A FETUIN-A SZEREPE ÉS INTERAKCIÓI MÁJ- ÉS KARDIOVASZKULÁRIS BETEGSÉGEKBEN

Doktori értekezés

Dr. Vörös Krisztián Szabolcs

Semmelweis Egyetem

Molekuláris Orvostudományok Doktori Iskola

Témavezető: Dr. Kalabay László, egyetemi tanár, PhD

Hivatalos bírálók: Dr. Lengyel Gabriella, egyetemi docens, PhD

Dr. Nagy György, egyetemi docens, PhD

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Somogyi Anikó, egyetemi tanár, DsC

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Pánczél Pál, egyetemi tanár, PhD

Dr. Réthy Lajos Attila, tudományos szaktanácsadó, PhD

Budapest

2014

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés ... 7
1.1 A kardiovaszkuláris betegségek jelentősége ... 7
1.2 Biomarkerek a kardiovaszkuláris események előrejelzésében ... 9
1.3 A fetuin-A koncentráció és az atherosclerosis kapcsolata ... 11
1.3.1 A fetuin-A emelkedett szintjének kapcsolata kardiovaszkuláris betegségekkel ... 12
1.3.2 Inzulin receptor gátlás és szénhidrátanyagcsere-zavarok ... 12
1.3.3 A fetuin-A eltérései az atherosclerosishoz fokozott kockázatával társuló állapotokban ... 13
1.3.4 Sejtszintű eltérések a kóros anyagcsere állapotokban ... 15
1.3.5 A fetuin-A alacsony koncentrációjához vezető lehetséges mechanizmusok atherosclerosisban ... 17
1.3.6 Ellentmondásos eredmények az egyes kardiovaszkuláris betegségekben 19
1.3.6.1 A fetuin-A kapcsolata a szív- és érrendszeri betegségek indirekt markereivel ... 19
1.3.6.2 A fetuin-A kapcsolata a perifériás érbetegséggel ... 21
1.3.6.3 A fetuin-A kapcsolata akut kardiovaszkuláris eseményekkel ... 21
1.3.6.4 A fetuin-A kapcsolata krónikus kardiovaszkuláris betegségekkel ... 22
1.4 A ghrelin szint megítélése infarktust kiállott betegekben ... 22
1.5 Az adipokinek kombinált alkalmazása kardiovaszkuláris betegségekben ... 24
1.6 A fetuin-A szerepe májbetegségekben ... 25
1.6.1 A fetuin-A a mortalitás lehetséges prediktora alkoholos májbetegségben 25
1.6.1.1 Májtranszplantáció alkoholos májbetegségben ... 26
1.6.1.2 Prediktív modellek májbetegségben ... 27
1.6.1.3 Sejtszintű történések alkoholos májbetegségben ... 28
1.6.1.4 A fetuin-A hatásai májbetegségekben ... 29
1.6.2 A fetuin-A szerepe a Wilson-kórban kialakuló cirrhosis felismerésében 31
2. Célkitűzések ... 35
3. Betegek és vizsgálati módszerek ... 37
3.1 Betegek ... 37
3.1.1 Infarktust túlélt betegek ... 37
3.1.2 Májbetegek ... 37
3.2 Laboratóriumi módszerek ... 38
3.2.1 A szérum fetuin-A koncentráció meghatározása ... 38

3.2.2 További laboratóriumi mérések ... 38
3.2.3 Statisztikai elemzés ... 39
4. Eredmények ... 41
4.1 A fetuin-A vizsgálata infarktust túlélt betegekben ... 41
4.2 A ghrelin szint vizsgálata infarktust kiállott személyekben ... 45
4.3 Az adipokinek kombinált alkalmazásának vizsgálatára ... 47
4.4 A fetuin-A koncentráció prediktív szerepe alkoholos májzsugorban ... 48
4.4.1 A fetuin-A szint alacsonyabb a májelégtelenségben elhunytak között ... 48
4.4.2 A fetuin-A szint az egyéves túlélés független és pontos prediktora ... 50
4.4.3 A fetuin-A szint a mortalitás megbízható prediktora ... 54
4.5 A szérum fetuin-A koncentráció meghatározásának jelentősége Wilson-kórban 56
5. Megbeszélés ... 61
5.1 A fetuin-A szint szerepe metabolikus zavarok és koronáriabetegség együttes előfordulásakor ... 61
5.2 A szérum ghrelin szint szívinfarktuson átesett betegekben ... 67
5.3 A szérum adipokin koncentráció kombinált alkalmazása ... 71
5.4 A fetuin-A csökkent szintje a túlélés pontos és megbízható prediktora alkoholos májzsugorban ... 72
5.5 A szérum fetuin-A Wilson-kórban ... 76
6. Következtetések ... 79
7. Összefoglalás ... 81
8. Irodalomjegyzék ... 83
9. Saját publikációk jegyzéke ... 111
9.1 A disszertációhoz kapcsolódó közlemények ... 111
9.2 A disszertációhoz nem kapcsolódó közlemények ... 111
10. Köszönetnyilvánítás ... 113

Rövidítések jegyzéke

AKT1/2 – Szerin/treonin protein kináz (Ak strain of mice transforming onkogén alapján)

AMPK – AMP-aktivált proteinkináz

anti-HCV – Hepatitis C vírus ellenes antitest

ASAT – Aszpartát-aminotranszferáz

ALAT – Alanin-aminotranszferáz

BMI – Body Mass Index (testömegindex)

CAC – Coronary Artery Calcification (koronária kalcifikáció)

CIMT – Carotis Intima Media Thickness ratio (carotis intima-media vastagság)

CP - Child-Pugh Score

CPP – Calciprotein particle (kalciprotein részecske)

CRP – C-reaktív protein

CV – Cardiovascular (kardiovaszkuláris)

CVD – Cardiovascular Disease (kardiovaszkuláris betegség)

ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay (enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálat)

FFA – Free Fatty Acid (szabad zsírsav)

FMC – Fetuin-Mineral Complex (fetuin-ásványi só komplex)

FVS – Fehérvérsejtszám

γ-GT – γ-glutamil-transzferáz

(e)GFR – (estimated) Glomerular Filtration Rate ((becsült) glomerulus filtrációs ráta)

GLUT4 – Glükóz transzporter-4

HbA1c – Hemoglobin A1c

HBsAg – Hepatitis B vírus felszíni antigén

HBV – Hepatitis B vírus

HCV – Hepatitis C vírus

HDL – High Density Lipoprotein (magas sűrűségű lipoprotein)

HOMA – (Homeostatic Model Assessment) inzulinrezisztencia-mérési modell

IFG – Impaired Fasting Glucose (emelkedett éhomi vércukor)

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

IGT – Impaired Glucose Tolerance (csökkent glükóztolerancia)

IL-6 – Interleukin-6

INR – International Normalisation Rate

ISZB – Iszkémiás szívbetegség

JNK – c-Jun N-terminális kináz

KMO – Kaiser-Meyer-Olkin measure of sampling adequacy (Kaiser-Meyer-Olkin-féle mintavételi pontosság mérés)

KVE – Krónikus veseelégtelenség

MELD – Model for End-Stage Liver Disease

mTOR – mammalian Target Of Rapamycin, protein kináz

NAD / NADH – Nikotinamid-adenin-dinukleotid

NAFLD – Nonalcoholic Fatty Liver Disease (nem alkoholos zsírmáj)

NF-κB – Nukleáris faktor -κB, transzkripicós faktor

NK sejt – Természetes ölősejt

NS – Nem szignifikáns

PAD – Periferal Artery Disease (perifériás érbetegség)

PBC – Primer biliáris cirrhosis

PDGF – Platelet-Derived Growth Factor (vérlemezke eredetű növekedési faktor)

PPAR-γ – Peroxiszóma proliferátor aktivált receptor-γ

PWV – Pulse Wave Velocity (pulzushullám terjedési sebesség)

SERB-1c – Sterol Regulatory Element-binding Protein, transzkripicós faktor

STEMI – ST-elevációs miokardiális infarktus

T2DM – 2-es típusú diabetes mellitus

TF – Transzferrin

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

TLR4 – Toll-like receptor-4

TNF-α – Tumor necrosis faktor-α

Bevezetés

A kardiovaszkuláris betegségek a mortalitás vezető okai a legtöbb országban, így hazánkban is. A fetuin-A a szív és érrendszeri betegségek számos rizikófaktorával változik együtt, a kardiovaszkuláris betegekben végzett vizsgálatokban azonban ellentmondásos eredményeket közöltek szérum szintjével kapcsolatban. Atherosclerosisban szenvedő betegekben kapcsolata más adipokinekkel kevéssé ismert.
A fetuin-A-hoz némileg hasonlóan a szérum ghrelin szint és az atherosclerosis kapcsolata még nem pontosan tisztázott, az eddig közölt eredmények ellentmondásosak.
Az egyes biomarkerek a kardiovaszkuláris morbiditás, mortalitás előre jelzését sok esetben kevéssé képesek javítani, így ezen molekulák kombinált alkalmazása is felmerül.
A fetuin-A felnőttkorban a májban termelődik így alkalmas lehet a máj működésének vizsgálatára. Alkoholos májcirrhosisban és Wilson-kórban eltéréseit azonban még nem vizsgálták.

1.1 A kardiovaszkuláris betegségek jelentősége

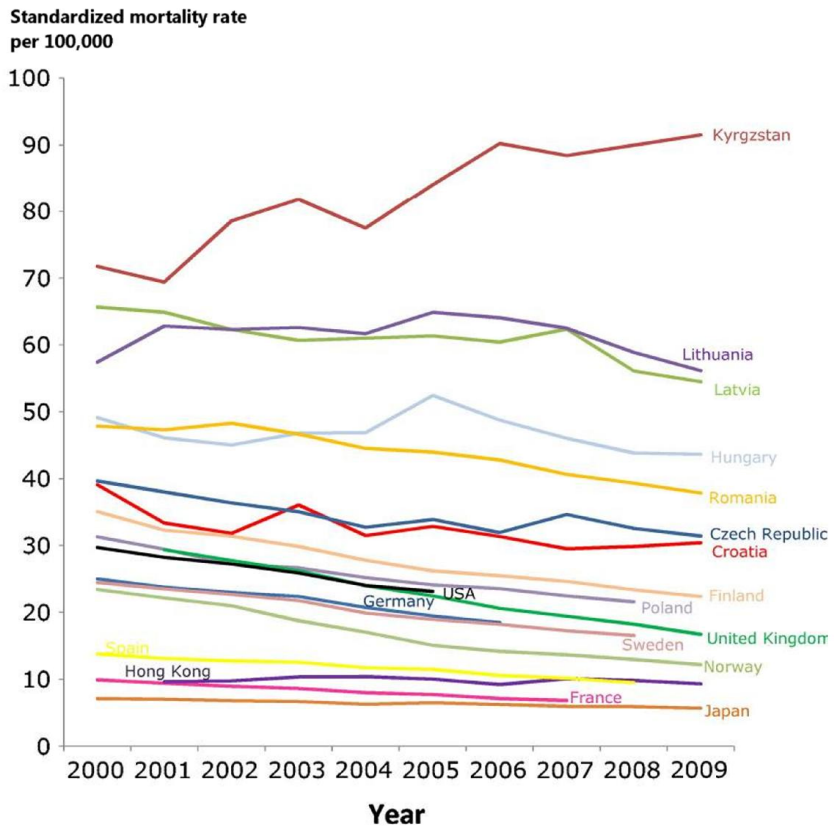
A kardiovaszkuláris betegségek a fejlett országokban a vezető halálokok közé tartoznak. A probléma azonban nem csak ezen országok sajátja, a WHO a globális egészségügyi problémák között a legelső helyre sorolja a szív és érrendszeri betegségeket.
Világszerte az iszkémiás szívbetegség az összhalálozás 12,7%-ért felelős, 2008-ban 7,249,000 ember halálát okozta [1]. Az ISZB mind a fejlett, mind a fejlődő országokban vezető haláloknak bizonyult a világ legtöbb régiójában, kivételt csak Afrika szubszaharai régiója és a Csendes-óceáni térség jelentett.
Az Amerikai Egyesült Államokban az American Heart Association állít össze részletes statisztikai adatokat a szív- és érrendszeri betegségekről [2]. A 2010-es évben az USA-ban a kardiovaszkuláris halálozás az összhalálozás 31,9%-ért volt felelős, ami 100,000 lakosonként 235,5 halálozást jelentett. A teljes lakosság körében a kardiovaszkuláris betegségek előfordulása 35,3% volt. A koronária betegség a felelős minden hatodik halálesetért, prevalenciája 6,4%. A riasztó adatok hátterében az átlagéletkor emelkedésén túl az egészségtelen, tunya életmód húzódik meg. Az amerikaiak 18,1%-a dohányzik, a lakosság 40,5%-ának emelkedett a koleszterinszintje, 33% szenved

magasvérnyomás-betegségben, 68,2% túlsúlyos vagy elhízott. A magas arányú elhízás a diabetes prevalenciájának emelkedéséhez is vezetett, a lakosság 8,3%-a ismert, további 3,5% még nem diagnosztizált cukorbeteg, a különböző prediabetes állapotok gyakorisága pedig 38,2%! Az elhízás, diabetes, kardiovaszkuláris betegségek szempontjából fontos védőszerepet betöltő rendszeres fizikai aktivitás a lakosság alig ötödének az életében jelenik meg.

Az elmúlt évtizedben az egészségesebb életmód terjedése, a dohányzás visszaszorulása, a hatékony preventív gyógyszeres kezelés elterjedése és a kardiovaszkuláris intervenció fejlődésének hatására azonban kedvező változások indultak meg: 2000 és 2010 között a kardiovaszkuláris betegségek miatti halálozás az Egyesült Államokban 31%-kal csökkent [2]. A 80-as, 90-es években a WHO Monica vizsgálata alapján a megelőzés körülbelül kétharmad részben volt felelős az infarktus miatt bekövetkezett halálozás csökkenéséért, míg a hatékonyabb ellátás egyharmad részben [3]. A kétezres években körülbelül fele-fele arányban álltak ezen tényezők a pozitív trend hátterében [4].

A helyzet Európában sem különbözik érdemben. Angliában évente 180 000-en halnak meg (45 000-en 75 éves kor előtt) kardiovaszkuláris betegség következtében. A halálesetek közel felét (80 000) a koronária-betegség okozza. A kockázati tényezők terén Angliában is vegyes kép rajzolódik ki. Míg a dohányzás csökkent (a lakosság 20-25% cigarettázik), addig a hypercholesterinaemia, hypertonia prevalenciája terén nem volt érdemi változás, az obezitás és diabetes előfordulása növekedett (bár alacsonyabb, mint az USA-ban). A kardiovaszkuláris betegségek direkt és indirekt költségei 2009-ben meghaladták a 19 milliárd fontot [5].

Magyarországon a helyzet az elmúlt évtizedek javuló trendjei ellenére sem mondható ideálisnak, különösen nem nemzetközi összehasonlításban (1. ábra) [1].



1. ábra Az iszkémiás szívbetegség miatt standardizált éves halálozás a kiválasztott országokban 2000 és 2009 között. Forrás: Finegold és mtsai [1]

A 2006-os évben a Magyarországon bekövetkezett 132 ezer haláleset 51%-át kardiovaszkuláris betegség okozta. A korábban emelkedő trendet sikerült megtörni, bár a szívinfarktus előfordulása még mindig magas. Az utóbbi években a koronária intervenció elterjedése azonban várhatóan tovább javítja majd a statisztikai adatokat [6].

1.2 Biomarkerek a kardiovaszkuláris események előrejelzésében

A tradicionális rizikófaktorok segítségével a kardiovaszkuláris betegség kockázata viszonylag jól előre jelezhető [7], bár sok alacsony kockázatúnak besorolt beteg a későbbiekben átesik akut kardiovaszkuláris eseményen. A hagyományos kockázati tényezők által nem azonosított magas kockázatú betegek megtalálása céljából számos biomarker vizsgálata történt az elmúlt években.

Régebbről ismert paraméterek a vesefunkció (mikroalbuminuria, albumin/kreatinin hányados, eGFR), vagy az anyagcsere egyes markerei (húgysav, homocisztein, glikolizált hemoglobin). Az újabb biomarkerek egy része a szubklinikus gyulladáshoz kapcsolódik (CRP, TNF-α és szolubilis receptorai, IL-6, pentraxin 3, fibrinogén,

amyloid A és P,), mások az endotél diszfunkcióhoz (kemoattraktánsok, szelektinek, plazminogén aktivátor inhibitor-1), vagy a plakk instabilitással kapcsolatosak (metalloproteázok, foszfolipázok, egyes interleukinok) [8]. A troponin T és a B típusú natriuretikus peptid prediktív értéke is hasznosnak bizonyult [9, 10]. A CRP szoros összefüggést mutatott a szív és érrendszeri betegségek rizikótényezőivel és a kardiovaszkuláris eseményekkel is [11]. A koronária kalcifikáció mértékére történő korrekció után azonban az összefüggés már nem volt megfigyelhető [12]. Klinikai használata így is hasznos lehet, hiszen a CAC score mérése nem egyszerű és sugárterheléssel is jár. A CRP mindenesetre – a pozitív családi anamnézissel egyetemben – bekerült a Reynolds score-ba és szignifikánsan javította a tradicionális rizikófaktorokon alapuló kockázatbecslést [13, 14]. A TNF-α elsősorban a makrofágok által termelt proinflammatórikus citokin. Elősegíti az endotél sejtek apoptózisát, negatívan befolyásolja az artériák simaizomsejtjeinek működését és így szerepet játszik az endotél diszfunkció kialakulásában. Szintje korrelál a CIMT-gal és emelkedett koncentrációját találták korai kardiovaszkuláris eseményen átesettekben [15]. Emelkedett szintje a kardiovaszkuláris és koronáriaesemények, valamint az összmortalitás előre jelzésében is hasznosnak bizonyult [16]. A rezisztin kezdetben mint az inzulinrezisztencia markere került látótérbe, újabban azonban egyre inkább mint az atherosclerosisban megjelenő szubklinikus gyulladás markereként ismert. Szintje korrelált a koronária kalcifikációval, emelkedett volt koronária betegekben, koronária intervención áteső betegekben emelkedett koncentrációja előre jelezte az adverz kardiális eseményeket [17]. Weikert és mtsai 6 éves követés során, esetkontrollos vizsgálatukban a magas rezisztin szintet a koronária betegség független prediktorának találták. Az eredményeik alapján a stroke kockázata nem volt magasabb az emelkedett rezisztin szintű betegekben [18]. Egy újabb vizsgálatban azonban némileg ellentétes eredményeket találtak. Rajpathak és mtsai nőkben pozitív összefüggést találtak az ischaemiás stroke-kal. Ugyanebben a vizsgálatban azonban a szérum adiponektin és leptin szint nem állt kapcsolatban a szélütéssel [19]. A korai biztató eredményekkel szemben inkább csak mérsékelten, de a leptin szint is összefüggést mutatott az új koronária betegség kialakulásával. A kapcsolat elsősorban az elhízás mértékén keresztül jelent meg [20]. Az adiponektin kardiovaszkuláris protektív hatásai szerteágazóak. Javítja az inzulin szenzitivitást, gátolja a zsírmáj kialakulását, ezen kívül vazodilatátor,

anti-apoptotikus, gyulladásgátló és antioxidatív hatásai is vannak. Alacsonyabb szintje elősegíti az endothel diszfunkció kialakulását, gyakoribb a hypertonia és a diabeteses kardiomyopathia kialakulása is. Ezen vaszkuláris hatások eredményeképp szintje negatívan korrelál a CIMT-vel is. A korai vizsgálatok egyértelmű összefüggést vetettek fel a kardiovaszkuláris betegségekkel is [21]. Egy korábbi meta-analízisben azonban már csak mérsékelt kapcsolatot találtak a koronária betegség és a szérum adiponektin szint között [22]. Egy újabb meta-analízis már csak az iszkémiás stroke-kal talált kapcsolatot [23]. Érdekes módon egy közel egy időben megjelent másik meta-analízis nem talált összefüggést az adiponektin szint és stroke között sem [24].

A gyakorlatban még kevés új biomarker meghatározását ajánlják. A 2010-es amerikai ajánlás a glikolizált hemoglobin mérését minden felnőtt esetében ésszerűnek tartja, a hypertoniás és/vagy diabeteses betegek esetében a mikroalbuminuria meghatározását is. A közepes kockázatú személy esetében – egyéni mérlegelés alapján – a CRP és a lipoprotein-asszociált foszfolipáz-A2 meghatározását is ésszerűnek véleményezte [25]. A troponinnal és nátriuretikus peptiddel kapcsolatos vizsgálatok azonban az állásfoglalás után zárultak le. Az V. Konszenzus Konferencia alapján a magyar ajánlás a súlyos kockázati tényezők közér sorolja 60 ml/min alatti GFR-t és a proteinuria bármilyen formáját. A globális kardiometabolikus kockázat becsléséhez az éhomi vércukorszint, az éhomi vagy étkezés utáni trigliceridszint és a húgysavszint mérését is javasolja. Ezen reziduális rizikófaktorok mellett kevésbé alátámasztott, illetve a klinikai gyakorlatban nehezen elérhető vizsgálatokat is felsorol a lábjegyzetben: HOMA, CRP, fibrinogén, plasminogén aktivátor inhibitor, homocisztein, illetve további négy lipoprotein frakciót is [26].

1.3 A fetuin-A koncentráció és az atherosclerosis kapcsolata

A fetuin-A az emlősökben megtalálható fetuin humán megfelelője. A molekulát egymástól függetlenül, közel egy időben mutatta ki Heremens és Schmid munkacsoportja [27, 28]. Schultze javaslatára a két kutató kezdőbetűi, illetve a molekula tulajdonságai alapján nevezték el α-2-HS-glikoproteinnek (α-2-Heremans-Schmid glikoprotein, AHSG) [29]. A közelmúltban felfedezett újabb emlős fetuin hatására a nomenklatúra megváltozott. Az α-2-HS-glikoprotein néve helyett a fetuin-A terjedt el, míg a később megismert molekulát a fetuin-B elnevezést kapta [30].

A fetuin-A koncentrációjának vizsgálata kardiovaszkuláris betegségekben az atherosclerosishoz vezető kórállapotokban betöltött szerepe alapján merül fel. Korai vizsgálatokban igazolták, hogy az inzulinreceptor autofoszforilációját gátolja. Újabban a máj és zsírszövet kóros anyagcsere folyamataiban betöltött szerepe került előtérbe. A glikoprotein azonban negatív akutfázis fehérje és a szöveti kalcifikációt is gátolja.

1.3.1 A fetuin-A emelkedett szintjének kapcsolata kardiovaszkuláris betegségekkel

1.3.2 Inzulin receptor gátlás és szénhidrátanyagcsere-zavarok

Jelen tudásunk szerint az inzulinreceptorhoz extracelluláris részéhez két molekula kötődhet: az inzulin, amely serkenti működését, míg a fetuin-A gátolja a receptor működését. A fetuin-A patkány májsejtekben termelt homológjáról (pp63) 1989-ben igazolták, hogy gátolja az inzulin receptor tirozin kináz aktivitását [31]. Más fajokban is igazolható volt hasonló szerepe a fetuin-A homológjainak [32, 33]. Később igazolást nyert hasonló szerepe az emberben is. Kimutatták, hogy gátolja mind az inzulinreceptor, mind az inzulinreceptor-szubsztrát 1 foszforilációját [34]. A gátlás nem az inzulin kötődésének blokkolásával történik, és élettani koncentráció is elégséges kialakulásához [35, 36]. Az inzulinreceptor β-alegységéhez kötést követően a fetuin-A a mitogén hatások gátlásán túl, az AKT1/2 útvonalat és a GLUT4 transzportert érintő metabolikus hatásokat is gátolja [37]. A fetuin-A knockout egerekben kifejezettebb volt az inzulin receptor foszforilációja, és az életkor előrehaladtával is kevésbé alakult ki elhízás és inzulinrezisztencia, mint a vad törzsben [38, 39]. A fetuin-A hatására kialakuló inzulinrezisztenciát tovább fokozhatja, hogy magas glükóz koncentráció hatására expressziója fokozódik, ami szerepet játszhat a glükóz toxicitásban is [40].

Szénhidrátanyagcsere-zavarokban betöltött szerepe a fetuin-A inzulinreceptor-gátló funkciója alapján merült fel. Fetuin-A knockout egerekben az inzulin szenzitivitás jelentősen javult, túltáplálás és az öregedést kísérő elhízás kapcsán is [38, 39]. Egerekben az endoplazmatikus retikulum stressz gátlószerével a fetuin-A expresszió csökkenthető volt és javult az inzulinrezisztencia is [41].

A májban kumulálódó zsír mennyiségével és az ezt kísérő egyre magasabb fetuin-A szintekkel párhuzamosan csökkent az inzulin érzékenység is [42]. Az inzulin-rezisztencia kialakításában játszott szerepe mellett szól, hogy IFG-ben, ahol inkább a β-

sejt diszfunkció dominál, szintje nem változik, míg IGT-ben és újonnan diagnosztizált diabetesben emelkedett koncentrációt írtak le [42-44].

A fetuin-A szintek a súlyosabb prediabetes kategóriákban egyre magasabbak voltak (normál – IFG – IGT – IFG+IGT) [45].

Nagy esetszámú kohorsz vizsgálatban nem diabeteszesekben és diabetesesekben is leírták a molekula szérumszintjének korrelációját az inzulin rezisztenciával [46]. Több vizsgálat megerősítette a fenti összefüggést nem diabeteses betegekben [47-49]. Diabetes fennállásakor azonban a kapcsolat hiányát is megfigyelték [50]. Az elhízáshoz hasonlóan az inzulinrezisztencia kialakulásának kezdeti szakaszában lehet jelentősége az emelkedett fetuin-A szintnek, a későbbi fázisokban, illetve már kialakult diabetesben hatása valószínűleg kisebb [51].

Egy keresztmetszeti vizsgálatban a magasabb fetuin-A szintű páciensek körében gyakoribb volt a diabetes előfordulása [46], illetve pozitív korrelációt mutatott a $HbA1_C$ szinttel is [52]. Az új diabetes és az emelkedett fetuin-A koncentráció közötti összefüggést prospektív, nagy esetszámú vizsgálatok is alátámasztották. Először Stefan és mtsai írták le, hogy az emelkedett fetuin-A szint a új diabetes kialakulásának (mérsékelten) fokozott kockázatával jár [53]. Ix és mtsai 6 éves követéses vizsgálatukba több mint háromezer idős beteget vontak be. Eredményeik alapján az emelkedett fetuin-A szint magasabb diabetes incidenciával társult a követés során [54], ezt mások is megerősítettek [52]. Jensen és munkatársai azonban az egyes polimorfizmusokhoz társuló magasabb fetuin-A értékek és az új diabetes között nem találtak összefüggést [55].

1.3.3 A fetuin-A eltérései az atherosclerosishoz fokozott kockázatával társuló állapotokban

Az obezitás számos anyagcsere betegség fontos kockázati tényezője. Az elhízást gyakran kísérő inzulinrezisztencia, a szabad zsírsavak emelkedett szintje, a zsírmáj kialakulása mind a fetuin-A szint emelkedés rizikófaktora, így az obezitás és a fetuin-A szint között pozitív összefüggés várható.

Először állatkísérletben írták le, hogy diétával előidézett elhízás hatására fokozódik a fetuin-A expressziója [56]. Fetuin-A knockout egerek védettnek bizonyultak az elhízással szemben, mind túltáplálás, mind öregedés esetén [38, 39].

Nagy esetszámú kohorsz vizsgálatokban a magasabb fetuin-A értékhez gyakrabban társult viszcerális obezitás [54], illetve a BMI-vel korrelált [57, 58]. Egy 5 éves prospektív megfigyeléses vizsgálatban az induláskor magasabb fetuin-A szinttel bíró páciensek viszcerális zsírszövete növekedett, szemben az alacsony szintű betegek csökkenő értékeivel [59].

Thakkinstian és mtsai magasabb fetuin-A szintet eredményező és elhízáshoz vezető polimorfizmusok egymásra hatását vizsgálták. Eredményeik alapján a magas fetuin-A szint vezet elsősorban obezitáshoz, és nem az elhízás eredménye a magasabb fetuin-A szint [60].

Jelentősen obez betegek (átlag BMI > 45 kg/m^2) fetuin-A szintje magasabb volt a kontroll személyekénél. A gyomor-bypass műtét hatására a fetuin-A szint szignifikánsan csökkent [61]. A kevésbé radikális életmód terápiával elért testsúlycsökkenés is a fetuin-A szint csökkenését eredményezte mind gyermekekben [62], mind felnőttekben [42]. Az egészséges életmód nem csak testsúlycsökkentés révén korrelált a fetuin-A szinttel: fiatalokban és idősekben is az aktív életmódhoz alacsonyabb fetuin-A szint társult [63]. A fetuin-A különösen az elhízás kezdeti szakaszában játszhat fontos szerepet. Erdmann és mtsai az obezitás széles skáláján vizsgálták a fetuin-A hatását [51]. A normál testsúlyúak és a túlsúlyosak között jelentős különbség volt a fetuin-A szintben, további testsúlynövekedés esetén azonban a fetuin-A szint már nem emelkedett. Az inzulinrezisztencia mértéke a testsúly növekedésével párhuzamosan emelkedett, azonban a fetuin-A szinttel csak a túlsúlyos kategóriáig korrelált. A fentiek alapján valószínű, hogy a fetuin-A az obezitás kialakulásában és az inzulinrezisztencia kezdeti szakaszában játszik szerepet, a további súlygyarapodás során hatása már nem jelentős.

Az elhízás gyakran vezet zsír lerakódásához a májban, és a nem alkoholos zsírmáj kialakulásához. A NAFLD kialakulását a máj metabolizmusának változása kíséri, mely fontos szerepet játszik a kialakuló zsír- és szénhidrátanyagcsere-zavarban.

A májban kumulálódó zsír a fetuin-A emelkedett szintjével társult [42], a két változó egymással korrelált [45, 64]. Ez az összefüggés megmaradt az egyébként alacsony fetuin-A szinttel járó krónikus veseelégtelenségben is [65]. Kis esetszámú, a NAFLD-t ultrahanggal igazoló vizsgálatban, gyermekekben magasabb fetuin-A szintet találtak

[62]. Biopsziával igazolt NAFLD-ben szenvedő felnőttekben is hasonló eredményt közöltek [66].

Nagyobb esetszámú vizsgálatukban Haukeland és mtsai a fenti összefüggést a BMI-től függetlenül is valósnak találták [67]. Ou és mtsai NAFLD-ben szenvedő diabetesesekben írták le a korrelációt, és a fetuin-A fokozott expressziójának hátterében az endoplazmatikus retikulum stresszt igazolták [41]. Testsúlycsökkenés hatására ellentétes irányban is fennállt az összefüggés: kalóriamegszorítás hatására a máj zsírtartalma csökkent, és ezt fetuin-A expressziójának és szérum szintjének csökkenése kísérte [68].

A fetuin-A génje a 3q27-es kromoszóma lókuszon helyezkedik el [69], melyen nem csak a diabetesre [70], de a metabolikus szindrómára hajlamosító gének is találhatók [71]. Koronáriabetegek körében a szérum fetuin-A korrelált a metabolikus szindróma meglétével és az atherogén lipid profillal [57]. Fiatalokat és középkorúakat [49], valamint idősebbeket bevonó [48], nagy esetszámú vizsgálatokban is fennállt a korreláció mind a metabolikus szindrómával, mind annak egyes komponenseivel. Az összefüggés gyermekekben is igazolható volt [62].

1.3.4 Sejtszintű eltérések a kóros anyagcsere állapotokban

Az adiponektin az inzulinrezisztencia mellett a zsíranyagcserében, a máj szteatózisában is fontos szerepet játszó adipokin (2. ábra). A fetuin-A és az adiponektin közötti összefüggés indirekt összefüggések alapján merült fel. Mindkét molekula génje a 3q27 területen található [47, 69]. Hatásuk sok esetben ellentétes irányú: a magas fetuin-A szint pozitív összefüggést mutat a BMI-vel és a triglicerid szintjével [50], míg az adiponektin esetében fordított a kapcsolat [72]. Pioglitazon alkalmazása során a fetuin-A szintje csökken [73], az adiponektin szintje emelkedik [74]. Fetuin-A kezelés hatására mind egerekben, mind humán adipocitákban csökkent az adiponektin expressziója [75]. Más citokinek expressziója nem változott, így ez a hatás specifikusnak tekinthető és valószínűleg a PPAR-γ expressziójának gátlása játszik szerepet benne [76].

Nem csak a fetuin-A gátolja az adiponektin expresszióját. Az adiponektin a májsejtekben fokozza az AMPK aktivitását, ami a NF-κB aktiválódásán keresztül csökkenti a fetuin-A expresszióját [77].

