

**Új regulatórikus mechanizmusok a lipid
metabolizmusban: a triglicerid szintet befolyásoló
polimorfizmusoktól a mitokondriumok stabilitásáig**

Sümegei Katalin

Ph.D. értekezés

Témavezető: Dr. Melegh Béla

Programvezető: Dr. Melegh Béla

Doktori iskola vezető: Dr. Sümegei Balázs



Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Genetikai Intézet

2018

Bevezető

A szív-és érrendszeri betegségek (CVD) világszerte jelentős halálokok. Az utóbbi idők egész genomot érintő tanulmányai (GWA) a vér lipidszintjének változásaival kapcsolatos genetikai polimorfizmusokat tártak fel. Manapság speciális figyelem irányul a metabolikus következményekre, így a triglicerid (TG) szint emelkedésekre, amelyek szív-és érrendszeri betegségeket, metabolikus szindrómát vagy cerebrovasculáris betegségeket, különösképpen a sztrókot okozhatnak.

Míg a CVD háttérében álló pontos okok nem ismertek, számos tanulmány állapította meg, hogy a TG metabolizmus miatti emelkedett triglicerid (TG) szintek a CVD független kockázati tényezői. Tehát, azoknak a kutatásoknak, amelyek a TG szint módosító faktoraira – különösképpen a genetikai hajlamosító variánsokra – irányulnak, klinikai jelentősége lehet. Ezek közé a faktorok közé tartoznak többek között az ANGPTL3, a CILP2, a TRIB1, az MLXIPL, a GALNT2, a GCKR és az APOA5 gének. Kiváló példaként említhető, hogy az APOA5 polimorfizmusok funkcionális szerepét már széleskörűen vizsgálták. Ezek közül több volt kapcsolatos az emelkedett TG szintekkel és az ischemiás sztrók és kardio- vagy cerebrovaszkuláris betegségek, vagy a metabolikus szindróma magasabb kockázataival. Az utóbbi időben más, TG módosító polimorfizmusok kerültek a fókuszba, amelyeknek szintén szerepük lehet különböző betegségek kialakulásában. Ezek egyes variánsait megemelkedett, más variánsait csökkent triglicerid szintekkel kapcsolatban említik. Bizonyos TG-k emelkedett szintjeinek magasabb kockázata lehet számos érrendszeri betegségre nézve, sőt szignifikáns összefüggést írtak le a TG-emelkedés és a polimorfizmusok között.

Az intracelluláris zsírsavakat főként a mitokondriumokban katabolizálták. A hosszúláncú zsírsavakat a karnitin-acil-transzferáz rendszer szállítja a mitokondriális mátrix térbe, és a végén zsírsav-acil-CoA-t hoz létre, amelyet a mitokondriális béta-oxidációs rendszer acetyl-CoA-vá alakít. A szabad zsírsavak az ATP szintézis elősegítése mellett komoly stresszt okoznak különböző szövetekben, és elősegíthetik a celluláris stressz kialakulását is. A zsírsavak jelentős mértékben növelik a mitokondriumokban az intracelluláris reaktív oxigén species (ROS) termelést. A palmitát által kiváltott oxidatív stressz növeli az endoplazmatikus retikulumból (ER) származó Ca^{2+} szintet, amely növeli a mitokondriális ROS termelését. Emelkedett Ca^{2+} és ROS mitokondriális permeabilitási átmenetet indukálhat, ami elősegíti a mitokondriális apoptózist. Ez az örögi lipotoxicitási út β -sejt-halálhoz vezet, inzulinrezisztenciát és diabéteszt okoz.

A mitokondriális membrán potenciált ($\Delta\Psi$) csökkentő ágensek (UCP-1, szétkapcsoló molekulák) és antioxidánsok (szuperoxid-dismutáz, N-acetil-cisztein, liponsav) meg tudják akadályozni a glükóz-indukálta PKC aktivációt, amely diabetikus szövödményekhez vezet.

Ezek a megfigyelések más adatokkal együtt mutatják, hogy mennyire fontos a mitokondriális reaktív oxigén species termelés a diabétesz kialakulásában. Sajnos a humán vizsgálatokban az antioxidáns terápia sikertelen olyan összetevők esetében, amelyek kiváló védelmet biztosítanak a sejt kultúrában és állatokon végzett vizsgálatokban. Ezért nagyon előnyös lenne olyan molekulákat találni, amelyek nem antioxidánsok olyan értelemben, hogy nem reagálnának az ROS-sal, de mitokondriális respirációs komplexeken keresztül meg tudják akadályozni vagy jelentős mértékben csökkenthetik a mitokondriális ROS termelést.

A BGP-15-nek, amely O-(3- piperidino-2-hidroxi-1-propil)- piridin-3-karbonsav-amidoxim-monohidroklorid, számos citoprotektív hatása van. Mindazonáltal, máig nem sikerült a BGP-15-re semmilyen tiszta intracelluláris célpontot azonosítani. A betegség modellekben a BGP-15 megakadályozta a sejthalált, csökkentette az oxidatív stresszt (lipid peroxidáció és protein oxidáció), aktiválta a hő sokk fehérje (HSP) expressziót. Emellett a BGP-15 gyengítette a gyulladási reakciókat, a DNS-törések kialakulását és a poli-ADP-ribóz polimeráz (PARP) aktivációját, elősegítette a mitokondriális energiatermelést. Ezeken a folyamatokon keresztül a BGP-15 csökkentette a mitokondriumból apoptózist indukáló faktor (AIF) nukleáris transzlokációját, redukálta a c-Jun N-terminális kinázok (JNK) aktivációját, és gátolta a p38 mitogén-aktivált fehérje (MAP) kináz aktivációját. Korábbi vizsgálatok/kutatások igazolták, hogy a human II fázissal kapcsolatos tanulmányok szerint a BGP-15 inzulinérzékenyítő az olanzapin-indukálta inzulin rezisztenciában és a diabétesz okozta inzulin rezisztenciában. Korábban felvetődött, hogy ez kapcsolatos lehet a BGP-15-nak a HSP-re gyakorolt co-inducer hatásával, de nincsenek adatok a BGP-15 közvetlen hatására a hő sokk transzkripció faktorra (HSF1).

Korábbi publikációk kimutatták, hogy ROS (beleértve a mitokondriális ROS termelést) jön létre a diabéteszben, és inzulin rezisztencia kialakulásához vezet. Ezért feltételezték, hogy a BGP-15 mérsékli a mitokondriális ROS termelést azáltal, hogy kapcsolódik a Complex I-hez vagy a Complex III-hoz, ezáltal megakadályozza a mitokondriális ROS termeléshez vezető ördögi ciklus kialakulását, valamint a diabéteszes re-programozásra jellemző abnormális aktivációk kialakulását, mint számos kináz-kaszád és a defektív Glut4 sejt felszínre történő transzlokációját.

A kutatás célkitűzései

PhD képzésem idején különböző profilú kutatási projekteken vettem részt, amelyek a sejtekre, in vitro modellekre, állatokra, human mintákra irányultak. Disszertációmiban két fő, egymással szoros kapcsolatban álló fókuszot ismertetek és elemzek.

