			
C8:1	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,01
C8	0,16 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,14 ± 0,02
C10:1	0,11 ± 0,02	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,02
C10	0,19 ± 0,03	0,18 ± 0,02	0,16 ± 0,02
LCAC			
C16	0,14 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,14 ± 0,01
C18:2	0,13 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,15 ± 0,02
C18:1	0,19 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,19 ± 0,02
C18	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,01

10. táblázat: kontroll személyek (n = 45) szérumban karnitinprofilja IGR2230a_1 genotípus szerinti megoszlásban (µmol/l; átlag ± SEM)

Genotípus:	GG (n = 11)	AG (n = 23)	AA (n = 11)
C0	31,03 ± 1,67	29,00 ± 1,18	31,85 ± 2,42
SCAC			
C2	14,40 ± 0,97	15,93 ± 0,67	16,83 ± 1,30
C3	0,26 ± 0,02	0,28 ± 0,02	0,30 ± 0,03
C4	0,26 ± 0,02	0,30 ± 0,02	0,33 ± 0,03
C5	0,17 ± 0,02	0,18 ± 0,01	0,19 ± 0,03
C6	0,08 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,09 ± 0,01
MCAC			
C8:1	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01
C8	0,14 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,13 ± 0,02
C10:1	0,11 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,02
C10	0,15 ± 0,02	0,16 ± 0,01	0,14 ± 0,02
LCAC			
C16	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,01
C18:2	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,02
C18:1	0,16 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,16 ± 0,02
C18	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01

Következtetésünk szerint az IGR2230a_1 polimorfizmus nem jelent önálló kockázathordozó tényezőt az IBD kialakulását tekintve a magyar népesség körében, de ennek a megállapításnak az érvényességét meg kell vizsgálni nagyobb mintaszám mellett is. Továbbá azt is kijelenthetjük, hogy az IGR2230a_1 genotípusnak nincs értékelhető hatása a

karnitin anyagcserére sem az IBD betegekben sem az egészséges kontroll személyekben. A Crohn-betegséggel és/vagy a fekélyes vastagbélgyulladással összefüggő valódi kóros genetikai változatok megtalálása az IBD5 régióban ugyanúgy az elkövetkező kutatások feladata marad, mint feltárni ezek lehetséges kapcsolatát a karnitin transzportjával vagy anyagcseréjével.

4.2.4. A karnitin és az immunbetegségek kapcsolata

A karnitin-anyagcsere és az immunrendszer működése közti kapcsolat lehetősége már régen felvetődött (De Simone et al. 1982), a rendelkezésre álló ismeretek mégis szórványosak és bizonytalanok. A korábbi vizsgálatokban enzimatis radiokémiai meghatározás, illetve genetikai, klinikai információk alapján próbálták meg feltárni az összefüggéseket. A karnitin hatása valószínűleg több ponton érvényesülhet; például alapvetően érinti az immunsejtek energiahasznosítását a hosszúláncú zsírsavakból, ami kulcsfontosságú a sejtmembrán szerkezetének és a sejt életképességének fenntartásához (Famularo et al. 2004). Csökkent triglicerid és emelkedett szabad zsírsav szintet találtak többek között rheumatoid arthritises és IBD betegekben (Iannello et al. 2003), ami felvetette a lipid-anyagcsere zavarának és a karnitin rendszer érintettségének lehetőségét is. Patkánykísérletekben a karnitin csökkentette a reaktív szabadgyökök képződését az immunsejtekben, és helyreállította a neutrofil granulociták és a makrofágok hanyatló aktivitását az idős állatokban (Izgut-Uysal et al. 2003, 2004). Karnitinkezeléssel fokozható volt bizonyos fehérvérsejtek stimulált szaporodása és kemotaktikus aktivitása is (De Simone et al. 1982). AIDS betegségben a perifériás mononukleáris sejtek karnitintartalma alacsonyabb, mint az egészséges személyekében (De Simone et al. 1994); klinikai tanulmányokban többek között igazolták, hogy karnitinkezelés mellett lecsökkent a nyiroksejtek apoptózisa és az oxidatív stressz, gátlódott a gyulladásos citokinek, a Fas/FasL és a kaszpáz-1 kifejeződése (Moretti et al. 2002). Tömegspektrometriás méréseken alapuló vizsgálatok (Bene et al. 2005, 2006a, 2007) alapján a karnitinprofil jellegzetes változásokat mutathat a bélcsatorna egyes gyulladásos megbetegedései során.

Fontos feladat lenne tisztázni a karnitin szerepét az immunológiai folyamatokban, illetve egyes immunbetegségek kialakulásával kapcsolatban, valamint feltárni terápiás alkalmazási lehetőségeit és jelentőségét, különös tekintettel az immunválasz folyamatos hanyatlásának ellensúlyozására az öregedés során. Az eddigi eredmények alapján úgy tűnik, hogy a karnitin gyakorolhat bizonyos módosító hatást egyes immunfolyamatokra, másrészt egyfajta sejtvédő szerepkörben a heveny gyulladások során keletkező oxidatív melléktermékek mennyiségének, és mind az immunsejtek, mind a parenchimális sejtek apoptózisának csökkenését

eredményezheti. Mindezt fokozott óvatossággal kell azonban kezelni, hiszen a viszonylag kisszámú *in vitro*, illetve klinikai adat korlátozott következtetéseket enged meg az emberi szervezetben ténylegesen és *in vivo* mutatkozó jelenségekkel kapcsolatban. Az a lehetőség sem zárható ki, hogy a beteg személyben az esetleg többféle okból (felszívás, szintézis) megzavart karnitinellátás másodlagosan a mitokondrium-működés és az oxidatív anyagcsere általános leromlását idézi elő, tovább súlyosbítva az immunrendszer állapotát, s a karnitinnal való kezelés erre kifejtett kedvező hatása tűnhet úgy, mintha az alapbetegség bizonyos jellemzőire gyakorolna jótékony befolyást.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