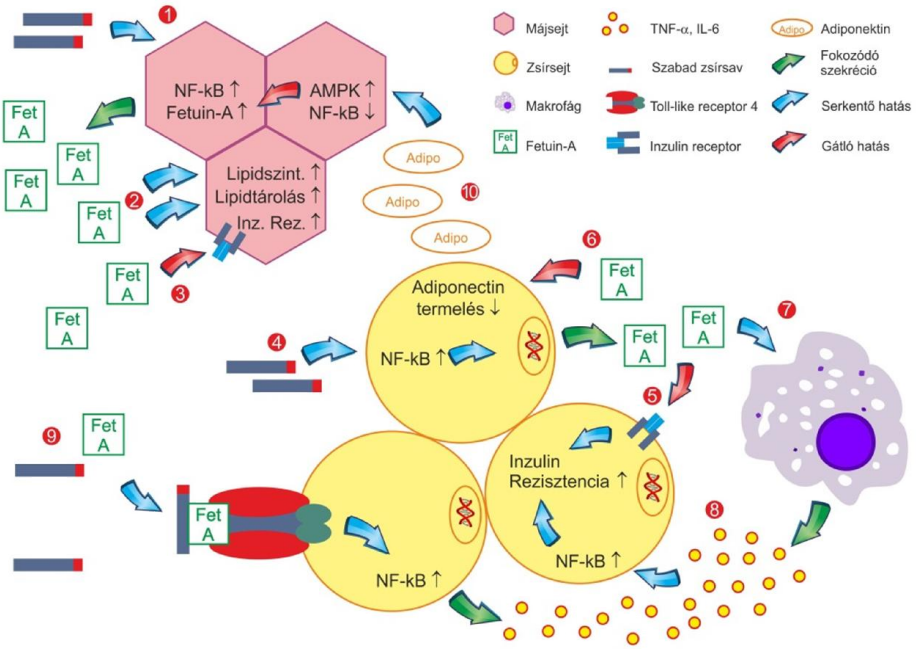
Humán vizsgálatokban a két molekula szérum koncentrációja között negatív korreláció állt fenn magas diabetes rizikójú egészségesekben [75] és stabil koronária betegek esetében is [78]. Az összefüggés fontossága miatt a kapcsolat további vizsgálata hasznosnak tűnik az atherosclerosis minél szélesebb spektrumán.

Fetuin-A adásakor in vitro csökkent az adipociták zsírfelvétele és tárolása, a PPAR-γ transzkripció és az adiponektin termelés is, ellenben az IL-6 és a TNF-α expressziója megnőtt. Ezen hatások eredményeképpen fokozódott a zsírsejtek inzulin rezisztenciája [76]. A csökkenő adiponektin szint elősegíti a máj elzsírosodását, illetve gátolja a szabad zsírsavak tárolását és oxidációját [79]. A szabad zsírsavak in vitro adásakor megnő a májsejtek fetuin-A termelése [76]. A fetuin-A a májban aktiválja az mTOR kinázt, ami fokozza a SREB-1c transzkripciós faktor termelődését. A SREB-1c hatására a máj zsírtermelését és tárolását fokozó gének íródnak át [77]. Mivel a szabad zsírsavak magas szintje mellett a máj steatosisa is fokozza a fetuin-A termelődését [42], circulus vitiosus alakulhat ki emelkedő fetuin-A és csökkenő adiponektin szinttel.

A pioglitazon csökkenti a szabad zsírsavak szintjét, ami szintén szerepet játszhat abban, hogy csökkenti a feutin-A szintet [73].

A fetuin-A tehát az inzulinreceptor gátlásán túl is szerepet játszik az inzulinrezisztencia kialakításában. A zsírsejtekben kifejtett hatásának más aspektusát elemezték Pal és mtsai [80]. Emberi zsírsejtekben és egerekben kutatták, hogy a palmitát milyen módon okoz inzulinrezisztenciát az adipocytákban. Eredményeik alapján a szabad zsírsavak a fetuin-A-hoz nagy affinitással kapcsolódnak. A létrejött fetuin-A - szabad zsírsav komplex az adipocyták 4-es toll-like receptorához kapcsolódik. A TLR4 aktiválódás hatására létrejön a gyulladásos citokinek termelődése az adipocytákban, mely az inzulinrezisztencia kialakulásához vezet.

A zsírszövetben kialakuló gyulladásos állapot kialakulásában a fentieken túl is szerepet játszhat a fetuin-A. A szabad zsírsavak hatására a molekula expressziója nem csak a májban, hanem a zsírsejtekben is fokozódik. A lokálisan termelődött fetuin-A fokozza a makrofágok migrációját a zsírszövetbe és elősegíti M1 fenotípusú, pro-inflammatórikus sejtekké történő polarizációjukat [81].



2. ábra A fetuin-A szerepe és interakciói a máj és zsírszövet anyagcsere-folyamataiban. ①A szabad zsírsavak hatására, a NF-κB transzkripciós faktor aktivitásának növelés útján, a májsejtek fetuin-A szintézise fokozódik. ② A termelődött fetuin-A hatására a májsejtekben fokozódik az mTOR protein kináz aktivitása, melynek következtében a SREB-1c transzkripciós faktor aktivitása növekszik. A fokozódó SREB-1c aktivitás hatására a lipidtároláshoz és de novo lipidszintézishez szükséges gének átíródása fokozódik, a májsejtekben megnő a tárolt és termelt zsír mennyisége. ③ A fetuin-A gátolja az inzulinreceptor működését, a májban inzulinrezisztenciát okozva. ④ A szabad zsírsavak a zsírsejtekben a NF-κB aktivitásának fokozásával növelik a fetuin-A termelődését. ⑤ A termelődött fetuin-A gátolja a zsírsejtek inzulinreceptorát és a sejtek inzulinrezisztenciájának fokozódását okozza. ⑥ A fetuin-A a zsírsejtekben az adiponektin termelődését csökkenti. ⑦ A termelődő fetuin-A a makrofágok zsírszövetbe vándorlását és gyulladásos M2 típus irányába történő polarizációját fokozza. ⑧ Az aktív makrofágok által termelt gyulladásos citokinek rontják a zsírsejtetek inzulinérzékenységét. ⑨ A szabad zsírsavak a fetuin-A felszíneihez kötődnek. A kialakult szabad zsírsav – fetuin-A komplexet a zsírsejtek TLR-4 receptora megköti. Az aktiválódott receptor hatására a zsírsejtekben is fokozódik a gyulladásos citokinek expressziója. ⑩ Az adiponektin gátolja a SREB-1c transzkripciós faktor aktivitását, így csökkenti a májban kumulálódó zsír mennyiségét. Ezt a protektív hatást gátolja, hogy a fetuin-A hatására a zsírsejtekben kevesebb adiponektin termelődik. Forrás: Vörös et al. 2014. [82]

Az in vitro eredményekből kiindulva Stefan és mtsai 347 CVD-re és T2DM-ra nagy rizikójú szemény adatait elemezték [83]. A FFA-k és a fetuin-A között erős interakciót igazoltak. Az inzulin rezisztenciával csak akkor mutattak összefüggést ezek a paraméterek, ha mindkét molekula szintje magas volt. Kifejezett inzulinrezisztencia csak a medián feletti fetuin-A és FFA szintű betegekben volt megfigyelhető.

1.3.5 A fetuin-A alacsony koncentrációjához vezető lehetséges mechanizmusok atherosclerosisban

Az atherosclerosis kialakulásában a gyulladásos folyamatok fontos szerepet játszanak. A szív- és érrendszeri betegségeket szubklinikus gyulladás kíséri [84]. Az akutfázis

fehérjék termelődése fokozódik, a negatív akutfázis fehérjék expressziója azonban csökken.

A fetuin-A a negatív akutfázis fehérjék közé tartozik. Gyulladás, szövetkárosodás során megemelkedő inflammatorikus citokinek hatására expressziója csökken [85, 86], interleukin-6 adása hepatocitákban nyolcadára csökkenti a fetuin-A expresszióját [37]. Súlyos gyulladásban, szepszisben védő, gyulladáscsökkentő hatású [87, 88]. Valószínűleg ilyen mechanizmussal van protektív szerepe ischaemiás stroke-ban is [89]. In vitro kísérletekben, zsírsejtekben azonban a fetuin-A adása citokin expressziót indukál [75, 76]. Nagy esetszámú, keresztmetszeti vizsgálatban a pozitív összefüggést írtak le a CRP-vel [49]. Ebben a vizsgálatban a metabolikus szindróma komponenseivel és az inzulinrezisztenciával is korrelált a fetuin-A szérumszintje. A pozitív összefüggés nem feltétlenül oki kapcsolat, a rosszabb metabolikus állapotot kísérő szubklinikus gyulladás együttes előfordulása is állhat.

Az atherosclerosist kísérő szubklinikus gyulladás elvileg a fetuin-A csökkent koncentrációjához is vezethetne a szív- és érrendszeri betegségekben.

A fetuin-A kapcsolatát gyulladásos citokinekkel és ennek súlyát a metabolikus hatásokhoz képest korábban nem vizsgálták szív-érrendszeri betegekben.

A fetuin-A fontos tulajdonsága az extraosszeális kalcifikációt gátló hatása – alacsony szintje mellett az erek kalcifikációja is felgyorsulhat. Ebben az esetben a glikoprotein és az érelmeszesedés között negatív összefüggést várnánk.

A fetuin-A-ról régóta ismert, hogy a mineralizált szövetekben, elsősorban a csontban halmozódik fel. A csontszövet nem kollagén fehérjéi közül a legnagyobb koncentrációban fordul elő [90, 91]. In vitro kísérletekben a fetuin-A gátolta a kalciumfoszfát precipitációját [92]. A fetuin-A knockout egerekben igazolták, hogy a glikoprotein gátolja a kalcifikációt, ezért kiemelkedő szerepet játszik az ásványi anyagcserében [74, 93]. A szérumban fehérje-ásvány komplex képzésében és stabilizálásában is résztvesz. A fetuin-A-t és albumint tartalmazó kálcium-protein részecskék (calciprotein particle – CPP, vagy fetuin-mineral complex – FMC) megakadályozzák a túltelítődő szérumban a kristályosodás folyamatát [93, 94]. A fetuin-kalcium komplexeket a máj Kupfer-sejtjei felveszik scavanger-A receptoruk segítségével [95]. A CPP-k a szérum hidroxyapatithoz képes sokkal kevésbé aktiválják a makrofágokat és váltanak ki gyulladást, így ezek a partikulumok védenek a

kalcifikáció gyulladást kiváltó hatásától [96]. A partikulumok hatására nő a makrofágok scavanger receptor expressziója, így eliminálásuk hatékonyabbá válik [96]. A CPP-k meglétét emberben is többen igazolták [97, 98]. A csökkent szérum fetuin-A szint a kalciprotein partikulumok elégtelen eltávolítását és így az ektópiás kalcifikáció kialakulását eredményezi. Másrészről a fokozott kalcifikációval járó állapotokban a fetuin-A „felhasználódik", illetve a makrofágok eltávolítják, így alacsony szintje a kalcifikációs stresszt is jelezheti. Utóbbi mellett szól, hogy mind krónikus gyulladásos betegségekben, mind előrehaladott vesebetegségekben igazolható volt szintjének csökkenése [99].

A krónikus veseelégtelenséget fokozott kalcifikáció és akcelerált atherosclrosis jellemzi, így a fetuin-A kalcifikációt gátló hatása jól vizsgálható ebben a betegségben.

Az akcelerált atherosclerosis részben azért alakul ki, mert a vesekárosodáshoz vezető betegségek gyakran önmagukban is atherogének. Másrészt a kialakult veseelégtelenség fokozott kalcifikációs stresszel jár. Ebben a betegségcsoportban egyértelműen a kalcifikáció fetuin-A-t csökkentő szerepe tűnik dominánsnak. KVE-ben szenvedő, dializált betegeket bevonó vizsgálatok döntő többségében alacsony fetuin-A szintet írtak le. Először Ketteler és mtsai közölték, hogy dialízált betegek körében az alacsonyabb fetuin-A szint korrelál a kardiovaszkuláris mortalitással [100]. Később ezen eredményeket megerősítették [101], a molekula prediktív szerepét is leírták [102]. Hasonló összefüggést írtak le az összmortalitás vonatkozásában is végstádiumú vesebetegekben [103]. A KVE enyhébb formáiban azonban nincs ilyen egyértelmű összefüggés. III. és IV. stádiumú veseelégtelenségben szenvedő betegekben a fetuin-A szint nem korrelált a mortalitással [104]. Az eredmények értékelését némileg nehezíti, hogy a fetuin-A szintjét a dialízis is csökkenti [105].

1.3.6 Ellentmondásos eredmények az egyes kardiovaszkuláris betegségekben

1.3.6.1 A fetuin-A kapcsolata a szív- és érrendszeri betegségek indirekt markereivel

Az atherosclerosis szempontjából kockázatot jelentő érfali merevséggel pozitívan korrelált a fetuin-A szint egészséges egyénekben [106]. Az aortafal merevséggel negatív korrelációt is leírtak, bár az eredmények kérdésesek. A vizsgálatban csak férfiakat vontak be és – szokatlan módon – azt elemezték, hogy a PWV és az erek

tágulékonysága hogyan határozza meg a fetuin-A szintet – nem pedig fordítva [107]. Dogru és mtsai NAFLD-s betegekben pozitív korrelációt találtak az endothel diszfunkció markerével (aszimmetrikus dimetilarginin szint) és a carotis intima media vastagsággal is (CIMT) [108]. Az intima-media vastagság és a fetuin-A szint közötti pozitív korrelációt több vizsgálatban is leírták [109, 110].Középkorú hypertoniás betegekben a fenti adatoknak ellentmondva negatív korrelációt írtak le a CIMT és a fetuin-A között. Meglepő módon a soványabb kontroll személyeknek magasabb fetuin-A szintje volt [111].

Az artériák falának intimájában az életkor előrehaladtával és az atherogén betegségek hatására kalcifikáció alakul ki. Az intima kalcifikáció megléte általában már előrehaladottabb betegségre utal, a nagy erekben kialakult plakkok meszesednek el. A koronária kalcifikáció a kardiovaszkuláris események független prediktora [112].

Az erek kalcifikációjának gátlása során a fetuin-A – állatkísérletek alapján – az intima kalcifikációt gátolja elsősorban [113]. Mori és mtsai vizsgálatában nem csak a koronária kalcifikációval korrelált negatívan, de a háromér-betegségben szenvedők fetuin-A szintje is alacsonyabb volt [114]. Diabeteses betegekben is negatív korrelációt találtak a carotis és femoralis erek kalcifikált plakkjai és a fetuin-A szintek között [115]. Kis esetszámú keresztmetszeti vizsgálatokban ellentétes eredményt is leírtak diabeteses nephropathiában [116], illetve az összefüggés hiányát is normál vesefunkciójú [117] és diabeteses nephropathiás betegekben is [118]. Nagy esetszámú vizsgálatban sem volt összefüggés, bár a bevont betegek alacsony életkora miatt (átlag: 40 év) ez nem is meglepő [49].

Az ellentmondásos eredmények ellenére valószínű, hogy az érbetegségek közül csökkent szintje szoros kapcsolatot mutat az intima kalcifikációval. Emellett szól, hogy Ix és mtsai nagy esetszámú keresztmetszeti vizsgálatában a CAC-val úgy is negatívan korrelált, hogy a CIMT-tel és a perifériás érbetegség meglétével nem volt összefüggés [119]. Az alacsony fetuin-A azon betegekben is szorosan összefüggött a kalcifikációval, akikben az egyéb kardiovaszkuláris rizikófaktorok alacsony számban voltak megfigyelhetők. Eredményeiket követéses vizsgálatukban azonban nem sikerült alátámasztani [120]. A keresztmetszeti vizsgálatkor a bevont 2457 kardiovaszkuláris betegségtől mentes páciensben negatív korrelációt találtak ugyan a fetuin-A szint és a koronária kalcifikáció között, de a követés során a kalcifikáció progressziója nem

függött a kiindulási fetuin-A szinttől. Figyelembe kell azonban venni, hogy a követés csak 3,2 évig tartott, illetve a betegek a korábbi keresztmetszeti vizsgálattal szemben fiatalabbak voltak (átlag: 62 vs. 70 év).

1.3.6.2 A fetuin-A kapcsolata a perifériás érbetegséggel

A cukorbetegség, illetve egyéb metabolikus kórállapotok gyakori szövődménye a perifériás érbetegség, mely sokszor előrehaladott, több területen is megjelenő atherosclerosissal társul. A metabolikus zavarokkal általában magasabb fetuin-A szint társul, míg előrehaladott athersclerosisban a kiterjedt kalcifikáció alacsonyabb fetuin-A szinteket eredményez. Az eredmények ennek megfelelően ellentmondásosak.

Lorant és mtsai diabeteses és nem diabeteses PAD-os betegekben is magasabb fetuin-A szintet találtak [121]. Normál vesefunkciójú, kardiovaszkuláris betegségtől mentes diabetesesekben azonban a fetuin-A szint alacsonyabb volt PAD-os betegekben [122]. A szerzők a fetuin-A biomarker szerepét is felvetették, mások ezt hamar kétségbe vonták [123], a betegbeválasztás problémás volta miatt: Fiore és mtsai olyan PAD-os betegeket vontak be, akik más érbetegségtől mentesek voltak. A kritikusok szerint egy ilyen betegcsoport csak rendkívül szelektált lehet, mivel ritkaság, hogy PAD más érbetegség nélkül jelentkezzen.

Mérsékelten súlyos diabeteses nephropathiás betegekben is alacsonyabb volt a fetuin-A szint a 0,9 alatti boka-kar index esetén [124]. Munkacsoportunk vizsgálatában krónikus érbetegek körében a fetuin-A szint negatívan korrelált az ultrahangos kalcifikációs és az angiográfiás pontszámmal [125].

1.3.6.3 A fetuin-A kapcsolata akut kardiovaszkuláris eseményekkel

Akut szívinfarktusban a szérum lipid és glikoprotein frakciók elemzése kapcsán alacsony koncentrációját már régen leírták [126]. Egészségesek kontrollokhoz viszonyítva a stabil angina pectorisban szenvedő betegeknek mérsékelten, akut miokardiális infarktusban szenvedő betegeknek pedig kifejezetten csökkent volt a fetuin-A szintjük [127]. Kis esetszám mellett Matthews és mtsai a fetuin-A csökkenését írták le akut szívinfarktusban, mely eltérés az első hét során megszűnt [128]. Az alacsony fetuin-A érték az infarktus utáni 6 hónapos és 1 éves túlélés független prediktorának bizonyult [129, 130].

Akut ischaemiás stroke-ban azonban magasabb szintet írtak le [131]. A kis esetszámú keresztmetszeti vizsgálatból nem vonható le következtetés arra nézve, hogy az

emelkedett szint oka volt a stroke-nak, vagy védőfaktorként szerepelt. Utóbbi mellett szólna, hogy állatkísérletben a molekula neuroprotektív hatását figyelték meg [89].

1.3.6.4 A fetuin-A kapcsolata krónikus kardiovaszkuláris betegségekkel

Viszonylag kis esetszámú keresztmetszeti vizsgálatukban Bilgir és mtsai is alacsonyabb fetuin-A szintet írtak le stabil angina pectorisban [127]. Fisher és mtsai az EPIC Potsdam kutatás részeként prospektív vizsgálatban elemezték, hogy a fetuin-A egyes polimorfizmusaihoz társuló emelkedett szint, milyen összefüggést mutat a szívinfarktus kialakulásával. Eredményei alapján a fetuin-A szintjének egy szórásnyi emelkedése a miokardiális infarktus kockázatát 1,54-szeresére emelte az átlagosan 56 éves populációban [132]. Weikert és mtsai a polimorfizmusoktól függetlenül is több mint háromszor infarktus rizikót találtak a legmagasabb fetuin-A kvintilisbe tartozó betegek körében a legalacsonyabb kvintilishez képest [133]. Vizsgálatukban 395 infarktust vagy stroke-ot túlélt beteg adatait vetették össze 2198 kontroll személy adataival az EPIC Potsdam kutatás részeként. A vizsgálatban a szívinfarktus mellett az ischaemiás stroke rizikója is több mint háromszor magasabb volt a legmagasabb fetuin-A kvintilisbe tartozó betegek körében a legalacsonyabb kvintilishez képest [133].

1.4 A ghrelin szint megítélése infarktust kiállott betegekben

A ghrelin a gyomor nyálkahártyájában termelődő peptid, mely a növekedési hormon termelődését serkentő receptor endogén ligandja. Az energia-egyensúly szabályozásán túl az inzulin – szénhidrát anyagcsere modulálásában is szerepet játszik [134]. Kardiovaszkuláris protektív hatásait elsősorban in vitro és állatkísérletekből ismerjük [135]. A ghrelin hatására az artériák vazodilatációja alakul ki. A csökkenő artériás tónus hatására mérséklődik a vérnyomás, csökken az afterload és így a szívműködés is hatékonyabbá válik. Közvetlenül a szívizomsejtekre is védő hatása van: enyhíti a miokardium szövetében az intersticiális fibrózist és védi a kardiomiocitákat az apoptózistól. Csökkenti a kamrai arritmiák előfordulásának valószínűségét. A szimpatikus idegrendszer aktivitásának mérséklése alacsonyabb pulzusszámot, csökkent értónust és alacsonyabb noradrenalin szintet eredményez [136]. A fentieknek ellentmondva állatkísérletben fiziológiás koncentráció esetén is vasokonstriktív hatását közölték a koronária artériákon [137].

A szérum ghrelin szint és az atherosclerosis kapcsolatát elemző humán vizsgálatok eredményei ellentétesek. Diabeteses betegekben a ghrelin szint negatívan korrelált a carotis intima-média vastagsággal, és szintje alacsonyabb volt az atherosclerosisban szenvedő diabetesesekben a kontroll személyekhez képest [138]. Hasonló összefüggést nem cukorbeteg, idős hipertóniás [139] és metabolikus szindrómás betegekben is közöltek [140]. Akut koronária szindrómában szintje alacsonyabb volt koszorúér betegekhez képest [141]. A fenti eredményekkel azonban ellentétes közlemények is születtek. Pöykkö és mtsai 1024 negyven és hatvan év közötti betegben elemezték a CIMT valamint a carotis plakkok számának összefüggését a szérum ghrelin szinttel [142]. Eredményeik alapján a ghrelin szint pozitívan korrelált a carotis atherosclerosis mértékével a többváltozós analízisben is – de csak férfiak esetében. A férfiak és a nők szérum ghrelin szintje nem különbözött egymástól. Az eltérést a szerzők a férfiak esetén előrehaladottabb formában fennálló atherosclerosissal magyarázták. Hasonlóan nagy esetszámú vizsgálatban a pozitív korreláció a szérum ghrelin és a carotis atherosclerosis között csak alacsony IGF-I szint esetén volt igazolható [143].

A 2-es típusú diabetes és a kardiovaszkuláris betegségek között szoros összefüggés áll fenn [144]. A ghrelin hatásait és eltéréseit szénhidrátanyagcsere-zavarokban számos vizsgálatban elemezték. Az acilált ghrelinről kimutatták, hogy gátolja az inzulin szekréciót, így emelkedett szintje a szénhidrát-anyagcsere romlását okozhatná [145]. Ezt azonban megkérdőjelezi, hogy diabeteses betegekben csökkent ghrelin koncentrációt figyeltek meg [146].

A ghrelin és más adipokinekkel, citokinekkel közötti kapcsolatról kevés adat áll rendelkezésre, bár az adiponektin és a leptin szint összefüggéseiről születtek közlemények [143, 147-150]. Atherosclerotikus betegekben ezen összefüggéseket azonban még nem tanulmányozták.

A szénhidrát- és lipidanyagcsere zavarokon túl az atherosclerosis patogenezisében a szubklinikus gyulladás is fontos szerepet játszik [84]. Gyulladásos betegségekben a ghrelin szintje emelkedett. Kapcsolatát a TNF-α-val in vitro és állatkísérletben is elemezték [151, 152]. A két molekula kapcsolatát atherosclerosisban szenvedő betegekben azonban még nem vizsgálták.

1.5 Az adipokinek kombinált alkalmazása kardiovaszkuláris betegségekben

Az új biomarkerek prediktív szerepe egyelőre ellentmondásos, de úgy tűnik, keveset adnak hozzá a hagyományos kockázatbecsléshez [153]. Nem szabad szem elől téveszteni, hogy a rizikóbecslés akár kismértékű pontosítása – a kardiovaszkuláris betegségek magas előfordulási aránya miatt – jelentős nyereséggel jár. Egyes új biomarkerekkel elért szerény rizikópontosítás is hasznos lehet emiatt. A legmarkánsabb tradicionális rizikófaktorok és egyes újabb kockázati tényezők ráadásul nem (életkor, nem, pozitív családi anamnézis) vagy csak nehezen befolyásolhatók (szociális helyzet). A potenciálisan kezelhető eltérések megismerése, az atherosclerosis alaposabb ismerete új kezelési módok előtt is megnyithatja az utat.

Az újabb biomarkerek szerepe azonban nem merül ki ennyiben. Tudományos szempontból kutatásuk segíti a szív és érrendszeri betegségek kialakulásának, progressziójának jobb megértését. Az egyes molekulákkal elért mérsékelt eredmények a biomarkerek kombinációinak elemezésére ösztönöznek, a markánsabb eltérések, a jobb prediktív érték reményében. Az általunk is vizsgált molekulák közül leggyakrabban a leptin/adiponektin arányt vizsgálták. A hányados hasznosnak bizonyult a kardiovaszkuláris betegségek egyes rizikótényezőinek azonosításában, elősegítette a metabolikus szindróma [154, 155], illetve az inzulinrezisztencia felismerését [156]. Egyes kardiovaszkuláris betegségekben is eltérést mutatott [157] és a CIMT-gal is független, pozitív kapcsolatot igazoltak [158]. A gyakran akcelerált atherosclerosissal járó dialízisben a mortalitás független prediktorának bizonyult [159]. Kapelle és mtsai 103, első kardiovaszkuláris eseményen áteső páciens adatait vetették össze kontroll személyekével. Az egyéb rizikófaktorokra igazított modellben sem a leptin, sem az adiponektin szint nem mutatott szignifikáns kapcsolatot az új kardiovaszkuláris eseménnyel, a hányadosuk azonban megőrizte prediktív értékét [160].

Több adipokin és más citokin kombinált elemzésekor hasznosabbnak tűnik olyan molekulákat választani, melyek az atherosclerosis különböző aspektusait jellemzik, így egymással nem korrelálnak, egymástól függetlenek.

1.6 A fetuin-A szerepe májbetegségekben

A fetuin-A szérum szintjének mérése májbetegségekben több okból is hasznos. Egyrészt a májban termelődő glikoproteinként a májfunkció követését segíti. Másrészt a májbetegségek jelentős részét eltérő mértékű gyulladás kíséri. A fetuin-A negatív akutfázis fehérje jellege alkalmazását a diagnosztikában még hatékonyabbá teheti. Májbetegségekben betöltött szerepéről korlátozottan állnak rendelkezésre adatok. Munkacsoportunk korábban csökkent fetuin-A szintet talált akut gyógyszer kiváltotta és krónikus autoimmun hepatitisben [161], primer biliaris cirrhosisban [162], valamint hepatocelluláris karcinómában [163]. A fetuin-A szerepének jobb megismerése segítheti eredményes alkalmazását – a hazánkban különösen gyakori – májbetegségek diagnosztizálásában, kezelésében.

1.6.1 A fetuin-A a mortalitás lehetséges prediktora alkoholos májbetegségben

Az alkohol a legelterjedtebb élvezeti szerek közé tartozik, és egyben a harmadik leggyakoribb megelőzhető egészségkárosodást okozó tényező a dohányzás és a hypertonia után [164]. Az Európai Unióban 29 millióan szenvednek májbetegségben, a nem alkoholos zsírmáj és az alkoholos májbetegség rendkívül gyakori kórkép [165]. Az alkoholos májbetegség spektruma a máj steatózisától, a steatohepatitisen keresztül, a máj fibrosisáig és a májcirrhosisig terjed. A májzsugor gyakori szövődménye primer hepatocelluláris karcinóma.

A májcirrhosis legfontosabb kockázati tényezője az alkoholfogyasztás [166]. Az alkoholos májcirrhosis kialakulásához körülbelül 5 éven keresztül kell férfiaknak napi 50 g, nőknek napi 30 g alkoholt fogyasztani [167]. Nagyobb mennyiség esetén a májzsugor kockázata exponenciálisan emelkedik.

A májcirrhosis Európában a halálozás 1,8%-ért felelős [168], incidenciája Kelet-Európában a legmagasabb [165]. A magyarországi helyzet még Európán belül is rossznak számít. A WHO 2010-es adatai alapján 2005-ben Magyarországon volt a legmagasabb az alkohol okozta májbetegségek miatti halálozás [169]. A májcirrhosis miatti halálozásban is listavezetők vagyunk, bár a mortalitás a 90-es évekhez képest csökkent [168]. Hazánkban azonban az alkoholbetegek száma így is rendkívül magas, 800,000 – 1,000,000 főre tehető [170].

A nagy mennyiségű szeszesital fogyasztás következményeképp a májban fokozódik a lipogenezis és csökken a lipidlebontás. A kumulálódó zsír hatására az alkoholbetegek 90%-ban máj steatózisa alakul ki, melyhez esetenként heveny gyulladás (alkoholos akut heptatitis) kapcsolódik. A májsejtek pusztulását fibrózis és a máj csillagsejtjeinek myofibroblasztokká történő átalakulása kíséri [171]. A zsírmájban szenvedő betegek 20-40%-ában alakul ki fibrózis, és közülük 8-20%-nál alakul ki végül cirrhosis [172].

A korai, még a reverzibilis fázisban történő kezelés segíthet megelőzni a cirrhosis kialakulását. A szűrést nehézségét jelzi, hogy a rutin klinikai vizsgálat során még zsírmájban szenvedő betegekben sem derült fény sokszor a kóros mennyiségű alkoholfogyasztásra [173].

A már kialakult cirrhosis esetében a kezelési lehetőségek korlátozottak. A májzsugor kezelésének sarokköve az absztinencia, melynek hiányában a mortalitás magas marad [174]. A kóros alkoholfogyasztás és hepatitis együttes fennállása esetén a májzsugor kockázata gyorsan emelkedik, így a HBV vakcináció, és a HCV transzmisszió csökkentése, a felismert esetek kezelése is kívánatos. Hasonló a helyzet a NAFLD esetében is, így az obezitás, diabetes, zsírmáj szűrése és kezelése is fontos szempont a májzsugor prevencióban, csakúgy, mint a dohányzás abbahagyása [171].

Súlyos májzsugor esetén a korlátozott hatékonyságú gyógyszeres kezelésnél eredményesebb a májtranszplantáció.

1.6.1.1 Májtranszplantáció alkoholos májbetegségben

Európában évente 5500 májtranszplantációt hajtanak végre [175], a szélesebb körű elterjedését elsősorban a donorok hiánya akadályozza [176]. A transzplantáció eredményei mostanra jelentősen javultak: az 1 éves túlélés 90% fölé emelkedett, elsősorban a sebészeti technikák, a betegbeválasztás és az utógondozás fejlődése miatt [177]. A májtranszplantáció feltétlenül javasolt azoknak a végstádiumú májbetegeknek, akik 1 éves túlélési esélye 10% alá csökkent [175]. Az alkoholos etiológia a transzplantáció gyakori oka, Európában a műtétek 40%-a ilyen hátterű [177]. Korai eredményei kedvezőbbek, mint a más okból végrehajtott átültetések esetében [175]. Az ötéves túlélés 73-86% közötti [178], és a betegek közül sokaknak javul az életminősége, hangulata, kognitív funkciója, ami az aktív életvitelt is lehetővé teszi [179].

Az alkoholos májbetegség hatékony gyógyítását tehát az időben elért absztinencia, illetve rossz prognózis esetén a májtranszplantáció jelenti. A szervátültetésre alkalmas,

várhatóan egy éven belül elhalálozó betegek megtalálását segítik a különböző pontrendszerek. A fetuin-A, mint a májfunkció pontos indikátora a túlélés előrejelzésében és így a transzplantációra besorolandó betegek kiválasztásában lehet hasznos.

1.6.1.2 Prediktív modellek májbetegségben

A májbetegek túlélését leíró pontrendszereket a prognózis megítélésére, a betegek műthetőségének elbírálása céljából hozták létre. Alkalmazásuk a transzplantációk során csak a későbbiekben terjedt el.

A Child-Pugh pontrendszert 1964-ben alkották meg, majd 1972-ben alakult ki mai verziója [180] (1. táblázat).

1. táblázat A Child-Pugh pontrendszer

Paraméter	1 pont	2 pont	3 pont	Mértékegység
Bilirubin (totál)	<34	34-50 (2-3)	>50 (>3)	µmol/l
Szérum albumin	>35	28-35	<28	g/L
INR	<1,7	1,71-2,20	> 2,20	-
Ascites	Nincs	Kezelés mellett nincs	Kezelés ellenére	-
Hepatikus encephalopathia	Nincs	Kezelés mellett nincs	Kezelés ellenére	-

A kapott pontszámok alapján a prognózis a következők szerint alakul (2. táblázat).

2. táblázat A Child-Pugh pontrendszer alapján történő besorolás és a túlélés kapcsolata

Pont	Besorolás	Egyéves túlélés	Kétéves túlélés
5-6	A	100%	85%
7-9	B	81%	57%
10-15	C	45%	35%

A MELD (Model for End-stage Liver Disease) score-t a Mayo klinikán dolgozták ki. A modell előnyei közé tartozik, hogy csak objektív paramétereket tartalmaz és nincsenek benne önkényes határértékek. A számítás regresszióval történik, az egyenlet folytonos változókat használ. A transzplantáció során általánosan elfogadott alkalmazása, mind az

USA-ban (United Network for Organ Sharing, UNOS), mind Európában (Eurotransplant). Kiszámítása a következők szerint történik [181]:

3,8 x ln szérum bilirubin [mg/dl] + 11,2 x ln INR + 9,6 x ln szérum kreatinin [mg/dl] + 6,4 [16].

SI mértékegységekben számolva: (0,957 x ln(Szérum kreatinin [μmol/L]) + 0,378 x ln(Szérum Bilirubin[μmol/L]) + 1,120 x ln(INR) + 0,643) x 10

A pontrendszer 12 éves kor felett alkalmazható. Maximálisan rossz állapot esetén 40 pont érhető el, 20 pont felett már a transzplantáció indokolt, a meredeken emelkedő, 3 hónapon belül várható halálozás miatt (3. táblázat).

