

Jelentés

OTKA KON T/F 046427 nyilvántartási számú

Peroxisoma proliferációt aktiváló receptorok (PPAR α intron 7 2498 G/C, PPAR γ Pro12Ala és C161T) génpolimorfizmusainak vizsgálata és összefüggésük a tumor necrosis factor (TNF)- α -238 G/A, -308 G/A promoter és a Toll-like receptor 4 (TLR) Asp299Gly és Thr399Ile polimorfizmusával az inzulin -rezisztencia kialakulásának patomechanizmusában

című pályázatról

Célkitűzés

A pályázat alapvető célkitűzése az inzulinrezisztencia egyes molekuláris tényezőinek tanulmányozása inzulinrezisztens állapotokban és összefüggésük az atherogenesis-sel. A konkrét cél a PPAR transzkripciós faktor család egyes tagjai inzulin érzékenységgel, a zsírszöveti TNF- α termelődéssel való kapcsolatának klinikai vizsgálata és összefüggésük a TNF- α és a TLR-4 egyes polimorfizmusával.

Vizsgált betegcsoportok

A PPAR- α , PPAR- γ , TLR-4 és TNF- α polimorfizmusait és egyes cytokinek szintjének alakulását (TNF-rendszer, adiponectin, resistin, leptin, ghrelin) 171 myocardialis infarktuson átesett túlsúlyos/bes illetve normális testtömegű betegben, 80 elhízott gyermekben, 80 diabeteses nőben és 169 referens személyben vizsgáltuk.

Módszerek

PCR-RFLP technikával vizsgáltuk a PPAR- α intron 7 G/C, a PPAR- γ Pro12Ala és exon 6 C/T, a TNF- α -238 és -308 G/A és a TLR-4 Asp299Gly és Thr399Ile polimorfizmusainak megoszlását. Az egyes polimorfizmusok vizsgálata a következő primerekkel és enzimekkel történt. A módszerről készült felvételek a melléklet részben csatolom.

A PPAR- α intron 7 2498 G/C polimorfizmusának vizsgálatához a 5' primer ACA ATC ACT CCT TAA ATA TGG TGG, a reverz' primer AAG TAG GGA CAG ACA GGA CCA GTA. A PCR termék emésztése Taq1 (5U) (65 C, 4 ó) restriktív enzimmal történik. A vad típus esetén 266 bázispár, mutáns allél esetén 216 illetve 50 bázispár fragmentek keletkeztek.

A PPAR - γ 2 Pro 12 Ala polimorfizmusának vizsgálatához az 5' primer GCC AAT TCA AGC CCA GTC , a mutagén reverz primer GAT ATG TTT GCA GAC AGT GTA TCA GTG AAG GAA TCG CTT TCC G, a PCR termék emésztése Bst UI (6

U) (60 C, 12 ó) enzimmel történt. A vad típusú allél 270 bázispár, a mutáns allél 227 illetve 43 bázispár méretű.

A PPAR- γ 6-os exon C161T polimorfizmusánál az 5' primer CAA GAC AAC CTG CTA CAA GC, a reverz primer TCC TTG TAG ATC TCC TGC AG. A termék emésztése PmlI (10 U) (37 C 12 ó) restriktív enzimmel történt, a vad típus esetén 120 és 80 bázispár fragmentek keletkeztek, a mutáns allél esetén a restriktív hely eliminálódik, 200 bázispár fragment keletkezett.

TNF- α promotor polimorfizmusok tanulmányozása PCR technikával 3 primerrel egy lépésben 5'-AAT AGG TTT TGA GGG CCA TG-3', 5'-AGA AGA CCC CCC TCG GAA CC-3', 5'-ATC TGG AGG AAG CGG TAG TG-3' és restriktív enzimekkel, a -308-as esetén NcoI, a -238-as esetében MspI alkalmazásával történt.

A TLR-4 polimorfizmusokat allélspecifikus primerekkel, az Asp299Gly: F5'-GAT TAG CAT ACT TAG ACT ACT ACC TC C ATG -3' és R5'-GAT CAA CTT CTG AAA AAG CAT TCC CAC-3' és NcoI enzimmel, a Thr399Ile: F5'-GGT TGC TCT TCT CAA AGT GAT TTT GGG A GAA-3' és R5'-CCT CAA GAC TCG AGA GTG AGT TAA A T CCT-3' primerekkel és HinfI enzimmel vizsgáltuk.

Az adiponectin és ghrelin, plazma és szérum szintek mérése RIA módszerrel (Linco kitékkel), az inzulin, C-peptid (Linco), TNF- α (Sigma), szolubilis TNF-receptor 2 (Bender Medsystem), leptin (DRG), resistin (Linco) ELISA módszerrel történt.