Az első terület olyan humán kutatásokat foglal magába, amelyek főként a roma populáció mintájában a trigliceridmódosító gének lehetséges funkcionális szerepeire irányulnak. Ez a kutatás magába foglalta a TG szintet befolyásoló APOA5 polimorfizmusokat roma mintákban, melyek hajlamosító faktorként ismertek. Ismert, hogy a roma lakosság körében nagyon elterjedt a megemelkedett TG szint. Feltételezve, hogy a genetikai háttér szintén szerepet játszik a kardiovaszkuláris betegségek iránti hajlamosítótságban, a szakirodalomban számos genetikai polimorfizmust vizsgáltuk, melyek szerepet játszanak a lipid metabolizmusban és a metabolikus szindróma és kardio/cerebrovaszkuláris betegségek kialakulásában. A következő polimorfizmusokat vizsgáltuk: ANGPTL3 gén rs12130333, CILP2 gén rs16996148, TRIB1 gén rs17321515, MLXIPL gén rs17145738 és rs3812316, GALNT2 gén rs4846914, GCKR gén rs1260326 és rs780094, valamint APOA5 gén rs662799, rs2266788, rs207560 és rs3135506. A mintákat lényegében a PCR-RFLP módszerrel genotipizáltuk. A fókuszban lévő variánsok terápiás beavatkozások célpontjai lehetnek. Gyakran alkalmaztunk kontrollként biobankunkban gyűjtött mintákat, néhány kísérletben összehasonlításokat is végeztünk nagy nyilvános biobank és adatbank eredményekkel. Ezekben a kísérletekben gyakran használtunk nemzetközileg elismert biobankokat, valamennyi kísérletben betartottuk a humán kísérletekre vonatkozó Helsinki Nyilatkozatot, és beszereztük az megfelelő etikai bizottság engedélyét.

A disszertáció második része – a mitokondriális stabilitási kísérletek – egy hosszú távú, meglehetősen komplex mitokondriális kísérletsorozat részét képezte. A mitokondriumoknak az oxidatív stresszel kapcsolatban fontos szerepe van betegségek kialakulásában és progressziójában. A mitokondriális reaktív oxigén specieszek (ROS) kritikusak lehetnek fontos betegségek kialakulásában, így azoknak a molekuláknak, amelyek csökkenteni tudják a mitokondriális ROS képződést, azoknak fontos farmakológiai szerepük lehet betegségekben bekövetkező sejthalál elleni védelemben. Ezért vizsgáltuk meg a BGP-15 hatását a mitokondriális ROS termelésre, a ROS indukálta membránpotenciál változására és a mitokondriális sejthalálra oxidatív stresszben illetve LPS-indukálta gyulladásos modellben. A vizsgálatok részleteit az “Anyagok és módszerek” pont tartalmazza.

Anyagok és módszerek

A vizsgált populáció: A kutatásban használt magyar és a roma populáció az Orvosi Genetikai Intézet Biobankjának részét képezi, amely része a Magyar Nemzeti Biobank Hálózatnak (www.biobanks.hu), valamint az Európai Biobank és Biomolekuláris Források Kutatási Infrastruktúrájának (European Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure, BBMRI) (<http://bbmri.eu/bbmri/>). A mintanagyság meghatározása az SNP prevalencia előzetes elemzésén alapult. A kutatás során összesen 363 roma és 404 magyar mintát vizsgáltunk.

Genetikai megközelítések: A DNS-extrakcióhoz a vért 10 ml EDTA-t tartalmazó csövekbe periferiális vénából vettük, a DNS-t pedig rutin laboratóriumi módszerekkel vontuk ki fehérvérsejtekből. A DNS-amplifikációt standard PCR módszerekkel végeztük, majd RFLP technikát alkalmaztunk, hogy észlelhessük mindegyik specifikus DNS-szekvencia variációit.

Biokémiai anyagok és módszerek:

WRL-68 (HeLa származék), H9c2 (patkányszív myoblast) és U-251 MG (humán malignus glioblastoma) sejteket használtunk a vizsgálathoz. A felhasznált Wistar patkányokat feláldoztuk, májukat eltávolítottuk, és a májhomogenizátumokból differenciális centrifugálással mitokondriumokat izoláltunk, a standard protokollban leírtaknak megfelelően. Az izolált patkánymáj-mitokondriumokban a membránpotenciált ($\Delta\Psi$) R123 fluoreszcenciával határoztunk meg a mitokondriumokból való felszabadításkor történő méréssel. A szétkapcsolást 50 μM 2,4-dinitro-fenol alkalmazásával indukáltuk. Változtatásokat a $\Delta\Psi$ -ben BGP-15 hozzáadásával indukáltunk. A szétkapcsolást 50 μM 2,4-dinitrophenol felhasználásával indukáltuk. A megtisztított felülúszó egy részét liofilizáltuk és 0,1% -os vizes hangyasavoldatban (0.1%) felvettük. A minták egy részét a HPLC-MS rendszerbe injektáltuk. A folyadékkromatográfiás elválasztást Kinetex alkalmazásával végeztük. Az adatelemzést a Thermo Xcalibur software segítségével végeztük. Az ion-intenzitásokat egy BGP-15 kalibrációs görbéhez igazítva határoztuk meg.

$\Delta\Psi$ $\Delta\Psi$

A WRL-68 sejtek életképességét a különböző kezelések után szulfo-rodamin B (SRB) próba segítségével teszteltük. A fényelnyeléseket, és fluoreszcencia értékeket a GloMax Multi Detection System (Promega, USA) segítségével határoztuk meg. A96 lyukú plate-eken a fényelnyelés értékeket korrigáltuk az üres lyukak értékeivel. Az intracelluláris ROS-t

(peroxinitrit, OH és vas + hidrogén-peroxid (H₂O₂)) két különböző közelítéssel határoztuk meg, mint pl. fluoreszcens mikroszkópiával és ROS indukálta fluoreszcencia intenzitás plate-reader segítségével történő kvantitatív meghatározásával. A ROS komponensek mitokondriális termelését a DHR123 (1 μM) Rodamin123-má (R123) történő oxidációjával végeztük, és fluoreszcens spektrométerrel mértük. A BGP-15 antioxidáns kapacitáit a DHR123-nak R123-má történő kémiai oxidációjával határoztuk meg. Az mERFP-expresszálo plazmidot a citokróm c oxidáz célzott mitokondriális szignál szekvenciájának (COX8A) gén segítségével irányítottuk a mitokondriumba. Az amplifikált szekvenciát azután pDsRed-Monomer-N1 emlős expresszió plazmidba tettük a XhoI és HindIII restrikciós helyek között, a sejtek transzfektálása után a vörös fluoreszcencia jelezte a mitokondriumokat. ΔΨ-t a ΔΨ specifikus fluoreszcens próba segítségével mértük. Spot RT3 kamerával felszerelt Nikon Eclipse Ti-U fluoreszcens mikroszkópot 40x epifluoreszcens illuminációs objektívvel szereltünk fel. A festék aspecifikus adszorpciójának vizsgálatára TMRM próbát alkalmaztunk, a fluoreszcenciajelet újra mértük, miután hozzáadtunk karbonil-cianid-4- (trifluor-metoxi) -fenilhidrazon (FCCP) szétkapcsoló ágenszt. A ΔΨ értékét meghatározására TMRM festéket használtunk, és a fluoreszcenciajel FCCP- kezelés előtti és utáni különbsége alapján végeztük.

A sejthalál detektálása annexin V-FITC/PI kettős festési folyamat után a GloMax Multi Detection rendszerrel történt. Utána zöld fluoreszcenciás jelet (annexin V-FITC) mértünk a GloMax Multi Detection rendszerrel (a gerjesztési hullámhossz 490 nm, az emissziós hullámhossz 518 nm volt). A vörös fluoreszcencia jelet (PI) 525 nm-nél idéztük elő, és az előidézett kibocsátást 617 nm-en mértük.