3. táblázat MELD pontredszer és a halálozás összefüggése

MELD pontszám	Három hónapos halálozás
40	100%
30-39	83%
20-29	76%
10-19	27%
<10	4%

1.6.1.3 Sejtszintű történések alkoholos májbetegségben

Az alkoholfogyasztás hatására a májban számos kedvezőtlen változás indul meg. Az etanol hatására a hepatocitákban felhalmozódó NADH/NAD+ a zsírok katabolizmusának gátlását eredményezi. Emellett a SREB-1c expressziója fokozódik, míg a PPAR-α és az AMPK kifejeződése csökken. Ezen változások hatására a lipogenezis enzimeinek expressziója fokozódik, így a zsírlebontás gátlása mellett a lipidek de novo szintézise is fokozódik. Tovább rontja a helyzetet, hogy mind a zsírszövetből, mind a vékonybél felől szabad zsírsav és kilomikron áramlik a [182].

A nagy mennyiségű alkoholfogyasztás hatására a bélrendszerből endotoxinok jutnak a portális keringésbe. Itt a máj Kupfer sejtjeit CD14 és TLR-4 receptoron keresztül aktiválják. A Kupfer sejtek érzékenységét az endotoxinokkal szemben ráadásul az alkohol közvetlenül is fokozza. A gyulladásos környezet kialakulását a Kupfer sejtek által termelt TNF-α indítja el, de a csillagsejtek transzformációját elsősorban a TGF-β és a PDGF irányítja. Az átalakulást azonban egyes adipokinek, az oxidatív stressz, az

angiotenzinogén II, és a TNF-α hatására a májat infiltráló limfociták és granulocyták által termelt limfokinek, citokinek is segítik. A csillagsejteken fokozódik a PDGF-receptor expressziója és így a sejtek proliferációja indul meg. A miofibroblaszt-szerű csillagsejtek jelentős mennyiségben termelnek kollagént és más extracelluláris mátrix komponenseket, elsősorban a TGF-β hatására [183]. Kisebb sérülés esetén az átmeneti kötőszövet termelést – a károsító hatás megszűnésével – a miofibroblaszt-szerű sejtté aktiválódott csillagsejtek apoptózisa követi, így a gyógyulást követően visszaáll a májszövet természetes egyensúlya. Az aktivált csillagsejtek apoptózisának elmaradása a sejtek túléléséhez és aktivitásukhoz vezet, progresszív májfibrosist, cirrhosist okozva [184].

Az alkoholos májbetegséget a szerzett immunitás eltérési is kísérik. Az alkohol és bomlástermékei számos fehérjét módosítanak, melyek így immunogénné válnak és autoantitestek termelődését váltják ki. A kóros lipid peroxidáció esetében is hasonló folyamatok figyelhetők meg. Az etanol gátolja az NK sejtek működését is, melyek fontos szerepet játszanak a transzformálódó csillagsejtek elpusztításában. A gyulladást és szövetkárosodást kísérő oxidatív stressz hatására fokozódik a hepatociták pusztulása, illetve a TNF-α hatására apoptózisuk is fokozódik [185].

Az alkoholfogyasztás a zsírszövet anyagcseréjét is megváltoztatja. Etanol hatására a zsírsejtek adiponektin termelése csökken. Az alacsonyabb adiponektin szint miatt a molekula kedvező, gyulladásgátló hatásai is gyengülnek, így csökken a B-sejt proliferáció és a T-sejt aktiváció gátlása is. Az adiponektin gátolja a csillagsejtek aktivációját és proliferációját is. A párhuzamosan emelkedő leptin szint segíti a csillagsejtek túlélését, ezen kívül proinflammatórikus és angiogenetikus hatású [186, 187].

1.6.1.4 A fetuin-A hatásai májbetegségekben

Kalabay és mtsai csökkent fetuin-A szintet írtak le mind akut alkoholos hepatitisben, mind krónikus aktív hepatitisben [161]. Dai és mtsai krónikus HBV fertőzöttekben kialakuló akut hepatitisben vizsgálták a fetuin-A hatását [188]. A fetuin-A gátolja a betegek vérében a makrofágokból az TNF-α és IL-6 felszabadulását, így alacsonyabb szintje mellett a gyulladás súlyosabb lehet [188]. Akut virális hepatitisben leírtak változatlan szintet [163], fertőző májgyulladásban gyermekkorban emelkedett koncentrációt [189], illetve hepatitis C okozta májgyulladásban is emelkedett szintet

[161]. Ez utóbbi betegségben az akutfázis fehérjék koncentrációja paradox módon, a vártnál ellentétes irányba változott, sikeres α-interferon kezelés során a normális tartományba tért vissza.

Kalabay és mtsai primer biliáris cirrhosisban szenvedő betegekben vizsgálták a fetuin-A szintjét és összefüggéseit a májfunkció és a gyulladás markereivel [162]. A PBC-s betegek szérum fetuin-A szintje szignifikánsan alacsonyabb volt a kontroll személyekéhez képest. A betegség súlyosabb stádiumai rendre alacsonyabb glikoprotein szintekkel társultak. A fetuin-A szint korrelált az immunglobulin szintekkel, de C3 komplement és α2-makroglobulin szinttel nem. Szoros összefüggést figyeltek meg ellenben az ASAT, ALAT, ALP, szérum bilirubin és az albumin szinttel.

Alkoholos májcirrhosisos betegekben is hasonló összefüggést igazoltak. Bár a fetuin-A szint korrelált a negatív akutfázis fehérjeként is ismert traszferrin szinttel, más gyulladásos paraméterekkel (süllyedés, fehérvérsejtszám) azonban nem [163]. A májsejtek fehérjeszintetizáló képességét legpontosabban jelző albumin és protrombin szintekkel erős pozitív korrelációt figyeltek meg. Bár az albumin szint csökkenés az akutfázis során is megfigyelhető, a protrombinról ugyanez már nem mondható el. Összességében a szerzők következtetése alapján alkoholos májcirrhosisban valószínűleg nem gyulladásos tulajdonságai dominálnak proteinnel, hanem a májsejtek számával és szintetizáló képességével korrelál.

A fetuin-A májkárosodásban – in vitro adatok alapján – fontos védőszerepet tölt be. Alacsony szintje így hozzájárulhat a májbetegség progressziójához. A cirrhosis kialakulása során a TGF-β gátolja a máj csillagsejtjeinek apoptózisát és ezen sejtek fokozott túléléséhez és kifejezett kollagénszintézisükhöz vezet [190, 191]. A fetuin-A a TGF-β II. típusú receptorához hasonló szerkezetű, a molekulát megköti, és így annak ismert antagonistája [192].

Verma és mtsai HCV fertőzést következtében kialakuló cirrhosisban szenvedő betegek monocytáinak kivonatával, illetve TGF-β és PDGF adásával stimuláltak patkány csillagsejteket [193]. A fetuin-A gátolta a csillagsejtekben a monocyta kivonat, illetve TGF-β hatására kialakuló fokozott kollagéntermelést. A stimuláció hatására kialakuló fokozott csillagsejt proliferációra azonban nem volt hatással. Az anti-TGF-β ellenagyag a monocyta kivonat hatását nem blokkolta, csak a TGF-β hatására kialakuló fokozott kollagénszintézist igen. A fetuin-A azonban önmagában is blokkolta a monocyta

kivonat csillagsejt stimuláló hatását. A monocyta kivonat számos citokint és növekedési faktort tartalmaz. A fetuin-A gátló hatása azt mutatja, hogy hatásmechanizmusa szélesebb: nem csak TGF-β antagonista hatásán keresztül gátolja a csillagsejtek fokozott kollagéntermelését. A PDGF hatására kialakuló proliferációt és kollagéntermelést azonban fetuin-A nem befolyásolta. A pentoxifyllin ellenben eredményesen gátolta a PDGF hatásait. A pentoxifyllin ismert TNF-α antagonista, emellett azonban fontos hatása, hogy a PDGF posztreceptor szignálját és így a JNK kináz aktiválódását eredményesen gátolja. Kísérletükben Verma és mtsai a sejtek apoptózisát is vizsgálták. A fokozott apoptózis előidézésére egy toxint, az okadaik savat használtak. A TGF-β hatására az okadaiksav által kiváltott apoptózis csökkent. A TGF-β adása így a csillagsejtek fokozott túlélését eredményezte – ezt a védő hatást azonban a fetuin-A blokkolta.

Eredményeik alapján a fetuin-A fibrosisban védő hatású, gátolja a fokozott kollagénszintézist, a TGF-β antagonsita tulajdonságától részben függetlenül is. A kórosan túlélő csillagsejtek apoptózisát elősegíti a TGF-β hatásának gátlásával. A csillagsejtek proliferációjára azonban nincs hatással, ebből a szempontból PDGF hatását intracellulárisan gátló pentoxifyllin lehet előnyös.

Súlyos májkárosodás során így fetuin-A egyrészt jelzi a májkárosodás mértékét, másrészt csökkent koncentrációja a fibrosis felgyorsulásához vezethet. Alacsony szintje így a cirrhosis gyorsuló progressziójának prediktora lehet.

Kalabay és mtsai alkoholos cirrhosisban és hepatocelluláris karcinómában szenvedő betegeken vizsgálták a fetuin-A prediktív szerepét [163]. Eredményeik alapján a 300 μg/ml koncentráció alatti fetuin-A szint és az alacsony hematokrit a 3 hónapos túlélés független prediktora. Az alacsony fetuin-A szintű betegek 52% hunyt el a követés során, míg 300 μg/ml feletti fetuin-A szintű betegek mortalitása lényegesen alacsonyabb, 9,5% volt.

1.6.2 A fetuin-A szerepe a Wilson-kórban kialakuló cirrhosis felismerésében

A Wilson-kór ritka, autoszomális recesszíven öröklődő réz anyagcsere betegség (prevalencia: 1:30000-40000). Az ATP7B gén mutációja a P-típusú adenozin trifoszfát fémtranszporter fehérje funkcióját károsítja, így a réz kiválasztása az epébe és a réz

sejtszintű felhasználása károsodik. A folyamat következtében réz halmozódik fel a májban és a központi idegrendszerben [194]. A kóros gént hordozók aránya 1%-ra tehető [195]. A klinikai tüneteket elsősorban a máj működésének zavara és cirrhosisa, a neuropszichiátriai zavarok, a Kayser-Fleischer gyűrű megjelenése és az akut májelégtelenség kapcsán jelentkező hemolízis jelenti. A tünetek széles skálán mozoghatnak és nincsenek szoros összefüggésben génmutáció típusával.

A genetikai vizsgálat eredményes alkalmazását korlátozza, hogy az ATP7B génnek több mint 500 féle mutációja ismert, melyek fele Wilson-kór kialakulását eredményezi. Az egyes mutációk egymással kombinálódva, heterozigóta formában is megjelenhetnek. Bizonyos polimorfizmusok azonban magas gyakorisággal fordulnak elő a különböző régiókban, így vizsgálatuk segíti a diagnózist. Közép-Európában a H1069Q mutáció a leggyakoribb, mely több mint 50%-ban fordul elő [196].

A genetikai vizsgálat bizonytalanságai, a szerteágazó és a genetikai háttérrel nem feltétlenül korreláló tünetek megnehezítik a Wilson-kór diagnosztizálását. A kórisme felállításának objektivizálása és egyszerűsítése céljából diagnosztikus pontrendszer is született (4. táblázat) [197]. Leggyakrabban a diagnózis az alacsony cöruloplazmin szinten és a Kaiser-Fleischer-gyűrű meglétén alapul. A diagnózist gyakran segíti és a terápia monitorozását is lehetővé teszi a vizelettel ürített réz mennyiségének mérése.

4. táblázat A klinikai tüneteken és teszteken alapuló pontrendszer Wilson-kórban

Kaiser-Fleischer-gyűrű	
Jelen van	2 pont
Nincs	0 pont
Neurológiai tünetek (vagy releváns MR eltérések)	
Súlyos	2 pont
Enyhe	1 pont
Nincs	0 pont
Szérum cöruloplazmin	
< 0,1 g/L	2 pont
0,1 – 0,2 g/L	1 pont
Normál (> 0,2 g/L)	0 pont
Coombs negatív hemolítikus anémia	
Jelen van	1 pont
Nincs	0 pont
Máj réztartalma (cholestasis nélkül)	
> 250 μg/g	2 pont
50 - 250 μg/g	1 pont
Normál (< 50 μg/g)	0 pont
Rhodanin pozitív granulátumok*	1 pont
Vizelet réztartalma (amennyiben hepatitis nem áll fenn)	
Normál	0
A normálérték 1-2x-e között	1
A normálérték 2x-e fölött	2
Normál, de a normálérték 5x-e fölött D-penicillamin adása után	2
ATPB7 mutáció	
Mindkét kromoszómán	4 pont
Egyik kromoszómán	1 pont
Egyik kromoszómán sem	0 pont

* Amennyiben a réztartalom kvantifikálása nem elérhető

5. táblázat A Wilson-kór diagnosztikus pontrendszer értékelése

Összpontszám	***Értékelés***
4 vagy több pont	Biztos diagnózis
3 pont	Lehetséges diagnózis
2 vagy kevesebb pont	Valószínűtlen diagnózis

Kezelés nélkül a Wilson-kór halálos betegség. A kezelés lényege a rézürítés felgyorsítása, normalizálása. A gyógyszeres kezelésben a rézzel kelátot képző d-penicillamin és trientin, valamint a cink sók használatosak. A cink a réz felszívódását gátolja, illetve elősegíti kapcsolódását az endogén kelátképző metallotheioneinhez. A cinkterápia mellett perzisztáló transzamináz emelkedés, fokozott vizelet réz ürítés a terápia nem kellő hatásosságára utalhat, és kelátképzők adásának szükségességére utal [198]. A májtranszplantáció a Wilson-kór oki kezelését, a fenotípus korrekcióját jelenti. Alkalmazásával elsősorban a májat érintő betegség gyógyítható. A neuropszichiátriai tünetekkel jelentkező típusok esetén azonban a transzplantáció eredményessége ellentmondásos [199, 200].

A prognózis megítélésére – elsősorban a heveny lefolyású esetekben – Nazar és mtsai dolgoztak ki pontrendszert [201]. A score a szérum bilirubin, az ASAT és a protrombin idő megnyúlását veszi figyelembe. A pontrendszert később módosították, hogy gyermekkorban is alkalmazható legyen [202].

A Wilson-kór prognózisa ma már mind a gyógyszeres kezelés, mind a transzplantáció alkalmazásával jónak mondható, általánosnak tekinthető a hosszú távú túlélés. Bruha és mtsai 55 Wilson-kóros beteget követtek több mint 15 éven keresztül . A tünetekkel bíró betegek többségének állapota javult, vagy tünetmentessé vált a kezelés hatására (a májbetegséggel követettek 82%-a, a neurológiai tünetekkel bírók 69%-a). A páciensek halálozása nem tért el az átlagpopuláció adataitól [196].

A fetuin-A felnőttkorban a májban szintetizálódik [91], így szintjének csökkenése a máj szintetizáló funkciójának hanyatlására utalhat. A különböző etiológiájú heptitisekben azonban eltérései nem voltak konzekvensek: csökkent [161], emelkedett [189] és változatlan koncentrációt [163] is közöltek. Májcirrhosis esetében azonban az adatok egybecsengőek. Mind primer biliáris cirrhosisban [162], mind alkoholos májcirrhosisban alacsonyabb szintet találtunk [163].

Moores és mtsai vizsgálatában a Wilson-kóros betegek körében már a diagnózis felállításakor is 53%-ban fordult elő cirrhosis [203]. A betegség kezdeti szakaszában meglévő magas arány jelzi a cirrhosis korai felismerésének fontosságát, melyet a szérum fetuin-A koncentráció meghatározása is segíthet.

2. Célkitűzések

1. Előrehaladott atherosclerosisban a szérum fetuin-A csökkent és emelkedett szintjét is közölték. A fetuin-A szintje az életkorral párhuzamosan csökken. Célul tűztük ki annak vizsgálatát, hogy a 60 évnél idősebb, nem ideális anyagcsere helyzetű, szívinfarktust túlélt páciensekben a szérum fetuin-A szintje emelkedett-e.

2. A fetuin-A negatív akutfázis fehérje és számos kóros anyagcsere folyamatban játszik szerepet. Célunk volt annak tisztázása, hogy a fetuin-A interakciói a metabolizmust befolyásoló adipokinekkel szorosabbak, vagy a szubklinikus gyulladás markereivel. Elemezni kívántuk ezért a molekula kapcsolatát az adiponektinnel és a leptinnel, illetve a CRP-vel, a TNF-α-val és a rezisztinnel.

3. A szérum ghrelin szint eltérése kardiovaszkuláris betegségekben még nem pontosan ismert. Tisztázni kívántuk, hogy az infarktust kiállott betegekben a szérum ghrelin szintje csökkent, vagy emelkedett.

4. Posztinfarktusos betegekben a szérum ghrelin és a peptid szintjét befolyásoló molekulák kapcsolatát még nem vizsgálták. Elemezni kívántuk a ghrelin szint összefüggését más anyagcsere markerekkel: az inzulinnal (szénhidrát anyagcsere), a leptinnel (energiaháztartás), az adiponektinnel és a fetuin-A-val (zsírmáj, cukor és zsíranyagcsere), valamint a TNF-α-val és rezisztinnel (szubklinikus gyulladás). A vizsgálatba számos 2-es típusú diabetes mellitusban szenvedő betegek vontunk be, hogy megítélhessük a ghrelin kapcsolatát a szérum inzulin és glükóz szinttel koszorúér-betegségben.

5. Az egyes molekulák elemzése ritkán javítja jelentősen a kardiovaszkuláris kockázat előrejelzését, ezért hasznos lehet bizonyos molekula-hányadosok vizsgálata. Célul tűztük ki olyan molekula-hányados azonosítását, mely hatékonyan különíti el a kontroll személyeket a betegektől.

6. A szérum fetuin-A koncentrációjának májbetegségekben történő vizsgálata során elsődleges célunk annak megállapítása volt, hogy a fetuin-A alkalmas-e az alkoholos cirrhosisban szenvedő betegek hosszútávú prognózisának előrejelzésére.

7. Elemezni kívántuk prediktív értékét az elterjedten használt pontszámok (Child-Pugh és MELD) hatékonyságához viszonyítva. Célul tűztük ki annak vizsgálatát, hogy a

fetuin-A koncentráció kombinálása a fenti pontszámokkal a prognózis pontosabb megítélését lehetővé teszi-e.

8. A fetuin-A a máj szintetizálóképességének jellemzője és egyben negatív akutfázis fehérje. Tisztázni kívántuk, hogy mely tulajdonsága játszik fontosabb szerepet alkoholos májzsugorban.

9. Célunk volt annak vizsgálata, hogy a szérum fetuin-A szint alacsonyabb-e Wilson-kóros betegekben, különösen, ha májérintettség is megfigyelhető. Vizsgálni kívántuk, hogy Wilson-kórban megfigyelhető-e összefüggés a szérum fetuin-A szint és a betegség súlyosságát jellemző Nazar score között, illetve, hogy az alacsony fetuin-A szint alkalmas-e a cirrhosisos esetek azonosítására. Célul tűztük ki továbbá a H1069Q mutáció esetleges kapcsolatának elemzését a fetuin-A koncentrációval.

3. Betegek és vizsgálati módszerek

3.1 Betegek

3.1.1 Infarktust túlélt betegek

A beválasztást megelőző 6-24 hónapban infarktust túlélt betegeket vontunk be (120 férfi, 51 nő, átlagéletkor: 62 ± 6 év, átlag ± SD). A diagnózis felállítása a panaszokon, az EKG eltérésen és a troponin emelkedésen alapult, csak STEMI eseteket vontunk be. A kizárási kritériumok az alábbiak voltak: akut fertőzés klinikai vagy laboratóriumi jelei, aktív malignus daganat (a megelőző öt évben propagáció vagy onkológiai kezelés), a nem alkholos zsírmáj kivételével a májbetegségek, veseelégtelenség (60 ml/min alatti eGFR), immunszupresszió, illetve egyéb súlyos lefolyású kórkép (stroke, trauma, sebészeti beavatkozás). A diabetes diagnózisát az aktuális ajánlások alapján állítottuk fel (éhomi vércukorszint ≥ 7,0 mmol/l vagy az orális glukóz tolerancia teszt ≥ 11,1 mmol/l). A diabeteses betegek mindegyike 2-es típusú volt, kezelésük diétával, metforminnal és bedtime inzulinnal történt. Elhízottnak 30 kg/m^2 feletti BMI esetén tekintettük a betegeket. A posztinfarktusos betegek 65%-a szedett sztatint, 70%-uk aszpirint. A kontroll csoportot 81 életkor szerint illesztett, kardiovaszkuláris betegségektől mentes személy alkotta.

3.1.2 Májbetegek

Kilencvenhárom alkoholos májcirrhosisban szenvedő beteg adatait elemeztük (52 férfi, 41 nő, átlagéletkor: 54 ± 13 év, átlag ± SD). Az anamnézisen és a megfelelő klinikai tüneteken túl a diagnózist hasi ultrahang és hasi CT vizsgálattal igazoltuk. Etikai okokból májbiopsziát nem végeztünk. A kizárási kritériumok a következők voltak: vírusos májgyulladás (HBsAg és anti-HCV pozitivitás), autoimmun hepatitis (antinukleáris és simaizomellenes antitest pozitivitás), májrák (az anamnézis vagy a rutin gondozás során végzett vizsgálatok alapján) és hepatotoxikus gyógyszerek szedése (melyek leiratában a májkárosodás a „nagyon gyakori”, „gyakori” vagy „nem gyakori” kategóriákban szerepelt). Vérvétel a beválasztáskor és az első, harmadik, hatodik és tizenkettedik hónapban történt. A betegek tüneti terápiában (diuretikumok, β-blokkoló)

részesültek. A MELD pontszámot Kamath és mtsai képlete alapján számoltuk [181], ezen kívül a Child-Pugh pontszámot állapítottuk meg a betegeknél.

A Wilson-kóros betegek adatait feldolgozó vizsgálatunkba 50 gondozott pácienst vontunk be. A betegek között 29 férfi, 21 nő volt, életkoruk 33,6 ± 12,4 év volt (átlag ± SD), betegségük 11,4 ± 7,1 éve állt fenn. Májérintettség gyanúja esetén a betegeknél korábban májbiopszia is történt. A páciensek az I. Sz. Belgyógyászati Klinika Hepatológiai Szakrendelésén álltak gondozás alatt és d-penicillinamin kezelésben részesültek. A kizárási kritériumok a következők voltak: vírusos hepatitis (HBsAg vagy anti-HCV pozitivitás), autoimmun hepatitis (antinukleáris vagy simaizom ellenes antitest pozitivitás), primer májrák vagy májtoxikus gyógyszer szedése. A kontroll csoportot 51 (26 férfi és 25 nő) egészséges, életkor szerint illesztett személy adta (életkor: 35 ± 8 év).

3.2 Laboratóriumi módszerek

3.2.1 A szérum fetuin-A koncentráció meghatározása

A fetuin-A szint meghatározására radiális immunodiffúziót használtunk, a korábbiakban már leírtak szerint [163]. Röviden összefoglalva, a betegek 1:4 arányban hígított 5 µl szérumát vittük fel 11,5 ml Litex agaróz gélre (Sigma). Ismert koncentrációjú, 1:4 arányban higított szérum minták szolgáltak standardként. A minták felvitelét 48 órás inkubáció követte szobahőmérsékleten. Az immundiffúzióhoz Incstar IgG frakciójú anti-fetuin-A antitestet használtunk 84 µl/11,5 ml gél koncentrációban (Cat No. 81931). Az intra- (IACV) és interassay koefficiens eltérés (IECV) 4,11% és 4,85% volt.

3.2.2 További laboratóriumi mérések

A szérum ghrelin szint meghatározása a 3-as szerinen acilált peptidre specifikus radioimmunassay-jel történt (Linco Research Inc., St. Charles, MO, USA, Cat. No. GHRA-88HK, szenzitivitás: 10 pg/ml, specificitás: 100% a human ghrelinre, intra-assay variancia [IACV%]: 7,425%, interassay variancia [IECV%]: 13,45%).

Az adiponektin szint meghatározása radioimmunassay-jel történt (Linco Research, St. Charles, MO, IACV: 3,6%, IECV: 8,47%). A szérum rezisztin (Linco Research Inc., Resistin ELISA kit, Cat. No. EZHR-95K, szenzitivitás: 0,16 ng/ml, specificitás: humán rezisztin 100%, IACV: 4,0%, IECV: 7,0%), TNF-α (Sigma, St. Louis, MI, USA, IACV:

4,8%, IECV: 6,7%) és leptin (DRG International, Mountainside, NJ, USA, IACV: 4,6%, IECV: 6,6%) szintet ELISA-val mértük. A C-reaktív protein koncentráció meghatározása particle-enhanced immunoturbidimetriás assay (Roche Cobas Integra 4000) használatával történt. Az assay érzékelési határa 0,07 mg/l, a variációs koefficiens a 108 mg/l átlagértéknél 3,9% volt. Az egyéb változók mérése rutin laboratóriumi módszerekkel történt.

A szérum α2-makroglobulin, transzferrin, haptoglobin és az orozomukoid szint mérésekor szintén radiális immundiffúziót alkalmaztunk.

A szérum cöruloplazmin meghatározása immunturbidimetriás vizsgálattal történt (Tinaquant Ceruloplasmin; Roche, Indianapolis, IN, USA), míg a szérum réz mérésére abszorpciós fotometriás módszert használtunk (Merckotest, Diagnostica Merck, Darmstadt, Germany).

A vörösvérsejt-süllyedés, hematocrit, hemoglobin, fehérvérsejtszám, granulocita és trombocitaszám, szérum bilirubin, aszpartát-aminotranszferáz, alanin-aminotranszferáz, alkalikus foszfatáz, INR, C-reaktív protein, összfehérje és albumin koncentráció meghatározása rutin laboratóriumi módszerekkel történt.

3.2.3 Statisztikai elemzés

A kétmintás adatokat Mann-Whitney U teszttel, a páros adatokat pedig a Wilcoxon teszttel elemeztük. A többmintás adatokat összehasonlítására Kruskal-Wallis-tesztet alkalmaztunk. A korrelációkat Spearman féle rang korrelációval, illetve parciális korrelációval vizsgáltuk. A kontingenciatáblák elemzésére a Fisher és khi-négyzet tesztet használtuk. A többváltozós analízis során lineáris illetve logisztikus regressziót alkalmaztunk. A betegek túlélését Kaplan-Meier teszttel és halandósági tábla készítésével értékeltük. Az optimális vágópont megtalálására ROC analízist végeztünk.

Az adipokinek kombinált alkalmazásának vizsgálatára a molekulák közötti kapcsolat erősségét részben a korrelációk vizsgálatával, részben faktor analízissel elemeztük. A beteg és kontroll csoport közötti adipokin eltérések és azok erősségének vizsgálatára diszkriminancia analízist végeztünk. Az adipokinek kombinált alkalmazásához olyan molekulapárt érdemes választani mely tagjai egymással gyengén korrelálnak, így a faktor analízis során külön csoportba kerülnek. A molekulák kiválasztásánál fontos szempont, hogy az atherosclerosisban szenvedő betegek és a kontroll csoport értékei

markánsan eltérjenek – tehát a molekulák a diszkriminancia analízis során erős elkülönítő értékkel bírjanak.

A statisztika analízis során az SPSS szoftvert használtuk (SPSS Software, IBM, Armonk, New York, USA). A 0,05 alatti p értéket, májbetegek esetén a 0,01 alattit tekintettük szignifikánsnak.

4. Eredmények

4.1 A fetuin-A vizsgálata infarktust túlélt betegekben

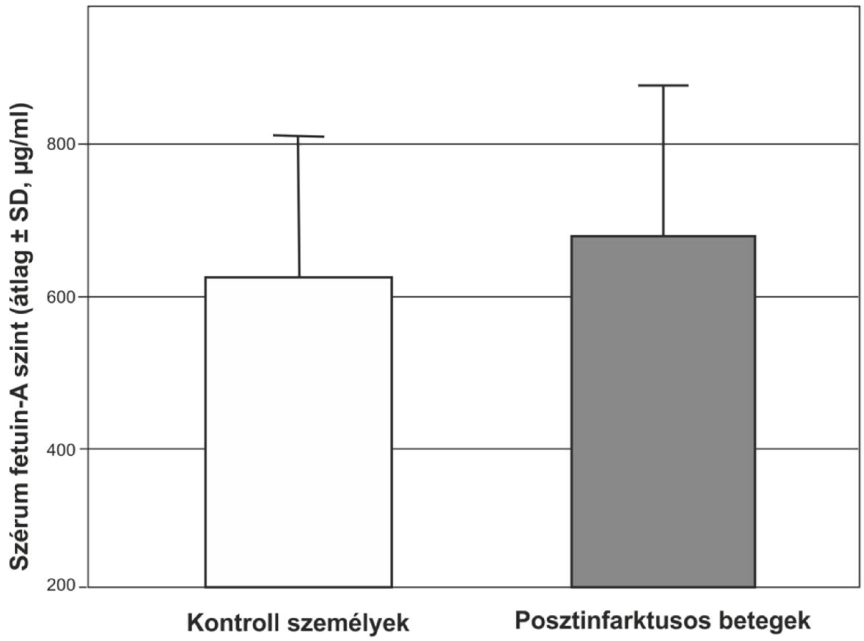
A vizsgálatba bevont 171 infarktust kiállott beteg és a 81 életkor szerint illesztett egészséges kontroll személy adatait a 6. táblázatban mutatjuk be.

6. táblázat Kontroll személyek és infarktust túlélt betegek klinikai adatai

	Kontroll személyek	**Betegek**	**p***
Személyek (Férfi/Nő)	81 (46/35)	171 (120/51)	0,029#
Életkor	60 ± 7	62 ± 6	NS
BMI (kg/m^2)	22,4 ± 2,4	28,0 ± 4,1	<0,001
Diabetes	-/81	53/171	< 0,001#
Fetuin-A (µg/ml)	619 ± 96	673 ± 103	< 0,001
Összkoleszterin (mmol/l)	5,0 ± 1,1	5,29 ± 1,2	0,030
HDL-koleszterin (mmol/l)	1,44 ± 0,46	1,21 ± 0,28	0,037
Triglicerid (mmol/l)	1,40 ± 0,6	1,85 ± 0,98	< 0,001
Adiponektin (µg/ml)	12,77 ± 3,15	9,04 ± 4,31	< 0,001
Leptin (ng/ml)	12,17 ± 9,16	31,89 ± 18,36	< 0,001
Rezisztin (ng/ml)	6,40 ± 2,66	9,70 ± 6,49	< 0,001
C-reaktív protein (mg/l)	1,95 ± 1,43	4,04 ± 3,98	< 0,001
Tumor nekrózis faktor-α (pg/ml)	4,07 ± 0,24	6,13 ± 1,77	< 0,001

*Mann-Whitney U teszt, #χ^2-teszt

A férfiak és nők fetuin-A szintje között nem volt szignifikáns különbség sem a kontroll személyek (p = 0,617), sem a betegek esetében (p = 0,328). A betegek fetuin-A szintje szignifikánsan magasabb volt a kontroll személyek értékénél (3. ábra).



3. ábra Szérum fetuin-A koncentráció kontroll személyekben (n = 81) és infarktust túlélt betegekben (n = 171)

A preventív gyógyszeres kezelés ellenére a betegek lipid és gyulladásos értékei is emelkedettek voltak a kontrollokhoz viszonyítva. Az emelkedett leptin és csökkent adiponektin szint a kóros adipocita működés mellett szól.

A betegek között 49 elhízott és 53 diabeteses személy volt. A fetuin-A szint pozitívan korrelált a BMI-vel (8. táblázat). Az elhízott betegek fetuin-A szintje – nem szignifikáns mértékben – emelkedett volt a nem obez betegekhez viszonyítva (686 ± 102 µg/ml, n = 49, vs. 668 ± 104 µg/ml, n = 122, p = 0,109). A diabeteses betegek esetében hasonló összefüggést figyeltünk meg: nem szignifikáns mértékben, de a cukorbeteg posztinfarktusos személyek fetuin-A szintje is magasabb volt a nem cukorbeteg posztinfarktusos betegekénél (680 ± 108 µg/ml, n = 53 vs. 670 ± 101 µg/ml, n = 118, p = 0,371). A fetuin-A mind az obezitásban, mind a diabetes kialakulásában szerepet játszik, ezért megvizsgáltuk, hogy a nem elhízott, nem diabeteses betegek szérum fetuin-A szintje hogyan viszonyul a kontroll személyekéhez. Túlsúlyos betegek így továbbra is szerepeltek mind a betegek, mind a kontroll személyek között. A nem elhízott, nem cukorbeteg páciensek fetuin-A szintje is szignifikánsan magasabb volt a kontroll személyekénél. Ezen betegek esetében a kóros adipocita funkció és a szubklinikus gyulladás markerei az elhízás és diabetes hiánya ellenére is emelkedettek voltak (7. táblázat).

7. táblázat Kontroll személyek és nem obez, nem diabeteses infarktust túlélt betegek klinikai adatai

Paraméter	Kontroll személyek	Nem obez, nem diabeteses betegek	p*
BMI (kg/m^2)	22,4 ± 2,4	25,9 ± 2,5	< 0,001
Fetuin-A (µg/ml)	619 ± 96	667 ± 101	0,002
Adiponektin (µg/ml)	12,77 ± 3,15	9,03 ± 3,75	< 0,001
Leptin (ng/ml)	12,17 ± 9,16	28,10 ± 15,62	< 0,001
Rezisztin (ng/ml)	6,40 ± 2,66	9,06 ± 5,65	0,002
C-reaktív protein (mg/l)	1,95 ± 1,43	3,92 ± 3,26	< 0,001
Tumor nekrózis faktor - α (pg/ml)	4,07 ± 0,24	5,98 ± 1,70	< 0,001

*Mann-Whitney U teszt

Ezt követően elemeztük a fetuin-A interakcióit különböző citokinekkel. A betegek szérum adiponektin szintje alacsonyabb volt a kontroll személyekénél (6. táblázat). Az adiponektin és a fetuin-A között negatív korrelációt figyeltünk meg (8. táblázat).