- A terhesség 30. hete és a szülés között az acetilkarnitin, továbbá a közepes és hosszú szénláncú észterek szintje szignifikánsan megemelkedett, a szabad karnitiné pedig a 20. és 30. hét között lecsökkent. A terhes nők észterszintjei és szabad karnitinja szignifikánsan alacsonyabb a hasonló korú nem terhes nőkénel, kivéve a hosszú láncú észtereket, ahol fordított a helyzet. A részletek egy összetett, dinamikus képet adnak a terhesség alatti karnitin-anyagcseréről, amelyet a régebbi módszerekkel nem volt mód megismerni. Véleményünk szerint a karnitinprofil megváltozása egyrészt a karnitinkészletek intenzívebb felhasználását, másrészt az anyai zsírsavlebontás fokozódását tükrözi a terhesség második felében, illetve a szülés során.
- Az újszülöttek köldökzsínórvérében egyedi karnitinprofilot találtunk, amely mind az anyákétól, mind a nem terhes nőkéétől, mind pedig az egyéb ismert profiloktól eltér. Az anya és a magzat karnitinmetabolitjai közül a szabad karnitin szignifikáns pozitív korrelációt mutatott. A magzati szabad karnitinszintnek az anyainál magasabb értéke, valamint a pozitív korreláció arra utalnak, hogy mivel a magzatban a karnitin szintézise valószínűleg csekély mértékű, az anya aktív transzportmechanizmusok révén biztosítja a magzat karnitinellátását. Itt az OCTN2 fehérje szerepe nyilvánvalónak látszik.
- Mivel a köldökzsínórvér karnitinprofilja jelentősen eltér a néhány napos újszülöttekéétől, a változások irányából arra következtetünk, hogy a születést követően metabolikus átállás megy végbe a szénhidrátégetésről a zsírsavak oxidációjára.
- A rheumatoid arthritis általában a betegek karnitinmetabolit koncentrációinak kismértékű csökkenését okozza az egészséges kontrollokhhoz képest. A változások mértéke semmiképpen sem áll arányban egy súlyos kórfolyamat kiváltásával. Az egyes SNP genotípusok ugyancsak nem mutattak különbséget a karnitinprofil tekintetében, így a vizsgált allélvariánsok hatását a karnitin-anyagcserére nem igazoltuk.
- A szisztémás szklerózisban szenvedő betegekben sajátos, eddig le nem írt karnitinprofilot találtunk, melyet elsősorban az acetilkarnitin és a közepes lánchosszúságú észterek, kisebb mértékben a hosszú láncú észterek csökkent értékei jellemeznek az egészséges kontrollokhhoz képest. A szabad karnitin szintje megtartott volt, ami nem igazolja a szállítás zavarának, vagy súlyos malabszorpció által okozott karnitinhiánynak a szerepét a patomechanizmusban. A csökkent észterszintek összefüggésben állhatnak a zsírsav-oxidáció mérséklődésével.

- Az SSc kétféle altípusa között nem találtunk jelentős mértékű különbségeket a karnitinprofilban. Ezért egyrészt a változások közös eredetét feltételezzük, másrészt úgy véljük, hogy a klinikai altípus nincs lényeges hatással a karnitin-anyagcserére.
- Megállapítottuk, hogy az IGR2230a_1 genotípus nem befolyásolja a karnitin profilt sem CD vagy UC betegekben, sem egészséges kontrollokban, így ez a SNP nincs hatással a karnitin anyagcserére az OCTN2 fehérje közvetítésével.

6. IRODALOMJEGYZÉK

A doktori munka alapjául szolgáló közlemények

Talián GC, Komlósi K, Decsi T, Koletzko B, Melegh B. Determination of carnitine ester patterns during the second half of pregnancy, at delivery, and in neonatal cord blood by tandem mass spectrometry: complex and dynamic involvement of carnitine in the intermediary metabolism. *Pediatr Res* 2007 Jul; 62(1):88-92

Impakt faktor: 2,839

Komlósi K, **Talián CG**, Faragó B, Magyar L, Cserép V, Kovács B, Bene J, Havasi V, Kiss CG, Czirják L, Melegh B No influence of SLC22A4 C6607T and RUNX1 G24658C genotypic variants on the circulating carnitine ester profile in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2008 Jan-Feb; 26(1):61-6

Impakt faktor: 2,270 (2007)

Talián CG, Kiss CG, Melegh B, Czirják L Features of serum carnitine ester profile in systemic sclerosis. (Magyar Immunológia)

G Talián, J Bene, L Magyar, K Komlósi, K Horváth, B Gasztonyi, P Miheller, M Figler, G Mózsik, Z Tulassay, B Melegh Plasma carnitine ester profiles in Crohn's disease and ulcerative colitis patients with different IGR2230a_1 genotypes. (International Journal of Immunogenetics) Impakt faktor: 1,279

Egyéb saját közlemények:

Csikós G, Molnár K, Borhegyi NH, **Talián GC**, Sass M. Insect cuticle, an in vivo model of protein trafficking. *Journal of Cell Science* 1999 Jul; 112 (Pt 13):2113-24.

Impakt faktor: 6,044

Lőw P, **Talián GC**, Sass M Up- and downregulated genes in muscles that undergo developmentally programmed cell death in the insect *Manduca sexta*. *FEBS Letters* 2005; 579: 4943–4948

Impakt faktor: 3,415

Szolnoki Z, Havasi V, **Talián G**, Bene J, Komlósi K, Somogyvári F, Kondacs A, Szabó M, Fodor L, Bodor A, Melegh B. Lymphotoxin- α gene 252G allelic variant is a risk factor for large-vessel-associated ischaemic stroke. *J Mol Neurosci* 2005; 27(2):205-11

Impakt faktor: 2,555

Havasi V, Szolnoki Z, **Talián G**, Bene J, Komlósi K, Maász A, Somogyvári F, Kondacs A, Szabó M, Fodor L, Bodor A, Melegh B. Apolipoprotein A5 gene promoter region T-1131 polymorphism associates with elevated circulating triglyceride levels and confers susceptibility for development of ischaemic stroke. *J Mol Neurosci* 2006; 29(2):177-83

Impakt faktor: 2,965

Zoltán Szolnoki, Viktória Havasi, **Gábor Talián**, Judit Bene, Katalin Komlósi, Ferenc Somogyvári, András Kondacs, Mihály Szabó, Lajos Fodor, Anita Bodor, Béla Melegh:

Angiotensin II type-1 receptor A1166C polymorphism is associated with increased risk of ischemic stroke in hypertensive smokers. *J Mol Neurosci.* 2006;28(3):285-90.

