

EGYETEMI DOKTORI (Ph. D.) ÉRTEKEZÉS

**Az apolipoprotein A5 gén természetes polimorfizmusainak
szerepe a metabolikus szindróma kialakulásában**

Kisfali Péter

Témavezető: Prof. Dr. Melegh Béla

Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Orvosi Genetikai Intézet



Pécs, 2011

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK	2
1. RÖVIDÍTÉSEK	4
2. BEVEZETÉS	5
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	6
3.1. A metabolikus szindróma	6
3.1.1 WHO definíció	7
3.1.2 IDF definíció	8
3.1.3 NCEP definíció	8
3.1.4 AHA definíció	9
3.2. A metabolikus szindróma genetikai háttere	10
3.3. Lipid metabolizmus	14
3.4. Az apolipoprotein AV fehérje szerepe a lipid metabolizmusban	16
3.5. Az APOA5 gén	17
4. CÉLKITŰZÉSEK	20
5. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	21
5.1. A vizsgálatban résztvevő személyek	21
5.2. Genetikai analízis	22
5.2.1. PCR reakció	22
5.2.2. RFLP módszer	22
5.3. DNS szekvencia meghatározás és analízis	24
5.4. Az adatok statisztikai feldolgozása	24
6. EREDMÉNYEK	26
6.1. Az APOA5 gén variánsainak vizsgálata	26
6.2. Az APOA5 gén haplotípusainak vizsgálata	28
7. AZ EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE	32
7.1. Az APOA5 gén promóter régiójában található T-1131C variáns szerepe	32
7.2. Az APOA5 gén intronikus régiójában található IVS3+G476A variáns szerepe	34
7.3. Az APOA5 gén 3' UTR régiójában található T1259C variáns szerepe	34
7.4. Az APOA5 gén 1. exonjában található C56G variáns szerepe	35
7.5. Az APOA5 gén leggyakoribb haplotípusainak lehetséges szerepe	36
8. ÖSSZEFOGLALÁS	38
9. KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE	39

10. IRODALOMJEGYZÉK	51
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	64

1. RÖVIDÍTÉSEK

APOA5	apolipoprotein A5 (gén)
APOAV	apolipoprotein AV (fehérje)
APOC3	apolipoprotein C3 (gén)
APOCIII	apolipoprotein III (fehérje)
APOE	apolipoprotein E
ATGL	TG lipáz
BMI	body mass index - testtömeg index
bp	bázispár
CETP	koleszterin-észter transzfer protein
CM	kilomikron
CMR	kilomikron remnant részecske
CVD	kardiovaszkuláris megbetegedés
dNTP	dezoxinukleotidtrifoszfát
EDTA	etilén-diamin-tetra-acetát
FA	zsírsavak
GCKR	glükokináz regulátor
HDL	high density lipoprotein
IDL	intermediate density lipoprotein
LCAT	lecitin-koleszterin-aciltranszferáz
LDL	low density lipoprotein
LPL	lipoprotein-lipáz
LPL-HSPG	lipoprotein-lipáz - heparin-szulfát-proteoglikán
MS	metabolikus szindróma
OR	odds ratio - esélyhányados
PCR	polimerase chain reaction - polimeráz láncreakció
PLTP	foszfolipid transzfer protein
PPAR	peroxiszóma proliferátor-aktivált receptor
Rem	remnant részecske
RFLP	restriction fragment length polymorphism
SEM	standard error of mean - standard hiba
SNP	single nucleotide polymorphism - egy nukleotidot érintő eltérés
UTR	untranslated region - nem transzlálódó régió
VLDL	very low density lipoprotein
WHO	World Health Organization

2. BEVEZETÉS

A metabolikus szindróma (MS) koncepciója az 1988-ban Reaven által leírt X-szindróma. Szénhidrátanyagcsere-zavar, emelkedett vérnyomás, szérum triglicerid- és alacsony HDL (High Density Lipoprotein)-koleszterin-szint mellett centrális obezitás jellemzi (Reaven, 1988; Reaven and Chen, 1988). Ezen alkotóelemek akár külön-külön is kardio- és cerebrovaszkuláris betegségek kockázati tényezői, de együttes előfordulásuk fokozott rizikót képvisel (Hergenc et al., 2008; Hoshino et al., 2008; Teramoto et al., 2008). A MS a fejlett ipari országokra jellemző, akár a populáció egyharmadát is érintheti. Emiatt különös hangsúlyt kapott a 2-es típusú diabétesz mellett a MS genetikai hátterének vizsgálata.

2000-ben tették közzé a humán genom első teljes szekvenciáját a Human Genom Project keretében. Ez a lépés nagymértékben meggyorsította az új gének azonosítását, illetve a genetikai variánsok és mutációk szerepének és hatásainak vizsgálatát. Emellett a technika fejlődésével nagy populációkat érintő, széleskörű genetikai vizsgálatok is elérhetővé váltak, így egyszerre többszázezer polimorfizmus vizsgálható különböző csoportokban. Ezek tették lehetővé az elmúlt évtizedben a jelentős progressziót különböző, nagy populációt érintő betegségek hátterében álló genetikai variánsok azonosításában.

Az egyik, a kutatások középpontjába került téma a lipidparamétereket befolyásoló genetikai eltérések. A magasabb szérum trigliceridszint és az LDL (Low Density Lipoprotein)-koleszterin-szint emelkedése kardio- és cerebrovaszkuláris betegség fő rizikótényezői (Austin, 1998; Gotto et al., 1977; Simons, 1986). Tanulmányomban az egyik ilyen triglicerid szintet befolyásoló gén, az apolipoprotein A5 (APOA5) variánsainak szerepével foglalkozom. A gén által kódolt fehérje az apolipoprotein család legutóbb felfedezett tagja. A gén egyes variánsainak erőteljes a lipidparaméterekre gyakorolt hatása (Nabika et al., 2002; Pennacchio and Rubin, 2003a; Talmud et al., 2002).

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A metabolikus szindróma

Ma már minden hatodik európai felnőttet fenyeget a MS-nek nevezett „életmódbetegség”, mely növeli a szív- és érrendszeri betegségek, így a stroke kockázatát (Al et al., 2010; Khang et al., 2010; Vonbank et al., 2011; Wildman et al., 2011). A MS már Görögországot és Franciaországot is fenyegeti, ahol a lakosság eddig viszonylag védettnek számított a kardiovaszkuláris megbetegedésekkel szemben, étrendjéből és életmódjából adódóan. A diagnózis öt alapeleme az abdominális obezitás, a magas vérnyomás, a kóros HDL-koleszterin és trigliceridszint, valamint a kóros éhgyomri vércukorszint (Marchesini et al., 2004; Mertens and Van Gaal, 2006; Reaven, 2004).

A szindrómával terhelték között magasabb a kardiovaszkuláris morbiditás és mortalitás, beleértve a hirtelen halált is (Al et al., 2010; Khang et al., 2010; Lin et al., 2006; Nabipour et al., 2007). A megemelkedett triglicerid- és LDL-koleszterin-szint fokozza az atherosclerotikus plakkok kialakulását egy idő után, mely atherosclerotikus szívérrendszeri betegségek formájában (miokardiális infarktus, stroke) manifesztálódhat. (Gronholdt et al., 1996; Masuda and Ross, 1990; Wagenknecht et al., 2011). Az inzulinrezisztencia, következményesen magas inzulin szint és glükóz szint egyaránt fokozza az atherosclerotikus gyulladást, így az ezzel kapcsolatos oxidatív stresszt. A magas inzulinszint hozzájárul a vese fokozott nátrium visszatartásához (Wehner and Petri, 1983), ami magas vérnyomáshoz vezethet.

A mai elképzelések szerint a szindróma alapját a viscerális obezitás talaján kialakuló kóros zsírszöveti aktivitás képezi, ami hozzájárul a többi abnormitás, így az inzulinrezisztencia és a következményes hiperinzulinémia megjelenéséhez. Alacsony HDL-koleszterin-, magas trigliceridszint és kis denzitású LDL-koleszterin-szint jellemzi a lipidabnormalitást. A fokozott szimpatikus aktivitás is jelentős elem a metabolikus szindróma patogenezisében és a szövődmények kialakulásában. Az aktivitásnövekedésben a leptin, az inzulin, a szabad zsírsavak, a citokinek, továbbá az

alvási apnoe játsszák a legfőbb szerepet (Franks et al., 2005; McNicholas and Bonsignore, 2007).

Az inzulinrezisztencia legfontosabb celluláris megnyilvánulásai: az inzulin által stimulált glükóz felvétel, illetve glikogénszintézis elégtelen volta a vázizomzatban, továbbá a máj glükoneogenezisének, illetve a zsírsejtek szabad zsírsav kibocsátásának nem megfelelő mértékű gátlása. Az inzulinrezisztencia a béta-sejtek „túlterheléséhez” vezetve, azok apoptózisán keresztül hozzájárulhat a 2-es típusú diabetes mellitus kialakulásához, amikor már relatív és későbbiekben valós hipoinzulinémia áll fenn (Cerasi, 1991; DeFronzo, 1992).

3.1.1 WHO definíció

A metabolikus szindróma diagnózisának felállításához az Egészségügyi Világszervezet kritériumai alapján 2-es típusú diabétesz, károsodott glükóz szabályozás, emelkedett éhgyomri vércukor érték vagy inzulin rezisztencia együttese, valamint a következő tünetek közül kettő jelenléte szükséges:

1: vérnyomás: $\geq 140/90$ Hgmm.

2: diszlipidémia: trigliceridek: $\geq 1,695$ mmol / L valamint (HDL-C) $\leq 0,9$ mmol / L (férfi), $\leq 1,0$ mmol / L (nő).

3: centrális elhízás: derék - csípő hányados $> 0,90$ (férfi), $> 0,85$ (nő), és / vagy testtömeg-index $> 30\text{kg}/\text{m}^2$.

4: microalbuminuria: vizelet albuminürítés arány ≥ 20 mg / min, vagy albumin / kreatinin arány ≥ 30 mg / g.

3.1.2 IDF definíció

Az International Diabetes Federation 2006-os definíciója a centrális típusú elhízás mellett a következők közül kettő meglétét teszi szükségessé a diagnózis kimondásához:

- 1: emelkedett triglicerid érték: > 1.7 mmol/L, vagy az emelkedett lipid érték gyógyszeres terápiája.
- 2: magas vérnyomás: szisztolés vérnyomás > 130 vagy diasztolés vérnyomás > 85 Hgmm vagy korábban diagnosztizált magas vérnyomás gyógyszeres terápiája.
- 3: alacsony HDL koleszterin szint: < 1.03 mmol/L férfiakban, < 1.29 mmol/L nőkben, vagy a lipid eltérés gyógyszeres terápiája.
- 4: emelkedett éhgyomri vércukor érték: > 5.6 mmol/L vagy korábban diagnosztizált 2-es típusú diabétesz jelenléte.

3.1.3 NCEP definíció

A US National Cholesterol Education Program kritériumok alapján a következő tünetek közül legalább háromnak teljesülnie kell :

- 1: centrális elhízás: derék körfogat ≥ 102 cm férfiak, ≥ 88 nők.
- 2: diszlipidémia: trigliceridek: ≥ 1.7 mmol/L
- 3: HDL-C < 1.03 mmol/L férfiakban, < 1.29 mmol/L nőkben
- 4: vérnyomás: $\geq 130/85$ Hgmm
- 5: emelkedett éhgyomri vércukorérték: ≥ 6.1 mmol/L

3.1.4 AHA definíció

Az American Heart Association kritériumok lényegében az NCEP definíciójának kiegészített változatának tekinthetők. Ennek megfelelően a szervezet az előzőeket egészíti ki a következőkkel:

- 1: centrális elhízás: derék körfogat ≥ 102 cm férfiak, ≥ 88 nők.
- 2: diszlipidémia: trigliceridek: ≥ 1.7 mmol/L
- 3: diszlipidémia: HDL-C < 1.03 mmol/L férfiakban, < 1.29 mmol/L nőkben.
- 4: vérnyomás: $\geq 130/85$ Hgmm vagy a magas vérnyomás gyógyszeres terápiája
- 5: emelkedett éhgyomri vércukorérték: ≥ 6.1 mmol/L vagy a magas vércukor értékek gyógyszeres terápiája.

3.2 A metabolikus szindróma terápiája

A metabolikus szindróma egészének, sőt a szindrómát alkotó egyes eltéréseknek patofiziológiai hátterét elsősorban az abdominális elhízás és az inzulin-rezisztencia alkotja, így a terápia magját a testsúly normalizálása kell, hogy jelentse. Az aktív életmód egyszerre csökkenti a szindróma kialakulásának valószínűségét, és a szindrómát alkotó egyes eltéréseket is pozitív irányba módosítja. A metabolikus szindróma primer prevenciójának a WHO és az IDF is a mérsékelt, 5-10 %-os egy éven belül bekövetkező testsúly-csökkenést, az aktív életmódot és az egészséges táplálkozást tekinti.

A szekunder prevenciót a szindróma diagnózisát követően célszerű megkezdeni, hiszen a szindróma CVD előrejelző képessége mára bizonyított. A szindrómát alkotó komponensek sokfélesége azonban nem tesz lehetővé egységes terápiát, a szindróma alkotóelemeit külön-külön vagyunk képesek gyógyszeres úton pozitív irányba módosítani. A terápia gerincét az atherogén diszlipidémia, a magas vérnyomás és az inzulin-rezisztencia, azaz a magas vércukor értékek gyógyszeres kezelése kell, hogy jelentse.

A lipid státusz normalizálásának célkitűzéseit a TG és a LDL szintnek csökkentése, valamint a HDL frakció növelése jelenti. Az alkalmazható gyógyszerek közül a HMG- CoA kompetitív gátlószerei, azaz a statinok első vonalbeli terápiának tekinthetőek. A gyógyszercsoport mellett, hogy növeli a HDL-szintet, valamint egyszerre csökkenti a LDL- és TG-szinteket, csökkenti a szindróma progressziójának, valamint CVD kialakulásának valószínűségét (Heart Protection Study Collaborative Group 2005).

A fibrátok szintén LDL- és TG-szintcsökkentő, valamint HDL növelő hatással bírnak, azonban TG szintcsökkentő hatásuk erősebb így primer hypertrigliceridemiában első vonalban választandók. CVD kialakulását megelőző szerepük szintén bizonyított (Robinson et al., 2003). A két csoport kombinációja rhabdomyolízis fokozott kockázata miatt csak óvatossággal alkalmazható (Pierce et al, 1990). A magas vérnyomás terápiája metabolikus szindróma esetén nem tér el az primer hipertonia terápiájától, azaz ebben az esetben is az ACE inhibitorok valamint az angiotenzin-receptor blokkolók (Chobanian et al., 2003).

Az inzulin-rezisztencia gyógyszeres terápiája metabolikus szindróma esetén kitüntetett figyelmet érdemel, hiszen esetlegesen csökkenthető T2DM kialakulása az időben elkezdett terápia hatására. Időben megkezdett metformin terápiával megelőzhető a 2-es típusú diabétesz metabolikus szindrómás egyéneknél (Knowler et al., 2003).