8. táblázat A szérum fetuin-A korreláció az egyes változókkal posztinfarktusos betegekben

Paraméter	r*	p*
BMI	0,342	0,035
Összkoleszterin	-0,105	0,206
HDL-koleszterin	-0,064	0,402
Triglicerid	-0,006	0,940
Adiponektin	-0,236	0,006
Leptin	0,321	0,021
C-reaktív protein	-0,202	0,169
Tumor nekrózis faktor – α	0,017	0,822
Rezisztin	0,290	0,710

*Spearman-féle rang korreláció

Mivel az adiponektin is korrelált a BMI-vel (r = 0,181, p = 0,018), a két változó közötti kapcsolatot BMI-re korrigált parciális korrelációval is megvizsgáltuk. A fetuin-A és az adiponektin közötti összefüggés így is szignifikánsnak bizonyult (r = 0,177, p = 0,043).

A többváltozós elemzés igazolta, hogy a fetuin-A szint a BMI mellett az adiponektin szint független meghatározója (9. táblázat).

9. táblázat A szérum adiponektin szint meghatározói többváltozós regressziós modellben

Regressziós együtthatók	Standardizált regressziós koefficiens ± SE	p
BMI	-0,131 ± 0,084	0,001
Életkor	0,027 ± 0,053	0,607
Fetuin-A	-0,094 ± 0,021	0,014
Leptin	-0,046 ± 0,048	0,348
Rezisztin	-0,056 ± 0,056	0,317
TNF-α	-0,041 ± 0,023	0,335

R^2: 0,203, $p < 0,001$

A szérum leptin szint is emelkedett volt infarktus után (6. táblázat) és korrelált a BMI-vel ($r = 0,265$, $p = 0,022$). A fetuin-A szint korrelált a leptin szinttel (8. táblázat), de az összefüggés a BMI-re történő korrigálás után már nem volt szignifikáns ($r = 0,209$, $p = 0,072$).

A TNF-α és CRP szint emelkedett volt a posztinfarktusos betegek körében (6. táblázat). A fetuin-A szint azonban nem korrelált egyik citokinnel sem. Megvizsgáltuk, hogy a gyulladásban központi szerepet betöltő TNF-α szérum szintjét mely változók határozzák meg. A fetuin-A a többváltozós elemzésben sem mutatott kapcsolatot a TNF-α-val. Utóbbi molekula determinánsai a BMI és a rezisztin voltak.

10. táblázat A szérum TNF-α szint meghatározói többváltozós regressziós modellben

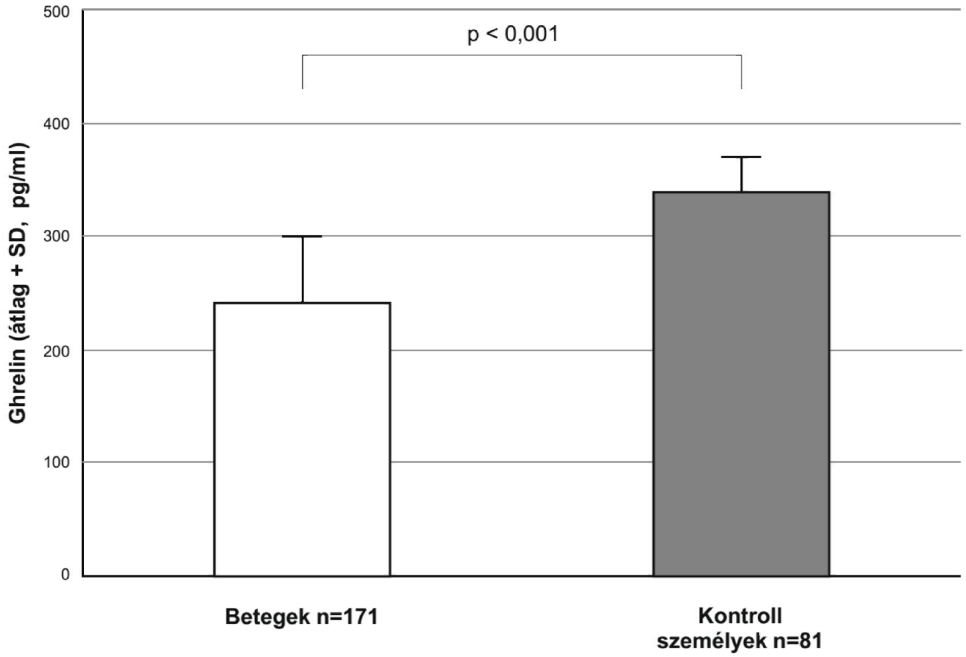
Regressziós együtthatók	Standardizált regressziós koefficiens ± SE	p
BMI	0,087 ± 0,031	0,005
Életkor	0,023 ± 0,022	0,282
Fetuin-A	0,001 ± 0,001	0,870
Rezisztin	0,110 ± 0,019	< 0,001
Leptin	-0,008 ± 0,010	0,432
Adiponektin	0,023 ± 0,029	0,434

R^2: 0,227, $p < 0,001$

4.2 A ghrelin szint vizsgálata infarktust kiállott személyekben

A vizsgálatban résztvevők adatait a 6. táblázatban foglaltuk össze. A betegek átlagos BMI-je magasabb volt a kontroll személyekénél, és közülük negyvenkilencen elhízottak voltak. A posztinfarktusos betegek körében tapasztalt mérsékelten emelkedett éhomi vércukor szinthez (5,7 ± 1,6 vs. 4,5 ± 0,4 mmol/l) kifejezetten magas szérum inzulin szint társult (23,7 ± 15,5 vs. 5,2 ± 1,1 µU/ml). A különbség mindkét változó esetében szignifikáns volt ($p < 0,001$, Mann Whitney U teszt). A férfiak és nők ghrelin szintje között nem volt szignifikáns különbség sem a kontroll személyek ($p = 0,911$), sem a betegek esetében ($p = 0,371$).

Az infarktuson átesett betegek szérum ghrelin szintje szignifikánsan alacsonyabb volt a kontroll személyekéhez viszonyítva (240,55 ± 59,33 vs. 337,96 ± 30,75 pg/ml, $p < 0,001$) (4. ábra).



4. ábra Miokardiális infarktust túlélt betegek és kontroll személyek szérum ghrelin koncentrációi, Mann-Whitney U teszt

Az obezitás és a diabetes ismerten alacsonyabb szérum ghrelin szinttel jár, így ezen betegségek zavaró hatásának kizárása céljából összehasonlítottuk a kontroll személyek ghrelin szintjét a nem elhízott, nem diabeteses betegek adataival. A betegek szérum ghrelin szintje az elhízott és diabeteses betegek kizárása után is alacsonyabb volt a

kontroll személyek szérum ghrelin koncentrációjánál (240,63 ± 54,08, n = 88 vs. 337,96 ± 30,75, n = 81, p<0,001). A diabeteses betegek szérum inzulin szintje emelkedett volt a nem diabeteses betegek szintjéhez viszonyítva (28,30 ± 16,30 µU/ml, n = 53 vs. 21,68 ± 14,80, n = 118, p = 0,008), de ezt az eltérést nem kísérte a ghrelin szint szignifikáns különbsége a két csoport között (231,06 ± 52,9 vs. 244,81 ± 61,7, p = 0,154).

A szérum ghrelin és az éhomi vércukor szint között nem volt szignifikáns korreláció, az egyváltozós regresszió során a ghrelin nem bizonyult a vércukorszint meghatározójának (R^2 = 0,003, β = -0,057; p = 0,459).

A szérum ghrelin és inzulin szint közötti találtuk a legszorosabb korrelációt, a BMI-re és nemre történő korrekciót követően is (11. táblázat). A diabetesesek csoportjában azonban nem volt szignifikáns korreláció a két változó között.

A ghrelin és adiponektin közötti korreláció gyengült, a ghrelin és rezisztin között kapcsolat pedig már nem volt szignifikáns a testsúlyra és nemre történő igazítást követően.

A szérum ghrelin szint nem korrelált a fetuin-A, leptin, TNF-α és szérum lipid szinttel.

11. táblázat A szérum ghrelin szint korrelációi más paraméterekkel infarktust kiállott betegekben (n = 171)

Paraméter	r*	p*	Par. korr.#	p#
BMI	-0,049	0,523	-	-
Éhgyomri vércukor	-0,118	0,125	0,002	0,978
Inzulin	-0,369	<0,001	-0,270	0,001
Adiponektin	0,307	<0,001	0,280	0,001
Rezisztin	0,178	0,020	-0,085	0,317
Fetuin-A	-0,111	0,150	-0,035	0,679
TNF-α	0,040	0,605	-0,006	0,941

*Spearman-féle rang korreláció, #Parciális korreláció, BMI-re és nemre korrigálva

Többváltozós analízissel elemeztük, hogy mely laborparaméterek határozzák meg a szérum ghrelin szintet (12. táblázat). Az inzulin és adiponektin szint a ghrelin koncentráció független meghatározóinak bizonyult. A modell az életkort a nemet, a BMI-t, az éhomi vércukor, inzulin, triglicerid, HDL-koleszterin, adiponektin, rezisztin, leptin, TNF-α és fetuin-A szintet tartalmazta.

12. táblázat A szérum ghrelin szint meghatározói többváltozós regressziós modellben (n = 171)

Változók	Béta	p
Életkor	0,065	0,375
Nem	-0,002	0,975
BMI	0,115	0,147
Éhomi vércukor	-0,025	0,743
Inzulin	-0,327	0,001
Triglicerid	-0,038	0,609
HDL-koleszterin	-0,066	0,379
Adiponektin	0,301	0,001
Rezisztin	0,108	0,188
Leptin	-0,063	0,601
TNF-α	-0,071	0,388
Fetuin-A	-0,028	0,697

$R^2 = 0,199$; $p < 0,001$

4.3 Az adipokinek kombinált alkalmazásának vizsgálatára

A vizsgált molekulák között a leggyengébb korrelációt a ghrelin és a TNF-α között találtuk (r = 0,017, NS).

A faktor analízis során főkomponens analízis módszert, direkt oblimin rotációval alkalmaztunk. A KMO érték nem érte el a 0,5-öt (0,486) valószínűleg a viszonylag alacsony esetszám és a kardiovaszkuláris betegségek kialakulását befolyásoló számos egyéb tényező miatt. A Bartlett-féle szfericitási teszt azonban szignifikáns volt.

Az analízis 5 csoportot írt le, melyeken belül a biomarkerek egymással szorosabb összefüggést mutattak. Az 1-es csoportot „Gyulladásos faktor”-nak neveztük el, mivel az alábbi molekulák faktorterhelése volt magas: TNF-α, CRP és rezisztin (0,861; 0,765; 0,649). A 2-es és 3-as csoportokban a különböző vérzsír összetevők domináltak, ezt a két csoportot „Lipid 1” és „Lipid 2 faktor”-nak kereszteltük el. A 2-es csoport esetében a triglicerid, az összkoleszterin és a BMI, a 3-as csoport esetében az összkoleszterin, a HDL-koleszterin és a BMI súly volt magas (0,790; 0,660; 0,483; illetve 0,591; 0,817; 0,536). A 4. csoportot „Metabolikus faktor”-nak neveztük, a magas fetuin-A, adiponektin és leptin terhelés alapján (0,680; 0,609; 0,526). Az 5. csoportot „Ghrelin faktor”-nak neveztük, mivel az inzulin és az adiponektin mellett a ghrelin faktorterhelése volt legmagasabb (0,881; 0,600; 0,437).

A diszkriminancia analízis során megvizsgáltuk, hogy a ghrelin, adiponektin, leptin, fetuin-A, rezisztin és a TNF-α milyen prediktív értékkel különíti el a betegeket a

kontroll személyektől. Ezen molekulák a csoportok közötti eltérés 57,5%-át magyarázták (kanonikus korreláció: 0,758; Wilks féle lambda 0,426, $p < 0,001$). A kereszt validáció során a klasszifikáció azt mutatta, hogy az egyedek 90,1%-a megfelelő csoportba lett besorolva (a kontroll személyek 100%-a, és a betegek 85,4%-a). A struktúra mátrix elemzése alapján a csoportba sorolás legerősebb tényezője a ghrelin volt (0,760), majd a TNF-α következett (-0,569). Csak ezen két molekula használatával a betegek és kontroll személyek 89,7%-a helyesen csoportosítható volt.

A korrelációk, a faktor analízis és a diszkriminancia analízis eredményei alapján a továbbiakban a TNF-α / ghrelin hányadost vizsgáltuk. A betegek TNF-α / ghrelin hányadosa szignifikánsan magasabbnak bizonyult (Mann-Whitney teszt, $p <0,001$). A TNF-α / ghrelin hányados értékben úgy húztuk meg a határt, hogy az összes kontroll személy egy csoportba kerüljön, hányadosuk a határértéknél alacsonyabb legyen (0,014286). A 171 infarktuson átesett beteg közül 165-nek (96,5%) ennél magasabb volt a TNF-α / ghrelin hányadosa, és a posztinfarktusos betegek közül csak hatan kerültek a kontroll személyek csoportjába. A χ^2 teszt szignifikáns kapcsolatot mutatott a TNF-α / ghrelin hányados és a között, hogy a vizsgálat alanyai a betegek csoportjába tartoztak-e ($\chi^2(1) = 215,6$, $p < 0,001$). A hatás-nagyság 0,932 volt. A magas TNF-α / ghrelin hányadosú alanyoknak 11,25-ször magasabb esélye volt arra, hogy a betegek (és ne a kontroll személyek) közé tartozzanak (CI 95%: 5,80 - 21,80).

A TNF-α / ghrelin hányados tehát nagyon hatékonyan különítette el a betegeket a kontroll személyektől.

4.4 A fetuin-A koncentráció prediktív szerepe alkoholos májzsugorban

4.4.1 A fetuin-A szint alacsonyabb a májelégtelenségben elhunytak között

Az egyéves követés során a 93 alkoholos májcirrhosisban szenvedő beteg közül 47-en haltak meg. A továbbiakban csak a májelégtelenség következtében elhunyt 37 beteg adatait elemeztük (13. táblázat). A túlélt betegekhez viszonyítva a májelégtelenség következtében meghalt betegeknek szignifikánsan alacsonyabb volt a hematokritja, az albumin, TF és fetuin-A szintje. A kreatinin, bilirubin, INR szint, valamint a CP és MELD pontszám szignifikánsan emelkedettek volt. A fetuin-A szint pozitívan korrelált a hematokrittal ($r = 0,406$, $p = 0,001$), az albuminnal ($r = 0,366$, $p = 0,002$) és a transzferrinnel ($r = 0,529$, $p < 0,001$). Negatív korrelációt figyeltünk meg a fetuin-A és a

szérum kreatinin (r = -0,312, p = 0,006), az INR (r = -0,467, p < 0,001), a CRP (r = -0,405, p = 0,001) szint, valamint a MELD (r = -0,342, p = 0,001) és a CP pontszám között (r = -0,522, p < 0,001).

13. táblázat Az elhunyt és túlélt betegek laboratóriumi paraméterei az egyéves illetve 1-12 hónapos követés során

	(A) Az egyéves követési periódus végén			**(B) Az 1-12 hónap közötti követés során**		
Változó	**Meghalt betegek átlag ± SD n = 37**	**Túlélt betegek átlag ± SD n = 52**	**p**	**Meghalt betegek átlag ± SD n = 23**	**Túlélt betegek átlag ± SD n = 52**	**p**
Életkor években	57 ± 14	52 ± 12	0,056	58 ± 15	52 ± 12	0,056
Süllyedés, mm/h	57 ± 32	40 ± 30	0,019	59 ± 34	40 ± 30	0,030
Hematokrit, l/l	0,32 ± 0,1	0,37± 0,1	0,004	0,33± 0,1	0,36 ± 0,1	0,029
Hemoglobin, g/l	112 ± 18	121 ± 24	0,053	113 ± 18	121 ± 24	0,137
Fehérvérsejtszám, G/l	9,582 ± 5,076	7,706 ± 4,640	0,016	8,960 ± 5,102	7,706 ± 4,639	0,082
Granulocytaszám, G/l	6,308 ± 4,080	4,788 ± 3,241	0,080	5,409 ± 3,253	4,787 ± 3,240	0,311
Trombocytaszám, G/l	160,610 ± 117,289	177,370 ± 91,742	0,228	153,480 ± 114,813	177,370 ± 91,742	0,185
Szérum kreatinin, µmol/l	131 ± 6,5	96 ± 2,9	0,002	132 ± 6,2	97 ± 2,8	0,001
Szérum bilirubin, µmol/l	183 ± 17	118 ± 19	0,008	133 ± 22	122 ± 29	0,041
Szérum aszpartát aminotranszferáz, U/l	113 ± 80	122± 171	0,201	107 ± 81	122 ± 10	0,485
Szérum alanin aminotransferáz, U/l	79 ± 137	143 ± 351	0,852	97 ± 173	142 ± 350	0,763
Alkalikus phosphatáz, U/l	425 ± 422	371 ± 284	0,987	404 ± 479	371 ± 283	0,571
INR	1,73 ± 0,7	1,25± 0,4	<0,001	1,64± 0,7	1,26 ± 0,4	< 0,001
Összfehérje, g/l	63 ± 7	68 ± 10	0,453	68 ± 7	68 ± 9	0,815

Albumin, g/l	31 ± 7	37 ± 6	0,001	31 ± 7	36 ± 7	0,008
CRP, mg/l	62 ± 78	42 ± 78	0,061	65 ± 103	43 ± 79	0,505
α2-macroglobulin mg/dl	315 ± 87	339 ± 123	0,588	335 ± 97	340 ± 123	0,851
Haptoglobin, mg/dl	186 ± 260	201 ± 150	0,035	203 ± 280	200 ± 151	0,108
Transzferrin, mg/dl	148 ± 52	216 ± 86	<0,001	148 ± 60	217 ± 87	0,003
α1-acid glycoprotein, mg/dl	94 ± 51	112 ± 53	0,049	93 ± 54	112 ± 54	0,076
CP pontszám	11 ± 2	7 ± 2	<0,001	11 ± 2	8 ± 2	< 0,001
MELD pontszám	20 ± 9	13 ± 5	<0,001	20 ± 8	13 ± 6	< 0,001
Fetuin-A, µg/ml	293± 77	490± 106	<0,001	303 ± 91	490 ± 91	< 0,001

4.4.2 A fetuin-A szint az egyéves túlélés független és pontos prediktora

A fetuin-A szint hatékonyságának vizsgálata és az ideális vágópont megtalálása céljából ROC analízist végeztünk. Az analízis alapján a 365 µg/ml-es koncentráció bizonyult optimálisnak. Ennél az értéknél a görbe alatti terület a vizsgálta paraméterek közül a legmagasabb volt (0,937 ± 0,025; p < 0,001; 95% CI: 0,889 – 0,986). A 365 µg/ml-nél alacsonyabb fetuin-A szintű betegek többsége (35/32) elhunyt az egyéves követés során, míg az ennél magasabb fetuin-A koncentrációjú 54 páciens közül csak öten haltak meg (14. táblázat / A).

14. táblázat A beválasztáskor mért szérum fetuin-A szint hatása az alkoholos májcirrhosisban szenvedő betegek túlélésére (A) az egyéves, illetve (B) az 1-12 hónap közötti követés során

A

	Meghalt	**Túlélt**	**Összesen**	**Halálozási arány %**
Szérum fetuin-A < 365 µg/ml	32	3	35	94,1
Szérum fetuin-A ≥ 365 µg/ml	5	49	54	9,3
Összesen	37	52	89	24,1

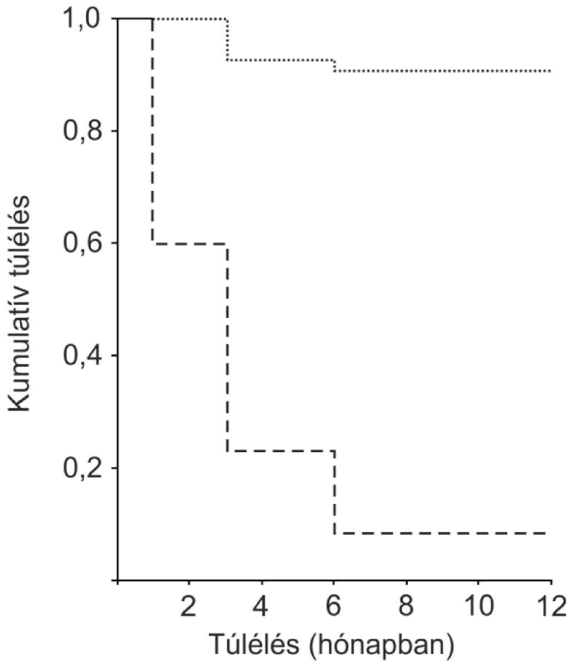
p < 0,001; Relatív rizikó: 9,874 (95% C.I.: 4,258 – 22,898)

B

	Meghalt	**Túlélt**	**Összesen**	**Halálozási arány %**
Szérum fetuin-A < 365 µg/ml	18	3	21	85,7
Szérum fetuin-A ≥ 365 µg/ml	5	49	54	9,3
Összesen	23	52	75	32,6

p < 0,001, Relatív rizikó: 9,257 (95% C.I.: 3,945 – 21,724)

A Kaplan-Meier analízis alapján a 365 µg/ml-nél alacsonyabb szérum koncentrációjú betegek átlagos túlélése 3 ± 1 hónap volt (átlag ± SE, 95% CI.: 2 – 4), míg az ennél magasabb szérum szintű betegek esetében 11 ± 1 hónap volt (95% CI.: 11 – 12; p < 0,001) (5. ábra).



5. ábra Az egyéves követés során a 365 µg/ml-nél alacsonyabb szérum fetuin-A koncentrációjú betegeknek alacsonyabb a túlélési rátája mint a 365 µg/ml-nél magasabb fetuin-A szintű betegeknek. Szérum fetuin-A < 365 µg/ml (szaggatott vonal, n = 35), szérum fetuin-A ≥ 365 µg/ml (pontozott vonal, n = 54), log rank teszt, p < 0,001

A halandósági tábla hasonló adatokat mutatott. A medián túlélési idő az alacsony fetuin-A szintű betegek esetében 3,27, a magas fetuin-A koncentrációjú páciensek esetében 12 hónap volt (p < 0,001). A halálozás hazárd rátája magas volt és az idő előrehaladtával emelkedett az alacsony fetuin-A szintű csoportban (15. táblázat).

15. táblázat A halálozás rizikója a 365 µg/ml-nél alacsonyabb, illetve magasabb szérum fetuin-A koncentrációjú betegekben, az egyéves követés során

Hazárd ráta	Fetuin-A < 365 µg/ml	Fetuin-A ≥ 365 µg/ml
1 hónapnál	0,500 ± 0,129	0,000 ± 0,000
3 hónapnál	0,897 ± 0,222	0,077 ± 0,384
6 hónapnál	0,909 ± 0,362	0,020 ± 0,000
12 hónapnál	0,943 ± 0,420	0,000 ± 0,000

A fetuin-A szint a májelégtelenségben meghalt és a túlélő betegek között több más paraméterrel együtt szignifikánsan eltért, illetve több vizsgált laboratóriumi értékkel szignifikánsan korrelált. Logisztikus regressziót alkalmaztunk annak megítélésére, hogy a két csoport között szignifikánsan eltérő paraméterek közül melyek tekinthetők a mortalitás független előrejelzőinek. A vizsgálatot elvégeztük a INR és kreatinin értékekkel, illetve az ezen változókat tartalmazó MELD pontszámmal is. A többváltozós analízis alapján a fetuin-A az egy éves mortalitás független prediktorának bizonyult (16. táblázat).

16. táblázat Az alacsony fetuin-A szint logisztikus regresszióval számolt összefüggése az egyéves mortalitással alkoholos májcirrhosisban szenvedő betegekben. A p értéke a regressziós koefficiensre vonatkozik, a modellbe az elhunytak és túlélt betegek között szignifikánsan eltérő változók kerültek be

	(A) Az egyéves követés során		**(B) Az 1-12 hónap közötti követés során**	
Változó	**p**	**p**	**p**	**p**
Hematokrit	0,482	0,597	0,463	0,453
Albumin	0,271	0,832	0,249	0,994
Transferrin	0,706	0,838	0,608	0,843
Kreatinin	-	0,633	-	0,806
INR	-	0,290	-	0,262
MELD< 20, ≥ 20	0,172	-	0,165	-
Fetuin-A < 365 µg/ml vs. ≥ 365 µg/ml	0,004	0,010	0,021	0,012
Esélyhányados Fetuin-A < 365 µg/ml vs. ≥ 365 µg/ml	58,82 95% C.I.: 3,703 - 950,8	49,35 95% C.I.: 2,497 - 975,6	28,91 95% C.I: 1,661 - 503,4	32,59 95% C.I.: 1,502 - 707,0
Modell-illeszkedés	p = 0,015	p = 0,068	p = 0,002	p = 0,012

Összevetettük a fetuin-A szint valamint a MELD és CP pontszámok hatékonyságát az egyéves mortalitás előrejelzésében. Az irodalmi adatok alapján vágópontnak a MELD score esetében a transzplantáció indikáció során használt 20 pontot, a CP score esetében a 10 pontot tekintettük [204], a fetuin-A esetében a 365 µg/ml-t.

A ROC analízis során a görbe alatti terület a fetuin-A szint esetében meghaladta a MELD és CP score-ok értékét. A fetuin-A szenzitivitása és specificitása is meghaladta a két pontrendszer hasonló értékeit. A halálozás relatív kockázata emelkedett volt magas

MELD és CP pontszám esetén is, de az alacsony fetuin-A koncentrációjú betegek kockázata volt messze a legmagasabb (17. táblázat).

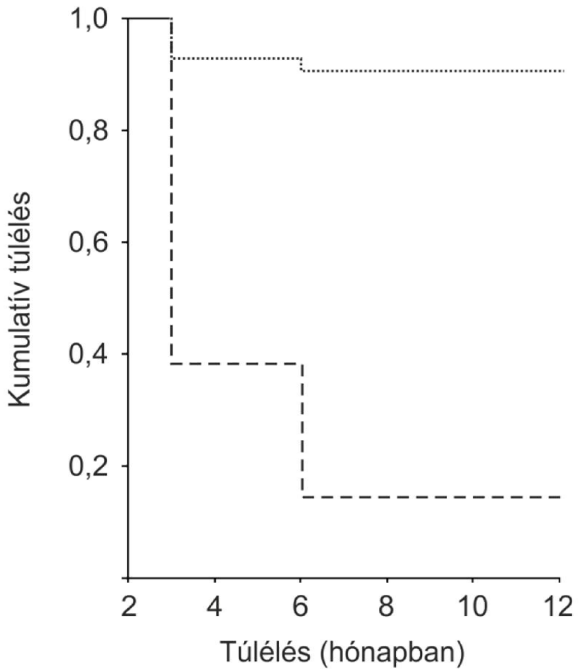
17. táblázat A CP és MELD pontrendszer, valamint a szérum fetuin-A szint szenzitivitásának, specificitásának és prediktív értékének összehasonlítása

	(A) **Egyéves követés során**	**(B)** **Az 1-12 hónap közötti időszakban**
CP pontszám AUC ± SD p 95% C.I.	 0,865 ± 0,040 < 0,001 0,787 - 0,943	 0,855 ± 0,050 < 0,001 0,757 - 0,953
MELD pontszám AUC ± SD p 95% C.I.	 0,739 ± 0,052 < 0,001 0,637 - 0,871	 0,740 ± 0,058 0,001 0,626 - 0,854
Szérum Fetuin-A AUC ± SD p 95% C.I.	 0,937 ± 0,025 < 0,001 0,889 - 0,986	 0,908 ± 0,035 0,001 0,839 - 0,978
CP pontszám < 10, ≥ 10 Relatív rizikó p 95% C.I. Szenzitivitás ennél a vágópontnál Specificitás ennél a vágópontnál	 3,878 < 0,001 1,998 - 7,527 0,753 0,827	 4,838 < 0,001 2,009 - 11,649 0,675 0,755
MELD pontszám < 20, ≥ 20 Relatív rizikó p 95% C.I. Szenzitivitás ennél a vágópontnál Specificitás ennél a vágópontnál	 2,205 0,002 1,318 - 3,689 0,595 0,729	 2,4167 0,011 1,229 - 4,952 0,587 0,720
Fetuin-A < 365 µg/ml, ≥ 365 µg/ml Relatív rizikó p 95% C.I. Szenzitivitás ennél a vágópontnál Specificitás ennél a vágópontnál	 9,874 < 0,001 4,258 - 22,898 0,865 0,942	 9,257 < 0,001 3,945 - 21,724 0,783 0,936

A MELD pontszám és a fetuin-A koncentráció kombinált alkalmazása tovább javította a mortalitás előrejelzését. A 20 felett MELD pontszámú és a 365 µg/ml-nél alacsonyabb fetuin-A koncentrációjú betegek esetében a prognózis rosszabb volt, mint külön-külön vizsgálva a fenti tényezőket. Ezen betegekben az átlagos túlélés 2 ± 1 hónap volt (95% CI.: 1 – 3 hónap, log rank analízis: $p < 0,001$).

4.4.3 A fetuin-A szint a mortalitás megbízható prediktora

Korábbi vizsgálatunkban a fetuin-A a rövid távú mortalitás prediktorának bizonyult [163]. Elemeztük ezért, hogy az egyéves túlélés vizsgálatának eredményeit mennyire befolyásolják az első hónap során bekövetkező halálesetek. Az egy év alatt bekövetkező 37 halálesetből 14 következett be az első hónap során. Az alacsony fetuin-A szint a kizárást követően is magasabb halálozási aránnyal és a halálozás fokozott relatív rizikójával társult (14. táblázat / B). A Kaplan-Meier teszt során a szignifikáns különbség megmaradt 365 µg/ml alatti, illetve feletti fetuin-A szintű betegek között (6. ábra).



6. ábra Az 1-12 hónap közötti követés során a 365 µg/ml-nél alacsonyabb szérum fetuin-A koncentrációjú betegeknek alacsonyabb volt a túlélési rátája, mint a 365 µg/ml-nél magasabb fetuin-A szintű betegeknek. Szérum fetuin-A < 365 µg/ml (szaggatott vonal, n = 21), szérum fetuin-A ≥ 365 µg/ml (pontozott vonal, n = 54), log rank teszt, p < 0,001

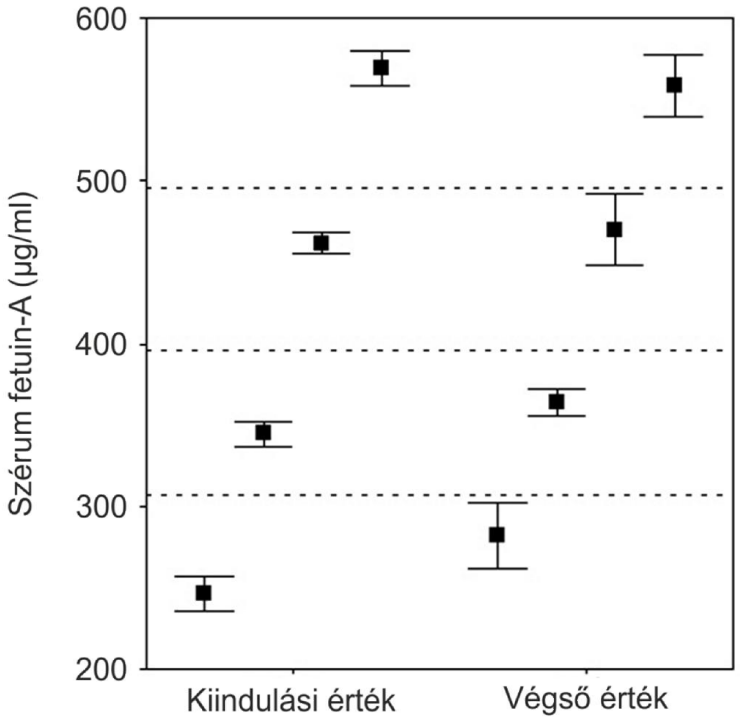
Az alacsony fetuin-A koncentrációjú betegek átlagos túlélése 5 ± 1 hónap (átlag ± SE, 95% CI.: 4 – 6), a magas szérum szintű betegeké 11 ± 0 hónap volt (95% CI.: 11 – 12, log rank analízis, $p < 0,001$). A halandósági tábla szerinti medián túlélés 4,81 hó volt az alacsony, és 12 hónap a magas fetuin-A szintű betegek között ($p = 0,001$). Az alacsony fetuin-A szint és a 1-12 hó közötti mortalitást logisztikus regresszióval is elemeztük. Hasonlóan az egyéves mortalitás eredményéhez, a 365 μg/ml alatt fetuin-A koncentráció az 1-12 hó közötti halálozás független prediktorának bizonyult.

A vizsgálat során 6 betegben alakult ki alkoholos hepatitis. Az ő szérum fetuin-A szintjük azonban nem különbözött szignifikánsan a többi beteg fetuin-A koncentrációjától (átlag ± SD, 405 ± 85 μg/ml, n = 6 vs. 434 ± μg/ml, n = 83, p = 0,447).

További négy betegben zajlott interkurrens fertőzés. Az infekciót megelőző és követő vérvétel eredményei között nem volt szignifikáns különbség (445 ± 126 μg/ml vs. 475 ± 171 μg/ml, Wilcoxon teszt, $p = 0,465$).