Statisztikai értékeléshez Prizma3 majd 4 és SPSS13 programokat, ezen belül ANOVA, Chi négyzet Yates korrekcióval, Fisher exact, Mann Whitney tesztek, korrreláció számítás (Spearman) alkalmaztunk.

Eredmények

PPAR γ és PPAR α

A PPAR γ Pro12 Ala polimorfizmus gyakorisága az infarktuson átesett betegek csoportjában 13,7 % (47/342, 3 homozygóta), a referens csoportban 11,7% (38/324, 3 homozygóta) volt. Elhízott gyermekekben az előfordulás 14,5 % (23/158, 2 homozygóta) volt, felnőtt cukorbetegekben pedig 13,1 % (21/160).

A PPAR γ C161T polimorfizmus gyakorisága az infarktuson átesett betegek között 11,1 % (38/342, 3 homozygóta), a referens csoportban 9,8 % (32/324, 3 homozygóta), az obes gyermek csoportban 10,7 % (17/158, 1 homozygóta), a felnőtt cukorbeteg csoportjában 11,2% (18/160, 1 homozygóta) volt.

A PPAR α L162V polimorfizmus gyakorisága a myocardialis infarktuson átesett betegek csoportjában 16,95 % (58/342, 10 homozygóta), a referens csoportban 19,7 % (64/324, 11 homozygóta), az obes gyermekek csoportjában 21,8% (33/158, 4 homozygótás), a felnőtt cukorbeteg csoportban 20 % (32/160, 3 homozygóta) volt.

Az allélek megoszlása tekintetében szignifikáns eltérést nem észleltünk az egyes csoportok között. A PPAR γ Ala12 allélvariánsát hordozó betegek testtömegindexe, szérum TNF- α , TNF-receptor 2, plazma éhomi inzulin szintje, HOMA A indexe magasabb volt, mint a Pro12 allélvariáns hordozóké.

TOLL-like receptor 4

A TLR4 299 és 399 helyzetű polimorfizmusainak beállítása megtörtént. A két polimorfizmus kapcsolatosan fordul elő.

a TLR4 299Gly allél előfordulása a szívinfarktuson átesett betegek között 4,3% (15/342), a referens egyéneknél 5,2% (17/324), az elhízott gyermekekben 3,79 % (6/158), a felnőtt cukorbetegben 4,9 % (16/324) volt. A 399Ile allél előfordulása a szívinfarktuson átesett betegekben 3,8 % (13/342), a referens egyéneknél 4,6% (15/324), az obes gyermekekben 3,79 % (6/158), a felnőtt cukorbetegben 4,3 % (7/160) volt.

Az egyes csoportok között az allélek előfordulása statisztikailag nem volt különböző. A TLR4 mutáns alléleket hordozók citokinszintjei, testtömeg indexe és indirekt inzulinrezisztencia paraméterei alacsonyabbak voltak mint a vad típust hordozóké.

TNF- α

Elvégeztük a TNF- α allél polimorfizmusok beállítását és értékelését.

Az egyes allélek gyakorisága a vizsgált csoportokban a következő volt.

A -238 A allél gyakorisága az infarktuson átesett betegekben 6,1 % (21/342), a referens csoportban 1,2% (4/322) chi négyzet próba: 9,67, p= 0,001, RR: 1,67, OR: 5,2. A gyermek obes csoportban 1,9 % (3/158) volt az allél előfordulása. A felnőtt cukorbeteg csoportban az előfordulás 1,8 % (3/160) volt.

A -308 allél előfordulás myocardialis infarktuson átesett betegekben 9,1 % (31/342) volt, a referens csoportban pedig 18 % (58/322), chi négyzet próba: 10,6, p= 0,001, RR: 0,64, OR: 0,45. A gyermek elhízott csoportban az allél gyakorisága 17,7 % (28/158), a cukorbetegben 18,7 % (30/160) volt.

Megállapítható, hogy a TNF- α -238 A allél variánsa szignifikánsan gyakoribb, a -308 A allél változata pedig ritkább szívizom infarktuson átesett betegekben referens egyénekhez képest. A -238 A allélt hordozókban a diabetes mellitus előfordulása gyakoribbnak mutatkozott az allélt nem hordozókhoz képest. A szívinfarktuson átesett betegekben az inzulinrezisztencia indirekt paraméterei emelkedettek referens egyénekhez képest. A -238 A és -308 G allélek hordozása összefüggött az inzulinrezisztencia növekedésével a betegcsoportban. Ezen alléleket hordozó betegek adiponectin szintjei szignifikánsan alacsonyabbak. A TNF- α -238 A és -308 G alléljeinek hordozása kockázattövekedést jelent az inzulinrezisztencia fokozódása és a myocardialis infarktus bekövetkezése szempontjából.