3.3. A metabolikus szindróma genetikai háttere

Sok más betegséghez hasonlóan a MS egyes elemei is erősen determinált genetikai háttérrel rendelkeznek. Míg egyes komponensek megjelenése 40%-ot meghaladóan genetikailag determinált; mások, mint az elhízás vagy a HDL metabolizmus még ennél is magasabb mértékben, körülbelül 70%-ban függenek az örökölt gén variánsoktól. A szív- és érrendszeri betegségek családi halmozódása szintén régóta ismert, azonban a betegség okaként csak ritkán nevezhető meg egy-egy, nagy penetranciával érvényesülő monogénes elváltozás, az ok legtöbbször több gént érintő valamint környezeti körülményektől is függő komplex eltérés. A MS genetikai

hátterét vizsgálva az érintett gének négy nagy csoportja emelkedik ki: a lipid- és a glükóz-metabolizmust, az angiotenzin rendszert valamint a gyulladásoos folyamatokat érintő génvariánsok.

Az apoproteineket kódoló *APOA1/C3/A4* génklaszter a 11q23-as kromoszóma lókuszon található. A g nklaszterben több gén fordul elő, ezek közül az *apolipoprotein C3 (APOC3)* a májban illetve a vékonybélben expresszálódik, transzkripcióját a klaszterben elhelyezkedő pozitív és negatív regulátorok szabályozzák (Antonarakis et al., 1988). Az APOC3 gén által kódolt 79 aminosavból álló protein állandó része a trigliceridekben gazdag keringő kilomikron valamint VLDL (Very Low Density Lipoprotein) frakciónak. MS betegekben szignifikánsan emelkedett apolipoprotein C3 fehérje (APOCIII) szintet találtak, emellett a MS kialakulásának val s n s ge korrelál a plazma APOCIII emelkedett szintjével. Az *APOC3* gén egyes variánsainak jelenléte hipertriglicerid mi val járhat (Hegele et al., 1997; Lopez-Miranda et al., 1997). Olivieri és munkatársai már rávilágítottak, hogy a MS betegek közül azokban, akik az *APOC3* promóter T-455C polimorfizmusának (rs133049) minor all lj t hordozzák, nagyobb val s n s ggel alakul ki kardiovaszkuláris megbetegedés (CVD); valamint az érintett személyek esetében magasabb plazma ApoCIII és triglicerid értékek is mérhetőek (Olivieri et al., 2003a).

Az apolipoproteinek közül az apolipoprotein E (APOE) szinte minden lipid frakcióban megtalálható. Szerepe, hogy ligandként viselkedve kapcsolódik a májsejtek felszínén lévő lipoprotein receptorokhoz;  gy lehetővé téve a kilomikron reziduumok, valamint VLDL maradványok hepatikus felvételét, ezzel csökkenve a keringő lipoproteinek mennyiségét (Hui et al., 1980; Tan et al., 1980). A proteint kódoló gén a 19. kromoszómán található, három allélja az  2,  3 és az  4 hat genotípust determinálja. Az egyes allélok hordozói jelentősen eltérő lipid profilokkal rendelkeznek, hiszen m g az  2 allél hordozói alacsony  sszcholeszterin és LDL-koleszterin, valamint magas triglicerid értékekkel rendelkeznek, addig a  4 genotípusú populáció sérum koleszterin és LDL értéke magasabb az  3 allélt homozigóta formában hordoz k hoz viszonyítva (Moriwaki et al., 1995; Nordoy et al., 2000; Utermann et al., 1980). Egy 48 különböző tanulmányt összefoglaló cikk arra a k vetkeztetesre jutott, hogy az *APOE*  4 szignifikáns rizikófaktornak tekinthető a MS megjelenésében (Song et al., 2004).

A *lipoprotein lipáz (LPL)* a zsírsanyagcsere bonyolult rendszerében kulcsfontosságú szerepet tölt be, feladata a kilomikron valamint a VLDL frakcióról történő triglicerid hidrolízis katalizálása (Braun and Severson, 1992). Az enzim működéséhez nélkülözhetetlen kofaktor az APOCII, aminek működését az előbbieken ismertetett APOCIII gátolja (Havel et al., 1973). Napjainkban a *LPL* gén számos mutációja ismert, melyek többségének jelenléte csökkent enzimaktivitással jár. A N291S és a D9N emelkedett TG- és csökkent HDL-koleszterin-szinttel jár (Huang et al., 1997). A 447X variáns alacsonyabb kockázatot jelent CVD és MS kialakulására. Ebben az esetben, a génben egy korai stop kodonnak köszönhetően egy afunkcionális fehérje keletkezik; ez alacsonyabb plazma triglicerid szintet, valamint magasabb HDL szintet eredményez (Peacock et al., 1994). A *LPL* gén promóter régióját érintő -93T/G variáns erős kapcsoltságot mutatott a D9N polimorfizmussal. Kimutatták, hogy a -93G és a 9D variánsokat együtt hordozók alacsonyabb triglicerid értékkel rendelkeznek (Hall et al., 1997).

A peroxiszóma proliferátor-aktivált receptor (PPAR) családnak ezidáig három szubtípusa ismert: a PPAR α , mely a májban, a vesékben, a szívben, a barna zsírszövetben valamint a harántcsíkt izomban expresszálódik; a PPAR γ , mely a belsejtekre, valamint a zsírszövetre jellemző; valamint a PPAR δ melyet az agy valamint a bőr sejtjei expresszálnak. A PPAR γ ligand aktivált transzkripció faktoraként egyszerre szabályozza a sejtek glükóz és zsír anyagcseréjét, a szabad zsírsav transzportot, az adipocita differenciálódást valamint a mitokondriális biogenezist (Michalik and Wahli, 2008). A *PPAR* γ 12A1a alléljének hordozása magasabb diasztolés vérnyomással, alacsonyabb pulzusszámmal mutatott összefüggést, mint a nem-hordozókban (12Pro) a hipertenzív, túlsúlyos MS diagnózisú egyének körében; illetve protektív hatásának bizonyult 2-es típusú diabetes mellitusra (Gurnell, 2007).

A nemrégiben azonosított, zsírszövetben található *TG lipáz (ATGL)* a triacilglicerol molekulák elbontásának első lépését katalizálja. Az emlős zsírszövetben szelektíven hidrolizálja a primer észter kötéseket, nagy szubsztrát-specificitást mutat. Schoenborn és mtsai szignifikáns kapcsolatot találtak több *ATGL* variáns és a plazma szabad zsírsav, illetve triglicerid koncentrációja között. További két variáció pozitív korrelációt mutatott magas glükóz szint és 2-es típusú diabetes mellitus megléte között.

Ezekből az eredményekből a szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy az *ATGL* fontos szerepet játszik a MS kialakulásában (Schoenborn et al., 2006).

A *glükokináz regulátor (GCKR)* gén intronikus régiót érintő variánsa (rs780094) emelkedett plazma triglicerid értékkel jár (Saxena et al., 2007). A 2p33.3-p23.2 kromoszómán található *GCKR* gén 19 exonból épül fel, és egy 625 aminosavból álló fehérjét kódol. A géntermék egy szabályozó fehérje, amely gátolja a glükokinázt a májban és a hasnyálmirigyben található sejtekben azáltal, hogy másodlagos kötéseken keresztül egy inaktív komplexet képez az enzimmal. A *GCKR* ezáltal a glükóz metabolizmushoz kapcsolódik (Hayward et al., 1998; Warner et al., 1995). További vizsgálatok bizonyították, hogy egy másik *GCKR* variáns (P446L – rs1260326), mely szoros kapcsoltságot mutat az rs780094 eltéréssel – emelkedett glükokináz aktivitás révén ellentétesen modulálja az éhgyomri vércukor és triglicerid értékeket. A *GCKR* L446 hordozók relatív védelmet élveznek 2-es típusú diabétesszel szemben, annak ellenére, hogy az allél hordozása magasabb triglicerid értékekkel jár, valamint megnöveli a diszlipidémia kialakulásának valószínűségét is (Vaxillaire et al., 2008). Mindez felveti egyfajta molekuláris mechanizmusnak a lehetőségét, mely disszociálja a MS eme két alkotóelemét.

A plazma lipid transzfer proteinek a neutrális lipidek és foszfolipidek plazma lipidek közötti kicserélődését segítik elő. A *koleszterin-észter transzfer protein (CETP)* a koleszterin észterek HDL-ről történő eltávolítását facilitálja, csökkentve ezzel a HDL-koleszterin szintet (Tzotzas et al., 2000). A *foszfolipid transzfer protein (PLTP)* ezzel ellentétben a foszfolipidek TG gazdag lipoproteinekről HDL-re történő transzferét segíti elő, emelve ezáltal a HDL-koleszterin szintet. Transzgenikus egereken és embereken végzett kísérletek kiemelték a gyakori genetikai variánsok (*CETP*, *PLTP*) és a ritka genetikai deficienciák (*CETP*) központi szerepét a HDL-koleszterin-szint szabályozásában (Samyn et al., 2009a; Samyn et al., 2009b). A *CETP* deficienciák összefüggésbe hozhatók a HDL-koleszterin és APOAI szintek drámai megemelkedésével, míg a *PLTP* variánsok csak az emelkedett HDL-koleszterinszinttel mutatnak kapcsolatot (Tzotzas et al., 2009). Elhízott egyének plazmájában a *PLTP* és a *CETP* megnövekedett szintjét találták. A *PLTP* aktivitás abnormálisan emelkedett voltát írták le 2-es típusú diabetes mellitusos és inzulin rezisztens állapotokban (Schlitt

et al., 2003). Az emelkedett PLTP szintet hipertrigliceridémiával és obezitással is összefüggésbe hozták, így valószínűsíthetően a MS kialakulásában is rizikó faktor.

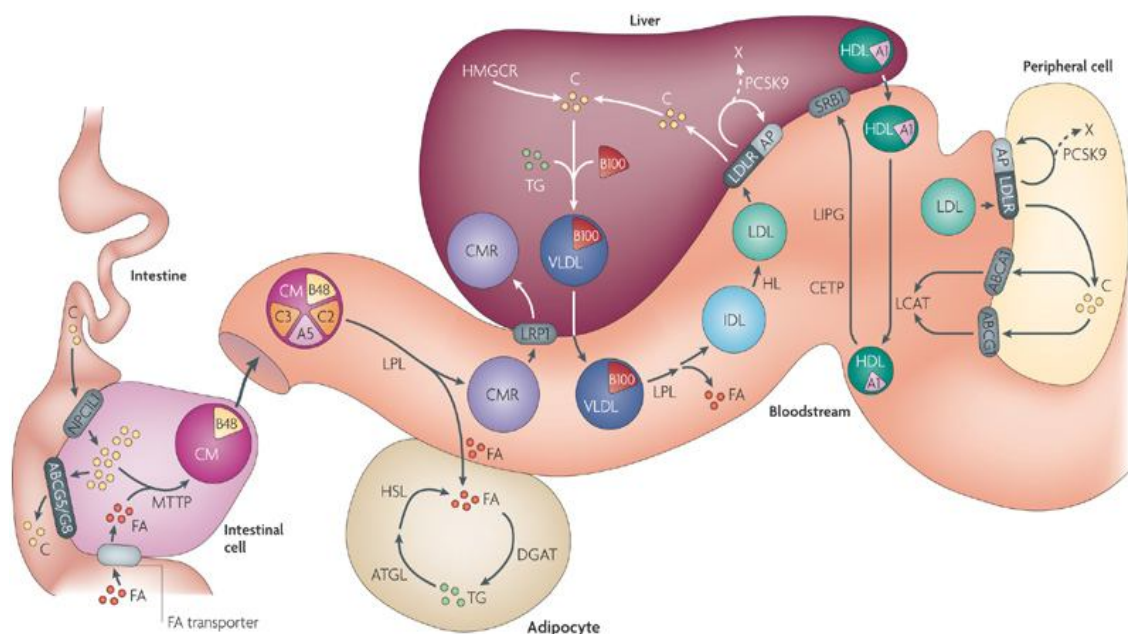
3.4. Lipid metabolizmus

A lipidek meghatározó szerepet játszanak a sejtmembrán felépítésében (koleszterin) és az energiaraktározásban (triglicerid). Szállításuk elkülönült kompartmentek, ún. lipoproteinek révén valósul meg. A lipoproteinek foszfolipidekből és fehérjékből (apoproteinek) állnak. A különböző lipoproteinek eltérő lipid- és fehérjetartalommal bírnak, denzitásuk különböző. Csoportosításuk denzitásuk alapján történik:

- 1) kilomikron, amelynek a legkisebb a fehérjetartalma és a denzitása, jobbra trigliceridek szállítását végzi táplálkozás után a bélből elsősorban a zsírszövetbe;
- 2) VLDL, amely elsősorban a vázizomzatba irányuló triglicerid transzportban vesz részt;
- 3) intermediate density lipoprotein (IDL), amely részben a máj által visszavételre kerül, részben az LDL képzés szubsztrátuma;
- 4) LDL, mely a koleszterin-észterek transzportjáért felelős;
- 5) HDL, amelynek a legnagyobb a fehérjetartalma és a denzitása, a koleszterin-észterek és a foszfolipidek májba történő visszaszállításában vesz részt (Morrisett et al., 1975; Smith et al., 1978).

A zsírsavak raktározása az adipocitákban trigliceridek formájában történik. A trigliceridek elsősorban a májban és a zsírszövetben szintetizálódnak. A májban képződött triglicerid a VLDL-be épül be, amely a keringés révén eljuttatja azt a perifériás szervekhez, főként a vázizomzathoz, ahol a kapillárisok endothel sejtjeinek felszínén lévő glikozaminoglikánokhoz kötött LPL a trigliceridekről szabad zsírsavakat hasít le, melyeket a sejtek képesek felvenni. A VLDL-ből képződött IDL a keringéssel

a májba kerül vissza, ahol a májsejtek a felszínükön lévő apolipoprotein E receptorokkal felismerik és endocitózissal felveszik azokat. A trigliceridek mellett a foszfolipidek hidrolízisére is alkalmas hepatikus lipáz végzi, ami alapvetően fontos a májsejtek felszínén zajló katabolikus folyamatok - az IDL visszavétel, LDL képzés és HDL eredetű koleszterin-észter felvétel - szempontjából. A zsírszövetben szintetizálódó trigliceridek alkotóelemei pedig a glükóz anyagcseréből származnak (1. ábra) (Robinson, 1973).



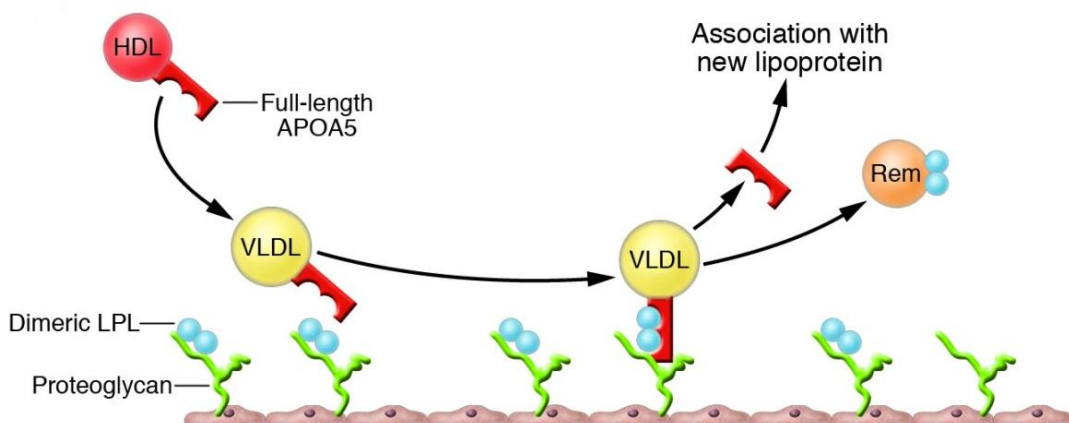
1. ábra A trigliceridek és koleszterin transzportjának egyszerűsített vázlatja. (C: koleszterin; FA: zsírsavak; LCAT: lecitin-koleszterin-aciltranszferáz; CM: kilomikron; CMR: kilomikron remnant részecske) (Hegele, 2009)

A koleszterin többek között a membránok fluiditását szabályozza. A szteroid hormonok és az epesavak szintézisének kiinduló molekulája. A koleszterin a szervezetben 70%-ban koleszterin-észterek formájában van jelen; vagy a táplálékkal kerül a szervezetbe, vagy *de novo* szintetizálódik. Szintézise főként a májban, a mellékvesekéregben, illetve a bélhámsejtekben folyik. A koleszterin-homeosztázis fenntartásában fontos szerepet játszik a LDL és a HDL. A LDL lebomlásának nagy része a májban zajlik (Austin, 1998).