Statisztikai elemzés: A statisztikai elemzést SPSS 18.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) program segítségével végeztük. Valamennyi bemutatott klinikai adat átlagot ± SEM értékeket jelent. Az adatok statisztikai elemzése céljából a PASW statisztika 20 software csomagot (SPSS Inc., Chicago IL) használtunk.

Eredmények

GCKR, MLXIPL, ANGPTL3, CILP2, GALNT2, TRIB1 and APOA5: A polimorfizmusok összes allél-eloszlása és allélfrekvenciája mind a roma, mind a magyar egyénekben Hardy–Weinberg egyensúlyban voltak. A romák és magyarok összehasonlításakor mindkét MLXIPL variáns esetén, valamint a GALNT2 rs4846914 és az ANGPTL3 rs1213033 polimorfizmusokat tekintve szignifikáns eltéréseket találtunk az allélfrekvenciák szintjén. Az MLXIPL rs17145738 és rs3812316 variánsaiban a C allélok gyakrabban jelentek meg a roma

populációban, mint a magyarban. Az ANGPTL3 gén rs1213033 és a GALNT2 gén rs4846914 variánsai alacsonyabb allélfrekvenciákat mutattak a roma populációban, mint a magyaroknál. Nem tudtunk összefüggést kimutatni a szérum triglicerid szintek és a hordozó minor allélek és nem-hordozók között sem a roma, sem a magyar mintákban. Az APOA5 gén rs662799 polimorfizmusnál azt találtuk, hogy a G allél frekvenciája közel háromszor olyan magas volt a roma populációban, mint a magyar mintában ($p=0.0001$) és közel kétszer magasabb, mint az európai populációban (1000 Genomes; $p=0.006$.) Az rs207560 eredményei azt mutatják, hogy a T allél gyakorisága a roma mintában majdnem kétszer olyan magas volt, mint a magyar populációban ($p=0.018$). Az rs3135506 adatai azt mutatják, hogy a G allél gyakorisága a roma mintában több mint kétszer olyan magas volt, mint a magyar populációban ($p=0.001$); mindazonáltal, nincs szignifikáns eltérés az európai populációtól (1000 Genomes; $p=0.066$). Az rs2266788 variánst is elemeztük, ahol nem találtunk különbséget a magyar és az európai populáció G allél gyakoriságai között (1000 genom, HapMap), a roma alanyokhoz viszonyítva ($p=0.473$; 0.062; 0.375).

Mindkét populációban a plazma trigliceridszintek szignifikánsan emelkedettebbek voltak a kockázati allélek hordozóiban mindegyik SNP esetében, amikor összehasonlítottuk azokat a nem-hordozókkal. Mindkét tanulmányozott csoportban szignifikánsan magasabb TG szinteket találtunk az rs207560, rs3135506 és rs2266788 variánsok heterozigóta hordozóiban, összehasonlítva a nem-hordozókkal. A roma alanyokban az rs662799 variáns homozigóta hordozói esetében magasabbak a TG-szintek, mint a nem-hordozók esetében. Magyaroknál nem találtunk különbséget a TG szintek tekintetében a homo- vagy heterozigóta hordozók és nem-hordozók között. A koleszterol szintek összehasonlítása nem mutatott különbséget.

Mindkét vizsgált csoportban elemeztük a négy APOA5 variáns közötti kapcsolatokat. Erős korrelációt találtunk az rs662799, rs207560 és rs2266788 variánsok között. Mindazonáltal, az rs3135506 variáns nem mutatott szignifikáns korrelációt más APOA5 variánssal se a roma, se a magyar mintában. Szignifikáns korrelációt találtunk az APOA5 valamennyi variánsa és a TG között. Egyik populációban sem figyeltünk meg szignifikáns korrelációt az allél variánsok és a koleszterol szintek között. A magyar populációban a kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanság vizsgálat mérsékelt asszociációt mutatott az rs2266788 és az rs3135506 variánsok között, illetve az rs207560 és az rs3135506 között. A roma populációban erős korrelációt találtunk az rs207560 és az rs3135506 variánsok között. Hét haplotípust azonosítottunk mindegyik populációban. Ezek közül hat haplotípus – az APOA5*1, az APOA5*2, az APOA5*3, az APOA5*4, az APOA5*5 és a ht7 – jelent meg a leggyakrabban mindkét populációban. Szignifikáns különbségeket találtunk a roma és a magyar populáció

között az APOA5*2, APOA5*4, APOA5*5 és ht7 haplotípusok jelenlétében. Azonban nem azonosítottunk eltéréseket a két populáció között az APOA5*1 és APOA5*3 haplotípusok jelenlétében. A romákban nem észleltünk ht5 haplotípust, a magyar populációban pedig ht4 haplotípust.

BGP15: Azt tapasztaltuk, hogy a BGP-15 delokalizált pozitív töltéssel rendelkezik, ezért alkalmas a membrán potenciál-függő felvételének meghatározására. A BGP-15 felvételét mértük az energetizált és szétkapcsolt mitokondriumokban. Az üledék extramitokondriális térfogatot glükóz-6-foszfát felhasználásával határoztuk meg, amely anyag nem képes áthatolni a mitokondriális belső membránt. Amikor 50 μ M BGP-15 jelenlétében 10 percen át inkubáltuk a mitokondriumokat, az energetizált mitokondriumok a gyógyszernek több mint 85 százalékát felvették, ami azt sugallja, hogy a BGP-15 nagy része membránpotenciál-függő módon került felvételre. Dinitrofenollal történő teljes szétkapcsolás szignifikánsan csökkentette a BGP-15 felvételt. Azonban azt tapasztaltuk, hogy még a szétkapcsolt mitokondriumok is több BGP-15-öt kötöttek meg, mint az a mennyiség, amely megfelelne az üledék extramitokondriális térfogatnak, jelezve, hogy a BGP-15 interakcióba lépett a mitokondriális fehérjékkel és/vagy a lipidekkel. Ezt az eredményt fiziológiai feltételekre extrapolálva, valószínűsíthető, hogy a BGP-15 több, mint 90%-a a mitokondriumban halmozódott fel, ami felveti annak lehetőségét, hogy a BGP-15 mitokondriális mechanizmusok révén védi a sejteket.

Mivel a mitokondriumok enyhe szétkapcsolása kedvező lehet az inzulin rezisztenciában, izolált patkánymáj mitokondriumban vizsgáltuk a BGP-15 hatását a $\Delta\Psi$ -re, egy $\Delta\Psi$ -szenzitív festék (R123) felhasználásával. Amikor csupán BGP-15-öt használtunk, a kezelés eredménye koncentráció-függő csökkenés volt a $\Delta\Psi$ -ben millimoláris koncentrációkban. A BGP-15 szubmillimoláris koncentrációinak a hatása a $\Delta\Psi$ -re a kimutatási határ alatt volt, ami azt jelentheti, hogy a kutatás során alkalmazott 50 μ M-os koncentrációnál a gyógyszer alig okozhatott mitokondriális depolarizációt.