A betegek közül heten továbbra is fogyasztottak az alkoholt. Ezen betegek fetuin-A szintje szignifikánsan alacsonyabb volt az absztinens betegek szérum koncentrációjához képest (259 ± 97 μg/ml, n = 7 vs. 418 ± 129 μg/ml, n = 82, $p = 0,003$). A mortalitás azonban ebben a csoportban sem tért el az absztinens betegektől a szérum fetuin-A koncentráció vonatkozásában. A 7 beteg közül hat meghalt, az egyetlen túlélő szérum fetuin-A szintje magasabb volt, mint 365 μg/ml.

A szérum fetuin-A szint nem változott jelentősen az egyes betegekben a követés során. A vizsgálat végén életben lévő betegeket (n = 75) kezdeti fetuin-A szintjük alapján négy kvadránsba soroltuk. A követés során az átlag fetuin-A koncentráció enyhén emelkedett, mivel az alacsony fetuin-A szintű betegek mortalitása volt magasabb. A sok haláleset miatt a legalacsonyabb kvartilisű betegek esetében az emelkedés szignifikáns volt (Wilcoxon teszt, $p = 0,022$), de még ebben a csoportban is a kezdeti érték tartományába esett az 1 éves követés végén a fetuin-A szint (7. ábra).



7. ábra A szérum fetuin-A koncentráció nem változott érdemben az egyéves követés során. Az első hónap során elhunyt betegek indulási értékei nem szerepeltek az analízisben. Az egyes értékek átlag ± SEM formában vannak feltüntetve

4.5 A szérum fetuin-A koncentráció meghatározásának jelentősége Wilson-kórban

Az egészséges kontroll személyekhez viszonyítva a Wilson-kórban szenvedő betegek fetuin-A szintje nem tért el szignifikánsan (18. táblázat).

18. táblázat A kontroll személyek és betegek adatai.

	Wilson-kóros betegek	**Kontroll személyek**	**p**
N (Férfi/Nő)	50 (29/21)	51 (26/25)	0,479#
Életkor években	37 ± 12	35 ± 8	0,333*
Fetuin-A, µg/ml	598 ± 148	605 ± 88	0,419*

* Mann-Whitney teszt; # Khi-négyzet teszt

A fetuin-A eltéréseit elsősorban a máj szintetizáló képességének romlása okozhatja [163, 205]. Igazán markáns eltéréseket korábban cirrhosisos betegekben találtunk [205]. Az időben felismert és kezelt Wilson-kór esetén a májkárosodás megelőzhető, így a

fetuin-A csökkent szintézise sem várható ezekben az esetekben. A továbbiakban ezért a májérintettséggel járó és cirrhosissal szövődött esetekre fókuszáltunk.

Bár az ASAT, ALAT és γ-GT aktivitás szignifikánsan magasabb volt a májérintettségben szenvedő Wilson-kóros betegekben, a fetuin-A szintben azonban nem volt különbség a két csoport között (19. táblázat). A májérintettséggel bíró Wilson-kóros betegek májműködés zavara összességében nem volt súlyos, ebben a csoportban sem volt érdemi eltérés a szérum bilirubin, albumin, összfehérje szintben, illetve az INR-ben sem.

19. táblázat A májérintettséggel bíró és attól mentes Wilson-kóros betegek adatainak összehasonlítása.

	Wilson-kór májérintettséggel	**Wilson-kór májérintettség nélkül**	**p***
Férfi / Nő	7/9	22 / 12	0,161#
Életkor, év	32,6 ± 11,8	37,8 ± 14,1	0,417
Betegség fennállási ideje, év	10,4 ± 5,8	13 ± 9	0,426
Szérum fetuin-A koncentráció, µg/ml	622 ± 154	562 ± 138	0,126
Vörösvértest-süllyedés, mm/ó	5 ± 8	4 ± 4	0,854
Vörösvértest szám, T/l	5 ± 0,5	5,1 ± 0,5	0,799
Hematokrit	0,44 ± 0,05	0,43 ± 0,03	0,689
Hemoglobin, g/l	149 ± 18	148 ± 12,0	0,609
Fehérvérsejt szám, G/l	6008 ± 1579	7221 ± 3041	0,285
Prothrombin aktivitás, %	84 ± 15	91 ± 8	0,689
INR	1,17 ± 0,3	1,07 ± 0,07	0,142
Prothrombin idő, s	14,6 ± 2,9	14,6 ± 0,7	0,134
Szérum bilirubin, µmol/l	17,6 ± 13,9	16,5 ± 14,4	0,422
SGOT/ASAT, U/l	34 ± 16	20 ± 5	< 0,001
SGPT/ALAT, U/l	47 ± 31	22 ± 9	0,001
Alkalikus foszfatáz, U/l	306 ± 354	299 ± 365	0,596
γ-glutamil-transzferáz, U/l	68 ± 112	32 ± 28	0,038
Laktát dehidrogenáz, U/l	321 ± 104	318 ± 44	0,293
Összfehérje, g/l	76 ± 5	75 ± 3	0,618
Szérum albumin, g/l	48 ± 3	49 ± 2	0,418
Szérum réz, µg/ml	6,6 ± 4,7	4,4 ± 4,5	0,242
Szérum ceruloplasmin, g/l	0,29 ± 1,06	0,12 ± 0,12	0,923

*Mann-Whitney-teszt, #Khi-négyzet teszt

A cirrhosisos betegek körében a májenzimek aktivitása nem tért el lényegesen a cirrhosistól mentes Wilson-kóros betegekétől. A máj csökkent szintetizáló képességére utalt, hogy az összfehérje és albumin szint alacsonyabb volt a májzsugorban szenvedő betegek körében. A legmarkánsabb különbséget azonban a szérum fetuin-A szint mutatta, mely szignifikánsan alacsonyabb volt a cirrhosisban szenvedő betegek körében (20. táblázat).

20. táblázat A cirrhosisban szenvedő és attól mentes Wilson-kóros betegek adatainak összehasonlítása.

	Májcirrhosis nincs jelen (n = 40)	**Májcirrhosis (n = 10)**	**p**
Életkor, év	33 ± 13	34 ± 8	0,395
Életkor a diagnózis idején, év	23 ± 10	23 ± 6	0,444
Betegség fennállási ideje, év	11,0 ± 7,1	13 ± 8	0,331
Szérum Fetuin-A koncentráció, µg/ml	631 ± 154	491 ± 58	0,013
Vörösvértest-süllyedés, mm/ó	6 ± 8	3 ± 2	0,980
Vörösvértest szám, T/l	5,0 ± 0,52	4,96 ± 0,36	0,540
Hematokrit	0,44 ± 0,05	0,43 ± 0,03	0,785
Hemoglobin, g/l	149 ± 17	149 ± 11	0,800
Fehérvérsejt szám, G/l	6726 ± 2390	5350 ± 1186	0,067
Prothrombin aktivitás, %	89 ± 10	79 ± 21	0,163
INR	1,09 ± 0,09	1,30 ± 0,51	0,187
Prothrombin idő, s	13 ± 1	16 ± 5	0,194
Szérum bilirubin, µmol/l	16 ± 15	19 ± 9	0,185
SGOT/ASAT, U/l	29 ± 17	27 ± 5	0,988
SGPT/ALAT, U/l	38 ± 24	43 ± 46	0,662
Alkalikus foszfatáz, U/l	321 ± 390	230 ± 58	0,461
γ-glutamil-transzferáz, U/l	57 ± 102	55 ± 50	0,333
Összfehérje, g/l	77 ± 5	72 ± 2*	0,036
Szérum albumin, g/l	49 ± 3	46 ± 2	0,070
Szérum réz, µg/ml	5,7 ± 4,7	6,1 ± 5,1	0,880
Szérum cöruloplazmin, g/l	0,10 ± 0,09	0,88 ± 2,08	0,305

* Mann-Whitney U teszt

Megvizsgáltuk, hogy a májbetegségben szenvedő Wilson-kóros betegek csoportján belül mely paraméterek segíthetik a cirrhosisos betegek azonosítását. Az összes beteg adataihoz hasonlóan szignifikáns eltérést az összfehérje (78 ± 5 vs. 73 ± 2 g/l; p = 0,023) és kifejezettebb formában a fetuin-A esetében találtunk (676 ± 149 vs. 491 ± 58 µg/ml; p = 0,001).

A betegek körében a fetuin-A szint pozitívan korrelált a máj szintetizáló működését jellemző összfehérje szinttel (r = 0,437; p = 0,01). Negatív korrelációt találtunk az életkorral (r = -0,334; p = 0,018) és a betegség fennállási idejével (r = -0, 390; p = 0,006). Amennyiben csak a májérintettségben is szenvedő Wilson-kóros betegek körében vizsgáltuk a korrelációt, szorosabb összefüggést kaptunk (összfehérje: r = 0,685; p < 0,001; életkor: r = -0,394; p = 0,02; betegség fennállási ideje: r = -0,471; p = 0,005).

A májkárosodás mértéke alapján a Nazar pontrendszer segít a prognózis megítélését. Elemeztük a fetuin-A és a Nazar score kapcsolatát, hogy közvetve lássuk összefüggheto-e a fetuin-A szérum szintje a prognózissal. Kifejezett májkárosodás – magas Nazar pontszám – kevés betegben fordult elő a statisztikai analízishez. Ezért a közepes és súlyos májkárosodásban szenvedő betegeket (Nazar score: 1-4) összevontuk egy csoportba, és összehasonlítottuk a májérintettséggel bíró, de súlyosabb májkárosodásban nem szenvedő betegekkel (Nazar score: 0). Az emelkedett Nazar score szignifikánsan alacsonyabb fetuin-A szinttel társult (661 ± 148 vs. 485 ± 28 µg/ml; p = 0,006).

A fetuin-A koncentráció a súlyos májkárosodás és a májcirrhosis szempontjából hasznos paraméternek bizonyult. A továbbiakban ROC analízissel elemeztük a glikoprotein szint cirrhosis iránti szenzitivitásának és specificitásának értékét a 33 májérintettséggel bíró beteg körében. A görbe alatti terület 0,869 ± 0,061 volt (95% C.I.: 0,749 – 0,988, p = 0,001). Az 510 µg/ml-es koncentráció mellett a szenzitivitás 70,0%-osnak, a specificitás 83,3%-osnak bizonyult. Az 510 µg/ml alatti koncentráció a cirrhosis fokozott kockázatával társult (21. táblázat).

21. táblázat Az 510 µg/ml -nél alacsonyabb fetuin-A szint a cirrhosis fokozott kockázatával társul Wilson-kóros betegekben. Relatív rizikó: 3,807 (95% C.I.: 1,117 – 12,973). Fisher teszt, p = 0,030

	Májcirrhosisban szenvedő betegek száma	**Májcirrhosisban nem szenvedő betegek száma**	**Összesen**	**Májcirrhosis előfordulási aránya**
Fetuin-A koncentráció ≤ 510 µg/ml	7	12	19	36,8%
Fetuin-A koncentráció > 510 µg/ml	3	28	31	9,7%
Összesen	10	40	50	20%

A fetuin-A és a cöruloplazmin génje a hármas kromoszóma azonos régiójában található [206]. A két protein között azonban nem találtunk összefüggést sem az összes Wilson-kóros beteg között (r -0,80; p = 0,618), sem azon Wilson-kóros betegek körében, akiknél májérintettség is fennállt (r = -0,13; p = 0,519).

A Közép-Európában leggyakoribb ATP7B mutáció (H1069Q) és a fetuin-A koncentráció összefüggését is megvizsgáltuk. A génre homozigóta, heterozigóta, illetve a gént nem hordozó csoportok szérum fetuin-A szintjében nem találtunk különbséget (556 ± 115 vs. 621 ± 161 vs. 597± 152 µg/ml, Kruskal-Wallis teszt, p = 0,142)

5. Megbeszélés

5.1 A fetuin-A szint szerepe metabolikus zavarok és koronáriabetegség együttes előfordulásakor

A szívinfarktuson átesett betegekben emelkedett szérum fetuin-A szintet találtunk. Az eddigi vizsgálatokban eltérő módszereket használtak az atherosclerosis igazolására, ami a diagnózist bizonytalanná, az eredmények összevetését nehézkessé tette. Bár a CIMT az atherosclerosis markerének tekinthető [207], változása az életkorral fiziológiás körülmények között is kialakul [208]. Az anamnézisben szereplő miokardiális infarktus az atherosclerosis kemény végpontjának tekinthető, az érelmeszesedés klinikai jelentőségét egyértelművé teszi. A beválasztott betegekben így biztosan fennállt az előrehaladott, súlyos atherosclerosis.

Az emelkedett szint hátterében elsősorban a betegek rossz anyagcsere helyzete állhat. A beválasztott betegek között – a hazai klinikai viszonyoknak megfelelően – számos diabetes és elhízott páciens volt. Nem szignifikáns mértékben mind a diabetesesekben, mind az elhízottakban magasabb fetuin-A szintet találtunk. Az ajánlások ellenére sok beteg már nem szedett sztatint, illetve aszpirint, így az emelkedett vérzsírok is jellemzőek voltak a posztinfarktusos betegekre.

A fetuin-A többféle mechanizmussal is részt vesz az anyagcsere kóros irányba történő elmozdításában. Régóta ismert, hogy gátolja az inzulinreceptor autofoszforilációját [31] és emelkedett szintje inzulinrezisztenciát okoz [49]. A közelmúlt nagy esetszámú, prospektív vizsgálatai alapján emelkedett szintje a 2-es típusú diabetes kialakulását is előrejelzi [54, 209]. A molekula a diabetestől függetlenül is elősegítheti az atherosclerosis progresszióját. A zsírsejtek diszfunkcióját többféle mechanizmussal idézi elő. Hennige és mtsai igazolták, hogy gátolja az adipociták adiponektin termelését és magas kockázatú betegekben a fetuin-A és az adiponektin szint negatívan korrelál egymással [75]. A magas fetuin-A szint elősegíti a máj steatosisát [67], melyet a csökkenő adiponektin szint nem képes ellensúlyozni. Az adiponektin alacsony szintjéhez a szabad zsírsavak emelkedése társul, melyek fokozzák a fetuin-A expresszióját [210] – így pro-atherosclerotikus miliő alakul ki emelkedő fetuin-A és szabad zsírsav, illetve csökkenő adiponektin szinttel. A fetuin-A mindezeken túl a

zsírsejtek inzulin rezisztenciáját közvetlenül, illetve a TLR-4 közvetítésével is fokozza [76, 80]. Korábban stabil koronária betegeken már leírtak pozitív összefüggést a fetuin-A és adiponektin szint között [78]. Az irodalmi adatok és eredményeink alapján a fetuin-A és az adiponektin közötti kapcsolat jelentősnek tűnik az atherosclerosis széles spektrumán.

Bár az emelkedett fetuin-A szint az inzulinrezisztencia és az adipocita diszfunkció kialakulásában is szerepet játszik, számos vizsgálatban alacsonyabb szintjét írták le különböző kardiovaszkuláris betegségekben. Az ellentmondásos eredmények értelmezése céljából számos elmélet született.

Az eddigi vizsgálatokban az érelmeszesedés eltérő formáira eddig kevés figyelmet fordítottak a kutatók. Diabetesben és krónikus veseelégtelenségben elsősorban az erek mediájának sclerosisa jelenik meg, míg az intima sclerosis inkább idősekben és hagyományos rizikófaktorokkal rendelkezőkre jellemző [211]. A KVE esetén megfigyelhető alacsony fetuin-A szint alapján feltételezhető, hogy a mediasclerosis gátlásában játszik fontos szerepet a fetuin-A. Állatkísérletek alapján azonban a glikoprotein az intimában zajló kalcifikációt gátolja [113]. A fetuin-A koncentrió eltérései az intima, illetve mediasclerosisban még tisztázásra vár.

A fetuin-A zsírsejtekben csak FFA jelenlétében okoz inzulinrezisztenciát [80], az adiponektin expresszió gátlásához az adipocytákban pedig megfelelő kalcium koncentráció szükséges [76]. Az eddigi vizsgálatokban ezeket a zavaró változókat általában nem vizsgálták.

Az egyes vizsgálatokban többféle laboratóriumi módszert alkalmaztak a fetuin-A koncentráció meghatározására. A pontosnak tartott és egyszerű, nagyobb gyártóktól beszerezhető ELISA-k összehasonlítása is szerény egyezést mutatott [212]. Az ELISA rendszereket összehasonlító kutatók magyarázatul a fetuin-A glikolizált formája iránti eltérő érzékenységet vetették fel. A glikolizáció mellett a fetuin-A a transzlációt követően foszforilálódik több szerin aminosavon is. Az inzulin receptor gátlás csak a foszforilált molekula sajátossága [31]. Lehetséges, hogy a különböző módszerek eltérően érzékenyek a foszforilált formára is. A foszforilációt is vizsgáló kutatásokban azonban nem volt markáns eltérés a foszforilált és foszforilálatlan forma aktivitása között [213].

Az emelkedett fetuin-A szint az érelmeszesedés számos kockázati tényezőjével pozitívan korrelál, míg alacsony szintje legegyértelműbben az előrehaladott atherosclerosisra jellemző intima kalcifikáció esetében figyelhető meg. Mori és mtsai több közleményükben is felvetették, hogy az érelmeszesedés folyamatának elején az emelkedett fetuin-A szint jelentene kockázatot, míg a késői fázisban az alacsonyabb koncentráció. A köztes intervallumban az eredmények nehezen értékelhetők, hiszen a diabetes, a vesefunkció, a gyógyszeres kezelés és számos más tényező is befolyásolhatja a fetuin-A szérum koncentrációját [214, 215]. Az első szakaszban az emelkedett fetuin-A szint hatására az inzulinrezisztencia, adipocyta diszfunkció, a máj steatosisa alakít ki atherogén környezetet, míg a késői fázisban a kalcifikáció hatására a fetuin-A szintje csökken, illetve alacsonyabb szintje esetén a kalcifikáció gyorsabban progrediál.

A fenti „korai vs. előrehaladott atherosclerosis" elméletnek eredményeink ellentmondani látszanak, hiszen a lezajlott szívinfarktus egyértelműen az előrehaladott, késői atherosclerosis mellett szól. Az atherosclerosis késői szakaszában azonban több tényező is befolyásolja a fetuin-A szintet.

Az anyagcsere állapot kiemelt fontosságúnak tűnik. Diabeteses, diszlipidémiás, obez, egészségtelen életmódot folytató betegekben a fetuin-A szintje az előrehaladott atherosclerosisban is magas maradhat. Betegeinkre ez az állapot egyértelműen jellemző volt: lipid szintjük a kezelés ellenére is emelkedett volt, közülük sokan elhízottak és/vagy cukorbetegek voltak.

Ugyanakkor a nem elhízott és diabetesben nem szenvedő betegeink fetuin-A szintje is emelkedett volt. A túlzott és egészségtelen táplálkozás, a mozgásszegény életmód manifeszt diabetes és elhízás nélkül is kóros metabolizmushoz vezethet. A kóros anyagcsere a nem elhízott, nem diabeteses infarktuson átesett betegeink körében biztosan jelen volt, hiszen lényegesen rosszabb anyagcsere és gyulladásos markereket találtunk körükben a kontrollokhoz képest.

Számos megfigyelés szól amellett, hogy a fetuin-A szint obezitás és diabetes nélkül is magas lehet, amennyiben kóros anyagcsere-folyamatok igazolhatók. Weikert és munkatársai a kardiovaszkuláris események és a fetuin-A szint között pozitív összefüggés igazoltak, úgy, hogy az infarktus fokozott rizikója független volt a diabetes fennállásától [133].

Blüher és mtsai diétás kezelés során azt találták, hogy a fetuin-A szint nem a testsúly változását követte szorosan, hanem szintje a redukált kalóriabevitel hatására kialakuló fogyás megszűnése után is tovább csökkent [216]. Az egészségesebb táplálkozás tehát a testsúlyváltozástól részben függetlenül is alacsonyabb fetuin-A szinttel járt. Hasonló eredményre jutottak Malin és mtsai a fizikai aktivitás kapcsán [217]. Intenzív testmozgás hatására csökkent a fetuin-A szint és javult az inzulin szenzitivitás, anélkül hogy a testsúly változott volna. Ismert továbbá, hogy a fizikailag aktív életmód a BMI-től függetlenül is alacsonyabb fetuin-A szinttel társul [63].

A feltételezést alátámasztják Erdmann és mtsai eredményei, melyek szerint a fetuin-A szint emelkedés a súlygyarapodás korai szakaszában játszik a jelentős szerepet: a molekula emelkedett szintje elsősorban a normál testsúly – túlsúly átmenet során fontos [51]. Ugyanez az inzulinrezisztenciáról is elmondható volt. A normál inzulinérzékenységűek és az enyhe-közepes inzulinrezisztenciában szenvedők között volt markáns fetuin-A szint különbség [51]. A túlsúly-elhízás átmenetet már kisebb fetuin-A szint változás és inzulinrezisztencia emelkedés kísérte. Tehát a fetuin-A emelkedés elsősorban az elhízás és az inzulinrezisztencia korai szakaszára jellemző. A jelenség oka az lehet, hogy az egészségtelen életmód hatására már ebben a korai szakaszban létrejön a viszcerális zsírszövet felszaporodása, mely adipokinek termelésével aktív szerepet játszik az anyagcsere szabályozásában. A fetuin-A szintje pedig elsősorban a viszcerális típusú elhízást határozza meg [59].

Az egészségtelen életmód hatására tehát a fetuin-A emelkedés már a súlygyarapodás és a szénhidrát-anyagcsere zavar kialakulásának korai szakaszában létrejön, és már az obezitás és/vagy diabetes megjelenése előtt jelzi a kóros anyagcserét és a fokozott atherosclerosis rizikót.

A kardiovaszkuláris betegségben szenvedő, idősödő páciensekben a fetuin-A szintet moduláló másik tényező az életkor. Az életkor növekedésével az atherosclerosis progrediál, a metabolikus hatások mellett a fetuin-A érkalcifikációt gátló hatása válik egyre hangsúlyosabbá. A fetuin-A életkor szerinti eltérései a kardiovaszkuláris rizikófaktorok, az érelmeszesedés és a szív-érrendszeri betegségek esetében is megfigyelhetők.

Koch és mtsai vizsgálatában a 64 év alattiakban a fetuin-A szoros korrelációt mutatott a metabolikus szindrómával. Az idősebbekben azonban nem találtak ilyen összefüggést

[218]. Artéria kalcifikáció esetén alacsonyabb életkorban nem volt összefüggés a CAC progresszió és a fetuin-A szint között, míg idősebb betegekben alacsonyabb szintje már rossz prognózist jelentett [119, 120].

A kardiovaszkuláris betegségek incidenciáját, illetve a mortalitását vizsgáló prospektív vizsgálatokban is jól megfigyelhető az életkor szerinti különbség: a 2008-2009-ben közölt eredmények alapján a fiatalabb betegekben (átlag életkor 55, illetve 56 év) emelkedett szintje jelentett fokozott kockázatot [132, 133].

2012-ben azonban két, a fenti vizsgálatoknak ellentmondó közleményt is publikáltak. Laughlin és mtsai a Rancho Bernardo vizsgálat részeként elemezték az összefüggést a kezdeti fetuin-A szint és a kardiovaszkuláris mortalitás között [219]. A bevont 1658 CV betegségtől mentes lakost átlagosan 12 évig követték. Megfigyelésük alapján emelkedett fetuin-A szint esetén a tradicionális rizikófaktorok száma magasabb volt. Ennek ellenére a legalacsonyabb kvartilisbe tartozó betegek körében a CV mortalitás esélye 76%-kal magasabb volt a többi kvartilisű beteghez képest – abban az esetben, ha nem állt fenn diabetes. A diabeteses betegek körében azonban éppen ellentétes kapcsolatot figyeltek meg: az alacsony fetuin-A szintű diabetesesek körében 57%-kal volt alacsonyabb a mortalitás.

Jensen és mtsai a Cardiovascular Health Study részeként 3810 átlagos, ismert betegségtől mentes személyt vizsgáltak [120]. A betegek magas életkora (átlag 75 év) miatt meglehetősen sok CV esemény fordult elő a 10,9 éves követés során, összesen 1456. Bár a magas fetuin-A szintű betegekben gyakoribb volt számos kockázati tényező előfordulása (diabetes, obezitás, inzulinrezisztencia, lipideltérések, szubklinikus gyulladás), a kardiovaszkuláris halálozás mégis az alacsony fetuin-A szintű betegekben volt magasabb. Azonban cukorbetegség, elhízás, illetve inzulinrezisztencia fennállása esetén a negatív korreláció helyett – igaz, a szignifikanciát el nem érő mértékben – de pozitív összefüggést találtak.

A 73 éves betegekben tehát már az alacsony fetuin-A szint jelzett rossz prognózist, kivéve diabetesesekben, akikben emelkedett szintje továbbra is fokozott kardiovaszkuláris rizikóval társult [219]. A legidősebb betegek körében (átlagéletkor 75 év) a kockázatot jelentő alacsony koncentráció szintén megfigyelhető volt, de már a cukorbetegekben is csak nem szignifikánsan jelentett kockázatot a magasabb szint [120].

Kardiovaszkuláris betegségektől mentes viszonylag fiatal populációban emelkedett szintje összefügg az atherosclerosis kockázatával, előrejelzi az új diabetes kialakulását. Eddig az életkorig (55 év), emelkedett szintje fokozott kardiovaszkuláris rizikót jelez. Idős betegekben (70 év felett) a csökkent fetuin-A koncentráció az ér kalcifikáció progresszióját nem tudja lassítani, emiatt alacsony szintje jelent rossz prognózist. Alacsony szintje idős korban különösen hasznos lehet a magas CV rizikójú, de kevés tradicionális rizikófaktorral rendelkező páciensek azonosításában (nők, metabolikus zavaroktól mentes betegek). Idős betegekben azonban diabetes, inzulinrezisztenciával járó obezitás megléte esetén szintje magas maradhat.

Vizsgálatunk alapján, amennyiben az obezitás, cukorbetegség, egészségtelen életmód magas arányban van jelen az atherosclerosisban szenvedő betegek körében, úgy a fetuin-A emelkedett szintje még 60 év felett is jelzi a fokozott kockázatot. Ix, Jensen szerint az átmenet a magasabb szint felől az idős korral járó alacsonyabb szint felé 62-73 év között következhet be a metabolikus betegségek, vesebetegség és egyéb atherogén rizikótényezők (dohányzás) interakciójaként. A metabolikus szindróma és fetuin-A közötti összefüggés is ebben az életkor tartományban tűnik el [218].

A fetuin-A szint tehát csökken az életkor előrehaladtával és az atherosclerosis progressziójával. A rossz anyagcsere-helyzet azonban felülírhatja a csökkenés irányába ható tényezőket.

A fetuin-A szintet az érelmeszesedést kísérő szubklinikus gyulladás is módosíthatná. A fetuin-A negatív akutfázis fehérje, így szintje csökkenhetne az atherosclerosist kísérő gyulladás során.

Akut infarktusban többen leírták a molekula szérum szintjének csökkenését [129, 130], de a heveny gyulladással szövetpusztulással járó állapot aligha modellezheti a szubklinikus gyulladással járó atherosclerosist. Kohorsz vizsgálatokban is negatívan korrelált azonban a fetuin-A és a CRP [49, 220]. Az oki összefüggés azonban kérdéses, hiszen a korreláció erősség rendkívül alacsony volt ($r = 0,08$ és $r = 0,10$). Ezért megvizsgáltuk, hogy a fetuin-A korrelál-e a szubklinikus gyulladás markereivel. Elemeztük, hogy a kapcsolat szorossága hogyan viszonyul a molekula metabolikus faktorokkal való kapcsolatának erősségéhez. Az anyagcsere-markerekkel szemben a gyulladásos molekulákkal (CRP, rezisztin, TNF-α) a fetuin-A nem mutatott összefüggést. Eredményeink egybecsengenek Hanefeld és mtsai következtetésével. Ők

azt találták, hogy a gyógyszeres kezelés során a fetuin-A és a CRP változása nem korrelált egymással, így a két molekula közötti oki kapcsolatot valószínűtlennek tartották [221].

Az atherosclerosisban szenvedő betegek általában kiterjedt gyógyszeres kezelésben részesülnek, mely befolyásolhatja a vizsgálatok során talált szérum fetuin-A szintet. Mori és munkatársai T2DM-ben igazolták, hogy a pioglitazon kezelés hatására a fetuin-A szintje csökken. Vizsgálatukban a metformin ilyen hatását nem tudták kimutatni [73]. Haukeland és mtsai NAFLD-ben szenvedő betegeket vizsgáltak, in vitro pedig HepG2 sejteken elemezték a metformin hatását. A metformin kezelés csökkentette a betegek fetuin-A koncentrációját. In vitro a májsejtek metformin kezelése dózis-dependens módon gátolta a sejtek fetuin-A termelését [67]. A kevésbé elterjedt niacinról is közölték, hogy csökkenti a fetuin-A szintjét [213]. Újabban a sztatin terápiában részesülők alacsonyabb fetuin-A szintjét is leírták [83]. A már említett „Rancho Bernardo" vizsgálatban az ösztrogén terápia a magas, míg a mérsékelt alkoholfogyasztás az alacsonyabb fetuin-A szinttel korrelált [219]. A közelmúltban célzottan is vizsgálták a mérsékelt alkoholfogyasztás hatását a fetuin-A szintre és hasonló eredményt kaptak [222]. Vizsgálatunkban azonban emelkedett fetuin-A szintet találtuk posztinfarktusos betegekben, így a csökkenés irányába ható gyógyszerek eredményeinket aligha befolyásolták. Nők esetében közöltek emelkedett szérum fetuin-a szintet [209], ami esetleg befolyásolhatta eredményeinket, hiszen a férfi/nő arány eltért a betegek és a kontroll személyek között. A vizsgált személyek között azonban nem találtunk nemek szerint eltérő fetuin-A szintet.

5.2 A szérum ghrelin szint szívinfarktuson átesett betegekben

Infarktuson átesett betegekben alacsonyabb szérum ghrelin koncentrációt találtunk a kontroll személyekhez viszonyítva. Az eddigi tanulmányok többsége az atherosclerosis diagnózisát a CIMT mérésére alapozta, és ellentmondásos eredményeket közöltek. A korai, nagy esetszámú tanulmányokban nem szelektált betegcsoportot vontak be, és pozitív korrelációt találtak a szérum ghrelin szint és a carotis atherosclerosis között [142, 143]. Kadoglou és mtsai azonban csökkent ghrelin szintet igazoltak koronária betegekben [141]. Több tanulmányban a szérum ghrelin szint és a carotis intima média

vastagság aránya negatívan korrelált [138-140]. Eredményeink a koronária atherosclerosisban kialakuló alacsonyabb szérum ghrelin szint mellett szólnak.

A klinikai gyakorlatnak megfelelően a beválasztott betegek heterogén csoportot alkottak, sokan közülük elhízottak és diabetesesek voltak. Az elhízott, illetve cukorbeteg páciensek körében megfigyelhető alacsonyabb ghrelin szint így eredményeinket megmagyarázhatná [146, 223]. Ugyanakkor a nem elhízott és nem diabeteses posztinfarktusos betegek szérum ghrelin szintje is alacsonyabb volt a kontroll személyekénél. Valószínű, hogy a ghrelin szint csökkenése az érelmeszesedésben szenvedő betegek széles skáláján megfigyelhető, így az atherosclerosis korai jele lehet.

Elemeztük a szérum ghrelin szint kapcsolatát az inzulin és más adipokin szintekkel, annak tisztázása céljából, hogy mely molekulák játszhatnak szerepet a koronáriabetegekben megfigyelhető alacsony ghrelin koncentráció kialakulásában. A szérum inzulin szint bizonyult a ghrelin koncentráció legerősebb és független meghatározójának.

A szérum ghrelin szint szerepét a szénhidrát-anyagcserében számos vizsgálatban elemezték, az eredmények azonban némileg ellentmondásosak. Az acil-ghrelinről ismert, hogy gátolja az inzulin szekrécióját [145], így ez az összefüggés megmagyarázhatná az általunk talált negatív korrelációt. A közlemény megjelenését követően ezen összefüggés jelentőségét hamar megkérdőjelezték, mivel az élettaninál jóval nagyobb koncentráció váltotta ki az inzulin-elválasztás csökkenését [224]. Amennyiben a ghrelin szint szerepet játszana az inzulin elválasztás csökkentésében és így a szénhidrátanyagcsere-zavar kialakulásában, úgy diabetesben, elhízásban és atherosclerosisban is emelkedett szintet várnánk. A posztinfarktusos betegekben általunk talált, és a korábbi tanulmányokban elhízott és diabeteses betegekről közölt alacsonyabb koncentráció [146, 223, 225] valószínűtlenné teszi, hogy az inzulin – ghrelin korreláció hátterében a fenti összefüggés állna. Eltérő magyarázat lehetne az összefüggésre, hogy az inzulinrezisztenciát kísérő emelkedett inzulin- (és vércukor) szint a ghrelin termelés csökkenéséhez vezetne. Ismert, hogy mind az inzulin [226], mind a cukorterhelés [227] a ghrelin szérum szintjének csökkenéséhez vezet. A ghrelint aktív formájává hasító ghrelin-O-aciltranszferáz enzim aktivitását is gátolja az inzulin [228], így eredményeinket ez a hatás is magyarázhatja.