A LDL B-100 apoproteint tartalmaz, amelyet a sejt felszínén található receptor felismer és megköt. Így a LDL endocitózis révén bejut a sejtbe majd disszociál a receptorról, amely ezután visszakerül a sejt felszínére, a LDL pedig lizoszómális enzimek hatására elbomlik. A HDL reverz koleszterin-transzporttal egyéb szervekből, így az artériák falából szállít koleszterint a májba, ahol a koleszterin-pool része lesz (epesavakká alakul és az epébe választódik ki vagy a VLDL-be épül be, stb.). (Myant, 1982; Packard et al., 2000; Tall and Small, 1980).

3.5. Az apolipoprotein AV fehérje szerepe a lipid metabolizmusban

A APOAV fehérje a májban expresszálódik, molekulásúlya 39 kDa, struktúrája 76%-ban α -helikális (nagyobb fokú affinitást feltételez lipid felületekhez), a coiled-coil elemei két domént formálnak, míg N-terminális régiója nagyfokú homológiát mutat más apolipoprotein doménekkal (Weinberg et al., 2003). Koncentrációja a májban magas; HDL-hez és VLDL-hez kötötten exportálódik a plazmába, ahol a koncentrációja rendkívül alacsony lesz: 0,1-0,4 $\mu\text{g/ml}$ (Ishihara et al., 2005; O'Brien et al., 2005). Ez 2000-szer alacsonyabb, mint az APOAI és APOCIII plazmabeli koncentrációja. A feltételezések szerint ez az alacsony plazmakoncentráció az oka, hogy a fehérjecsalád többi tagjához képest az APOAV fehérjét csak a közelmúltban fedezték fel (Merkel et al., 2005).



2. ábra Az APOA5 trigliceridcsökkentő hatása (Rem: remnant részecske) (Merkel and Heeren, 2005)

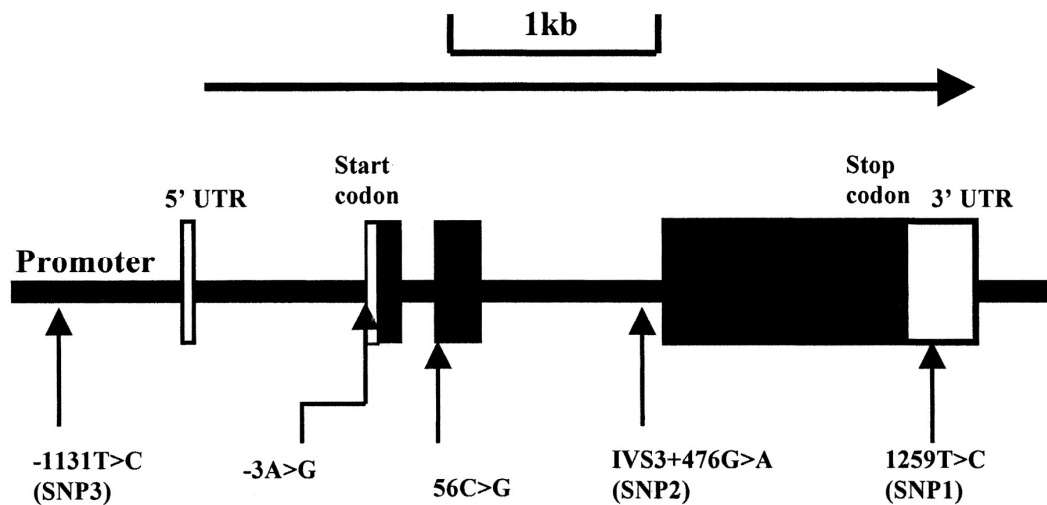
A vizsgált enzim a triglicerid metabolizmus szabályozója (Kluger et al., 2008; Nabika et al., 2002; Pennacchio and Rubin, 2003b; Tai and Ordovas, 2008). A fehérjét VLDL és HDL partikulumokon találták meg, ezek között transzportálódik a metabolizmus során (Charlton-Menys and Durrington, 2005; O'Brien et al., 2005). Egyes vizsgálatok alapján az APOAV a kilomikronok és a VLDL katabolizmusát segíti elő, de a bél kilomikron és a máj VLDL termelését nem befolyásolja (Fruchart-Najib et al., 2004; Merkel and Heeren, 2005; Schaap et al., 2004). A plazma trigliceridek hidrolízise révén hozzájárul a triglicerid-gazdag lipoproteinek eltávolításához. A pontos mechanizmus, amelyen keresztül az APOAV a lipid szintet csökkentheti, még nem ismert. Egyes *in vitro* vizsgálatok direkt, mások indirekt kapcsolatot feltételeznek az APOAV fehérje és az LPL között. Egyik feltételezés szerint az APOAV a proteoglikánokhoz kötött LPL aktiválásával (2. ábra), mások szerint a lipoprotein-lipáz - heparin-szulfát-proteoglikán (LPL-HSPG) komplex stabilizálása révén fejt ki hatását (Lookene et al., 2005; Merkel et al., 2005). Nem kizárt, hogy az APOAV más apolipoproteinek (APOCIII) funkcióját módosítva csökkenti a trigliceridszintet (Merkel and Heeren, 2005; Pennacchio and Rubin, 2003a).

3.6. Az APOA5 gén

A gént két egymástól független munkacsoport azonosította: van der Vliet és munkatársai a máj regenerálódásában szerepet játszó faktorok vizsgálata közben, Pennacchio és munkatársai pedig a lipid-metabolizmus lehetséges szabályozó génjeinek kutatásakor fedezték fel (Pennacchio and Rubin, 2003a; van der Vliet et al., 2001). A fehérjét kódoló gén a 11q23 kromoszómán található, az *APOA1/C3/A4* génklasztertől 3' irányban, 27 kilobázis távolságra az apolipoprotein A4 géntől, amellyel 27%-os szekvencia-homológiát mutat (Pennacchio and Rubin, 2003b). Számos tanulmány állásfoglalása szerint a géncsalád tagjai génduplikáció révén keletkeztek, bár a pontos mechanizmus, amely a génklaszter mai formáját kialakította, még nem ismert. Az a tény, hogy a génklaszter négy tagja mind emberben, mind egér mintákban megtalálható, azt jelzi, hogy az evolúciós génduplikációs esemény a két emlősfaj közös ősenek idejére datálódik. Újabb tanulmányok azonban ezen géneket a csirke genomjában is azonosították, ami a génduplikációs esemény még korábbi időpontban

történő, az emlősök és a madarak evolúciós szétválása előtti bekövetkezését támasztja alá (Pennacchio and Rubin, 2003a).

Az *APOA5* gén 3. exonja 366 aminosavat kódol (3. ábra), alternatív poliadeniláció eredményeként két transzkriptum keletkezik (1,3 és 1,9 kb hosszúságú), amelyeknek a funkcionális vonatkozásai még nem ismertek (Pennacchio and Rubin, 2003a). Az *APOA5* gén polimorf természetű, felfedezése óta már 40 SNP-t azonosítottak a szekvenciájában. Ezek közül azonban csak néhánynak ismerjük a klinikai vonatkozásait. A strukturális változásokat okozó variánsok közül elsőként a Q148X mutációt találták meg homozigóta formában egy 9 éves fiúban. A gén 3-as exonját érintő C442T nonszensz mutáció hatására glutamin helyett egy korai stop kodon keletkezik a 148-as pozícióban. A fehérje a mutáció hatására elveszítette a teljes lipiddkötő hidrofób régióját, illetve a heparin-kötő régióját is, így a protein funkciója is károsodást szenvedhetett. A családtagok vizsgálatai alapján a mutáció recesszív módon öröklődött, ezen kívül minden 148X variánst hordozó egyénnél obligát módon megtalálható volt a trigliceridszint-emelő 19W mutáns allél is (Priore et al., 2005).



3. ábra Az *APOA5* gén szerkezete és gyakori természetes variánsai. Az ábrán a sötét téglalapok a gén exonjainak kódoló, a fehér téglalapok az 5' vagy 3' nem transzlálódó régiókat jelölik. A vastag fekete vonal a nem kódoló régiókat ábrázolja. A variánsokat sorrendben az érintett pozíciót mutató szám, a normál allél és a mutáns allél jelöli (Lai et al., 2003).

Az *APOA5* egy másik, Q139X mutációját Marçais azonosította heterozigóta formában. A gén 415-ös pozícióját érintő nonszensz mutáció hatására egy 15 kDa molekulásúlyú csonka fehérje képződik, amely nem rendelkezik lipiddkötő doménnel. A

feltételezések szerint a mutáció következtében a fehérje nem tudja az LPL-HSPG komplex stabilitását biztosítani, így a plazmában trigliceridszint-emelkedés figyelhető meg (Marcais et al., 2005).

2006-ban egy további ritka strukturális változást okozó mutációt (IVS3+G3C) találtak heterozigóta formában. A mutáció a 3. intron donor splice site-ját érinti, a 3. exon kivágódását okozza, amelynek következtében egy 18 aminosavból álló fehérje expresszálódik. Az APOAV szintje a mutációt hordozó személyben a normál határértéken belüli volt. További vizsgálat során kiderült, hogy a beteg az IVS3+G3C mutáción kívül hordozza a -1131C allélvariánst (Priore et al., 2005).

Az *APOA5* gén felfedezésekor 4 gyakori polimorfizmust azonosítottak, amelyek mindegyike emelkedett trigliceridszinttel társult (Pennacchio and Rubin, 2003b). Azóta ezek számtalan tanulmány vizsgálati tárgyát képezték: a T-1131C a promóter régióban; a T1259C a 3' nem transzlálódó régióban (UTR); a C56G a 1. exonban és az IVS3+G476A pedig a 3. intronban található (3. ábra). Elhelyezkedése miatt közvetlen funkcionális következménye csak a C56G variánsnak van. A 19-es kodonban szerin - triptofán aminosav cserét eredményez. Más apolipoproteinekhez hasonlóan az APOAV is rendelkezik egy N-terminális export szignálszekvenciával, amelynek segítségével a fehérje a képződés helyéről a keringésbe jut. Az APOAV esetében ez a szekvencia a 1-23 aminosavakat érinti. A 19-es pozícióban bekövetkező aminosav csere során egy nagyobb aminosav épül be, így az közvetlen hatással lehet az export folyamatra, az APOAV plazmabeli koncentrációja csökkenhet, magasabb plazma trigliceridszintet eredményezve.

4. CÉLKITŰZÉSEK

A MS betegeken végzett vizsgálatainkkal a következő céljaink voltak:

1. Megfigyelésünk tárgyává tettük a nemzetközi szakirodalomban más betegségek, mint például a hipertrigliceridémia, stroke és az ischémiás szívbetegség kialakulásával összefüggésbe hozott, az *APOA5* gén gyakori természetes variánsainak (T-1131C, C56G, IVS3+G476A és T1259C) alléleloszlását.

2. Megvizsgáltuk az *APOA5* gén -1131C, 56G, IVS3+476A és 1259C alléljeinek a betegek és az egészséges kontrollok triglicerid- és koleszterinértékeire gyakorolt hatását.

3. Vizsgálataink továbbá az *APOA5* génben található négy variáns minor alléljeinek a MS kialakulásában betöltött esetleges hajlamosító, kockázati szerepének felderítésére irányultak.

4. Ezenkívül megvizsgáltuk a variánsok által meghatározott haplotípusok triglicerid- és koleszterinértékeire gyakorolt hatását és a MS megjelenésre gyakorolt hatásukat.

5. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

5.1. A vizsgálatban résztvevő személyek

A vizsgálatainkba bevont 353 MS beteg és 284 kontroll egyén intézetünk biobankjában található mintákból kerültek ki, amely az országos biobank részét képezi (www.biobanks.hu). A vérminták biobankba történő gyűjtése 2005 óta folyik a Pécsi Tudományegyetem II.sz. Belgyógyászati Klinika és Nephrológiai Centrum mellett a Zala Megyei Kórház II. Belgyógyászati Osztályán. Minden beteg részletes klinikai vizsgálaton esett át, amely magában foglalta a családi anamnézis felvételét, esetleges rizikófaktorok és szövődmények felmérését, teljes körű fizikális és laboratóriumi vizsgálatot.

A MS diagnózisának felállításához a WHO kritériumok alapján a 2-es típusú diabétesz, a károsodott glükóz szabályozás, emelkedett éhgyomri glükóz vagy inzulin rezisztencia együttese, valamint a következő tünetek közül kettő jelenléte szükséges (Marchesini et al., 2004):

1: vérnyomás: $\geq 140/90$ Hgmm;

2: dyslipidaemia: trigliceridek: $\geq 1,695$ mmol/L valamint (HDL-C) $\leq 0,9$ mmol/L (férfi), $\leq 1,0$ mmol/L (nő)

3: központi elhízás: testtömeg-index > 30 kg/m²

4: microalbuminuria: vizelet albuminürítés arány ≥ 20 mg/min, vagy albumin / kreatinin arány ≥ 30 mg/g.

A beteg egyénekhez korban és nemből illeszkedő, egészséges személyeket véletlenszerűen választottuk ki a tanulmányhoz kontrollnak.

5.2. Genetikai analízis

5.2.1. PCR reakció

Vizsgálataink során genomi DNS mintákkal dolgoztunk, amelyeket EDTA-val alvadásgátolt perifériás vér fehérvérsejtjeiből rutin kisózásos módszerrel nyertünk ki. A mintákból származó, vizsgálni kívánt DNS-szakaszokat saját tervezésű primerekkel, polimeráz láncreakcióval amplifikáltuk. A tervezéshez az AY422949 azonosítójú (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?db=nucore&id=37499458>) szekvenciát alkalmaztuk.

Minden vizsgálat esetében a reakcióelegyet 50 µl végtérfogatra állítottuk össze, melynek összetétele a következő: 200 µM dNTP oldat, 1 U Taq polimeráz enzim (5 U/µl), 5 µl puffer oldat (500 mM KCl, 14 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl; pH 9,0), 0,2 mM megfelelő primerpár (Metabion International AG, Martinsried, Germany) valamint 100 ng DNS templát. A vizsgálatainkban alkalmazott primerek szekvenciáit és a PCR reakciók körülményeit a 1. táblázat foglalja össze.