Sejtkultúra feltételek között JC-1, sejt-permeábilis fluoreszcens mitokondriális membránpotenciál-függő festék alkalmazásával elemeztük a BGP-15 hatását $\Delta\Psi$ -re. A JC-1 vörös fluoreszcenciát bocsát ki magasan energetizált mitokondriumban, míg a depolarizált mitokondriumok zöld fluoreszcenciát bocsátanak ki (monomer festék). WRL-68 sejteket kezeltünk JC-1 festékkel, ami után fluoreszcens mikroszkópiát végeztünk. A kontroll és BGP-15-tel kezelt sejtekben a fluoreszcens mikroszkópia erős vörös fluoreszcenciát és gyenge zöld fluoreszcenciát mutatott, ami a mitokondriumokban magas $\Delta\Psi$ -re utal. H₂O₂ hozzáadása a sejtekhez elősegíti a mitokondriumok depolarizációját, aminek eredménye a gyengébb vörös

fluoreszcencia és az erősebb zöld fluoreszcencia. Amikor a BGP-15 mellett H_2O_2 -t adtunk a sejtekhez, a mitokondriumok depolarizációja gyengébb lett.

Korábbi kutatások szerint a mitokondriális membrán rendszerek destabilizációja hozzájárul a mitokondriális ROS termeléshez, és a BGP-15 oxidatív stressz alatt védi a mitokondriális membrán rendszereket, ezért feltételeztük, hogy a mitokondriális ROS termelést is befolyásolja. E lehetőség kutatására a WRL-68 sejteket mERFP-vel transzfektáltuk, és a nem-fluoreszcens DHR123 oxidációjának eredményeképpen a zölden fluoreszkáló R123-at fluoreszcens mikroszkóppal mértük. A BGP-15 hozzáadása csökkentette a H_2O_2 indukálta zöld fluoreszcenciát.

Mikroszkópia helyett 1–50 μ M koncentráció mellett, sejt kultúra feltételek mellett a kvantitatív, plate-reader módszerrel elemeztük a BGP-15 hatását a ROS-indukálta ROS-termelésre. WRL-68 sejtekben a BGP-15-nek koncentráció-függő gátló hatása volt az ROS-indukálta ROS-termelésre, ami még az 1 μ M-os koncentrációnál is szignifikáns volt. Annak bizonyítására, hogy ezek a megfigyelések alkalmazhatóak más sejt vonalakra is, ugyanezt a rendszert használva elemeztük a BGP-15 hatását H_2O_2 -indukálta ROS termelésre H9c2 kardiomiocitákban. A BGP-15 koncentrációfüggő módon csökkentette a H9c2 kardiomiocitákban a ROS-indukálta ROS termelést.

Meg akartuk vizsgálni, hogy a BGP-15 tudja-e csökkenteni a mitokondriális szuperoxid termelését. WRL-68 és H9c2 sejtekben DHR123 helyett MitoSOX mitokondriumba irányított redox fluoreszcens festéket használva határoztuk meg a H_2O_2 -indukálta szuperoxid termelést. Az eredmények lényegében összehasonlíthatóak voltak azokkal, amelyeket a DHR123-mal végzett kutatások során nyertünk. Ezeket a kísérleteket megismételtük mitokondriumba irányított MitoTEMPO antioxidáns jelenlétében. A MitoTEMPO valamennyi csoportban csökkentette a H_2O_2 -indukálta ROS termelést, jelezve a BGP-érzékeny ROS-termelés mitokondriális lokalizációját. Ezek az adatok bizonyítékot szolgáltatnak arra, hogy a BGP-15 csökkentette a mitokondriális szuperoxid termelést mind a WRL-68 sejtekben, mind a H9c2 kardiomiocitákban.

Hogy egyértelmű bizonyítékot szolgáltatassunk a BGP-15-nek a ROS-indukálta ROS termelésére gyakorolt gátló hatásától függő mitokondriális mechanizmusokra, Percoll gradiensen tisztított mitokondriumokat használtunk. Meghatároztuk a BGP-15 hatását a DHR123 oxidációjára glutamát és malát mint substrátok jelenlétében, antimycin A hozzáadásával, amely egy komplex III inhibitor. Ezek az adatok mutatják a komplex I és a komplex III közötti szabadgyök képzést a légzési láncban. Azt találtuk, hogy a BGP-15 hozzáadása 10 - 50 μ M koncentráció mellett ~50%-os gátló hatást gyakorolt a mitokondriális

ROS termelésre. Ezek az eredmények azt sejtetik, hogy a BGP-15 hatáspontja a légzési lánc komplex I és a komplex III között van.

Bizonyítottuk azt is, hogy a BGP-15 csökkenti a mitokondriális ROS termelést szukcinát mint szubsztrát és CN mint citokrom-oxidáz inhibitor jelenlétében, bár jóval kisebb mértékben. Ez azt sejteti, hogy a BGP-15 a ROS-termelést többnyire a komplex I-en és a komplex III citokrom b részén keresztül befolyásolta. Ezek az adatok mutatják, hogy a BGP-nek sajátos gátló hatása van a mitokondriális ROS-termelésre a légzési lánc komplex I és a komplex III citokrom b régiójánál, ami nem egy direkt antioxidáns hatás.

Mivel a BGP-15 védelmet nyújt a ROS-termelés csökkentése mellett a H₂O₂-indukálta mitokondriális károsodás ellen, elemeztük hatásait a H₂O₂-indukálta sejthalálra. Azt találtuk, hogy a korábban említett védő hatásaival összhangban, a BGP-15 koncentráció-függő módon növelte a sejttúlélést. A BGP-15 citoprotektív hatásának hátterében álló mechanizmusok további vizsgálata érdekében az apoptózis és a nekrozis arányát annexin V-konjugált fluoreszcein-izotiocianát és PI (propidium-jodid) festés segítségével határoztuk meg. Megállapítottuk, hogy ilyen feltételek mellett a H₂O₂-indukálta sejthalál elsősorban nekrotikus jellegű volt, és a sejteknek csupán mintegy 10%-a halt el apoptózis következtében. A BGP-15 szignifikánsan csökkentette mind az apoptotikus, mind a nekrotikus sejthalált, ami valószínűleg a mitokondriális védelem eredménye volt.

A mitokondriumok fontos szerepet játszanak az LPS indukálta jelátviteli folyamatokban. Elemeztük a BGP-15 hatását az LPS-indukálta mitokondriális depolarizációra az U-251 malignus glioma (MG) sejtvonalban. A mitokondriális depolarizációt eredményeink szerint 1 µg/mL LPS 1 órán át történő hozzáadásával indukáltuk, és JC-1 festéssel és fluoreszcens mikroszkópiával határoztuk meg. Csupán BGP-15 hozzáadása nem befolyásolta a $\Delta\Psi$ -t, de szignifikánsan gyengítette az LPS-indukálta mitokondriális depolarizációt az U-251 MG humán malignus glioblastoma sejtekben. Azonos eredményeket kaptunk, amikor a $\Delta\Psi$ -t TMRM alkalmazásával, egy másik membránpotenciál-érzékeny fluoreszcens festék és kvantitatív, plate reader-alapú módszerrel értékeltük. Ezek az adatok azt mutatják, hogy a BGP-15 egy újszerű mitokondriális mechanizmus révén szerepet játszhat a gyulladási folyamatokban.