Impakt faktor: 2,965 (2006)

Bene J, Magyari L, **Talián G**, Komlósi K, Gasztonyi B, Tari B, Várkonyi A, Mózsik G, Melegh B. Prevalence of SLC22A4, SLC22A5 and CARD15 gene mutations in Hungarian pediatric patients with Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2006 Sep; 14;12(34):5550-3

Bene J, Komlósi K, Havasi V, **Talián G**, Gasztonyi B, Horváth K, Mózsik G, Hunyady B, Melegh B, Figler M. Changes of plasma fasting carnitine ester profile in patients with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12:110-113

Bene J, Komlósi K, Magyari L, **Talián G**, Horváth K, Gasztonyi B, Miheller P, Figler M, Mózsik G, Tulassay Z, Melegh B. Plasma carnitine ester profiles in Crohn's disease patients characterized for SLC22A4 C1672T and SLC22A5 G-207C genotypes. *Br J Nutr* 2007; 98(2):345-50.

Impakt faktor: 2,339

Magyari L, Bene J, Komlósi K, **Talián G**, Faragó B, Csöngéi V, Járomi L, Sáfrány E, Sipeky C, Lakner L, Varga M, Gasztonyi B, Melegh B. Prevalence of SLC22A4 1672T and SLC22A5 -207C combination defined TC haplotype in Hungarian ulcerative colitis patients. *Pathol Oncol Res* 2007; 13(1):53-6.

Impakt faktor: 1,272

Faragó B, **Talián GC**, Maász A, Magyari L, Horvatovich K, Kovács B, Cserép V, Kisfali P, Kiss CG, Czirják L, Melegh B. Prevalence of functional haplotypes of the peptidylarginine deiminase citrullinating enzyme gene in patients with rheumatoid arthritis: no influence of the presence of anti-citrullinated peptide antibodies. *Clin Exp Rheumatol* 2007 Jul-Aug; 25(4):523-8

Impakt faktor: 2,270

Összesített impakt faktor: 30,213

Idézett irodalom

1. Adlouni HA, Katrib K, Ferard G. Changes in carnitine in polymorphonuclear leukocytes, mononuclear cells, and plasma from patients with inflammatory disorders. *Clin Chem* 1988; 34(1):40-43
2. Akar H, Sarac A, Konuralp C, Yildiz L, Kolbakir F. Comparison of histopathologic effects of carnitine and ascorbic acid on reperfusion injury. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001 Apr; 19(4):500-6.
3. Alberts DS, Peng YM, Moon TE, et al. Carnitine prevention of adriamycin toxicity in mice. *Biomedicine* 1978; 29:265-268
4. Alesci S, De Martino MU, Kino T, Ilias I L-Carnitine is a modulator of the glucocorticoid receptor alpha. *Ann N Y Acad Sci* 2004 Jun; 1024:147-52. Review.
5. Ames BN, Liu J Delaying the mitochondrial decay of aging with acetylcarnitine. *Ann N Y Acad Sci* 2004 Nov; 1033:108-16. Review.
6. Arenas J, Rubio JC, Martin MA, Campos Y Biological roles of L-carnitine in perinatal metabolism. *Early Hum Dev* 1998; 53(Suppl.):S43-50
7. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA et al.: The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31(3):315-24.
8. Babusukumar U, Wang T, McGuire E, Broeckel U, Kugathasan S. Contribution of OCTN variants within the IBD5 locus to pediatric onset Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2006; 101(6):1354-1361
9. Barga-Lockner C, Hahn P, Wittmann B Plasma carnitine in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1981 Jun 15; 140(4):412-4
10. Barton A, Eyre S, Bowes J, Ho P, John S, Worthington J Investigation of the SLC22A4 gene (associated with rheumatoid arthritis in a Japanese population) in a United Kingdom population of rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum* 2005; 52(3):752-8.
11. Bene J, Komlosi K, Gasztonyi B, Juhasz M, Tulassay Z, Melegh B Plasma carnitine ester profile in adult celiac disease patients maintained on long-term gluten free diet. *World J Gastroenterol* 2005; 11(42):6671-5.
12. Bene J, Komlosi K, Havasi V, Talian G, Gasztonyi B, Horvath K, Mozsik G, Hunyady B, Melegh B, Figler M Changes of plasma fasting carnitine ester profile in patients with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2006a; 12:110-113
13. Bene J, Magyari L, Talian G, Komlosi K, Gasztonyi B, Tari B et al. Prevalence of SLC22A4, SLC22A5 and CARD15 gene mutations in Hungarian pediatric patients with Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2006b; 12(34):5550-5553

14. Bene J, Komlosi K, Magyari L, Talian G, Horvath K, Gasztonyi B, Miheller P, Figler M, Mozsik G, Tulassay Z, Melegh B Plasma carnitine ester profiles in Crohn's disease patients characterized for SLC22A4 C1672T and SLC22A5 G-207C genotypes. *Br J Nutr* 2007; 98(2):345-50.
15. Bennett MJ, Rinaldo P, Strauss AW Inborn errors of mitochondrial fatty acid oxidation. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2000; 37:1-44
16. Benvenega S, Lakshmanan M, Trimarchi F Carnitine is a naturally occurring inhibitor of thyroid hormone nuclear uptake. *Thyroid*. 2000 Dec; 10(12):1043-50.
17. Bieber LL, Emaus R, Valkner K, Farrel S Possible functions of short-chain and medium-chain carnitine acyltransferases. *Fed Proc* 1982; 41:2858-62.
18. Bieber LL Carnitine. *Annu Rev Biochem* 1988; 57:261-283
19. Boin F, Rosen A Autoimmunity in systemic sclerosis: current concepts. *Curr Rheumatol Rep* 2007 May; 9(2):165-72. Review
20. Borba EF, Borges CT, Bonfa E Lipoprotein profile in limited systemic sclerosis. *Rheumatol Int* 2005; 25:379-383
21. Brass EP Pivalate-generating prodrugs and carnitine homeostasis in man. *Pharmacol Rev* 2002; 54:589-598
22. Cavedon CT, Bourdoux P, Mertens K, Van Thi HV, Herremans N, de Laet C, Goyens P Age-related variations in acylcarnitine and free carnitine concentrations measured by tandem mass spectrometry. *Clinical Chemistry* 2005; 51:4 745-752
23. Cederblad G, Niklasson A, Rydgren B, Albertsson-Wikland K, Olegard R Carnitine in maternal and neonatal plasma. *Acta Paediatr Scand* 1985 Jul; 74(4):500-4
24. Cederblad G, Fahraeus L and Lindgren K Plasma carnitine and renal-carnitine clearance during pregnancy. *Am J Clin Nutr* 44: 379-383, 1986
25. Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kantarceken B, Ciralik H, Kurutas EB, Buyukbese MA et al. Effects of L-carnitine on oxidant/antioxidant status in acetic acid-induced colitis. *Dig Dis Sci* 2006; 51(3):488-494
26. Chace DH, Kalas TA, Naylor EW Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. *Clin Chem* 2003; 49:1797-1817
27. Chung CP, Avalos I, Stein CM Oxidative stress, microvascular dysfunction, and scleroderma: an association with potential therapeutic implications, a commentary on "Postocclusive reactive hyperemia inversely correlates with urinary 15-F2t-isoprostane levels in systemic sclerosis" *Free Radic Biol Med* 2006; 40:1698-1699
28. Cummings JH, Rombeau JL, Sakata T (eds). Physiological and clinical aspects of short chain fatty acids. *Cambridge: Cambridge University Press* 1995