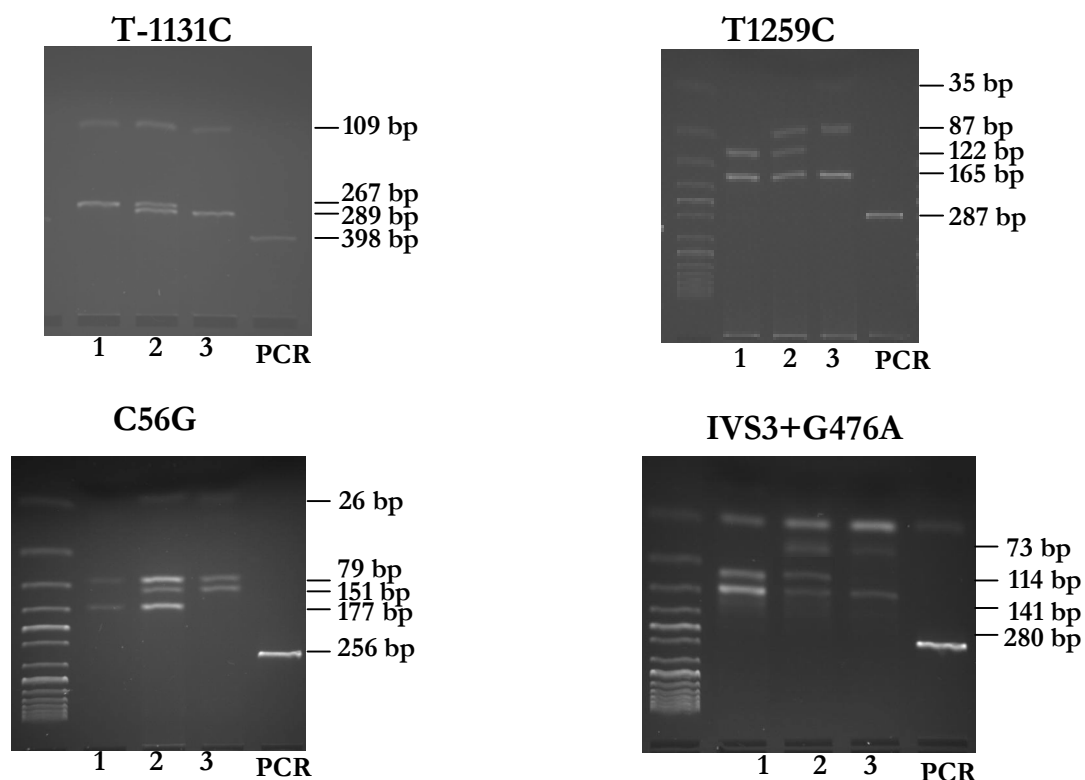
5.2.2. RFLP módszer

A PCR reakciók termékeit restrikciós endonukleázokkal hasítottuk. A reakcióhoz minden esetben 15 µl PCR terméket és 1 U megfelelő restrikciós endonukleázt (Fermentas Inc., Burlington, ON, Canada), az enzim működéséhez szükséges 10x puffert és steril desztillált vizet használtunk. Ezután a reakcióelegyet a restrikciós enzimnek megfelelő hőmérsékleten inkubáltuk. A restrikciós enzimek kiválasztásánál mindig arra törekedtünk, hogy az enzimnek a felsokszorozott DNS szakaszban a genotípustól függetlenül legyen egy obligát hasítási helye, amelynek segítségével meggyőződhetünk az enzim megfelelő működéséről. Az általunk felhasznált restrikciós endonukleázokat illetve azok felismerési és hasítási helyeit a 1. táblázat mutatja. A hasítás során keletkezett fragmenteket 3 %-os etídium-bromiddal festett agaróz gélben analizáltuk (4. ábra), a kapott adatokat UVIDoc géldokumentációs rendszer (Cleaver Scientific Ltd., Warwickshire, UK) segítségével tároltuk.

1. táblázat *A vizsgált polimorfizmusok PCR-RFLP körülményei.*

Vizsgált variáns	Az alkalmazott primerek szekvenciája	Annealing hőmérséklet (°C)	PCR termék hossza (bp)	A restrikciós enzim	
				Neve	Felismerési és hasítási helye
APOA5					
T-1131C (<i>rs662799</i>)	f: 5'-CCCCAGGAACTGGAGCGACCTT-3' r: 5'-TTCAAGCAGAGGGAAGCCTGTA-3'	55	398	<i>TruI</i>	5'-T [^] TAA-3' 3'-AAT [^] T-5'
IVS3+G476A (<i>rs2072560</i>)	f: 5'-CTCAAGGCTGTCTTCAG-3' r: 5'-CCTTTGATTCTGGGGACTGG-3'	62	280	<i>MnII</i>	5'-CCTC(N) ₇ [^] -3' 3'-GGAG(N) ₆ [^] -5'
T1259C (<i>rs2266788</i>)	f: 5'-TCAGTCCTTGAAAGTGGCCT-3' r: 5'-ATGTAGTGGCACAGGCTTCC-3'	62	287	<i>BseGI</i>	5'-GGATGNN [^] -3' 3'-CCTAC [^] NN-5'
C56G (<i>rs3135506</i>)	f: 5'-AGAGCTAGCACCGCTCCTTT-3' r: 5'-TAGTCCCTCTCCACAGCGTT-3'	62	256	<i>Cfr13I</i>	5'-G [^] GNCC-3' 3'-CCNG [^] G-5'

f: forward primer; r: reverse primer



4. ábra *A* variánsok különböző genotípusainak mintázata agaróz gélben. (1-normál, 2-heterozigóta, 3-homozigóta mutáns, PCR-emésztetlen PCR termék)

5.3. DNS szekvencia meghatározás és analízis

Eredményeinket DNS szekvenálással ellenőriztük, a minták közül random módon választottunk. A szekvencia meghatározást mindkét irányból, direkt szekvenálással végeztük, ABI Prism 3100 Avant típusú automata szekvenáló készülék segítségével (Life Technologies Ltd., Foster City, CA, USA). Az így kapott szekvenciákat összevetettük referencia-szekvenciával a Winstar genetikai program segítségével (DNASTAR Inc., Madison, WI, USA).

5.4. Az adatok statisztikai feldolgozása

A klinikai adatokat minden esetben átlag \pm SEM értéként tüntettük fel, a változók eloszlását Kolmogorov-Smirnov teszttel vizsgáltuk. A normál eloszlást követő

mintákra úgynevezett paraméteres próbákat; nem normál eloszlást követő változók esetén nem paraméteres próbákat alkalmaztunk. Az egyes csoportok értékei közötti különbség meglétét vagy hiányát Kruskal-Wallis-teszttel állapítottuk meg. A csoportok klinikai és laboratóriumi paramétereinek közötti különbségek páronkénti összehasonlítására normál eloszlású, diszkrét változókra χ^2 tesztet alkalmaztunk. Normál eloszlású, folytonos változók esetében a két csoport paramétereit Student-féle páros t-teszttel vizsgáltuk. Nem normál eloszlású változók elemzését pedig Mann-Whitney teszttel végeztük. A szignifikancia határértékét (p) minden esetben 0,05-nél állapítottuk meg.

A korreláció elemzéséhez és az esélyhányadosok megadásához logisztikus regressziós modellt használtunk. A konfidencia intervallum minden esetben 95%-os volt. A statisztikai analíziseket MS Excel valamint SPSS 11.5 programok segítségével végeztük (SPSS Inc, Chicago, IL; USA). A haplotípusok meghatározásához a HAPSTAT 3.0 (University of North Carolina, Chabell Hill, NC, USA) szoftvert használtuk.

6. EREDMÉNYEK

6.1. Az APOA5 gén variánsainak vizsgálata

2. táblázat A vizsgált MS betegek és kontrollok főbb klinikai paramétereit

	Kontrollok	MS betegek
	n=284	n=343
nem (férfi/nő)	124/160	158/185
Kor (év)	58,8±15,2	60,5±10,8
BMI (kg/m ²)	24,1±2,00	33,1±5,23*
Szérum triglicerid (mmol/l)	1,40±0,37	2,32±1,38*
Szérum összkoleszterin (mmol/l)	5,39±1,00	5,35±1,08

*p<0,001

A vizsgált MS betegek és a kontrollcsoport klinikai és laboratóriumi paramétereit a 2. táblázat mutatja be. A betegcsoport szérum triglicerid és BMI eredményei szignifikánsan magasabbak voltak, mint a kontrollcsoportban (p <0,001).

A 3. táblázat mutatja a beteg- és kontrollcsoport triglicerid, koleszterin és BMI profilját a genotípusok megoszlásában. Mind a beteg-, mind a kontrollcsoportban a C56G variáns kivételével minden variáns esetében szignifikánsan emelkedett trigliceridszintet találtunk a minor allélt hordozó egyének alcsoportjában azokhoz képest, akik nem hordozták a variánsokat. A többi vizsgált klinikai paraméter (összkoleszterin, HDL-C, BMI) nem mutatott hasonló összefüggést.

3. táblázat A szérum triglicerid, összkoleszterin, HDL-C szint és BMI az egyes genotípusokban.

		T-1131C		IVS3+G476A		T1259C		C56G	
		TT	TC+CC	GG	GA+AA	TT	TC+CC	CC	CG+GG
		n=282	n=61	n=285	n=58	n=284	n=59	n=300	n=43
MS betegek	BMI (kg/m ²)	33,2±5,16	32,6±5,38	33,2±5,15	32,7±5,41	33,2±5,16	32,6±5,41	33,2±5,20	33,0±5,22
	Szérum triglicerid (mmol/l)	2,33±1,28	2,90±1,55*	2,39±1,28	2,90±1,55*	2,34±1,29	2,89±1,54*	2,42±1,38	2,48±1,48
	Szérum összkoleszterin (mmol/l)	5,30±1,06	5,51±1,11	5,38±1,06	5,46±1,10	5,31±1,08	5,47±1,06	5,34±1,05	5,31±1,16
	HDL-C (mmol/l)	1,24±0,03	1,22±0,04	1,24±0,05	1,23±0,03	1,25±0,02	1,23±0,03	1,23±0,06	1,24±0,02
Kontrollok	BMI (kg/m ²)	24,1±2,05	24,1±1,50	24,1±2,05	24,1±1,28	24,1±2,08	24,2±1,25	24,1±2,03	24,2±1,68
	Szérum triglicerid (mmol/l)	1,38±0,34	1,66±0,54*	1,38±0,34	1,70±0,53*	1,38±0,35	1,63±0,48*	1,41±0,38	1,32±0,33
	Szérum összkoleszterin (mmol/l)	5,42±1,00	5,18±1,06	5,42±0,99	5,10±1,07	5,41±0,98	5,30±1,17	5,39±1,02	5,40±0,81
		TT	TC+CC	GG	GA+AA	TT	TC+CC	CC	CG+GG
	n=256	n=28	n=262	n=22	n=251	n=33	n=257	n=27	

*p <0,05 a normál genotípushoz képest

4. táblázat Az egyes genotípusok logisztikus regressziós vizsgálata a MS kialakulásában.

SNP	MS betegek	Kontrollok	OR (95% CI)	Korrigált OR [#] (95% CI)
T-1131C	17,8%	9,85%	1,856 (0,995-2,981) p=0,004*	3,622 (1,200-10,963) p=0,002*
IVS3+G476A	16,9%	7,75%	2,780 (1,567-5,292) p=0,001*	2,461 (1,297-5,066) p=0,007*
T1259C	17,2%	11,6 %	1,856 (0,598-2,941) p=0,823	1,971 (0,912-2,764) p=0,915
C56G	12,5%	9,5%	1,122 (0,659-1,911) p=0,672	1,162 (0,645-2,092) p=0,617

*p <0,05; [#]Korra, nemre, BMI-re, szérum összkoleszterinre, ischémiás szívbetegségre, stroke-ra fennálló különbségekre korrigálva

A vizsgálat során a logisztikus regressziós analízis segítségével kapott esélyhányadosokat (odds ratio, OR) a 4. táblázatban tüntettük fel. Az OR értékeket minden esetben a csoportok között fennálló - kor, nem, BMI, szérum összkoleszterin szint, magas vérnyomás, ischémiás szívbetegség, és stroke különbségekkel korrigáltuk. A táblázatból kitűnik, hogy az *APOA5* gén vizsgált variánsai közül a -1131C és az *IVS3+476A* allél hordozása hajlamosít a MS kialakulására.

6.2. Az *APOA5* gén haplotípusainak vizsgálata

Az 5. táblázat tartalmazza az általunk vizsgált populációban talált haplotípusokat és az ezeket meghatározó genotípusokat.

5. táblázat Az *APOA5* gén haplotípusai.

Haplotípus	<i>T-1131C</i>	<i>IVS3 G+476A</i>	<i>T1259C</i>	<i>C56G</i>
<i>APOA5*1</i>	T	G	T	C
<i>APOA5*2</i>	C	A	C	C
<i>APOA5*3</i>	T	G	T	G
<i>APOA5*4</i>	C	G	T	C
<i>APOA5*5</i>	T	G	C	C

6. táblázat A szérum triglicerid, összkoleszterin, HDL-C szint és BMI haplotípusonként.

Haplotípus	<i>APOA5*1/1</i>	<i>APOA5*1/2-2/2</i>	<i>APOA5*1/3-3/3</i>	<i>APOA5*1/4-4/4</i>	<i>APOA5*1/5-5/5</i>	Egyéb	
	73,1%	13,1%	9,50%	1,40%	1,00%	1,90%	
MS betegek	BMI (kg/m ²)	33,2±5,25	33,4±5,85	33,5±4,40	31,6±5,37	30,5±2,33	27,2±2,07
	Szérum triglicerid (mmol/l)	2,29±1,29	2,95±1,63*	2,57±1,43	2,84±1,51	2,68±1,50	2,43±1,87
	Szérum összkoleszterin (mmol/l)	5,29±1,09	5,37±1,10	5,33±1,09	6,02±0,90	5,50±1,36	5,34±0,87
	HDL-C (mmol/l)	1,24±0,03	1,23±0,04	1,24±0,02	1,26±0,11	1,29±15	1,22±0,09
		76,5%	4,90%	8,40%	3,50%	5,30%	1,40%
Kontroll	BMI (kg/m ²)	24,1±2,13	23,9±1,29	24,3±1,69	24,1±2,02	24,2±1,35	24,7±0,43
	Szérum triglicerid (mmol/l)	1,38±0,35	1,77±0,61*	1,32±0,33	1,46±0,49	1,39±0,25	1,45±0,21
	Szérum összkoleszterin (mmol/l)	5,41±1,00	5,16±1,07	5,42±0,85	5,34±1,17	5,51±1,19	4,85±0,90

*p <0,05 az *APOA5*1* haplotípussal összehasonlítva

A 6. táblázat mutatja a beteg és kontrollcsoport triglicerid, koleszterin és BMI profilját a haplotípusok megoszlásában. Mind a beteg-, mind a kontrollcsoportban szignifikánsan emelkedett trigliceridszintet találtunk az APOA5*2 alcsoportjában az APOA5*1 haplotípust hordozókhoz képest. A többi vizsgált klinikai paraméter (összkoleszterin, HDL-C, BMI) nem mutatott hasonló összefüggést.

7. táblázat Az egyes haplotípusok logisztikus regressziós vizsgálata a MS kialakulásában.