A citokin szintek összefüggése a vizsgált gének allélpolimorfizmusaiival

Valamennyi vizsgált csoportban, a szívinfarktuson átesett, elhízott gyermek és felnőtt cukorbeteg csoportban emelkedett TNF- α , szolubilis TNF receptor 2, leptin, resistin szinteket találtunk, az adiponectin és a ghrelin szintek pedig alacsonyabbak voltak. TNF, TNF RII, leptin és resistin szintek pozitívan korreláltak az inzulinrezisztencia indirekt paramétereivel, az éhomi C-peptid és inzulin szintekkel, HOMA A indexel, C-peptid/vércukor hányadosal.

Az adiponectin és ghrelin szintek ugyanezen paraméterekkel negatív összfüggést mutattak.

Negatív összefüggést találtunk a ghrelin, adiponectin szintek, valamint a TNF alfa, TNF receptor 2 és rezisztin szintek között valamennyi betegcsoportban.

A BMI pozitív összefüggést mutatott a TNF alfa, TNF receptor 2, leptin és rezisztin szintekkel, negatív összefüggést pedig a ghrelin és az adiponectin szintekkel.

A vizsgált gének allélváltozatai közül a TNF- α -238 A allélt és a -308 G allélt hordozók testtömege, inzulinrezisztencia paraméterei és az inzulinrezisztenciával összefüggő cytokinszintje (TNF, resistin) magasabbak voltak.

Hasonló összefüggés mutatkozott a TLR-4 két vizsgált génpolimorfizmusának mutáns allélváltozatát hordozókban is, itt a 299D és 399I allélt hordozók testtömege, inzulinrezisztencia paraméterei és az inzulinrezisztenciával összefüggő cytokin szintje voltak magasabbak.

A PPAR rendszer tagjai közül a PPAR γ Ala12 allélt hordozók testtömege, inzulinrezisztencia paraméterei és az ezzel pozitívan összefüggő cytokinek szintje volt magasabb mint a Pro12 allélt hordozóké.

A másik két polimorfizmus ezekkel a paraméterekkel nem mutatott összefüggést.

Új megállapítások

A PPAR rendszer vizsgált polimorfizmusai közül a PPAR γ Ala12 allél hordozása mutatott kapcsolatot a zsírszöveti cytokinek vérszintjével és az inzulinrezisztencia alakulásával. A PPAR γ Ala12 allélvariáns hordozó betegek testtömegindexe, szérum TNF- α , TNF-receptor 2, plazma éhomi inzulin szintje, HOMA A indexe magasabb, adiponectin és ghrelin szintje pedig alacsonyabb volt, mint a Pro12 allélvariáns hordozóké.

A TLR4 299D és 399I mutáns alléleket hordozók cytokinszintjei, testtömeg indexe és indirekt inzulinrezisztencia paraméterei alacsonyabbak voltak mint a vad típust hordozóké

Megállapítható, hogy a TNF- α -238 A allél variánsa szignifikánsan gyakoribb, a -308 A allél változata pedig ritkább szívizom infarktuson átesett betegekben referens egyénekhez képest. A -238 A allélt hordozókban a diabetes mellitus előfordulása gyakoribbnak mutatkozott az allélt nem hordozókhoz képest. A szívinfarktuson átesett betegekben az inzulinrezisztencia indirekt paraméterei emelkedettek referens egyénekhez képest. A -238 A és -308 G allélek hordozása összefüggött az inzulinrezisztencia növekedésével a betegcsoportban. Ezen alléleket hordozó betegek adiponectin szintjei szignifikánsan alacsonyabbak. A TNF- α -238 A és -308 G alléljeinek hordozása kockázatnövekedést jelent az inzulinrezisztencia fokozódása és a myocardialis infarktus bekövetkezése szempontjából.

A munkacsoport által készített közlemények, előadások és megjelent előadás összefoglalók jegyzéke

Dr. Cseh Károly

A TLR receptorok szerepe az atherogenesisben

Károlyi Sándor Kórház Nyilvános Tudományos Konferenciája, Magyar Tudomány Ünnepe rendezvény,
Budapest, 2005 nov. 10.

Dr. Szőcs Albert, Dr. Cseh Károly

A resistin szerepe az inzulin érzékenység szabályozásában

Károlyi Sándor Kórház Nyilvános Tudományos Konferenciája, Magyar Tudomány Ünnepe rendezvény,
Budapest, 2005 nov. 10.