29. D'Argenio G, Calvani M, Casamassimi A, Petillo O, Margarucci S, Rienzo M et al. Experimental colitis: decreased Octn2 and Atb0+ expression in rat colonocytes induces carnitine depletion that is reversible by carnitine-loaded liposomes. *FASEB J* 2006; 20(14):2544-2546
30. Daba MH, Abdel-Aziz AA, Moustafa AM, et al. Effects of L-carnitine and ginkgo biloba extract (EG b 761) in experimental bleomycin-induced lung fibrosis. *Pharmacol Res* 2002; 45:461-467
31. De Simone C, Ferrari M, Lozzi A, Meli D, Ricca D, Sorice F Vitamins and immunity: II. Influence of L-carnitine on the immune system. *Acta Vitaminol Enzymol* 1982; 4(1-2):135-40.
32. De Simone C, Famularo G, Tzantzoglou S, Trinchieri V, Moretti S, Sorice F Carnitine depletion in peripheral blood mononuclear cells from patients with AIDS: effect of oral L-carnitine. *AIDS* 1994 May; 8(5):655-60.
33. De Simone C, Tzantzoglou S, Jirillo E, Marzo A, Vullo V, Martelli EA L-carnitine deficiency in AIDS patients. *AIDS* 1992 Feb;6(2):203-5.
34. Decsi T, Campoy C, Koletzko B Effect of N-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in pregnancy: the Nuheal trial. *Adv Exp Med Biol* 2005; 569:109-113
35. Demirkol M, Sewell AC & Bohles H The variation of carnitine content in human blood cells during disease – a study in bacterial infection and inflammatory bowel disease. *Eur J Pediatr* 1994; 153, 565–568.
36. Dieude P, Cornelis F Genetic basis of rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2005 Dec; 72(6):520-6.
37. Doh KO, Kim YW, Park SY, Lee SK, Park JS, Kim JY Interrelation between long-chain fatty acid oxidation rate and carnitine palmitoyltransferase 1 activity with different isoforms in rat tissues. *Life Sci* 2005 Jun 10; 77(4):435-43
38. Eaton S Control of mitochondrial beta-oxidation flux. *Prog Lipid Res* 2002 May; 41(3):197-239. Review.
39. Eaton S, Fukumoto K, Stefanutti G, Spitz L, Zammit VA, Pierro A Myocardial carnitine palmitoyltransferase I as a target for oxidative modification in inflammation and sepsis. *Biochem Soc Trans* 2003 Dec; 31(Pt 6):1133-6. Review
40. Famularo G, De Simone C, Danese C Carnitine deficiency in scleroderma. *Immunol Today* 1999 May; 20(5):246
41. Famularo G, De Simone C, Trinchieri V, Mosca L Carnitines and its congeners: a metabolic pathway to the regulation of immune response and inflammation. *Ann N Y Acad Sci* 2004 Nov; 1033:132-8.

42. Ferrannini E, Buzzigoli G, Bevilacqua S, Boni C, Del Chiaro D, Oleggini M, Brandi L, Maccari F Interaction of carnitine with insulin-stimulated glucose metabolism in humans. *Am J Physiol* 1988 Dec; 255(6 Pt 1):E946-52.
43. Firuzi O, Fuksa L, Spadaro C, et al. Oxidative stress parameters in different systemic rheumatic diseases. *J Pharm Pharmacol* 2006; 58:951-957
44. Fitzgerald JF, Troncone R, Roggero P, Pozzi E, Garavaglia B, Parini R, Carissimi E, Santus F, Piemontese P, Cataliotti E, Mosca F, Carnelli V Clinical quiz. Secondary carnitine deficiency due to celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 36: 636, 646
45. Foster DW The role of the carnitine system in human metabolism. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1033:1-16
46. Fritz IB & Yue KT Long-chain carnitine acyltransferase and the role of acylcarnitine derivatives in the catalytic increase of fatty acid oxidation induced by carnitine. *J Lipid Res* 1963; 4:279–288.
47. Gasbarrini G, Mingrone G, Giancaterini A, De Gaetano A, Scarfone A, Capristo E et al. Effects of propionyl-L-carnitine topical irrigation in distal ulcerative colitis: a preliminary report. *Hepatogastroenterology* 2003; 50(53):1385-1389
48. Generini S, Kahaleh B, Matucci-Cerinic M, Pignone A, Lombardi A, Ohtsuka T Raynaud's phenomenon and systemic szklerózis. *Ann Ital Med Int* 1996 Apr-Jun; 11(2):125-31.
49. Giallourakis C, Stoll M, Miller K, Hampe J, Lander ES, Daly MJ et al. IBD5 is a general risk factor for inflammatory bowel disease: replication of association with Crohn disease and identification of a novel association with ulcerative colitis. *Am J Hum Genet* 2003; 73(1):205-211.
50. Grube M, Schwabedissen HM, Draber K, Prager D, Moritz KU, Linnemann K, Fusch C, Jedlitschky G, Kroemer HK Expression, localization, and function of the carnitine transporter octn2 (slc22a5) in human placenta. *Drug Metab Dispos* 2005; 33:31-37
51. Grundemann D, Harlfinger S, Golz S et al.: Discovery of the ergothioneine transporter. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(14):5256-61.
52. Gulcin I'lhami Antioxidant and antiradical activities of l-carnitine. *Life Sciences* 2006; 78 803–811
53. Hahn P, Novak M Development of brown and white adipose tissue. *J Lipid Res* 1975; 16:79-91
54. Hahn P, Novak M How important are carnitine and ketones for the newborn infant? *Fed Proc* 1985 Apr; 44(7):2369-73.