A mitokondriális depolarizáció és az ROS-termelés közötti kapcsolat miatt megmértük az U-251 MG sejtekben az LPS-indukálta ROS-termelést. Nagyon alacsony fluoreszcencia intenzitásokat detektáltunk a kezeletlen és a BGP-15-tel kezelt sejtekben, de az LPS hozzáadása jelentős mértékben indukálta az ROS-termelést. A BGP-15 csökkentette az LPS-indukálta ROS-termelést majdnem a kontroll szintre. Hasonlóan a H₂O₂-indukálta ROS-termeléshez meg

akartuk határozni az LPS-indukálta ROS sejten belüli lokalizációját. Ezért megismételtük az előző kísérletet úgy, hogy MitoSOX-ot használtunk DHR123 helyett és a mikroszkóp helyett plate reader-t. Az eredmények összehasonlíthatóak voltak azokkal, amelyeket DHR123-mal nyertünk. Megismételtük a kísérletet MitoTEMPO jelenlétében. A MitoTEMPO megszüntette az LPS-indukálta ROS-termelést, jelezve a BGP-szenzitív ROS-termelés mitokondriális lokalizációját. Ezek az adatok bizonyítékot szolgáltatnak arra, hogy a BGP-15 csökkentette az LPS-indukálta mitokondriális szuperoxid termelést.

Diszkusszió

GCKR, MLXIPL, ANGPTL3, CILP2, GALNT2, TRIB1 and APOA5:

A szérum TG és teljes koleszterin lehetséges szerepét számos betegség kialakulásában, beleértve a kardio- és cerebrovaszkuláris betegségeket, a metabolikus szindrómákat és a diabetes mellitust, mélyrehatóan kutatják világszerte. Azt elmúlt évtizedben tanulmányok sora mutatta be a triglicerid szintekre ható genetikai polimorfizmusokat, mint pl. GCKR, és intenzívebben tanulmányozták az APOA5 variánsokat. GWAS tanulmányokban hipertrigliceridémával kapcsolatosan vizsgálták a GCKR gén funkcionális variánsainak lehetséges hatásait is.

Az rs780094 és rs1260326 variánsokat tanulmányozzák a legelterjedtebben, utóbbi indirekt módon befolyásolja a triglicerid szinteket, szerepet játszik éhgyomri vércukorszint zavarban és a II. típusú diabetes mellitus lehetséges kockázati tényezője. Kapcsolatot figyeltek meg a májzsírok felhalmozódásával, valamint a magas VLDL és triglicerid szintekkel.

Számos tanulmány állapította meg, hogy az ANGPTL3-nak hatása van a lipid metabolizmusra, a protein közvetetten gátolja a lipoprotein és más endoteliális lipázok aktivitását. Az ANGPTL3 gén funkcióvesztéses mutációi teljes ANGPTL3 hiányt okoznak, ami magas asszociációs rátát mutat a recesszív hipolipidémiával.

GWAS tanulmányok igazolták, hogy a plazma TG-szintek változásai és az MLXIPL lokusz között korrelációk vannak. Az MLXIPL lokuszban megfigyelték az rs17145738 és rs3812316 variánsok major alléljai TG-szint emelkedésének hatását is.

Az utóbbi idők GWAS vizsgálataiban azt találták, hogy a GALNT2 gén rs4846914 intronikus variánsának minor G-allélje asszociál a plazma emelkedett TG koncentrációival. Igazolták az MLXIPL rs17145738 és GCKR rs780094 variánsok esetén az emelkedett TG szintek és genotípusok közötti asszociációt, de GALNT2 rs4846914 vonatkozásában nem.

Kapcsolatot találtak a diszlipidémia és az rs16996148 (közele CILP2), rs17321515 (közele TRIB1), rs12130333 (közele ANGPTL3) variánsok között. Ezek a lokuszok korreláltak a szív- és érrendszeri betegségek megjelenésével is.

A CILP2 gén-fehérje kapcsolat a lipid metabolizmussal még nem kellően ismert. De egyik GWAS tanulmányban az rs16996148 variáns TG-szint csökkentő szerepét kaukázusi egyének elemzésével megerősítették.

A human TRIB1 elősegíti a proteozomfüggő fehérjelebontást. Egy ázsiai maláj populációban a TRIB1 lokusz (rs17321515-tel) szomszédos variáns szignifikáns korrelációt mutatott a megemelkedett összkoleszterollal és LDL-koleszterollal, mely magasabb kockázatot jelent koszorúér betegségekre és CVD-re.

A mi jelen kutatási eredményeink alátámasztják a korábbi eredményeket: a roma és magyar egyének összehasonlításakor az allél gyakoriságok szignifikáns eltérést mutattak mindkét MLXIPL variánsban, a GALNT2 rs4846914 és ANGPTL3 rs1213033 polimorfizmusokban. A roma és magyar populációt vizsgálva, nem tudtunk szignifikáns kapcsolatot igazolni a triglicerid szintek és minor allél hordozók között, a nem-hordozókkal összehasonlításban.

Megvizsgáltuk a főbb APOA5 polimorfizmusok hatását a lipidekre, különösképpen a TG-szintekre. E vizsgálat eredménye azt mutatta, hogy az rs2266788; rs3135506; rs207560 variánsok heterozigóta hordozóinak magasabb volt a TG szintje, mint a nem-hordozókéi. Az rs662799 variáns homozigóta hordozóinak a roma alanyokban magasabb a TG szintje, mint a nem-hordozókéi. A homozigóta és heterozigóta minták kombinálásával szignifikánsan emelkedett plazma TG-szinteket találtunk mind a magyar, mind a roma populációban az APOA5 variáns kockázati allélok hordozóiban, amikor összehasonlítottuk azokat a nem-hordozókkal. Mind a négy APOA5 variáns korrelációt mutatott a TG-szintekkel olyan kiigazítási tényezőkkel vagy anélkül, mint kor és koleszterol szint.

Hajlamosító genetikai variánsok korábbi kutatásai feltárták, hogy a romák genetikailag egyedi populáció, és a genetikai alkatuk eltérhet más populációkétól. Az rs662799-re szignifikánsan eltérő kockázati allél gyakoriságokat észleltünk a roma és más tanulmányozott populációk között. Azt találtuk, hogy az rs662799; rs3135506 és rs207560 variánsok esetében a kockázatos allél gyakoriságok szignifikánsan magasabbak voltak a roma, mint a magyar populációban.

A leggyakoribb APOA5 variánsok, mint pl. az rs662799, rs207560, rs2266788 és rs3135506 erős kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanságban vannak és két jelentős haplotípus változatot (APOA5*2 and *3) hoznak létre. Ez a két haplotípus a vad típusú haplotípussal

(APOA5*1-3) együtt az átlagpopuláció mintegy 98%-át alkotja. Öt fő haplotípust azonosítottunk eddig (APOA5*1-5). További lehetséges haplotípusok is ismertek (ht4, 5, 7), de ezek a populációnak csak kis részét teszik ki. Eltérő kapcsolttságot találtunk az rs207560 és rs3135506 között a roma és magyar populációban. A romákban a kapcsolttság a variánsok között erős volt, míg a magyarokban mérsékelt, lehetséges, hogy a két populáció határozottan eltérő eredete miatt.

Öt haplotípus (APOA5*1, APOA5*2, APOA5*3, APOA5*4 and APOA5*5) a gén legmélyrehatóbban tanulmányozott haplotípusai. A roma és magyar populációban feltárt előfordulások összehasonlítása azt mutatta, hogy az APOA5*2, APOA5*4 és ht7 haplotípusok szignifikánsan dominánsak voltak a roma populációban, míg az APOA5*5 haplotípus gyakoribb volt a magyar populációban. Eredményeink azt sugallják, hogy a roma populáció esetében magasabb a kockázata hypertrigliceridemiának és az érrendszeri eseményeknek az APOA5 hajlamosító allélok megemelkedett előfordulása miatt. Az APOA5*5-tel kapcsolatos kutatásaink eredményei közvetve alátámasztják azt, hogy az APOA5 variáns szerepet játszik a romák CVD érzékenységében.