A szérum inzulin szintet magasabbnak találtuk cukorbetegekben a diabetesben nem szenvedőkhöz képest. Érdekes módon az emelkedett inzulin szinthez nem társult alacsonyabb ghrelin koncentráció a diabeteses betegekben, és ebben a betegcsoportban a két molekula nem korrelált egymással. Több tanulmány is leírta, hogy az inzulin hatására csökken a ghrelin szint, de ezt az összefüggést a diabetes és az elhízás is befolyásolja. Sondegaard és mtsai normál testsúlyú, viszcerálisan és perifériásan elhízott betegekben vizsgálták a szérum ghrelin szint változását hiperinzulinémiás euglikémiás clamp során [229]. Az inzulin hatására kialakuló ghrelin szint csökkenés mértéke legkifejezettebb a sovány csoportban volt. A perifériásan elhízottakban mérsékeltebb, a centrális obezitásban szenvedőkön pedig egészen enyhe szérum ghrelin szint csökkenés alakult ki. A három csoport ghrelin szintje az inzulinhatás végére közel egyforma volt. Anderwald és mtsai T2DM-ban szenvedő betegek és egészséges kontroll személyekben vizsgálták az euglikémiás clamp hatását a szérum ghrelin szintre [230]. Az egyre emelkedő inzulin hatására az egészséges személyekben progresszíven csökkent a ghrelin szint. Diabeteses páciensekben azonban a ghrelin szint csökkenése lényegesen kisebb volt. A diabeteses betegek szénhidrát-anyagcseréjét ezután inzulinkezeléssel rendezték. Az inzulinkezelést követően végzett clamp során a ghrelin szint csökkenése már nem jelent meg.

Ezen adatok alapján feltételezzük, hogy az emelkedő inzulin szint hatására a ghrelin szint az egyénileg meghatározott legalacsonyabb koncentrációra csökken. A diabetesben és elhízásban megfigyelhető alacsonyabb szint esetében ezért a csökkenés már mérsékeltebb lesz az egészséges kontroll személyekhez képest. Az inzulin szint további, akár kóros mértékű emelkedését ezért már nem, vagy csak minimális mértékű további ghrelin szint csökkenés kíséri. Úgy véljük, hogy a normál testsúlyú és nem cukorbeteg posztinfarktusos betegekben megfigyelt emelkedett inzulinszint elégséges ahhoz, hogy a ghrelin szintet közel maximálisan szupprimálja. Így a 2-es típusú cukorbetegekben talált még magasabb inzulinszint már nem eredményezett további szignifikáns ghrelin koncentráció csökkenést.

A szérum ghrelin és adiponektin szint között pozitív korrelációt találtunk, mely a testsúlyra és nemre történő igazítás után is szignifikáns maradt. A két molekula közötti kapcsolatról nem rendelkezünk részletes ismeretekkel. Eredményeinkhez hasonlóan pozitív korrelációt írtak le posztmenopauzában lévő [231], illetve inzulinrezisztenciától

mentes nőkben [147]. Humán vizsgálatokban az acilált-ghrelin intravénás adagolásának hatására az adiponektin szint csökkenését [232] és változatlan szintjét is közölték [148]. Az adiponektin hatását a ghrelin szintre tudomásunk szerint még nem vizsgálták. Elképzelhető, hogy az alacsony adiponektin szint is hozzájárul a koszorúér betegekben általunk talált csökkent szérum ghrelin szinthez.

A szérum ghrelin és leptin koncentráció között nem találtunk összefüggést. Bár Ukkola és mtsai negatív korrelációt közöltek a két molekula szintje között [143], mások nem találtak hasonló összefüggést [149, 233]. Az ellentmondásos eredmények értelmezését Erdman és mtsai munkája segítheti [150]. Eredményeik alapján a normás testsúlyú és inzulin szintű páciensekben a ghrelin szint szabályozásában a leptin szerepe is felmerül, és ebben a betegcsoportban a két molekula között negatív korreláció figyelhető meg. Az elhízott és/vagy hyperinzulinaemiás betegekben azonban a leptin szabályozó szerepe már elenyésző, és a két molekula között nem figyelhető meg kapcsolat. A vizsgálatunkba bevont posztinfarktusos páciensek közül sokan elhízottak, illetve cukorbetegek voltak. A normál testsúlyú és diabetesben nem szenvedő betegekre is jellemző volt a hyperinzulinaemia. Így, Erdman eredményeivel összhangban, ezen betegek körében a leptin és ghrelin szint között nem találtunk kapcsolatot, hiszen az alacsony szérum ghrelin koncentráció kialakításában az emelkedett inzulinszint szerepe a domináns.

A fetuin-A és az adiponektin közötti atherosclerosisban fennálló kapcsolat saját [234] és mások munkája [78] alapján is ismert. A szérum ghrelin szinttel azonban nem találtunk összefüggést.

Az atherosclerosis kialakulásában és progressziójában a szubklinikus gyulladás fontos szerepet játszik [84]. A miokardiális infarktus során a szövetkárosodás azonban heveny gyulladásos választ vált ki, mely 2-3 hét alatt cseng le [235]. A gyógyulási fázis 4-6 hétig tart [236], ezt követően már a szöveti regeneráció és a remodelling folyamata dominál [237]. Vizsgálatunkba a betegeket 6-24 hónappal a szívinfarktus lezajlása után vontuk be, így az akut gyulladás nem befolyásolta eredményeinket. A betegeknek heveny fertőzésük sem volt a vérvétel időpontjában. A szubklinikus gyulladás megléte azonban, az emelkedett TNF-α és rezisztin szint alapján, igazolható volt a posztinfarktusos betegek körében. Az acilált-ghrelin eltéréseit gyulladásos állapotokban már többen közölték. Krónikus gyulladással járó betegségekben emelkedett szintjét

találták [238, 239]. In vitro és in vivo állatkísérletek alapján a ghrelin mérsékli a TNF-α és más citokinek hatására létrejövő gyulladást, elsősorban a TNF-α és más interleukinek termelődésének gátlásával [151, 152]. Összességében tehát a gyulladásos állapotokban megfigyelt emelkedett ghrelin szint és az inflammatórikus citokinek termelődésének gátlása alapján valószínű, hogy a ghrelin a szervezetet védő szerepet tölt be a gyulladásos állapotokban. Vizsgálatunkban a szérum ghrelin és TNF-α szint között azonban nem találtunk kapcsolatot. Valószínű, hogy az atherosclerosisban meglévő mérsékelt gyulladás ghrelin szintet emelő hatása nem mérhető a molekula termelődését gátló magas inzulinszint hatásához.

Az irányelveknek megfelelően a betegek preventív gyógyszeres kezelésben részesültek, ami a szérum ghrelin szintet esetleg befolyásolhatta. A sztatin- és fibrátkezelésről azonban ismert, hogy a ghrelin szintet nem befolyásolják [240, 241]. Az orális antidiabetikumok (rosiglitazon, metformin) hatására a ghrelin szint emelkedik, vagy változatlan marad [242]. Az általunk talált alacsony szérum koncentráció kialakításában valószínűleg nem játszott szerepet a gyógyszeres kezelés. A betegek és kontroll személyek között a férfi/nő arány eltért. Korábban azonban érelmeszesedésben szenvedő betegekben nem találtak eltérést a férfiak és nők ghrelin koncentrációjában [142]. Ilyen különbség a beválasztott betegek és kontroll személyek között sem volt, így úgy gondoljuk ez az eltérés nem befolyásolta eredményeinket.

5.3 A szérum adipokin koncentráció kombinált alkalmazása

A kardiovaszkuláris betegségek a halálozás vezető okai a fejlett országokban és a fejlődő országok többségében is [1]. A megelőzés legfontosabb lépése a veszélyeztetett betegek megtalálása, mely lehetővé teszi a preventív kezelés megkezdését. A létező prediktív modellek eredményességének javítása céljából számos citokin szerepét vizsgálták az elmúlt évek kutatásaiban – az eredmények azonban meglehetősen szerények [8]. Az új biomarkerek prediktív értékének javítása céljából több kutatócsoport vizsgálta egyes adipokinek kombinációt. A molekulák kiválasztása legtöbbször véletlenszerűen történt, az adott kutatócsoport profiljának megfelelően. Vizsgálatunk alapján az infarktust kiállott beteg körében bizonyos biomarkerek között szorosabb összefüggés figyelhető meg, míg mások között lényegesen gyengébb. Az egymással szorosan korreláló molekulák meghatározása kevés új információt adhat a

csoport legnagyobb súlyú molekulájának méréséhez képest. Ezen molekulák valószínűleg az anyagcsere / szubklinikus gyulladás / plakk stabilitás / thrombózishajlam hasonló aspektusaival korrelálnak, és együtt változik a szintjük. Ellenben a különböző csoportba sorolható, egymással távoli kapcsolatban álló molekulák valószínűleg az atherosclerosis más-más kóros folyamatát jellemzik. A szoros kapcsolatot nem mutató molekulák együttes vizsgálata segítheti az atherosclerosisban szenvedő betegek pontosabb azonosítását. Vizsgálatunkban mind a ghrelin, mind a TNF-α markánsan eltért a beteg és kontroll csoport között. A két molekula között gyenge korreláció állt fenn, a faktor analízis alapján külön csoportba tartoztak. A ghrelin szintjét – vizsgálatunk alapján [243] – elsősorban az emelkedett inzulinszint és csökkent adiponektin szint határozza meg. A TNF-α pedig a szubklinikus gyulladás ismert markere [244], így a két molekula az atherosclerosis kialakulásában, progressziójában eltérő mechanizmussal játszik szerepet. A ghrelin és TNF-α tehát külön-külön is hatékony lehet az atherosclerosis felismerésében, a köztük megfigyelhető gyenge kapcsolat alapján hányadosuk pedig értékes többlet információt nyújthat. A betegek és kontroll személyek között a TNF-α / ghrelin hányados szignifikáns eltérést mutatott. Az alacsony ghrelin és magas TNF-α szintű (azaz a magas TNF-α / ghrelin hányadosú) alanyok több mint 11-szeres eséllyel tartoztak a posztinfarktusos csoportba. A két molekula hányadosa hasznosnak bizonyulhat az atherosclerosis diagnózisában és előrejelzésében, de ennek megerősítésére követéses vizsgálatok szükségesek.

5.4 A fetuin-A csökkent szintje a túlélés pontos és megbízható prediktora alkoholos májzsugorban

Vizsgálatunkban a szérum fetuin-A szint az alkoholos májcirrhosisban szenvedő betegek 1 éves halálozásának független prediktorának bizonyult.

Az (alkoholos) cirrhosisban szenvedő betegek közül a magas halálozási rizikójú betegek kiválasztásának nagy jelentősége van. Sajnálatos módon a cirrhosis konzervatív kezelésének lehetőségeiben áttörés nem történt az elmúlt évtizedekben. A gyógyszeres kezelés elsősorban tüneti kezelést jelent, melyet szuportív táplálkozás segíthet. A már kialakult cirrhosisban az alkoholfogyasztás tovább rontja a prognózist [174], ezért az absztinencia elérése és fenntartása kiemelkedő jelentőségű. Az utóbbi években az addiktológiai gondozás, a rehabilitációs kezelés és az anonim alkoholista csoportok

segítségével az a cél elérhetőbbé vált. A gondozói kapacitás azonban korlátozott, így célszerű a lehetőségeket a súlyos prognózisú betegekre fókuszálni.

A gyógyszeres kezelés korlátozott szerepe mellett a májtranszplantáció térnyerése alkoholos májbetegségben is megfigyelhető. Fontos, hogy a rossz prognózisú betegek időben kerüljenek transzplantációra. Amennyiben az egy éves túlélés esélye 10% alá csökken, a májátültetés mindenképp indikált [175]. Az egy éves mortalitás pontos becslése így kiemelkedő jelentőségű. Vizsgálatunkban a szérum fetuin-A szint önmagában is kiváló hatékonysággal jelezte előre az egyéves mortalitást. Az alacsony fetuin-A szintű betegek körében a mortalitás 85,7%-os, míg a vágópont feletti koncentráció esetén mindössze 9,3%-os volt.

Az alacsony fetuin-A szint az egy hónapos mortalitás független prediktora [163], így felmerülhet, hogy csak a rendkívül rossz prognózisú, gyakran egy hónapon belül exitáló betegek azonosítására alkalmas. Számításainkat ezért elvégeztük az első egy hónap figyelmen kívül hagyásával is. A kapott eredmények érdemben nem változtak, így kijelenthető, hogy az alacsony fetuin-A az egyéves mortalitást is pontosan előrejelzi.

A túlélt és elhunyt betegek között több paraméter esetében is szignifikáns különbséget találtunk: a legmarkánsabban a hematokrit, kreatinin, bilirubin, INR és albumin értékek tértek el. A többváltozós analízis során azonban csak a fetuin-A bizonyult a mortalitás független prediktorának.

A májcirrhosisban szenvedő betegek egy hónapos túlélésének előrejelzésben munkacsoportunk korábban hematokritot is független markernek találta [163]. A hematokrit azonban major vagy mikroszkopikus vérzés, illetve akutan szükségessé váló transzfúzió kapcsán is jelentősen változhat, így önmagában valószínűleg nem alkalmas a mortalitás megbízható becslésére.

A fetuin-A szintje a követés során azonban az egyes páciensekben lényegesen nem változott. Bár az egyes fetuin-A koncentráció kvadránsokban megfigyelhető volt enyhe emelkedés az átlagértékben a követés során, ez a változás elsősorban az elhalálozott – és így a további analízisből kieső – betegek alacsony szérum fetuin-A koncentrációjának volt köszönhető. A szérum fetuin-A szint így mortalitás stabil és megbízható prediktorának tekinthető.

Az alkoholos májcirrhosisban szenvedő betegek laboratóriumi paramétereit és mortalitását számos körülmény befolyásolja, mely a halálozás előrejelzését is nehezíti.

Zavaró tényező az akut gyulladás, fertőzés, illetve az alkoholfogyasztás újrakezdése is. Megvizsgáltuk azokat az alcsoportokat ahol a fenti tényezők előfordultak. Eredményeink alapján ezek a zavaró hatások a fetuin-A koncentrációt érdemben nem változtatták meg, prognosztikai erejét nem gyengítették.

A gyulladásos citokinek hatására a pozitív akutfázis fehérjék szintézise nő, míg a fetuin-A szintézise csökken [86, 245]. Vizsgálatunkban az egy éves követés során a fetuin-A és a negatív akutfázis fehérje transzferrin között erős pozitív korrelációt figyeltünk meg. A gyulladás legelfogadottabb paramétere ma a szérum CRP koncentráció emelkedése. Bár a teljes vizsgálati időszak alatt a fetuin-A és a CRP szignifikánsan korrelált, a második hónaptól azonban ez az összefüggés már nem volt megfigyelhető. A pozitív akutfázis fehérjeként ismert orozomukoiddal sem találtunk szignifikáns korrelációt. A CRP ezek kívül nem különbözött szignifikánsan a túlélt és az elhalálozott betegek között. Kalabay és mtsai korábbi vizsgálatukban az 1 hónapos követés során is szorosabb összefüggést találtak a májfunkció paramétereivel, mint a gyulladásos értékekkel alkoholos májcirrhosisban [163]. Bár a fetuin-A alacsony szintje szepszisben rossz prognózissal társul, májérintettség nélkül is [87, 88], valószínű, hogy a cirrhosisban megfigyelhető mérsékeltebb gyulladás nem befolyásolja érdemben szintjét. A gyulladással járó csökkenése valószínűleg nem mérhető a májsejtek pusztulása miatt létrejövő alacsonyabb szintézishez, bár mindkét hatás alacsonyabb szérum koncentráció eredményez, és így a mortalitás prognózisát még segítheti is.

A kérdéses szerepű gyulladástól eltekintve a fetuin-A alacsony szintje két okból is hatékony prognosztikai faktor. Egyrészt alacsony szintje a máj működését jól jellemzi, szintje nem hullámzó és zavaró hatások kevésbé befolyásolják. Másrészt a fetuin-A a máj fibrosisa, cirrhosisa során fontos védő funkciót tölt be.

A májfibrosis, cirrhosis során az aktiválódott, az apoptózist elkerülő csillagsejtek fokozott proliferációja és kollagéntermelése a legfontosabb patológiai folyamat [184]. A fetuin-A gátolja a csillagsejtek fokozott kollagénszintézisét. Ez a hatása csak részben magyarázható azzal, hogy a fetuin-A a TGF-β antagonistája. Hatása ennél lényegesen komplexebb lehet, hiszen a monocyta médium hatására kialakuló kollagénszintézist a fetuin-A gátolta, míg az anti-TGF-β nem. A TGF-β nem csak a csillagsejtek kollagéntermelését fokozza, hanem túlélésüket is. A fetuin-A azonban elősegíti a TGF-β hatására folyamatosan aktivált állapotban lévő csillagsejtek apoptózisát [193]. A

májcirrhosis előrehaladtával a hepatociták száma csökken, a máj szintetizáló képessége hanyatlik. Az egyre kisebb mennyiségben termelődő fetuin-A védő hatása így kiesik. A cirrhosis progresszióját elősegítheti, hogy a TGF-β-t a májat infiltráló makrofágok és csillagsejtek termelik, így szekréciója a májzsugor előrehaladtával egyre emelkedik [246].

A csillagsejtek proliferációjában, kollagéntermelésében a PDGF is fontos szerepet játszik. A pentoxifyllin, mely a PDGF hatását a posztreceptor szignál blokkolásával gyengíti, védő hatásúnak bizonyult mind alkoholos hepatitisben, mind cirrhosisban [247]. A fetuin-A terápiás haszna egyelőre nem ismert, de mint a TGF-β és más fibrosist okozó citokinek antagonistája a lehetőség mindenképp felmerül.

Az egyes paraméterek bizonytalansága és a hatékonyság növelése céljából a mortalitás becslésére a különböző pontrendszerek alkalmazása terjedt el. A májtranszplantáció során a rossz prognózisú betegek kiválasztására a MELD pontszám alkalmazása az elfogadott [248].

Mind a fetuin-A, mind a MELD pontszám magas szenzitivitással és specificitással jelezte előre a rossz prognózist, azonban a fetuin-A prognosztikai értéke meghaladta a MELD pontszám értékét. Mivel mindkét paraméter pontos volt a mortalitás becslésben kombinált alkalmazásuk tovább növelte ez előrejelzés pontosságát. Az alacsony fetuin-A szint és 20 feletti MELD pontszám együttes fennállása esetén a prognózis azonban rendkívül rossz volt. Az alacsony fetuin-A szintű és a magas MELD pontszámú betegek csoportjai nem fedtek át teljesen, így a két prognosztikai faktor együttes alkalmazása tovább javítja a mortalitás előrejelzésének pontosságát.

A hepatitisekben ellentmondásos eredmények [161, 163, 189] hátterében a változó mértékű gyulladás mellett a májsejtpusztulás különböző mértéke és a még meglévő hepatociták eltérő száma is szerepet játszhat. A fetuin-A kiváló prediktor elsősorban valószínűleg akkor lehet, ha a májsejtpusztulás már jelentősen előrehaladott. Így leginkább a cirrhosis diagnózisában és a súlyos prognózisú májbetegségek mortalitásának előrejelzésében lehet hasznos.

A fetuin-A meghatározására az immundiffúzió mellett e kereskedelmi forgalomban többféle ELISA kit is beszerezhető, így rutin alkalmazása sem ütközik nehézségekbe. Az alkoholos cirrhosisban szenvedő betegek prognózisának meghatározásában így a klinikumban is egyszerűen alkalmazható.

5.5 *A szérum fetuin-A Wilson-kórban*

Korábbi vizsgálatainkban alkoholos és primer biliáris cirrhosisban alacsonyabb fetuin-A szintet igazoltunk [162, 163]. Ezen eredményeinkkel összhangban májcirrhosisban szenvedő Wilson-kóros betegekben is alacsonyabb fetuin-A koncentrációt találtunk.

Az összefüggés hátterében valószínűleg a máj szintetizáló képességének csökkenése állhat. Emellett szól, hogy a fetuin-A koncentráció a legszorosabb összefüggést az összfehérje szinttel mutatta. Korábbi vizsgálatainkban alkoholos májcirrhosis esetén is a májfunkció markerének találtuk a fetuin-A-t, negatív akutfázis tulajdonsága kevésbé bizonyult dominánsnak [205]. A fetuin-A szintézis zavara valószínűleg nem specifikus Wilson-kórban megjelenő cirrhosisra. Részben mert más – súlyos májkárosodással járó – kórképekben is alacsonyabb szintet találtunk, részben mert a fetuin-A szint nem korrelált a göruloplazmin szinttel. A közép-európai régióban a leggyakoribb ATP7B polimorfizmus Wilson-kórban a H1069Q mutáció [196]. Vizsgálatunkban nem találtunk összefüggést a H1069Q mutáció és a szérum fetuin-A szint között, bár ennek megbízható vizsgálatához nagyobb elemszámra lenne szükség.

A máj működési zavarának progressziója – adekvát kezelés mellett – Wilson-kórban általában lassú folyamat [196]. Az évekig tartó progressziót valószínűleg a fetuin-A koncentráció csökkenése kíséri. Erre utal, hogy a fetuin-A szint és a betegség fennállási ideje között szignifikáns pozitív korrelációt találtunk. A jelentős fetuin-A szint csökkenéshez – a kellően hosszú betegkarrieren túl – a máj szintetizáló képességének jelentős csökkenése szükséges. A megfelelően gondozott és kezelt Wilson-kóros betegek jelentős részében a májműködés zavara nem alakul ki, vagy minimális mértékű. Vizsgálatunkban ennek megfelelően még a májérintettség fennállása esetén is a normális transzamináz aktivitást, szérum bilirubin és összfehérje szintet és INR-t találtunk. A számottevő májkárosodás hiánya így a Wilson-kóros betegekben, még májérintettség esetén is normális fetuin-A koncentrációval társult.

Az időben felismert és kezelt Wilson-kór esetén a prognózis jó, általános a több évtizedes túlélés [196]. A májkárosodás gyakran lassan alakul ki, illetve mérsékelt fokú. Bár a cirrhosis is sokszor tünetmentes, illetve minimális laboratóriumi eltérésekkel jelentkezik, kialakulása nem tekinthető ritkaságnak. Moores és mtsai vizsgálatában a gondozásba vont Wilson-kóros betegek több mint felében már igazolható volt a májzsugor, még a teljesen tünetmentes betegekben is előfordult [203].

Az alacsony fetuin-A koncentráció elsősorban a cirrhosis, illetve a súlyos májkárosodás markerének tekinthető. Így nem meglepő, hogy a megfelelően gondozott Wilson-kóros betegekben – májérintettség esetén sem – volt alacsonyabb a szintje. Súlyosabb májkárosodás esetén (Nazar pontszám 1-4) a fetuin-A szint csökkenése már megjelent, a legmarkánsabb pedig májcirrhosis esetén volt.

A cirrhosis betegek felismerése Wilson-kórban nagy jelentőséggel bír, hiszen az esetek egy részében a májtranszplantáció is indokolt lehet [249]. Vizsgálatunkban a fetuin-A koncentráció a cirrhosisos betegek azonosítására alkalmasnak bizonyult, még az enyhe eltérésekkel járó formákban is. Alacsony szintje mellett a májzsugor kockázata közel négyszeresére nőtt.

A fetuin-A szint csökkenésének májcirrhosisban – mint azt az előző fejezetben már kifejtettük – kettős jelentősége van. Egyrészt a máj szintetizáló képességének csökkenését jelzi az egyre alacsonyabb glikoprotein szint. Másrészt a fetuin-A védő szerepet tölt be májcirrosisban, így alacsonyabb szintje mellett a betegség progressziója felgyorsulhat. A fetuin-A gátolja a TGF-β és más citokinek hatására kialakuló fokozott kötőszövet képződést a máj csillagsejtjeiben. Emellett elősegíti ezen kórosan aktiválódott sejtek apoptózisát [193].

Korábbi munkáinkban alkoholos májcirrhosis esetén a túlélés becslésében a 310 / 365 µg/ml-es fetuin-A koncentráció bizonyult ideális vágópontnak [163, 205]. Wilson-kóros betegek esetén azonban ennél lényegesen magasabb vágópontot találtunk a ROC analízis során. Az eltérés hátterében több tényező is meghúzódhat. A Wilson-kóros betegek szorosabb gondozás alatt álltak, mint az alkoholos májcirrhosisban szenvedő páciensek. Így a cirrhosis, ha ki is alakult, enyhébb formában zajlott, minimális laboratóriumi eltérésekkel. A mérsékeltebb májkárosodás Wilson-kórban így magasabb fetuin-A szintet eredményezhet vágópontként. A mérsékeltebb eltérések azonban azt is jelentik, hogy Wilson-kórban a májcirrhosis alattomosan alakul ki, felismerése késhet. Ebből a szempontból a fetuin-A koncentráció mérése segítheti a korai diagnózist. Alkoholos májcirrhosisos betegekben a határérték fetuin-A koncentráció megállapítása a mortalitás becslés céljából történt [205]. A halálozás fokozott rizikójával járó fetuin-A szint feltehetőleg lényegesen alacsonyabb, mint a cirrhosisos betegek felismeréséhez használható koncentráció. A vizsgálatok közötti ezen eltérés is magyarázhatja a lényegesen magasabb határérték koncentrációt Wilson-kórban. A Wilson-kóros betegek

életkora lényegesen alacsonyabb volt, mint az alkoholos cirrhosisos betegeké (37 ± 12 vs. 54 ± 13 év) [205]. A fetuin-A szint az életkor előrehaladtával csökken [90], és ez is hozzájárulhatott a két csoport közötti különbség a fetuin-A koncentráció vágópontjában talált különbséghez.

6. Következtetések

1. A fetuin-A szintje emelkedett infarktust kiállott betegekben. A glikoprotein szintje – nem szignifikánsan – emelkedett diabeteses és obez betegekben, pozitívan korrelál az adiponektin és leptin szintekkel. A fetuin-A a legszorosabb összefüggést az adiponektin koncentrációval mutatja, utóbbi protein szintjének független meghatározója.
2. A kardiovaszkuláris betegekben is megfigyelhető a fetuin-A szintjének csökkenése az életkor előrehaladtával és az erek kalcifikációjával párhuzamosan. Metabolikus zavarok, diabetes, elhízás fennállása esetén a fetuin-A szint még 60 év felett is emelkedett maradhat a korábbi adatok alapján feltételezett 55-56 év helyett.
3. Bár a fetuin-A ismert negatív akutfázis fehérje, posztinfarktusos betegekben szintje a gyulladásos citokinekkel nem mutat összefüggést. Az atherosclerosist kísérő szubklinikus gyulladással szintje nem mutat kapcsolatot.
4. A szérum dezacil-ghrelin szintje csökkent infarktust kiállott betegekben és szoros negatív korrelációt mutat az inzulin szinttel.
5. A szubklinikus gyulladással a ghrelin szint nem mutat kapcsolatot.
6. A TNF-α és ghrelin szintje markánsan eltér a kontroll személyek és az infarktust kiállott betegek között. A két molekula között nincs kapcsolat ezen betegcsoportban. A TNF-α / ghrelin hányados hatékonyan különíti el a kontroll személyeket a posztinfarktusos betegektől.
7. Alkoholos májbetegségben az alacsony fetuin-A szint az egyéves túlélés pontos, megbízható és független prediktora.
8. A fetuin-A alacsony szintje a károsodott májműködés és nem a gyulladásos folyamatok következménye.
9. Az alkoholos májbetegség eredetű mortalitás szempontjából a fetuin-A szint szenzitivitása, specificitása és prediktív értéke magasabb, mint a Child-Pugh vagy MELD score. A MELD score kiegészítése a fetuin-A szint mérésével segíti a magas mortalitás rizikójú alkoholos májbetegek azonosítását.
10. Wilson-kórban a fetuin-A koncentráció nem csökkent, még fennálló májérintettség esetén sem. A H1069Q mutáció a szérum fetuin-A szintet nem befolyásolja.

Wilson-kóros betegekben az alacsony fetuin-A szint a cirrhosisos betegek azonosítását segíti.

7. Összefoglalás

Az új biomarkerek vizsgálata segíti az atherosclerosis folyamatának megértését, a mortalitás előrejelzését és új terápiás lehetőségek megtalálását. Az egyes molekulák prediktív értéke azonban szerény, a biomarkerekből képzett hányadosok vizsgálata azonban hasznosnak bizonyulhat. A fetuin-A az érelmeszesedés több rizikótényezőjével, így az elhízással és diabetesszel is pozitívan korrelál. A ghrelinnnek számos kardioprotektív tulajdonsága ismert. Ezen molekulák szintjének vizsgálata érbetegekben azonban ellentmondásos eredményeket hozott. A fetuin-A a májban termelődő glikoprotein, így májbetegségekben diagnosztikai alkalmazása is felmerül.

Szívinfarktust kiállott betegekben a fetuin-A szérum szintjét emelkedettnek találtuk kontroll személyekhez viszonyítva. Ez az eltérés nem elhízott és nem cukorbeteg páciensekben is megfigyelhető volt. A fetuin-A a legszorosabb kapcsolatban az adiponektinnel állt, míg a szubklinikus gyulladás markereivel nem mutatott összefüggést. Saját kutatásunk és irodalmi adatok alapján a fetuin-A szintje érelmeszesedésben szenvedő betegekben az életkor előrehaladtával csökken, metabolikus zavarok fennállása esetén azonban szintje tartósan magas maradhat. A szívinfarktuson átesett betegek szérum ghrelin szintje alacsonyabb volt a kontroll személyekénél. A ghrelin szint pozitívan korrelált az adiponektin és negatívan a szérum inzulin szinttel. Az alacsony ghrelin szint hátterében az egészségtelen életmód kapcsán kialakuló energiatöbblet állhat, és az atherosclerosis korai jele lehet. A szérum ghrelin és TNF-α markánsan eltért a beteg és kontroll csoport között, köztük gyenge interakció állt fenn, ezért ennek a két molekulának a hányadosát elemeztük. A TNF-α / ghrelin hányados hatékonyan különítette el az infarktust kiállott betegek és a kontroll személyek csoportját.

A fetuin-A alkoholos májcirrhosisban szenvedő betegekben alacsonyabb volt a kontroll személyekhez viszonyítva. Alacsony szintje pontosan és más klinikai paraméterektől és zavaró tényezőktől függetlenül jelezte előre a betegek egyéves mortalitását.

Wilson-kóros betegekben a fetuin-A szérum szintje nem volt alacsonyabb a kontroll személyekhez viszonyítva, azonban a cirrhosisban szenvedő betegek azonosításában hasznosnak bizonyult.

Summary

Investigation of new biomarkers may facilitate our understanding of atherosclerosis, improve prediction of mortality and represent new therapeutic targets. The predictive value of these molecules is limited, which can be improved by combining them and using their ratio. Fetuin-A correlates positively with various risk factors of atherosclerosis, e.g., obesity and diabetes. Ghrelin has numerous cardioprotective effects. However, the evaluation of the serum concentration of these molecules yielded contradictory results. The liver secreted glycoprotein, fetuin-A, is predisposed to be used as a marker of liver diseases.

We found elevated serum fetuin-A level in patients with previous myocardial infarction compared to healthy controls. This alteration was present in nonobese patients free of diabetes, as well. Fetuin-A level was closely related to serum adiponectin level, while it did not correlate with markers of subclinical inflammation. Based on our results and data from the literature serum level of fetuin-A declines with age in patients with atherosclerosis, but metabolic disturbances may slow down this process. The serum ghrelin concentration in post-infarction patients was lower than in controls. Serum ghrelin level was positively related to adiponectin, and negatively to insulin levels. Low ghrelin level may be attributed to unhealthy lifestyle and may prove to be an early sign of atherosclerosis. As the serum level of ghrelin and TNF-α differed markedly between the patient and control groups and they were not related to each other, these molecules seemed suitable for further analyzation. The TNF-α / ghrelin ratio effectively discriminated between the patient and control groups.

Serum level of fetuin-A was decreased in patients with alcoholic liver cirrhosis compared to healthy controls. Low level of the glycoprotein was a precise predictor of one-year mortality, independently from other clinical parameters and confounding factors.

The serum fetuin-A level of patients with Wilson's disease was comparable to controls. However, decreased level of the glycoprotein proved to be useful in identifying patients with cirrhosis.

8. Irodalomjegyzék

1. Finegold JA, Asaria P and Francis DP. (2013) Mortality from ischaemic heart disease by country, region, and age: statistics from World Health Organisation and United Nations. Int J Cardiol, 168(2): 934-945.
2. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Blaha MJ, Dai S, Ford ES, Fox CS, Franco S, Fullerton HJ, Gillespie C, Hailpern SM, Heit JA, Howard VJ, Huffman MD, Judd SE, Kissela BM, Kittner SJ, Lackland DT, Lichtman JH, Lisabeth LD, Mackey RH, Magid DJ, Marcus GM, Marelli A, Matchar DB, McGuire DK, Mohler ER, 3rd, Moy CS, Mussolino ME, Neumar RW, Nichol G, Pandey DK, Paynter NP, Reeves MJ, Sorlie PD, Stein J, Towfighi A, Turan TN, Virani SS, Wong ND, Woo D and Turner MB. (2013) Heart Disease and Stroke Statistics--2014 Update: A Report From the American Heart Association. Circulation.
3. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mahonen M, Tolonen H, Ruokokoski E and Amouyel P. (1999) Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10-year results from 37 WHO MONICA project populations. Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease. Lancet, 353(9164): 1547-1557.
4. Smolina K, Wright FL, Rayner M and Goldacre MJ. (2012) Determinants of the decline in mortality from acute myocardial infarction in England between 2002 and 2010: linked national database study. BMJ, 344: d8059.
5. Group BHFHPR, *Coronary heart disease statistics. A compendium of health statistics.* 2012.
6. Czuriga I. (2009) A cardiovascularis betegségek újabb epidemiológiai trendje. Orvosképzés, 84(4): 209-212.
7. Cooney MT, Dudina A, D'Agostino R and Graham IM. (2010) Cardiovascular risk-estimation systems in primary prevention: do they differ? Do they make a difference? Can we see the future? Circulation, 122(3): 300-310.
8. Averna M and Noto D. (2012) Clinical utility of novel biomarkers for cardiovascular disease risk stratification. Intern Emerg Med, 7 Suppl 3: S263-270.