55. Hahn P, Skala JP, Seccombe DW, Frohlich J, Penn-Walker D, Novak M, Hynie I, Towell ME Carnitine content of blood and amniotic fluid. *Pediatr Res* 1977 Aug; 11(8):878-80
56. Hamilton JW, Li BU, Shug AL, Olsen WA Carnitine transport in human intestinal biopsy specimens Demonstration of an active transport system. *Gastroenterology* 1986; 91: 10-16
57. Heickendorff L, Zachariae H, Bjerring P, et al. The use of serologic markers for collagen synthesis and degradation in systemic sclerosis. *J Am Acad Dermatol* 1995; 32:584-588
58. Herrera E. Metabolic adaptations in pregnancy and their implications for the availability of substrates to the fetus. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54 Suppl 1:S47-S51
59. Herrera E and Amusquivar E. Lipid metabolism in the fetus and the newborn. *Diabetes Metab Res Rev* 2000; 16:202-210
60. Hromadova M, Parrak V, Huttova M, Danova K and Urvolgyova M Carnitine level and several lipid parameters in venous blood of newborns, cord blood and maternal blood and milk. *Endocr Regul* 1994; 28:47-52
61. Iannello S et al. Low fasting serum triglyceride level as a precocious marker of autoimmune disorders. *Med Gen Med* 2003; 5(3):20
62. Indiveri C, Iacobazzi V, Giangregorio N, Palmieri F The mitochondrial carnitine carrier protein: cDNA cloning, primary structure and comparison with other mitochondrial transport proteins. *Biochem J* 1997 Feb 1; 321 (Pt 3):713-9.
63. Izgut-Uysal VN, Agac A, Derin N Effect of L-carnitine on carrageenan-induced inflammation in aged rats. *Gerontology* 2003 Sep-Oct; 49(5):287-92.
64. Izgüt-Uysal VN, Ağaç A, Karadoğan I, Derin N. Effects of L-carnitine on neutrophil functions in aged rats. *Mech Ageing Dev* 2003 Mar;124(3):341-7.
65. Jarvinen P, Aho K: Twin studies in rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum* 1994; 24(1):19-28.
66. Jogl G, Hsiao YS, Tong L Structure and function of carnitine acyltransferases. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1033:17-29
67. Kashyap ML, Sivasambo R, Sothy SP, Cheah JS, Gartside PS Carbohydrate and lipid metabolism during human labor: free fatty acids, glucose, insulin, and lactic acid metabolism during normal and oxytocin-induced labor for postmaturity. *Metabolism* 1976 Aug; 25(8):865-75
68. Kekuda R, Prasad PD, Fei YJ, Torres-Zamorano V, Sinha S, Yang-Feng TL, Leibach FH, Ganapathy V Cloning of the sodium-dependent, broad-scope, neutral amino acid transporter B0 from a human placental choriocarcinoma cell line. *J Biol Chem* 1996; 271:18657-18661

69. King JC, Butte NF, Bronstein MN, Kopp LE, Lindquist SA Energy metabolism during pregnancy: influence of maternal energy status. *Am J Clin Nutr* 1994; 59:439S-445S
70. Kiss CG, Lovei C, Suto G et al.: Prevalence of rheumatoid arthritis in the South-Transdanubian region of Hungary based on a representative survey of 10,000 inhabitants. *J Rheumatol* 2005; 32(9):1688-90
71. Kiziltunc A, Cogalgil S, Cerrahoglu L. Carnitine and antioxidants levels in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 1998; 27(6):441-5
72. Kodera M, Hayakawa I, Komura K, Yanaba et al. Anti-lipoprotein lipase antibody in systemic sclerosis: association with elevated serum triglyceride concentrations. *J Rheumatol* 2005; 32:629-636
73. Koumantakis E, Sifakis S, Koumantaki Y, Hassan E, Matalliotakis I, Papadopoulou E, Evageliou A Plasma carnitine levels of pregnant adolescents in labor. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2001; 14:65-69
74. Krahenbuhl S, Willer B, Bruhlmann P, Hoppeler H, Stucki G Carnitine homeostasis in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta* 1999 Jan; 279(1-2):35-45
75. Latiano A, Palmieri O, Valvano RM, D'Inca R, Vecchi M, Ferraris A et al. Contribution of IBD5 locus to clinical features of IBD patients. *Am J Gastroenterol* 2006; 101(2):318-325
76. Lerner A, Gruener N, Iancu TC Serum carnitine concentrations in coeliac disease. *Gut* 1993; 34: 933-935
77. Lippi G, Caramaschi P, Montagnana M, et al. Lipoprotein[a] and the lipid profile in patients with systemic sclerosis. *Clin Chim Acta* 2006; 364:345-348
78. Longo N, Amat di San FC, Pasquali M Disorders of carnitine transport and the carnitine cycle. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2006; 142:77-85
79. Maeda T, Hirayama M, Kobayashi D, Miyazawa K, Tamai I Mechanism of the regulation of organic cation/carnitine transporter 1 (SLC22A4) by rheumatoid arthritis-associated transcriptional factor RUNX1 and inflammatory cytokines. *Drug Metab Dispos* 2007 Mar; 35(3):394-401.
80. Magyari L, Bene J, Komlosi K, Talian G, Farago B, Csongei V et al. Prevalence of SLC22A4 1672T and SLC22A5 -207C combination defined TC haplotype in Hungarian ulcerative colitis patients. *Pathol Oncol Res* 2007; 13(1):53-56
81. McGovern DP, van Heel DA, Negoro K, Ahmad T, Jewell DP. Further evidence of IBD5/CARD15 (NOD2) epistasis in the susceptibility to ulcerative colitis. *Am J Hum Genet* 2003; 73(6):1465-1466.
82. Melegh B, Kerner J, Bieber LL Pivampicillin-promoted excretion of pivaloylcarnitine in humans. *Biochem Pharmacol* 1987; 36:3405-3409

