SEMMELWEIS EGYETEM

DOKTORI ISKOLA

Ph.D. értekezések

2896.

NÁDASDI ÁKOS

A diabetes mellitus és szövődményeinek valamint a májbetegségek etiológiai és genetikai tényezőinek vizsgálata
című program

Programvezető: Dr. Hagymási Krisztina, egyetemi docens

Témavezető: Dr. Firneisz Gábor, tudományos főmunkatárs

Genetikai tényezők, intrahepatikus és intrapancreatikus lipidakkumuláció jelentősége metabolikus kórképekben

Doktori Értekezés

Dr. Nádasdi Ákos

Semmelweis Egyetem
Rácz Károly Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Témavezető: Dr. Firneisz Gábor, Ph.D., tudományos főmunkatárs

Hivatalos Bírálók: Dr. Putz Zsuzsanna, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Kis János Tibor, Ph.D., főorvos

Komplex vizsga szakmai bizottság:
Elnök: Dr. Gerő László, D.Sc., professor emeritus
Tagok: Dr. Békési Gábor, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Szaleczky Erika, Ph.D. szakorvos

Budapest
2023

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke 4

1. Bevezetés 8

1.1 Túlsúly és obesitás 8

1.2 Gesztációs diabetes melllitus (GDM) 8

1.3 2-es típusú cukorbetegség (T2DM) 9

1.4 Fontosabb inzulinrezisztencia és egyéb anyagcsere indexek klinikai vonatkozásai 9

1.5 A genetikai tényezők jelentősége a szénhidrát anyagcsere-zavar kialakulásában 10

1.6 Nem alkoholos zsírmájbetegség (NAFLD) / metabolikus diszfunkció asszociált zsírmájbetegség (MAFLD) 12

1.7 *PNPLA3* rs738409 NAFLD kockázati génvariáns 18

1.8 Glukagon és a máj - α-sejt tengely 20

1.9 „Fatty pancreas", hasnyálmirigy elzsírosodás 21

1.10 A NAFLD és a hasnyálmirigy elzsírosodás jelentősége 2-es típusú diabetes kialakulásában 29

1.11 *TCF7L2*, *WFS1*, *HSD11B1* génvariánsok 30

1.12 A genotípus alapú visszahívásos vizsgálati elrendezés (GBR) és előnyei 31

2. Célkitűzések 32

3. Módszerek 33

3.1 A vizsgálat felépítése 33

3.1.1 Vizsgálati terv 33

3.1.2 A genotípus alapú visszahívásos vizsgálat (GBR) szempontjai 33

3.1.3 Genotípizálás a korábbi vizsgálatban 33

3.1.4 Résztvevők, behívás 33

3.1.5 Kizárási feltételek 34

3.2 Fenotípizálás: 35

3.2.1 Klinikai anamnezis-GDM reklasszifikáció, antropometriai adatok..... 35

3.2.2 Klinikai laboratóriumi vizsgálatok, 75g OGTT, glükóz- és inzulinmeghatározás 35

3.2.3 Prediabetes és diabetes mellitus klasszifikációja..... 36

3.2.4 Inzulin és glükóz koncentrációból származtatott indexek..... 36

3.2.5 Plazma glukagon szint meghatározás..... 37

3.2.6 Máj és hasnyálmirigy lipidtartalom meghatározás..... 37

3.2.7 MAFLD klasszifikációja 38

3.2.8 Máj fibrosis nem invazív becslése 38

3.3 További génvariánsok hatásának vizsgálata 38

3.4 Statisztika 38

3.5 Etikai engedély 39

4. Eredmények 40

4.1 A vizsgált populáció jellemzése..... 40

4.2 A vizsgált génvariánsok előfordulása magyar populációban és eloszlása a vizsgálati populációban 43

4.3 A BMI és a máj lipid depozíció kapcsolata..... 44

4.4 Máj lipidtartalom növekedés kapcsolata anyagcsere jellemzőkkel 44

4.5 *PNPLA3* rs738409 génvariáns hatása 45

4.6 A *PNPLA3* rs738409 genotípus hatása a máj és a hasnyálmirigy lipidfelhalmozás közötti összefüggésre..... 53

4.7 A hasnyálmirigy lipidtartalom növekedés és antropometriai jellemzők 54

4.8 A hasnyálmirigy lipidfelhalmozás anyagcsere-paraméterekkel való összefüggése 54

4.9 A hasnyálmirigy lipidfelhalmozás és ismert T2DM kockázati génvariánsok kölcsönhatása az inzulinválaszra..... 58

5. Megbeszélés 62

6. Következtetések 71

7. Összefoglalás 73

8. Summary 74

9. Irodalomjegyzék 75

10. Saját publikációk jegyzéke 100

10.1 A disszertációhoz kapcsolódó publikációk 100

10.2 A disszertációtól független publikációk 100

11. Köszönetnyilvánítás. 101

Rövidítések jegyzéke

ABHD-5 (abhydrolase domain containing 5)

AFLD (Alcoholic fatty liver disease): Alkoholos (eredetű) zsírmájbetegség

ALP: alkalikus foszfatáz

ALT (/GPT): alanin-aminotranszferáz (/Glutamát-pyruvát transzamináz)

AST (/GOT): aszpartát-aminotranszferáz (/Glutamát-oxálacetát transzamináz)

ATGL (adipose triglyceride lipase): zsírszöveti triglicerid lipáz

AUC (area under the curve): görbe alatti terület

BMI (Body Mass Index): testtömegindex

CAP (controlled attenuation parameter): kontrollált csillapítási paraméter

CRP: C-reaktív protein

CT: computer tomográfia

DI_{basal}: (éhomi) diszpozíciós index

EASD (European Association for Study of Diabetes): Európai Diabetes Társaság

EASL (European Association for Study of the Liver): Európai Májtársaság

EASO (European Association for Study of Obesity): Európai Obesitológiai Társaság

EDTA (etilén-diamin-tetraecetsav)

EFSD (European Foundation for Study of Diabetes): Európai Diabetes Alapítvány

FDR (false discovery rate): Hamis felfedezési arány

FFA: szabad zsírsav

FIB-4 (Fibrosis-4)

FRET: Förster-féle rezonáns energiaátadás

GBR (genotype based recall): genotípus alapú visszahívás (vizsgálat)

GCGR: glukagon receptor

GDM: Gesztációs diabetes mellitus

GLP-1 (glucagon-like peptide-1): glukagon-szerű peptid-1

GWAS: Genomszéles asszociációs vizsgálat

γGT γ-glutamil transzferáz

HAPO (Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome): Hyperglykaemia és kedvezőtlen terhességi kimenetel

HbA_{1c}: glykált hemoglobin

HCC: hepatocellularis carcinoma

HDL (high density lipoprotein): nagy sűrűségű lipoprotein

HGNC (Human Genome Organisation [HUGO] Gene Nomenclature Committee): Emberi Génnevezéktani Bizottság)

HOMA (Homeostasis Model Assessment):

HSC: máj csillagsejt

HSD11B1: 11β-Hydroxyszteroid dehydrogenáz 1

HTGC (hepatic trigliceride content): máj triglicerid tartalom

IADPSG (International Association of Diabetes in Pregnancy Study Group): Diabéteszes Terhességgel Foglalkozó Munkacsoportok Nemzetközi Szövetsége

IDF (International Diabetes Federation): Nemzetközi Diabetes Szövetség

IFG (impaired fasting glucose): Emelkedett éhomi vércukor

IGT (impaired glucose tolerance): Csökkent glükóztolerancia

IR: inzulin rezisztencia

ISSI-2 (insulin secretion-sensitivity index-2)

KASP: kompetitív allélspecifikus PCR

MAF: minor allél frekvencia

MAFLD (metabolic dysfunction associated fatty liver disease): metabolikus diszfunkcióhoz asszociált zsírmájbetegség

MetS: Metabolikus szindróma

MR: mágneses rezonancia

NAFLD (Non Alcoholic Fatty Liver Disease): Nem alkoholos zsírmájbetegség

NASH: nem alkoholos steatohepatitis

NFS: NAFLD fibrosis pont

NGT: normál glükóz tolerancia

OEP: Országos Egészségbiztosítási Pénztár

OGTT: Orális glükóz tolerancia teszt

OR (odds ratio): esélyhányados

PCR: polimeráz láncreakció

PDFF (proton density fat fraction): proton sűrűséghez képesti lipidtartalom/lipidarány

PG: plazma glükóz

PNPLA3 (*Patatin-like phospholipase domain containing 3*): *Patatinszerű foszfolipáz domént tartalmazó protein-3*

PTGC (pancreatic triglyceride content): hasnyálmirigy triglicerid tartalom

ROI (region of interest)

SAT (subcutaneous adipose tissue): bőr alatti zsírszövet

SD (standard deviation): tapasztalati szórás

SE (standard error of mean): átlag szórása

SNP (single nucleotide polymorphism): egypontos génvariáns

T2DM: 2-es típusú cukorbetegség

TCF7L2 (*transcription factor 7 like 2*)

TG: triglicerid

TyG: Triglicerid Glükóz index

UH: ultrahang

ULN (Upper limit of normal): normális felső határa

VAT (visceral adipose tissue): zsigeri zsírszövet

VLDL (very low density lipoprotein): nagyon kis sűrűségű lipoprotein

W/H (waist to hip ratio): derék – csípő hányados

WFS-1 (*wolframin ER transzmembrán glycoprotein*)

WHO (World Heath Organisation): Egészségügyi Világszervezet

1. Bevezetés

1.1 Túlsúly és obesitás

A WHO a kaukázusi népességben a túlsúlyt úgy definiálja, hogy a testtömegindex (BMI) érték eléri, vagy meghaladja a 25kg/m^2 értéket. Obesitást akkor lehet diagnosztizálni, ha a BMI eléri, vagy meghaladja a 30kg/m^2 értéket. 2022-ben megjelent, 2016-s adatokat tartalmazó WHO statisztikai kiadvány alapján (1) az obesitas aránya a népességben világszerte meghaladja a 13%-t (13,1%), Európában a 23%-t (23,3%), Magyarországon 26%-t (26,4%). Egyes szerzők pandémiáról is beszélnek, 1975 és 2016 között a számadatok alapján az obesitas globális prevalenciája megháromszorozódott és évente mintegy 2,8 millió ember halálához vezethet a túlsúly, vagy obesitas (2).

Az obesitas metabolikus kórképekkel, kóros állapotokkal, mint 2-es típusú cukorbetegség (T2DM), nem alkoholos zsírmájbetegség („non alcoholic fatty liver disease", NAFLD), inzulin rezisztencia (IR), metabolikus szindróma (MetS) igen szoros kapcsolatot mutat (3).

1.2 Gesztációs diabetes melllitus (GDM)

Gesztációs diabetes mellitusnak nevezzük az első ízben a várandósság során kezdődő, vagy felismert hyperglykaemiát okozó szénhidrátanyagcsere-zavart. 2021-ben az IDF Diabetes Atlas-ban megjelent tanulmány alapján univerzális orális glükóz tolerancia teszt (OGTT) alapú szűrés és az „International Association of Diabetes in Pregnancy Study Group" (IADPSG) kritériumainak (4) használata esetén globálisan a standardizált prevalenciáját 14,2%-ra, Európában 12,3%-ra becsülték (5).

Jelentőségét az aktuális terhesség során kialakuló anyai és magzati hatásokon, szövődményeken túl az adja, hogy a „Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome" (HAPO) vizsgálat utánkövetése alapján már 10-14 évvel a szülést követően glükózanyagcsere-zavar alakulhat ki (6), a T2DM különböző GDM diagnosztikus kritériumok, populáció esetén, több évtizedes követés esetén akár 50% feletti kumulatív incidenciával jelenik meg (7,8), a GDM kórelőzményű nők kockázata 11-szeres a T2DM kialakulására azokhoz képest, akiknek az anamnezisében GDM nem szerepel (9). Mindemellett a későbbiekben a cardiovasculáris kockázat is magasabb GDM esetén (10).

Közös kockázati tényezőként a maternális obesitas emelhető ki (11), továbbá GDM esetén nagyobb a NAFLD előfordulási gyakorisága is (12).

1.3 2-es típusú cukorbetegség (T2DM)

A 2-es típusú cukorbetegség olyan komplex metabolikus zavar, amelyet a szervezet glükóz felhasználási zavara jellemez. Az ezt létrehozó patomechanizmusok közül kiemelhető a teljes test és hepatikus inzulinrezisztencia növekedése és általában ezt követően az inzulin szekréciójának relatív, majd definitív károsodása (13). Ennek következtében kialakul a szénhidrát anyagcsere zavar és krónikus hyperglykémia áll fenn, de esetek többségében érinti a lipid anyagcserét is (14,15). A betegség kórlefolyása során több szerv is károsodhat (mind a halálozásban, mind az életminőség jelentős csökkenésében a makrovasculáris, mikrovasculáris és idegrendszeri szövődmények a legismertebbek).

Előfordulását tekintve, 2021-s „IDF Atlas" alapján a diabetes mellitus globálisan 537 millió embert érintett és 2021-ben 6,7 millió ember haláláért volt felelős (16). Magyarországon, egy OEP adatbázis alapján végzett felmérés szerint 2014-ben közel 727000 diagnosztizált cukorbeteget tartottak nyilván (17).

Diagnosztikája nemzetközi és hazai ajánlások alapján történik random, vagy éhomi, és/vagy 75g OGTT elvégzése során vénás plazmaglükóz továbbá a HbA_{1c} szint meghatározásával (14,18,19).

A T2DM szoros összefüggést mutat obesitással, dyslipidaemiával, nem alkoholos zsírmájbetegséggel. A NAFLD-vel való viszonyát jól mutatja, hogy egy több, mint 560 T2DM beteg részvételével végzett vizsgálatban hepatikus steatosis 70%-ban, fibrosis 21%-ban volt kimutatható (20).

1.4 Fontosabb inzulinrezisztencia és egyéb anyagcsere indexek klinikai vonatkozásai

Az inzulinszekréció vagy β-sejt funkció és a szövetek inzulinérzékenységének/inzulin rezisztenciájának meghatározására arany standard eljárásként úgynevezett „clamp" technikák használhatók. A β-sejt glükóz érzékenység hyperglykaemiás, a szövetek inzulinérzékenysége hyperinzulinaemiás clamp segítségével meghatározható (21), viszont alkalmazhatóságuk erősen korlátozott.

Rutin klinikum számára könnyebben elérhető paraméterekből meghatározható, nagyobb populáción is használható módszereket: helyettesítő indexeket („surrogate markers”) is kifejlesztettek, amiket az említett clamp technikákkal is validáltak. Csak a dolgozatban később használt indexek kerülnek összefoglalásra, kiemelhető, hogy a különböző indexek élettani/kórtani jelentése az egyes indexek esetében eltérő.

A Homeostasis Model Assessment (HOMA) felhasználásával éhomi, egyensúlyi („steady-state”) körülmények között éhomi vércukor és inzulin értékek segítségével lehetőség nyílik mind a β-sejt funkció (HOMA-B), mind az elsősorban hepatikus inzulin érzékenység (HOMA-S) / rezisztencia (HOMA-IR) meghatározására (22), az eredeti HOMA továbbfejlesztett változatát 1998-ban publikálták (HOMA2) (23).

Az éhomi, inzulinrezisztencia meghatározásra további lehetőségként az éhomi szérum triglicerid (TG) és plazma glükóz (PG) értékek segítségével a triglicerid glükóz (TyG) index meghatározható (24).

A Matsuda index segítségével az OGTT során nyert glükóz és inzulin értékekkel a teljes test inzulinérzékenység dinamikus körülmények között történő meghatározása lehetséges (25).

A β-sejt funkció és inzulinrezisztencia között fennálló hiperbolikus kapcsolat (26,27) lehetőséget nyújt az absztrakt, konstans matematikai paraméter, a diszpozíciós index meghatározására, ami több közlemény szerint is a későbbiekben kialakuló T2DM prognosztikai markere (28,29).

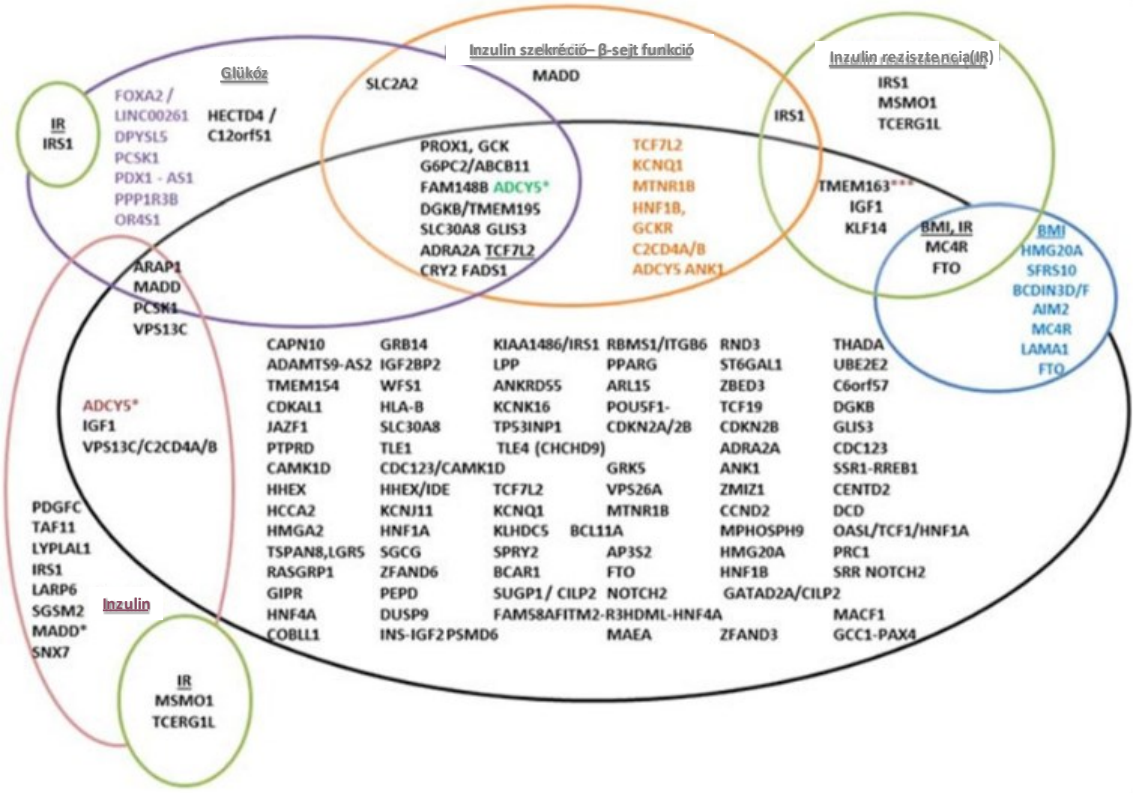
1.5 A genetikai tényezők jelentősége a szénhidrát anyagcsere-zavar kialakulásában

A T2DM kialakulásában örökletes és nem örökletes tényezők egyaránt részt vesznek. Öröklött tényezők jelentőségét mutatja a kórkép létrejöttében, hogy egy 2-es típusú cukorbeteg szülő esetén a gyermek életében a T2DM kialakulásának kockázata kb. 3,5-szeres, 2 cukorbeteg szülő esetén 6,1-szeres (30). Általában a heritabilitást 25-80% közöttire becsülik (31), egy 2015-ben megjelent, korábbi ikervizsgálatok (több, mint 35000 ikerpár) adatainak metaanalízise a T2DM kialakulására a heritabilitást 72%-ra becsülte (32). Mindazonáltal a genetikai tényezők hozzájárulása a T2DM kialakulásához a legtöbb közlemény szerint ennél lényegesen alacsonyabb, a heritabilitási vizsgálatokban

kihívást jelent a környezeti tényezők leválasztása a genetikai kockázati faktoroktól (33,34).

A T2DM kialakulásának genetikája komplex, poligénes, a patofiziológia létrejöttében gén-környezeti hatás interakciók is szerepelnek (31,33,35). Az elmúlt évtizedekben egyre több egy pontos génvariáns („single nucleotide polymorphism", SNP) szerepét ismertük meg a betegség létrejöttében. A hajlamosító variánsok azonosításában hatalmas előrelépést jelentett a genomszéles asszociációs vizsgálatok (GWAS) elterjedése, kezdetben polimorfikus markerekkel, majd egypontos génvariánsok nagy számának chip-en történő vizsgálatával, amihez az informatikai fejlődés és megfelelő matematikai módszerek alkalmazása is elengedhetetlen volt. Az ismeretek bővülését jól mutatja, hogy 1998-ban 1, 2002-ben 2, majd kandidáns gén és GWAS vizsgálatok segítségével 2015-ig több, mint 150 génvariánsnak a betegség kialakulásával történő asszociációja volt ismert (31), ezzel szemben 2016-ban már 334 variáns volt ismert (34), míg 2018-ban egy, korábbi GWAS vizsgálatok (összesen majdnem 900000, európai származású egyén) adatait felhasználó metaanalízis már több, mint 400, genomszinten szignifikáns asszociációs jelet azonosított (36).

Az azonosított variánsok a T2DM mellett különféle, a T2DM kialakulásában fontos anyagcsere jellemzőhöz („trait") kapcsolhatók: például inzulinszekréció/β-sejt diszfunkció, inzulin rezisztencia, glükóz szintek, BMI, stb. (1. ábra) (31). Kiemelendő, hogy az ismert variánsok egy része az inzulin rezisztencia, másik, nagyobb része a β-sejt diszfunkció, jelentős része pedig mindkettő patogenezisében részt vesz (31,37).



1. Ábra: T2DM-el és glykemiás jellemzőkkel asszociált génvariánsok

Hivatkozás: (31) Felhasználva: módosítva a Creative Commons Attribution 4.0 International Licence alapján (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1.6 Nem alkoholos zsírmájbetegség (NAFLD) / metabolikus diszfunkció asszociált zsírmájbetegség (MAFLD)

A máj steatosis és cirrhosis kapcsolatának első leírásai egészen a XIX század első feléig visszavezethetők (38–40), míg a zsírmájbetegség cukorbetegséggel való kapcsolatának első leírása 1938-ban került sor (38,41). Következő lényeges lépés volt a betegségspektrum kialakulásának történetében, amikor 1980-ban az obesitással, diabetes mellitussal összefüggő, más aetiológiával nem magyarázható steatosissal, steatohepatitisszel és fibrosissal is jellemezhető nem alkoholos steatohepatitis (NASH), mint önálló kórkép (38,42) majd 1986-ban az NAFLD kifejezés is leírásra kerültek (38,43). Szemben a nevében is elsősorban kizárásos diagnosztikára épülő nem alkoholos zsírmájbetegséggel, azaz NAFLD-vel a 2020-ban először javasolt metabolikus

diszfunkció asszociált zsírmájbetegség („metabolic dysfunction associated fatty liver disease”, MAFLD) már elsősorban a metabolikus kórképek és zsírmáj együttesét definiálja önnálló kórállapotként – megjegyzendő, hogy populációs vizsgálattal igazolták, hogy a két definíció közel 95%-os átfedést mutatott (44–46).

Definíció szerint a máj zsíros degenerációja esetén zsírmájról beszélünk, a lipidek a máj sejtekben deponálódnak és amennyiben a májsejtek több mint 5%-ban mikroszkóppal lipid depozíció mutatható ki, vagy (MR-el) a máj térfogatának legalább 5,5%-t a lipid frakció teszi ki, akkor beszélünk zsírmájról (47,48). Önmagában a máj kóros fokú elzsírosodása többféle, a májat érintő patológiával asszociálhat: “primer betegség”-ként a metabolikus diszfunkció, metabolikus kockázati tényezők (NAFLD); gyógyszerek, alkohol, egyéb toxikus hatások; vírus hepatitiszek (elsősorban HCV), autoimmun hepatitis, abetalipoproteinaemia / hypobetalipoproteinaemia, lipoatrophia, coeliakia, táplálkozási eltérések: éhezés, teljes parenterális táplálás, herediter / tárolási betegségek: haemochromatosis, Wilson kór, Wolman betegség, felnőttkori 2-es típusú citrinhiány endokrin kórképek: hypopituitarismus, hypothyreosis, Cushing szindróma (47,48) (1. táblázat). A dolgozat témája a fentiek közül a metabolikus diszfunkció asszociált zsírmájbetegség (44), korábbi nevezéktan szerint NAFLD, ezért a többi aetiológiát a későbbiekben nem tárgyalom, habár kiemelném, hogy zsírmáj diagnózisakor a fenti alternatív diagnózisok miatt a differenciáldiagnosztika elvégzése mindig szükséges (45,47,48).

1. Táblázat: A NAFLD aetiologiája

Zsírmáj-betegség típusa	***Leggyakoribb zsírmájjal társuló betegségek***		***További szempontok***
„Primer” zsírmáj-betegség	NAFLD, vagy primer NAFLD	Metabolikus szindróma, metabolikus kockázati tényezők*, comorbiditások	
Zsírmáj-betegség secunder okai	Alkoholos zsírmájbetegség (AFLD)		Autoamanézis, heteroanamnézis Társbetegségek
	Gyógyszer indukálta zsírmájbetegség		Autoanamnézis, heteroanamnézis; Hy’s law**
	Hepatitis C-vírus asszociált zsírmájbetegség		Kockázati tényezők (tatoo, STD, pl. HIV, vérkészítmények szűrését megelőző időszak, transzfúzió); 3-as genotípus

	Egyéb okokhoz társult zsírmáj-betegség	Coeliakia	gyakori
		Autoimmun hepatitis (AIH)	
		Abetalipoprtoeninaemia/ hypobetalipoproteinaemia, lipoatrófia	
		Endokrin: hypopituitarismus, hypothyreosis	
		Táplálkozás: éhezés, totális parenterális táplálás (TPN)	
		Veleszületett anyagcsere/tárolási betegségek • Hemochromatózis: (Homeostatic iron regulator [*HFE*-döntően C282Y, H63D], nem-HFE) • Wilson-kór (*ATP7B*) • Wolman betegség (lizoszómális savas lipáz hiány, *LAL*) • Felnőttkori 2-es típusú citrin hiány (*SLC25A13*)	családi anamnézis, genetikai és további célzott vizsgálatok

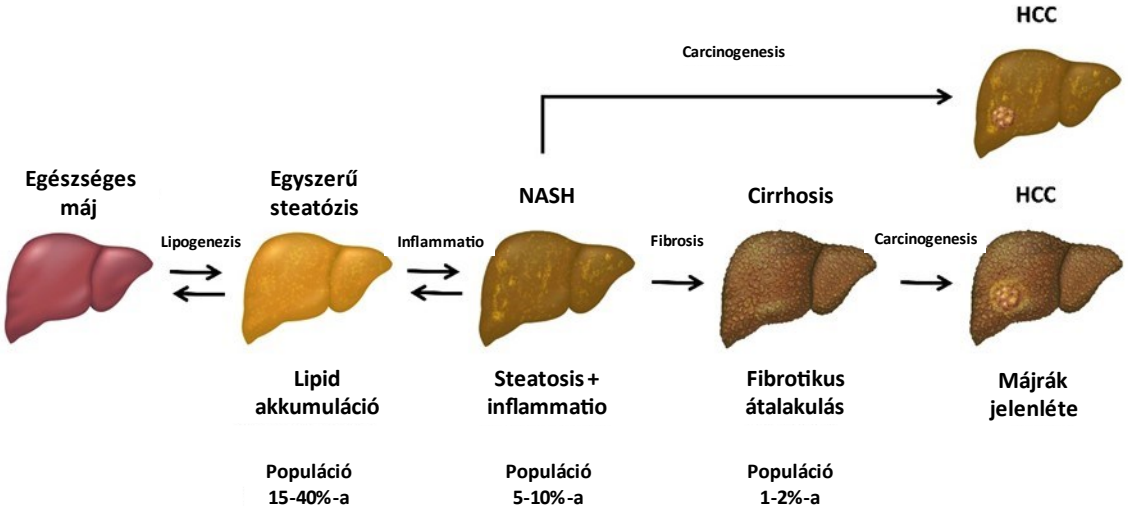
***Metabolikus rizikótényezők: 1: derékkörfogatot (európai férfi/nő) ≥94/80cm, 2: artériás vérnyomást ≥130/85Hgmm, vagy hypertónia betegségre kezelt személy, 3: éhomi vércukorérték >5,6 mmol/L (100mg/dl), vagy kezelt 2 típusú cukorbetegség, 4: szérum trigliceridérték > 1,7 (>150mg/dl), 5: HDL koleszterin (férfi/nő) <1.0/1.3 mmol/L (<40/50 mg/dl).**

**** Újkeletű ALT vagy AST ≥ 3x ULN, total szérum bilirubin > 2x ULN, kezdeti cholestasis (magasabb szérum ALP), egyéb ezt magyarázó okok nélkül – transzplantációs időszakot megelőző mortalitási arány (sárgasággal járó esetekben): 10-50%.**

#Cirrhosis és NASH hisztológiai jelei nélkül, de „kiégett" NASH-re utaló metabolikus rizikófaktorok jelenlétében is előfordulhat

Hivatkozás: (48) Felhasználva: A Creative Commons Attribution 2.0 Generic licence (https://creativecommons.org/licenses/by/2.0/) alapján módosítás nélkül.