Dr. Balázsovcics Judit, Dr. Cseh Károly

Második generációs antipsychotikumok indukálta diabetes mellitus pathogenetikai tényezői

Károlyi Sándor Kórház Nyilvános Tudományos Konferenciája, Magyar Tudomány Ünnepe rendezvény,
Budapest, 2005 nov. 10.

Dr. Vass Éva, Dr. Cseh Károly

A celluláris kalcium szabályozás és colorectális daganatok kialakulásának kapcsolata

Károlyi Sándor Kórház Nyilvános Tudományos Konferenciája, Magyar Tudomány Ünnepe rendezvény,
Budapest, 2005 nov. 10.

Dr. Kaszás Edit, Dr. Cseh Károly

A caterpillar fehérjecsald pathogenetikai szerepe

Károlyi Sándor Kórház Nyilvános Tudományos Konferenciája, Magyar Tudomány Ünnepe rendezvény,
Budapest, 2005 nov. 10.

Szente P, Kovács M, Speer G, Palik É, Winkler G, Cseh K.

A TNF- α promoter polimorfizmusainak kapcsolata az inzulinrezisztencia alakulásával az adiponectin szintekkel szívinfarktuson átesett betegekben

Magyar Kardiológus Társaság Kongresszusa, Balatonfüred 2005

Cseh K, Szente P, Kaszás E, Kovács M, Palik É., Pogátsa G, Baranyi É, Winkler G

A TLR4 Asp299Gly, Thr399Ile és a TNF- α promoter -238 G/A és -308 G/A polimorfizmusainak kapcsolata az inzulinrezisztencia és az adipocytokinek szérumszintjének alakulásával szívinfarktuson átesett betegekben

Magyar Diabetes Társaság Kongresszusa, Tihany, 2006

Winkler G, Szenthe P, Palik É, Szócs A, Pogátsa G, Salamon F, Baranyi É, Cseh K

Adipocytokinek szerepe a coronariasclerosist kísérő inzulinrezisztencia mechanizmusában szívinfarktuson átesett betegekben

Magyar Diabetes Társaság Kongresszusa, Tihany, 2006

Palik É, Birkás KD, Faludi G, Winkler G, Balázsovics J, Karádi I, Cseh K

A második generációs (Atípusos) antipsychotikumok inzulinrezisztenciát okozó hatásának molekuláris mechanizmusa

Magyar Diabetes Társaság Kongresszusa, Tihany, 2006

Baranyi É, Palik É, Melczer Zs, Szócs A, Hajós P, Pál B, Balázsovics J, Winkler G, Cseh K

A resistin szerepe a terhességi inzulinrezisztencia és a gestatio diabetes patomechanizmusában

Magyar Diabetes Társaság Kongresszusa, Tihany, 2006

Jermendy A, Korner A, Kovacs M, Kaszas E, Balázsovics J, Szócs A, Madacsy L, Cseh K³

The Asp299Gly and Thr399Ile polymorphisms of Toll-Like Receptor (TLR) 4 affects TNF-alpha and TNFR2 levels and insulin resistance in obese children and adults
EASD Kongresszus, Amsterdam, Sept. 18-21, 2007

Magyar nyelvű közlemények

Winkler G, Palik É, Salamon F, Tóth J, Cseh K A PPAR rendszer és klinikai jelentősége. Diabetologia Hungarica 11, 153-164, 2003

Winkler G, Cseh K. Az inkretinmimetikum Exenatid- új kezelési lehetőség 2-es típusú diabetesben. Diabetologia Hungarica 13 (suppl. 3), 20-29, 2005

Melczer Zs, Cseh K.

A cytokinek szerepe a testtömeg szabályozásban. Allergológia és Klinikai Immunológia /1, 2005

Cseh K, Palik É, Tóth J, Salamon F, Szócs A, Porochnavec M, Hajós P, Winkler G. PPAR gamma agonista ligandok az inzulinrezisztencia és a 2-es típusú diabetes kezelésében. Farmakológiai és klinikai vonatkozások. Diabetológia Hungarica 13, 15-26, 2005

Cseh K A PPAR rendszer szerepe az atherosclerosisban. MOTESZ Magazin, 2, 49-53, 2006

Cseh K Endogén anyagcsere-termékek DNS károsító mechanizmusa, karcinogén hatása és kapcsolata környezeti, foglalkozási rákkeltő tényezőkkel. Foglalkozás-Egészségügy, 10/4, 51-55, 2006