83. Melegh B. Carnitine supplementation in the premature. *Biol Neonate* 1990; 58:93-106.
84. Melegh B, Hermann R, Bock I Generation of hydroxytrimethyllysine from trimethyllysine limits the carnitine biosynthesis in premature infants. *Acta Paediatr* 1996; 85:345-350
85. Meyburg J, Schulze A, Kohlmueller D, Linderkamp O, Mayatepek E Postnatal changes in neonatal acylcarnitine profile. *Pediatr Res* 2001; 49:125-129
86. Mingrone G, Greco AV, Capristo E, Benedetti G, Giancaterini A, De Gaetano A, Gasbarrini G L-carnitine improves glucose disposal in type 2 diabetic patients. *J Am Coll Nutr* 1999 Feb; 18(1):77-82.
87. Montisci R, Ruscazio M, Lai S, Vacca A, Cauli A, Passiu G, Montisci M, Meloni L, Mathieu A, Iliceto S Effect of a single IV administration of L-propionylcarnitine on myocardial microcirculation assessed by coronary flow velocity reserve measurement in patients with systemic sclerosis: a pilot study. *Clinical Therapeutics* 2007; 29(1):163-171
88. Moretti S, Famularo G, Marcellini S, Boschini A, Santini G, Trinchieri V, Lucci L, Alesse E, De Simone C. L-carnitine reduces lymphocyte apoptosis and oxidant stress in HIV-1-infected subjects treated with zidovudine and didanosine. *Antioxid Redox Signal* 2002 Jun; 4(3):391-403
89. Nagy Z, Czirjak L Predictors of survival in 171 patients with systemic sclerosis (scleroderma). *Clin Rheumatol* 1997; 16:454-460
90. Nagy Z, Czirjak L Increased levels of amino terminal propeptide of type III procollagen are an unfavourable predictor of survival in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23:165-172
91. Nakano C, Takashima S, Takeshita K Carnitine concentration during the development of human tissues. *Early Hum Dev* 1989; 19:21-27
92. Newman B, Wintle RF, van Oene M et al.: SLC22A4 polymorphisms implicated in rheumatoid arthritis and Crohn's disease are not associated with rheumatoid arthritis in a Canadian Caucasian population. *Arthritis Rheum* 2005; 52(2):425-9.
93. Nezu J, Tamai I, Oku A et al.: Primary systemic carnitine deficiency is caused by mutations in a gene encoding sodium ion-dependent carnitine transporter. *Nat Genet* 1999; 21(1):91-4.
94. Nitzschner H. The course of scleroderma following treatment with carnitine [Article in German]; *Dermatol Monatsschr* 1974 Jul; 160(7):592-6
95. Noble CL, Nimmo ER, Drummond H, Ho GT, Tenesa A, Smith L et al. The contribution of OCTN1/2 variants within the IBD5 locus to disease susceptibility and severity in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2005; 129(6):1854-1864

96. Novak M, Monkus EF, Chung D, Buch M Carnitine in the perinatal metabolism of lipids. I. Relationship between maternal and fetal plasma levels of carnitine and acylcarnitines. *Pediatrics* 1981; 67:95-100
97. Oey NA, den Boer ME, Ruiter JP, Wanders RJ, Duran M, Waterham HR, Boer K, van der Post JA, Wijburg FA High activity of fatty acid oxidation enzymes in human placenta: implications for fetal-maternal disease. *J Inherit Metab Dis* 2003; 26:385–392
98. Oey NA, den Boer ME, Wijburg FA, Vekemans M, Augé J, Steiner C, Wanders RJ, Waterham HR, Ruiter JP, Attié-Bitach T Long-chain fatty acid oxidation during early human development. *Pediatr Res* 2005 Jun; 57(6):755-9
99. Oey NA, Ruiter JP, Attié-Bitach T, Ijlst L, Wanders RJ, Wijburg FA Fatty acid oxidation in the human fetus: implications for fetal and adult disease. *J Inherit Metab Dis* 2006a Feb; 29(1):71-5
100. Oey NA, van Vlies N, Wijburg FA, Wanders RJ, Attie-Bitach T and Vaz FM l-Carnitine is synthesized in the human fetal-placental unit: potential roles in placental and fetal metabolism. *Placenta* 2006b Aug; 27(8):841-6
101. Orholm M, Munkholm P, Langholz E, Nielsen OH, Sorensen TI, Binder V Familial occurrence of inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 1991; 324(2):84-88
102. Orozco G, Sanchez E, Gonzalez-Gay MA et al. SLC22A4, RUNX1, and SUMO4 polymorphisms are not associated with rheumatoid arthritis: a case-control study in a Spanish population. *J Rheumatol* 2006; 33(7):1235-9
103. Owens SR, Greenson JK The pathology of malabsorption: current concepts. *Histopathology* 2007 Jan; 50(1):64-82.
104. Packer L, Valenza M, Serbinova E, Starke-Reed P, Frost K, Kagan V Free radical scavenging is involved in the protective effect of L-propionyl-carnitine against ischemia-reperfusion injury of the heart. *Arch Biochem Biophys* 1991 Aug 1; 288(2):533-7
105. Palmieri O, Latiano A, Valvano R, D'Inca R, Vecchi M, Sturniolo GC et al. Variants of OCTN1-2 cation transporter genes are associated with both Crohn's disease and ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23(4):497-506
106. Peltekova VD, Wintle RF, Rubin LA, et al. Functional variants of OCTN cation transporter genes are associated with Crohn disease. *Nat Genet* 2004; 36, 471–475.
107. Rakheja D, Bennett MJ, Foster BM, Domiati-Saad R, Rogers BB Evidence for fatty acid oxidation in human placenta, and the relationship of fatty acid oxidation enzyme activities with gestational age. *Placenta* 2002; 23:447-450
108. Ramsay RR, Gandour RD, van der Leij FR Molecular enzymology of carnitine transfer and transport. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1546:21-43