A máj zsírosodása, és annak ismerete azért fontos, mert a máj megbetegedései időben is spektrumbetegségként jellemezhetők: elsőként megjelenő egyszerű steatosis mellett később steatohepatitis jelenhet meg, a fibrotikus átalakulás pedig a cirrhosis állapotát hozhatja létre, amely szövődményeivel együtt önmagában is fatális kimenetelt okozhat, és ennek talaján kialakuló hepatocellularis carcinoma is idesorolható(2. ábra).



2. Ábra: Az NAFLD progressziója és stádiumai.

Hivatkozás: (49). Felhasználva: A Creative Commons Attribution 4.0 International Licence alapján (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) módosítva.

A nem alkoholos zsírmájbetegség szorosan asszociált az obesitással, megnövekedett inzulin rezisztenciával, T2DM-előfordulással, dyslipidaemiával, hyperurikaemiával, általában a metabolikus szindrómával, atherosclerosis progresszióval, pitvarfibrilláció előfordulásával, de vesebetegség progressziójával és (extrahepatikus) malignitás akár 2x nagyobb előfordulási valószínűségével is (47,48,50–56).

A NAFLD előfordulási gyakorisága a nyugati „iparilag fejlett" társadalmakban igen jelentős, pontos adatokat mégsem lehet megadni, ugyanis a pontos definíció mellett a diagnosztikus heterogenitás (lásd később részletesen: boncolási adatok, MR vizsgálat, CT vizsgálat, UH alapú módszerek, pontrendszerek használata) miatt a prevalencia adatok nagyfokban függőek az adott tanulmányban alkalmazott módszertől és ezek heterogenitása is jelentős (47,55,57–60). Általában a „fejlett országok" -ban, Európa országait és az USA-t nézve kb. a populáció 18-30%-t érinti míg a NASH előfordulását is a teljes populációban 1,5-6,45% körülire becsülik (47,61,62). Kettes típusú cukorbetegekben a NAFLD prevalenciáját az USA-ban 55,5%-nak, Európában 51,8% -

61,8% közöttinek becsülték (61). A táplálkozási szokások és az életmód átalakulásával a kórkép egyre gyakrabban jelenik meg gyermekpopulációban is (63).

A NAFLD diagnosztikája kihívást jelent. Bár számos vizsgálati lehetőség adott - szövettani feldolgozás, ultrahang alapú módszerek, CT és MR alapú módszerek - ezek egyike sem tudja egyidejűleg betölteni a pontos, olcsó, széles körben elérhető, nem invazív/ kis megterheléssel járó elvárások mindegyikét.

A májbiopszia sokáig arany-standard eljárásnak számított, a steatosis mellett a többi szövettani jellemzőre vonatkozó karakterizálási képessége (fibrosis, a „ballooning" és gyulladás tekintetében egyedülálló) és differenciál diagnosztikai képessége, mint előnyök mellett az invazivitás az alkalmazhatóságát – kizárólag NAFLD indikációban - erősen limitálja. A steatosis mértékére a következő kategóriákat határozza meg S0: (sejtek <5% makrovezikukláris lipidakkumuláció), enyhe S1 (≤5–32%), mérsékelt: S2 (33–65%) és súlyos: S3 (>66%) steatosis.
„Rutin" hasi UH vizsgálat elérhetősége megfelelő, költségvonzata is relatíve elfogadható, de diagnosztikus képessége jóval szerényebb a többi eljáráshoz képest, általában csak nagyobb mértékű lipiddepozíció esetén (≥20–30%) válik megbízhatóvá (64) és további hártánya lehet még a kvantifikálhatóság hiánya.

Ultrahang alapú módszerek közül előrelépést jelentett FibroScan® (Echosens) a „controlled attenuation parameter" (CAP) használata, amely szemi-kvantitativ módszernek tekinthető a lipidtartalom meghatározásában (S0-S3). A hisztológiai meghatározással és MR-el elsősorban a 10-15% fölötti lipiddepozíció esetén mutat jó korrelációt (65–68).

Kiemelendő a képalkotó technikák közül a mágneses rezonancia (MR) alapú módszerek használata (MR spektroszkópia: MRS és MR „imaging" MRI), melyek a hisztológiai meghatározással összemérhető, sőt azt (különösen alacsony lipidtartalom esetén) felülmúló módszernek tekinthető a lipidmennyiség pontos, kvantitatív meghatározásában (a szövet biokémiai alapú lipidmennyiség meghatározásával összemérve), ennek megfelelően nemzetközi ajánlás alapján is ma már ez tekinthető az „arany standard" eljárásnak (47,48,57–59).

A képalkotó módszerek közül említendő még a computer tomographia (CT) (69), azonban ionizáló sugárzás alkalmazása miatt a máj steatosis meghatározás céljából történő használhatósága erősen korlátozott, illetve elsősorban olyan retrospektív elemzésekben lehet hasznos, ahol CT vizsgálat egyéb indikáció miatt történik.

Az említett képalkotó eljárásokon túl a nem invazív módszerek közül a 2016-s EASL-EASD-EASO közös, NAFLD ellátására született klinikai ajánlás kiemeli a vérből és az antropometriai paraméterekből meghatározható pontrendszerek használatát is (elsősorban epidemiológiai vizsgálatok céljából), ezek közül is megfelelő validitásuk alapján: „Fatty Liver Index" (FLI)-t, a "NAFLD-liver fat score" (NAFLD-LFS)-t és a SteatoTest® -t (47,48).

A steatosis mellett az inflammatio és a fibrosis modalitások vizsgálata releváns. A gyulladás vizsgálata és egyúttal a NASH diagnózisa jelenleg csak hisztológiai vizsgálattal lehetséges. A fibrosis esetén a májbiopszia mellett nem invazív módszerek is rendelkezésre állnak. Képalkotó módszerekre épülő technikák közül kiemelendő az MR elasztográfia (MRE) és UH alapú tranziens elasztográfia módszerek (pl. FibroScan®) használata, továbbá fibrosis becslő pontrendszerek is használhatók: rutin klinikai adatokból általában könnyen előállítható (pl. FIB-4, vagy NAFLD fibrosis score: NFS) továbbá külön erre a célra fejlesztett biomarker alapú vizsgálatokra épülő (pl. enhanced liver fibrosis: ELF® és a FibroTest®) rendszerek a gondozási ajánlásban is kiemelésre kerültek elsősorban előrehaladott fibrosis valószínűsítésére, vagy kizárására (47,48,70,71).

Az NAFLD heritabilitását elvégzett vizsgálatok 20-70% között, különböző etnikumoknál különböző mértékűnek találták (afrikai:14-20%, európai: 26-27%, hispán: 33-34%) (72). Asszociációs és GWAS vizsgálatok (73,74) segítségével jelenleg már (2021-s vizsgálat adatai alapján) már azonosított SNP-k száma elérheti akár a 460-t is (75), ami jól tükrözi a NAFLD kialakulásának komplex genetikai hátterét. A legfontosabbak között találjuk a következő gének hajlamosító, egypontos variánsait, amik a heritabilitás mintegy 10%-áért felelősek (72):

- *PNPLA3* (patatin-like phospholipase domain containing 3, vagy más néven adiponutrin, calcium-independent phospholipase A2-epsilon) gén rs738409 (másnéven: I148M) (73) és ennek a hatását moduláló rs2294918 (E434K) (76)

variánsai (a *PNPLA3* gén jelentősége részletesebben az 1.6-s fejezetben tárgyalva), Magyarországon MAF: 0,22 (48,77);

- *TM6SF2* (transmembrane 6 superfamily member 2): rs58542926 (E167K), VLDL szintézisben szerepet játszik, a *C* allél magasabb cardiovasculáris kockázattal, a *T* allél csökkent vér és emelkedett intrahepatikus lipidtartalommal asszociálható (48,78)
- *GCKR* (glucokinase regulatory gene) lókuszban észlelt misszensz változatnak (rs780094) NAFLD kialakulására észlelték hatását

A felsoroltakon túl, a teljesség igénye nélkül további gének variánsainak is van ismert hatása a NAFLD kialakulásában/progressziójában: *MBOAT*, *MARC1*, *APOE*, *TRIB*, *STAT3, HSD17B13, CLOCK*, *ABCC2, PXR*, *NR1H4*, *RXRA*, *KLB* (72,75,79,80).

1.7 *PNPLA3* rs738409 NAFLD kockázati génvariáns

A *PNPLA3* gén funkciója még jórészt ismeretlen volt, amikor először 2008-ban GWAS vizsgálattal az rs738409 SNP kiemelkedő szignifikanciájú asszociációt mutatott a máj triglicerid tartalmával (73). A gén és a kódolt PNPLA3 fehérje azóta intenzív kutatások tárgyát képezte. A mai ismereteink alapján a variáns aminosav cserét eredményez: 148. pozícióban izoleucin – methionin csere. Európai populációban a *C* a major allél, a NAFLD szempontjából kockázatot jelentő *G* allél közel 23%-s frekvenciával (minor allél frekvencia, MAF) fordul elő, Magyarországot is beleértve (77,81).

Az rs738409 kockázati variáns összefüggést mutatott a teljes NAFLD spektrummal: steatosist (és NAFLD előfordulást) növelő hatásán kívül progresszív lefolyással, periportális gyulladás és fibrosis nagyobb arányával, cirrhosis megnövekedett dekompenzációs hajlammal és halálozással (AFLD/NAFLD/vírus aetiológiájú ismert cirrhozisos betegeknél, igazolt portális hypertenzióval >2x kockázati arány mindkét végpont esetén *GG* hordozókban), továbbá megnőtt hepatocelluláris carcinoma (HCC) kockázattal (retrospektív elemzésben *GG* hordozás és T2DM együttes előfordulása esetén 20x kockázatnövekedés) (82–87). A fentieket is figyelembe véve érthető, hogy nemzetközi klinikai ellátási ajánlásokban a kevés genetikai kockázati tényező egyikeként emelik ki (47,48,88,89).

A gén expresszióját az energia bevitel / energia egyensúly (90) befolyásolja, inzulin és glükóz additívan növeli a zsírszövetben mért expresszióját (91). Ugyanakkor a szöveti szintű expresszió a májban a legmagasabb (92), és újabb immortalizált humán hepatocytákkal végzett experimentális adatok alapján a *PNPLA3* expresszió palmität és magas glükóz koncentráció egyidejű expozícióját követően nő meg jelentősen, ami utána olyan aktiváló faktorokat választ el, amelyek a máj csillagsejtek (hepatic stellate cell, Ito sejt, HSC) felé aktiváló, extracelluláris mátrix (ECM) szekréció indukáló hatással bírnak, ezért a folyamat összességében a máj fibrosis irányába hat (93,94). Más szerzők ugyanakkor primer HSC sejtkultúra vizsgálatokkal arra a következtetésre jutottak, hogy a *PNPLA3* genotípusnak a fibrosis kialakulásában játszott szerepe nem közvetlenül a HSC genotípus-függő hatáson keresztül jön létre (95). Ezek alapján is kitűnik, hogy a fibrosis folyamatában kiemelkedő szerepe van a mikrokörnyezetnek, így az emelkedett glükóz szint és a (például a legmagasabb koncentrációban keringő palmität) szabad zsírsavak (FFA) lipotoxicitása, a citokinek és növekedési faktorok hatása együtt fejt ki klinikai szempontból is lényeges fibrosist előidéző hatást. Ez nem zárja ki azt, hogy a PNPLA3 enzim közvetlenül is részt vegyen a HSC aktivációs folyamataiban, a lipid vakuolák kiürítésében szerepét leírták, a *G* allél hordozása esetén a májban emelkedett retinyl-palmität koncentrációt (96) a vérben csökkent retinol koncentrációt (97) találtak.

Az intrahepatocelluláris triglicerid tartalom növekedése mellett a lipidösszetétel (mintázat) is megváltozik, továbbá a magasabb lipidtartalom ellenére csökkent de-novo lipogenezis jellemző *G*-homozigótákban (82,98,99). Egyes szerzők (99) részben a lipidösszetétel változással magyarázzák azt a megfigyelést, hogy az inzulinrezisztencia nem egyenesen arányos az intrahepatikus lipidtartalom növekedésével a *PNPLA3* kockázati genotípus esetén, hanem a vártnál kisebb mértékűnek találták (47,73,99–101).

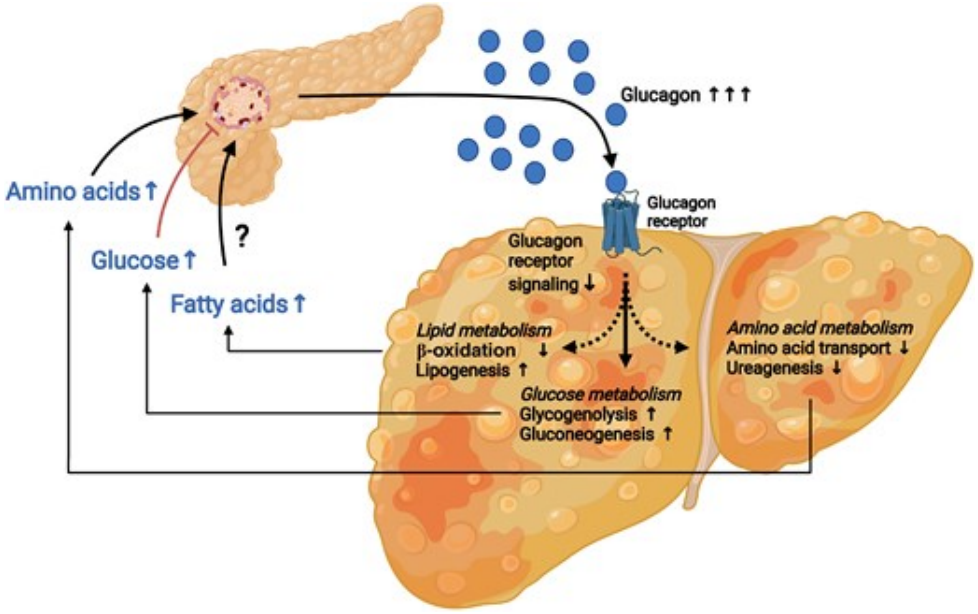
A PNPLA3, mint enzim funkcióját vizsgálva korábbi vizsgálatok alapján fokozott expresszió mellett a májsejtekben nőtt a lipogenezis, habár de novo TG szintézisben a PNPLA3 szerepét közvetlenül nem igazolták; rs738409 *G* allél esetén a TG hidrolízis csökkent, lizofoszfatidilsav acyl-transzferáz aktivitás (LPAAT) nőtt (102–107). A *G* allél által kódolt fehérjeváltozatnak a patológiás hepatikus steatosis kialakulásában az egyik fő mechanizmus lehet, hogy a lipolízisben a TG hidrolízis első lépését katalizáló (*PNPLA2* gén által kódolt) zsírszöveti lipáz („adipose triglyceride lipase", ATGL) működéséhez szükséges „abhydrolase domain containing 5" (ABHD-5) fehérjét a variáns

PNPLA3 fehérje nagyobb mértékben köti meg, ezáltal szekvesztrálja az ABHD5-t és csökkenti annak ATGL-el történő kapcsolódását a lipid dropletek felszínén (108–110). Ugyancsak ezt a szekvesztrációs mechanizmust és végsősoron az ATGL csökkent működését eredményezheti az is, hogy a variáns fehérje degradációja csökken, ennek eredményeképpen a lipidcsepp felszínén tovább marad (111).

1.8 Glukagon és a máj - α-sejt tengely

A glukagon a *proglucagon* (*GCG*) gén egyik terméke, amely hormon elsősorban a hasnyálmirigy α-sejtjeiben keletkezik és a dipeptydil-peptidáz-4 (DPP4) enzim degradálja (112,113). Hatását glukagon receptoron (GCGR) keresztül fejti ki, egyik fő célszerve a máj. A májban a szénhidrát anyagcserében (glükoneogenezist és glikogenolísist fokozza), lipid anyagcserében (lipolízist, zsírsavoxidációt és ketogenezist fokozza), és aminosavanyagcserében (pl. glutamin anyagcsere - glykoneogenezis), energia felhasználást növeli, általában katabolikus és termogenikus hatása van, továbbá leírták intravénás alkalmazása során plazma lipid, koleszterin és arachidonsav csökkentő hatását is (114–119).

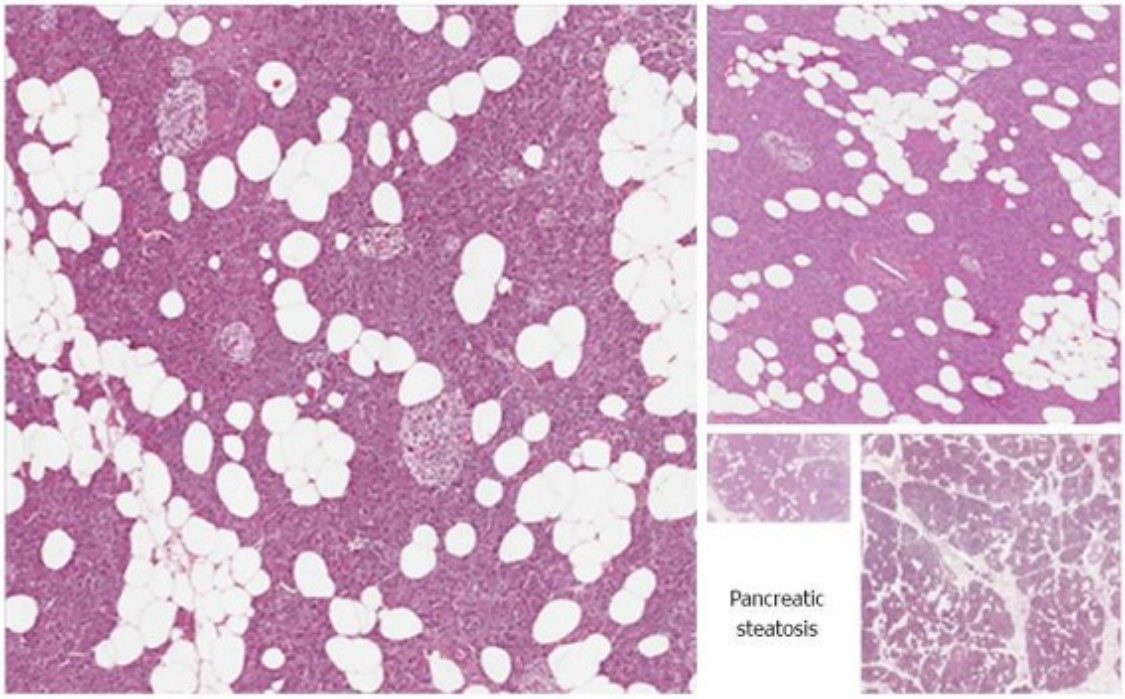
Utóbbi időben felvetették, hogy nemcsak a glukagon vesz részt a májban az aminosav-anyagcsere szabályázásában, hanem a májnak az aminosav szinteken keresztül, egy visszacsatolás, „feed-back" mechanizmussal hatása lehet a glukagonszekréció és α-sejttömeg befolyásolása révén a vér glukagon szintjére, az irodalomban ezt máj - α-sejt tengelynek nevezték el (120–122). Ennek a szabályozókörnek a patológiájához tartozik a megfigyelés, miszerint a NAFLD emelkedett éhomi glukagonszinteket eredményez, amihez „glukagonrezisztencia" is társul (123–125). Újabban az aminosavak mellett a glükóz és lipidanyagcsere szerepét is felvetik a szabályozókörben (3. ábra) (126).



3. Ábra: A máj - α-sejt tengely betegség esetén (T2DM és NAFLD). Forrás: (126) Felhasználva: a Creative Commons Attribution International Licence alapján. https://creativecommons.org/licenses/

1.9 „Fatty pancreas", hasnyálmirigy elzsírosodás

Először Ogilvie írta le 1933-ban a hasnyálmirigy elhízással összefüggő elzsírosodását 19 obes elhunyt szövettani vizsgálata során (127). A korábban tárgyalt máj elzsírosodástól eltérően, ahol a zsírfelhalmozás a májsejtekben történik, a hasnyálmirigy esetén a lipid akkumuláció a szerv adipocyta infiltrációjának a következménye (4. ábra).



4. Ábra: Adipocyta infiltratio a hasnyálmirigyben.

Hivatkozás: (128) Felhasználva: A Creative Commons Attribution 4.0 International License http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/ alapján engedéllyel átvéve

A hasnyálmirigy területén kialakuló elzsírosodás egyik formája egyes szerzők szerint lehet úgynevezett zsíros kicserélődés, „fatty replacement" következménye, ahol valamilyen szövetkárosodás következtében, acináris sejtek pusztulását követően az eredeti szövetek helyét zsírszövet tölti ki (egy 2016-ban megjelent összefoglaló közlemény több lehetséges okát is taglalja: kongenitális betegségek, vas túlterhelés, gyógyszeres terápia, vírusinfekció, alkohol, krónikus májbetegségek, hasnyálmirigygyulladás, malnutritio, de ezek ismertetése szorosan nem tartozik a dolgozat témájához) (128). A vizsgálataink szempontjából kifejezettebb jelentősége lehet viszont az elhízáshoz és 2-es típusú cukorbetegséghez társuló, általánosságban a zsigeri szerveken is megfigyelhető zsíros infiltratio következtében kialakuló hasnyálmirigy elzsírosodásnak.

A hasnyálmirigy zsírtartalom/elzsírosodás mérésére, meghatározására többféle lehetőségünk áll rendelkezésre. Szövettani, patológiai módszerek hatékonyak ugyan, de in vivo jelentőségük csekély. Képalkotó módszerek közül az elzsírosodás jelenlétének becslése ultrahangos képalkotással lehetséges (hasi UH, endoszkópos ultrahang), de az ultrahang használhatósága a szerv területén, különösen obesitas esetén korlátozott, vizsgálófüggő és kvalitatív jellegű (128,129). CT/MR alapú módszerrekkel pontosabb mennyiségi meghatározás is lehetséges. Habár a CT általában jobban hozzáférhető és költségvonzata szerényebb, a máj lipidtartalom meghatározáshoz hasonlóan a pontosság és ionizáló sugárzás mentesség miatt az MR alapú módszerek kiemelhetők a hasnyálmirigy lipid meghatározásban is – különös tekintettel arra, hogy az MRS/MRI a hisztológiai és biokémiai megközelítésekkel összemérhető minőségű információt ad a pontos pancreas lipidtartalom meghatározásában (128–130).

A hasnyálmirigy elzsírosodásnak különböző „lokális" következményei lehetnek (pl. exokrin diszfunkció, heveny hasnyálmirigy gyulladás, hasnyálmirigy rák, hasnyálmirigy műtét utáni pancreatikus fisztula (128,131)). Bár jelentőségük nem lebecsülendő, mégis, az aktuális vizsgálataink szempontjából a „szisztémás", a szénhidrát-anyagcserét érintő következmények/társult patológia tűnnek jelentősebbnek. Az utóbbi években az irodalomban ezen hatások és hasnyálmirigy elzsírosodás kapcsolatának témájában számos vizsgálat eredménye jelent meg. A vizsgálatok heterogének mind a vizsgálat populációk, a vizsgálati módszerek és a végpontok tekintetében (a 2. táblázatban néhány, utóbbi években született, MR technikát alkalmazó vizsgálat eredményének a teljesség igénye nélkül történő összefoglalása látható).

A téma további vizsgálatához elengedhetetlen lenne egy nemzetközi konszenzuson nyugvó határérték meghatározás a normális intrapancreatikus lipidtartalom vonatkozásában. Ennek során feltétlenül szükséges lenne tisztázni olyan elemi kérdéseket, amelyek például az NAFLD vonatkozásában már ajánlás szintjén is meghatározásra kerültek (47,48):

- klinikai vizsgálatokban az MR a javasolt standard vizsgálómódszer,
- továbbá a NAFLD kockázatot és a populációs átlagértéket egyértelműen befolyásolja a betegek származása is,

- a pancreatikus lipidtartalomra és annak határértékére vonatkozóan az egyik metaanalízis 6,2%-s vágópontértéket javasolt (132), ugyanakkor, tudomásunk szerint a legnagyobb, átlagpopulációs, több, mint 2500 résztvevő (UK biobank (133)) MR vizsgálata alapján 10,1%-s median PTGC értéket talált. Kisebb vizsgálatok kontrollcsoportjaira vonatkozóan ettől eltérő közép- és szélsőértékeket is leírtak (lásd 2. táblázat).

A hasnyálmirigy lipidtartalom növekedés az elhízással kapcsolatos antropometriai jellemzőkkel (BMI (134–139), haskörfogat (134,136)) és a korral (135,139) volt arányos. A zsigeri zsírszövet mennyisége (134,137,138), a bőr alatti zsírszövet mennyisége (137,138) szintén azonos irányú összefüggést mutatott. Az ezek alapján várható kapcsolatot a máj és hasnyálmirigy elzsírosodásainak mértéke között viszont nem sikerült egybehangzóan igazolni: a vizsgálatok egy része meg tudta erősíteni (134,138,140,141), míg mások ugyanezt vizsgálva nem találtak kapcsolatot (139,142).

Az irodalomban elérhető adatok alapján felvetődött a hasnyálmirigy lipiddepozíciónak a cukorbetegséggel és ahhoz társuló, mérhető anyagcserejellemzőkkel való asszociációja. A 2. táblázatból is láthatóan (134,137–139,142,143) a T2DM és prediabetes fennállása esetén is magasabb lipidértékeket találtak a vizsgálatok döntő többségében (egyedül Kühn és munkatársai nem találtak eltérést (135)). A HbA_{1c}, mint a betegségspektrum (prediabetes/IFG, IGT is/ - manifeszt T2DM) szempontjából diagnosztikus marker és a PTGC között is leírtak kapcsolatot (134,139). A betegség létrejöttében kitüntetett az inzulin rezisztencia növekedése (134,140,141) és a β-sejt funkció romlása (136,142) és ezekkel a kórfolyamatokkal összefüggésben a diszpozíciós index csökkenése (137) is összefüggést mutattak a hasnyálmirigy elzsírosodásával.

A 2-es típusú cukorbetegség fő kockázati tényezője a BMI növekedése, a kórélettani változások tekintetében a bariátriai sebészeti beavatkozások előtti és utánkövetéses vizsgálatok egy különleges lehetőséget teremtenek („visszafelé forgatott film”) a különböző patofiziológiai változások vizsgálatára, így a hasnyálmirigy lipiddepozíció jelentőségének vizsgálatára is:

- Steven és munkatársai 27 kórosan obes beteget vizsgáltak bariátriai sebészeti beavatkozás előtt és után (143). 8 héttel a műtét után a cukorbeteg és nem cukorbeteg alanyok hasonló mértékű (13% vs 12%) BMI csökkenése mellett a

hasnyálmirigy lipidtartalom szignifikáns csökkenését a cukorbetegek esetén észlelték (6,6%-ról 5,1%-ra, ami megfelelt a nem diabeteses csoport műtét előtti értékének), az NGT csoportnál meglepő módon nem észleltek jelentős változást a lipidtartalom esetén. A korai inzulinválasz az NGT csoportban nem változott, a cukorbeteg csoportban viszont az NGT csoport értékeinek megfelelő szintre javult (érdekesség lehet, hogy általában a bariátriai műtétek inzulinválaszra kedvező hatásainak hátterében inkretin - elsősorban GLP-1 – hatást igazolták (144), a vizsgálat során az inkretin hormonok változásában nem találtak különbséget a két csoport között).

- Gaborit és munkatársai sovány, továbbá obes nem cukorbeteg és cukorbeteg személyeket vizsgált, az utóbbi 2 csoport résztvevői bariátriai sebészeti beavatkozáson is átestek (134). Ebben a vizsgálatban is a két obes csoport között BMI csökkenésben nem volt különbség, (25% és 23%), viszont a cukorbeteg csoportban 8-ból 5 esetben HbA_{1c} javulása alapján diabetes reverziója, 1 esetben jelentős terápia redukció volt észlelhető 6 hónappal a beavatkozás után. A hasnyálmirigy lipidtartalom BMI függeltenül is magasabbnak adódott a diabéteszes csoportban (műtét előtt: obes, T2DM: 23,8%; obes, NGT: 14%; kontroll: 7,5%), továbbá mindkét obes csoport hasnyálmirigy lipidtartalma a kontroll csoport szintjére csökkent, és a csökkentés mértéke nem korrelált a testsúlyvesztés mértékével (hasonlóan a máj lipidtartalom csökkenéséhez).
- Honka és munkatársai is 6 hónappal a beavatkozást követően kedvező metabolikus hatásokat észleltek (többek között a T2DM betegek közel 80%-nál a betegség remisszióját) (145).