Cseh K, Szenthe P, Szócs A, Kaszás E, Pogátsa G, Kovács M, Salamon F, Porochnavec M, Tóth J, Hajós P, Baranyi É, Winkler G. Az inzulinrezisztencia molekuláris tényezői szívinfarktuson átesett betegekben. Diabetologia Hungarica 15, 9-19, 2007

Birkás D, Palik É, Faludi G, Cseh K
Ghrelin, resistin, tumor necrosis factor (TNF)-a és az atípusos antipszichotikumok metabolikus szindrómát okozó hatásainak kapcsolata.
Neuropsychopharmacologia Hungarica VII/3, 132-139, 2005

Birkás Kovács, D., Palik, E., Faludi, G., Cseh, K.
Possible connection between ghrelin, resistin and TNF-alpha levels and the metabolic syndrome caused by atypical antipsychotics | [Ghrelin, resistin, tumor necrosis factor (TNF)-alpha és az atípusos antipszichotikumok metabolikus szindrómát okozó hatásainak kapcsolata.]
NEUROPSYCHOPHARMACOLOGIA HUNGARICA : a Magyar
Pszichofarmakológiai Egyesület lapja = Official Journal of the Hungarian
Association of Psychopharmacology.
7 (3), 132-139 2005

Speer G, Szenthe P, Kósa JP, Tabák GÁ, Folhoffer A, Nagy Zs, Cseh K, Lakatos P
Az 1-es típusú kollagén A1 génjének -1245 G/T polimorfizmusa összefügg a miokardiális infarktussal: az új patogenetikai faktor?
Cardiológia Hungarica, 35, 64-69, 2005

Cseh K, Palik É, Winkler G
A thiazolidin-dionok helye a 2-es típusú diabetes mellitus kezelésében.
Családorvosi Fórum, 10, 14-17, 2005

Winkler G, Cseh K
A metformin helye a 2-es típusú diabetes kezelésében

Csaláadorvosi Fórum, 10, 8-13, 2005

Cseh K, Palik É, Tóth J, Salamon F, Szócs A, Porochnavec M, Hajós P, Winkler G:

PPAR γ -agonista ligandok az inzulinrezisztencia és a 2-es típusú diabetes kezelésében. Farmakológiai és klinikai vonatkozások.

DIABETOLOGIA HUNGARICA 13:15-26 2005

Baranyi É, Palik É, Melczer Zs, Szócs A, Hajós P, Pál B, Balázsovcics J, Winkler G,

Cseh K

A resistin szerepe a terhességi inzulinrezisztencia és a gestációs diabetes patomechanizmusában

DIABETOLOGIA HUNGARICA 14 (Suppl 2): 16-17 2006

Nieszner Éva, Baranyi Éva, Berta Barbara, Juhász Eszter, Porochnavec Marietta, Sebestyén Andrea, **Cseh Károly**, Préda István

Tartós hatású inzulinanalóggal (GLARGIN=LANTUS) történt kezelés során szerzett egyéves tapasztalatok 1-es és 2-es típusú cukorbeteg körében

DIABETOLOGIA HUNGARICA 14 (Suppl. 2):125-126 2006

Palik Éva, Birkás-K. Dezső, Faludi Gábor, Winkler Gábor, Balázsovcics Judit, Karádi István, **Cseh Károly**

A második generációs (Atípusos) antipsychoticumok inzulinrezisztenciát okozó hatásának molekuláris mechanizmusa

DIABETOLOGIA HUNGARICA 14:127- 2006

Winkler G, **Cseh K**:

Az inkretinmimetikum Exenatid – új kezelési lehetőség 2-es típusú diabetesben.

DIABETOLOGIA HUNGARICA 13 (Suppl 3):20-29 2005

Cseh K, Palik É, Winkler G

A tiazolidindionok helye a 2-es típusú diabetes mellitus kezelésében

CSALÁDORVOSI FÓRUM 10: 14-17 2005

Cseh K, Baranyi E, Kaszas E, Szocs A, Melczer Z, Sikter M, Szenthe P, Palik E, Hajos P, Pogatsa G, Winkler G

Maternal serum ghrelin levels in healthy pregnant women and gestational diabetes in correlation with cytokines and insulin resistance

DIABETOLOGIA 47: A337-A337 938 Suppl. 1, AUG 2004 abst

Winkler G, **Cseh K**

A glukagon szerű peptid (GLP)-1 részvétele a szénhidrát-anyagcsere szabályozásában,

Receptoragonistái és analógjai potenciális helye a 2-es típusú diabetes mellitus jövőbeni