Haplotípus	MS betegek	Kontrollok	OR (95% CI)	Korrigált OR [#] (95% CI)
APOA5*1/1	73,1%	76,5%	0,837 (0,590-1,187) p=0,318	0,878 (0,594-1,299) p=0,515
APOA5*1/2-2/2	13,1%	4,90%	2,880 (1,567-5,292) p=0,001*	2,561 (1,295-5,066) p=0,007*
APOA5*1/3-3/3	9,50%	8,40%	1,122 (0,659-1,911) p=0,672	1,162 (0,645-2,092) p=0,617
APOA5*1/4-4/4	1,40%	3,50%	0,401 (0,114-1,117) p=0,081	0,539 (0,183-1,591) p=0,263
APOA5*1/5-5/5	1,00%	5,30%	0,174 (0,057-0,531) p=0,002*	0,182 (0,058-0,565) p=0,003*
Egyéb	1,90%	1,40%	0,374 (0,410-4,606) p=0,607	1,388 (0,395-4,876) p=0,609

*p <0,05; [#]Korra, nemre, BMI-re, szérum összcholesterinre, ischémiás szívbetegségre, stroke-ra fennálló különbségekre korrigálva.

A haplotípusok logisztikus regressziós analízisével kapott esélyhányadosokat a 7. táblázatban demonstráljuk. Az OR értékeket minden esetben a csoportok között fennálló - kor, nem, BMI, szérum összkoleszterin szint, magas vérnyomás, ischémiás szívbetegség, és stroke - különbségekkel korrigáltuk. A táblázatból kitűnik, hogy az *APOA5* gén vizsgált haplotípusai közül Az APOA5*2 hordozása hajlamosító, viszont az APOA5*5 haplotípusa védő hatású a MS kialakulására a normál APOA5*1 haplotípussal összehasonlítva.

7. AZ EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE

7.1. Az APOA5 gén promóter régiójában található T-1131C variáns szerepe

Az APOA5 gén természetes variánsai közül a legtöbbet vizsgált eltérés a gén promóter régióját érintő T-1131C tranzíció. Ezt a variánst az egészséges európai populáció 6%-ában találták meg. Az ázsiai populációk közül a japán populációban 35%-os, a kínai populációban 29%-os, az indiai populációban pedig 20%-os gyakoriságot mutatott (Chandak et al., 2006; Lai et al., 2003). Tanulmányunkban a variáns vizsgálata során az eddig európai populációra leírtaknál enyhén magasabb 9,89%-os allélfrekvenciát találtunk a vizsgált magyar kontrollcsoportban. A plazma lipidszintek fontos determináló faktorai a kardio- és cerebrovaszkuláris betegségekre való hajlamosításnak (Dawber et al., 1951). A trigliceridszint 1 mmol/l-es emelkedése férfiakban 14%-kal, nőkben 37%-kal emeli a kockázatot koronária-betegség kialakulására (Austin, 1998).

Az APOA5 T-1131C variánsát - felfedezése óta - különböző populációkban, számos betegségcsoportban vizsgálták. Familiáris hiperlipidémiában és hipertrigliceridémiában szenvedő kínai, cseh, ír és magyar populációkból származó betegekben egyértelmű hajlamosító tényezőként azonosították az adott betegség kialakulására (Hadarits et al., 2010; Horinek et al., 2003; Ong et al., 2011; Wright et al., 2006). Egy nemzetközi kooperáció (Framingham Heart Study) kritériumai szerint kardiovaszkuláris betegségben szenvedő egyéneken elvégzett genotipizálás és statisztikai vizsgálat a -1131C mutáns allél hordozását a betegség kockázati tényezőjeként definiálja, ugyanakkor koronária betegségben betöltött szerepe még vitatott (Corella et al., 2007). Magyar és kínai betegcsoportban a mutáns allél hordozása emelkedett rizikót jelentett miokardiális infarktus kialakulásában (Hubacek et al., 2004; Szalai et al., 2004).

Vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a mutáns C allél hordozása szignifikánsan emelkedett trigliceridszintet eredményez minden vizsgált csoportban. A -1131C allél trigliceridemelő hatását számos kutatócsoport vizsgálta mind felnőttekben, mind gyermekekben (Charlton-Menys and Durrington, 2005; Hadarits et al., 2010;

Horinek et al., 2003; Hubacek, 2005; Lai et al., 2003; Martinelli et al., 2007; Pennacchio and Rubin, 2003b; Wright et al., 2006). Eredményeik a trigliceridszint tekintetében egységesek és eredményeinkkel megegyeznek: a mutáns allél a vizsgált populációktól függetlenül összefüggést mutat emelkedett trigliceridszinttel.

A -1131C allél trigliceridemelő hatása háttérben álló pontos folyamat még nem ismert. Az egyik feltételezés szerint a promóter régiót érintő eltérés a gén transzkripciójára gyakorolhat hatást. Talmud és munkatársai sejtvonalakon végzett kísérletei során a -1131C allél transzkripciót és translációt befolyásoló hatását nem tudták bizonyítani (Talmud et al., 2005).

Vu-Dac és munkatársai bioinformatikai módszerekkel sok más szabályozó szekvencia között egy peroxiszóma proliferátor reszponzív elemet (PPRE) azonosítottak ebben a promóter régióban (-272, -260), amely az *APOA5* gén expressziójának szabályozásához szükséges. A -1131C allél a feltételezések értelmében megváltoztathatja az affinitást illetve a kötődést ehhez vagy más hasonló szabályozó régiókhoz, csökkentve ezzel az *APOA5* gén expresszióját, így emelve a trigliceridszintet (Vu-Dac et al., 2003).

Valószínűleg a T-1131C más génen belüli funkcionális variánsokkal erős kapcsoltságban van, így ezen a kapcsolaton keresztül fejtheti ki hatását a trigliceridszintre. Ilyen kapcsolatot az *APOA5* T-1131C és A-3G variánsok között találtak (Antonarakis et al., 1988; Pennacchio and Rubin, 2003b; Talmud et al., 2002; Wright et al., 2006). Ez az eltérés a start kodontól 3 bp távolságra van 5' irányban (Kozak et al., 1987). Ez a báziscsere az *APOA5* mRNS transláció csökkenését, így alacsonyabb plazma APOAV szintet, és ezáltal emelkedett trigliceridszintet von maga után.

A T-1131C nemcsak az *APOA5* gén variánsaival állhat erős kapcsoltságban, hanem az apolipoprotein génklaszter - *APOA5* génhez közel lokalizálódó - többi tagjának variánsaival is. Erős kapcsoltságot mutattak ki az általunk vizsgált variáns és az *APOC3* gén C-482T vagy C-455T variánsai között (Antonarakis et al., 1988; Ruiz-Narvaez et al., 2005; Talmud et al., 2002; Wright et al., 2006). Az *APOC3* gén promóter régiójában egy inzulin reszponzív elemet azonosítottak, amely az *APOC3* inzulin által történő szabályozásának kulcseleme. A gén promóter régiójában bekövetkezett

mutációk ezt a fontos szabályozó régiót megváltoztatják, ennek következtében megszűnik az inzulin *APOC3*-ra kifejtett repressziója, így emelkedik az *APOCIII* szintje, ami a trigliceridszint szükségszerű emelkedésével jár (Li et al., 2004; Olivieri et al., 2003b).

7.2. Az *APOA5* gén intronikus régiójában található *IVS3+G476A* variáns szerepe

Az *APOA5* gén intronikus régióját érintő variánsokról az előzőekben tárgyalt variánshoz viszonyítva csekély ismeretanyaggal rendelkezünk. Az általunk végzett vizsgálatokból és más európai populációkon végzett tanulmányokból is világosan látszik, hogy ez az SNP emeli a trigliceridszintet (Lai et al., 2003; Ruiz-Narvaez et al., 2005; Talmud et al., 2002). Egy vizsgált costa ricai populációban azonban nem találtak triglicerid-emelkedést a minor allélt hordozó egyéneknél (Ruiz-Narvaez et al., 2005). A mechanizmus, amelyen keresztül befolyásolják a trigliceridszintet, még ismeretlen; a feltételezések szerint más variánsokkal való szoros kapcsoltság játszhat ebben szerepet. Európai populációkban teljes kapcsoltságot állapítottak meg az *APOA5* variánsai között. A costa ricai populációban a kapcsoltság csak részleges volt, ami magyarázatot szolgáltat arra, miért nem találtak összefüggést a mutáns allélok és emelkedett trigliceridszint között.

7.3. Az *APOA5* gén 3' UTR régiójában található *T1259C* variáns szerepe

T1259C variáns trigliceridszint-emelő hatása ellenére a mutáns *C* allél hordozását nem találtuk hajlamosító tényezőnek a MS kialakulására. Ezzel ellentétben az *IVS3+G476A* eltéréssel 3-4-szeresére emelheti MS kialakulásának esélyét. A legfőbb hatását a vele kapcsolatosan előforduló variánsok által előidézett funkcióváltozásban fejezi ki. Ezt támasztja alá, hogy az *APOA5*5* haplotípus esetén, mikor a *T1259C* allél csak önmagában található, nem emeli a trigliceridszintet, sőt véd a MS kialakulása ellen.

7.4. Az APOA5 gén 1. exonjában található C56G variáns szerepe

A vizsgált SNP a gén harmadik exonjának 56-os nukleotid pozíciójában található C/G tranzíció. A báziscsere a 19-es aminosavat, a szerint érinti, helyette a mutáns allél egy triptofán aminosavat kódol. Az 56G allél populációnként eltérő előfordulást mutat. A kínai és japán populációkban rendkívül alacsony arányban fordul elő (<0,1%), az indiai populáció 3%-ában található meg, afro-amerikai és francia populációkban 4,8%, spanyol populációban ~15% az előfordulási aránya. Vizsgálatainkban több vizsgált európai populációnál (spanyol, francia, német, osztrák) magasabb (Grallert et al., 2007; Lai et al., 2003; Pennacchio and Rubin, 2003b), 9,5%-os a mutáns allélt hordozók aránya a kontrollcsoportban.

Talmud és munkatársai a trigliceridszint 8-16%-os emelkedését tapasztalták egy kaukázusi populációban az 56G allél jelenlétekor (Talmud et al., 2005). Török populációban pedig 18-26%-os volt az emelkedés mértéke a mutáns allél hatására (Hodoglugil et al., 2006). A populációvizsgálatok eredményei alapján hordozása miokardiális infarktus, koronária betegség, metabolikus szindróma kialakulására jelent magasabb kockázatot. Talmud és munkatársai a mutáns allél jelenlétében gyorsabb atherogenezist mutattak ki. A mutáns allélt homo-, vagy heterozigóta formában hordozók körében sem találtunk emelkedett triglicerid átlagértékeket illetve a variáns hordozása nem növelte a MS kialakulásának esélyét (Talmud et al., 2002; Talmud et al., 2005).

A variáns lipidparaméterekre gyakorolt hatása és a mechanizmus, amelyen keresztül trigliceridszint-emelkedést képes kiváltani, számos tanulmány középpontjába került. A vizsgálatok alapján az *APOA5* variánsok közül a C56G az egyetlen „funkcionális” variáns, amely nem más SNP-kel való kapcsolatán keresztül fejt ki hatását, hanem direkt módon emeli a trigliceridszintet. A variáns hatására ugyanis a hidrofil szerin aminosav helyett hidrofób triptofán épül be az APOAV szignálfehérje hidrofil doménjében, amely drasztikusan befolyásolhatja a fehérje endoplazmatikus retikulumon át történő transzlokációját. Ennek következtében csökken a szekretált APOAV fehérje mennyisége, és így trigliceridszint-emelkedés detektálható (Talmud et al., 2005).

Természetesen az sem zárható ki, hogy a C56G variáns esetleg más polimorfizmusokkal együtt, egymás hatását felerősítve játszik szerepet betegségek kialakulásában. Schaefer és munkatársai 170 hipertrigliceridémias beteg vizsgálata során a betegek *APOE* és *APOA5* C56G genotípusát határozták meg. Az *APOE* 2/2 genotípussal rendelkező betegek majdnem mindannyian hordozták az 56G allélt is (Schaefer et al., 2004). Normál lipidparaméterekkel rendelkező egyénekben azonban ezek együttesen nem voltak kimutathatók. Hipotézisük szerint, a C56G kofaktorként működve vezet hipertrigliceridemia kialakulásához. Ezt a hatásmechanizmust valószínűsítik a vizsgálati eredményeink is (Evans et al., 2005; Schaefer et al., 2004).

7.5. Az *APOA5* gén leggyakoribb haplotípusainak lehetséges szerepe

Pennacchio és munkatársai az *APOA5* gén természetes variánsainak tanulmányozása során erős kapcsoltságot igazoltak a leggyakoribb variánsok között, amelyek így három fő haplotípust determinálnak. A két haplotípus (*APOA5**2 és*3) a vad típusú (*APOA5**1) haplotípussal együtt a populáció ~98%-át lefedi (Pennacchio and Rubin, 2003b). Vizsgálatainkban hasonló adatokat kaptunk, kivéve hogy a kontrollcsoportban magas arányban található az *APOA5**5 haplotípus.

Az *APOA5**2 haplotípus egyértelmű rizikótényező hipertrigliceridémia, különböző kardio-, cerebrovaszkuláris megbetegedések kialakulásában. Az *APOA5**2 haplotípus román, osztrák és német felnőtt populációk mellett magyar gyermekeknél is egyértelműen hajlamosít a MS kialakulására (Grallert et al., 2007; Horvatovich et al., 2010; Niculescu et al., 2007). Az *APOA5**3 haplotípus több tanulmányban kockázati faktora a MS-nek, de tanulmányunk illetve egy magyar gyermek populáción végzett kutatás sem igazolta ezt (Horvatovich et al., 2010).

A haplotípusok analízise alapján feltételezhető, hogy a C56G variáns kivételével a vizsgált variánsok nem önmagukban, hanem az *APOC3* gén változataival kapcsolatosan fejthetik ki hatásukat. Ha a -1131C variáns önmagában fordul elő (*APOA**4), nem emeli a szérum triglicerid szintjét, illetve nincs hatása a MS megjelenésére. Sőt a 1259C egyedüli előfordulása véd a betegség kialakulása ellen.

Több tanulmány, ami az *APOA1/C3/A4* génklaszterrel foglalkozik, ahova az *APOA5* is tartozik, csak az *APOA5*2* haplotípus esetén mutatott ki nagyfokú kapcsoltságot az *APOC3* promóter régiójában található polimorfizmusokkal, amelyek egyértelműen befolyásolják a szérum triglicerid szintet és a glükóz metabolizmust (Li et al., 2004; Olivieri et al., 2003b).

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Tanulmányunkban a következő megfigyeléseket tettük:

1. Az *APOA5* variánsainak lipidparaméterekre gyakorolt hatásait vizsgálva elmondható, hogy a -1131C, IVS3+476A, 1259C mutáns allélok jelenléte a trigliceridek szignifikánsan emelkedett koncentrációját eredményezte a MS betegekben és a kontrollcsoportban is. A C56G variáns egyik csoportban sem mutatott összefüggést a szérum triglicerid szintekkel.
2. A koleszterin értékeket vizsgálva sem a betegek, sem a kontrollok körében a variánsok nem befolyásolták az összkoleszterin szintet.
3. Az allélok eloszlását vizsgálva a T-1131C, IVS3+G476A variánsok esetében a mutáns allél szignifikáns akkumulációját találtuk metabolikus szindrómás betegcsoportban a kontroll egyénekhez viszonyítva.
4. A T1259C variáns esetében azonban nem tudtunk kimutatni különbséget egyik allél előfordulásában sem a beteg-, sem a kontrollcsoportokban, annak ellenére, hogy a vizsgálataink során a 1259C allélvariáns hordozásának hatására szignifikáns trigliceridszint-emelkedést tapasztaltunk.
5. A vizsgált variánsok 5 gyakoribb haplotípust határoznak meg, az *APOA5**5 haplotípust más populációkban eddig még nem írták le.
6. A haplotípusok közül csak az *APOA5**2 eredményezte a trigliceridek statisztikailag szignifikánsan emelkedett koncentrációját a metabolikus szindrómás betegekben és a kontrollokban is.
7. A koleszterin értékeket vizsgálva sem a betegek, sem a kontrollok körében nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést egyik *APOA5* haplotípus hordozásának hatására sem.
8. A haplotípusok eloszlását vizsgálva az *APOA5**2 haplotípus akkumulációját találtuk metabolikus szindrómás betegcsoportban a kontroll egyénekhez viszonyítva. Az *APOA5**5 protektív hatásának bizonyult a MS kialakulásában.

9. KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

A dolgozat alapjául szolgáló eredeti közlemények

1. Apolipoprotein A5 T-1131C variant confers risk for metabolic syndrome.

Maász A, Kisfali P, Horvatovich K, Mohás M, Markó L, Csöngéi V, Faragó B, Járomi L, Magyar L, Sáfrány E, Sipeky C, Wittmann I, Melegh B.

Pathol Oncol Res. 2007;13(3):243-7.

Impakt Faktor: 1,272(2007)

2. Apolipoprotein A5 IVS3+476A allelic variant associates with increased triglyceride levels and confers risk for development of metabolic syndrome in Hungarians.

Kisfali P, Mohás M, Maasz A, Hadarits F, Markó L, Horvatovich K, Oroszlán T, Bagosi Z, Bujtor Z, Gasztonyi B, Wittmann I, Melegh B.

Circ J. 2008 Jan;72(1):40-3.

Impakt Faktor: 2,387(2008)

3. Haplotype analysis of the apolipoprotein A5 gene in patients with the metabolic syndrome.

Kisfali P, Mohás M, Maász A, Polgár N, Hadarits F, Markó L, Brasnyó P, Horvatovich K, Oroszlán T, Bagosi Z, Bujtor Z, Gasztonyi B, Rinfel J, Wittmann I, Melegh B.

Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2010 Sep;20(7):505-11.

Impakt Faktor:3,438(2010)

Egyéb közlemények

Könyvfejezet:

Horizons in World Cardiovascular Research. Volume 2

Chapter 3. Shared Susceptibility Genes of Metabolic Syndrome and Cardiovascular Disease.

Peter Kisfali, Eniko Safrany, Judit Bene, Bela Melegh,

pp. 57-78

Nova Science Publishers 2010

Folyóirat cikkek:

1. Common functional variants of APOA5 and GCKR accumulate gradually in association with triglyceride increase in metabolic syndrome patients.

Hadarits F, **Kisfali P**, Mohás M, Maász A, Duga B, Janicsek I, Wittmann I, Melegh B.

Mol Biol Rep. 2011 Jun 4.

Impakt Faktor:1,875(2010)

2. Detection of Dobrava-Belgrade hantavirus using recombinant-nucleocapsid-based enzyme-linked immunosorbent assay and SYBR Green-based real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction.

Németh V, Madai M, Marácz A, Bérczi B, Horváth G, Oldal M, **Kisfali P**, Bányai K, Jakab F.

Arch Virol. 2011 May 14.

Impakt Faktor:2,209(2010)

3. Functional glucokinase regulator gene variants have inverse effects on triglyceride and glucose levels, and decrease the risk of obesity in children.

Horvatovich K, Bokor S, Polgar N, **Kisfali P**, Hadarits F, Jaromi L, Csongei V, Repasy J, Molnar D, Melegh B.

Diabetes Metab. 2011 Apr 19.

Impakt Faktor:3,033(2010)

4. Monitoring of group A rotaviruses in wild-living birds in Hungary.

Ursu K, Papp H, **Kisfali P**, Rigó

Avian Dis. 2011 Mar;55(1):123-7.

Impakt Faktor:1,623(2010)

5. Cytotoxic T lymphocyte-Associated Antigen +49G Variant Confers Risk for Anti-CCP- and Rheumatoid Factor-Positive Type of Rheumatoid Arthritis Only in Combination with CT60G Allele.

Farago B, **Kisfali P**, Magyari L, Polgar N, Melegh B.

Autoimmune Dis. 2010;2010:285974.

6. GCKR gene functional variants in type 2 diabetes and metabolic syndrome: do the rare variants associate with increased carotid intima-media thickness?

Mohas M, **Kisfali P**, Jaromi L, Maasz A, Feher E, Csongei V, Polgar N, Safrany E, Cseh J, Sumegi K, Hetyesy K, Wittmann I, Melegh B.

Cardiovasc Diabetol. 2010 Nov 29;9(1):79

Impakt Faktor:2,720(2010)

7. Haplotype analysis of the apolipoprotein A5 gene in obese pediatric patients.

Horvatovich K, Bokor S, Barath A, Maasz A, **Kisfali P**, Jaromi L, Polgar N, Toth D, Repassy J, Endreffy E, Molnar D, Melegh B.

Int J Pediatr Obes. 2010 Sep 30

Impakt Faktor:2,654(2010)

8. Triglyceride level affecting shared susceptibility genes in metabolic syndrome and coronary artery disease.

Kisfali P, Polgár N, Sáfrány E, Sümegi K, Melegh B I, Bene J, Wéber A, Hetyésy K, Melegh B.

Curr Med Chem. 2010;17(30):3533-41.

Impakt Faktor:4,163(2010)

9. Mitochondrial DNA 11777C>A mutation associated Leigh syndrome: case report with a review of the previously described pedigrees.

Hadzsiev K, Maasz A, **Kisfali P**, Kalman E, Gomori E, Pal E, Berenyi E, Komlosi K, Melegh B.

Neuromolecular Med. 2010 Sep;12(3):277-84.

Impakt Faktor:4,657(2010)

10. Stepwise Positive Association Between APOA5 Minor Allele Frequencies and Increasing Plasma Triglyceride Quartiles in Random Patients with Hypertriglyceridemia of Unclarified Origin.

Hadarits F, **Kisfali P**, Mohás M, Maász A, Sümegi K, Szabó M, Hetyésy K, Valasek A, Janicsek I, Wittmann I, Melegh B.

Pathol Oncol Res. 2010 May 19

Impakt Faktor:1,483(2010)

11. Assessment of DNA methylation at the interferon regulatory factor 5 (IRF5) promoter region in inflammatory bowel diseases.

Balasa A, Gathungu G, **Kisfali P**, Smith EO, Cho JH, Melegh B, Kellermayer R.

Int J Colorectal Dis. 2010 May;25(5):553-6.

Impakt Faktor:2,645(2010)

12. Functional Variants of Glucokinase Regulatory Protein and Apolipoprotein A5 Genes in Ischemic Stroke.

Járomi L, Csöngéi V, Polgár N, Szolnoki Z, Maász A, Horvatovich K, Faragó B, Sipeky C, Sáfrány E, Magyari L, **Kisfali P**, Mohás M, Janicsek I, Lakner L, Melegh B.

Mol Neurosci. 2010 May;41(1):121-8.

Impakt Faktor:2,922(2010)

13. A Polymorphism within the Fructosamine-3-kinase Gene is Associated with HbA1c Levels and the Onset of Type 2 Diabetes Mellitus.

Mohás M, **Kisfali P**, Baricza E, Mérei A, Maász A, Cseh J, Mikolás E, Szijártó IA, Melegh B, Wittmann I.

Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2010 Mar;118(3):209-12.

Impakt Faktor:1,826(2010)

14. Trends in the epidemiology of human G1P[8] rotaviruses: a Hungarian study.

Bányai K, Gentsch JR, Martella V, Bogdán A, Havasi V, **Kisfali P**, Szabó A, Mihály I, Molnár P, Melegh B, Szücs G.

J Infect Dis. 2009 Nov 1;200 Suppl 1:S222-7.

Impakt Faktor:5,862(2009)

15. Molecular analysis of the VP7 gene of pheasant rotaviruses identifies a new genotype, designated G23.

Ursu K, **Kisfali P**, Rigó D, Ivanics E, Erdélyi K, Dán A, Meleg B, Martella V, Bányai K.

Arch Virol. 2009;154(8):1365-9.

Impakt Faktor:1,909(2009)

16. Searching for HAdV-52, the putative gastroenteritis-associated human adenovirus serotype in Southern Hungary.

Bányai K, Martella V, Meleg E, **Kisfali P**, Péterfi Z, Benkő M, Meleg B, Szucs G.

New Microbiol. 2009 Apr;32(2):185-8.

Impakt Faktor:0,947(2009)

17. First detection of P[6],G9 rotaviruses in Hungary--an imported strain from India?

László B, Nyúl Z, **Kisfali P**, Deák J, Kovács J, Kónya J, Mészner Z, Molnár P, Pátri L, Schneider F, Tóth A, Meleg B, Iturriza-Gomara M, Gray J, Martella V, Szucs G, Bányai K.

J Travel Med. 2009 Mar-Apr;16(2):141-3.

Impakt Faktor:1,503(2009)

18. Adenovirus gastroenteritis in Hungary, 2003-2006.

Bányai K, **Kisfali P**, Bogdán A, Martella V, Meleg B, Erdman D, Szűcs G.

Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2009 Aug;28(8):997-9.

Impakt Faktor:2,605(2009)

19. Genetic diversity and zoonotic potential of human rotavirus strains, 2003-2006, Hungary.

Bányai K, Bogdán A, Domonkos G, **Kisfali P**, Molnár P, Tóth A, Meleg B, Martella V, Gentsch JR, Szucs G.

J Med Virol. 2009 Feb;81(2):362-70.

Impakt Faktor:2,470(2009)

20. Apolipoprotein A5 gene IVS3+G476A allelic variant confers susceptibility for development of ischemic stroke.

Maasz A, **Kisfali P**, Jaromi L, Horvatovich K, Szolnoki Z, Csongei V, Safrany E, Sipeky C, Hadarits F, Melegh B.

Circ J. 2008 Jul;72(7):1065-70.

Impakt Faktor:2,387(2008)

21. Detection and quantification of group C rotaviruses in communal sewage.

Meleg E, Bányai K, Martella V, Jiang B, Kocsis B, **Kisfali P**, Melegh B, Szucs G. Appl Environ Microbiol. 2008 Jun;74(11):3394-9.

Impakt Faktor:3,801(2008)

22. Apolipoprotein A5 gene C56G variant confers risk for the development of large-vessel associated ischemic stroke.

Maász A, **Kisfali P**, Szolnoki Z, Hadarits F, Melegh B.

J Neurol. 2008 May;255(5):649-54.

Impakt Faktor:2,536(2008)

23. Pseudo-Bartter syndrome in a case of cystic fibrosis caused by C1529G and G18.3978A compound heterozygosity

Horvatovich K, Orkényi M, Bíró E, Pongrácz K, **Kisfali P**, Talián G, Csöngői V, Járomi L, Sáfrány E, Harangi F, Sulyok E, Melegh B.

Orv Hetil. 2008 Feb 17;149(7):325-8.

24. Prevalence of functional haplotypes of the peptidylarginine deiminase citrullinating enzyme gene in patients with rheumatoid arthritis: no influence of the presence of anticitrullinated peptide antibodies.

Faragó B, Talián GC, Maász A, Magyar L, Horvatovich K, Kovács B, Cserép V, **Kisfali P**, Kiss CG, Czirják L, Melegh B.

Clin Exp Rheumatol. 2007 Jul-Aug;25(4):523-8.

Impakt Faktor:2,270(2007)

25. Emergence of serotype G12 rotaviruses, Hungary.

Bányai K, Bogdán A, **Kisfali P**, Molnár P, Mihály I, Melegh B, Martella V, Gentsch JR, Szücs G.

Emerg Infect Dis. 2007 Jun;13(6):916-9.

Impakt Faktor:5,775(2007)

Összesített impakt faktor (idézhető absztraktok nélkül): 70,972

Idézhető absztraktok

The lipid-associated GALNT2 gene variant rs4846914 confers a highly elevated risk for type 2 diabetes

Polgar N, **Kisfali P**, Maasz A, Baricza E, Duga B, Mohas M, Wittmann I, Melegh B
Eur J Hum Genet, 2011;19(S2):251

TRIB1 genes polymorphism in type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome patients

Kisfali P, Szabó G, Baricza E, Duga B, Hetyésy K, Melegh B
Eur J Hum Genet, 2011;19(S2):262

Screening for mitochondrial deafness mutations in Hungarian patients: experience of 7 years

Komlósi K, Maász A, Hadzsiev K, **Kisfali P**, Bene J, Németh K, Fekete G, Melegh B
Eur J Hum Genet, 2011;19(S2):463

GALNT2 AND TRiB1 genes polymorphisms and triglycerid levels in metabolic syndrome patients

Kisfali P, Mohás M, Maász A, Hadarits F, Hetyésy K, Melegh B
Eur J Hum Genet, 2010;18(S1):265.

GCKR gene functional variants in patients with type 2 diabetes and metabolic syndrome: do the rare variants also associate with an increased carotid intima-media thickness in metabolic syndrome?

Mohás M, **Kisfali P**, Járomi L, Maász A, Fehér E, Csöngéi V, Polgár N, Sáfrány E, Cseh J, Sümegi K, Hetyésy K, Wittmann I, Melegh B.
Eur J Hum Genet, 2010;18(S1):256.

Haplotype profile of multidrug resistance 1 (MDR1/ABcB1) gene in the average Hungarian and Roma population samples

Sipeky C, Sáfrány E, Csöngéi V, Járomi L, Szabó M, **Kisfali P**, Maász A, Polgár N, Bene J, Takacs I, Melegh B.

Eur J Hum Genet, 2010;18(S1):259.

Apolipoprotein A5 gene APOA5*2 haplotype variant confers risk for the development of metabolic syndrome.

Kisfali P, Mohás M, Maász A, Hadarits F, Markó L, Késői I, Oroszlán T, Bagosi Z, Bujtor Z, Rinfel J, Gasztonyi B, Wittmann I, Melegh B.

Eur J Hum Genet, 2008;16(S2):328.

Apolipoprotein A5 gene IVS3+G476A allelic variant confers susceptibility for development of ischemic stroke.

Maasz A, **Kisfali P**, Jaromi L, Szolnoki Z, Hadarits F, Melegh B.

Eur J Hum Genet, 2008;16(S2):293.

Haplotype profile of vitamin K epoxide reductase (VKORC1) as determinant of warfarin sensitivity in Roma population.

Sipeky C, Csöngéi V, Faragó B, Horvatovich K, Járomi L, **Kisfali P**, Maász A, Magyarai L, Sáfrány E, Takács I, Melegh B.

Eur J Hum Genet, 2008;16(S2):393.

Vitamin K epoxide reductase haplotypes in Roma and average Hungarian samples.

Sipeky C, Csöngéi V, Faragó B, Horvatovich K, Járomi L, **Kisfali P**, Maász A, Magyarai L, Sáfrány E, Takács I, Melegh B.

Clin Chem Lab Med 2008;46(8):A139

Haplotypes of APOA5 gene in metabolic syndrome

Kisfali P, Mohás M, Maász A, Hadarits F, Késői L, Markó L, Horvatovich K, Oroszlán T, Bagosi Z, Bujtor Z, Gasztonyi B, Wittmann I, Melegh B.

Clin Chem Lab Med 2008;46(8):A139

Common allelic variants of APOA5 gene in the metabolic syndrome.