9. Otsuka T, Kawada T, Ibuki C and Seino Y. (2010) Association between high-sensitivity cardiac troponin T levels and the predicted cardiovascular risk in middle-aged men without overt cardiovascular disease. Am Heart J, 159(6): 972-978.
10. Di Angelantonio E, Chowdhury R, Sarwar N, Ray KK, Gobin R, Saleheen D, Thompson A, Gudnason V, Sattar N and Danesh J. (2009) B-type natriuretic peptides and cardiovascular risk: systematic review and meta-analysis of 40 prospective studies. Circulation, 120(22): 2177-2187.
11. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, Pepys MB, Thompson SG, Collins R and Danesh J. (2010) C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. Lancet, 375(9709): 132-140.
12. Blaha MJ, Budoff MJ, DeFilippis AP, Blankstein R, Rivera JJ, Agatston A, O'Leary DH, Lima J, Blumenthal RS and Nasir K. (2011) Associations between C-reactive protein, coronary artery calcium, and cardiovascular events: implications for the JUPITER population from MESA, a population-based cohort study. Lancet, 378(9792): 684-692.
13. Ridker PM, Buring JE, Rifai N and Cook NR. (2007) Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds Risk Score. JAMA, 297(6): 611-619.
14. Ridker PM, Paynter NP, Rifai N, Gaziano JM and Cook NR. (2008) C-reactive protein and parental history improve global cardiovascular risk prediction: the Reynolds Risk Score for men. Circulation, 118(22): 2243-2251, 2244p following 2251.
15. Taube A, Schlich R, Sell H, Eckardt K and Eckel J. (2012) Inflammation and metabolic dysfunction: links to cardiovascular diseases. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 302(11): H2148-2165.
16. Tuomisto K, Jousilahti P, Sundvall J, Pajunen P and Salomaa V. (2006) C-reactive protein, interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha as predictors of incident coronary and cardiovascular events and total mortality. A population-based, prospective study. Thromb Haemost, 95(3): 511-518.

17. Lee SE and Kim HS. (2012) Human resistin in cardiovascular disease. J Smooth Muscle Res, 48(1): 27-35.
18. Weikert C, Westphal S, Berger K, Dierkes J, Mohlig M, Spranger J, Rimm EB, Willich SN, Boeing H and Pischon T. (2008) Plasma resistin levels and risk of myocardial infarction and ischemic stroke. J Clin Endocrinol Metab, 93(7): 2647-2653.
19. Rajpathak SN, Kaplan RC, Wassertheil-Smoller S, Cushman M, Rohan TE, McGinn AP, Wang T, Strickler HD, Scherer PE, Mackey R, Curb D and Ho GY. (2011) Resistin, but not adiponectin and leptin, is associated with the risk of ischemic stroke among postmenopausal women: results from the Women's Health Initiative. Stroke, 42(7): 1813-1820.
20. Sattar N, Wannamethee G, Sarwar N, Chernova J, Lawlor DA, Kelly A, Wallace AM, Danesh J and Whincup PH. (2009) Leptin and coronary heart disease: prospective study and systematic review. J Am Coll Cardiol, 53(2): 167-175.
21. Hui X, Lam KS, Vanhoutte PM and Xu A. (2012) Adiponectin and cardiovascular health: an update. Br J Pharmacol, 165(3): 574-590.
22. Sattar N, Wannamethee G, Sarwar N, Tchernova J, Cherry L, Wallace AM, Danesh J and Whincup PH. (2006) Adiponectin and coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. Circulation, 114(7): 623-629.
23. Hao G, Li W, Guo R, Yang JG, Wang Y, Tian Y, Liu MY, Peng YG and Wang ZW. (2013) Serum total adiponectin level and the risk of cardiovascular disease in general population: a meta-analysis of 17 prospective studies. Atherosclerosis, 228(1): 29-35.
24. Kanhai DA, Kranendonk ME, Uiterwaal CS, van der Graaf Y, Kappelle LJ and Visseren FL. (2013) Adiponectin and incident coronary heart disease and stroke. A systematic review and meta-analysis of prospective studies. Obes Rev, 14(7): 555-567.
25. Greenland P, Alpert JS, Beller GA, Benjamin EJ, Budoff MJ, Fayad ZA, Foster E, Hlatky MA, Hodgson JM, Kushner FG, Lauer MS, Shaw LJ, Smith SC, Jr., Taylor AJ, Weintraub WS, Wenger NK and Jacobs AK. (2010) 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: executive summary: a report of the American College of Cardiology

Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Circulation, 122(25): 2748-2764.

26. Szollár L, Pados G, Balogh S, Bedros JR, Csiba L, Czuriga I, De Châtel R, Farkas K, Farsang C, Gruber N and Halmy L. (2012) Összefoglalás az V. Magyar Kardiovaszkuláris Konferencia ajánlásairól. Metabolizmus, 10(Supplementum A): A2-A4.

27. Heremans J, *Les Globulines Sériques du Systéme Gamma. Leur Nature et Leur Patologie.* 1960, Bruxelles, Belgium: Arscia. 340.

28. Schmid K and Burgi W. (1961) Preparation and properties of the human plasma Ba-alpha2-glycoproteins. Biochim Biophys Acta, 47: 440-453.

29. Schultze HE HK, Haupt H. (1962) Charakterisierung eines niedermulekularen α2-Mukoids aus Humanserum. Naturwiss, 49.

30. Olivier E, Soury E, Ruminy P, Husson A, Parmentier F, Daveau M and Salier JP. (2000) Fetuin-B, a second member of the fetuin family in mammals. Biochem J, 350 Pt 2: 589-597.

31. Auberger P, Falquerho L, Contreres JO, Pages G, Le Cam G, Rossi B and Le Cam A. (1989) Characterization of a natural inhibitor of the insulin receptor tyrosine kinase: cDNA cloning, purification, and anti-mitogenic activity. Cell, 58(4): 631-640.

32. Rauth G, Poschke O, Fink E, Eulitz M, Tippmer S, Kellerer M, Haring HU, Nawratil P, Haasemann M, Jahnen-Dechent W and et al. (1992) The nucleotide and partial amino acid sequences of rat fetuin. Identity with the natural tyrosine kinase inhibitor of the rat insulin receptor. Eur J Biochem, 204(2): 523-529.

33. Mathews ST, Srinivas PR, Leon MA and Grunberger G. (1997) Bovine fetuin is an inhibitor of insulin receptor tyrosine kinase. Life Sci, 61(16): 1583-1592.

34. Srinivas PR, Wagner AS, Reddy LV, Deutsch DD, Leon MA, Goustin AS and Grunberger G. (1993) Serum alpha(2)-hs-glycoprotein is an inhibitor of the human insulin-receptor at the tyrosine kinase level. Molecular Endocrinology, 7(11): 1445-1455.

35. Kalabay L, Chavin K, Lebreton JP, Robinson KA, Buse MG and Arnaud P. (1998) Human recombinant alpha 2-HS glycoprotein is produced in insect cells

as a full length inhibitor of the insulin receptor tyrosine kinase. Horm Metab Res, 30(1): 1-6.

36. Mathews ST, Chellam N, Srinivas PR, Cintron VJ, Leon MA, Goustin AS and Grunberger G. (2000) Alpha2-HSG, a specific inhibitor of insulin receptor autophosphorylation, interacts with the insulin receptor. Mol Cell Endocrinol, 164(1-2): 87-98.

37. Goustin AS, Derar N and Abou-Samra AB. (2013) Ahsg-fetuin blocks the metabolic arm of insulin action through its interaction with the 95-kD beta-subunit of the insulin receptor. Cell Signal, 25(4): 981-988.

38. Mathews ST, Singh GP, Ranalletta M, Cintron VJ, Qiang XL, Goustin AS, Jen KLC, Charron MJ, Jahnen-Dechent W and Grunberger G. (2002) Improved insulin sensitivity and resistance to weight gain in mice null for the Ahsg gene. Diabetes, 51(8): 2450-2458.

39. Mathews ST, Rakhade S, Zhou XH, Parker GC, Coscina DV and Grunberger G. (2006) Fetuin-null mice are protected against obesity and insulin resistance associated with aging. Biochem Biophys Res Comm, 350(2): 437-443.

40. Takata H, Ikeda Y, Suehiro T, Ishibashi A, Inoue M, Kumon Y and Terada Y. (2009) High glucose induces transactivation of the alpha2-HS glycoprotein gene through the ERK1/2 signaling pathway. J Atheroscler Thromb, 16(4): 448-456.

41. Ou HY, Wu HT, Hung HC, Yang YC, Wu JS and Chang CJ. (2012) Endoplasmic reticulum stress induces the expression of fetuin-A to develop insulin resistance. Endocrinology, 153(7): 2974-2984.

42. Stefan N, Hennige AM, Staiger H, Machann J, Schick F, Krober SM, Machicao F, Fritsche A and Haring HU. (2006) Alpha2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is associated with insulin resistance and fat accumulation in the liver in humans. Diabetes Care, 29(4): 853-857.

43. Ou HY, Yang YC, Wu HT, Wu JS, Lu FH and Chang CJ. (2012) Increased fetuin-A concentrations in impaired glucose tolerance with or without nonalcoholic fatty liver disease, but not impaired fasting glucose. J Clin Endocrinol Metab, 97(12): 4717-4723.

44. Ou HY, Yang YC, Wu HT, Wu JS, Lu FH and Chang CJ. (2011) Serum fetuin-A concentrations are elevated in subjects with impaired glucose tolerance and newly diagnosed type 2 diabetes. Clin Endocrinol (Oxf), 75(4): 450-455.
45. Kantartzis K, Machann J, Schick F, Fritsche A, Haring HU and Stefan N. (2010) The impact of liver fat vs visceral fat in determining categories of prediabetes. Diabetologia, 53(5): 882-889.
46. Song A, Xu M, Bi Y, Xu Y, Huang Y, Li M, Wang T, Wu Y, Liu Y, Li X, Chen Y, Wang W and Ning G. (2011) Serum fetuin-A associates with type 2 diabetes and insulin resistance in Chinese adults. PLoS One, 6(4): e19228.
47. Breitfeld J, Stumvoll M and Kovacs P. (2012) Genetics of adiponectin. Biochimie, 94(10): 2157-2163.
48. Xu Y, Xu M, Bi Y, Song A, Huang Y, Liu Y, Wu Y, Chen Y, Wang W, Li X and Ning G. (2011) Serum fetuin-A is correlated with metabolic syndrome in middle-aged and elderly Chinese. Atherosclerosis, 216(1): 180-186.
49. Kaess BM, Enserro DM, McManus DD, Xanthakis V, Chen MH, Sullivan LM, Ingram C, O'Donnell CJ, Keaney JF, Vasan RS and Glazer NL. (2012) Cardiometabolic correlates and heritability of fetuin-A, retinol-binding protein 4, and fatty-acid binding protein 4 in the Framingham Heart Study. J Clin Endocrinol Metab, 97(10): E1943-1947.
50. Mori K, Emoto M, Yokoyama H, Araki T, Teramura M, Koyama H, Shoji T, Inaba M and Nishizawa Y. (2006) Association of serum fetuin-A with insulin resistance in type 2 diabetic and nondiabetic subjects. Diabetes Care, 29(2): 468.
51. Erdmann J, Salmhofer H, Knauss A, Mayr M, Wagenpfeil S, Sypchenko O, Luppa P and Schusdziarra V. (2012) Relationship of fetuin-A levels to weight-dependent insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. Regul Pept, 178(1-3): 6-10.
52. Liu Y, Xu M, Xu Y, Li M, Wang T, Chen Y and Bi Y. (2012) Positive correlation between chronic hyperglycemia and serum fetuin-A levels in middle-aged and elderly Chinese. J Diabetes, 4(4): 351-358.
53. Stefan N, Fritsche A, Weikert C, Boeing H, Joost HG, Haring HU and Schulze MB. (2008) Plasma fetuin-A levels and the risk of type 2 diabetes. Diabetes, 57(10): 2762-2767.

54. Ix JH, Wassel CL, Kanaya AM, Vittinghoff E, Johnson KC, Koster A, Cauley JA, Harris TB, Cummings SR, Shlipak MG and Health ABCS. (2008) Fetuin-A and incident diabetes mellitus in older persons. JAMA, 300(2): 182-188.
55. Jensen MK, Bartz TM, Djousse L, Kizer JR, Zieman SJ, Rimm EB, Siscovick DS, Psaty BM, Ix JH and Mukamal KJ. (2013) Genetically elevated fetuin-a levels, fasting glucose levels, and risk of type 2 diabetes: the cardiovascular health study. Diabetes Care, 36(10): 3121-3127.
56. Lin X, Braymer HD, Bray GA and York DA. (1998) Differential expression of insulin receptor tyrosine kinase inhibitor (fetuin) gene in a model of diet-induced obesity. Life Sci, 63(2): 145-153.
57. Ix JH, Shlipak MG, Brandenburg VM, Ali S, Ketteler M and Whooley MA. (2006) Association between human fetuin-A and the metabolic syndrome: data from the Heart and Soul Study. Circulation, 113(14): 1760-1767.
58. Ishibashi A, Ikeda Y, Ohguro T, Kumon Y, Yamanaka S, Takata H, Inoue M, Suehiro T and Terada Y. (2010) Serum fetuin-A is an independent marker of insulin resistance in Japanese men. J Atheroscler Thromb, 17(9): 925-933.
59. Ix J, Wassel C, Chertow G, Koster A, Johnson K, Tylavsky F, Cauley J, Cummings S, Harris T and Shlipak M. (2009) Fetuin-A and change in body composition in older persons. J Clin Endocrinol Metab, 94(11): 4492-4498.
60. Thakkinstian A, Chailurkit L, Warodomwichit D, Ratanachaiwong W, Yamwong S, Chanprasertyothin S, Attia J, Sritara P and Ongphiphadhanakul B. (2013) Causal relationship between body mass index and fetuin-A level in the asian population: a bidirectional mendelian randomization study. Clin Endocrinol (Oxf).
61. Brix JM, Stingl H, Hollerl F, Schernthaner GH, Kopp HP and Schernthaner G. (2010) Elevated Fetuin-A concentrations in morbid obesity decrease after dramatic weight loss. J Clin Endocrinol Metab, 95(11): 4877-4881.
62. Reinehr T and Roth CL. (2008) Fetuin-A and its relation to metabolic syndrome and fatty liver disease in obese children before and after weight loss. J Clin Endocrinol Metab, 93(11): 4479-4485.

63. Jenkins NT, McKenzie JA, Hagberg JM and Witkowski S. (2011) Plasma fetuin-A concentrations in young and older high- and low-active men. Metabolism, 60(2): 265-271.
64. Mussig K, Staiger H, Machicao F, Machann J, Hennige AM, Schick F, Claussen CD, Fritsche A, Haring HU and Stefan N. (2009) AHSG gene variation is not associated with regional body fat distribution--a magnetic resonance study. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 117(8): 432-437.
65. Chen HY, Lin CC, Chiu YL, Hsu SP, Pai MF, Yang JY and Peng YS. (2012) Serum fetuin A and chemerin levels correlate with hepatic steatosis and regional adiposity in maintenance hemodialysis patients. PLoS One, 7(7): e38415.
66. Yilmaz Y, Yonal O, Kurt R, Ari F, Oral AY, Celikel CA, Korkmaz S, Ulukaya E, Ozdogan O, Imeryuz N, Avsar E and Kalayci C. (2010) Serum fetuin A/alpha2HS-glycoprotein levels in patients with non-alcoholic fatty liver disease: relation with liver fibrosis. Ann Clin Biochem, 47(Pt 6): 549-553.
67. Haukeland JW, Dahl TB, Yndestad A, Gladhaug IP, Loberg EM, Haaland T, Konopski Z, Wium C, Aasheim ET, Johansen OE, Aukrust P, Halvorsen B and Birkeland KI. (2012) Fetuin A in nonalcoholic fatty liver disease: in vivo and in vitro studies. Eur J Endocrinol, 166(3): 503-510.
68. Choi KM, Han KA, Ahn HJ, Lee SY, Hwang SY, Kim BH, Hong HC, Choi HY, Yang SJ, Yoo HJ, Baik SH, Choi DS and Min KW. (2013) The effects of caloric restriction on fetuin-A and cardiovascular risk factors in rats and humans: a randomized controlled trial. Clin Endocrinol (Oxf), 79(3): 356-363.
69. Rizzu P and Baldini A. (1995) Three members of the human cystatin gene superfamily, AHSG, HRG, and KNG, map within one megabase of genomic DNA at 3q27. Cytogenet Cell Genet, 70(1-2): 26-28.
70. Vionnet N, Hani EH, Dupont S, Gallina S, Francke S, Dotte S, De Matos F, Durand E, Lepretre F, Lecoeur C, Gallina P, Zekiri L, Dina C and Froguel P. (2000) Genomewide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in French whites: evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21-q24. Am J Hum Genet, 67(6): 1470-1480.

71. Kissebah AH, Sonnenberg GE, Myklebust J, Goldstein M, Broman K, James RG, Marks JA, Krakower GR, Jacob HJ, Weber J, Martin L, Blangero J and Comuzzie AG. (2000) Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. Proc Natl Acad Sci U S A, 97(26): 14478-14483.

72. Laughlin GA, Barrett-Connor E, May S and Langenberg C. (2007) Association of adiponectin with coronary heart disease and mortality: the Rancho Bernardo study. Am J Epidemiol, 165(2): 164-174.

73. Mori K, Emoto M, Araki T, Yokoyama H, Lee E, Teramura M, Koyama H, Shoji T, Inaba M and Nishizawa Y. (2008) Effects of pioglitazone on serum fetuin-A levels in patients with type 2 diabetes mellitus. Metabolism, 57(9): 1248-1252.

74. Westenfeld R, Schafer C, Smeets R, Brandenburg VM, Floege J, Ketteler M and Jahnen-Dechent W. (2007) Fetuin-A (AHSG) prevents extraosseous calcification induced by uraemia and phosphate challenge in mice. Nephrol Dial Transplant, 22(6): 1537-1546.

75. Hennige AM, Staiger H, Wicke C, Machicao F, Fritsche A, Haring HU and Stefan N. (2008) Fetuin-A induces cytokine expression and suppresses adiponectin production. PLoS One, 3(3): e1765.

76. Dasgupta S, Bhattacharya S, Biswas A, Majumdar SS, Mukhopadhyay S, Ray S and Bhattacharya S. (2010) NF-kappaB mediates lipid-induced fetuin-A expression in hepatocytes that impairs adipocyte function effecting insulin resistance. Biochem J, 429(3): 451-462.

77. Jung TW, Youn BS, Choi HY, Lee SY, Hong HC, Yang SJ, Yoo HJ, Kim BH, Baik SH and Choi KM. (2013) Salsalate and adiponectin ameliorate hepatic steatosis by inhibition of the hepatokine fetuin-A. Biochem Pharmacol, 86(7): 960-969.

78. Ix JH and Sharma K. (2010) Mechanisms linking obesity, chronic kidney disease, and fatty liver disease: the roles of fetuin-A, adiponectin, and AMPK. J Am Soc Nephrol, 21(3): 406-412.

79. Shehzad A, Iqbal W, Shehzad O and Lee YS. (2012) Adiponectin: regulation of its production and its role in human diseases. Hormones (Athens), 11(1): 8-20.

80. Pal D, Dasgupta S, Kundu R, Maitra S, Das G, Mukhopadhyay S, Ray S, Majumdar SS and Bhattacharya S. (2012) Fetuin-A acts as an endogenous ligand of TLR4 to promote lipid-induced insulin resistance. Nat Med, 18(8).
81. Chatterjee P, Seal S, Mukherjee S, Kundu R, Mukherjee S, Ray S, Mukhopadhyay S, Majumdar SS and Bhattacharya S. (2013) Adipocyte fetuin-A contributes to macrophage migration into adipose tissue and polarization of macrophages. J Biol Chem, 288(39): 28324-28330.
82. Voros K, Cseh K and Kalabay L. (2014) The role of fetuin-A in cardiovascular diseases. Orv Hetil, 155(1): 16-23.
83. Stefan N and Haring HU. (2013) Circulating fetuin-A and free fatty acids interact to predict insulin resistance in humans. Nat Med, 19(4): 394-395.
84. Corrado E, Rizzo M, Coppola G, Fattouch K, Novo G, Marturana I, Ferrara F and Novo S. (2010) An update on the role of markers of inflammation in atherosclerosis. Journ Atheroscler Thromb, 17(1): 1-11.
85. Lebreton JP, Joisel F, Raoult JP, Lannuzel B, Rogez JP and Humbert G. (1979) Serum concentration of human alpha 2 HS glycoprotein during the inflammatory process: evidence that alpha 2 HS glycoprotein is a negative acute-phase reactant. J Clin Invest, 64(4): 1118-1129.
86. Daveau M, Christian D, Julen N, Hiron M, Arnaud P and Lebreton JP. (1988) The synthesis of human alpha-2-HS glycoprotein is down-regulated by cytokines in hepatoma HepG2 cells. FEBS Lett, 241(1-2): 191-194.
87. Li W, Zhu S, Li J, Huang Y, Zhou R, Fan X, Yang H, Gong X, Eissa NT, Jahnen-Dechent W, Wang P, Tracey KJ, Sama AE and Wang H. (2011) A hepatic protein, fetuin-A, occupies a protective role in lethal systemic inflammation. PLoS One, 6(2): e16945.
88. Wang H and Sama AE. (2012) Anti-inflammatory role of fetuin-A in injury and infection. Curr Mol Med, 12(5): 625-633.
89. Wang H, Li W, Zhu S, Li J, D'Amore J, Ward MF, Yang H, Wu R, Jahnen-Dechent W, Tracey KJ, Wang P and Sama AE. (2010) Peripheral administration of fetuin-A attenuates early cerebral ischemic injury in rats. J Cereb Blood Flow Metab, 30(3): 493-504.

90. Dickson IR, Poole AR and Veis A. (1975) Localisation of plasma alpha2HS glycoprotein in mineralising human bone. Nature, 256(5516): 430-432.

91. Triffitt JT, Gebauer U, Ashton BA, Owen ME and Reynolds JJ. (1976) Origin of plasma alpha2HS-glycoprotein and its accumulation in bone. Nature, 262(5565): 226-227.

92. Schafer C, Heiss A, Schwarz A, Westenfeld R, Ketteler M, Floege J, Muller-Esterl W, Schinke T and Jahnen-Dechent W. (2003) The serum protein alpha(2)-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is a systemically acting inhibitor of ectopic calcification. Journal of Clinical Investigation, 112(3): 357-366.

93. Price PA, Thomas GR, Pardini AW, Figueira WF, Caputo JM and Williamson MK. (2002) Discovery of a high molecular weight complex of calcium, phosphate, fetuin, and matrix gamma-carboxyglutamic acid protein in the serum of etidronate-treated rats. J Biol Chem, 277(6): 3926-3934.

94. Heiss A, DuChesne A, Denecke B, Grotzinger J, Yamamoto K, Renne T and Jahnen-Dechent W. (2003) Structural basis of calcification inhibition by alpha 2-HS glycoprotein/fetuin-A. Formation of colloidal calciprotein particles. J Biol Chem, 278(15): 13333-13341.

95. Herrmann M, Schafer C, Heiss A, Graber S, Kinkeldey A, Buscher A, Schmitt MM, Bornemann J, Nimmerjahn F, Herrmann M, Helming L, Gordon S and Jahnen-Dechent W. (2012) Clearance of fetuin-A--containing calciprotein particles is mediated by scavenger receptor-A. Circ Res, 111(5): 575-584.

96. Smith ER, Hanssen E, McMahon LP and Holt SG. (2013) Fetuin-A-containing calciprotein particles reduce mineral stress in the macrophage. PLoS One, 8(4): e60904.

97. Heiss A, Eckert T, Aretz A, Richtering W, van Dorp W, Schafer C and Jahnen-Dechent W. (2008) Hierarchical role of fetuin-A and acidic serum proteins in the formation and stabilization of calcium phosphate particles. J Biol Chem, 283(21): 14815-14825.

98. Hamano T, Matsui I, Mikami S, Tomida K, Fujii N, Imai E, Rakugi H and Isaka Y. (2010) Fetuin-mineral complex reflects extraosseous calcification stress in CKD. J Am Soc Nephrol, 21(11): 1998-2007.

99. Smith ER, Cai MM, McMahon LP, Pedagogos E, Toussaint ND, Brumby C and Holt SG. (2013) Serum fetuin-A concentration and fetuin-A-containing calciprotein particles in patients with chronic inflammatory disease and renal failure. Nephrology (Carlton), 18(3): 215-221.

100. Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnken AH, Bohm R, Metzger T, Wanner C, Jahnen-Dechent W and Floege J. (2003) Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. Lancet, 361(9360): 827-833.

101. Hermans MM, Brandenburg V, Ketteler M, Kooman JP, van der Sande FM, Boeschoten EW, Leunissen KM, Krediet RT and Dekker FW. (2007) Association of serum fetuin-A levels with mortality in dialysis patients. Kidney Int, 72(2): 202-207.

102. Wang AY, Woo J, Lam CW, Wang M, Chan IH, Gao P, Lui SF, Li PK and Sanderson JE. (2005) Associations of serum fetuin-A with malnutrition, inflammation, atherosclerosis and valvular calcification syndrome and outcome in peritoneal dialysis patients. Nephrol Dial Transplant, 20(8): 1676-1685.

103. Stenvinkel P, Wang K, Qureshi AR, Axelsson J, Pecoits R, Gao P, Barany P, Lindholm B, Jogestrand T, Heimburger O, Holmes C, Schalling M and Nordfors L. (2005) Low fetuin-A levels are associated with cardiovascular death: Impact of variations in the gene encoding fetuin. Kidney International, 67(6): 2383-2392.

104. Ix JH, Shlipak MG, Sarnak MJ, Beck GJ, Greene T, Wang X, Kusek JW, Collins AJ, Levey AS and Menon V. (2007) Fetuin-A is not associated with mortality in chronic kidney disease. Kidney Int, 72(11): 1394-1399.

105. Ciaccio M, Bivona G, Di Sciacca R, Iatrino R, Di Natale E, Li Vecchi M and Bellia C. (2008) Changes in serum fetuin-A and inflammatory markers levels in end-stage renal disease (ESRD): effect of a single session haemodialysis. Clin Chem Lab Med, 46(2): 212-214.

106. Mori K, Emoto M, Araki T, Yokoyama H, Teramura M, Lee E, Motoyama K, Koyama H, Shoji T, Inaba M and Nishizawa Y. (2007) Association of serum fetuin-A with carotid arterial stiffness. Clin Endocrinol (Oxf), 66(2): 246-250.

107. Roos M, Richart T, Kouznetsova T, von Eynatten M, Lutz J, Heemann U, Baumann M and Staessen JA. (2009) Fetuin-A and arterial stiffness in patients with normal kidney function. Regul Pept, 154(1-3): 39-43.

108. Dogru T, Genc H, Tapan S, Aslan F, Ercin CN, Ors F, Kara M, Sertoglu E, Karslioglu Y, Bagci S, Kurt I and Sonmez A. (2013) Plasma fetuin-A is associated with endothelial dysfunction and subclinical atherosclerosis in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. Clin Endocrinol (Oxf), 78(5): 712-717.

109. Fiore CE, Celotta G, Politi GG, Di Pino L, Castelli Z, Mangiafico RA, Signorelli SS and Pennisi P. (2007) Association of high alpha2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin concentration in serum and intima-media thickness in patients with atherosclerotic vascular disease and low bone mass. Atherosclerosis, 195(1): 110-115.

110. Rittig K, Thamer C, Haupt A, Machann J, Peter A, Balletshofer B, Fritsche A, Haring HU and Stefan N. (2009) High plasma fetuin-A is associated with increased carotid intima-media thickness in a middle-aged population. Atherosclerosis, 207(2): 341-342.

111. Guarneri M, Geraci C, Incalcaterra F, Arsena R, Mule G, Vaccaro F, Luna C, Cerasola G and Cottone S. (2013) Subclinical atherosclerosis and fetuin-A plasma levels in essential hypertensive patients. Hypertens Res, 36(2): 129-133.

112. Detrano R, Guerci AD, Carr JJ, Bild DE, Burke G, Folsom AR, Liu K, Shea S, Szklo M, Bluemke DA, O'Leary DH, Tracy R, Watson K, Wong ND and Kronmal RA. (2008) Coronary calcium as a predictor of coronary events in four racial or ethnic groups. N Engl J Med, 358(13): 1336-1345.

113. Westenfeld R, Schafer C, Kruger T, Haarmann C, Schurgers LJ, Reutelingsperger C, Ivanovski O, Drueke T, Massy ZA, Ketteler M, Floege J and Jahnen-Dechent W. (2009) Fetuin-A protects against atherosclerotic calcification in CKD. J Am Soc Nephrol, 20(6): 1264-1274.

114. Mori K, Ikari Y, Jono S, Emoto M, Shioi A, Koyama H, Shoji T, Ishimura E, Inaba M, Hara K and Nishizawa Y. (2010) Fetuin-A is associated with calcified coronary artery disease. Coron Artery Dis, 21(5): 281-285.

115. Emoto M, Mori K, Lee E, Kawano N, Yamazaki Y, Tsuchikura S, Morioka T, Koyama H, Shoji T, Inaba M and Nishizawa Y. (2010) Fetuin-A and atherosclerotic calcified plaque in patients with type 2 diabetes mellitus. Metabolism, 59(6): 873-878.

116. Mehrotra R, Westenfeld R, Christenson P, Budoff M, Ipp E, Takasu J, Gupta A, Norris K, Ketteler M and Adler S. (2005) Serum fetuin-A in nondialyzed patients with diabetic nephropathy: relationship with coronary artery calcification. Kidney Int, 67(3): 1070-1077.

117. Roos M, Lutz J, Salmhofer H, Luppa P, Knauss A, Braun S, Martinof S, Schomig A, Heemann U, Kastrati A and Hausleiter J. (2008) Relation between plasma fibroblast growth factor-23, serum fetuin-A levels and coronary artery calcification evaluated by multislice computed tomography in patients with normal kidney function. Clin Endocrinol (Oxf), 68(4): 660-665.

118. Mikami S, Hamano T, Fujii N, Nagasawa Y, Isaka Y, Moriyama T, Matsuhisa M, Ito T, Imai E and Hori M. (2008) Serum osteoprotegerin as a screening tool for coronary artery calcification score in diabetic pre-dialysis patients. Hypertens Res, 31(6): 1163-1170.

119. Ix JH, Barrett-Connor E, Wassel CL, Cummins K, Bergstrom J, Daniels LB and Laughlin GA. (2011) The associations of fetuin-A with subclinical cardiovascular disease in community-dwelling persons: the Rancho Bernardo Study. J Am Coll Cardiol, 58(23): 2372-2379.

120. Jensen MK, Bartz TM, Mukamal KJ, Djousse L, Kizer JR, Tracy RP, Zieman SJ, Rimm EB, Siscovick DS, Shlipak M and Ix JH. (2013) Fetuin-A, type 2 diabetes, and risk of cardiovascular disease in older adults: the cardiovascular health study. Diabetes Care, 36(5): 1222-1228.

121. Lorant DP, Grujicic M, Hoebaus C, Brix JM, Hoellerl F, Schernthaner G, Koppensteiner R and Schernthaner GH. (2011) Fetuin-A levels are increased in patients with type 2 diabetes and peripheral arterial disease. Diabetes Care, 34(1): 156-161.

122. Eraso LH, Ginwala N, Qasim AN, Mehta NN, Dlugash R, Kapoor S, Schwartz S, Schutta M, Iqbal N, Mohler ER, 3rd and Reilly MP. (2009) Association of

Lower Plasma Fetuin-A Levels with Peripheral Arterial Disease in Type-2 Diabetes. Diabetes Care.

123. Stefan N, Weikert C, Ix JH, Fritsche A and Haring HU. (2010) Association of lower plasma fetuin-a levels with peripheral arterial disease in type 2 diabetes: response to Eraso et al. Diabetes Care, 33(4): e55; author reply e56.

124. Roos M, Oikonomou D, von Eynatten M, Luppa PB, Heemann U, Lutz J, Baumann M, Nawroth PP, Bierhaus A and Humpert PM. (2010) Associations of fetuin-A levels with vascular disease in type 2 diabetes patients with early diabetic nephropathy. Cardiovasc Diabetol, 9: 48.

125. Szeberin Z, Fehervari M, Krepuska M, Apor A, Rimely E, Sarkadi H, Szeplaki G, Prohaszka Z, Kalabay L and Acsady G. (2011) Serum fetuin-A levels inversely correlate with the severity of arterial calcification in patients with chronic lower extremity atherosclerosis without renal disease. Int Angiol, 30(5): 474-450.

126. Snyder S, Durham BC, Iskandrian AS, Coodley EL and Linhart JW. (1975) Serum lipids and glycoproteins in acute myocardial infarction. Am Heart J, 90(5): 582-586.

127. Bilgir O, Kebapcilar L, Bilgir F, Bozkaya G, Yildiz Y, Pinar P and Tastan A. (2010) Decreased serum fetuin-A levels are associated with coronary artery diseases. Intern Med, 49(13): 1281-1285.

128. Mathews ST, Deutsch DD, Iyer G, Hora N, Pati B, Marsh J and Grunberger G. (2002) Plasma alpha2-HS glycoprotein concentrations in patients with acute myocardial infarction quantified by a modified ELISA. Clin Chim Acta, 319(1): 27-34.

129. Lim P, Collet JP, Moutereau S, Guigui N, Mitchell-Heggs L, Loric S, Bernard M, Benhamed S, Montalescot G, Rande JL and Gueret P. (2007) Fetuin-A is an independent predictor of death after ST-elevation myocardial infarction. Clin Chem, 53(10): 1835-1840.