Terápiájában

DIABETOLOGIA HUNGARICA 12: 187-197 2004

Idegen nyelvű közlemények

Cseh K, Baranyi E, Melczer Z, Kaszas E, Palik E, Winkler G

Plasma adiponectin and pregnancy - Induced insulin resistance

DIABETES CARE 27 (1): 274-275 JAN 2004

letter IF: 5.01

Palik E, Birkas KD, Faludi G, Karadi I, **Cseh K**

Correlation of serum ghrelin levels with body mass index and carbohydrate metabolism in patients treated with atypical antipsychotics

DIABETES RESEARCH AND CLINICAL PRACTICE 68 (1): S60-

S64 Suppl. 1, 2005 **IF: 1.730**

Faludi G , Birkas-Kovacs D, Palik E, **Cseh K**

The molecular mechanism of insulin resistance generated by second generation (atypical) antipsychotics

AMERICAN JOURNAL OF MEDICAL GENETICS PART B-

NEUROPSYCHIATRIC GENETICS 141B (7): 805-805 OCT 5 2006

abst

Speer G, Szenthe P, Kosa JP, Tabak AG, Folhoffer A, Fuszek P, **Cseh K**, Lakatos P)

Myocardial infarction is associated with Sp1 binding site polymorphism of collagen type 1A1 gene

ACTA CARDIOLOGICA 61 (3): 321-325 JUN 2006 **IF: 0.444**

Palik, E., Baranyi, E., Melczer, Z., Audikovszky, M., Szócs, A., Winkler, G., **Cseh, K.**

Elevated serum acylated (biologically active) ghrelin and resistin levels associate with pregnancy-induced weight gain and insulin resistance

DIABETES RESEARCH AND CLINICAL PRACTICE 76 (3), PP. 351-357 2007 **IF: 1,236**

Melléklet

A TLR4 Asp299Gly, Thr399Ile és a TNF- α promoter -238 G/A és -308 G/A polimorfizmusainak kapcsolata az inzulinrezisztencia és az adipocytokinek szérumszintjének alakulásával szívinfarktuson átesett betegekben

Cseh Károly dr.¹, Szenthe Péter dr.², Kaszás Edit dr.¹, Kovács Margit³,

Palik Éva dr.³, Pogátsa Gábor dr.¹, Baranyi Éva dr.⁴ és Winkler Gábor dr.⁵

Fővárosi Károlyi Sándor Kórház I.¹ és III.² Belosztály, SE ÁOK III. Belklinika³, OGYK Központi Diabetes Szakrendelés⁴, Fővárosi Szent János Kórház II. Belosztály⁵, Budapest

Magyar Diabetes Társaság Kongresszusa, Tihany, 2006

Célkitűzés: az inzulinrezisztencia patomechanizmusának és az adipocytokin termelésének genetikai szabályozásának vizsgálata myocardialis infarktuson átesett betegcsoportban.

Betegek: a Károlyi Sándor Kórház I. Belosztályán 2000-2003. között akut myocardialis infarktussal kezelt és a betegséget túlélte 171 személy (MI csoport, 101/70 férfi/nő, életkor $x \pm SD$: 57,2 \pm 11,1 év), valamint 161, akut coronariaeseménytől mentes, nemben (97/64 férfi/nő), korban (56,4 \pm 11,7 év) illesztett nem kövér (BMI < 27 kg/m²), szénhidrát anyagcserezavarban nem szenvedő referens egyén (K csoport).

Módszerek: a szénhidrát-anyagcsere OGTT alapján történt tisztázása után, rutin laboratóriumi meghatározások mellett mértük az éhomi szérumszintű C-peptid, adiponectin (RIA), TNF- α , resistin (ELISA), plazma proinsulin és inzulin (ELISA) szinteket és számítottuk a HOMA indexeket. Személyenként egy, legalább fél évvel az infarktus lezajlása után nyert vérmintából származó mérési eredményeket vizsgáltunk az egyes génpolimorfizmusokkal összefüggésben. A TLR4 és a TNF- α promoter polimorfizmusait PCR technikával tanulmányoztuk.