Kisfali P, Horvatovich K, Mohas M, **Maasz A**, Marko L, Csongei V, Farago B, Jaromi L, Magyari L, Safrany E, Sipeky C, Wittmann I, Melegh B.

Eur J Hum Genet, 2007;15(S1):210.

Apolipoprotein A5 T-1131C alleles in pediatric patients with obesity and metabolic syndrome.

Horvatovich K, Magyari L, Maasz A, **Kisfali P**, Bokor S, Farago B, Csongei V, Jaromi L, Safrany E, Sipeky C, Molnar D, Melegh B.

Eur J Hum Genet, 2007;15(S1):178.

Apolipoprotein A5 gene T1259C polymorphism associated with elevated circulating triglyceride levels but does not confer susceptibility for ischaemic stroke.

Járomi L, Maasz A, Szolnoki Z, **Kisfali P**, Horvatovich K, Magyari L, Safrany E, Csongei V, Sipeky C, Melegh B.

Eur J Hum Genet, 2007;15(S1):235.

Apolipoprotein A5 T-1131C variant confers risk for metabolic syndrome.

Maasz A, Horvatovich K, **Kisfali P**, Mohas M, Marko L, Csongei V, Farago B, Jaromi L, Magyari L, E Safrany, Sipeky C, Wittmann I, Melegh B.

Eur J Hum Genet, 2007;15(S1):178.

Padi4_89*G/A, padi4_90*T/C and padi4_92*G/C SNPs in the gene of the peptidylarginine deiminase citrullinating enzyme type 4 (PADI4) are not associated with rheumatoid arthritis in Hungarian patients.

Farago B, Talian GC, Maasz A, Magyar L, Horvatovich K, Kovacs B, Cserep V, **Kisfali P**, Kiss C, Melegh B.

Eur J Hum Genet, 2006;14(S1):326.

A peptidilarginin deimináz enzimet kódoló gén funkcionális haplotípusainak gyakorisága rheumatoid arthritis betegekben.

Faragó B, Talián CsG, Maász A, Magyar L, Horvatovich K, Kovács B, Cserep V, **Kisfali P**, Kiss Cs, Czirják L, Melegh B.

Klin Kísérl Lab Med 2006;(S32):101.

10. IRODALOMJEGYZÉK

Al, S. J., M. Zubaid, A. A. El-Menyar, R. Singh, W. Rashed, M. Ridha, A. Shehab, J. Al-Lawati, H. Amin, A. Al-Mottareb, Prevalence of the metabolic syndrome in patients with acute coronary syndrome in six middle eastern countries. *J.Clin.Hypertens.(Greenwich.)*2010; 11:890-899.

Antonarakis, S. E., P. Oettgen, A. Chakravarti, S. L. Halloran, R. R. Hudson, L. Feisee, S. K. Karathanasis, DNA polymorphism haplotypes of the human apolipoprotein APOA1-APOC3-APOA4 gene cluster. *Hum.Genet.*1988; 3:265-273.

Austin, M. A., Plasma triglyceride as a risk factor for cardiovascular disease. *Can.J.Cardiol.*1998;14B-17B.

Braun, J. E., D. L. Severson, Regulation of the synthesis, processing and translocation of lipoprotein lipase. *Biochem.J.*1992;337-347.

Cerasi, E., Insulin resistance, insulin deficiency, and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res.Clin.Pract.*1991;S37-S45.

Chandak, G. R., K. J. Ward, C. S. Yajnik, A. N. Pandit, A. Bavdekar, C. V. Joglekar, C. H. Fall, P. Mohankrishna, T. J. Wilkin, B. S. Metcalf, M. N. Weedon, T. M. Frayling, A. T. Hattersley, Triglyceride associated polymorphisms of the APOA5 gene have very different allele frequencies in Pune, India compared to Europeans. *BMC.Med.Genet.*2006;76.

Charlton-Menys, V., P. N. Durrington, Apolipoprotein A5 and hypertriglyceridemia. *Clin.Chem.*2005; 2:295-297.

Chobanian AV, Bakris GL, Black HR et al. Seventh report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Hypertension* 2003;42(6):1206-52

Corella, D., C. Q. Lai, S. Demissie, L. A. Cupples, A. K. Manning, K. L. Tucker, J. M. Ordovas, APOA5 gene variation modulates the effects of dietary fat intake on body

mass index and obesity risk in the Framingham Heart Study. *J.Mol.Med.*2007; 2:119-128.

DAWBBER, T. R., G. F. MEADORS, F. E. MOORE, Jr., Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. *Am.J.Public Health Nations.Health*1951; 3:279-281.

DeFronzo, R. A., Insulin resistance, hyperinsulinemia, and coronary artery disease: a complex metabolic web. *J.Cardiovasc.Pharmacol.*1992;S1-16.

Evans, D., U. Seedorf, F. U. Beil, Polymorphisms in the apolipoprotein A5 (APOA5) gene and type III hyperlipidemia. *Clin.Genet.*2005; 4:369-372.

Foultier, M. T., V. Vonarx-Coinsmann, T. Patrice, D. Cloarec, X. N. Xu, A. Combre, Effects of high glucose concentration on survival and respiration of human endothelial cells. *Biochimie*1992; 11:975-979.

Franks, P. W., S. Brage, J. Luan, U. Ekelund, M. Rahman, I. S. Farooqi, I. Halsall, S. O'Rahilly, N. J. Wareham, Leptin predicts a worsening of the features of the metabolic syndrome independently of obesity. *Obes.Res.*2005; 8:1476-1484.

Fruchart-Najib, J., E. Bauge, L. S. Niculescu, T. Pham, B. Thomas, C. Rommens, Z. Majd, B. Brewer, L. A. Pennacchio, J. C. Fruchart, Mechanism of triglyceride lowering in mice expressing human apolipoprotein A5. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*2004; 2:397-404.

Gotto, A. M., G. A. Gorry, J. R. Thompson, J. S. Cole, R. Trost, D. Yeshurun, M. E. DeBakey, Relationship between plasma lipid concentrations and coronary artery disease in 496 patients. *Circulation*1977; 5:875-883.

Grallert, H., E. M. Sedlmeier, C. Huth, M. Kolz, I. M. Heid, C. Meisinger, C. Herder, K. Strassburger, A. Gehringer, M. Haak, G. Giani, F. Kronenberg, H. E. Wichmann, J. Adamski, B. Paulweber, T. Illig, W. Rathmann, APOA5 variants and metabolic syndrome in Caucasians. *J.Lipid Res.*2007; 12:2614-2621.

Gronholdt, M. L., B. G. Nordestgaard, T. G. Nielsen, H. Sillesen, Echolucent carotid artery plaques are associated with elevated levels of fasting and postprandial triglyceride-rich lipoproteins. *Stroke*1996; 12:2166-2172.

Gurnell, M., 'Striking the Right Balance' in Targeting PPARgamma in the Metabolic Syndrome: Novel Insights from Human Genetic Studies. *PPAR.Res.*2007;83593.

Hadarits, F., P. Kisfali, M. Mohas, A. Maasz, K. Sumegi, M. Szabo, K. Hetyesy, A. Valasek, I. Janicsek, I. Wittmann, B. Melegh, Stepwise Positive Association Between APOA5 Minor Allele Frequencies and Increasing Plasma Triglyceride Quartiles in Random Patients with Hypertriglyceridemia of Unclarified Origin. *Pathol.Oncol.Res.*2010.

Hall, S., G. Chu, G. Miller, K. Cruickshank, J. A. Cooper, S. E. Humphries, P. J. Talmud, A common mutation in the lipoprotein lipase gene promoter, -93T/G, is associated with lower plasma triglyceride levels and increased promoter activity in vitro. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.*1997; 10:1969-1976.

Havel, R. J., C. J. Fielding, T. Olivecrona, V. G. Shore, P. E. Fielding, T. Egelrud, Cofactor activity of protein components of human very low density lipoproteins in the hydrolysis of triglycerides by lipoproteins lipase from different sources. *Biochemistry*1973; 9:1828-1833.

Hayward, B. E., N. Dunlop, S. Intody, J. P. Leek, A. F. Markham, J. P. Warner, D. T. Bonthron, Organization of the human glucokinase regulator gene GCKR. *Genomics*1998; 1:137-142.

Heart Protection Study Collaborative Group, MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol-lowering with simvastatin in 5963 people with diabetes: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003;361:2005-16.

Hegele, R. A., Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications. *Nat.Rev.Genet.*2009; 2:109-121.

Hegele, R. A., P. W. Connelly, A. J. Hanley, F. Sun, S. B. Harris, B. Zinman, Common genomic variation in the APOC3 promoter associated with variation in plasma lipoproteins. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.*1997; 11:2753-2758.

Hergenc, G., A. Onat, I. Sari, M. Yazici, B. Eryonucu, G. Can, Serum total and high-density lipoprotein phospholipid levels in a population-based study and relationship to risk of metabolic syndrome and coronary disease. *Angiology*2008; 1:26-35.

Hodoglugil, U., S. Tanyolac, D. W. Williamson, Y. Huang, R. W. Mahley, Apolipoprotein A-V: a potential modulator of plasma triglyceride levels in Turks. *J.Lipid Res.*2006; 1:144-153.

Horinek, A., M. Vrablik, R. Ceska, V. Adamkova, R. Poledne, J. A. Hubacek, T-1131-->C polymorphism within the apolipoprotein AV gene in hypertriglyceridemic individuals. *Atherosclerosis*2003; 2:369-370.

Horvatovich, K., S. Bokor, X. Bar, X. Ma, P. X. Kisfali, L. Romi, X. Polg, D. X. Th, J. Sy, E. X. Endreffy, X. Moln, B. X. Meleg, Haplotype analysis of the apolipoprotein A5 gene in obese pediatric patients. *Int.J.Pediatr.Obes.*2010.

Hoshino, A., T. Nakamura, S. Enomoto, H. Kawahito, H. Kurata, Y. Nakahara, T. Ijichi, Prevalence of coronary artery disease in Japanese patients with cerebral infarction: impact of metabolic syndrome and intracranial large artery atherosclerosis. *Circ.J.*2008; 3:404-408.

Huang, P., K. Kostulas, W. X. Huang, M. Crisby, V. Kostulas, J. Hillert, Lipoprotein lipase gene polymorphisms in ischaemic stroke and carotid stenosis. *Eur.J.Clin.Invest*1997; 9:740-742.

Hubacek, J. A., Apolipoprotein A5 and triglyceridemia. Focus on the effects of the common variants. *Clin.Chem.Lab Med.*2005; 9:897-902.

Hubacek, J. A., Z. Skodova, V. Adamkova, V. Lanska, R. Poledne, The influence of APOAV polymorphisms (T-1131>C and S19>W) on plasma triglyceride levels and risk of myocardial infarction. *Clin.Genet.*2004; 2:126-130.

- Hui, D. Y., J. A. Harmony, T. L. Innerarity, R. W. Mahley, Immunoregulatory plasma lipoproteins. Role of apoprotein E and apoprotein B. *J.Biol.Chem.*1980; 24:11775-11781.
- Ishihara, M., T. Kujiraoka, T. Iwasaki, M. Nagano, M. Takano, J. Ishii, M. Tsuji, H. Ide, I. P. Miller, N. E. Miller, H. Hattori, A sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for human plasma apolipoprotein A-V concentration. *J.Lipid Res.*2005; 9:2015-2022.
- Khang, Y. H., S. I. Cho, H. R. Kim, Risks for cardiovascular disease, stroke, ischaemic heart disease, and diabetes mellitus associated with the metabolic syndrome using the new harmonised definition: findings from nationally representative longitudinal data from an Asian population. *Atherosclerosis*2010; 2:579-585.
- Kluger, M., J. Heeren, M. Merkel, Apoprotein A-V: An important regulator of triglyceride metabolism. *J.Inherit.Metab Dis.*2008.
- Kozak, V. V., G. Z. Negrei, V. A. Shliakhovenko, V. M. Mikhailenko, S. S. Kireeva, [Comparative characteristics of DNA and DNA-associated plasma proteins in the normal state and in leukemia]. *Gematol.Transfuziol.*1987; 11:31-34.
- Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *NEJM* 2002;346(6):393-403
- Lai, C. Q., E. S. Tai, C. E. Tan, J. Cutter, S. K. Chew, Y. P. Zhu, X. Adiconis, J. M. Ordovas, The APOA5 locus is a strong determinant of plasma triglyceride concentrations across ethnic groups in Singapore. *J.Lipid Res.*2003; 12:2365-2373.
- Li, G. P., J. Y. Wang, S. K. Yan, B. S. Chen, H. Xue, G. Wu, Genetic effect of two polymorphisms in the apolipoprotein A5 gene and apolipoprotein C3 gene on serum lipids and lipoproteins levels in a Chinese population. *Clin.Genet.*2004; 6:470-476.
- Lin, J. W., J. J. Hwang, D. F. Dai, Y. Z. Tseng, Using structural equation model to illustrate the relationship between metabolic risk factors and cardiovascular complications in Taiwan. *Eur.J.Cardiovasc.Prev.Rehabil.*2006; 4:633-639.

Lookene, A., J. A. Beckstead, S. Nilsson, G. Olivecrona, R. O. Ryan, Apolipoprotein A-V-heparin interactions: implications for plasma lipoprotein metabolism. *J.Biol.Chem.*2005; 27:25383-25387.

Lopez-Miranda, J., S. Jansen, J. M. Ordovas, J. Salas, C. Marin, P. Castro, M. A. Ostos, G. Cruz, F. Lopez-Segura, A. Blanco, J. Jimenez-Pereperez, F. Perez-Jimenez, Influence of the SstI polymorphism at the apolipoprotein C-III gene locus on the plasma low-density-lipoprotein-cholesterol response to dietary monounsaturated fat. *Am.J.Clin.Nutr.*1997; 1:97-103.

Marcais, C., B. Verges, S. Charriere, V. Pruneta, M. Merlin, S. Billon, L. Perrot, J. Drai, A. Sassolas, L. A. Pennacchio, J. Fruchart-Najib, J. C. Fruchart, V. Durlach, P. Moulin, ApoA5 Q139X truncation predisposes to late-onset hyperchylomicronemia due to lipoprotein lipase impairment. *J.Clin.Invest*2005; 10:2862-2869.

Marchesini, G., G. Forlani, F. Cerrelli, R. Manini, S. Natale, L. Baraldi, G. Ermini, G. Savorani, D. Zocchi, N. Melchionda, WHO and ATPIII proposals for the definition of the metabolic syndrome in patients with Type 2 diabetes. *Diabet.Med.*2004; 4:383-387.

Martinelli, N., E. Trabetti, A. Bassi, D. Girelli, S. Friso, F. Pizzolo, M. Sandri, G. Malerba, P. F. Pignatti, R. Corrocher, O. Olivieri, The -1131 T>C and S19W APOA5 gene polymorphisms are associated with high levels of triglycerides and apolipoprotein C-III, but not with coronary artery disease: an angiographic study. *Atherosclerosis*2007; 2:409-417.

Masuda, J., R. Ross, Atherogenesis during low level hypercholesterolemia in the nonhuman primate. II. Fatty streak conversion to fibrous plaque. *Arteriosclerosis*1990; 2:178-187.

McNicholas, W. T., M. R. Bonsignore, Sleep apnoea as an independent risk factor for cardiovascular disease: current evidence, basic mechanisms and research priorities. *Eur.Respir.J.*2007; 1:156-178.