2. Táblázat: A hasnyálmirigy lipidtartalom összefüggései a máj lipidtartalommal, a szénhidrát anyagcsere jellemző paramétereivel és az „egészségesek”/kontrollcsoportok középértékei különböző, korábban publikált vizsgálatokban

Vizsgálat (Szerző, irodalom)	Vizsgálati populáció elemszám (N=), összetétele	Képalkotás / lipid-meghatá-rozás	PTGC mint eredmény vagy kimenetel (anyagcsere-jellemzőkkel kapcsolat)	A “kontroll” csoport jellemzője, PTGC (%) középérték, (szórás)
Gaborit és mtsai (134)	45 (vékony n=13, obes n=13, T2DM n=19)	^{1}HMRS	PTGC magasabb a T2DM csoportban (BMI függetlenül) és szignifikánsan csökkent bariártiai sebészeti beavatkozást követően. PTGC és HTGC összefüggése. PTGC érték összefüggött: BMI-vel, haskörfogattal, VAT-tal, HOMA-IR, HbA_{1c}, éhomi glükóz és inzulinszintekkel, májenzim (γGT, GPT), és húgysav értékekkel, továbbá inverz módon HDL koleszterinnel	vékony (átlagos BMI: 21,6kg/m^2) egészséges önkéntesek PTGC:7,5% (± SE 0,9)
Steven és mtsai (143)	Obesitás miatt bariátriai műtéten átesettek: n=27 (ebből T2DM n=18, kor és BMI igazított csoportok)	MRI	Bariártiai műtét előtt a T2DM csoportban magasabb a PTGC. A T2DM csoportban az NGT csoport PTGC értékére csökkenés, párhuzamosan a korai inzulinválasz javulásával.	Kontroll csoport: NGT (átlagos műtét előtti BMI 41,3kg/m^2) PTGC: 5,1% (± SE 0,2)
Kühn és mtsai (135)	n=1367 (prediabéteszes n=431, nem gyógyszeresen kezelt	MRI	Az NGT, prediabéteszes és diabéteszes csoportok között nem volt PTGC-ben különbség. PTGC pozitívan korrelált: BMI-vel és korral, negatívan: szérum lipáz aktivitással	Kontroll csoport: NGT (median BMI: 25,4kg/m^2) PTGC (kor, nem, és BMI igazított): 4,5% (95% CI: 4,2% - 4,8%)

	diabéteszes n=70)			
Heni és mtsai (136)	n=51 (ebből IFG vagy IGT n=23)	MRI	PTGC a BMI-vel VAT-tal, és haskörfogattal arányosan nőtt. Csak az IGT vagy IFG csoportban a PTGC az inzulin szekrécióval fordítottan korrelált.	Kontroll: NGT (átlagos BMI: 29,6kg/m^2) PTGC: 7,4% (± SD 2,3)
van der Zijl és mtsai (137)	n=64 (IFG n=29, IFG/IGT n=19)	^{1}HMRS	PTGC magasabb volt sérült glükóz anyagcsere esetén (NGT<IFG<IFG/IGT) szemben a SAT és VAT értékeivel. A PTGC a korral, BMI-vel, éhomi glükózszinttel és trigliceriddel pozitív, míg HDL koleszterin és DI értékkel negatív korrelációban volt.	Kontroll: NGT (átlagos BMI:27,5 kg/m^2) PTGC: 7,6% (2,9 –13,4)
Patel és mtsai (140)	92 (ebből biopsziával igazolt NAFLD: n=43)	MRI	A PTGC és HTGC között szignifikáns a korreláció továbbá az inzulin rezisztencia és PTGC, illetve HTGC között.	Kontroll csoport: nincs NAFLD (átlagos BMI: 25,5kg/m^2) PTGC: 3,6%
Tushuizen és mtsai (142)	n=36 (ebből T2DM: n=12)	^{1}HMRS	T2DM csoportban PTGC magasabb volt. PTGC és HTGC között nem volt kapcsolat. Inverz korreláció a β-sejt funkció és PTGC között (a kontroll csoportban)	Kontroll: NGT csoport (átlagos BMI: 29,1kg/m^2) PTGC: 9,7%
Hannukkainen és mtsai (141)	n=16 (férfi egypetéjű ikerpárok)	^{1}HMRS	Szignifikáns pozitív korreláció a PTGC és HTGC között. PTGC és inzulin rezisztencia továbbá γGT értékek között is asszociáció. PTGC és adiponektin között asszociáció.	A vizsgálati populáció (BMI: 24,3-25,1kg/m^2): PTGC: 8-10%
Heber és mtsai (138)	n=385 (ebből prediabetes: n=95, T2DM: n=53)	MRI	PTGC szignifikánsan magasabb prediabetesben és T2DM-ben. Asszociáció a PTGC és BMI, továbbá HTGC között. Asszociáció a PTGC és SAT, VAT között.	NGT kontrollok (medián BMI: 26,2kg/m^2): PTGC: medián 4,9%

Kato és mtsai (139)	n=159 (biopsziával igazolt NAFLD)	MRI	Asszociáció: PTGC és kor, BMI, HbA_{1c} és T2DM jelenléte között. A PTGC és HTGC között nem igazoltak kapcsolatot.	Vizsgálati populáció (BMI: 28,1 kg/m^2) PTGC: nincs numerikusan megadva
Thomsen és mtsai (146)	T2DM, n=67	^{1}HMRS	nem volt	BMI: becsült: 33,4kg/m^2 PTGC: median 8,8% - 11,8%
Whitcher és mtsai (133)	n=2689 (UK Biobank), ebből DM (1+2) n=14+147, "metabolikus betegség" n=199, máj érintettség n=38	MRI	nem volt	Átlagpopuláció (UK Biobank) BMI nők: 25,8 kg/m^2, férfiak 26,6kg/m^2, PTGC: median: 10,1%
Hummel és mtsai (147)	n=40, T2DM (empagliflozin-trial)	MRI	nem volt	BMI 31,5kg/m2 PTGC: átlag: 7,1% - 10,3%

1.10 A NAFLD és a hasnyálmirigy elzsírosodás jelentősége 2-es típusú diabetes kialakulásában

A korábbi fejezetekben összefoglaltak alapján mind a máj, mind a hasnyálmirigy lipidtartalom (kóros mértékű) felhalmozása szoros kapcsolatban van a 2-es típusú cukorbetegség kialakulásával. A lipid akkumuláció ugyanakkor részben a BMI növekedésével páthuzamosan történik mindkét szervben.

A 2-es típusú cukorbetegség kialakulásában fontos folyamatok szempontjából újra összefoglalva a korábban (1.6, 1.8 és 1.9 fejezet) tárgyalt összefüggéseket:

- Inzulin rezisztencia: A máj lipidtartalom növekedése az IR növekedésével társul (50,55,148), a NAFLD és az IR kapcsolata annyira szoros, hogy kórosan magas IR index esetén NAFLD irányú kivizsgálást már nemzetközi ajánlás is javasolja (47,48), továbbá a HOMA-IR mérése MAFLD diagnózis részét képezi (cutoff értéke: 2,5) (44,45).

  Az inzulin rezisztenciát a máj mellett a hasnyálmirigy lipidtartalommal is összefüggésbe hozzák (134,140,141).
- Az éhomi hyperglukagonaemia T2DM-el szorosan asszociált (az „ominous octet" tagja), aminek szerepe van a hyperglykaemia kialakulásában (149,150) - GCGR-antagonisták vércukorcsökkentő hatását igazolták (151,152). A NAFLD és az éhomi hyperglukagonaemia kapcsolata talán még szorosabb: a magasabb glukagonszintekhez vélhetően következményesen társuló hepatikus glukagon-rezisztencia pedig a máj – α-sejt tengely és szabályozó kör megváltozásához vezet (122–126).
- β-sejt diszfunkció: Hasnyálmirigy lipidfelhalmozás és a β-sejt diszfunkció kapcsolatát korábbi vizsgálatokban igazolták (136,137,142,143). A rendkívül jelentős betegszámmal történt T2DM GWAS vizsgálatok egy fő, korai általánosabb érvényű konklúziója az volt, hogy a hajlamosító génvariánsok jelentős része a β-sejt diszfunkcióhoz asszociált (153).

A fent részletezett kapcsolatokat más szempontból, epidemiológiailag is igazolták, erre jó példa egy 6 éves utánkövetéses vizsgálat, amiben Yamazaki és munkatársai azt találták, hogy mind a máj, mind a hasnyálmirigy lipidtartalom növekedése BMI-re történő illesztés

után, attól részben függetlenül is a későbbi diabetes kialakulásra kockázatot jelentett (154).

1.11 *TCF7L2*, *WFS1*, *HSD11B1* génvariánsok

A *transcription factor 7 like 2* (*TCF7L2*) gén egy transzkripciós faktort kódol, mely a WNT szignáltranszdukciós útvonalon van szerepe. A hasnyálmirigy fejlődésében, a β-sejttömeg fenntartásában, érett β-sejtek szekréciós funkcióiban, inzulin termelésben és processzálásban, proglukagon gén expressziójában van jelentősége (155–157). Először 2006-ban írták le a kapcsolatát 2-es típusú cukorbetegség kialakulásával (158). Az rs7903146 intron variáns (*C* vs *T*) esetén a *T* allél hordozása jelenti a mai napig a legnagyobb T2DM-asszociált genetikai kockázatot (az esélyhányados („odds ratio", OR)=1,35) a számos ismert hajlamosító SNP közül (31,159). A kockázati *T* allél hordozókban kimutatták, hogy a hasnyálmirigy szigetsejtjeinek *TCF7L2* expressziója magasabb (155). A T2DM kockázat mellett kiemelendő éhomi és terhelés utáni (OGTT) 120' vércukorérték emelő hatása is (160). Európai populációban a rizikó *T* allél 32%-ban fordul elő (81).

A *wolframin ER transzmembrán glykoprotein* (*WFS-1*) gén egy elsősorban az endoplazmatikus retikulumban található transzmembrán fehérjét kódol, mely a sejt kalcium-tartalom szabályozásában vesz részt. Ritka, jelentős funkcióváltozással járó mutációja okozza a „Diabetes insipidus, Diabetes mellitus, Optic Atrophy, and Deafness" (DIDMOAD) recesszíven öröklődő betegséget. A misszensz, rs1801214 variáns (bár multiallélikus, de leggyakrabban *T*/*C*) minor *C* alléljáról igazolták T2DM kockázatcsökkentő hatását, az európai populációban 36%-ban fordul elő (81,161).

A *11β-Hydroxysteroid dehydrogenase type 1* (*HSD11B1,* vagy *11BHSD1*) gén által kódolt mikroszómális enzim a kortizol→kortizon átalakulást katalizálja. A gén hasnyálmirigyben betöltött szerepéről annyit tudunk, hogy a „disallowed", azaz olyan gének közé tartozik, amelyek expressziója a hasnyálmirigy α és β-sejtjeiben jelentősen alacsonyabb más szövetek sejtjeihez képest (162). Egyik intronikus variánssának, az rs4844880-nak (*T*/*A*) szerepét viszcerális obesitas és NAFLD kialakulásában leírták, a kockázati allél a *T* (163,164), mely európai populációban 84%-ban jelen van (81).

1.12 A genotípus alapú visszahívásos vizsgálati elrendezés (GBR) és előnyei

A már (előző, nagyobb genetikai vizsgálatból) ismert genotípus alapján történő célzott behíváson alapuló vizsgálati felépítésre a nemzetközi irodalomban a „Genotype-based recall (study design)" (GBR) (165,166) elnevezést használják. A GBR vizsgálati elrendezést kontrollált klinikai gyógyszervizsgálatokban is előszeretettel alkalmazzák, ugyanis előnye lehet a hagyományos randomizált kontrollált klinikai vizsgálatokhoz képest.

A GBR alapú vizsgálati felépítés nagy előnye a hagyományos vizsgálati felépítésekkel szemben, hogy genotípus-fenotípus asszociációk vizsgálatánál kis elemszámok esetén is jóval nagyobb statisztikai erőt biztosít az elemzésekben, tehát ugyanazon hatásnagyság vizsgálatához kisebb elemszám is elegendő. A statisztikai erőt a genetika és például terápia interakció vizsgálatánál más tényezők mellett jelentős mértékben módosíthatja a vizsgált variáns alléleloszlása. Kis allélfrekvencia esetén a vizsgálati populáció dúsítása a ritkán/ritkábban előforduló genotípust hordozó egyénekkel jelentősen növelheti a statisztikai erőt. Ezt jól tükrözik Atabaki-Pasdar és munkatársai (167) által végzett szimulációk, ahol 80% statisztikai erő eléréséhez szükséges elemszámokat vizsgálták és 6-10-szeres különbséget észleltek: kis, közepes és magas hiba esetén 20, 70, 300 vizsgálati elemszám elégséges volt GBR esetén szemben a konvencionális vizsgálati felépítéssel, ahol ugyanezen hibákhoz 200, 600, és 1800 elemszámok társultak.

2. Célkitűzések

Vizsgálatunk általános célkitűzése :

A máj és hasnyálmirigy lipidtartalom-növekedés, genetikai tényezők, a T2DM továbbá glükózanyagcsere és a metabolikus betegség szempontjából fontos anyagcsere-jellemzők közötti összefüggések vizsgálata.

Részletes célkitűzések:

1) A máj és hasnyálmirigy lipiddepozíciói kapcsolatának vizsgálata a zsírmáj kialakulására kockázatot jelentő *PNPLA3* rs738409 függvényében.
   a) Az intrahepatikus lipidtartalom nem invazív kvantitatív meghatározása .
   b) Az intrapancreatikus lipidtartalom nem invazív kvantitatív meghatározása .
2) A máj- és hasnyálmirigy lipidakkumulációk kapcsolatának vizsgálatát anyagcsereparaméterekkel összehasonlítani.
   a) Rutin klinikai jellemzők (éhomi plazma glükóz, és lipid anyagcserére jellemző paraméterek, májenzimek, további anyagcsere paraméterek) meghatározása).
   b) 75g OGTT során glükóz, inzulin és glukagon értékek , továbbá a T2DM kialakulásában résztvevő kórfolyamatok (inzulinrezisztencia, β-sejt diszfunkció) jellemzésére alkalmas éhomi és dinamikus indexek meghatározása.
3) A zsírmáj szempontjából legjelentősebb genetikai kockázati tényező, a *PNPLA3* rs738409 variáns hatásának a vizsgálata az intrahepatikus lipidakkumuláció és az anyagcseretényezők kapcsolatára.
4) A hasnyálmirigy lipidtartalom továbbá~~a~~ *TCF7L2*, *WFS-1* és *HSD11B1* variánsoknak a T2DM-hez vezető folyamatokra gyakorolt együttes hatásainak vizsgálata.

3. Módszerek

3.1 A vizsgálat felépítése

3.1.1 Vizsgálati terv

Egy nemzetközi, többcentrumos GDM-genetikai vizsgálatban (77) résztvevő, 2-es típusú cukorbetegség kialakulására magas kockázatú magyar anyákat 3-5 évvel a szülést követően célzottan hívtunk vissza a jelenlegi vizsgálatba. A vizsgálatba történő visszahívás alapja a korábbi genetikai asszociációs vizsgálat során létrejött genetikai adatbázis volt, a *PNPLA3* rs738409 genotípus alapján.

3.1.2 A genotípus alapú visszahívásos vizsgálat (GBR) szempontjai

Ismert genetikai adat birtokában genotípus alapú, célzott beteg/személy bevonásra lehetőségünk nyílt. A GBR vizsgálati felépítés lehetőséget ad arra, hogy csak a két *PNPLA3* rs738409 homozigóta csoportot (*CC* vs *GG*) közvetlenül hasonlítsuk össze, így maximalizálva a vizsgálat statisztikai erejét. Tekintettel a limitáltabb erőforrásokra és a korábbi vizsgálatban (77) már felépített GDM genetikai adatbázis adta különleges, az Egyetemen elérhető lehetőségekre a fenti szempontok miatt a GBR vizsgálati tervezéssel végeztük el a kutatást.

3.1.3 Genotípizálás a korábbi vizsgálatban

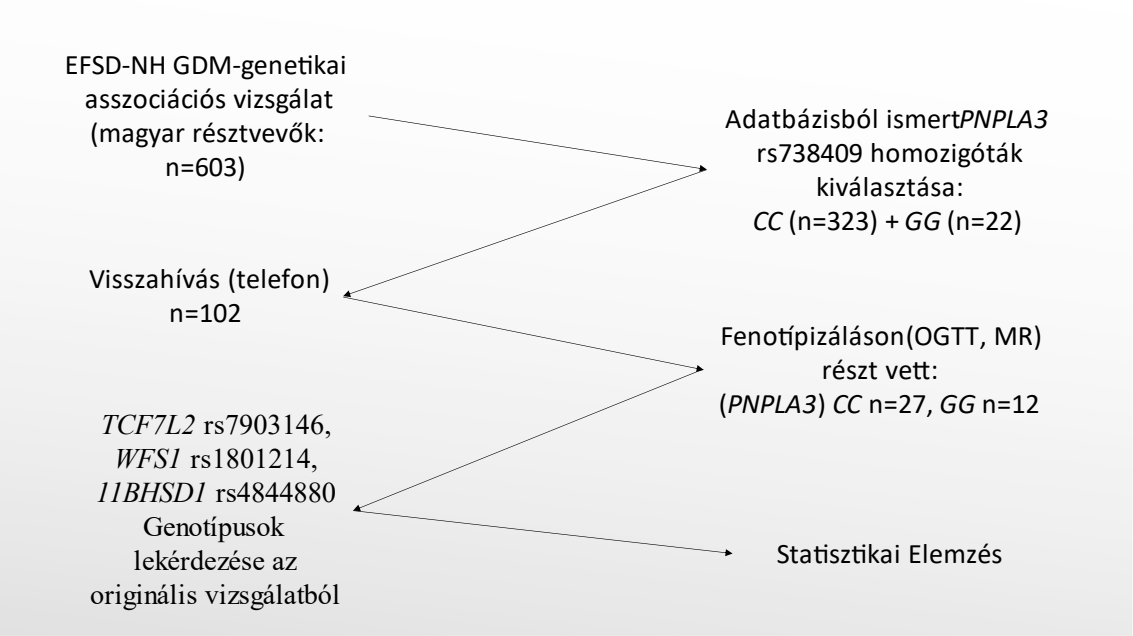
Az EFSD GDM-asszociációs vizsgálat során EDTA-val antikoagulált vérből mágneses gyöngy alapú robotizált módszerrel történt a genomikus DNS kinyerése (Hamilton Robotics, Magna Starlet, Bonaduz, Switzerland) (77). Az SNP-k biallélikus diszkriminációját FRET alapú PCR technika, KASP™ (LGC Genomics, Teddington, Middlesex, UK) segítségével valósítottuk meg. A kinyert genotípus adatokat SNP2 viewer (Version 4.0.0, Hoddesdon, UK) szoftverrel jelenítettük meg (77).

3.1.4 Résztvevők, behívás

A korábbi vizsgálatból (77) több, mint 600 magyar anya genotípus adataihoz (77 génvariáns, SNP) volt hozzáférésünk. Első lépésként a *PNPLA3* rs738409 variáns ismert homozigóta genotípusú személyeket azonosítottunk a genetikai adatbázisban

vizsgálathoz: *CC* n=323 és *GG* n=22. Ebből mintegy 102 személy telefonos megkeresésére volt lehetőség. A behívás során a genotípus adatok mellett a kórelőzményben szereplő GDM jelenlétét is figyelembe vettük (GDM anamnezisre illesztett csoportok). A 3.1.4 pont alatt részletezett kizárási feltételek megléte esetén, vagy a korábbi vizsgálati beleegyezés visszavonása miatt a jelenlegi vizsgálatba végül összesen 39 személy bevonására volt lehetőség. Az így bevont anyák átlagosan 3,5 évvel az index terhességüket követően voltak, genotípus csoportok megoszlása a következők szerint alakult: *CC* n=27 és *GG* n=12, korábban GDM terhessége 22 személynek volt, ők átlagosan 6,1 évvel az első GDM terhességüket követően kerültek a vizsgálatba (az itt eltelt időnél nem mindig az index terhességet vettük figyelembe, hanem az első GDM manifesztációt).

A vizsgálat felépítését folyamatábrán is bemutatom (5. ábra)



5. Ábra: Folyamatábra a vizsgálat felépítéséről

3.1.5 Kizárási feltételek

Az eredeti GDM-genetikai vizsgálati fázis kizárási feltételeit a részletesen a hivatkozott közlemény tartalmazza (77). Az ott felsoroltak mellett a jelenlegi vizsgálatban további kizárási kritériumok is alkalmazásra kerültek: terhesség óta diagnosztizált definitív

diabetes mellitus, ami a vizsgálatban szükséges 75g OGTT ellenjavallatát képezte volna; claustrophobia, MR inkompatibilis fém implantátum, 200 kg feletti testtömeg, derék/csípőkörfogat ≥135/148cm, glykémiás-, lipid statuszra, máj triglicerid tartalom (HTGC) értékre hatással rendelkező gyógyszer szedése, jelentős alkohol fogyasztás (>20g/nap), ismert rosszindulatú betegség a kórelőzményben, zsírmájjal társuló állapotok ((45,47,48) vírus infekció: HIV, HBV, HCV autoimmun hepatitisz, örökletes májbetegségek, gyógyszer indukálta májkárosodás), továbbá súlyos akut/krónikus megbetegedés, aktuális várandósság és szoptatás.

3.2 Fenotípizálás:

Az önkéntes résztvevőket, korábban részletezett genotípus információ kinyerését követően, annak alapján célzottan a következő lépcsőben fenotípizálásra hívtuk be a vizsgáló helyre.

3.2.1 Klinikai anamnezis-GDM reklasszifikáció, antropometriai adatok

Részletes klinikai anamnezis felvételére került sor, részben a kizárási kritériumok miatt, részben pedig a GDM reklasszifikációja céljából. Tekintettel arra, hogy a vizsgálat második fázisa az elsőt 3-5 évvel később követte, szükség volt az eredeti GDM - nem GDM csoportosítás felülvizsgálatára minden visszahívott esetén (amennyiben a vizsgálat 2 fázisa között újabb, GDM terhessége volt, akkor az eredeti beosztástól függetlenül a GDM csoportba került át). /A GDM diagnózis tekintetében az 1999-s módosított WHO kritériumokat alkalmaztuk (15). /

Életkor, testtömeg, testmagasság, derék- és csípőkörfogat, továbbá vérnyomás megmérésére is sor került. A fenti adatokból BMI és derék/csípőkörfogati arányt számoltunk.

3.2.2 Klinikai laboratóriumi vizsgálatok, 75g OGTT, glükóz- és inzulinmeghatározás

Az előírásoknak megfelelően 10 órás éhezést követően reggel éhomi vérvételre és ujjbegyből történt előzetes vércukormeghatározást követően rutin, 75g OGTT-re került sor. Az OGTT során 0’, 30’ és 120’ időpontokban történt mintagyűjtés.

*Az éhomi vérmintából klinikai laboratóriumban rutin vérvizsgálatok elvégzésére került sor (Beckmann Coulter AU5800 platformon, nemzetközi elfogadott protokollok szerint). Ezek közül kiemelhető a szérumból májenzimek (GOT/ASAT, GPT/ALAT, γGT, ALP), lipidfrakciók (Tg, összkoleszterin, LDL, HDL), húgysav, CRP, albumin, plazmából HbA_{1c}, szintek meghatározása.

Az OGTT során mindhárom időpontban plazmából (EDTA+fluorid) glükóz (PG) és szérumból inzulinszint meghatározás történt (klinikai laboratóriumban rutin ellátásban használt módszerrel, inzulinmérés: Liaison platformon).

3.2.3 Prediabetes és diabetes mellitus klasszifikációja

A hatályos, érvényben lévő magyar és nemzetközi ajánlások alapján éhomi és OGTT 120' plazma glükóz értékek, továbbá HbA_{1c} érték alapján történt a normál glükózanyagcsere (NGT), prediabetes, azon belül is emelkedett éhomi vércukor (IFG), csökkent glükóztolerancia (IGT), és a (2-es típusú) cukorbetegség állapotok elkülönítése (14,18,19). A diagnosztikus határértékeket az aktuális ajánlásoknak megfelelően alkalmaztuk: NGT: 0'PG≤6,0mmol/l, 120'PG<7,8mmol/l, HbA_{1c}≤5,6%; IFG: 0'PG=6,1-6,9mmol/l, 120'PG<7,8mmol/l; IGT: 0'PG≤7,0mmol/l, 120'PG=7,8-11,0mmol/l; prediabetes HbA_{1c}=5,7-6,4%; diabétesz mellitusz: 0'PG≥7,0mmol/l, 120'PG≥11,1mmol/l, HbA_{1c}≥6,5%. A klasszifikáció egyúttal azon résztvevők tekintetében, akiknek GDM-el szövődött terhességük volt, a javasolt követést, re-klasszifikációt is biztosította.

3.2.4 Inzulin és glükóz koncentrációból származtatott indexek

Éhomi, steady-state körülményeket jellemző inzulin rezisztencia és inzulin szekréciós/β-sejt funkció helyettesítő markereit: a HOMA2-IR és a HOMA2-B értékeket az erre a célra szolgáló kalkulátor segítségével határoztuk meg (23,168). Továbbá az OGTT lehetőséget adott „dinamikus paraméterek" meghatározására is: Matsuda index, $AUC_{inzulin}/AUC_{glükóz}$ (25,169). Az inzulin rezisztencia/szenzitivitási és inzulin szekréciós indexek segítségével diszpozíciós indexek meghatározása is megtörtént (DI_{basal}= HOMA2-B*[1/HOMA2-IR] (170), ISSI-2= Matsuda* [$AUC_{inzulin}/AUC_{glükóz}$]) (169). A trigliceride-glükóz index (TyG) index számításánál a következő képletet használtuk: TyG = ln[Tg(mg/dl) *glükóz(mg/dl)/2] (24,171,172).

3.2.5 Plazma glukagon szint meghatározás

Az OGTT során 0’ és 30’ mintavétel során prezervációs cső (9 ml EDTA, Protease Inhibitor coctail (Sigma Aldrich), szitagliptin) segítségével létrehozott plazmát Eppendorf csőben -80°C-on fagyasztva tároltunk, majd EURIA-glucagon kit (Eurodiagnostica, RB 310 RUO) használatával történt a koncentráció meghatározása klinikai laboratóriumban.

Korai glukagonválaszt az éhomi és 30’ plazma glukagon szintek különbségével határoztuk meg: $\Delta glukagon = glukagon_{30'} - glukagon_{0'}$.

3.2.6 Máj és hasnyálmirigy lipidtartalom meghatározás

Az intrahepatikus és intrapancreatikus lipid felhalmozás meghatározására nem invazív mágneses rezonancia (MR) alapú technikák segítségével került sor 3 T Prisma készüléken (Siemens Healthineers, Erlangen, Germany), hátonfekvő heyzetben. Standard flexibilis 18 csatornás test-tekercset helyeztünk a máj és hasnyálmirigy régiót lefedve, a beteg háta alatt lévő- ágyba épített- gerinctekerccsel kiegészítve. A proton sűrűséghez képesti lipidtartalom (lipid arány, PDFF) érték meghatározása kontrasztanyag adása nélkül alacsony gerjesztési szögű, 2D axialis grádiens-echo multi-echo (TE=2,4.1,6.2,8.2,10.2 and 12.3 ms) szekvenciával készült szeletek alapján történt. A repetíciós időt és a gerjesztési szöget úgy választottuk, hogy a T1 súlyozási hatásokat elkerüljük: TR: 15 ms; Gerjesztési-szög: 11°; FOV =síkon belül 240x400 mm; képmatrix felbontás = 240 × 130; szeletszélesség = 3.5 mm, szeletek közötti rés: 4.3mm.

Fázis és magnitudó képeket is elmentettük. Saját magunk által írt MATLAB kóddal többszeletes lipidfrakciót kódoló PDFF térképeket készítettünk a nyers képekből az adatgyűjtés után a mágneses inhomogenitás, víz és lipidfrakció térképek együttes számításával. A módszer a hat-echo FLASH szekvenciás képek jeleinek komplex modellezésén alapszik, hasonlóan a modern több echo-időn alapuló több-pontos DIXON/IDEAL algoritmusokhoz (a T2* relaxáció és több lipid csúcs/frekvencia figyelembevételével) (173). ROI definícióhoz a hasnyálmirigy és máj szövethez tartozó voxeleket tapasztalt radiológus rajzolta körbe egy szabadkézi rajzeszközzel a többszeletes PDFF képeken a kérdéses kontúrvonalú széli részek, erek, pancreas-vezeték, epevezeték műtermékek kihagyásával (makroszkopikus zsír infiltratio). Minden alanyban a ROIhoz

tartozó voxelek átlagos értékét számoltuk ki, mely a teljes máj / hasnyálmirigy lipidtartalmát reprezentálta (174).