Eredmények: a betegcsoportban cukoranyagcsere zavar 42,6%-ban (73/171, DM:53, IGT:8, IFG:12), elhízás 56,7% (97/171 BMI > 27 kg/m²) fordult elő. Az MI csoportban a TLR4 299Gly allél 4,3%-ban (K:5,1%, ns.), a 399Ile allél 3,8 %-ban (K:4,5% ns.) együttesen, a K csoporthoz hasonló gyakorisággal, a TNF- α -238 A (6,1%) szignifikánsan gyakrabban (K: 1,5%, χ^2 , p=0,001, RR:1,67, CI95%: 1,38-2,01), a -308 A allél ritkábban (9%) (K:18%, p=0,01, RR:0,7, 0,52-0,95) fordult elő, mint a referens csoportban. Az MI csoportban a TLR4 mutáns allélt hordozók TNF- α (5,0 \pm 1,2 vs. 6,2 \pm 1,7 pg/ml), resistin (6,9 \pm 3,3 vs. 9,4 \pm 6,6 ng/ml), proinsulin (8,7 \pm 5,3 vs. 14,0 \pm 8,3 pM), inzulin (15,2 \pm 5,7 vs. 24,5 \pm 15,4 μ U/ml), C-peptid 2,0 \pm 0,8 vs. 3,4 \pm 2,2 ng/ml szintjei, BMI (25,6 \pm 2,8 vs. 28,3 \pm 4,0 kg/m²), HOMA A (3,5 \pm 1,3 vs. 5,8 \pm 3,5) és B (154 \pm 91 vs. 246 \pm 147) indexei szignifikánsan (Mann-Whitney, p < 0,05) alacsonyabbak, adiponectin szintjük magasabb (11,9 \pm 5,1 vs. 8,7 \pm 4,1 μ g/ml), a TNF- α -238 AG és -308 GG alléleket hordozó betegekben e paraméterek szignifikánsan magasabbak voltak a -238 GG és a -308AG allél hordozókhöz képest. A TLR4 mutáns alléleket hordozók között 30 kg/m² feletti BMI érték (χ^2 , RR:0,28 CI95%:0,08-0,93 p=0,04), és HOMA A > 4 mértékű inzulinrezisztencia (0,23, 0,09-0,60, 0,001) előfordulása szignifikánsan ritkább volt, mint a vad alléleket hordozók között. A TNF- α -238 A allél változatot hordozók között BMI > 30 kg/m² érték (RR:3,92, CI95%:1,63-9,3, p=0,002) és HOMA A index > 4 (RR:10,5, 1,4-76,8, 0,005) szignifikánsan gyakrabban, a -308 A alléllal rendelkezők között pedig ritkábban (BMI RR:0,46, 0,21-1,0, 0,03, HOMA A RR:0,50, 0,27-0,70, 0,03) volt jelen.

The Asp299Gly and Thr399Ile polymorphisms of Toll-Like Receptor (TLR) 4 affects TNF-alpha and TNFR2 levels and insulin resistance in obese children and adults

Jermendy A¹, Korner A¹, Kovacs M², Kaszas E³, Balazsovcics J³, Szocs A³, Madacsy L², Cseh K³

¹1st Department of Paediatrics, Semmelweis University, Budapest, Hungary

²3rd Department of Medicine, Semmelweis University, Budapest, Hungary

³1st Department of Medicine, Karolyi Sandor Hospital, Budapest, Hungary

The European Association for the Study of Diabetes, Amsterdam, September 18-21, 2007

The expression of TLR4 has recently been shown in fat tissue. The hypomorphic mutations D299G and T399I of TLR4 may influence the cytokine secretion from adipocytes. The aim of our study was to compare TNF-alpha, sTNFR1, sTNFR2 levels in obese children and adults in relationship to allelic polymorphisms of TLR4 and indirect parameters of insulin resistance (HOMA indexes).

The D299G and T399I allelic polymorphisms of TLR4 were detected with PCR-RFLP technique in 79 obese children (OC, female/male: 40/39; age: X±SD, 13,1±2,9 years; BMI: 31,1±5,4 kg/m²), 171 obese adult patients (OA, 70/101; 57,2±11,2 ys; 28,8±4,1 kg/m²), 169 adult control subjects (CA, 101/68, 56,4±11,7 ys; 24,6±1,8 kg/m²) and 42 control children (CC, 17/25; 14,8±3,2 ys; 17,5±2,5 kg/m²).

Serum TNF-alpha, sTNFR1, sTNFR2 levels, plasma insulin levels were measured by ELISA (Biosource). TNF-alpha (5,5±0,9 pg/ml) and sTNFR2 (4,3±1,1 ng/ml) levels were significantly higher in OC compared to the CC group (TNF: 3,9±0,7; R2: 0,5±0,3; Mann-Whitney, p<0,01). Cytokine levels in the OC group differ significantly from that of the OA levels (TNF-alpha: 6,1±1,7; TNFR2: 6,7±1,9), however when the ratio of TNFR2/TNFR1 was compared we found no difference between the two groups. (R2/R1: OC: 2,4±0,7; OA: 2,6±1,0; p=NS). Significant positive linear correlations were detected between TNF-alpha, TNFR2 levels, BMI and insulin sensitivity measured by HOMA-A index (Spearman p<0,05).