BGP15:

Mint korábban említettem, a BGP-15-nek bizonyított a védőhatása számos betegségi modellben, beleértve az inzulinrezisztencia mellett az iszkémiás szívbetegséget, a Duchenne izomsorvadást, a neuropathiát, a ciszplatinnal kiváltott vesebetegséget, a glivec-indukálta szívbetegséget és a paracetamol-okozta májbetegséget. Az oxidatív stressz és gyulladásozó folyamatok kulcsszerepet játszanak a betegség előrehaladásában és számos esetben a mitokondriális károsodás jelentős. Ezért sejtkultúra modellekben tanulmányoztuk a BGP-15 hatását ROS- vagy gyulladásozó reakció által kiváltott mitokondriális károsodásra, a BGP-15-nek a mitokondriális membrán stabilitására és a ROS-termelésre gyakorolt hatására fókuszálva, amelyek kritikusak a mitokondriálisan indukált jelátvitel, energia-metabolizmus és mitokondriális sejthalálúzósi útvonalak szemszögéből.

Mostanában igazolták, hogy az enyhe mitokondriális szétkapcsolásnak védőhatása lehet számos betegségi modellben, beleértve az inzulinrezisztenciát, hypertrigliceridemiát és májelzsírosodást, és hogy szabályozó szerepe lehet az endokrin interakciókban a fibroblaszt növekedési faktor 21 indukciója révén és a növekedési hormon-/ inzulinszerű növekedési faktor I tengelyben. Mindazonáltal láttuk, hogy a BGP-15 millimoláris koncentrációban csak enyhe szétkapcsolási hatást gyakorolt. Mivel korábban 50 µM -ban alkalmaztunk BGP-15-öt, valószínűtlen, hogy szétkapcsolási hatása szignifikáns szerepet játszott volna

mitokondriumokra gyakorolt és citoprotektív hatásaiban. Mint eredményeink mutatták, a BGP-15 50 μ M-os koncentrációnál nem a mitokondrium szétkapcsolásán keresztül fejt ki mitokondrium-védő és citoprotektív hatásait, hanem a ROS-indukálta mitokondriális depolarizáció és a szuperoxid termelés csökkentésén keresztül védi a respirációs láncot és a mitokondriális membrán integritást, amely gátolja az apoptózist. Mindezek a folyamatok zavarják a celluláris energia metabolizmusát és proapoptotikus jelátvitel felé vezetnek, esetleg sejthalált eredményezve. Ezért a BGP-15 membránpotenciál stabilizáló hatása a fent említett betegségekben valószínűleg hozzájárult védőhatásához.

A BGP-15 kritikusnak bizonyult az ROS- és LPS-indukálta ROS-termelés csökkentésében, ami szignifikáns szerepet játszhat számos betegség progressziójának a megakadályozásában. Sajnos hagyományos, mitokondriumba irányított festékekkel nehéz a ROS-termelés helyét lokalizálni, mivel a festék oxidációja extramitokondriális vagy mitokondriális ROS segítségével azonos, a mitokondriumokban lokalizált fluoreszcenciát eredményez. Ezért MitoSOX-ot alkalmaztunk. Ilyen feltételek között a keletkező fluoreszcencia feltehetően a mitokondriálisan termelt szuperoxid általi festékoxidáció eredménye. Továbbá, elnyomtuk a mitokondriális ROS-t a mitokondriumba irányított antioxidáns MitoTEMPO-val. Valamennyi kutatási eredmény megerősítette, hogy a BGP-15 csökkentette a mitokondriális ROS termelését. Ez a hatás nem lehetett a molekula antioxidáns tulajdonságának a következménye, mint azt az általunk különböző, sejtmentes ROS-generáló rendszereken végzett kísérletek feltárták. Hisszük, hogy a BGP-15 legfontosabb célpontját a komplex I-III-ra lokalizáltuk, amelyek kritikusak a respirációs láncok általi ROS-termelés szemszögéből. Különböző feltételek között jelentős mennyiségű ROS-t termelhet a hipoxia, a mitokondriális hiperpolarizáció, a respirációs komplexumok gátlása. A BGP-15 szignifikáns ROS-csökkentő hatása jelentős lehet ROS-függő folyamatok szabályozásában, beleértve a sejthalált, MAPK és PARP útvonalakat és transzkripciós faktorok aktivitását. A BGP-15 nagymértékű dúsulása a mitokondriumokban – kombinálva a komplex I-ben a BGP-15 miatt jelentősen csökkent mitokondriális ROS termeléssel – azt sejteti, hogy a BGP-15-nek különböző betegségmodellekben megfigyelt védőhatását valószínűleg a fent említett mitokondriális mechanizmusok közvetítik. Eredményeink szerint a BGP-15 hatása a jelátviteli útvonalakra, mint pl. a BGP-15-indukálta JNK- és p38 MAPK-csökkenés vagy a BGP-15-indukálta Akt-aktiválás, kapcsolatos lehet a csökkent ROS termeléssel. Az LPS komplex stressz-útvonalakat indukál, beleértve NADPH-oxidázok általi ROS-termelést, a citoplazmatikus szabad kalciumszint növekedést és a mitokondriumok károsodását.

Feltételeztük, hogy az oxidatív stresszhelyzethez hasonlóan, a BGP-15 védelmet nyújt az LPS-indukálta mitokondriális károsodás ellen, és azt találtuk, hogy a BGP-15 megakadályozta az LPS-indukálta mitokondriális depolarizációt és ROS-termelést, mutatva, hogy a BGP-15 meg tudja védeni a mitokondriumokat a komplex gyulladási károsodás és a ROS-indukálta károsodás ellen. Ezek az eredmények a BGP-15 mint kísérleti gyógyszer potenciálját sugallják, nemcsak ROS-sal kapcsolatos betegségekben, hanem gyulladási betegségekben is.

A kritikus mechanizmus, amely a BGP-15-nek a mitokondriumokra gyakorolt protektív hatásának a hátterében áll, a redukált ROS-termelésnek tudható be, elsősorban az első és harmadik respirációs komplexeknél. Ezzel a mechanizmussal a BGP-15 szabályozhat számos útvonalat, amelyek fontos szerepet játszanak a ROS-függő és gyulladási megbetegedések progressziójában.