3.2.7 MAFLD klasszifikációja

MR vizsgálattal 5,5%-t meghaladó máj lipidtartalom esetén zsírmáj diagnózisa felállítható (47,48). A zsírmáj kimutatása és további eltérések bármelyikének: túlsúly/obesitas, 2-es típusú cukorbetegség, metabolikus abnormalitások (a felsoroltak közül legalább kettő: derékbőség>88cm, vérnyomás>130/85Hgmm és vagy antihypertenzív gyógyszeres terápia, triglicerid>1,7mmol/l/terápia, HDL<1,3mmol/l és vagy lipidcsökkentő terápia, prediabetes, HOMA-IR≥2,5, CRP>2mg/l) megléte esetén mondható ki a MAFLD nemzetközi szakértői panel által javasolt diagnózisa (45).

3.2.8 Máj fibrosis nem invazív becslése

Vizsgálatunkban a máj szövettani vizsgálatára nem került sor, emiatt, tekintettel arra, hogy a fibrosis jelenléte az egyik fő meghatározó a májbetegség hosszú távú kimenetelére, előrehaladott fibrosis jelenlétének becslésére nemzetközi ajánlás által is javasolt becslő nem invazív pontrendszerek meghatározására került sor (FIB-4 és NAFLD fibrosis score [NFS]) (47,48,175,176).

3.3 További génvariánsok hatásának vizsgálata

A klinikai (fenotípus) adatokat a már korábban is rendelkezésre álló *PNPLA3* rs738409, *TCF7L2* rs7903146, *WFS1* rs1801214 és *11BHSD1* rs4844880 genotípus adatokkal vetettük össze az elemzés során.

3.4 Statisztika

A vizsgálat felépítése alapján lehetőség nyílt több szempont szerint alcsoport elemzéseket végezni. A behívás alapján genetikai alapú (*PNPLA3* rs738409 *CC* vs *GG* homozigóta) csoportokat, GDM anamnézis alapú csoportokat tudtunk kialakítani. A vizsgálat során nyert adatok: BMI (normál:<25kg/m^2, 25kg/m^2≤túlsúly<30kg/m^2, elhízás≥30kg/m^2), NGT vs prediabetes/diabetes fennállása és MAFLD jelenléte alapján még további csoportok kialakítására is lehetőségünk nyílt. A fentieken túl az adatelemzéshez a *TCF7L2* rs7903146; *WFS1* rs1801214; *11BHSD1* rs4844880 variánsok esetén a minor allél hordozó vs maior allél homozigóta genotípus bontást alkalmaztuk (minor allél vonatkozásában domináns modell).

Minden változó esetén az eloszlást vizsgáltuk (normaliltástesztek: Kolomogorov-Szmirnov, Shapiro-Wilk), azonban a viszonylag kis vizsgálati elemszám és populáció szinten ismert nem normál eloszlást mutató változók (pl. májenzimértékek, máj lipidtartalom) miatt nem paraméteres teszteket alkalmaztunk. Csoportok közötti különbségek kimutatása céljából Kruskal-Wallis és Mann-Whitney teszteket alkalmaztunk. Adatsorok közötti összefüggés vizsgálatára a Spearman rank order (SRO) tesztet használtuk. Lineáris regressziós modellt segítségével végeztünk interakció elemzést.

Többszörös tesztelés mellett az elsőfajú hiba csökkentése céljából a hamis felfedezési arány („false discovery rate", FDR) kontrolljára Benjamini-Hochberg féle p-korrekciót használtunk. A folytonos adatokat átlag (±SD), vagy median (25 és 75 percentilis), a megszámlálható adatokat n (n/n_{teljes}, vizsgálati populáció %-ban) formában írtuk le. Bemutatásra táblázat, oszlopdiagram és szórásdiagram formát is használtunk.

A GBR felépítés és a korábbi vizsgálati fázisban minden vizsgált génvariánsra teljesülő Hardy-Weinberg equilibrium miatt az utánkövetés során nem ismételtük meg vizsgálatát.

Az elemzések TIBCO Statistica (13.4.0.14, TIBCO Software Inc.) és R (4.0.4, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2021) szoftverek segítségével készültek.

3.5 Etikai engedély

A vizsgálatot a Helsinki Bizottság megfogalmazott irányelvei szerint végeztük. A vizsgálatot a Semmelweis Egyetem Tudományos Etikai Bizottsága (SE TUKEB) és az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (ETT-TUKEB) is engedélyezte (14486-6/2017/EKU, utolsó módosítás: 2017 november 29).

A résztvevők minden esetben már korábban írásos beleegyező nyilatkozatot tettek a GDM-genetikai asszociációs vizsgálati szakban. A nyilatkozat a jelenlegi követéses vizsgálati szakaszt külön nevesítette és arra is érvényes volt. Az adatok tárolása és elemzésnél felhasználása (mind a genetika, mind a fenotípus adatok) anonimizált formában történt.

4. Eredmények

4.1 A vizsgált populáció jellemzése

A vizsgálatunkban részvevők legfontosabb klinikai jellemzőit bevonáskor a 3. táblázatban foglaltuk össze.

3. Táblázat: A vizsgált populáció klinikai jellemzői bevonáskor

	Átlag (SD) vagy n/n
Kor (év)	37,2 (4,8)
BMI (kg/m^2)	28,2 (6,8)
Kóros BMI kategória (túlsúly + obesitás)	61,5%
Index terhesség óta a vizsgálatba bevonásig eltelt idő (év, teljes vizsgálati populációra vonatkoztatva)	3,5 (1,3)
Az első GDM-el szövődött terhesség és a bevonás között eltelt idő (év, csak pGDM csoport)	6,1 (4,4)
pGDM/teljes vizsgálati populáció	22/39
PNPLA3 rs738409 genotípus eloszlása: *CC*/*GG*	27/12

A fenotípizálást követően a 4. táblázatan foglaltuk össze a vizsgált populáció további, legfontosabb jellemzőit.

4. Táblázat: A teljes vizsgálati populáció jellemzői a fenotípizálást követően

	n/n vagy átlag (SD)
T2DM+prediabetes* / NGT	14* / 25
Kóros HOMA-IR (>2,5) / teljes vizsgálati populáció	19 / 39
HOMA-B (%)	154 (81.9)
MAFLD -vel rendelkezők száma / teljes vizsgálati populáció	14 / 39
Kóros FIB-4 (≥1,45) / teljes vizsgálati populáció	0 / 38
NFS kategóriák (<-1,455 / ≤-1,455<0,675 / ≥0,675)	34 / 5 / 0

Lipidcsökkentő, vagy antidiabetikus terápia / össz vizsgálati populáció	0/39

*T2DM: 1; Prediabetes: OGTT-vel diagnosztizált IFG / IGT / IGT+IFG: 1 / 7 / 0, prediabetes OGTT-vel nem, csak HbA_{1c} kritérium alapján: 5

NGT: normál glükóz tolerancia, T2DM: 2-es típusú cukorbetegség, HOMA: homeostasis model assessement, FIB-4: fibrosis 4 (index), NFS: NAFLD fibrosis score

A pGDM- és a korábbi terhesség alatt NGT csoportok között egyedül a 120' PG érték tért el (medián: 1,05mmol/l-el magasabb), a 120' inzulinértéknél és az ISSI-2-nél trendszintű emelkedés volt megfigyelhető. A többi vizsgált paraméter tekintetében szignifikáns eltérést nem észleltünk, ennek ellenére kiemelendő a pGDM populációban a numerikusan magasabb arányú, de csak trendszinten megjelenő (p=nem szignifikáns) szénhidrát anyagcserezavar és NAFLD jelenléte (5. táblázat).

5. Táblázat: A vizsgálati populáció adatai GDM anamnézis szerint csoportosítva

	Nincs GDM az előzményben n=17	**GDM az előzményben n=22**	p
Kor (év)	36,00 [32,00-40,00]	37,50 [35,00-40,00]	0,430
BMI (kg/m^2)	25,60 [21,88-31,59]	28,31 [23,13-34,78]	0,250
W/H	0,88 [0,83-0,93]	0,92 [0,80-0,94]	0,860
HTGC (%)	3,50 [2,75-8,78]	4,70 [3,18-7,94]	0,490
PTGC (%)	8,16 [6,31-9,83]	8,08 [5,13-12,63]	0,820
GOT (U/l)	22,00 [20,0-23,0]	20,50 [17,00-25,00]	0,680
GPT (U/l)	19,00 [14,00-22,00]	18,00 [14,00-24,00]	0,790
γGT (U/l)	17,00 [15,00-24,00]	23,00 [13,00-28,00]	0,320
ALP (U/l)	70,00 [58,00-93,00]	84,00 [61,00-104,00]	0,280
FIB-4	0,76 [0,61-0,98]	0,65 [0,54-0,73]	0,080
NFS	-2,455 [-2,971 - -1,693]	-3,014 [-3,985 - -1,818]	0,180
TG (mmol/l)	0,89 [0,74-1,27]	1,02 [0,82-1,37]	0,230

Összkoleszterin (mmol/l)	5,00 [4,70-6,00]	5,50 [4,80-5,90]	0,410
LDL(mmol/l)	3,23 [2,98-4,13]	3,66 [3,28-4,06]	0,400
HDL(mmol/l)	1,41 [1,12-1,62]	1,24 [1,13-1,50]	0,570
$PG_{0'}$ (mmol/l)	5,10 [4,90-5,30]	5,20 [5,00-5,50]	0,490
$PG_{30'}$ (mmol/l)	8,10 [6,70-8,90]	8,20 [6,80-9,40]	0,540
$PG_{120'}$ (mmol/l)	**5,50 [5,10-5,80]**	**6,55 [5,80-8,00]**	**0,010**
$Inzulin_{0'}$ (µU/ml)	11,02 [7,24-16,64]	11,60 [8,54-15,90]	0,520
$Inzulin_{30'}$ (µU/ml)	63,42 [47,01-103,00]	59,20 [40,57-105,00]	0,660
$Inzulin_{120'}$ (µU/ml)	43,59 [19,23-76,13]	73,40 [47,31-100,50]	0,060
HbA_{1c} (%)	5,40 [5,20-5,55]	5,50 [5,20-5,70]	0,410
$Glukagon_{0'}$ (pmol/l)	32,55 [28,17-37,26]	33,13 [29,73-43,67]	0,450
$Glukagon_{30'}$ (pmol/l)	30,21 [26,24-37,26]	32,63 [28,08-40,55]	0,280
Korai glukagon válasz‡	-1,60 [-6,84 – 1,95]	-2,03 [-5,29 – 1,13]	0,770
Matsuda index	4,30 [3,01-7,56]	3,94 [2,71-5,65]	0,400
HOMA2-IR	1,41 [0,96-2,15]	1,50 [1,20-2,00]	0,540
HOMA2-B	107,30 [90,90-137,70]	125,40 [91,40-148,30]	0,500
DI_{basal}	55,14 [47,17-65,60]	50,90 [40,91-60,00]	0,490
$AUC_{Inzulin}/AUC_{glükóz}$	8,00 [5,41-11,73]	7,38[5,98-11,01]	0,854
ISSI-2	39,28[33,53-41,25]	32,59[25,75-38,40]	0,087
MAFLD (n/n) §	5 (29,4%)§	9 (40,9%)§	0,344
Prediabetes/ diabetes (n/n) §	4 (23,5%)§	10 (45,5%)§	0,190
CRP (mg/l)	4,10 [1,30-9,90]	3,10 [1,15-9,25]	0,870

A folytonos változók medián és 25-75 percentilis (Q1-Q3) formájában kerültek leírásra. Mann-Whitney U teszttel történt az összehasonlítás.

‡: $Glukagon_{30'}$-$Glukagon_{0'}$

§ A kategórikus adatokat n/n_{total} formában, százalékban kifejezve adtuk meg. Fisher's exact tesztet használtunk csoportok közötti különbség vizsgálatára

Rövidítések: area under the curve (AUC), testtömeg index (BMI), disposition index basal (DI_{basal}), fibrosis 4 (FIB-4), homeostasis model assessment (HOMA), máj triglicerid tartalom (HTGC), insulin secretion-sensitivity index 2 (ISSI-2), metabolikus diszfunkció asszociált zsírmáj (MAFLD), NAFLD fibrosis score (NFS), plazma glükóz (PG), hasnyálmirigy lipidtartalom (PTGC), derék-csípő hányados (W/H)

4.2 A vizsgált génvariánsok előfordulása magyar populációban és eloszlása a vizsgálati populációban

A 6. táblázatban a vizsgálat első fázisából származó genotípizálási adatok alapján a minor allél frekvenciákat tüntetjük fel a *PNPLA3* rs738409, *TCF7L2* rs7903146, *WFS1* rs1801214, *11BHSD1* rs4844880 variánsokra vonatkozóan (77). A Magyarországon ezen adatok alapján becsülhető MAF értékek korábbi, nemzetközi vizsgálat (81) európai populációra vonatkozó adataival nagyfokú egyezést mutatnak. A *PNPLA3* variáns esetén az eloszlást a bevonás befolyásolta (utalva vizsgálat felépítésére, a populáció jellemzőire), a többi variáns esetén az eloszlásukat a velük közölt eredményekkel együtt is megadjuk (4.9 fejezetben).

6. Táblázat: A vizsgálatban elemzésre került egypontos génvariánsok minor allélfrekvenciái a megelőző a GDM-genetikai asszociációs vizsgálat alapján

SNP azonosító	Gén elnevezése (HGNC rövidítés)	MAF IADPSG -eset	MAF IADPSG - kontroll	MAF m99' WHO -eset	MAF m99' WHO-kontroll	Teljes study-populá-ció	MAF EU populáció-ban („1000 Genomes" adatai)	Minor allél / major allél
rs738409	*PNPLA3*	0,21	0,224	0,212	0,222	0,22	0,23	*G / C*
rs7903146	*TCF7L2*	0,334	0,304	0,349	0,297	0,313	0,32	*T / C*
rs1801214	*WFS1*	0,365	0,349	0,344	0,358	0,354	0,36	*C / T**
rs4844880	*HSD11B1*	0,206	0,16	0,2	0,163	0,175	0,16	*A / T*

*Multi-allélikus, de a vizsgálati populációban csak a *T* és *C* allélok fordultak elő

Rövidítések SNP: egypontos génvariáns („single nucleotide polymorphism”), HGNC: („Human Genome Organisation [HUGO] Gene Nomenclature Committee”), IADPSG („International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups”)

Referencia: (77) alapján, engedéllyel átvéve, módosítva a Creative Commons Attribution 4.0 International License alapján, http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

4.3 A BMI és a máj lipid depozíció kapcsolata

Az obesitas és a máj zsírosodása közötti már ismert szoros kapcsolatot vizsgálatunk során meg tudtuk erősíteni: a HTGC és a BMI között szignifikáns korreláció volt (R=0,68, $p=2*10^{-6}$). A has-csípőkörfogat hányadosa (W/H) esetén a HTGC-vel csak trendszintű kapcsolatot találtunk (R=0,32, p=0,062). A HTGC (a várakozásoknak megfelelően) az életkorral nem korrelált (R=-0,02, p=0,92).

4.4 Máj lipidtartalom növekedés kapcsolata anyagcsere jellemzőkkel

A máj lipidfelhalmozódás és számos metabolikus jellemző között szoros szignifikáns kapcsolat igazolható: az OGTT során mind a 0’, 30’ és 120’ PG és ugyanezen időpontok inzulin értékeivel. Az inzulinrezisztencia-indexekkel (HOMA2-IR és TyG), éhomi glukagonszinttel, szérum triglicerid és húgysavszinttel ugyancsak direkt korreláció mutatkozott, továbbá negatív korreláció volt igazolható a Matsuda indexszel, HDL értékkel és a korai glukagon-válasszal. A 7. táblázatban a korrelációs elemzések eredményeit tüntetjük fel.

7. Táblázat: A máj lipidtartalom és anyagcsere paraméterek kapcsolata

	R	p
$PG_{0'}$ (mmol/l)	**0,51**	**$8,38*10^{-4}$**
$PG_{30'}$(mmol/l)	**0,47**	**0,002**
$PG_{120'}$(mmol/l)	**0,50**	**0,001**
$seInzulin_{0'}$ (µIU/ml)	**0,66**	**$4,10*10^{-6}$**
$seInzulin_{30'}$ (µIU/ml)	**0,52**	**$7,27*10^{-4}$**

seInzulin$_{120'}$ (µIU/ml)	**0,51**	**8,83*10^{-4}**
HOMA2-IR	**0,69**	**1,43*10^{-6}**
TyG index	**0,36**	**0,025**
Matsuda index	**-0,72**	**2,41*10^{-7}**
plGlukagon$_{0'}$	**0,57**	**1,32*10^{-4}**
plGlukagon$_{30'}$	**0,34**	**0,037**
Korai glukagon válasz*	**-0,35**	**0,027**
seTG	**0,32**	**0,044**
seHDL	**-0,49**	**0,005**
seHúgysav	**0,51**	**0,001**

*Számítása: plGlukagon$_{30'}$-plGlukagon$_{0'}$

4.5 *PNPLA3* rs738409 génvariáns hatása

A *PNPLA3* rs738409 homozigóta csoportok között szignifikáns különbség a máj lipidtartalomban volt igazolható, hozzávetőleg 3-szoros lipidtartalommal jelent meg a kockázati homozigóta csoport. A májenzimekben csak a genotípusoknak megfelelő numerikus (p=ns) eltéréseket észleltünk, az éhomi, hepatikus inzulinrezisztenciára jellemző HOMA2-IR emelkedés csak trendszintű, a következményes HOMA2-B növekedés pedig szignifikáns mértékű volt. Hasonlóan, dinamikus inzulin szenzitivitási indexnél (Matsuda-index) is megfigyelhető trendszintű csökkenés a *GG* csoportban mérsékelt, trendszintű emelkedéssel az inzulinszekréciós indexben ($AUC_{inzulin}/AUC_{glükóz}$). A vizsgált fibrosis indexek tekintetében – ebben a fiatal/középkorú populációban – eltérés még nem mutatkozott. Az eredményeket a 8. táblázatban foglaltuk össze. Az eredmény -habár nem új- elsősorban úgy interpretálható, hogy magyar vizsgálati populációban elsőként erősíti meg az irodalomban lényegesen nagyobb elemszámon közölt eredményeket.

8. Táblázat: anyagcserejellemzők *PNPLA3* rs738409 genotípus szerint

	***CC* (n=27)**	***GG* (n=12)**	p
Kor (év)	38,00 [36,00-40,00]	35,00 [34,00-38,00]	0,143
BMI (kg/m^2)	25,60 [21,88-32,01]	30,50 [24,81-32,79]	0,338

W/H	0,89 [0,80-0,92]	0,93 [0,87-0,96]	0,139
HTGC (%)	**3,50 [2,44-5,85]**	**11,40 [3,80-19,12]**	**0,010**
PTGC (%)	8,51 [4,6-12,53]	7,21 [6,02-9,75]	0,819
GOT (U/l)	21,00 [19,00-25,00]	22,00 [17,00-26,00]	0,821
GPT (U/l)	17,00 [13,00-22,00]	20,5 [15,00-28,00]	0,120
γGT (U/l)	17,00 [14,00-27,00]	23,50 [13,50-29,00]	0,474
ALP (U/l)	76,00 [60,00-102,00]	78,00 [58,50-90,00]	0,796
FIB-4	0,72 [0,58-0,86]	0,63 [0,54-0,77]	0,520
NFS	-2,500 [-3,468 - -1,693]	-2,762 [-4,003 - -1,804]	0,616
HOMA2-IR	1,31 [0,95-2,03]	1,81 [1,30-2,49]	0,107
HOMA2-B	**108,1 [84,60-137,70]**	**137,45 [113,05 – 179,15]**	**0,040**
DI_{basal}	50,90 [47,17-65,60]	57,57 [40,91-62,80]	0,691
Matsuda	4,78 [3,01-7,56]	3,51 [2,49-4,26]	0,097
$AUC_{Inzulin}/AUC_{glükóz}$	6,79 [5,78-11,00]	10,54 [7,33-12,47]	0,061
ISSI-2	35,64 [27,83-41,22]	32,45 [26,33-44,03]	0,533
$PG_{0'}$ (mmol/l)	5,20 [4,90-5,30]	5,10 [4,95-5,50]	0,713
$PG_{30'}$ (mmol/l)	8,00 [6,70-9,20]	8,80 [7,30-9,60]	0,266
$PG_{120'}$ (mmol/l)	6,00 [5,20-7,40]	5,90 [5,45-7,70]	0,749
$Inzulin_{0'}$ (µU/ml)	10,20 [7,24-15,90]	14,03 [9,68-19,58]	0,124
$Inzulin_{30'}$ (µU/ml)	55,00 [40,57-98,51]	87,97 [59,20-130,45]	0,097
$Inzulin_{120'}$ (µU/ml)	60,30 [21,48-84,00]	67,61 [45,45-106,55]	0,254
HbA_{1c}(%)	5,50 [5,30-5,60]	5,40 [5,15-5,55]	0,569

TG(mmol/l)	0,98 [0,77-1,32]	1,06 [0,82-1,51]	0,503
Összkoleszterin (mmol/l)	5,40 [4,80-6,00	5,05 [4,65-6,00]	0,594
LDL (mmol/l)	3,54 [3,11-4,07]	3,59 [2,98-4,04]	0,965
HDL (mmol/l)	1,35 [1,16-1,62]	1,23 [1,12-1,38]	0,338
Glukagon$_{0'}$ (pmol/l)	32,74 [27,79-38,47]	34,42 [31,29-46,01]	0,123
Glukagon$_{30'}$ (pmol/l)	32,03 [27,55-36,22]	31,05 [27,06-40,51]	0,987
Korai glukagon válasz§	**-0,49 [-3,88 – 1,45]**	**-6,13 [-7,25 - -1,37]**	**0,034**
Húgysav (µmol/l)	282,00 [248,00-325,00]	283,00 [233,00-315,00]	0,822
Prediabetes/T2DM (n/n)	37%†	33%†	1,0†
CRP(mg/l)	3,40 [1,15-9,15]	3,50 [2,50-11,10]	0,79

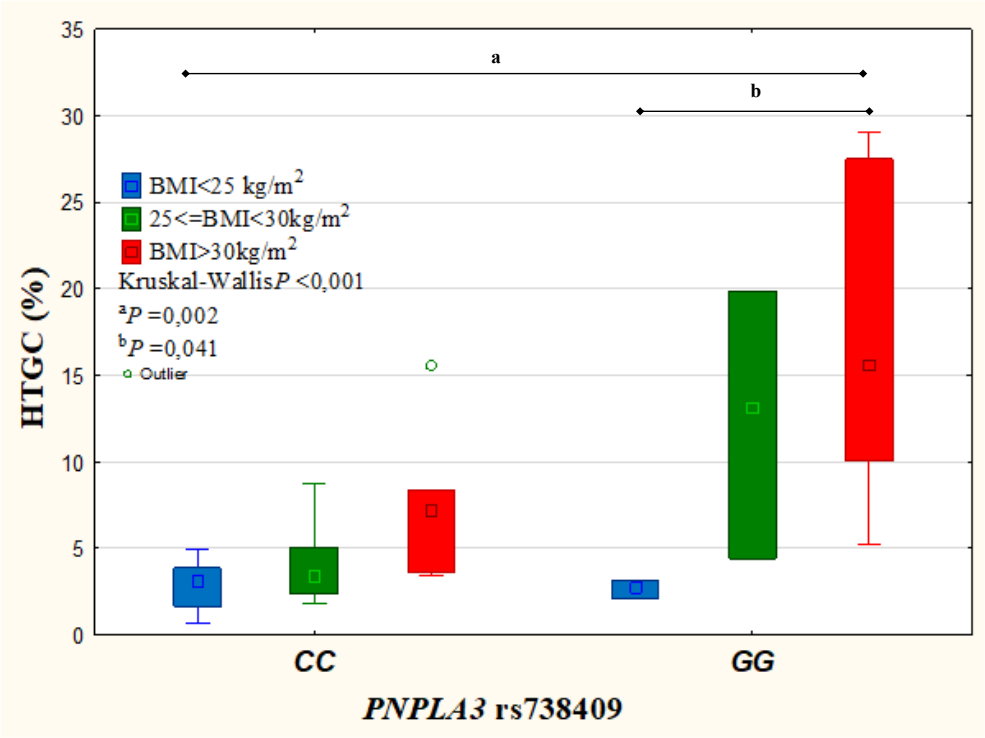
A folytonos változók medián és 25-75 percentilis (Q1-Q3) formájában kerültek leírásra. Mann-Whitney U teszttel történt az összehasonlítás.

‡: Glukagon30'-Glukagon0'

§ A kategórikus adatokat n/ntotal formában, százalékban kifejezve adtuk meg. Fisher-féle exact tesztet használtunk csoportok közötti különbség vizsgálatára

Rövidítések: area under the curve (AUC), testtömeg index (BMI), disposition index basal (DI_{basal}), fibrosis 4 (FIB-4), homeostasis model assessment (HOMA), máj triglicerid tartalom (HTGC), insulin secretion-sensitivity index 2 (ISSI-2), metabolikus diszfunkció asszociált zsírmáj (MAFLD), NAFLD fibrosis score (NFS), plazma glükóz (PG), hasnyálmirigy triglicerid tartalom (PTGC), derék-csípő hányados (W/H)

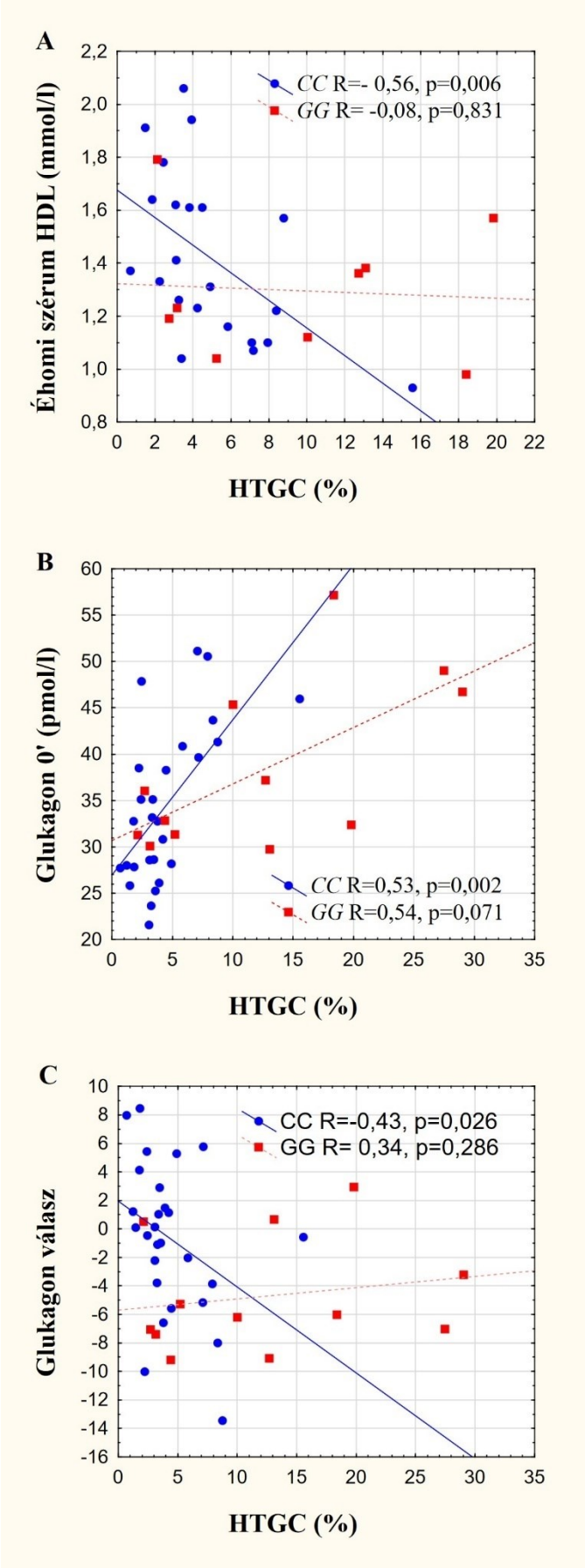
A *PNPLA3* rs738409 genotípus és a BMI HTGC-re vonatkozó együttes hatása figyelhető meg: 25kg/m^2 alatti BMI esetén a zsírmájra diagnosztikus steatosis-határt még a kockázati homozigóta genotípus esetén sem lépte át senki (6. ábra).