Merkel, M., J. Heeren, Give me A5 for lipoprotein hydrolysis! *J.Clin.Invest*2005; 10:2694-2696.

Merkel, M., B. Loeffler, M. Kluger, N. Fabig, G. Geppert, L. A. Pennacchio, A. Laatsch, J. Heeren, Apolipoprotein AV accelerates plasma hydrolysis of triglyceride-rich lipoproteins by interaction with proteoglycan-bound lipoprotein lipase. *J.Biol.Chem.*2005; 22:21553-21560.

Mertens, I., L. F. Van Gaal, New International Diabetes Federation (IDF) and National Cholesterol Education Program Adult Treatment panel III (NCEP-ATPIII) criteria and the involvement of hemostasis and fibrinolysis in the metabolic syndrome. *J.Thromb.Haemost.*2006; 5:1164-1166.

Michalik, L., W. Wahli, PPARs Mediate Lipid Signaling in Inflammation and Cancer. *PPAR.Res.*2008;134059.

Moriwaki, Y., T. Yamamoto, S. Takahashi, Z. Tsutsumi, K. Higashino, Apolipoprotein E phenotypes in patients with gout: relation with hypertriglyceridaemia. *Ann.Rheum.Dis.*1995; 5:351-354.

Morrisett, J. D., R. L. Jackson, A. M. Gotto, Jr., Lipoproteins: structure and function. *Annu.Rev.Biochem.*1975;183-207.

Myant, N. B., Cholesterol transport through the plasma. *Clin.Sci.(Lond)*1982; 3:261-271.

Nabika, T., S. Nasreen, S. Kobayashi, J. Masuda, The genetic effect of the apoprotein AV gene on the serum triglyceride level in Japanese. *Atherosclerosis*2002; 2:201-204.

Nabipour, I., M. Amiri, S. R. Imami, S. M. Jahfari, E. Shafeiaie, A. Nosrati, D. Iranpour, A. R. Soltanian, The metabolic syndrome and nonfatal ischemic heart disease; a population-based study. *Int.J.Cardiol.*2007; 1:48-53.

Niculescu, L. S., J. Fruchart-Najib, J. C. Fruchart, A. Sima, Apolipoprotein A-V gene polymorphisms in subjects with metabolic syndrome. *Clin.Chem.Lab Med.*2007; 9:1133-1139.

Nordoy, A., K. H. Bonna, P. M. Sandset, J. B. Hansen, H. Nilsen, Relationship between apolipoprotein E polymorphism, postprandial hyperlipemia and hemostatic variables in patients with combined hyperlipemia. *Nutr.Metab Cardiovasc.Dis.*2000; 1:15-23.

O'Brien, P. J., W. E. Alborn, J. H. Sloan, M. Ulmer, A. Boodhoo, M. D. Knierman, A. E. Schultze, R. J. Konrad, The novel apolipoprotein A5 is present in human serum, is associated with VLDL, HDL, and chylomicrons, and circulates at very low concentrations compared with other apolipoproteins. *Clin.Chem.*2005; 2:351-359.

Olivieri, O., A. Bassi, C. Stranieri, E. Trabetti, N. Martinelli, F. Pizzolo, D. Girelli, S. Friso, P. F. Pignatti, R. Corrocher, Apolipoprotein C-III, metabolic syndrome, and risk of coronary artery disease. *J.Lipid Res.*2003a; 12:2374-2381.

Olivieri, O., A. Bassi, C. Stranieri, E. Trabetti, N. Martinelli, F. Pizzolo, D. Girelli, S. Friso, P. F. Pignatti, R. Corrocher, Apolipoprotein C-III, metabolic syndrome, and risk of coronary artery disease. *J.Lipid Res.*2003b; 12:2374-2381.

Ong, K. L., C. Q. Jiang, B. Liu, Y. L. Jin, A. W. Tso, S. Tam, K. S. Wong, B. Tomlinson, B. M. Cheung, J. M. Lin, X. J. Yue, K. S. Lam, T. H. Lam, G. N. Thomas, Association of a genetic variant in the apolipoprotein A5 gene with the metabolic syndrome in Chinese. *Clin.Endocrinol.(Oxf)*2011; 2:206-213.

Packard, C. J., T. Demant, J. P. Stewart, D. Bedford, M. J. Caslake, G. Schwertfeger, A. Bedynek, J. Shepherd, D. Seidel, Apolipoprotein B metabolism and the distribution of VLDL and LDL subfractions. *J.Lipid Res.*2000; 2:305-318.

Peacock, R. E., A. Hamsten, J. Johansson, P. Nilsson-Ehle, S. E. Humphries, Associations of genotypes at the apolipoprotein AI-CIII-AIV, apolipoprotein B and lipoprotein lipase gene loci with coronary atherosclerosis and high density lipoprotein subclasses. *Clin.Genet.*1994; 4:273-282.

Pennacchio, L. A., E. M. Rubin, Apolipoprotein A5, a newly identified gene that affects plasma triglyceride levels in humans and mice. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.*2003a; 4:529-534.

Pennacchio, L. A., E. M. Rubin, Apolipoprotein A5, a newly identified gene that affects plasma triglyceride levels in humans and mice. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.*2003b; 4:529-534.

Pierce LR, Wysowski DK, Gross TP 1990 Myopathy and rhabdomyolysis associated with lovastatin-gemfibrozil combination therapy. *JAMA* 264:71–75

Priore, O. C., L. Pisciotta, V. G. Li, M. P. Sambataro, A. Cantafora, A. Bellocchio, A. Catapano, P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, Inherited apolipoprotein A-V deficiency in severe hypertriglyceridemia. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.*2005; 2:411-417.

Reaven, G., The metabolic syndrome or the insulin resistance syndrome? Different names, different concepts, and different goals. *Endocrinol.Metab Clin.North Am.*2004; 2:283-303.

Reaven, G. M., Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*1988; 12:1595-1607.

Reaven, G. M., Y. D. Chen, Role of insulin in regulation of lipoprotein metabolism in diabetes. *Diabetes Metab Rev.*1988; 7:639-652.

Robins SJ, Rubins HB, Faas FH et al. Insulin resistance and cardiovascular events with low HDL cholesterol. The Veterans Affairs HDL Intervention Trial (VA-HIT). *Diabetes Care* 2003;26(5):1513-7.

Robinson, D. S., Plasma triglyceride metabolism. *J.Clin.Pathol.Suppl (Assoc.Clin.Pathol.)*1973;5-10.

Ruiz-Narvaez, E. A., Y. Yang, Y. Nakanishi, J. Kirchdorfer, H. Campos, APOC3/A5 haplotypes, lipid levels, and risk of myocardial infarction in the Central Valley of Costa Rica. *J.Lipid Res.*2005; 12:2605-2613.

Samyn, H., M. Moerland, G. T. van, H. R. van, F. Grosveld, T. A. van, C. R. de, Elevation of systemic PLTP, but not macrophage-PLTP, impairs macrophage reverse cholesterol transport in transgenic mice. *Atherosclerosis*2009a; 2:429-434.

Samyn, H., M. Moerland, G. T. van, H. R. van, T. A. van, C. R. de, Reduction of HDL levels lowers plasma PLTP and affects its distribution among lipoproteins in mice. *Biochim.Biophys.Acta*2009b; 8:790-796.

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

Schaap, F. G., P. C. Rensen, P. J. Voshol, C. Vriens, H. N. van der Vliet, R. A. Chamuleau, L. M. Havekes, A. K. Groen, K. W. van Dijk, ApoAV reduces plasma triglycerides by inhibiting very low density lipoprotein-triglyceride (VLDL-TG) production and stimulating lipoprotein lipase-mediated VLDL-TG hydrolysis. *J.Biol.Chem.* 2004; 27:27941-27947.

Schaefer, J. R., A. M. Sattler, B. Hackler, B. Kurt, R. Hackler, B. Maisch, M. Soufi, Hyperlipidemia in patients with apolipoprotein E 2/2 phenotype: apolipoprotein A5 S19W mutation as a cofactor. *Clin.Chem.* 2004; 11:2214.

Schlitt, A., C. Bickel, P. Thumma, S. Blankenberg, H. J. Rupprecht, J. Meyer, X. C. Jiang, High plasma phospholipid transfer protein levels as a risk factor for coronary artery disease. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2003; 10:1857-1862.

Schoenborn, V., I. M. Heid, C. Vollmert, A. Lingenhel, T. D. Adams, P. N. Hopkins, T. Illig, R. Zimmermann, R. Zechner, S. C. Hunt, F. Kronenberg, The ATGL gene is associated with free fatty acids, triglycerides, and type 2 diabetes. *Diabetes* 2006; 5:1270-1275.

Simons, L. A., Interrelations of lipids and lipoproteins with coronary artery disease mortality in 19 countries. *Am.J.Cardiol.* 1986; 14:5G-10G.

- Smith, L. C., H. J. Pownall, A. M. Gotto, Jr., The plasma lipoproteins: structure and metabolism. *Annu.Rev.Biochem.*1978;751-757.
- Song, Y., M. J. Stampfer, S. Liu, Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann.Intern.Med.*2004; 2:137-147.
- Szalai, C., M. Keszei, J. Duba, Z. Prohaszka, G. T. Kozma, A. Csaszar, S. Balogh, Z. Almassy, G. Fust, A. Czinner, Polymorphism in the promoter region of the apolipoprotein A5 gene is associated with an increased susceptibility for coronary artery disease. *Atherosclerosis*2004; 1:109-114.
- Tai, E. S., J. M. Ordovas, Clinical significance of apolipoprotein A5. *Curr.Opin.Lipidol.*2008; 4:349-354.
- Tall, A. R., D. M. Small, Body cholesterol removal: role of plasma high-density lipoproteins. *Adv.Lipid Res.*1980;1-51.
- Talmud, P. J., E. Hawe, S. Martin, M. Olivier, G. J. Miller, E. M. Rubin, L. A. Pennacchio, S. E. Humphries, Relative contribution of variation within the APOC3/A4/A5 gene cluster in determining plasma triglycerides. *Hum.Mol.Genet.*2002; 24:3039-3046.
- Talmud, P. J., J. Palmen, W. Putt, L. Lins, S. E. Humphries, Determination of the functionality of common APOA5 polymorphisms. *J.Biol.Chem.*2005; 31:28215-28220.
- Tan, M. H., K. L. Weldon, J. J. Albers, M. C. Cheung, R. J. Havel, J. L. Vigne, Serum HDL-cholesterol, apo-A-I and apo-E levels in patients with abnormal coronary arteries. *Clin.Invest Med.*1980; 3-4:225-232.
- Teramoto, T., J. Sasaki, H. Ueshima, G. Egusa, M. Kinoshita, K. Shimamoto, H. Daida, S. Biro, K. Hirobe, T. Funahashi, K. Yokote, M. Yokode, Metabolic syndrome. *J.Atheroscler.Thromb.*2008; 1:1-5.
- Tzotzas, T., C. Desrumaux, L. Lagrost, Plasma phospholipid transfer protein (PLTP): review of an emerging cardiometabolic risk factor. *Obes.Rev.*2009; 4:403-411.

- Tzotzas, T., G. E. Krassas, T. Konstantinidis, M. Bougoulia, Changes in lipoprotein(a) levels in overt and subclinical hypothyroidism before and during treatment. *Thyroid*2000; 9:803-808.
- Utermann, G., U. Langenbeck, U. Beisiegel, W. Weber, Genetics of the apolipoprotein E system in man. *Am.J.Hum.Genet.*1980; 3:339-347.
- van der Vliet, H. N., M. G. Sammels, A. C. Leegwater, J. H. Levels, P. H. Reitsma, W. Boers, R. A. Chamuleau, Apolipoprotein A-V: a novel apolipoprotein associated with an early phase of liver regeneration. *J.Biol.Chem.*2001; 48:44512-44520.
- Vaxillaire, M., J. Veslot, C. Dina, C. Proenca, S. Cauchi, G. Charpentier, J. Tichet, F. Fumeron, M. Marre, D. Meyre, B. Balkau, P. Froguel, Impact of common type 2 diabetes risk polymorphisms in the DESIR prospective study. *Diabetes*2008; 1:244-254.
- Vonbank, A., C. H. Saely, P. Rein, S. Beer, J. Breuss, C. Boehnel, H. Drexel, Insulin Resistance is Associated with the Metabolic Syndrome and is Not Directly Linked to Coronary Artery Disease. *Clin.Chim.Acta*2011.
- Vu-Dac, N., P. Gervois, H. Jakel, M. Nowak, E. Bauge, H. Dehondt, B. Staels, L. A. Pennacchio, E. M. Rubin, J. Fruchart-Najib, J. C. Fruchart, Apolipoprotein A5, a crucial determinant of plasma triglyceride levels, is highly responsive to peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators. *J.Biol.Chem.*2003; 20:17982-17985.
- Wagenknecht, L. E., J. Divers, A. G. Bertoni, C. D. Langefeld, J. J. Carr, D. W. Bowden, S. C. Elbein, S. Shea, C. E. Lewis, B. I. Freedman, Correlates of coronary artery calcified plaque in blacks and whites with type 2 diabetes. *Ann.Epidemiol.*2011; 1:34-41.
- Warner, J. P., J. P. Leek, S. Intody, A. F. Markham, D. T. Bonthron, Human glucokinase regulatory protein (GCKR): cDNA and genomic cloning, complete primary structure, and chromosomal localization. *Mamm.Genome*1995; 8:532-536.
- Wehner, H., M. Petri, Glomerular alterations in experimental diabetes of the rat. *Pathol.Res.Pract.*1983; 2-4:145-157.

Weinberg, R. B., V. R. Cook, J. A. Beckstead, D. D. Martin, J. W. Gallagher, G. S. Shelness, R. O. Ryan, Structure and interfacial properties of human apolipoprotein A-V. *J.Biol.Chem.*2003; 36:34438-34444.

Wildman, R. P., A. P. McGinn, M. Kim, P. Muntner, D. Wang, H. W. Cohen, A. D. Ogorodnikova, K. Reynolds, V. Fonseca, Empirical Derivation to Improve the Definition of the Metabolic Syndrome in the Evaluation of Cardiovascular Disease Risk. *Diabetes Care*2011.

Wright, W. T., I. S. Young, D. P. Nicholls, C. Patterson, K. Lyttle, C. A. Graham, SNPs at the APOA5 gene account for the strong association with hypertriglyceridaemia at the APOA5/A4/C3/A1 locus on chromosome 11q23 in the Northern Irish population. *Atherosclerosis*2006; 2:353-360.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A doktori disszertációm alapjául szolgáló kutatómunkát a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karán az Orvosi Genetikai Intézetben végeztem.

Köszönettel tartozom mindenekelőtt témavezetőmnek, Dr. Melegh Béla Professor Úrnak, hogy lehetővé tette a Ph.D. programba való bekapcsolódásomat. Szeretnék köszönetet mondani támogatásáért, bizalmáért, munkám irányításáért és bírálatáért.

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Wittmann István professzor úrnak és Dr. Mohás Mártonnak a terjedelmes beteganyag összegyűjtéséért és a gyümölcsöző kollaborációért.

Külön köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Maász Anitának, aki alaposágával biztosította közös munkánk tökéletes kivitelezését; ezzel nagyban hozzájárult az értekezés alapjául szolgáló genetikai vizsgálatok kivitelezéséhez.

Végül, de nem utolsósorban őszinte hálával tartozom feleségemnek, szüleimnek a végtelen türelemért és a megfelelő háttér biztosításáért.