109. Rebouche CJ: Comparative aspects of carnitine biosynthesis in microorganisms and mammals with attention to carnitine biosynthesis in man. In: *Carnitine Biosynthesis, Metabolism and Functions* Edited by RA Frenkel, JD Mc-Garry. New York, Academic Press, 1980; 57–67
110. Reznick AZ, Kagan VE, Ramsey R, Tsuchiya M, Khwaja S, Serbinova EA, Packer L Antiradical effects in L-propionyl carnitine protection of the heart against ischemia-reperfusion injury: the possible role of iron chelation. *Arch Biochem Biophys* 1992 Aug 1; 296(2):394-401
111. Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, Steinhart AH, McLeod RS, Griffiths AM et al. Genomewide search in Canadian families with inflammatory bowel disease reveals two novel susceptibility loci. *Am J Hum Genet* 2000; 66(6):1863-1870.
112. Rioux JD, Daly MJ, Silverberg MS, Lindblad K, Steinhart H, Cohen Z et al. Genetic variation in the 5q31 cytokine gene cluster confers susceptibility to Crohn disease. *Nat Genet* 2001; 29(2):223-228.
113. Roediger WE The colonic epithelium in ulcerative colitis: an energy-deficiency disease? *Lancet* 1980; 2:712-715
114. Roediger WE, Heyworth M, Willoughby P, Piris J, Moore A, Truelove SC Luminal ions and short chain fatty acids as markers of functional activity of the mucosa in ulcerative colitis. *J Clin Pathol* 1982; 35: 323-326
115. Rogler G. Update in inflammatory bowel disease pathogenesis. *Curr Opin Gastroenterol* 2004; 20(4):311-317.
116. Russell RK, Drummond HE, Nimmo ER, Anderson NH, Noble CL, Wilson DC et al. Analysis of the influence of OCTN1/2 variants within the IBD5 locus on disease susceptibility and growth indices in early onset inflammatory bowel disease. *Gut* 2006; 55(8):1114-1123
117. Sachan DS, Smith RB, Plattsmier J, Lorch V Maternal, cord, and neonatal carnitine correlations and lipid profiles of various birthweight infants. *Am J Perinatol* 1989 Jan; 6(1):14-7
118. Sayed-Ahmed MM, Salman TM, Gaballah HE, et al. Propionyl-L-carnitine as protector against adriamycin-induced cardiomyopathy. *Pharmacol Res* 2001; 43:513-520
119. Sayed-Ahmed MM, Mansour HH, Gharib OA, et al. Acetyl-L-carnitine modulates bleomycin-induced oxidative stress and energy depletion in lung tissues. *J Egypt Natl Canc Inst* 2004; 16:237-243
120. Shambaugh GE, III. Ketone body metabolism in the mother and fetus. *Fed Proc* 1985; 44: 2347-2351
121. Schmidt-Sommerfeld E, Penn D and Wolf H The influence of maternal fat metabolism on fetal carnitine levels. *Early Hum Dev* 1981; 5: 233-242

122. Schmidt-Sommerfeld E, Penn D, Sohda RJ, et al: Transfer and metabolism of carnitine and carnitine esters in the vitro perfused human placenta. *Pediatr Res* 1985; 19:700
123. Schmidt-Sommerfeld E, Penn D Carnitine and total parenteral nutrition of the neonate. *Biol Neonate* 1990; 58 Suppl 1:81-88
124. Schneider D Treatment of progressive scleroderma using carnitine [Article in German]; *Z Gesamte Inn Med* 1974 Jul 1; 29(13):544-9.
125. Scholte HR, Stinis JT, Jennekens FG Low carnitine levels in serum of pregnant women. *N Engl J Med* 1978 Nov 9; 299(19):1079-80.
126. Strauss AW. Surprising? Perhaps not. Long-chain fatty acid oxidation during human fetal development. *Pediatr Res* 2005 Jun; 57(6):753-4.
127. Schulze A, Lindner M, Kohlmuller D, et al. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by elektrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. *Pediatrics* 2003; 111:1399-1406
128. Shekhawat P, Bennett MJ, Sadovsky Y, Nelson DM, Rakheja D, Strauss AW Human placenta metabolizes fatty acids: implications for fetal fatty acid oxidation disorders and maternal liver diseases. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 284:E1098-E1105
129. Shekhawat PS, Yang HS, Bennett MJ, Carter AL, Matern D, Tamai I, Ganapathy V Carnitine content and expression of mitochondrial beta-oxidation enzymes in placentas of wild-type (OCTN2(+/+)) and OCTN2 null (OCTN2(-/-)) mice. *Pediatr Res* 2004; 56:323-328
130. Shenai JP, Borum PR Tissue carnitine reserves of newborn infants. *Pediatr Res* 1984; 7:679-681.
131. Silverberg MS. OCTNs: will the real IBD5 gene please stand up? *World J Gastroenterol* 2006; 12(23):3678-3681
132. Silverberg MS, Duerr RH, Brant SR, Bromfield G, Datta LW, Jani N et al. Refined genomic localization and ethnic differences observed for the IBD5 association with Crohn's disease. *Eur J Hum Genet* 2007; 15(3):328-335
133. Singal PK, Li T, Kumar D, et al. Adriamycin-induced heart failure: mechanism and modulation. *Mol Cell Biochem* 2000; 207:77-86
134. Srinivas SR, Prasad PD, Umopathy NS, Ganapathy V, Shekhawat PS. Transport of butyryl-L-carnitine, a potential prodrug, via the carnitine transporter OCTN2 and the amino acid transporter ATB0,+ . *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 293(5):G1046-G1053
135. Steiber A, Kerner J, Hoppel CL Carnitine: a nutritional, biosynthetic, and functional perspective *Mol Aspects Med* 2004; 25:455-473