6. Ábra: BMI kategóriák és *PNPLA3* rs738409 genotípusok közös hatása a máj lipidakkumulációjára

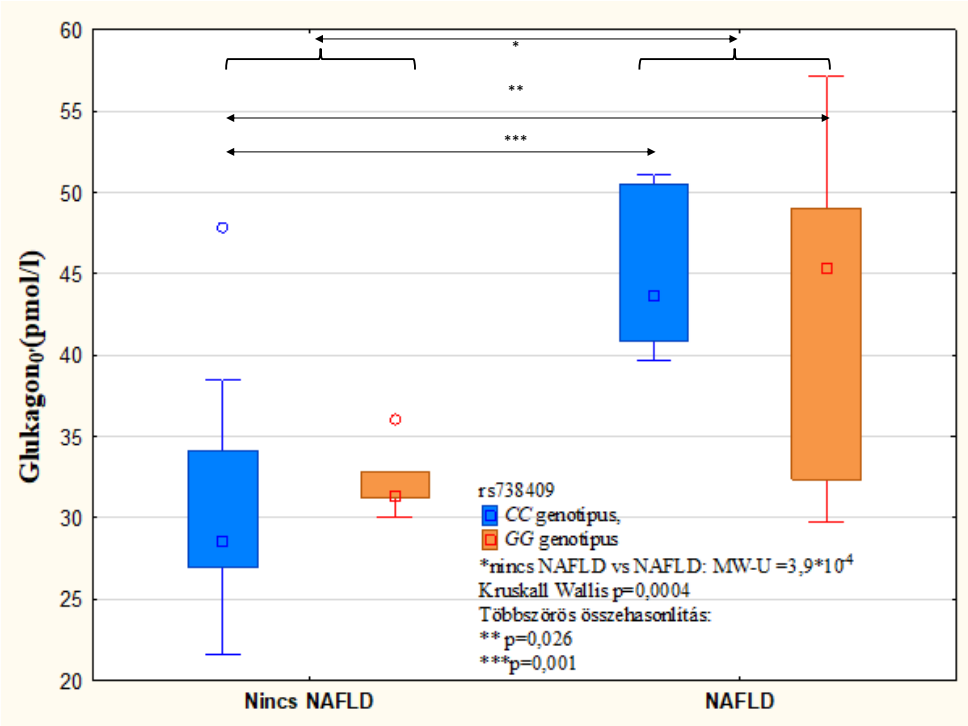
Rövidítés: HTGC: máj triglicerid tartalom

A metabolikus jellemzők vizsgálata során találtunk olyan paramétereket, amelyek HTGC-vel arányosan történő változását jelentősen befolyásolta a genotípus. A lipidparaméterek közül: TG: *CC* genotípus esetén szoros direkt korrelációt, HDL: *CC*: szoros inverz korrelációt találtunk a HTGC-vel, ugyanakkor a *GG* genotípusban ezen lipidparamétereknek nem volt összefüggése a HTGC-vel. Az éhomi glukagonértéknél különböző genotípus esetén eltérő meredekségű korrelációkat találtunk a HTGC-vel, a korai glukagon-válasz esetében csak *CC* genotípus csoportban volt inverz korreláció. Az eredményeket szórásdiagrammon ábrázoljuk (7. A, B és C ábra, a TG összefüggése a 9. ábrán látható).


A
Éhomi szérum HDL (mmol/l)
HTGC (%)
CC R=- 0,56, p=0,006
GG R= -0,08, p=0,831
B
Glukagon 0' (pmol/l)
HTGC (%)
CC R=0,53, p=0,002
GG R=0,54, p=0,071
C
Glukagon válasz
HTGC (%)
CC R=-0,43, p=0,026
GG R= 0,34, p=0,286

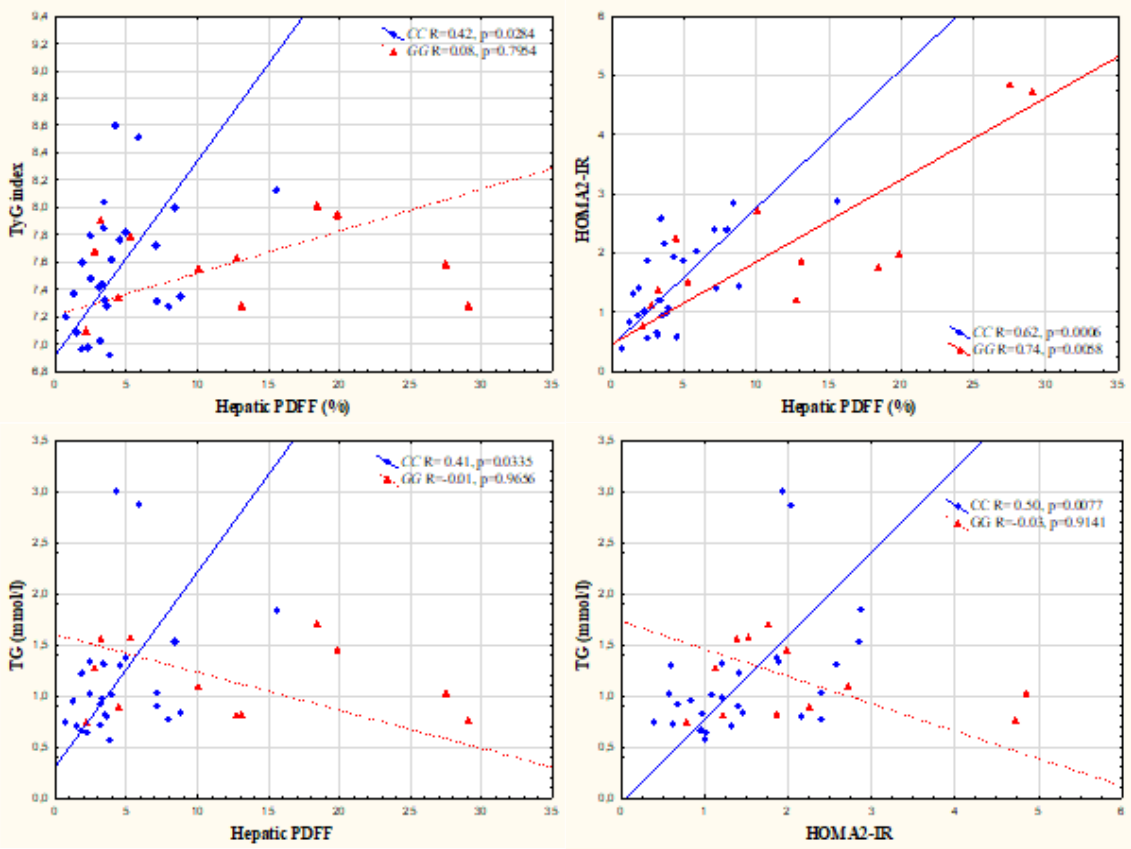
7. Ábra: A máj lipidakkumuláció *PNPLA3* rs738409 genotípus-dependens összefüggése az éhomi A: szérum LDL, B: plazma glukagon szintekkel, továbbá C: korai glukagon válasszal
Rövidítés: HTGC: máj triglicerid tartalom

Megvizsgáltuk az éhomi glukagon szint szempontjából, hogy a két *PNPLA3* genotípusú NAFLD csoport között észlelhető-e különbség: nem igazolódott, csak a NAFLD-s és nem NAFLD-s csoportok között (8. ábra).



8. Ábra: Éhomi glukagonszintek NAFLD jelenléte és *PNPLA3* genotípusok szerint

Az éhomi inzulinrezisztencia indexek közül: a HOMA2-IR és a HTGC közötti direkt korreláció mindkét genotípus csoportban nagyfokban hasonló lefutású volt, szemben a TyG indexszel, ahol látványos különbségek mutatkoztak: csak a *CC* csoportban észleltünk kapcsolatot a máj lipidtartalommal, míg a *GG* csoportban nem volt szignifikáns összefüggés az értékek között (174). Az éhomi szérum TG és HTGC között csak a *CC* genotípus esetén volt összefüggés, ami nagy fokban hasonlított a TyG indexnél látott mintázathoz (177). Az eredmények a 9. ábrán, szórásdiagram formában láthatók.

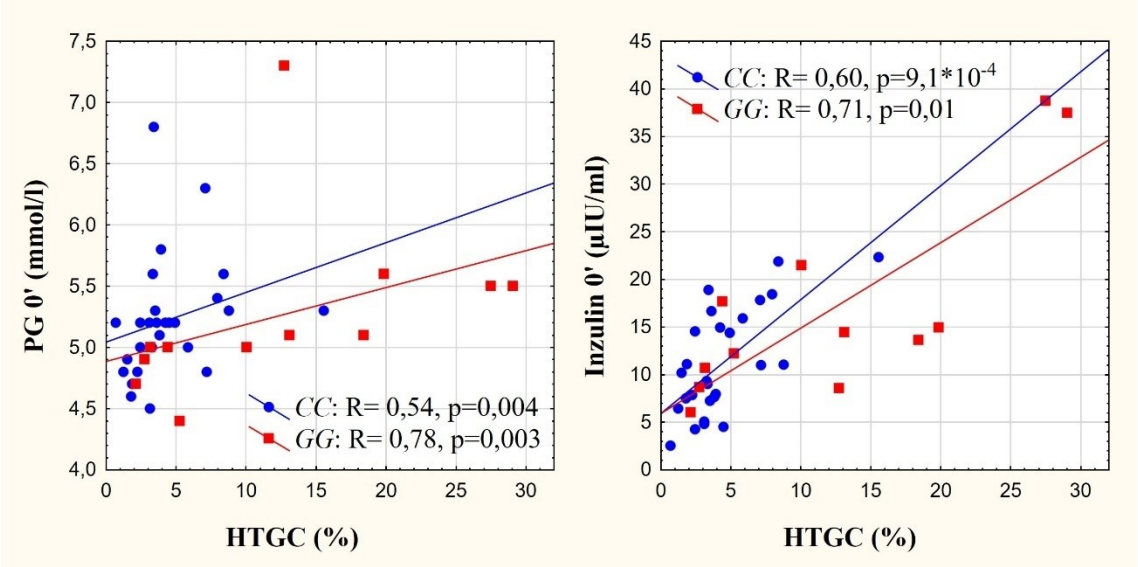


9. Ábra: A TyG és a HOMA2-IR indexek, az éhomi TG és a máj lipidtartalom összefüggései *PNPLA3* rs738409 genotípus-csoportok szerint viszgálva

Rövidítés: TG: (szérum) triglicerid, Hepatic PDFF(proton density fat fraction): máj lipidfrakció

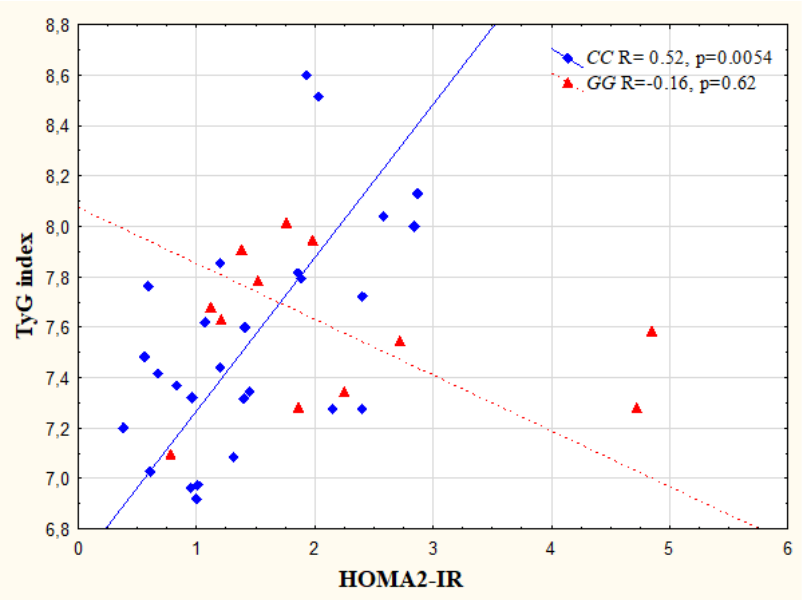
Forrás: (177) **Átvéve: a Creative Commons Attribution 4.0 International License alapján, http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.**

Az éhomi PG és inzulinértékeket is megvizsgáltuk a HTGC függvényében -*PNPLA3* rs738409 genotípusok szerinti bontásban (10. ábra).



10. Ábra: Éhomi glükóz és inzulin szintek és a máj lipidtartalom kapcsolata – *PNPLA3* rs738409 genotípus csoportok szerint vizsgálva
Rövidítések: PG: plazma glükóz, HTGC: máj triglicerid tartalom

A fentiek alapján a két éhomi inzulinrezisztencia-index kapcsolatát is megvizsgáltuk a *PNPLA3* rs738409 genotípusok szerint stratifikálva és új megfigyelésként azt találtuk, hogy csak a *CC* genotípusú személyekben mutatkozott köztük szignifikáns korreláció, a kockázati genotípus esetén ez az összefüggés „szétesik" (11. ábra) (177).

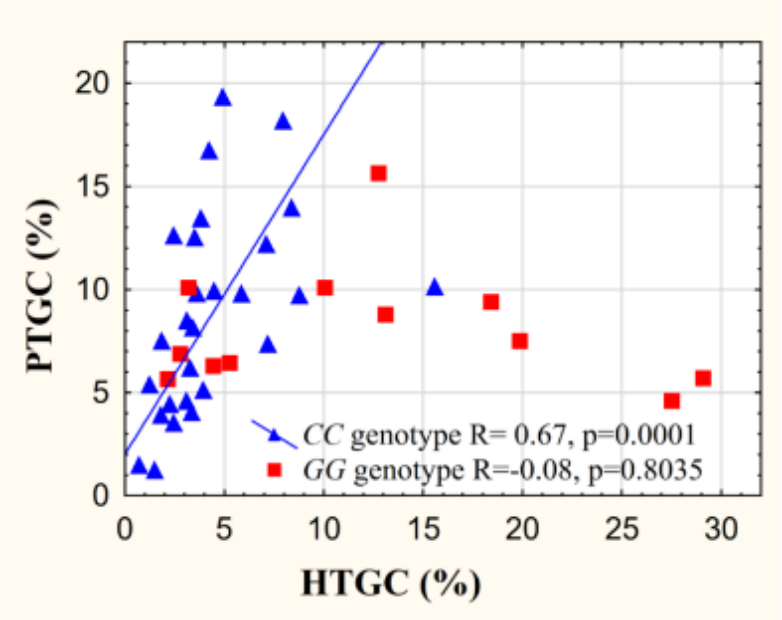


11. Ábra: Éhomi inzulinidexek: HOMA2-IR és TyG kapcsolata *PNPLA3* rs738409 genotípusok szerint stratifikálva

Forrás: (177) **Átvéve: a Creative Commons Attribution 4.0 International License alapján, http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.**

4.6 A *PNPLA3* rs738409 genotípus hatása a máj és a hasnyálmirigy lipidfelhalmozás közötti összefüggésre

A két szerv lipiddepozíciójának kapcsolatát vizsgálva szignifikáns korrelációt találtunk a lipidtartalmak között (R=0,46, p=0,004) (174). Újdonságként az összefüggés a *PNPLA3* rs738409 genotípusra történő illesztését követően a *CC* genotípus-csoportban jelentősen megerősödött, míg a *GG* csoportban nem volt megfigyelhető kapcsolat (12. ábra) (174).



12. Ábra: Máj és hasnyálmirigy lipiddepozíció összefüggése, *PNPLA3* rs738409 genotípusra illesztéssel

Rövidítés: HTGC: máj triglicerid tartalom, PTGC: hasnyálmirigy triglicerid tartalom

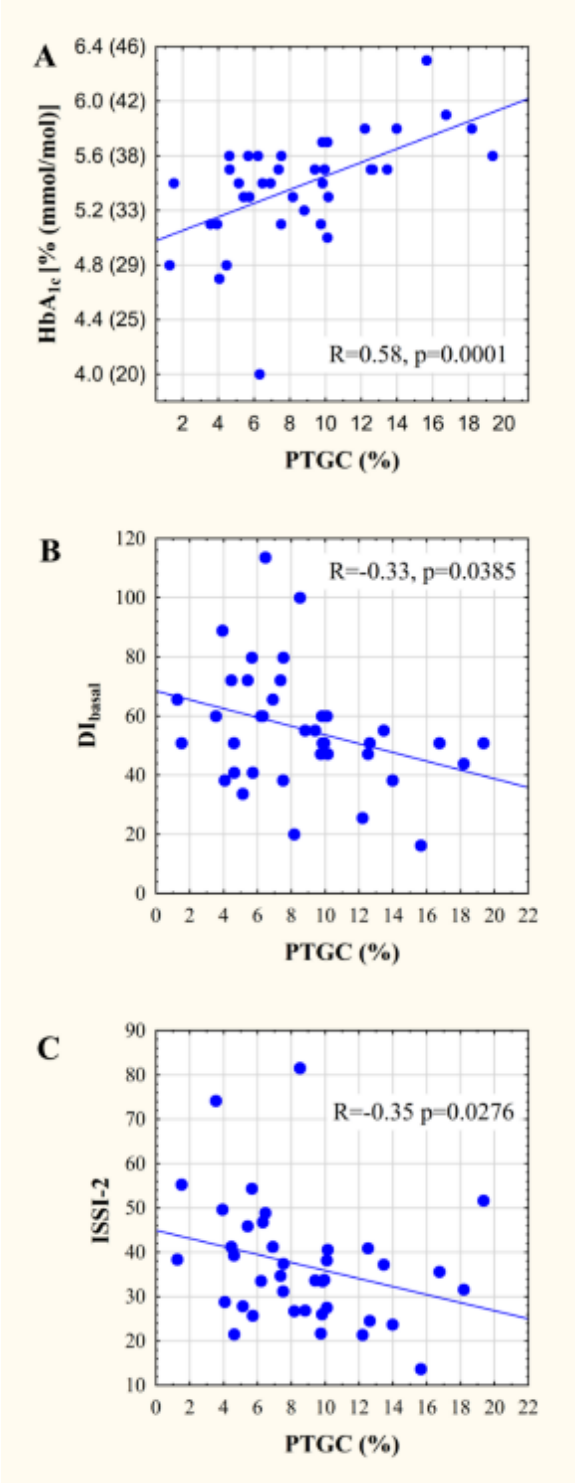
Forrás: (174) Átvéve: a Creative Commons Attribution 4.0 International License alapján, http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

4.7 A hasnyálmirigy lipidtartalom növekedés és antropometriai jellemzők

A BMI és PTGC között szignifikáns pozitív korreláció igazolódott (R = 0,40 p = 0,012), hasonlóan a derék/csípőkörfogat hányados és PTGC korrelációjához (R = 0,50 p = 0,002), a korral viszont nem találtunk összefüggést (R = 0,12 p = 0,440) (174).

4.8 A hasnyálmirigy lipidfelhalmozás anyagcsere-paraméterekkel való összefüggése

A PTGC és a HbA_{1c} érték között szoros, szignifikáns (R=0,58, $p=10^{-4}$) összefüggést találtunk a teljes vizsgálati populációban (13. A ábra) (174). A HbA_{1c} és HTGC, vagy HbA_{1c} és antropometriai jellemzők között viszont nem sikerült összefüggést igazolni (174). Kevésbé szoros inverz összefüggést tudtunk kimutatni az általunk vizsgált diszpozíciós indexek és a PTGC között (DI_{basal}: R=-0,33, p=0.039 és ISSI-2: R=-0,35, p=0,028; 13. B és C ábrák) (174).

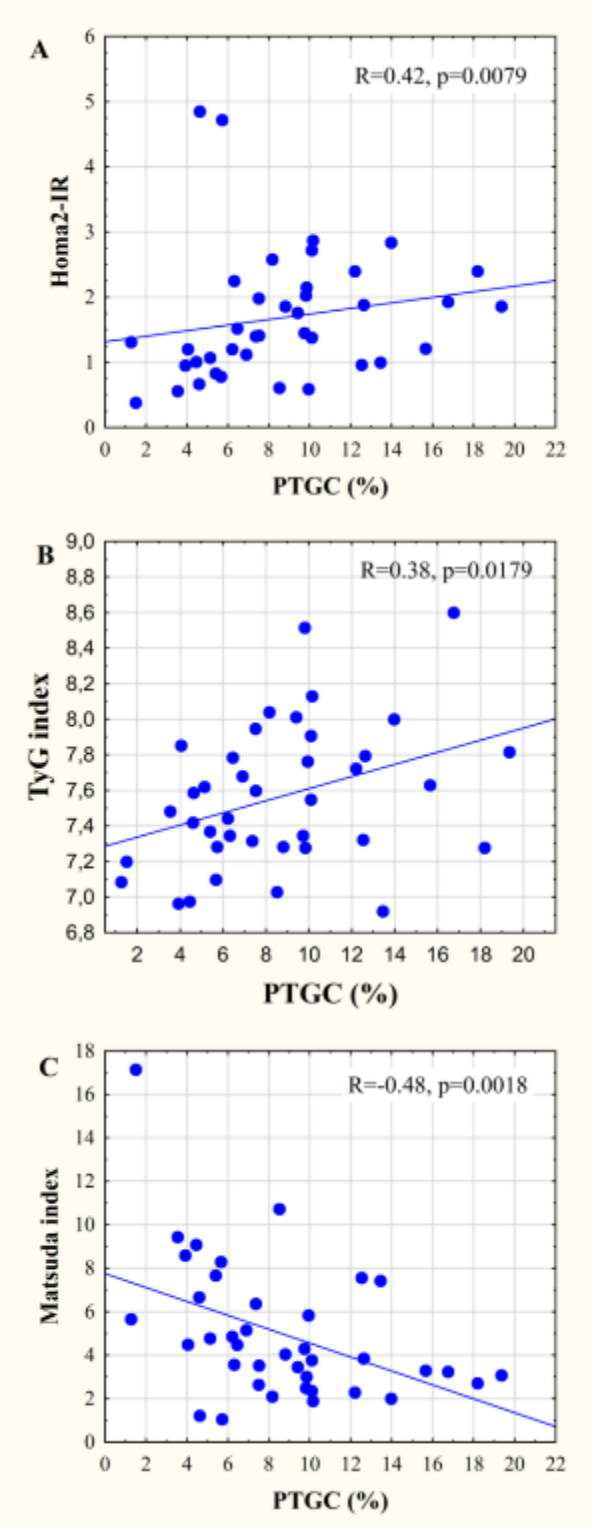


13. Ábra: PTGC és szénhidrát-anyagcsere jellemzőinek kapcsolata: A: HbA_{1c}, B: DI_{basal}, C: ISSI-2

Rövidítések: DI_{basal}: disposition index basal, ISSI-2 insulin sensitivity-secretion index-2, PTGC: hasnyálmirgy triglicerid tartalom

Referencia: (174), felhasználva: a Creative Commons Attribution 4.0 International License alapján, http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

A vizsgálatban használt inzulin rezisztencia indexek és a PTGC között szoros kapcsolat volt igazolható: HOMA2-IR: R=0,42, p=0,008, TyG index: R=0,38, p=0,018 (14. ábra A és B), az inzulinszenzitivitási Matsuda index esetén pedig negatív korreláció: R=-0,48, p=0,002 (14. ábra C) (174). Ezek a korrelációk a genotípusok szerinti stratifikációt követően jelentősen nem tértek el egyik vizsgálati génvariáns esetén sem.

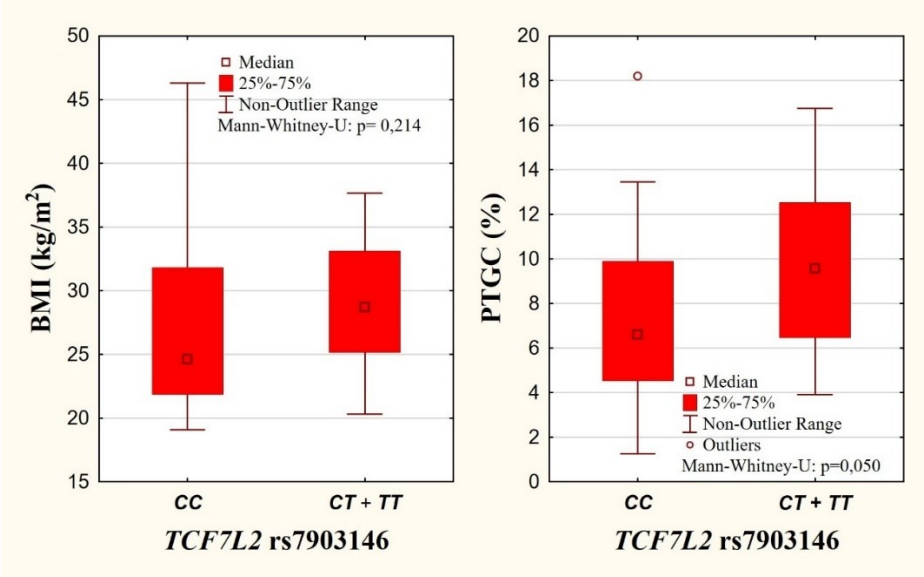


14. Ábra: A hasnyálmirigy lipidtartalom és inzulin rezisztencia- (A: HOMA2-IR, B: TyG indexek), valamint inzulinszenzitivitási indexek (C: Matsuda) kapcsolata
Rövidítések: PTGC: hasnyálmirigy triglicerid tartalom

Forrás: (174) Felhasználva: A Creative Commons Attribution 4.0 International License alapján, http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

4.9 A hasnyálmirigy lipidfelhalmozás és ismert T2DM kockázati génvariánsok kölcsönhatása az inzulinválaszra

A *TCF7L2* variáns *T* allél hordozása határérték szignifikanciával jellemezhetően magasabb PTGC értékkel társult (p=0.050), a csoportok között BMI-ben nem volt (többi vizsgált variáns esetén nem volt különbség (15. ábra).



15. Ábra: BMI és PTGC a *TCF7L2* rs7903146 genotípus csoportokban
Rövidítések: PTGC: hasnyálmirigy triglicerid tartalom

A teljes vizsgálati populációban nem volt szignifikáns korreláció a vizsgált inzulinszekréció / β-sejt funkció markerei (HOMA2-B és $AUC_{inzulin}/AUC_{glükóz}$) és a PTGC között (174).

A genetikai adatbázisunkból (77) elérhető 3 kiválasztott T2DM kockázati génvariánsra (*TCF7L2* rs7903146, *WFS1* rs1801214, *HSD11B1* rs4844880) történő stratifikációt követően ezzel szemben szignifikáns korrelációkat találtunk a HOMA2-B vs PTGC mindhárom vizsgált variáns kockázati genotípusai esetén (9. táblázat, 16. ábra) (174). Az inzulinszekrécióra megvizsgáltuk a hasnyálmirigy lipidtartalom és a vizsgált genotípusok

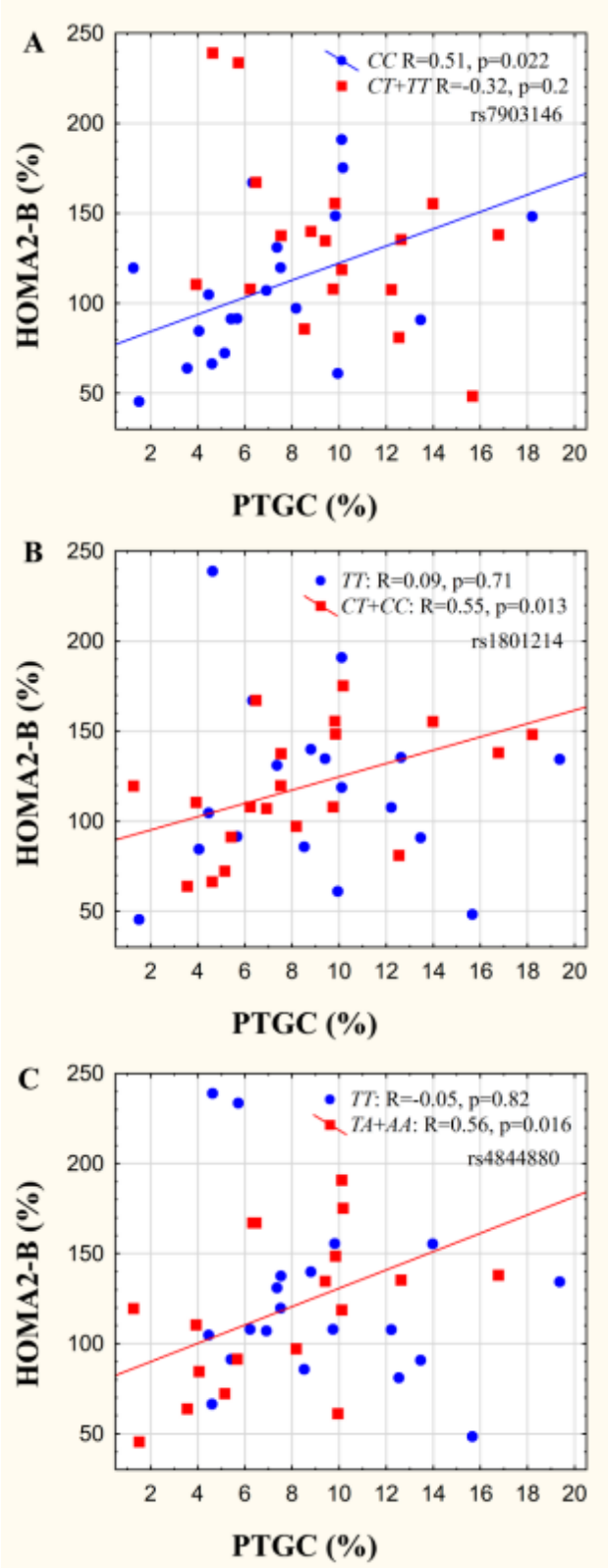
interakcióját is (9. táblázat), a *TCF7L2* és *HSD11B1* variánsai esetén a HOMA-2B-re és a *TCF7L2* esetén az $AUC_{inzulin}/AUC_{glükóz}$-ra szignifikáns lett.