Az eredmények összefoglalása

1. Az *MLXIPL* mindkét variánsa, a *GALNT2* rs4846914 és az *ANGPTL3* rs1213033 polimorfizmusok esetén szignifikáns eltéréseket figyeltünk meg a roma és magyar egyének összehasonlításakor. Ugyanakkor nem volt kapcsolat a trigliceridek szintjei és a minor allélhordozók között a roma és magyar lakossági mintákban.
2. A *GCKR*, *CILP2*, *GALNT2* és *TRIB1* lokuszok nem mutattak összefüggést növekedett trigliceridszinttel egyik vizsgált populációban sem.
3. Mindkét populációban az *APOA5* rs662799, rs2266788, rs207560 és rs3135506-ban emelkedett plazma trigliceridszinteket találtunk a kockázati allél hordozókban, összehasonlítva a nem-hordozókkal. Legkevesebb kétszeres növekedés mutatkozott a minor allélfrekvenciáikban a romáknál a magyarokhoz képest, kivéve az rs2266788 variánst.
4. A haplotípus-elemzés szignifikáns *APOA5**2, *APOA5**4 növekedést mutatott a romáknál, ellentétben a magyarok magasabb *APOA5**5 szintjeivel.
5. Különböző kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanságot tapasztaltunk az rs207560 és rs3135506 variánsok között a romákban a magyarokhoz viszonyítva.
6. A BGP-15 felhalmozódik a mitokondriumokban és csökkenti a ROS-indukált mitokondriális ROS-termelést.
7. A BGP-15 védőhatást fejt ki a ROS által kiváltott mitokondriális depolarizáció ellen, és segít megőrizni a mitokondrium integritást.
8. A BGP-15 enyhíti a mitokondriális membránpotenciál bakteriális lipopoliszacharid (LPS) által indukált összeomlását és a ROS-termelést LPS-érzékeny sejtekben.
9. A BGP-15-nek nem volt kémiai antioxidáns hatása, de csökkenti a ROS termelést sejteken, elsősorban a komplex I-ben. Ezért új mitokondriális gyógyszerjelölt hasznos lehet a ROS-sal kapcsolatos és gyulladásos betegségek progressziójának megelőzésére.

Közlemények jegyzéke

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:

1. Marked Differences of Haplotype Tagging SNP Distribution, Linkage, and Haplotype Profile of APOA5 Gene in Roma Population Samples.

Sumegi K, Duga B, Melegh BI, Banfai Z, Kovessi E, Maasz A, Melegh B

PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH &: p. &. (2017)

Impakt faktor: 1.94

2. BGP-15 Protects against Oxidative Stress- or Lipopolysaccharide-Induced Mitochondrial Destabilization and Reduces Mitochondrial Production of Reactive Oxygen Species.

Sumegi K, Fekete K, Antus C, Debreceni B, Hocsak E, Gallyas F Jr, Sumegi B, Szabo A

PLOS ONE 12:(1) Paper e0169372. 19 p. (2017)

Impakt faktor: 3.057

3. Functional Variants of Lipid Level Modifier MLXIPL, GCKR, GALNT2, CILP2, ANGPTL3 and TRIB1 Genes in Healthy Roma and Hungarian Populations

Katalin Sumegi, Luca Jaromi, Lili Magyari, Erzsebet Kovessi, Balazs Duga, Renata Szalai, Anita Maasz, Petra Matyas, Ingrid Janicsek, Bela Melegh

PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 21:(3) pp. 743-749. (2015)

Impakt faktor: 1.94

Total impakt factors related to thesis: 6.937

Egyéb közlemények:

1. Activation of mitochondrial fusion provides a new treatment for mitochondria-related diseases

Szabo A, **Sumegi K**, Fekete K, Hocsak E, Debreceni B, Setalo Gy, Kovacs K, Deres L, Kengyel A, Kovacs D, Mandl J, Nyitrai M, Febbraio M, Gallyas F, Sumegi B

BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY 150, 86-96 (2018)

Impact faktor: 4.235

2. PARP inhibition protects mitochondria and reduces ROS production via PARP-1-ATF4-MKP-1-MAPK retrograde pathway.

Hocsak E, Szabo V, Kalman N, Antus C, Cseh A, **Sumegi K**, Eros K, Hegedus Z, Gallyas F Jr, Sumegi B, Racz B

FREE RADICAL BIOLOGY AND MEDICINE &: p. &. (2017)

Impact faktor: 5.784

3. Significant interethnic differences in functional variants of PON1 and P2RY12 genes in Roma and Hungarian population samples.

Janicsek I, Sipeky C, Bene J, Duga B, Melegh B, **Sumegi K**, Jaromi L, Magyar L, Melegh B
MOLECULAR BIOLOGY REPORTS 42:(1) pp. 227-232. (2015)

Impact faktor: 1.698

4. Ritka genomikai betegségek azonosítása array komparatív genomhibridizációs módszerrel – elsőként Magyarországon

Duga B, Czako M, Hadzsiev K, Komlosi K, **Sumegi K**, Kisfali P, Kosztolanyi G, Melegh B
ORVOSI HETILAP 155:(9) pp. 358-361. (2014)

Impact faktor: 0

5. Deletion of 4q28.3-31.23 in the background of multiple malformations with pulmonary hypertension.

Duga B, Czako M, Komlosi K, Hadzsiev K, Torok K, **Sumegi K**, Kisfali P, Kosztolanyi G, Melegh B

MOLECULAR CYTOGENETICS 7: Paper 36. 6 p. (2014)

Impact faktor: 2.140

6. Figyelemhiányos hiperaktivásban szenvedő beteg vizsgálata array komparatív genomhibridizációs módszerrel

Duga B, Czako M, Komlosi K, Hadzsiev K, **Sumegi K**, Kisfali P, Melegh M, Melegh B
ORVOSI HETILAP 155 (40 pp. 1598-1601. (2014)

Impact faktor: 0

7. Erratum to: Significant interethnic differences in functional variants of PON1 and P2RY12 genes in Roma and Hungarian population samples.

Janicsek I, Sipeky C, Bene J, Duga B, Melegh BI, **Sumegi K**, Jaromi L, Magyari L, Melegh B
MOLECULAR BIOLOGY REPORTS 42 (1) p. 227-232 (2014)

Impact faktor: 2.024

8. Interleukin and interleukin receptor gene polymorphisms in inflammatory bowel diseases susceptibility

Lili Magyari, Erzsebet Kovesdi, Patricia Sarlos, Andras Javorhazy, **Katalin Sumegi**, Bela Melegh

WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY 20:(12) pp. 3208-3222. (2014)

Impact faktor: 2.369

9. Interleukins and interleukin receptors in rheumatoid arthritis: Research, diagnostics and clinical implications

Lili Magyari, Dalma Varszegi, Erzsebet Kovesdi, Patricia Sarlos, Bernadett Farago, Andras Javorhazy, **Katalin Sumegi**, Zsolt Banfai, Bela Melegh

WORLD JOURNAL OF ORTHOPEDICS 18:(5) pp. 516-536. (2014)

Impact faktor: 0

10. Admixture of beneficial and unfavourable variants of GLCCI1 and FCER2 in Roma samples can implicate different clinical response to corticosteroids.

Szalai R, Matyas P, Varszegi D, Melegh M, Magyari L, Jaromi L, **Sumegi K**, Duga B, Kovesdi E, Hadzsiev K, Melegh B

MOLECULAR BIOLOGY REPORTS 41:(11) pp. 7665-7669. (2014)

Impact faktor: 2.024

11. Hodgkin Disease Therapy Induced Second Malignancy Susceptibility 6q21 Functional Variants in Roma and Hungarian Population Samples.

Varszegi D, Duga B, Melegh BI, **Sumegi K**, Kisfali P, Maasz A, Melegh B

PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 20:(3) pp. 529-533. (2014)

Impact faktor: 1.855

12. PARP Inhibition Attenuates Acute Kidney Allograft Rejection by Suppressing Cell Death Pathways and Activating PI-3K-Akt Cascade.

Kalmar-Nagy K, Degrell P, Szabo A, **Sumegi K**, Wittmann I, Gallyas F Jr, Sumegi B

PLOS ONE 8:(12) Paper e81928. 10 p. (2013)

Impact faktor: 3.534

13. Difference of interleukin-23 receptor gene haplotype variants in ulcerative colitis compared to Crohn's disease and psoriasis.