136. Strack E, Bloesche H, Bemm H, Rotzsch W [Use of L-carnitine in hyperfunction of the thyroid gland.] *Dtsch Z Verdau Stoffwechselkr* 1962 Apr;21:253-9. German.
137. Tamai I, Yabuuchi H, Nezu J, Sai Y, Oku A, Shimane M, Tsuji A Cloning and characterization of a novel human pH-dependent organic cation transporter, OCTN1. *FEBS Lett* 1997 Dec 8; 419(1):107-11.
138. Tamai I, Ohashi R, Nezu J, Yabuuchi H, Oku A, Shimane M, Sai Y, Tsuji A Molecular and functional identification of sodium ion-dependent, high affinity human carnitine transporter OCTN2. *J Biol Chem* 1998; 273:20378-20382
139. Tamai I, China K, Sai Y, Kobayashi D, Nezu J, Kawahara E, Tsuji A Na(+)-coupled transport of L-carnitine via high-affinity carnitine transporter OCTN2 and its subcellular localization in kidney. *Biochim Biophys Acta* 2001 Jun 6; 1512(2):273-84
140. Tikly M, Marshall SE, Haldar NA, Gulumian M, Wordsworth P, Welsh KI Oxygen free radical scavenger enzyme polymorphisms in systemic sclerosis. *Free Radical Biology & Medicine* 2004; Vol. 36, No. 11, 1403–1407
141. Tokuhiko S, Yamada R, Chang X et al.: An intronic SNP in a RUNX1 binding site of SLC22A4, encoding an organic cation transporter, is associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 2003; 35(4):341-8.
142. Torkvist L, Noble CL, Lordal M, Sjoqvist U, Lindfors U, Nimmo ER et al. Contribution of the IBD5 locus to Crohn's disease in the Swedish population. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42(2):200-206
143. Tosa M, Negoro K, Kinouchi Y, Abe H, Nomura E, Takagi S et al. Lack of association between IBD5 and Crohn's disease in Japanese patients demonstrates population-specific differences in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2006; 41(1):48-53
144. Trcka J, Kunz M Functional genome and proteome analyses of cutaneous autoimmune diseases. *Curr Pharm Des* 2006; 12:3787-3798
145. Waller S, Tremelling M, Bredin F, Godfrey L, Howson J, Parkes M. Evidence for association of OCTN genes and IBD5 with ulcerative colitis. *Gut* 2006; 55(6):809-814
146. Vanella A, Russo A, Acquaviva R, Campisi A, Di Giacomo C, Sorrenti V and Barcellona ML l-Propionyl-carnitine as superoxide scavenger, antioxidant, and DNA cleavage protector. *Cell Biology and Toxicology* 2000; 16: 99-104
147. Vaz FM, Wanders RJ Carnitine biosynthesis in mammals. *Biochem J* 2002; 361:417-429
148. Vermeire S, Pierik M, Hlavaty T, Claessens G, van Schuerbeeck N, Joossens S et al. Association of organic cation transporter risk haplotype with perianal penetrating Crohn's disease but not with susceptibility to IBD. *Gastroenterology* 2005; 129(6):1845-1853

149. Vernia P, Marcheggiano A, Caprilli R, Frieri G, Corrao G, Valpiani D et al. Short-chain fatty acid topical treatment in distal ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 1995; 9(3):309-313
150. Wigley FM Raynaud's phenomenon and other features of scleroderma, including pulmonary hypertension. *Curr Opin Rheumatol* 1996; 8:561-568
151. Winter SC, Linn LS, Helton E Plasma carnitine concentrations in pregnancy, cord blood, and neonates and children. *Clin Chim Acta* 1995; 243:87-93
152. Wolf H, Stave U, Novak M, Monkus EF Recent investigations on neonatal fat metabolism. *J Perinat Med* 1974; 2:75-87
153. Wu X, Prasad PD, Leibach FH, Ganapathy V cDNA sequence, transport function, and genomic organization of human OCTN2, a new member of the organic cation transporter family. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 246:589-595
154. Yamamoto T, Takagawa S, Katayama I, et al. Animal model of sclerotic skin. I: Local injections of bleomycin induce sclerotic skin mimicking scleroderma. *J Invest Dermatol* 1999; 112:456-462
155. Youle M, Osio M; ALCAR Study Group A double-blind, parallel-group, placebo-controlled, multicentre study of acetyl L-carnitine in the symptomatic treatment of antiretroviral toxic neuropathy in patients with HIV-1 infection. *HIV Med* 2007 May; 8(4):241-50.
156. Yüce A, Demir H, Temizel IN, Koçak N Serum carnitine and selenium levels in children with celiac disease. *Indian J Gastroenterol* 2004; 23(5):194.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A jelen doktori értekezés alapját képező eredmények csak a kollégák és együttműködő partnerek segítségével, támogatása révén jöhettek létre. Ezúton szeretnék mindenkinek köszönetet mondani, aki munkám során tudományos vagy egyéb módon támogatott.

Dr. Melegh Béla professzor úrnak, aki témavezetőként felkeltette és táplálta érdeklődésemet a karnitin-anyagcsere problémái iránt, és intézetvezetői minőségében is folyamatos támogatást nyújtott, ötletekkel, tanácsokkal látott el, valamint biztosította számomra a hiteles és széleskörű szakmai felügyelet körülményeit.

Dr. Kosztolányi György professzor úrnak, az Orvosi Genetikai és Gyermekefejlődéstani Intézet professor emeritusának, aki lehetővé tette számomra az elhelyezkedést és a kutatómunkát az intézetben, és aki mindig készségesen segítségemre volt a felmerült problémák megoldásában.

Dr. Czirják László professzor úrnak és dr. Kiss György Csabának az Immunológiai és Reumatológiai Klinika, és dr. Decsi Tamásnak a Gyermekegyógyászati Klinika részéről, akik egyrészt lehetővé tették számomra, hogy az általuk gyűjtött és kezelt mintákkal dolgozhassak, másrészt az adatok értelmezése és a publikáció során mindvégig nélkülözhetetlen támogatást biztosítottak kiemelkedő szakmai jártasságuk és segítőkészségük révén.

Közvetlen munkatársaimnak, Berenténé Bene Juditnak, dr. Komlósi Katalinnak és dr. Havasi Viktóriának, illetve dr. Nagy Attilának a Biofizikai Intézetből, akik szellemi és tevéleges segítségnyújtásukkal, ötleteikkel és pozitív személyiségükkel nagyban hozzájárultak a munkavégzés sikerének és jó hangulatának biztosításához.

Minden munkatársamnak és Ph.D. hallgatónak a saját, illetve az együttműködő intézetekből, akik akár tényleges segítséggel, akár kedvességükkel könnyebbé tették számomra a feladatok megoldását. Intézetünkben felbecsülhetetlen hozzájárulást kaptam Szántó Ferencnétől és Hartung Mártától, akik a tömegspektrometriás méréseket végezték. Külön szeretnék köszönetet mondani Zentai Piroskának az Immunológiai és Reumatológiai Klinika, valamint dr. Jakobik Viktóriának és Marosvölgyi Tamásnak a Gyermekegyógyászati Klinika részéről.

Ugyancsak szeretném hálámat kifejezni szüleimnek és feleségemnek, akik nemcsak az itt bemutatott munkák, hanem egész eddigi pályám során mellettem álltak, mindenben támogattak, megteremtették számomra a szeretet és biztonság nélkülözhetetlen légkörét.