Allelic frequencies of D299G and T399I of TLR4 tend to be lower in children as compared to control subjects (OC: 299G: 3,79%, 6/158; 399I: 3,79%, 6/158 vs. CA: 299G: 5,0%, 17/338; 399I: 4,5%, 15/338). In OA patients the frequencies of the mutant alleles were found to be 4,3% (15/342) and 3,8% (13/342) respectively. All obese patients (OC and OA) carrying the mutant alleles of TLR4 (299G and 399I) had lower TNF-alpha (OC: 4,4±0,7 vs. 5,5±0,9; OA: 5,0±1,2 vs. 6,2±1,7; p<0,05), sTNFR2 (OC: 2,9±1,2 vs. 4,4±1,1, p<0,05; OA: 6,9±1,3 vs. 7,4±2,6) levels and HOMA-indexes (OC: 1,1±0,9 vs. 2,6±2,3, OA: 3,5±1,3 vs. 5,8±3,5; p<0,05) compared to the carriers of the wild type alleles (299D and 399T).

Elevated TNF-alpha and sTNFR2 levels may contribute to insulin resistance in obese children similarly to adulthood. The TLR4 allelic polymorphism may influence cytokine concentrations and insulin resistance both in children and adult obese people. This work was supported by OTKA TO46427KON and ETT 277/2003 grants.

Effects of allelic polymorphisms of TLR4, TLR2 and PPAR-γ on TNF-α, TNF Receptor -2 levels and on insulin resistance

Agnes Jermendy¹, Anna Korner¹, Margit Kovacs², Edit Kaszas³, Judit Balazsovcics³, Albert Szocs³, Laszlo Madacsy², Karoly Cseh³

¹1st Department of Pediatrics, Semmelweis University, Budapest, Hungary

² ³rd Department of Medicine, Semmelweis University, Budapest, Hungary

³ ¹st Department of Medicine, Karolyi Hospital, Budapest, Hungary

Beküldve: Congress of American Diabetes Association, San Francisco 2008

In obesity, increased Tumor Necrosis Factor (TNF)- α level is involved in the development of insulin resistance. The expression of Toll-Like Receptor (TLR)-4, TLR2 and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR)- γ have been shown in adipose tissue. The hypomorphic mutations D299G and T399I of TLR4; R677W and R753Q of TLR2; and the P12A polymorphism of PPAR- γ may influence TNF- α secretion from adipocytes. The aim of our study was to assess the effect of TLR4, TLR2, PPAR- γ gene polymorphisms on TNF- α , soluble TNF-Receptor-2 (sTNFR2) levels and insulin resistance.

The polymorphisms were determined with PCR-RFLP technique in 79 obese children (OCh group), 171 obese adults (OAd group). As for controls, 91 non-obese adult subjects were investigated. Cytokine levels were measured by ELISA.

In OCh and OAd groups, TNF- α and sTNFR2 levels were significantly ($p < 0.01$) higher compared to those in the control group. Significant ($p < 0.05$) positive linear correlations were observed between TNF- α , sTNFR2 levels, BMI and insulin resistance measured by HOMA-index.

There was no significant difference in allele frequencies of TLR4 polymorphisms between obese and control groups. However, when analysing obese groups (OCh and OAd groups), patients carrying the mutant alleles of TLR4 (299G and 399I) had lower cytokines levels and HOMA indices compared to patients carrying the wild type alleles (299D and 399T) (OCh group: TNF- α 4.4 \pm 0.7 pg/ml vs 5.5 \pm 0.9 pg/ml; sTNFR2 2.9 \pm 1.2 ng/ml vs 4.4 \pm 1.1 ng/ml; HOMA-indices 1.1 \pm 0.9 vs 2.6 \pm 2.3; OAd group: TNF- α 5.0 \pm 1.2 pg/ml vs 6.2 \pm 1.7 pg/ml; sTNFR2 6.9 \pm 1.3 ng/ml vs 7.4 \pm 2.6 ng/ml; HOMA-indices 3.5 \pm 1.3 vs 5.8 \pm 3.5).

No polymorphism at position 677 of TLR2 was found in our sample population. The R753Q polymorphism of TLR2 was not associated with any alterations of the cytokine levels or HOMA indices.

The frequency of PPAR- γ 12P and 12A alleles was not significantly different in the studied patient groups. However, within the OCh group, carriers of the PPAR- γ 12A allele had significantly higher fasting insulin level and HOMA A indices compared to 12P carriers.

In summary, cytokine concentrations and insulin resistance might be influenced by TLR4 and PPAR- γ allelic polymorphisms both in children and adult subjects.