9. Táblázat: A hasnyálmirigy lipidakkumuláció és a β-sejt funkció indexek közötti kapcsolat T2DM-re hajlamosító génvariánsok szerint vizsgálva

β-sejt funkció indexei	Gén	Variáns azonosítója	Genotípus[a] (n)	Korreláció			Interakció elemzés[b]
				R	p(nyers/ korrigált[c])	Statisztikai erő	p(nyers/ korrigált[c])
HOMA2-B	*TCF7L2*	rs7903146	*CC* (20)	**0,51**	**0,022/ 0,044**	0,664	**0,001/ 0,003**
			CT+TT (18)	-0,32	0,20/ 0,20	0,263	
	WFS1	rs1801214	*TT*[d] (18)	0,09	0,71/ 0,71	0,065	0,18/ 0,18
			CT[d]*+CC* (20)	**0,55**	**0,013/ 0,044**	0,745	
	11BHSD1	rs4844880	*TT* (20)	-0,05	0,82/ 0,82	0,055	**0,029/ 0,044**
			TA+AA (18)	**0,56**	**0,016/ 0,044**	0,714	
$AUC_{inzulin}$ / $AUC_{glükóz}$	*TCF7L2*	rs7903146	*CC* (20)	0,39	0,087/ 0,17	0,415	**0,013/ 0,039**
			CT+TT (18)	-0,21	0,40/ 0,60	0,136	
	WFS1	rs1801214	*TT*[d](18)	0,13	0,61/ 0,73	0,082	0,81/ 0,81
			CT[d]*+CC* (20)	**0,51**	**0,021**/ 0,13	0,664	
	11BHSD1	rs4844880	*TT* (20)	-0,04	0,87/ 0,87	0,053	0,27/ 0,41
			TA+AA (18)	**0.47**	**0.048**/ 0.14	0.530	

[a]Major allél homozigóták vs minor allél hordozók;
[b]Lineáris regressziós modell. Kimenetel: inzulin szekréciós marker; genotípus domináns modellben (minor allélre) kategórikus és a PTGC folytonos változóként. Interakció: kategórikus x folytonos változó;
[c]Benjamini-Hochberg (FDR) p-korrekció;
[d]A magyar-osztrák vizsgálati populációban csak *C* és *T* allélok fordultak elő; a GRCh38 Ensembl browser "1000 Genomes" adatbázis alapján multiallélikus (81)
Rövidítések: PTGC: hasnyálmirigy triglicerid tartalom, T2DM: 2-es típusú cukorbetegség, HOMA2-B: Homeostasis Model Assessment 2-B, AUC: Area Under the Curve

Forrás: (174) Felhasználva: A Creative Commons Attribution 4.0 International License alapján, http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.



16. Ábra: A hasnyálmirigy lipidakkumuláció és HOMA-2B összefüggése A: *TCF7L2* rs7903146, B: *WFS1* rs1801214, és C: *HSD11B1* rs4844880 genotípusok szerint vizsgálva

Rövidítések: PTGC: hasnyálmirigy triglicerid tartalom

Forrás: (174). Felhasználva: A Creative Commons Attribution 4.0 International License alapján, http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

5. Megbeszélés

A Magyarországon és Ausztriában 2011 és 2015 között végzett GDM-genetikai asszociációs vizsgálatban (77) résztvevő fiatal-középkorú női populáció klinikai adataiból és 77 egypontos génvariánsra történt genotípizálás eredményéből létrejött adatbázis teremtette meg az alapot vizsgálatunkhoz. A genetikai adatbázis ugyanis lehetővé tette több, mint 600 magyar résztvevő közül a célzott behívást a nem alkoholos zsírmáj kialakulásában kiemelkedő jelentőséggel bíró *PNPLA3* rs738409 általunk ismert homozigóta genotípusai alapján. Erre alapozva egy genotípus alapú visszahívásos, „GBR" vizsgálatot végeztünk, és ez a vizsgálati elrendezés biztosította, hogy a korlátozott betegbevonási lehetőségeink mellett egy hasonló, de populációs keresztmetszeti jellegű (megelőző genetikai információ nélkül végzett) vizsgálathoz képest jelentősen kisebb bevont elemszám mellett is hasonló statisztikai erő mellett tudjuk elemzéseinket elvégezni (167). A statisztikai erő növelése céljából csak a homozigóta genotípusú személyeket kerestük meg, a heterozigóta genotípusú, *PNPLA3* rs738409 esetén „köztes" genetikai hatásnagysággal rendelkező személyek nem kerültek vizsgálatunkba. Az adatbázisban lévő, az átlagpopulációhoz (1:7) (178) képest jelentősen nagyobb arányú (közel 1:1) GDM anamnézissel rendelkezők bevonása tette lehetővé, hogy vizsgálatunkba a 2-es típusú cukorbetegség kialakulására nagy kockázattal rendelkező személyekben vizsgálhassuk a kialakulásában fontos anyagcseretényezőket. A vizsgálati populáció nem és kor szerinti homogenitása (várandósság utáni fiatal-középkorú nők) és jelentős megbetegedés és tartós, krónikus gyógyszerszedés hiánya egyúttal a betegség természetes kialakulására/lefolyására is betekintést engedhet.

A nagyobb arányban GDM anamnézissel rendelkező résztvevők alapján lehetőségünk nyílt a korábbi GDM direkt hatásának a vizsgálatára. A GDM és nem GDM populáció összehasonlításakor a korábbi GDM-el szövődött terhességgel rendelkező csoportban szignifikánsan magasabb 120' plazma glükóz, trendszinten emelkedett szérum inzulinszint és ezekkel szoros összefüggésben az ISSI-2 érték különbségét mutattuk ki. Ennek hátterében véleményünk szerint az áll, hogy Magyarországon a GDM-genetikai asszociációs vizsgálat idején a GDM diagnosztikája nem az IADPSG (2013-tól WHO által is) ajánlott plazma glükóz határértékek szerint történt, hanem egy korábbi (1999) WHO ajánlás módosított határértékei szerint, ami a 120' plazma glükóz értékben

szigorúbb volt (15). Az eredmények között kiemeltem a pGDM populációban a numerikusan jelentősen magasabb arányban észlelt szénhidrát-anyagcserezavart és NAFLD megjelenését, ami az irodalmi adatokkal összecseng (6–9,12), vélelmezhetően a mintaelemszám növelésével az észlelt különbségek statisztikailag szignifikáns szintet érhetnek el.

Vizsgálatunk során - tudomásunk szerint – Magyarországon elsőként végeztünk MR vizsgálóeljárással pontos máj és hasnyálmirigy lipidtartalom meghatározást.

A *PNPLA3* rs738409 *GG* homozigóta, a zsírmáj kialakulására magas genetikai kockázatot jelentő csoportban a jelentősen magasabb máj lipidtartalom -habár nem tekinthető új eredménynek- elsősorban úgy interpretálható, hogy magyar vizsgálati populációban elsőként erősíti meg az irodalomban lényegesen nagyobb elemszámon közölt nemzetközi vizsgálatok eredményeit (73,82–85).

Klinikailag is lényegesnek tartjuk azt a megfigyelésünket, hogy az rs738409 *GG* genotípus HTGC emelő hatása, habár összességében az irodalmi adatoknak megfelelően 3-szoros, de nem érvényesül abban az esetben, ha a vizsgált személy BMI értéke 25kg/m^2 alatt marad. A megfigyelés összességében is a genetikai kockázati tényezők és az adott személy antropometriai paraméterei közötti interakció jelentőségére hívja fel a figyelmet és fennálló genetikai hajlam esetén is a manifeszt betegség kialakulását számottevő mértékben lehet módosítani (például a testsúly megfelelő csökkentésével).

Az éhomi hyperglukagonaemia és NAFLD fennállása közötti - irodalomban már leírt - szoros kapcsolatot (149,179) vizsgálatunkban meg tudtuk erősíteni. A NAFLD-vel összefüggő éhomi hyperglukagonaemiát megvizsgáltuk *PNPLA3* genetikai hatás szempontjából is és érdekes, új következtetésünk az, hogy a glukagon szint emelkedése független a zsírmáj kialakulásának mechanizmusától és mindkét homozigóta csoportban egyaránt megfigyelhető. A jelenség hátterében az utóbbi időben sok figyelem irányult a máj - α-sejt tengely kóros működésére/”feedback” mechanizmusaira, egyfajta hepatikus „glukagon-rezisztencia” szerepe is felmerült, amiben nagy jelentősége van a máj felől az α-sejtek irányába történő „szignál”, azaz a keringő aminosavak szintjének megváltozásával magyaráznak (120–126). Az elképzelés szerint ezzel létrejön egy új vágóponttal jellemezhető kóros egyensúlyi állapot, amit egyaránt jellemez az inzulinrezisztencia és a glukagonrezisztencia is NAFLD esetén (180).

Az OGTT során vizsgált korai (0'-30') glukagon válasz esetén - az irodalomban korábban már leírt eredménnyel, miszerint a jobb glykémiás statusz esetén a glukagon szintek a nagyobb BMI-vel rendelkező, ennek megfelelően magasabb máj-lipidtartalmú és rosszabb glykémiás státuszú résztvevőkkel szemben nem voltak szuprimálhatók, sőt OGTT során az éhomi értékhez képest inkább némi emelkedést mutattak (181) ezzel összecsengő - új megfigyelésként értékelhető, hogy a vizsgálatunkban negatív korrelációt találtunk a korai (30') glukagonválasz és máj lipidtartalom között. Az összefüggést csak a zsírmájra kockázatot nem jelentő rs738409 *CC* genotípusban („metabolikus eredetű" lipidfelhalmozás) észleltük, a jelenség hátterének további vizsgálatára nem volt lehetőségünk, de az inzulin szintekkel, és inzulinszekrécióval korrigálva sem változott az összefüggés.

A máj kóros lipidakkumulációja és - a 2-es típusú cukorbetegség patomechanizmusában egyik alapvető kórfolyamat - az inzulinrezisztencia kapcsolatát (13) is megvizsgáltuk. A vizsgálatunkban az indexek közül talán a leginkább elterjedt, éhomi vérvétel során nyert paraméterekből viszonylag egyszerűen meghatározható HOMA-IR (illetve annak továbbfejlesztett online változatát: HOMA2-IR) és újabban előtérbe kerülő TyG indexeket, továbbá a 75g OGTT glükóz és inzulin értékeiből számítható (teljes test inzulin szenzitivitás megítélésére alkalmas) Matsuda indexet vizsgáltuk.

A máj lipidakkumuláció és a HOMA2-IR és TyG indexek közötti direkt és a Matsuda index-szel a fordított korrelációt megerősítettük, ami a jelenlegi ismeretekkel összecseng (22,23,182). A legfőképpen az éhomi, egyensúlyi körülmények között mért hepatikus inzulinrezisztenciával arányos (22) HOMA-IR jelentőségét NAFLD-ben, sőt az újabb nevezéktan szerint MAFLD-ben is nemzetközi klinikai szakmai irányelvek is alátámasztják (45,47,48).

A *PNPLA3* genotípus csoportok között talált eltérések, a *GG* genotípus csoportban emelkedett inzulinszekréciós indexek (HOMA2-B és $AUC_{inzulin}/AUC_{glükóz}$) és megnövekedett inzulinrezisztenciára jellemző értékek (HOMA2-IR növekedés és Matsuda index csökkenése) az előző bekezdés alapján a következőképpen magyarázható: a *GG* csoport jelentősen nagyobb máj lipidtartalmához emelkedett (hepatikus) inzulinrezisztencia társul és a glükózszint emelkedés megakadályozásához kompenzatórikusan magasabb inzulinszekréció szükséges. Egy nagyobb MR

spektroszkópia alapú májlipidtartalom méréses vizsgálatban szoros direkt korreláció volt kimutatható a logaritmikusan transzformált HTGC értékek és a HOMA-IR között (182), továbbá vizsgálták a *PNPLA3* génvariáns hatását is és arra a következtetésre jutottak, hogy az összefüggés a kockázati allél hordozókban is megmarad és ugyanolyan meredekségű, mint a *CC* genotípus esetén, habár kis fokban alacsonyabb tengelymetszéspontról indul. Ezen eredmények és a mi vizsgálatunk alapján arra a következtetésre tudunk jutni, hogy a *GG* genotípus HTGC emelő hatása (genetikai hatásnagyság) olyan jelentős, hogy a HOMA-IR és a máj lipidtartalom közötti összefüggés lényegileg megmarad, ennek következtében a HOMA-IR úgy is interpretálható, mint egy olyan máj lipidtartalomra indikatív marker, amiben a *PNPLA3* genotípus-háttérnek csak csekélyebb jelentősége van.

Az utóbbi években a HOMA-IR mellett a TyG index jelentőségét is egyre többen vizsgálják. A széleskörű klinikai alkalmazás elterjedését segítheti a TyG index esetében, hogy az index kalkulációjához nem szükséges az éhomi inzulinszint mérése, hanem olyan két „rutin" laboratóriumi paraméterből állítják elő, amit a 2-es típusú cukorbetegek gondozása során egyébként is időszakosan vizsgálni szükséges. Mindkét éhomi index a hivatalos szakirodalomban a „surrogate marker of insulin resistance" (183) kategóriába esik és egy nagyobb 12 éves követéses vizsgálat alapján több, mint 6000 felnőtt adatai alapján szoros kapcsolatot mutatott a T2DM és a MetS kialakulásával (184). Figyelemfelkeltő lehet, hogy 2 különböző populációban is a TyG index a HOMA-IR-nél jobbnak bizonyult carotis atherosclerosis és a coronaria kalcifikáció vonatkozásában (185,186). A TyG index és a HOMA-IR közvetlen összehasonlító vizsgálatok már gyermek populációban is történtek, a TyG index jobbnak bizonyult a T2DM előrejelzésére, mint a jelenleg talán még ismertebb HOMA-IR index (187). Vizsgálatunkban lehetőségünk nyílt az indexek összehasonlítására és a máj lipidtartalommal való viszonyának vizsgálatára „tisztán metabolikus" és *PNPLA3* asszociált lipidakkumuláció esetén is.

A két index összehasonlítása során újdonságként először észleltük, hogy az indexek csak az rs738409 *CC* genotípusban korrelálnak egymással, a *GG* csoportban a kapcsolat elveszik (177). Az egyes indexeket a máj lipidtartalommal összehasonlítva a HOMA2-IR mindkét genotípusban szoros kapcsolatot mutatott a HTGC-vel (a korábbi bekezdésekben taglaltaknak megfelelően), a TyG esetén viszont csak a *CC* genotípusú csoportban

észleltük ezt (177). A kérdést tovább vizsgálva, az indexek komponenseit külön is megvizsgáltuk, ennek során a glükóz és inzulinszint vs HTGC közvetlen korrelációkban csak kisebb eltéréseket észleltünk a *PNPLA3* genotípus csoportok között, szemben a vér TG szintjével, ahol a zsírmájra hajlamosító genotípus esetén (*GG*) a direkt korreláció eltűnt (177). Ez az új megfigyelésünk magyarázható azzal a korábbi, egyik első nagy post-GWAS *PNPLA3* hatásmechanizmusra irányuló vizsgálat eredményével (188), miszerint a zsírmáj kockázati *G* allél hordozása paradox módon alacsonyabb szérum TG szinttel társul. Ezt a megfigyelést későbbiekben több, független munkacsoport is megerősítette (189–191).

További megfigyelésünk szerint hasonló, de negatív a kapcsolat a HTGC és HDL szintek között, szintén csak *CC* genotípus esetén. A jelenség magyarázatában jelentősége lehet, hogy a PNPLA3 az egyik olyan enzim, amelynek az intrahepatocelluláris TG mobilizációban és effluxban szerepe van, a vizsgált rs738409 variáns *G* allél esetén ez változik meg (110,188,190), a lipid efflux pedig éhomi állapotban a VLDL szekrécióval arányos (192).

Összességében új megfigyelésként értékeljük, hogy a PNPLA3 genotípus szétkapcsolja a TyG és HOMA-IR index közötti összefüggést, ami arra utal, hogy az intrahepatikus lipidfelhalmozódás patomechanizmusa („PNPLA3 genetikai kockázat alapú" vs attól független) lényegesen érinti a gyakrabban használt IR indexek klinikai jelentését: elképzelésünk szerint, rs738409 *GG* populációban a HOMA-IR inkább az intrahepatikus lipidfelhalmozásra lehet indikatív, míg a TyG index az anyagcsere kórfolyamatok következtében kialakuló kardiometabolikus kockázatot tükrözheti jobban.

Vizsgálatunk másik célja volt a hasnyálmirigy lipidtartalom összefüggéseinek és hatásának a vizsgálata diabetes kialakulására nagy kockázatú populációban.

Az irodalomban közölt vizsgálati eredmények utalnak arra, hogy a hasnyálmirigy lipidakkumuláció a T2DM kialakulásával igen szoros kapcsolatban van (139,142,181,193). A PTGC és a T2DM kapcsolata patofiziológiailag „fordított irányból" is alátámasztást nyert: bariátriai sebészeti beavatkozások esetében észlelhető összességében a legnagyobb arányú T2DM visszafejlődés illetve az ahhoz kapcsolódó szövődmények kialakulási kockázat csökkenése (194). A jelenség hátterében a műtétet követő azonos mértékű testsúlycsökkenés mellett a T2DM remisszió akkor volt a

legkifejezettebb, amikor a hasnyálmirigy lipidtartalomban is csökkenést lehetett kimutatni (134,143).

Stabilitása, reprodukálhatósága, illetve a szövődmények kialakulására vonatkoztatott kiemelkedő prognosztikai tulajdonságai miatt a T2DM glükózanyagcsere statuszának követésére, de diagnózisára is használható marker a HbA_{1c} (195–198). A HbA_{1c} és a hasnyálmirigy lipidtartalom közötti kapcsolatot elemző megelőző vizsgálatok egy része (134,139) talált összefüggést, más vizsgálat viszont nem (193). Felvethető az inkonzisztencia hátterében a vizsgálatokban a T2DM miatt alkalmazott különböző, például gyógyszeres (vércukor és vérzsír csökkentő) terápia torzító hatása is. Saját vizsgálatunkban ezzel szemben lehetőségünk nyílt gyógyszeres terápia „naív" résztvevőkben elemezni a kapcsolatot, ezáltal a „természetes betegséglefolyást" megfigyelve. Eredményeinkkel a pancreatikus lipiddepozíció és HbA_{1c} között szoros, pozitív korrelációt igazoltuk (174). A kapcsolat jelentése szempontjából, miszerint a nagyobb hasnyálmirigy lipidakkumuláció nagyobb kockázatot jelent a T2DM kialakulására, nagyon hasonló további megfigyelésünk volt az inverz összefüggés az általunk meghatározott, a T2DM jövőbeli kialakulására prognosztikus értékű diszpozíciós indexek (29,170,199) (DI_{basal} és ISSI-2) és a PTGC között. Megjegyezném, hogy a HbA_{1c}-hez mérten kevésbé szoros korreláció hátterében az elmúlt 2-3 hónap átlagos anyagcseréjére jellemző, stabilnak tekinthető értékkel szemben a diszpozíciós indexek számításához használt OGTT során nyert glükóz és inzulin értékek nagyobb variabilitása hozzájárulhat (199,200).

A diszpozíciós indexeket alkotó, a cukorbetegség kialakulásában kiemelkedő inzulinrezisztencia és β-sejt diszfunkció becslésére használt indexek viszonyát is megvizsgáltuk a PTGC-vel.

A hasnyálmirigy lipidtartalmának növekedése az inzulinrezisztencia mértékének emelkedésével társult megelőző vizsgálatokban (134,141). Saját megfigyelésünk egyező a korábban publikált eredményekkel: mind a TyG index, mind pedig a HOMA2-IR párhuzamos emelkedést mutattak a PTGC-vel, míg a Matsuda-index inverz összefüggést mutatott (174). Az eredmény a máj lipidtartalom és inzulin rezisztencia indexek kapcsolatával (amennyiben a *PNPLA3* variáns korábban taglalt összefüggést torzító

hatása nem érvényesül) együtt úgy értékelhető, hogy a zsigeri lipidakkumuláció és az inzulinrezisztencia párhuzamosan változik.

A β-sejt funkció vizsgálatára általunk használt indexek (HOMA2-B és $AUC_{inzulin}/AUC_{glükóz}$) és a PTGC között az irodalomban korábban közölt eredmények (136,142,143) alapján feltételezett kapcsolattal szemben a teljes vizsgálati populációban nem találtunk összefüggést (174). Az adatokat a vizsgálat első fázisából (77) rendelkezésünkre álló β-sejt funkcióra, illetve zsigeri lipidakkumulációra hatással rendelkező génvariánsok genotípusainak bevonásával tovább elemeztük.

Tudomásunk szerint elsőként publikáltuk, hogy mind a *TCF7L2* rs7903146 T2DM-re kockázati *T* allélt nem hordozó, *CC* genotípusú személyekben, mind a *WFS1* rs1801214 T2DM kockázatot csökkentő *C* allél és *HSD11B1* rs4844880 zsigeri lipidakkumuláció szempontjából a kockázatot csökkentő *A* allélt hordozók esetén a lipidakkumuláció és a HOMA2-B-vel jellemezhető inzulinszekréció párhuzamosan változik (174). A másik szekréciós index, az $AUC_{inzulin}$ / $AUC_{glükóz}$ esetén is hasonló, némileg gyengébb korrelációkat találtunk. Ezzel szemben a *TCF7L2* variáns esetén a kockázati *T* allél hordozókban és a másik két gén esetén a kockázati homozigóta (*WFS1* és *HSD11B1* variánsoknál *TT*) genotípusok esetén az előzőekben részletezett összefüggés teljesen eltűnt. A megfigyelést úgy tudjuk interpretálni, hogy a -hasnyálmirigy lipidtartalommal és obesitással párhuzamosan- növekvő inzulinrezisztenciával párhuzamosan emelkedik az inzulinszekréció a T2DM-re kockázatot nem jelentő variánsok esetén, azaz a "rendszer" még megfelelő β-sejt kompenzációra képes. Ezzel szemben a kockázati allélok hordozása ezt a kompenzáló inzulin szekréció növekedést nem teszi lehetővé, ezáltal – a genetikai hajlam hatásaként, különösen nagy szekréciós igény esetén - sérülékennyé téve az egyént a szénhidrátanyagcsere zavar kialakulására.

További új megfigyelésünk szerint a *TCF7L2* rs7903146 variáns esetén a *T* allél hordozása -azonos BMI mellett- magasabb PTGC értékkel társult (174). Ezzel összhangban az inzulinszekréció - PTGC összefüggések esetén interakciós vizsgálatokat végeztünk. További új megfigyelésként írjuk le, hogy a HOMA2-B-re való hatás kialakításában a hasnyálmirigy lipidakkumulációja és a *TCF7L2* rs7903146 génvariáns interakcióban van egymással, azaz a hatást közösen alakítják ki (174). Hasonló jelenséget találtunk a *HSD11B1* rs4844880 génvariáns esetében is (174). A vizsgálatunkkal nagy

fokban hasonló konklúzióra jutott egy több, mint 400 résztvevő adatait feldolgozó vizsgálat: a β-sejt működészavar kialakulására a hasnyálmirigy lipidtartalom növekedésnek csak akkor van hatása, amennyiben a genetikai kockázatot jelentő (a vizsgálatban közel 500000 génvariánsból számított) „polygenic risk score" (PRS) értéke magas, de a kis és közepes genetikai kockázat esetén már nem észleltek inzulinszekréciót rontó hatást (201). A mi eredményünk abban a vonatkozásban új, hogy a PRS kalkulációban több génvariáns együttes hatása szerepel, de az a tanulmányban egyes génvariánsok esetén nem végeztek el elemzést, így egyes génvariánsokra vonatkozó eredményekhez sem jutottak, szemben a mi vizsgálatunkkal.

A hasnyálmirigyre vonatkozó megfigyelések magyarázata még teljes mértékben nem ismert. Egyes szerzők felvetették, hogy a hasnyálmirigy sziget közvetlen közelében is előforduló adipocyták (Wagner és munkatársai szövettanilag inzulin és adopinektin festéssel is igazolták az igen közeli térbeli kapcsolatot) a szigetsejtek mikrokörnyezete megváltozik és (például szabad zsírsavak, gyulladásos citokinek révén), ezáltal a Langerhans-sziget működése, illetve ezen belül a β-sejtek funkciója és az inzulin szekréció (128,201,202) romolhat. Ebben a megváltozott mikrokörnyezetben a genetikai prediszpozíció / vulnerabilitás fennállása esetén a patológia (jelen esetben inzulin szekréció zavara) hamarabb megjelenik (201,202). A mi vizsgálatunkban a genetikai vulnerabilitást a hasnyálmirigy fejlődésében, β-sejt tömeg kialakításban, inzulin szekrécióban jelentős hatással rendelkező transzkripciós faktort kódoló *TCF7L2* gén (155,156) T2DM kockázati variánsához, továbbá a β-sejt túléléssel asszociált *WFS1* gén (36) kockázati genotípusának jelenlétéhez köthetjük. A *HSD11B1* gén szigetsejtekben „alap esetben" alacsony szinten fejeződik ki (162,203), egyértelmű magyarázat ebben a tekintetben még nincs.

Mind a hasnyálmirigy, mind a máj lipiddepozíciója függ a BMI-től, ezért a két szerv lipidtartalma között korreláció feltételezhető. Ennek igazolására történtek vizsgálatok, azonban ezek eredménye heterogén: a vizsgálatok egy részében, ahogyan a bevezetésben (1.9 fejezet) már elemeztem, nem volt kimutatható direkt kapcsolat a két szerv lipidtartalma között (139,142), más vizsgálatokban pedig szignifikáns pozitív korrelációt igazoltak (134,138,140,141).

Tudomásunk szerint mi írtuk le először, hogy a hasnyálmirigy és máj lipidakkumuláció kapcsolatát jelentős mértékben meghatározza a vizsgált személy *PNPLA3* rs738409 genotípusa (174). A vizsgálataink során a zsírmájra nem hajlamosító *CC* genotípusú személyekben találtunk csak szoros pozitív korrelációt a két szerv lipiddepozíciója között, ugyanakkor a *GG* kockázati genotípusú személyekben nem volt kapcsolat. Az eredmény jelentőségét az adja, hogy segítséget nyújthat az irodalomban található inkoherencia feloldására, jelentését pedig úgy lehetne megfogalmazni, hogy a *PNPLA3* genetikai kockázat nélkül kialakuló, az obesitással és anyagcserezavarral asszociált máj lipidtartalom növekedése arányos a hasnyálmirigyével, NAFLD genetikai hajlam („torzító hatás") megléte esetén viszont a két viscerális szerv lipidakkumulációjának kapcsoltsága szétesik.

6. Következtetések

1) A NAFLD kialakulás és a spektrumbetegség progressziója szempontjából legnagyobb genetikai hatásnagysággal rendelkező *PNPLA3* rs738409 variánssal kapcsolatban azt a populációgenetikai megállapítást tettük, hogy a kockázati (*G*) allél frekvenciája régiónkban 0,22, ami közel egyező a más európai populációban mért allélfrekvenciával és ez lehetővé teszi a génvariánsra vonatkozó nemzetközi (európai) ajánlások figyelembevételét hazánkban is.

2) A GBR vizsgálati tervnek köszönhetően az összetett (több végpontra célzott) munkánk alapján magyar populációban is megerősítettük a *PNPLA3* rs738409 homozigóta kockázati genotípusnak az intrahepatikus lipidtartalom emelésére (~3-szoros) vonatkozó korábbi nemzetközi adatokat. Ugyanakkor az HTGC emelő genetikai hatás tekintetében is kiemelkedő jelentőségű a BMI szerepe, ugyanis még homozigóta kockázati genotípus esetén sem magasabb a HTGC amennyiben a BMI értéke 25kg/m^2 alatt marad.

3) Arra a következtetésre jutottunk, hogy az éhomi inzulinrezisztencia mértékének meghatározására használható két, a klinikumban jól használható, „helyettesítő" marker, a HOMA2-IR és a TyG index értékei között fennálló szoros kapcsolatot az rs738409 genotípus számottevően befolyásolja: NAFLD kockázati génvariáns homozigóta hordozása esetén az összefüggés szétkapcsolódik. Eredményeink alapján a HOMA2-IR szorosabb kapcsolatban áll a máj zsírtartalommal, a két index jelentése pedig egy adott vizsgálati populációban ennek megfelelően a kockázati allélfrekvenciától nagyfokban függhet.