130. Lim P, Moutereau S, Simon T, Gallet R, Probst V, Ferrieres J, Gueret P and Danchin N. (2013) Usefulness of fetuin-A and C-reactive protein concentrations for prediction of outcome in acute coronary syndromes (from the French

Registry of Acute ST-Elevation Non-ST-Elevation Myocardial Infarction [FAST-MI]). Am J Cardiol, 111(1): 31-37.

131. Tuttolomondo A, Di Raimondo D, Di Sciacca R, Casuccio A, Bivona G, Bellia C, Barreca L, Serio A, D'Aguanno G, Ciaccio M, Licata G and Pinto A. (2010) Fetuin-A and CD40 L plasma levels in acute ischemic stroke: differences in relation to TOAST subtype and correlation with clinical and laboratory variables. Atherosclerosis, 208(1): 290-296.

132. Fisher E, Stefan N, Saar K, Drogan D, Schulze MB, Fritsche A, Joost HG, Haring HU, Hubner N, Boeing H and Weikert C. (2009) Association of AHSG gene polymorphisms with fetuin-A plasma levels and cardiovascular diseases in the EPIC-Potsdam study. Circ Cardiovasc Genet, 2(6): 607-613.

133. Weikert C, Stefan N, Schulze MB, Pischon T, Berger K, Joost HG, Haring HU, Boeing H and Fritsche A. (2008) Plasma fetuin-a levels and the risk of myocardial infarction and ischemic stroke. Circulation, 118(24): 2555-2562.

134. Pulkkinen L, Ukkola O, Kolehmainen M and Uusitupa M. (2010) Ghrelin in diabetes and metabolic syndrome. Int J Pept, 2010(doi: 10.1155/2010/248948.).

135. Zhang G, Yin X, Qi Y, Pendyala L, Chen J, Hou D and Tang C. (2010) Ghrelin and cardiovascular diseases. Curr Card Rev, 6(1): 62-70.

136. Kishimoto I, Tokudome T, Hosoda H, Miyazato M and Kangawa K. (2012) Ghrelin and cardiovascular diseases. J Cardiol, 59(1): 8-13.

137. Pemberton CJ, Tokola H, Bagi Z, Koller A, Pontinen J, Ola A, Vuolteenaho O, Szokodi I and Ruskoaho H. (2004) Ghrelin induces vasoconstriction in the rat coronary vasculature without altering cardiac peptide secretion. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 287(4): H1522-1529.

138. Kadoglou NP, Sailer N, Moumtzouoglou A, Kapelouzou A, Tsanikidis H, Vitta I, Karkos C, Karayannacos PE, Gerasimidis T and Liapis CD. (2010) Visfatin (nampt) and ghrelin as novel markers of carotid atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 118(2): 75-80.

139. Yano Y, Toshinai K, Inokuchi T, Kangawa K, Shimada K, Kario K and Nakazato M. (2009) Plasma des-acyl ghrelin, but not plasma HMW adiponectin, is a useful cardiometabolic marker for predicting atherosclerosis in elderly hypertensive patients. Atherosclerosis, 204(2): 590-594.

140. Kotani K, Sakane N, Saiga K, Adachi S, Mu H, Kurozawa Y and Kawano M. (2006) Serum ghrelin and carotid atherosclerosis in older Japanese people with metabolic syndrome. Arch Med Res, 37(7): 903-906.

141. Kadoglou NP, Lampropoulos S, Kapelouzou A, Gkontopoulos A, Theofilogiannakos EK, Fotiadis G and Kottas G. (2010) Serum levels of apelin and ghrelin in patients with acute coronary syndromes and established coronary artery disease--KOZANI STUDY. Transl Res, 155(5): 238-246.

142. Poykko SM, Kellokoski E, Ukkola O, Kauma H, Paivansalo M, Kesaniemi YA and Horkko S. (2006) Plasma ghrelin concentrations are positively associated with carotid artery atherosclerosis in males. J Intern Med, 260(1): 43-52.

143. Ukkola O, Poykko S, Paivansalo M and Kesaniemi YA. (2008) Interactions between ghrelin, leptin and IGF-I affect metabolic syndrome and early atherosclerosis. Ann Med, 40(6): 465-473.

144. Haffner SM, Lehto S, Ronnemaa T, Pyorala K and Laakso M. (1998) Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. N Engl J Med, 339(4): 229-234.

145. Tong J, Prigeon RL, Davis HW, Bidlingmaier M, Kahn SE, Cummings DE, Tschop MH and D'Alessio D. (2010) Ghrelin suppresses glucose-stimulated insulin secretion and deteriorates glucose tolerance in healthy humans. Diabetes, 59(9): 2145-2151.

146. Poykko SM, Kellokoski E, Horkko S, Kauma H, Kesaniemi YA and Ukkola O. (2003) Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. Diabetes, 52(10): 2546-2553.

147. Krzyzanowska-Swiniarska B, Kempa A, Miazgowski T and Pilarska K. (2007) Serum acylated ghrelin, adiponectin and leptin levels in normal-weight and obese premenopausal women. Hormo Metab Res, 39(11): 835-839.

148. Kiewiet RM, Hazell MJ, van Aken MO, van der Weerd K, Visser JA, Themmen AP and van der Lely AJ. (2010) Acute Effects of Acylated and Unacylated Ghrelin on Total and High Molecular Weight Adiponectin in Morbidly Obese Subjects. J Endocrinol Invest.

149. Caliskan Y, Gorgulu N, Yelken B, Yazici H, Oflaz H, Elitok A, Turkmen A, Bozfakioglu S and Sever MS. (2009) Plasma ghrelin levels are associated with coronary microvascular and endothelial dysfunction in peritoneal dialysis patients. Ren Fail, 31(9): 807-813.

150. Erdmann J, Lippl F, Wagenpfeil S and Schusdziarra V. (2005) Differential association of basal and postprandial plasma ghrelin with leptin, insulin, and type 2 diabetes. Diabetes, 54(5): 1371-1378.

151. Hattori N. (2009) Expression, regulation and biological actions of growth hormone (GH) and ghrelin in the immune system. Growth Horm IGF Res, 19(3): 187-197.

152. Baatar D, Patel K and Taub DD. (2011) The effects of ghrelin on inflammation and the immune system. Mol Cell Endocrinol.

153. Wang TJ, Gona P, Larson MG, Tofler GH, Levy D, Newton-Cheh C, Jacques PF, Rifai N, Selhub J, Robins SJ, Benjamin EJ, D'Agostino RB and Vasan RS. (2006) Multiple biomarkers for the prediction of first major cardiovascular events and death. N Engl J Med, 355(25): 2631-2639.

154. Yoon JH, Park JK, Oh SS, Lee KH, Kim SK, Cho IJ, Kim JK, Kang HT, Ahn SG, Lee JW, Lee SH, Eom A, Kim JY, Ahn SV and Koh SB. (2011) The ratio of serum leptin to adiponectin provides adjunctive information to the risk of metabolic syndrome beyond the homeostasis model assessment insulin resistance: the Korean Genomic Rural Cohort Study. Clin Chim Acta, 412(23-24): 2199-2205.

155. Zhuo Q, Wang Z, Fu P, Piao J, Tian Y, Xu J and Yang X. (2009) Comparison of adiponectin, leptin and leptin to adiponectin ratio as diagnostic marker for metabolic syndrome in older adults of Chinese major cities. Diabetes Res Clin Pract, 84(1): 27-33.

156. Tajtakova M, Petrasova D, Pidanicova A, Gallovicova A, Blanarova C and Petrovicova J. (2010) Serum levels of leptin, adiponectin, retinol binding protein 4 and leptin/adiponectin molar ratio as another possible marker of insulin resistance in obese. Bratisl Lek Listy, 111(4): 212-215.

157. Liao YC, Liang KW, Lee WJ, Lee WL, Lee IT, Wang JS, Ting CT and Sheu WH. (2013) Leptin to adiponectin ratio as a useful predictor for cardiac syndrome X. Biomarkers, 18(1): 44-50.

158. Norata GD, Raselli S, Grigore L, Garlaschelli K, Dozio E, Magni P and Catapano AL. (2007) Leptin:adiponectin ratio is an independent predictor of intima media thickness of the common carotid artery. Stroke, 38(10): 2844-2846.

159. Park JT, Yoo TH, Kim JK, Oh HJ, Kim SJ, Yoo DE, Lee MJ, Shin DH, Han SH, Han DS and Kang SW. (2013) Leptin/adiponectin ratio is an independent predictor of mortality in nondiabetic peritoneal dialysis patients. Perit Dial Int, 33(1): 67-74.

160. Kappelle PJ, Dullaart RP, van Beek AP, Hillege HL and Wolffenbuttel BH. (2012) The plasma leptin/adiponectin ratio predicts first cardiovascular event in men: a prospective nested case-control study. Eur J Intern Med, 23(8): 755-759.

161. Kalabay L, Cseh K, Jakab L, Pozsonyi T, Jakab L, Benedek S, Fekete S and Telegdy L. (1992) Diagnostic value of the determination of serum alpha2-HS-glycoprotein. Orv Hetil, 133(25): 1553-1554; 1559-1560.

162. Kalabay L, Szalay F, Nemesanszky E, Telegdy L, Jakab L and Romics L. (1997) Decreased serum alfa2-HS-glycoprotein concentration in patients with primary biliary cirrhosis. J Hepatol, 26(6): 1426-1427.

163. Kalabay L, Jakab L, Prohaszka Z, Fust G, Benko Z, Telegdy L, Lorincz Z, Zavodszky P, Arnaud P and Fekete B. (2002) Human fetuin/alpha2HS-glycoprotein level as a novel indicator of liver cell function and short-term mortality in patients with liver cirrhosis and liver cancer. Eur J Gastroenterol Hepatol, 14(4): 389-394.

164. WHO. (2011) Global Status Report on Alcohol and Health 2011.

165. Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla DC and Roudot-Thoraval F. (2013) The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. J Hepatol, 58(3): 593-608.

166. Rehm J, Taylor B, Mohapatra S, Irving H, Baliunas D, Patra J and Roerecke M. (2010) Alcohol as a risk factor for liver cirrhosis: a systematic review and meta-analysis. Drug Alcohol Rev, 29(4): 437-445.

167. Becker U, Deis A, Sorensen TI, Gronbaek M, Borch-Johnsen K, Muller CF, Schnohr P and Jensen G. (1996) Prediction of risk of liver disease by alcohol intake, sex, and age: a prospective population study. Hepatology, 23(5): 1025-1029.

168. Zatonski WA, Sulkowska U, Manczuk M, Rehm J, Boffetta P, Lowenfels AB and La Vecchia C. (2010) Liver cirrhosis mortality in Europe, with special attention to Central and Eastern Europe. Eur Addict Res, 16(4): 193-201.

169. WHO. (2010) European status report on alcohol and health 2010.

170. Pszichiátriai SK. (2005) Alkoholbetegség - Az Egészségügyi Minisztérium szakmai protokollja. Egészségügyi Közlöny, 2005(12).

171. EASL. (2012) EASL clinical practical guidelines: management of alcoholic liver disease. J Hepatol, 57(2): 399-420.

172. Teli MR, Day CP, Burt AD, Bennett MK and James OF. (1995) Determinants of progression to cirrhosis or fibrosis in pure alcoholic fatty liver. Lancet, 346(8981): 987-990.

173. Hayashi PH, Harrison SA, Torgerson S, Perez TA, Nochajski T and Russell M. (2004) Cognitive lifetime drinking history in nonalcoholic fatty liver disease: some cases may be alcohol related. Am J Gastroenterol, 99(1): 76-81.

174. Pessione F, Ramond MJ, Peters L, Pham BN, Batel P, Rueff B and Valla DC. (2003) Five-year survival predictive factors in patients with excessive alcohol intake and cirrhosis. Effect of alcoholic hepatitis, smoking and abstinence. Liver Int, 23(1): 45-53.

175. Burra P, Senzolo M, Adam R, Delvart V, Karam V, Germani G and Neuberger J. (2010) Liver transplantation for alcoholic liver disease in Europe: a study from the ELTR (European Liver Transplant Registry). Am J Transplant, 10(1): 138-148.

176. Arulraj R and Neuberger J. (2011) Liver transplantation: filling the gap between supply and demand. Clin Med, 11(2): 194-198.

177. Singal AK, Guturu P, Hmoud B, Kuo YF, Salameh H and Wiesner RH. (2013) Evolving frequency and outcomes of liver transplantation based on etiology of liver disease. Transplantation, 95(5): 755-760.

178. UNOS. (www.unos.org) United Network for Organ Sharing.

179. Pereira SP, Howard LM, Muiesan P, Rela M, Heaton N and Williams R. (2000) Quality of life after liver transplantation for alcoholic liver disease. Liver Transpl, 6(6): 762-768.
180. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC and Williams R. (1973) Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. Br J Surg, 60(8): 646-649.
181. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, Kosberg CL, D'Amico G, Dickson ER and Kim WR. (2001) A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. Hepatology, 33(2): 464-470.
182. Orman ES, Odena G and Bataller R. (2013) Alcoholic liver disease: pathogenesis, management, and novel targets for therapy. J Gastroenterol Hepatol, 28 Suppl 1: 77-84.
183. Bataller R and Brenner DA. (2005) Liver fibrosis. J Clin Invest, 115(2): 209-218.
184. Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, McCullen M, Northrop M, Pawley S, Hovell C and Arthur MJ. (1998) Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. J Clin Invest, 102(3): 538-549.
185. Albano E and Vidali M. (2010) Immune mechanisms in alcoholic liver disease. Genes Nutr, 5(2): 141-147.
186. Tilg H and Moschen AR. (2006) Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. Nat Rev Immunol, 6(10): 772-783.
187. Huang H, Park PH, McMullen MR and Nagy LE. (2008) Mechanisms for the anti-inflammatory effects of adiponectin in macrophages. J Gastroenterol Hepatol, 23 Suppl 1: S50-53.
188. Dai XH, Zhang P, Xiao MF, Zhou RR, Zhang BX, Hu GS, Huang ZB and Fan XG. (2011) Protective Role of alpha2HS-Glycoprotein in HBV-Associated Liver Failure. Int J Mol Sci, 12(6): 3846-3856.
189. Moser C, Geiger H and Feist D. (1978) Quantitative determination of single serum proteins during acute hepatitis in childhood. Eur J Pediatr, 128(2): 123-128.

190. Kanzler S, Lohse AW, Keil A, Henninger J, Dienes HP, Schirmacher P, Rose-John S, zum Buschenfelde KH and Blessing M. (1999) TGF-beta1 in liver fibrosis: an inducible transgenic mouse model to study liver fibrogenesis. Am J Physiol, 276(4 Pt 1): G1059-1068.

191. Saile B, Matthes N, Knittel T and Ramadori G. (1999) Transforming growth factor beta and tumor necrosis factor alpha inhibit both apoptosis and proliferation of activated rat hepatic stellate cells. Hepatology, 30(1): 196-202.

192. Demetriou M, Binkert C, Sukhu B, Tenenbaum HC and Dennis JW. (1996) Fetuin/alpha2-HS glycoprotein is a transforming growth factor-beta type II receptor mimic and cytokine antagonist. J Biol Chem, 271(22): 12755-12761.

193. Verma-Gandhu M, Peterson MR and Peterson TC. (2007) Effect of fetuin, a TGFbeta antagonist and pentoxifylline, a cytokine antagonist on hepatic stellate cell function and fibrotic parameters in fibrosis. Eur J Pharmacol, 572(2-3): 220-227.

194. EASL. (2012) EASL Clinical Practice Guidelines: Wilson's disease. J Hepatol, 56(3): 671-685.

195. Brewer G, *Wilson's disease*, in *Harrison's Principles of Internal Medicine*, E.B. AS Fauci, DL Kasper, SL Hauser, DL Longo, JL Jameson, J Loscalso, Editor. 2008, McGraw-Hill. p. 2449-24452.

196. Bruha R, Marecek Z, Pospisilova L, Nevsimalova S, Vitek L, Martasek P, Nevoral J, Petrtyl J, Urbanek P, Jiraskova A and Ferenci P. (2011) Long-term follow-up of Wilson disease: natural history, treatment, mutations analysis and phenotypic correlation. Liver Int, 31(1): 83-91.

197. Ferenci P, Caca K, Loudianos G, Mieli-Vergani G, Tanner S, Sternlieb I, Schilsky M, Cox D and Berr F. (2003) Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease. Liver Int, 23(3): 139-142.

198. Weiss KH, Gotthardt DN, Klemm D, Merle U, Ferenci-Foerster D, Schaefer M, Ferenci P and Stremmel W. (2011) Zinc monotherapy is not as effective as chelating agents in treatment of Wilson disease. Gastroenterology, 140(4): 1189-1198 e1181.

199. Weiss KH, Gotthardt D, Schmidt J, Schemmer P, Encke J, Riediger C, Stremmel W, Sauer P and Merle U. (2007) Liver transplantation for metabolic liver

diseases in adults: indications and outcome. Nephrol Dial Transplant, 22 Suppl 8: viii9-viii12.

200. Medici V, Mirante VG, Fassati LR, Pompili M, Forti D, Del Gaudio M, Trevisan CP, Cillo U, Sturniolo GC and Fagiuoli S. (2005) Liver transplantation for Wilson's disease: The burden of neurological and psychiatric disorders. Liver Transpl, 11(9): 1056-1063.

201. Nazer H, Ede RJ, Mowat AP and Williams R. (1986) Wilson's disease: clinical presentation and use of prognostic index. Gut, 27(11): 1377-1381.

202. Dhawan A, Taylor RM, Cheeseman P, De Silva P, Katsiyiannakis L and Mieli-Vergani G. (2005) Wilson's disease in children: 37-year experience and revised King's score for liver transplantation. Liver Transpl, 11(4): 441-448.

203. Moores A, Fox S, Lang A and Hirschfield GM. (2012) Wilson disease: Canadian perspectives on presentation and outcomes from an adult ambulatory setting. Can J Gastroenterol, 26(6): 333-339.

204. Cholongitas E, Papatheodoridis GV, Vangeli M, Terreni N, Patch D and Burroughs AK. (2005) Systematic review: The model for end-stage liver disease--should it replace Child-Pugh's classification for assessing prognosis in cirrhosis? Aliment Pharmacol Ther, 22(11-12): 1079-1089.

205. Kalabay L, Graf L, Voros K, Jakab L, Benko Z, Telegdy L, Fekete B, Prohaszka Z and Fust G. (2007) Human serum fetuin A/alpha2HS-glycoprotein level is associated with long-term survival in patients with alcoholic liver cirrhosis, comparison with the Child-Pugh and MELD scores. BMC Gastroenterol, 7: 15.

206. Huerre C, Uzan G, Grzeschik KH, Weil D, Levin M, Hors-Cayla MC, Boue J, Kahn A and Junien C. (1984) The structural gene for transferrin (TF) maps to 3q21----3qter. Ann Genet, 27(1): 5-10.

207. Robertson CM, Gerry F, Fowkes R and Price JF. (2012) Carotid intima-media thickness and the prediction of vascular events. Vasc Med, 17(4): 239-248.

208. Bots ML, Hofman A and Grobbee DE. (1997) Increased common carotid intima-media thickness. Adaptive response or a reflection of atherosclerosis? Findings from the Rotterdam Study. Stroke, 28(12): 2442-2447.

209. Stefan N, Haring HU and Schulze MB. (2008) Association of fetuin-A level and diabetes risk. JAMA, 300(19): 2247; author reply 2247-2248.

210. Kahraman A, Sowa JP, Schlattjan M, Sydor S, Pronadl M, Wree A, Beilfuss A, Kilicarslan A, Altinbas A, Bechmann LP, Syn WK, Gerken G and Canbay A. (2013) Fetuin-A mRNA expression is elevated in NASH compared with NAFL patients. Clin Sci (Lond), 125(8): 391-400.

211. London GM, Guerin AP, Marchais SJ, Metivier F, Pannier B and Adda H. (2003) Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. Nephrol Dial Transplant, 18(9): 1731-1740.

212. Smith ER, Ford ML, Tomlinson LA, Rocks BF, Rajkumar C and Holt SG. (2010) Poor agreement between commercial ELISAs for plasma fetuin-A: An effect of protein glycosylation? Clin Chim Acta, 411(17-18): 1367-1370.

213. Kaushik SV, Plaisance EP, Kim T, Huang EY, Mahurin AJ, Grandjean PW and Mathews ST. (2009) Extended-release niacin decreases serum fetuin-A concentrations in individuals with metabolic syndrome. Diabetes Metab Res Rev, 25(5): 427-434.

214. Mori K, Emoto M and Inaba M. (2011) Fetuin-A: a multifunctional protein. Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov, 5(2): 124-146.

215. Mori K, Emoto M and Inaba M. (2012) Fetuin-A and the cardiovascular system. Adv Clin Chem, 56: 175-195.

216. Bluher M, Rudich A, Kloting N, Golan R, Henkin Y, Rubin E, Schwarzfuchs D, Gepner Y, Stampfer MJ, Fiedler M, Thiery J, Stumvoll M and Shai I. (2012) Two patterns of adipokine and other biomarker dynamics in a long-term weight loss intervention. Diabetes Care, 35(2): 342-349.

217. Malin SK, Mulya A, Fealy CE, Haus JM, Pagadala MR, Scelsi AR, Huang H, Flask CA, McCullough AJ and Kirwan JP. (2013) Fetuin-A is linked to improved glucose tolerance after short-term exercise training in nonalcoholic fatty liver disease. J Appl Physiol (1985), 115(7): 988-994.

218. Koch M, Jacobs G, Hampe J, Rosenstiel P, Krawczak M and Nothlings U. (2013) Higher Fetuin-A Level Is Associated with Coexistence of Elevated Alanine Aminotransferase and the Metabolic Syndrome in the General Population. Metab Syndr Relat Disord.

219. Laughlin GA, Cummins KM, Wassel CL, Daniels LB and Ix JH. (2012) The association of fetuin-A with cardiovascular disease mortality in older

community-dwelling adults: the Rancho Bernardo study. J Am Coll Cardiol, 59(19): 1688-1696.

220. Roos M, von Eynatten M, Heemann U, Rothenbacher D, Brenner H and Breitling LP. (2010) Serum fetuin-A, cardiovascular risk factors, and six-year follow-up outcome in patients with coronary heart disease. Am J Cardiol, 105(12): 1666-1672.

221. Hanefeld M, Schaper F, Appelt D and Fuchs W. (2011) Effects of pioglitazone versus simvastatin on biomarkers of inflammation in patients on high cardiovascular risk. Horm Metab Res, 43(13): 980-983.

222. Ley SH, Sun Q, Jimenez MC, Rexrode KM, Manson JE, Jensen MK, Rimm EB and Hu FB. (2013) Association between alcohol consumption and plasma fetuin-A and its contribution to incident type 2 diabetes in women. Diabetologia.

223. Tschop M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E and Heiman ML. (2001) Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. Diabetes, 50(4): 707-709.

224. Meyer C. (2010) Final answer: ghrelin can suppress insulin secretion in humans, but is it clinically relevant? Diabetes, 59(11): 2726-2728.

225. Palik E, Baranyi E, Melczer Z, Audikovszky M, Szocs A, Winkler G and Cseh K. (2007) Elevated serum acylated (biologically active) ghrelin and resistin levels associate with pregnancy-induced weight gain and insulin resistance. Diabetes Res Clin Pract, 76(3): 351-357.

226. Saad MF, Bernaba B, Hwu CM, Jinagouda S, Fahmi S, Kogosov E and Boyadjian R. (2002) Insulin regulates plasma ghrelin concentration. J Clin Endocrinol Metab, 87(8): 3997-4000.

227. Broglio F, Gottero C, Prodam F, Destefanis S, Gauna C, Me E, Riganti F, Vivenza D, Rapa A, Martina V, Arvat E, Bona G, van der Lely AJ and Ghigo E. (2004) Ghrelin secretion is inhibited by glucose load and insulin-induced hypoglycaemia but unaffected by glucagon and arginine in humans. Clin endocrinol, 61(4): 503-509.

228. An W, Li Y, Xu G, Zhao J, Xiang X, Ding L, Li J, Guan Y, Wang X, Tang C, Li X, Mulholland M and Zhang W. (2010) Modulation of ghrelin O-acyltransferase expression in pancreatic islets. Cell Physiol Biochem, 26(4-5): 707-716.

229. Sondergaard E, Gormsen LC, Nellemann B, Vestergaard ET, Christiansen JS and Nielsen S. (2009) Visceral fat mass is a strong predictor of circulating ghrelin levels in premenopausal women. Eur J Endocrinol, 160(3): 375-379.

230. Anderwald C, Brabant G, Bernroider E, Horn R, Brehm A, Waldhausl W and Roden M. (2003) Insulin-dependent modulation of plasma ghrelin and leptin concentrations is less pronounced in type 2 diabetic patients. Diabetes, 52(7): 1792-1798.

231. Soni AC, Conroy MB, Mackey RH and Kuller LH. (2011) Ghrelin, leptin, adiponectin, and insulin levels and concurrent and future weight change in overweight, postmenopausal women. Menopause, 18(3): 296-301.

232. Ott V, Fasshauer M, Dalski A, Meier B, Perwitz N, Klein HH, Tschop M and Klein J. (2002) Direct peripheral effects of ghrelin include suppression of adiponectin expression. Horm Metab Res, 34(11-12): 640-645.

233. Jiang ZT, Zou YP, Huang H, Zheng F, Dai X and Li Y. (2010) Mechanism of laparoscopic adjustable gastric banding in the treatment of obesity with type 2 diabetes mellitus. Chinese Journal of Gastrointestinal Surgery, 13(7): 520-523.

234. Voros K, Graf L, Jr., Prohaszka Z, Graf L, Szenthe P, Kaszas E, Borocz Z, Cseh K and Kalabay L. (2011) Serum fetuin-A in metabolic and inflammatory pathways in patients with myocardial infarction. Eur J Clin Invest, 41(7): 703-709.

235. Bonvini RF HT, Camenzind E. (2005) Inflammatory response post-myocardial infarction and reperfusion: a new therapeutic target? European Heart Journal Supplements, 7(Supplement I): 127-136.

236. Liehn EA, Postea O, Curaj A and Marx N. (2011) Repair after myocardial infarction, between fantasy and reality: the role of chemokines. J Am Coll Card, 58(23): 2357-2362.

237. Frangogiannis NG, Smith CW and Entman ML. (2002) The inflammatory response in myocardial infarction. Cardiovasc Res, 53(1): 31-47.

238. Karmiris K, Koutroubakis IE, Xidakis C, Polychronaki M, Voudouri T and Kouroumalis EA. (2006) Circulating levels of leptin, adiponectin, resistin, and ghrelin in inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis, 12(2): 100-105.

239. Toussirot E, Streit G, Nguyen NU, Dumoulin G, Le Huede G, Saas P and Wendling D. (2007) Adipose tissue, serum adipokines, and ghrelin in patients with ankylosing spondylitis. Metabolism, 56(10): 1383-1389.

240. Kadoglou NP, Sailer N, Kapelouzou A, Lampropoulos S, Vitta I, Kostakis A and Liapis CD. (2012) Effects of atorvastatin on apelin, visfatin (nampt), ghrelin and early carotid atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. Acta Diabetol, 49(4): 269-276.

241. Otto C, Otto B, Frost RJ, Vogeser M, Pfeiffer AF, Spranger J and Parhofer KG. (2007) Short-term therapy with atorvastatin or fenofibrate does not affect plasma ghrelin, resistin or adiponectin levels in type 2 diabetic patients with mixed hyperlipoproteinaemia. Acta Diabetol, 44(2): 65-68.

242. Kadoglou NP, Tsanikidis H, Kapelouzou A, Vrabas I, Vitta I, Karayannacos PE, Liapis CD and Sailer N. (2010) Effects of rosiglitazone and metformin treatment on apelin, visfatin, and ghrelin levels in patients with type 2 diabetes mellitus. Metabolism, 59(3): 373-379.

243. Voros K, Prohaszka Z, Kaszas E, Alliquander A, Terebesy A, Horvath F, Janik L, Sima A, Forrai J, Cseh K and Kalabay L. (2012) Serum ghrelin level and TNF-alpha/ghrelin ratio in patients with previous myocardial infarction. Arch Med Res, 43(7): 548-554.

244. Zhang H, Park Y, Wu J, Chen X, Lee S, Yang J, Dellsperger KC and Zhang C. (2009) Role of TNF-alpha in vascular dysfunction. Clin Sci (Lond), 116(3): 219-230.

245. Daveau M, Davrinche C, Djelassi N, Lemetayer J, Julen N, Hiron M, Arnaud P and Lebreton JP. (1990) Partial hepatectomy and mediators of inflammation decrease the expression of liver alpha 2-HS glycoprotein gene in rats. FEBS Lett, 273(1-2): 79-81.

246. Lee UE and Friedman SL. (2011) Mechanisms of hepatic fibrogenesis. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 25(2): 195-206.

247. Peterson TC. (1993) Pentoxifylline prevents fibrosis in an animal model and inhibits platelet-derived growth factor-driven proliferation of fibroblasts. Hepatology, 17(3): 486-493.

248. Alqahtani SA. (2012) Update in liver transplantation. Discov Med, 14(75): 133-141.

249. Catana AM and Medici V. (2012) Liver transplantation for Wilson disease. World J Hepatol, 4(1): 5-10.

9. Saját publikációk jegyzéke

9.1 A disszertációhoz kapcsolódó közlemények

Kalabay L, Gráf L, Vörös K, Jakab L, Benkő Z, Telegdy L, Fekete B, Prohászka Z, Füst G. (2007) Human serum fetuin A/α2HS-glycoprotein level is associated with long-term survival in patients with alcoholic liver cirrhosis, comparison with the Child-Pugh and MELD scores. BMC Gastroenterol, 7:15-24. **IF: 1,975**

Vörös K, Gráf L Jr, Prohászka Z, Gráf L, Szenthe P, Kaszás E, Böröcz Z, Cseh K, Kalabay L. (2011) Serum fetuin-A in metabolic and inflammatory pathways in patients with myocardial infarction. Eur J Clin Invest, 41(7): 703-709. **IF: 3,018**

Vörös K, Prohászka Z, Kaszás E, Alliquander A, Terebesy A, Horváth F, Janik L, Sima A, Forrai J, Cseh K, Kalabay L. (2012) Serum ghrelin level and TNF-α/ghrelin ratio in patients with previous myocardial infarction. Arch Med Res, 43(7): 548-554. **IF: 2,079**

Vörös K, Cseh K, Kalabay L. (2014) A fetuin-A szerepe cardiovascularis betegségekben. Orv Hetil, 155(1): 16-23.

9.2 A disszertációhoz nem kapcsolódó közlemények

Vörös K, Torzsa P, Kalabay L. (2008) Burnout a napi praxisban. Magyar Családorvosok Lapja, 10: 22-27.

Vajer P, Szélvári Á, Vörös K, Torzsa P, Eőry A, Dunai K, Tamás F, Kalabay L. (2010) Comparative analysis of diagnostic probability estimates of some common diagnoses among family doctors, medical residents, and medical students reveals negative correlation between age and estimate of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Med Sci Mon, 16(3): CR109-115. **IF: 1,699**

Ádám Sz, Torzsa P, Győrffy Zs, Vörös K, Kalabay L. (2009) Gyakori a magas fokú kiégés a háziorvosok és háziorvosi rezidensek körében. Orv Hetil, 150(7):317-23.

Vörös K, Magyar Zs, Kalabay L. (2012) Pszichoszociális problémákkal társult magasvérnyomás-betegség beállítása. Magyar Családorvosok Lapja, 6:11-14.

Rurik I, IIyés I, Rinfel J, Hajnal F, Vajer P, Szélvári Á, Torzsa P, Nagy L, Balogh S, Vörös K, Tamás F, Kalabay L. Past and present challenges in education and certification of family physicians in Hungary. In: María Ortiz, Claudia Rubio (szerk.) Educational Evaluation: 21st century issues and challenges. New York: Nova Science Publishers Inc., 2008: 407-416. (ISBN:978-1-60456-577-5)

10. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőmnek, dr. Kalabay László professzor úrnak, hogy munkám során végig támogatott, a kutatási irány kidolgozásának nehéz és komplex feladatától a legapróbb gyakorlati problémák megoldásáig.

Köszönöm dr. Cseh Károly professzor úrnak és munkatársainak (Népegészségtani Intézet és Fővárosi Önkormányzat Károlyi Sándor Kórház I. Belgyógyászati Osztály, osztályvezető főorvos) nélkülözhetetlen segítségét a betegadatok összegyűjtésében, digitalizálásában. Külön köszönettel tartozom professzor úrnak gyakorlatias tanácsaiért, biztatásáért.

Köszönöm dr. Szalay Ferenc professzor úrnak (I. Belgyógyászati Klinika, Hepatológia Szakrendelés) a Wilson-kóros betegek adatainak összegyűjtésében és feldolgozásában nyújtott segítségét.

Köszönöm Gráf László professzor úrnak (Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Biológiai Intézet, Biokémiai Tanszék) közös munkánkban nyújtott áldozatos segítségét.

Köszönöm dr. Prohászka Zoltánnak (laboratóriumvezető egyetemi tanár, Semmelweis Egyetem III. Sz. Belgyógyászati Klinika és MTA Aherosclerosis kutatócsoport) statisztikai módszerek elsajátításában, a laboratóriumi mérésekben nyújtott segítségét és tanácsait.

Köszönöm dr. Sőti Csaba docens úrnak (Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézet) a biokémiai vizsgálatok elsajátításában nyújtott segítségét.

Köszönöm Nagyné Vers Mária segítségét a fetuin-A koncentráció meghatározásában és dr. Kleiber Mónika főorvosnőnek segítségét a rutin laboratóriumi mérésekben.

Családomnak türelmüket.