Safrany E, Szabo M, Szell M, Kemeny L, **Sumegi K**, Melegh BI, Magyari L, Matyas P, Figler M, Weber A, Tulassay Z, Melegh B

INFLAMMATION RESEARCH 62:(2) pp. 195-200. (2013)

Impact faktor: 2.143

14. High prevalence of CYP2C19*2 allele in Roma samples: study on Roma and Hungarian population samples with review of the literature

Sipeky C, Weber A, Szabo M, Melegh BI, Janicsek I, Tarlos G, Szabo I, **Sumegi K**, Melegh B

MOLECULAR BIOLOGY REPORTS 40:(8) pp. 4727-4735. (2013)

Impact faktor: 1.958

15. Mutations of the Apolipoprotein A5 Gene with Inherited Hypertriglyceridaemia: Review of the Current Literature

Melegh BI, Duga B, **Sumegi K**, Kisfali P, Maasz A, Komlosi K, Hadzsiev K, Komoly S, Kosztolanyi G, Melegh B

CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY 19:(36) pp. 6163-6170. (2012)

Impact faktor: 4.07

16. Investigation of JAK2, STAT3 and CCR6 polymorphisms and their gene-gene interactions in inflammatory bowel disease.

Polgar N, Csongei V, Szabo M, Zambo V, Melegh BI, **Sumegi K**, Nagy G, Tulassay Z, Melegh B

INTERNATIONAL JOURNAL OF IMMUNOGENETICS 39:(3) pp. 247-252. (2012)

Impact faktor: 1.355

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

Hadarits F, Kisfali P, Mohas M, Maasz A, **Sumegi K**, Szabo M, Hetyesy K, Valasek A, Janicsek I, Wittmann I, Melegh B

PATHOLOGY AND ONCOLOGY RESEARCH 17:(1) pp. 39-44. (2011)

Impact faktor: 1.366

18. Triglyceride Level Affecting Shared Susceptibility Genes in Metabolic Syndrome and Coronary Artery Disease

Kisfali P, Polgar N, Safrany E, **Sumegi K**, Melegh BI, Bene J, Wéber Á, Hetyesy K, Melegh B

CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY 17:(30) pp. 3533-3541. (2010)

Impact faktor: 4.63

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

Mohás M, Kisfali P, Jaromi L, Maász A, Fehér E, Csongei V, Polgár N, Safrany E, Cseh J, **Sümegei K**, Hetyesy K, Wittmann I, Melegh B

CARDIOVASCULAR DIABETOLOGY 9:(1) Paper 79. 7 p. (2010)

Impact faktor: 2.72

Könyvfejezetek

1. Role of Functional Variants and Mutations of the Apolipoprotein A5 Gene in Human Pathology

Balázs Duga, Béla I. Melegh, **Katalin Sümegei**, Anita Maász, Péter Kisfali, Katalin Komlósi, Béla Melegh B.

Apolipoproteins: Regulatory Functions, Health Effects and Role in Disease

New York: Nova Science Publishers Inc., 2012. pp. 75-92

(ISBN:978-1-62257-484-1)

2. Ischemic Stroke Susceptibility Gene Research: Lessons We Learned

Bela I. Melegh, Anita Maasz, Peter Kisfali, **Katalin Sumegi**, Balazs Duga, Gyorgy Kosztolanyi, Samuel Komoly, Bela Melegh

Ischemic Stroke: Symptoms, Prevention and Recovery

New York: Nova Science Publishers Inc., 2013. pp. 117-144.

(ISBN:978-1-62257-799-6)

3. Role of Triglyceride Modifier Genetic Variants in Development of Metabolic Syndrome

Anita Maasz, Peter Kisfali, Bela I. Melegh, Balazs Duga, **Katalin Sümegi**, Bela Melegh
Handbook on Metabolic Syndrome: Classification, Risk Factors and Health Impact
New York: Nova Science Publishers Inc., 2012. pp.95-119.
(ISBN: 978-1-62257-025-6)

Absztraktok

1. Genetic relationship of European Roma people and eight ethnic groups from the Caucasus area which suggest Romas probably admixed with during their migration

Szabó, Z. Bánfai, B. Duga, R. Szalai, L. Magyar, P. Mátyás, E. Kövesdi, **K.Sümegi**, B. Melegh
Eur J Hum Genet, 2014:22(S2):320

2. Deletion of 4q28.3-31.23 in the background of multiple malformations

B. Duga, M. Czako, K. Komlosi, K. Hadzsiev, K. Torok, **K. Sumegi**, P. Kisfali,
G. Kosztolanyi, B. Melegh
Eur J Hum Genet, 2014:22(S2):444

3. Admixture of Turks, Hungarians and Romas in the Carpathian Basin

Z. Bánfai, A. Szabó, **K. Sümegi**, B. Duga, L. Magyar, E. Kövesdi, P. Mátyás,
R. Szalai, B. Melegh
Eur J Hum Genet, 2014:22(S2):509

4. Marked differences of haplotype tagging SNP distribution, linkage, and haplotype profile of APOA5 gene in Roma population samples

B. Duga, B.I. Melegh, L. Jaromi, **K. Sümegi**, Z. Bánfai, K. Komlósi, K. Hadzsiev, A. Szabo,
R. Szalai, E. Kövesdi, J. Bene, P. Kisfali, B. Melegh
Eur J Hum Genet, 2013:21(S2):556

5. Distribution of eight SNPs of lipid level modifier genes in healthy Roma and Hungarian population samples

J. Bene, **K. Sumegi**, L. Jaromi, L. Magyar, E. Kovesdi, B. Duga, R. Szalai, P. Matyas, A.
Szabo, Z. Banfai, B. Melegh
Eur J Hum Genet, 2013:21(S2):404

6. Phenotypic variability in a Hungarian family with a novel TSC1 mutation

E. Kovesdi, K. Hadzsiev, K. Komlosi, I. Janicsek, J. Bene, L. Magyar, L. Jaromi, B. Duga, **K. Sumegi**, A. Szabo, Z. Banfai, B. Melegh
Eur J Hum Genet, 2013:21(S2):566

Össz Imapkt Faktor: 50,842

Google Scholar alapján:

<i>Citációk</i>	<i>271</i>
<i>h-index</i>	<i>9</i>
<i>i10-index</i>	<i>9</i>

Köszönetnyilvánítás

Szeretném köszönetemet kifejezni azoknak, akik elősegítették ezen PhD-disszertáció megszületését.

Mindenekelőtt köszönöm Dr. Melegh Béla Professzornak a folyamatos támogatást, erőfeszítést és iránymutatást. Hálás vagyok az Orvosi Genetikai Intézetnek is a támogatásért, különösképpen Dr. Maász Anitának, Dr. Járomi Lucának, Dr. Kövesdi Erzsébetnek, Bánfai Zsoltnak, Dr. Duga Balázsnak, Dr. Magyar Lilinek, Dr. Szabó Andrásnak, Halmai Gyöngyinek és Pöstyéni Etelkának. Köszönöm nekik azt, hogy biztosították számomra a munka lehetőségét és a tudományos háttérrel.

Köszönettel tartozom a Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet teljes kollektívájának is a támogatásukért és iránymutatásaikért.

Ezenfelül szeretnék köszönetet mondani családomnak és barátaimnak az érzelmi támogatásért, türelmükért és megértésükért.