4) A NAFLD-vel asszociált éhomi hyperglukagonaemiára először vizsgáltuk az rs738409 genotípus hatását, eredményeink alapján NAFLD-ben a *PNPLA3* kockázati genotípustól függetlenül áll fenn a relatív hyperglukagonaemia.

5) A hasnyálmirigy lipidtartalom MR alapú meghatározását, a máj vizsgálatához hasonlóan, tudományos céllal - tudomásunk szerint – elsőként végeztük el Magyarországon. Elsőként számolunk be arról, hogy az rs738409 genotípus alapvető hatással van a máj és a hasnyálmirigy lipidtartalom közötti összefüggésre, direkt pozitív korreláció csak akkor jelentkezik, ha nincs *PNPLA3*-asszociált NAFLD kockázati genetikai hatás.

6) A HOMA2-B és az $AUC_{inzulin}/AUC_{glükóz}$ („helyettesítő” β-sejt) markerek vizsgálata során megállapítottuk, hogy a T2DM kockázati génvariánsok (*TCF7L2* rs7903146, *WFS-1* rs1801214) és a *HSD11B1* rs4844880 a intrapancreatikus lipidtartalommal közösen fejtik ki a β-sejt diszfunkciót előidéző hatásukat. A *TCF7L2* rs7903146 kockázati génvariáns esetében a PTGC és a génvariáns közötti interakciót is ki lehetett mutatni.

7) Fiatal-középkorú női populációban (fiatal anyákban), gyógyszeres (antihyperglykaemiás és lipidcsökkentő) kezelés és nemi „zavaró hatások” nélkül elsőként írtuk le, hogy a hasnyálmirigy lipidtartalom és a HbA_{1c} értéke között direkt korreláció észlelhető. A jelenség a PTGC jelentőségét tükrözheti a cukorbetegség természetes kórlefolyásának korai klinikai fázisaiban.

7. Összefoglalás

Doktori munkám célja a 2-es típusú cukorbetegség kialakulásához vezető kórfolyamatok tanulmányozása volt, különös tekintettel a máj és hasnyálmirigy kóros lipiddepozíciójának szerepére, az asszociált metabolikus jellemzők változására és néhány kiemelt jelentőségű genetikai tényezőre. A munka alapját a megelőző, GDM-genetikai asszociációs vizsgálatunk klinikai és genetikai adatbázisa tette lehetővé, ugyanis mód nyílt genotípus alapú, célzott visszahívásra egy a cukorbetegség kialakulására nagy kockázatú, fiatal-középkorú női populációban. A vizsgálati elrendezés további előnye volt, hogy a kórfolyamatokat gyógyszeres (antihyperglykaemiás és lipidcsökkentő) és nemi „zavaró hatások" nélkül vizsgálhattam. A külföldön már elterjedt, nagy pontosságú, MR alapú technikával határoztuk meg a máj és a hasnyálmirigy lipiddepozíciójának mértékét, tudományos vizsgálatban Magyarországon tudomásunk szerint elsőként. Ugyancsak elsőként szolgáltattunk régiós populáció-genetikai jellegű adatot a NAFLD szempontjából eddig ismert, legjelentősebb kockázati génvariáns, a *PNPLA3* gén rs738409 előfordulási gyakoriságáról.

Nemzetközi szinten is új eredmény, hogy az éhomi inzulinrezisztencia mértékének meghatározására használható két, a klinikumban is jól használható, „helyettesítő" („surrogate") marker, a HOMA2-IR és a TyG index értékei között fennálló direkt kapcsolat az rs738409 genotípustól jelentősen függ. Eredményeink alapján a HOMA2-IR közvetlenebb kapcsolatban áll a máj zsírtartalommal, ugyanakkor NAFLD genetikai kockázat fennállása esetén a TyG index és a HTGC kapcsolata megszűnik, eltérő a klinikai relevancia. Megfigyeltük, hogy NAFLD-ben jellemző hyperglukagonémia rs738409 genotípustól független. Tudomásunk szerint elsőként írtuk le, hogy egyes génvariánsok: *TCF7L2* rs7903146, *WFS-1* rs1801214, *HSD11B1* rs4844880 a PTGC-vel közösen fejtik ki a β-sejt diszfunkciót előidéző hatásukat. A *TCF7L2* rs7903146 kockázati génvariáns és a PTGC egymással interakcióban vannak a β-sejt funkcióra utaló indexek tekintetében. Megállapítottam továbbá, hogy a PTGC és a HbA_{1c} értéke között direkt korreláció észlelhető, a T2DM természetes kórlefolyásának korai klinikai fázisaiban.

Összességében az anyagcserezavar kialakulásában a BMI és genetikai hajlam együttesen vesz részt, de a különböző patomechanizmussal kialakult NAFLD részben eltérő metabolikus következményekre vezet. A pancreas lipidtartalom is jelentőséggel bírhat a T2DM kialakulásának kórfolyamatában, hatása genetikai tényezőkkel együtt alakulhat ki.

8. Summary

The aim of my Ph.D. work was to study the pathomechanisms driving the type 2 diabetes mellitus development in particular the pathologic lipid deposition in the liver and pancreas, the associated metabolic features and a few of the most outstanding genetic factors. The clinical and genetic database established in our preceeding GDM-genetic association study was the basis of my work and allowed us to a targeted genotype-based recall of a young-middle aged women population with high risk for development of diabetes mellitus. Additional advantage of the study design was, that I could conduct the investigations without the confounding factors including (antihyperglycaemic and lipid lowering) drug and gender effects. We could precisely determine the hepatic and pancreatic lipid deposition using MR-based methods that are widely used abroad, however -to our best knowledge- it is the first application for scientific purposes in Hungary. We also first report regional population-genetic data about the prevalence of – to date - the most significant NAFLD risk gene variant *PNPLA3* rs738409.

We first report that the direct correlation between the two surrogate and clinically useful markers of fasting IR, the HOMA2-IR and TyG indices is strongly dependent on the *PNPLA3* rs738409 genotype. Based on our findings the HOMA2-IR is more closely-related to the liver fat content than the TyG index, furthermore in the presence of NAFLD genetic risk the correlation between the TyG index and HTGC is abolished and has a different clinical relevance. We found that the hyperglucagonemia - characteristic in NAFLD - is present independently from the rs738409 genotype.

To our best knowledge we also first published that individual risk gene variants: *TCF7L2* rs7903146, *WFS-1* rs1801214, *HSD11B1* rs4844880 and PTGC have combined effects on the development of β-cell dysfunction. There is an interaction between the effect of PTGC and *TCF7L2* rs7903146 on indices indicative for β-cell function. I found that there is a direct correlation between PTGC and HbA_{1c} in during the early clinical phases of T2DM natural disease course.

In summary the BMI and the genetic factors are implicated together in the development of the metabolic disorder, however the metabolic consequences of NAFLD developed with different pathomechanisms are in part different. The pancreatic lipid content may also have significance in the pathology of T2DM development and its effects may evolve in combination with genetic factors.

9. Irodalomjegyzék

1. World Health Statistics [Internet]. [cited 2022 Nov 4]. Available from: https://www.who.int/data/gho/publications/world-health-statistics

2. Hepatology TLG&. Obesity: another ongoing pandemic. The Lancet Gastroenterology & Hepatology. 2021 Jun 1;6(6):411.

3. Bray GA. Medical Consequences of Obesity. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2004 Jun 1;89(6):2583–9.

4. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Consensus Panel. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Recommendations on the Diagnosis and Classification of Hyperglycemia in Pregnancy. Diabetes Care. 2010 Mar 1;33(3):676–82.

5. Wang H, Li N, Chivese T, Werfalli M, Sun H, Yuen L, et al. IDF Diabetes Atlas: Estimation of Global and Regional Gestational Diabetes Mellitus Prevalence for 2021 by International Association of Diabetes in Pregnancy Study Group's Criteria. Diabetes Research and Clinical Practice [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2023 Jan 6];183. Available from: https://www.diabetesresearchclinicalpractice.com/article/S0168-8227(21)00409-5/fulltext

6. Lowe WL, Scholtens DM, Lowe LP, Kuang A, Nodzenski M, Talbot O, et al. Association of Gestational Diabetes With Maternal Disorders of Glucose Metabolism and Childhood Adiposity. JAMA. 2018 Sep 11;320(10):1005.

7. Kim C, Newton KM, Knopp RH. Gestational Diabetes and the Incidence of Type 2 Diabetes: A systematic review. Diabetes Care. 2002 Oct 1;25(10):1862–8.

8. Auvinen AM, Luiro K, Jokelainen J, Järvelä I, Knip M, Auvinen J, et al. Type 1 and type 2 diabetes after gestational diabetes: a 23 year cohort study. Diabetologia. 2020 Oct 1;63(10):2123–8.

9. Perämäki R, Gissler M, Ollila MM, Hukkanen J, Vääräsmäki M, Uotila J, et al. The risk of developing type 2 diabetes after gestational diabetes: A registry study from Finland. Diabetes Epidemiology and Management. 2023 Apr 1;10:100124.

10. Harreiter J, Dovjak G, Kautzky-Willer A. Gestational Diabetes Mellitus and Cardiovascular Risk after Pregnancy. Womens Health (Lond Engl). 2014 0 1;10(1):91–108.

11. Chu SY, Callaghan WM, Kim SY, Schmid CH, Lau J, England LJ, et al. Maternal Obesity and Risk of Gestational Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 2007 Aug 1;30(8):2070–6.

12. Mehmood S, Margolis M, Ye C, Maple-Brown L, Hanley AJ, Connelly PW, et al. Hepatic fat and glucose tolerance in women with recent gestational diabetes. BMJ Open Diabetes Research and Care. 2018 Sep 1;6(1):e000549.

13. Tabák A, Jokela M, Akbaraly T, Brunner E, Kivimäki M, Witte D. Trajectories of Glycemia, Insulin Sensitivity and Insulin Secretion Preceding the Diagnosis of Type 2 Diabetes: The Whitehall II Study. Lancet. 2009 Jun 27;373(9682):2215–21.

14. Gaál Zs, Gerő L, Hidvégi T, Jermendy Gy, Kempler P, Winkler G, et al. Egészségügyi szakmai irányelv – A diabetes mellitus kórismézéséről, a cukorbetegek antihyperglykaemiás kezeléséről és gondozásáról felnőttkorban. Jermendy Gy, editor. Diabetologia Hungarica. 2017;25(1):3–77.

15. World Health, Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications : report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus. In Geneva: World Health Organization; 1999. p. WHO/NCD/NCS/99.2.

16. Home, Resources, diabetes L with, Acknowledgement, FAQs, Contact, et al. IDF Diabetes Atlas | Tenth Edition [Internet]. [cited 2022 Dec 15]. Available from: https://diabetesatlas.org/

17. Jermendy G, Kiss Z, Rokszin G, Abonyi-Tóth Z, Wittmann I, Kempler P. A 2-es típusú diabetes antihyperglykaemiás kezelésének alakulása Magyarországon 2001–

2014 között – az Országos Egészségbiztosítási Pénztár adatbázis-elemzésének eredményei. Orvosi Hetilap. 2017 May 1;158(20):770–8.

18. World Health Organization. World Health Organization: Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia. Report of a WHO consultation. [Internet]. 2006. Available from: http://www.who.int/diabetes/publications/Definition%20and%20diagnosis%20of%20diabetes_new.pdf

19. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes. Diabetes Care. 2016 Jan 1;39(Supplement_1):S13–22.

20. Lomonaco R, Godinez Leiva E, Bril F, Shrestha S, Mansour L, Budd J, et al. Advanced Liver Fibrosis Is Common in Patients With Type 2 Diabetes Followed in the Outpatient Setting: The Need for Systematic Screening. Diabetes Care. 2021 Jan 13;44(2):399–406.

21. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 1979 Sep;237(3):E214.

22. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia. 1985 Jul 1;28(7):412–9.

23. Levy JC, Matthews DR, Hermans MP. Correct Homeostasis Model Assessment (HOMA) Evaluation Uses the Computer Program. Diabetes Care. 1998 Dec 1;21(12):2191–2.

24. Guerrero-Romero F, Villalobos-Molina R, Jiménez-Flores JR, Simental-Mendia LE, Méndez-Cruz R, Murguía-Romero M, et al. Fasting Triglycerides and Glucose Index as a Diagnostic Test for Insulin Resistance in Young Adults. Archives of Medical Research. 2016 Jul 1;47(5):382–7.

25. Matsuda M, DeFronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. Diabetes Care. 1999 Sep 1;22(9):1462–70.

26. Bergman RN, Phillips LS, Cobelli C. Physiologic evaluation of factors controlling glucose tolerance in man: measurement of insulin sensitivity and beta-cell glucose sensitivity from the response to intravenous glucose. J Clin Invest. 1981 Dec;68(6):1456–67.

27. Kahn SE, Prigeon RL, McCulloch DK, Boyko EJ, Bergman RN, Schwartz MW, et al. Quantification of the Relationship Between Insulin Sensitivity and β-Cell Function in Human Subjects: Evidence for a Hyperbolic Function. Diabetes. 1993 Nov 1;42(11):1663–72.

28. Utzschneider KM, Prigeon RL, Faulenbach MV, Tong J, Carr DB, Boyko EJ, et al. Oral Disposition Index Predicts the Development of Future Diabetes Above and Beyond Fasting and 2-h Glucose Levels. Diabetes Care. 2009 Feb 1;32(2):335–41.

29. Lorenzo C, Wagenknecht LE, Rewers MJ, Karter AJ, Bergman RN, Hanley AJG, et al. Disposition Index, Glucose Effectiveness, and Conversion to Type 2 Diabetes. Diabetes Care. 2010 Sep;33(9):2098–103.

30. Meigs JB, Cupples LA, Wilson PW. Parental transmission of type 2 diabetes: the Framingham Offspring Study. Diabetes. 2000 Dec 1;49(12):2201–7.

31. Prasad RB, Groop L. Genetics of Type 2 Diabetes—Pitfalls and Possibilities. Genes. 2015 Mar;6(1):87–123.

32. Willemsen G, Ward KJ, Bell CG, Christensen K, Bowden J, Dalgård C, et al. The Concordance and Heritability of Type 2 Diabetes in 34,166 Twin Pairs From International Twin Registers: The Discordant Twin (DISCOTWIN) Consortium. Twin Research and Human Genetics. 2015 Dec;18(6):762–71.

33. Franks PW, Pearson E, Florez JC. Gene-Environment and Gene-Treatment Interactions in Type 2 Diabetes. Diabetes Care. 2013 May 1;36(5):1413–21.

34. Fuchsberger C, Flannick J, Teslovich TM, Mahajan A, Agarwala V, Gaulton KJ, et al. The genetic architecture of type 2 diabetes. Nature. 2016 Aug;536(7614):41–7.

35. Cuschieri S. The genetic side of type 2 diabetes – A review. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews. 2019 Jul 1;13(4):2503–6.

36. Mahajan A, Taliun D, Thurner M, Robertson NR, Torres JM, Rayner NW, et al. Fine-mapping type 2 diabetes loci to single-variant resolution using high-density imputation and islet-specific epigenome maps. Nat Genet. 2018 Nov;50(11):1505–13.

37. Krentz NAJ, Gloyn AL. Insights into pancreatic islet cell dysfunction from type 2 diabetes mellitus genetics. Nat Rev Endocrinol. 2020 Apr;16(4):202–12.

38. Lonardo A, Leoni S, Alswat KA, Fouad Y. History of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. International Journal of Molecular Sciences. 2020 Jan;21(16):5888.

39. Addison, T. Observations on fatty degeneration of the liver. Guys Hosp Rep 1836, 1, 485.

40. Rokitansky, C.A. Skizze der Größen und Formabweichungen der Leber. Bruchstück Med Jahrb des kaisl, königl Österr Staates 1839 Bd 29 oder neueste Folge Bd 20 Wien: 557.

41. Connor CL. Fatty infiltration of the liver and the development of cirrhosis in diabetes and chronic alcoholism. Am J Pathol. 1938 May;14(3):347-364.9.

42. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. Mayo Clin Proc. 1980 Jul;55(7):434–8.

43. Schaffner F, Thaler H. Nonalcoholic fatty liver disease. Prog Liver Dis. 1986;8:283–98.

44. Fouad Y, Waked I, Bollipo S, Gomaa A, Ajlouni Y, Attia D. What's in a name? Renaming 'NAFLD' to 'MAFLD.' Liver International. 2020;40(6):1254–61.

45. Eslam M, Newsome PN, Sarin SK, Anstee QM, Targher G, Romero-Gomez M, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. Journal of Hepatology. 2020 Jul 1;73(1):202–9.

46. Huang Q, Zou X, Wen X, Zhou X, Ji L. NAFLD or MAFLD: Which Has Closer Association With All-Cause and Cause-Specific Mortality?—Results From NHANES III. Front Med. 2021 Jul 1;8:693507.

47. European Association for the Study of the Liver (EASL)European Association for the Study of Diabetes (EASD)European Association for the Study of Obesity (EASO). EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. Journal of Hepatology. 2016 Jun;64(6):1388–402.

48. Nádasdi Á, Somogyi A, Igaz P, Firneisz G. Nem alkoholos zsírmájbetegség – a 2016. évi közös EASL–EASD–EASO klinikai ajánlás fényében. Orvosi Hetilap. 2018 Nov;159(45):1815–30.

49. Turchinovich A, Baranova A, Drapkina O, Tonevitsky A. Cell-Free Circulating Nucleic Acids as Early Biomarkers for NAFLD and NAFLD-Associated Disorders. Frontiers in Physiology [Internet]. 2018 [cited 2022 Nov 30];9. Available from: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2018.01256

50. Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, DeFronzo RA, Bugianesi E, Gastaldelli A. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Its Connection with Insulin Resistance, Dyslipidemia, Atherosclerosis and Coronary Heart Disease. Nutrients. 2013 May 10;5(5):1544–60.

51. Kang YM, Jung CH, Cho YK, Lee SE, Lee MJ, Hwang JY, et al. Fatty liver disease determines the progression of coronary artery calcification in a metabolically healthy obese population. PLOS ONE. 2017 Apr 18;12(4):e0175762.

52. Minhas AM, Usman MS, Khan MS, Fatima K, Mangi MA, Illovsky MA. Link Between Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Atrial Fibrillation: A Systematic Review and Meta-Analysis. Cureus. 2017 Apr 6;9(4):e1142.

53. Kwak MS, Yim JY, Yi A, Chung GE, Yang JI, Kim D, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with breast cancer in nonobese women. Dig Liver Dis. 2019 0;

54. Angulo P. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. New England Journal of Medicine. 2002 Apr 18;346(16):1221–31.

55. Firneisz G. Non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus: The liver disease of our age? World J Gastroenterol. 2014 Jul 21;20(27):9072–89.

56. Allen AM, Hicks SB, Mara KC, Larson JJ, Therneau TM. The risk of incident extrahepatic cancers is higher in non-alcoholic fatty liver disease than obesity – A longitudinal cohort study. Journal of Hepatology. 2019 Dec 1;71(6):1229–36.

57. Permutt Z, Le TA, Peterson MR, Seki E, Brenner DA, Sirlin C, et al. Correlation between liver histology and novel magnetic resonance imaging in adult patients with non-alcoholic fatty liver disease – MRI accurately quantifies hepatic steatosis in NAFLD. Aliment Pharmacol Ther. 2012 Jul;36(1):22–9.

58. Szczepaniak LS, Babcock EE, Schick F, Dobbins RL, Garg A, Burns DK, et al. Measurement of intracellular triglyceride stores by H spectroscopy: validation in vivo. American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism. 1999 May 1;276(5):E977–89.

59. Krššák M, Hofer H, Wrba F, Meyerspeer M, Brehm A, Lohninger A, et al. Non-invasive assessment of hepatic fat accumulation in chronic hepatitis C by 1H magnetic resonance spectroscopy. European Journal of Radiology. 2010 Jun 1;74(3):e60–6.

60. Ratziu V, Ghabril M, Romero-Gomez M, Svegliati-Baroni G. Recommendations for Management and Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. Transplantation. 2019 0;103(1):28–38.

61. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. Hepatology. 2016;64(1):73–84.

62. Sayiner M, Koenig A, Henry L, Younossi ZM. Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States and the Rest of the World. Clinics in Liver Disease. 2016 May;20(2):205–14.

63. Sahota AK, Shapiro WL, Newton KP, Kim ST, Chung J, Schwimmer JB. Incidence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: 2009–2018. Pediatrics. 2020 Dec 1;146(6):e20200771.

64. Hernaez R, Lazo M, Bonekamp S, Kamel I, Brancati FL, Guallar E, et al. Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: A meta-analysis. Hepatology. 2011 Sep 2;54(3):1082–90.

65. Lédinghen V de, Vergniol J, Foucher J, Merrouche W, Bail B le. Non-invasive diagnosis of liver steatosis using controlled attenuation parameter (CAP) and transient elastography. Liver International. 2012;32(6):911–8.

66. Baumeler S, Jochum W, Neuweiler J, Bergamin I, Semela D. Controlled attenuation parameter for the assessment of liver steatosis in comparison with liver histology: a single-centre real life experience. Swiss Med Wkly [Internet]. 2019 Apr 26 [cited 2020 Jan 20]; Available from: https://doi.emh.ch/smw.2019.20077

67. Karlas T, Petroff D, Garnov N, Böhm S, Tenckhoff H, Wittekind C, et al. Non-Invasive Assessment of Hepatic Steatosis in Patients with NAFLD Using Controlled Attenuation Parameter and 1H-MR Spectroscopy. PLOS ONE. 2014 Mar 17;9(3):e91987.

68. Caussy C, Alquiraish MH, Nguyen P, Hernandez C, Cepin S, Fortney LE, et al. Optimal threshold of controlled attenuation parameter with MRI-PDFF as the gold standard for the detection of hepatic steatosis. Hepatology. 2018;67(4):1348–59.

69. Dendl LM, Schreyer AG. Steatosis hepatis – eine Herausforderung? Radiologe. 2012 Aug 1;52(8):745–52.

70. Heimbach JK, Kulik LM, Finn RS, Sirlin CB, Abecassis MM, Roberts LR, et al. AASLD guidelines for the treatment of hepatocellular carcinoma. Hepatology. 2018;67(1):358–80.

71. Recommendations | Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): assessment and management | Guidance | NICE [Internet]. NICE; [cited 2022 Dec 9]. Available from: https://www.nice.org.uk/guidance/ng49/chapter/Recommendations

72. Sookoian S, Pirola CJ. Genetic predisposition in nonalcoholic fatty liver disease. Clin Mol Hepatol. 2017 Mar;23(1):1–12.

73. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, et al. Genetic variation in *PNPLA3* confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. Nature Genetics. 2008 Dec;40(12):1461–5.

74. Speliotes EK, Yerges-Armstrong LM, Wu J, Hernaez R, Kim LJ, Palmer CD, et al. Genome-Wide Association Analysis Identifies Variants Associated with Nonalcoholic Fatty Liver Disease That Have Distinct Effects on Metabolic Traits. PLOS Genet. 2011 Mar 10;7(3):e1001324.

75. Fairfield CJ, Drake TM, Pius R, Bretherick AD, Campbell A, Clark DW, et al. Genome-Wide Association Study of NAFLD Using Electronic Health Records. Hepatology Communications. 2022;6(2):297–308.

76. Donati B, Motta BM, Pingitore P, Meroni M, Pietrelli A, Alisi A, et al. The rs2294918 E434K variant modulates patatin-like phospholipase domain-containing 3 expression and liver damage. Hepatology. 2016 Mar 1;63(3):787–98.

77. Rosta K, Al-Aissa Z, Hadarits O, Harreiter J, Nádasdi Á, Kelemen F, et al. Association Study with 77 SNPs Confirms the Robust Role for the rs10830963/G of MTNR1B Variant and Identifies Two Novel Associations in Gestational Diabetes Mellitus Development. PLOS ONE. 2017 Jan 10;12(1):e0169781.

78. Pirola CJ, Sookoian S. The dual and opposite role of the TM6SF2-rs58542926 variant in protecting against cardiovascular disease and conferring risk for nonalcoholic fatty liver: A meta-analysis. Hepatology. 2015;62(6):1742–56.

79. Sookoian S, Pirola CJ, Valenti L, Davidson NO. Genetic Pathways in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Insights From Systems Biology. Hepatology. 2020;72(1):330–46.

80. Dongiovanni P, Crudele A, Panera N, Romito I, Meroni M, De Stefanis C, et al. β-Klotho gene variation is associated with liver damage in children with NAFLD. Journal of Hepatology. 2020 Mar 1;72(3):411–9.

81. Cunningham F, Allen JE, Allen J, Alvarez-Jarreta J, Amode MR, Armean IM, et al. Ensembl 2022. Nucleic Acids Research. 2022 Jan 7;50(D1):D988–95.

82. Peter A, Kovarova M, Nadalin S, Cermak T, Königsrainer A, Machicao F, et al. PNPLA3 variant I148M is associated with altered hepatic lipid composition in humans. Diabetologia. 2014 Oct 1;57(10):2103–7.

83. Sookoian S, Pirola CJ. Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2011;53(6):1883–94.

84. Carpino G, Pastori D, Baratta F, Overi D, Labbadia G, Polimeni L, et al. PNPLA3 variant and portal/periportal histological pattern in patients with biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease: a possible role for oxidative stress. Sci Rep. 2017 Dec;7(1):15756.

85. Rotman Y, Koh C, Zmuda JM, Kleiner DE, Liang TJ, Crn the N. The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2010;52(3):894–903.

86. Mandorfer M, Scheiner B, Stättermayer AF, Schwabl P, Paternostro R, Bauer D, et al. Impact of patatin-like phospholipase domain containing 3 rs738409 G/G genotype on hepatic decompensation and mortality in patients with portal hypertension. Alimentary Pharmacology & Therapeutics. 2018 Aug 1;48(4):451–9.

87. Hassan MM, Kaseb A, Etzel CJ, El-Serag H, Spitz MR, Chang P, et al. Genetic variation in the PNPLA3 gene and hepatocellular carcinoma in USA: Risk and prognosis prediction. Mol Carcinog. 2013 0 1;52(S1):139–47.

88. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases: Hepatology, Vol. XX, No. X, 2017. Hepatology. 2018 Jan;67(1):328–57.

89. Cusi K, Isaacs S, Barb D, Basu R, Caprio S, Garvey WT, et al. American Association of Clinical Endocrinology Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Primary Care and Endocrinology Clinical Settings: Co-Sponsored by the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). Endocrine Practice. 2022 May 1;28(5):528–62.

90. Liu Y ming, Moldes M, Bastard JP, Bruckert E, Viguerie N, Hainque B, et al. Adiponutrin: A New Gene Regulated by Energy Balance in Human Adipose Tissue. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2004 Jun 1;89(6):2684–9.

91. Moldes M, Beauregard G, Faraj M, Peretti N, Ducluzeau PH, Laville M, et al. Adiponutrin gene is regulated by insulin and glucose in human adipose tissue. Eur J Endocrinol. 2006 Jan 9;155(3):461–8.

92. Fagerberg L, Hallström BM, Oksvold P, Kampf C, Djureinovic D, Odeberg J, et al. Analysis of the Human Tissue-specific Expression by Genome-wide Integration of Transcriptomics and Antibody-based Proteomics. Mol Cell Proteomics. 2014 Feb;13(2):397–406.

93. Bruschi FV, Tardelli M, Herac M, Claudel T, Trauner M. Metabolic regulation of hepatic PNPLA3 expression and severity of liver fibrosis in patients with NASH. Liver International. 2020;40(5):1098–110.

94. Loomba R, Friedman SL, Shulman GI. Mechanisms and disease consequences of nonalcoholic fatty liver disease. Cell. 2021 May 13;184(10):2537–64.

95. Rady B, Nishio T, Dhar D, Liu X, Erion M, Kisseleva T, et al. PNPLA3 downregulation exacerbates the fibrotic response in human hepatic stellate cells. Avila MA, editor. PLoS ONE. 2021 Dec 8;16(12):e0260721.

96. Kovarova M, Königsrainer I, Königsrainer A, Machicao F, Häring HU, Schleicher E, et al. The Genetic Variant I148M in PNPLA3 Is Associated With Increased Hepatic Retinyl-Palmitate Storage in Humans. J Clin Endocrinol Metab. 2015 Dec 1;100(12):E1568–74.

97. Mondul A, Mancina RM, Merlo A, Dongiovanni P, Rametta R, Montalcini T, et al. PNPLA3 I148M Variant Influences Circulating Retinol in Adults with Nonalcoholic Fatty Liver Disease or Obesity. J Nutr. 2015 Jan 8;145(8):1687–91.

98. Mancina RM, Matikainen N, Maglio C, Söderlund S, Lundbom N, Hakkarainen A, et al. Paradoxical Dissociation Between Hepatic Fat Content and De Novo Lipogenesis Due to PNPLA3 Sequence Variant. J Clin Endocrinol Metab. 2015 May 1;100(5):E821–5.

99. Franko A, Merkel D, Kovarova M, Hoene M, Jaghutriz BA, Heni M, et al. Dissociation of Fatty Liver and Insulin Resistance in I148M PNPLA3 Carriers: Differences in Diacylglycerol (DAG) FA18:1 Lipid Species as a Possible Explanation. Nutrients. 2018 Sep;10(9):1314.

100. Kotronen A, Johansson LE, Johansson LM, Roos C, Westerbacka J, Hamsten A, et al. A common variant in PNPLA3, which encodes adiponutrin, is associated with liver fat content in humans. Diabetologia. 2009 Jun 1;52(6):1056–60.

101. Lallukka S, Yki-Järvinen H. Non-alcoholic fatty liver disease and risk of type 2 diabetes. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism. 2016 Jun;30(3):385–95.

102. Qiao A, Liang J, Ke Y, Li C, Cui Y, Shen L, et al. Mouse patatin-like phospholipase domain-containing 3 influences systemic lipid and glucose homeostasis. Hepatology. 2011;54(2):509–21.

103. He S, McPhaul C, Li JZ, Garuti R, Kinch L, Grishin NV, et al. A Sequence Variation (I148M) in PNPLA3 Associated with Nonalcoholic Fatty Liver Disease Disrupts Triglyceride Hydrolysis. J Biol Chem. 2010 Feb 26;285(9):6706–15.

104. Kumari M, Schoiswohl G, Chitraju C, Paar M, Cornaciu I, Rangrez AY, et al. Adiponutrin Functions as a Nutritionally Regulated Lysophosphatidic Acid Acyltransferase. Cell Metab. 2012 May 2;15(5):691–702.

105. Huang Y, Cohen JC, Hobbs HH. Expression and Characterization of a PNPLA3 Protein Isoform (I148M) Associated with Nonalcoholic Fatty Liver Disease*. Journal of Biological Chemistry. 2011 Oct 28;286(43):37085–93.

106. Sookoian S, Pirola CJ. PNPLA3, the triacylglycerol synthesis/hydrolysis/storage dilemma, and nonalcoholic fatty liver disease. World J Gastroenterol. 2012 Nov 14;18(42):6018–26.

107. Ray SB. PNPLA3-I148M: a problem of plenty in non-alcoholic fatty liver disease. Adipocyte. 2019 0 2;8(1):201–8.

108. Zimmermann R, Strauss JG, Haemmerle G, Schoiswohl G, Birner-Gruenberger R, Riederer M, et al. Fat Mobilization in Adipose Tissue Is Promoted by Adipose Triglyceride Lipase. Science. 2004 Nov 19;306(5700):1383–6.

109. Yang A, Mottillo EP, Mladenovic-Lucas L, Zhou L, Granneman JG. Dynamic interactions of ABHD5 with PNPLA3 regulate triacylglycerol metabolism in brown adipocytes. Nat Metab. 2019 May;1(5):560–9.

110. Romeo S, Savage DB. Lipase tug of war: PNPLA3 sequesters ABHD5 from ATGL. Nature Metabolism. 2019 May;1(5):505.

111. BasuRay S, Smagris E, Cohen JC, Hobbs HH. The PNPLA3 variant associated with fatty liver disease (I148M) accumulates on lipid droplets by evading ubiquitylation. Hepatology. 2017;66(4):1111–24.

112. Lafferty RA, O'Harte FPM, Irwin N, Gault VA, Flatt PR. Proglucagon-Derived Peptides as Therapeutics. Front Endocrinol [Internet]. 2021 May 18 [cited 2023 Jan 9];12. Available from: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2021.689678/full

113. Hinke SA, Pospisilik JA, Demuth HU, Mannhart S, Kühn-Wache K, Hoffmann T, et al. Dipeptidyl Peptidase IV (DPIV/CD26) Degradation of Glucagon: CHARACTERIZATION OF GLUCAGON DEGRADATION PRODUCTS AND DPIV-RESISTANT ANALOGS*. Journal of Biological Chemistry. 2000 Feb 11;275(6):3827–34.

114. Adeva-Andany MM, Funcasta-Calderón R, Fernández-Fernández C, Castro-Quintela E, Carneiro-Freire N. Metabolic effects of glucagon in humans. Journal of Clinical & Translational Endocrinology. 2019 Mar 1;15:45–53.

115. Morris A. Acute effects of glucagon on the liver. Nat Rev Endocrinol. 2018 Jun;14(6):323–323.

116. Rix I, Nexøe-Larsen C, Bergmann NC, Lund A, Knop FK. Glucagon Physiology [Internet]. Endotext [Internet]. MDText.com, Inc.; 2019 [cited 2021 Jul 19]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK279127/

117. Salem V, Izzi-Engbeaya C, Coello C, Thomas DB, Chambers ES, Comninos AN, et al. Glucagon increases energy expenditure independently of brown adipose tissue activation in humans. Diabetes, Obesity and Metabolism. 2016;18(1):72–81.

118. Ahrén B. Glucagon – Early breakthroughs and recent discoveries. Peptides. 2015 May 1;67:74–81.

119. Habegger KM, Heppner KM, Geary N, Bartness TJ, DiMarchi R, Tschöp MH. The metabolic actions of glucagon revisited. Nature Reviews Endocrinology. 2010 Dec;6(12):689–97.

120. Solloway MJ, Madjidi A, Gu C, Eastham-Anderson J, Clarke HJ, Kljavin N, et al. Glucagon Couples Hepatic Amino Acid Catabolism to mTOR-Dependent Regulation of α-Cell Mass. Cell Rep. 2015 Jul 21;12(3):495–510.

121. Knop FK. EJE PRIZE 2018: A gut feeling about glucagon. Eur J Endocrinol. 2018 Jan 6;178(6):R267–80.

122. Wewer Albrechtsen NJ, Pedersen J, Galsgaard KD, Winther-Sørensen M, Suppli MP, Janah L, et al. The Liver–α-Cell Axis and Type 2 Diabetes. Endocr Rev. 2019 Oct 1;40(5):1353–66.

123. Suppli MP, Bagger JI, Lund A, Demant M, Hall G van, Strandberg C, et al. Glucagon Resistance at the Level of Amino Acid Turnover in Obese Subjects with Hepatic Steatosis. Diabetes [Internet]. 2020 Jan 17 [cited 2020 Jan 30]; Available from: https://diabetes.diabetesjournals.org/content/early/2020/01/17/db19-0715

124. Wewer Albrechtsen NJ, Junker AE, Christensen M, Hædersdal S, Wibrand F, Lund AM, et al. Hyperglucagonemia correlates with plasma levels of non-branched-chain amino acids in patients with liver disease independent of type 2 diabetes. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. 2018 Jan 1;314(1):G91–6.

125. Janah, Kjeldsen, Galsgaard, Winther-Sørensen, Stojanovska, Pedersen, et al. Glucagon Receptor Signaling and Glucagon Resistance. IJMS. 2019 Jul 5;20(13):3314.

126. Richter MM, Galsgaard KD, Elmelund E, Knop FK, Suppli MP, Holst JJ, et al. The Liver–α-Cell Axis in Health and in Disease. Diabetes. 2022 Jun 3;71(9):1852–61.

127. Ogilvie RF. The islands of langerhans in 19 cases of obesity. The Journal of Pathology and Bacteriology. 1933;37(3):473–81.

128. Catanzaro R, Cuffari B, Italia A, Marotta F. Exploring the metabolic syndrome: Nonalcoholic fatty pancreas disease. World J Gastroenterol. 2016 Sep 14;22(34):7660–75.

129. Jermendy G. A nem alkoholos hasnyálmirigy-elzsírosodás klinikai jelentősége. Orvosi Hetilap. 2022 Oct 30;163(44):1735–42.

130. Lingvay I, Esser V, Legendre JL, Price AL, Wertz KM, Adams-Huet B, et al. Noninvasive Quantification of Pancreatic Fat in Humans. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2009 Oct 1;94(10):4070–6.

131. Smits MM, van Geenen EJM. The clinical significance of pancreatic steatosis. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2011 Mar;8(3):169–77.

132. Singh RG, Yoon HD, Wu LM, Lu J, Plank LD, Petrov MS. Ectopic fat accumulation in the pancreas and its clinical relevance: A systematic review, meta-analysis, and meta-regression. Metabolism. 2017 Apr 1;69:1–13.

133. Whitcher B, Thanaj M, Cule M, Liu Y, Basty N, Sorokin EP, et al. Precision MRI phenotyping enables detection of small changes in body composition for longitudinal cohorts. Sci Rep. 2022 Mar 8;12(1):3748.

134. Gaborit B, Abdesselam I, Kober F, Jacquier A, Ronsin O, Emungania O, et al. Ectopic fat storage in the pancreas using ^{1}H-MRS: importance of diabetic status and modulation with bariatric surgery-induced weight loss. International Journal of Obesity. 2015 Mar;39(3):480–7.

135. Kühn JP, Berthold F, Mayerle J, Völzke H, Reeder SB, Rathmann W, et al. Pancreatic Steatosis Demonstrated at MR Imaging in the General Population: Clinical Relevance. Radiology. 2015 0 5;276(1):129–36.

136. Heni M, Machann J, Staiger H, Schwenzer NF, Peter A, Schick F, et al. Pancreatic fat is negatively associated with insulin secretion in individuals with impaired fasting glucose and/or impaired glucose tolerance: a nuclear magnetic resonance study. Diabetes Metab Res Rev. 2010 Mar 1;26(3):200–5.

137. van der Zijl NJ, Goossens GH, Moors CCM, van Raalte DH, Muskiet MHA, Pouwels PJW, et al. Ectopic Fat Storage in the Pancreas, Liver, and Abdominal Fat Depots: Impact on β-Cell Function in Individuals with Impaired Glucose Metabolism. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2011 0 1;96(2):459–67.

138. Heber SD, Hetterich H, Lorbeer R, Bayerl C, Machann J, Auweter S, et al. Pancreatic fat content by magnetic resonance imaging in subjects with prediabetes, diabetes, and controls from a general population without cardiovascular disease. PLOS ONE. 2017 May 17;12(5):e0177154.

139. Kato S, Iwasaki A, Kurita Y, Arimoto J, Yamamoto T, Hasegawa S, et al. Three-dimensional analysis of pancreatic fat by fat-water magnetic resonance imaging provides detailed characterization of pancreatic steatosis with improved reproducibility. PLOS ONE. 2019 Dec 2;14(12):e0224921.

140. Patel NS, Peterson MR, Lin GY, Feldstein A, Schnabl B, Bettencourt R, et al. Insulin Resistance Increases MRI-Estimated Pancreatic Fat in Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Normal Controls. Gastroenterology Research and Practice. 2013 Nov 17;2013:e498296.

141. Hannukainen JC, Borra R, Linderborg K, Kallio H, Kiss J, Lepomäki V, et al. Liver and pancreatic fat content and metabolism in healthy monozygotic twins with discordant physical activity. Journal of Hepatology. 2011 Mar 1;54(3):545–52.

142. Tushuizen ME, Bunck MC, Pouwels PJ, Bontemps S, Waesberghe JHT van, Schindhelm RK, et al. Pancreatic Fat Content and β-Cell Function in Men With and Without Type 2 Diabetes. Diabetes Care. 2007 Nov 1;30(11):2916–21.

143. Steven S, Hollingsworth KG, Small PK, Woodcock SA, Pucci A, Aribisala B, et al. Weight Loss Decreases Excess Pancreatic Triacylglycerol Specifically in Type 2 Diabetes. Diabetes Care. 2016 Jan 1;39(1):158–65.

144. Nauck MA, Kind J, Köthe LD, Holst JJ, Deacon CF, Broschag M, et al. Quantification of the Contribution of GLP-1 to Mediating Insulinotropic Effects of DPP-4 Inhibition With Vildagliptin in Healthy Subjects and Patients With Type 2 Diabetes Using Exendin [9-39] as a GLP-1 Receptor Antagonist. Diabetes. 2016 Apr 5;65(8):2440–7.

145. Honka H, Koffert J, Hannukainen JC, Tuulari JJ, Karlsson HK, Immonen H, et al. The Effects of Bariatric Surgery on Pancreatic Lipid Metabolism and Blood Flow. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2015 May 1;100(5):2015–23.

146. Thomsen MN, Skytte MJ, Samkani A, Carl MH, Weber P, Astrup A, et al. Dietary carbohydrate restriction augments weight loss-induced improvements in

glycaemic control and liver fat in individuals with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. Diabetologia. 2022 Mar 1;65(3):506–17.

147. Hummel J, Machann J, Dannecker C, Kullmann S, Birkenfeld AL, Häring HU, et al. Eight weeks of empagliflozin does not affect pancreatic fat content and insulin secretion in people with prediabetes. Diabetes, Obesity and Metabolism. 2022;24(8):1661–6.

148. Lazo M, Hernaez R, Eberhardt MS, Bonekamp S, Kamel I, Guallar E, et al. Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in the United States: The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. American Journal of Epidemiology. 2013 Jul 1;178(1):38–45.

149. Caruso I, Marrano N, Biondi G, Genchi VA, D'Oria R, Sorice GP, et al. Glucagon in type 2 diabetes: Friend or foe? Diabetes/Metabolism Research and Reviews. n/a(n/a):e3609.

150. DeFronzo RA. From the Triumvirate to the Ominous Octet: A New Paradigm for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. Diabetes. 2009 Apr 1;58(4):773–95.

151. Guan HP, Yang X, Lu K, Wang SP, Castro-Perez JM, Previs S, et al. Glucagon receptor antagonism induces increased cholesterol absorption. J Lipid Res. 2015;56(11):2183–95.

152. Petersen KF, Sullivan JT. Effects of a novel glucagon receptor antagonist (Bay 27–9955) on glucagon-stimulated glucose production in humans. Diabetologia. 2001 Nov 1;44(11):2018–24.

153. Thomsen SK, Gloyn AL. The pancreatic β cell: recent insights from human genetics. Trends in Endocrinology & Metabolism. 2014 Aug 1;25(8):425–34.

154. Yamazaki H, Tauchi S, Machann J, Haueise T, Yamamoto Y, Dohke M, et al. Fat Distribution Patterns and Future Type 2 Diabetes. Diabetes. 2022 Sep 1;71(9):1937–45.

155. Lyssenko V, Lupi R, Marchetti P, Guerra SD, Orho-Melander M, Almgren P, et al. Mechanisms by which common variants in the *TCF7L2* gene increase risk of type 2 diabetes. J Clin Invest. 2007 Aug 1;117(8):2155–63.

156. Zhou Y, Park SY, Su J, Bailey K, Ottosson-Laakso E, Shcherbina L, et al. TCF7L2 is a master regulator of insulin production and processing. Hum Mol Genet. 2014;23(24):6419–31.

157. Yi F, Brubaker PL, Jin T. TCF-4 Mediates Cell Type-specific Regulation of Proglucagon Gene Expression by β-Catenin and Glycogen Synthase Kinase-3β*. Journal of Biological Chemistry. 2005 Jan 14;280(2):1457–64.

158. Grant SFA, Thorleifsson G, Reynisdottir I, Benediktsson R, Manolescu A, Sainz J, et al. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. Nat Genet. 2006 Mar;38(3):320–3.

159. Zeggini E, Scott LJ, Saxena R, Voight BF, Marchini JL, Hu T, et al. Meta-analysis of genome-wide association data and large-scale replication identifies additional susceptibility loci for type 2 diabetes. Nat Genet. 2008 May;40(5):638–45.

160. Dupuis J, Langenberg C, Prokopenko I, Saxena R, Soranzo N, Jackson AU, et al. New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. Nat Genet. 2010 Feb;42(2):105–16.

161. Voight BF, Scott LJ, Steinthorsdottir V, Morris AP, Dina C, Welch RP, et al. Twelve type 2 diabetes susceptibility loci identified through large-scale association analysis. Nat Genet. 2010 Jul;42(7):579–89.

162. Pullen TJ, Huising MO, Rutter GA. Analysis of Purified Pancreatic Islet Beta and Alpha Cell Transcriptomes Reveals 11β-Hydroxysteroid Dehydrogenase (Hsd11b1) as a Novel Disallowed Gene. Frontiers in Genetics. 2017;8:41.

163. Lutz SZ, Peter A, Machicao F, Lamprinou A, Machann J, Schick F, et al. Genetic Variation in the 11β-hydroxysteroid-dehydrogenase 1 Gene Determines

NAFLD and Visceral Obesity. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2016 Dec 1;101(12):4743–51.

164. Molnár Á, Kövesdi A, Szücs N, Tóth M, Igaz P, Rácz K, et al. Polymorphisms of the GR and HSD11B1 genes influence body mass index and weight gain during hormone replacement treatment in patients with Addison's disease. Clinical Endocrinology. 2016;85(2):180–8.

165. Simon R, Maitournam A. Evaluating the Efficiency of Targeted Designs for Randomized Clinical Trials. Clinical Cancer Research. 2004 Oct 22;10(20):6759–63.

166. Franks PW, Nettleton JA. Invited Commentary: Gene × Lifestyle Interactions and Complex Disease Traits—Inferring Cause and Effect From Observational Data, Sine Qua Non. American Journal of Epidemiology. 2010 Nov 1;172(9):992–7.

167. Atabaki-Pasdar N, Ohlsson M, Shungin D, Kurbasic A, Ingelsson E, Pearson ER, et al. Statistical power considerations in genotype-based recall randomized controlled trials. Sci Rep. 2016 Nov 25;6(1):37307.

168. Caumo A, Perseghin G, Brunani A, Luzi L. New Insights on the Simultaneous Assessment of Insulin Sensitivity and β-Cell Function With the HOMA2 Method. Diabetes Care. 2006 Dec 1;29(12):2733–4.

169. Retnakaran R, Shen S, Hanley AJ, Vuksan V, Hamilton JK, Zinman B. Hyperbolic Relationship Between Insulin Secretion and Sensitivity on Oral Glucose Tolerance Test. Obesity. 2008;16(8):1901–7.

170. Matsuda M. Measuring and estimating insulin resistance in clinical and research settings. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases. 2010 Feb 1;20(2):79–86.

171. Lee J, Kim B, Kim W, Ahn C, Choi HY, Kim JG, et al. Lipid indices as simple and clinically useful surrogate markers for insulin resistance in the U.S. population. Sci Rep. 2021 Jan 27;11(1):2366.

172. Alizargar J, Hsieh NC, Wu SFV. The correct formula to calculate triglyceride-glucose index (TyG). Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism. 2020 Jul 1;33(7):945–6.

173. Hernando D, Kellman P, Haldar JP, Liang ZP. Robust water/fat separation in the presence of large field inhomogeneities using a graph cut algorithm. Magnetic Resonance in Medicine. 2010;63(1):79–90.

174. Nádasdi Á, Gál V, Masszi T, Patócs A, Igaz P, Somogyi A, et al. Combined effect of pancreatic lipid content and gene variants (TCF7L2, WFS1 and 11BHSD1) on B-cell function in Middle Aged Women in a Post Hoc Analysis. Diabetology & Metabolic Syndrome. 2022 Jul 27;14(1):106.

175. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. Hepatology. 2006 Jun 1;43(6):1317–25.

176. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. The NAFLD fibrosis score: A noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. Hepatology. 2007 Apr 1;45(4):846–54.

177. Nádasdi Á, Gál V, Masszi T, Somogyi A, Firneisz G. PNPLA3 rs738409 risk genotype decouples TyG index from HOMA2-IR and intrahepatic lipid content. Cardiovascular Diabetology. 2023 Mar 21;22(1):64.

178. Gestational diabetes [Internet]. [cited 2023 Feb 2]. Available from: https://idf.org/our-activities/care-prevention/gdm.html

179. Junker AE, Gluud L, Holst JJ, Knop FK, Vilsbøll T. Diabetic and nondiabetic patients with nonalcoholic fatty liver disease have an impaired incretin effect and fasting hyperglucagonaemia. J Intern Med. 2016 May;279(5):485–93.

180. Færch K, Vistisen D, Pacini G, Torekov SS, Johansen NB, Witte DR, et al. Insulin Resistance Is Accompanied by Increased Fasting Glucagon and Delayed Glucagon Suppression in Individuals With Normal and Impaired Glucose Regulation. Diabetes. 2016 Aug 8;65(11):3473–81.

181. Wagner R, Hakaste LH, Ahlqvist E, Heni M, Machann J, Schick F, et al. Nonsuppressed Glucagon After Glucose Challenge as a Potential Predictor for Glucose Tolerance. Diabetes. 2016 Dec 16;66(5):1373–9.

182. Isokuortti E, Zhou Y, Peltonen M, Bugianesi E, Clement K, Bonnefont-Rousselot D, et al. Use of HOMA-IR to diagnose non-alcoholic fatty liver disease: a population-based and inter-laboratory study. Diabetologia. 2017 Oct 1;60(10):1873–82.

183. Vasques ACJ, Novaes FS, de Oliveira M da S, Matos Souza JR, Yamanaka A, Pareja JC, et al. TyG index performs better than HOMA in a Brazilian population: A hyperglycemic clamp validated study. Diabetes Research and Clinical Practice. 2011 Sep 1;93(3):e98–100.

184. Son DH, Lee HS, Lee YJ, Lee JH, Han JH. Comparison of triglyceride-glucose index and HOMA-IR for predicting prevalence and incidence of metabolic syndrome. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases. 2022 Mar;32(3):596–604.

185. Irace C, Carallo C, Scavelli FB, De Franceschi MS, Esposito T, Tripolino C, et al. Markers of insulin resistance and carotid atherosclerosis. A comparison of the homeostasis model assessment and triglyceride glucose index. International Journal of Clinical Practice. 2013;67(7):665–72.

186. Kim MK, Ahn CW, Kang S, Nam JS, Kim KR, Park JS. Relationship between the triglyceride glucose index and coronary artery calcification in Korean adults. Cardiovasc Diabetol. 2017 Dec;16(1):108.

187. Yoon JS, Lee HJ, Jeong HR, Shim YS, Kang MJ, Hwang IT. Triglyceride glucose index is superior biomarker for predicting type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. Endocrine Journal. 2022;69(5):559–65.

188. Palmer CNA, Maglio C, Pirazzi C, Burza MA, Adiels M, Burch L, et al. Paradoxical Lower Serum Triglyceride Levels and Higher Type 2 Diabetes Mellitus

Susceptibility in Obese Individuals with the PNPLA3 148M Variant. Hennige AM, editor. PLoS ONE. 2012 Jun 18;7(6):e39362.

189. Hyysalo J, Gopalacharyulu P, Bian H, Hyötyläinen T, Leivonen M, Jaser N, et al. Circulating Triacylglycerol Signatures in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Associated With the I148M Variant in PNPLA3 and With Obesity. Diabetes. 2014 Jan 1;63(1):312–22.

190. Liu DJ, Peloso GM, Yu H, Butterworth AS, Wang X, Mahajan A, et al. Exome-wide association study of plasma lipids in >300,000 individuals. Nat Genet. 2017 Dec;49(12):1758–66.

191. Krarup NT, Grarup N, Banasik K, Friedrichsen M, Færch K, Sandholt CH, et al. The PNPLA3 rs738409 G-allele associates with reduced fasting serum triglyceride and serum cholesterol in Danes with impaired glucose regulation. PLoS One. 2012;7(7):e40376.

192. Gotto AM, Pownall HJ, Havel RJ. [1] Introduction to the plasma lipoproteins. In: Methods in Enzymology [Internet]. Academic Press; 1986 [cited 2022 Nov 19]. p. 3–41. (Plasma Lipoproteins Part A: Preparation, Structure, and Molecular Biology; vol. 128). Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0076687986280611

193. Heiskanen MA, Motiani KK, Mari A, Saunavaara V, Eskelinen JJ, Virtanen KA, et al. Exercise training decreases pancreatic fat content and improves beta cell function regardless of baseline glucose tolerance: a randomised controlled trial. Diabetologia. 2018 May 2;1–12.

194. Madsen LR, Baggesen LM, Richelsen B, Thomsen RW. Effect of Roux-en-Y gastric bypass surgery on diabetes remission and complications in individuals with type 2 diabetes: a Danish population-based matched cohort study. Diabetologia. 2019 Apr 1;62(4):611–20.

195. Simon D, Senan C, Balkau B, Saint-Paul M, Thibult N, Eschwège E. Reproducibility of HbA1c in a healthy adult population: the Telecom Study. Diabetes Care. 1999 Aug 1;22(8):1361–3.

196. Tabák AG, Brunner EJ, Lindbohm JV, Singh-Manoux A, Shipley MJ, Sattar N, et al. Risk of Macrovascular and Microvascular Disease in Diabetes Diagnosed Using Oral Glucose Tolerance Test With and Without Confirmation by Hemoglobin A1c: The Whitehall II Cohort Study. Circulation. 2022 Sep 27;146(13):995–1005.

197. ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, Bannuru RR, Brown FM, Bruemmer D, et al. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: *Standards of Care in Diabetes—2023*. Diabetes Care. 2023 Jan 1;46(Supplement_1):S19–40.

198. Gaál Z, Gerő L, Hidvégi T, Jermendy G, Kempler P, Lengyel C, et al. Egészségügyi szakmai irányelv : A diabetes mellitus kórismézéséről, a cukorbetegek antihyperglykaemiás kezeléséről és gondozásáról felnőttkorban. Diabetologia Hungarica. 2020;28(3):119–204.

199. Kramer CK, Vuksan V, Choi H, Zinman B, Retnakaran R. Emerging parameters of the insulin and glucose response on the oral glucose tolerance test: Reproducibility and implications for glucose homeostasis in individuals with and without diabetes. Diabetes Research and Clinical Practice. 2014 Jul;105(1):88–95.

200. Ko GT, Chan JC, Woo J, Lau E, Yeung VT, Chow CC, et al. The reproducibility and usefulness of the oral glucose tolerance test in screening for diabetes and other cardiovascular risk factors. Ann Clin Biochem. 1998;35 (Pt 1):62–7.

201. Wagner R, Jaghutriz BA, Gerst F, Barroso Oquendo M, Machann J, Schick F, et al. Pancreatic Steatosis Associates With Impaired Insulin Secretion in Genetically Predisposed Individuals. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2020 0 1;105(11):3518–25.

202. Wagner R, Eckstein SS, Yamazaki H, Gerst F, Machann J, Jaghutriz BA, et al. Metabolic implications of pancreatic fat accumulation. Nat Rev Endocrinol. 2022 Jan;18(1):43–54.

203. Rutter GA, Georgiadou E, Martinez-Sanchez A, Pullen TJ. Metabolic and functional specialisations of the pancreatic beta cell: gene disallowance, mitochondrial metabolism and intercellular connectivity. Diabetologia. 2020 Oct 1;63(10):1990–8.

10. Saját publikációk jegyzéke

10.1 A disszertációhoz kapcsolódó publikációk

1. **Nádasdi Á**, Gál V, Masszi T, Somogyi A, Firneisz G. PNPLA3 rs738409 risk genotype decouples TyG index from HOMA2-IR and intrahepatic lipid content. Cardiovascular Diabetology. 2023 Mar 21;22(1):64. DOI:10.1186/s12933-023-01792-w **IF** (2021)**: 8,949**

2. **Nádasdi Á**, Gál V, Masszi T, Patócs A, Igaz P, Somogyi A, Firneisz G. Combined effect of pancreatic lipid content and gene variants (TCF7L2, WFS1 and 11BHSD1) on B-cell function in Middle Aged Women in a Post Hoc Analysis. Diabetology & Metabolic Syndrome. 2022 Jul 27;14(1):106. DOI: 10.1186/s13098-022-00876-z **IF** (2021)**: 5,395**

3. Rosta K, Al-Aissa Z, Hadarits O, Harreiter J, **Nádasdi Á**, Kelemen F, Bancher-Todesca D, Komlosi Z, Nemeth L, Rigo J Jr, Sziller I, Somogyi A, Kautzky-Willer A, Firneisz G. Association Study with 77 SNPs Confirms the Robust Role for the rs10830963/G of MTNR1B Variant and Identifies Two Novel Associations in Gestational Diabetes Mellitus Development. PLOS ONE. 2017 Jan 10;12(1):e0169781. DOI: 10.137 1/journal.pone.0169781 **IF: 2,766**

10.2 A disszertációtól független publikációk

1. Firneisz G, Rosta K, Al-Aissa Z, Hadarits O, Harreiter J, **Nádasdi Á**, Bancher-Todesca Dagmar, Németh László, Igaz Péter, Rigó János, Sziller István, Kautzky-Willer Alexandra, Somogyi, Anikó. The MTNR1B rs10830963 Variant in Interaction with Pre-Pregnancy BMI is a Pharmacogenetic Marker for the Initiation of Antenatal Insulin Therapy in Gestational Diabetes Mellitus. International Journal of Molecular Sciences. 2018 Dec;19(12):3734. DOI: 10.3390/ijms19123734 **IF: 4,183**

2. Firneisz Gábor, Rosta Klára, al-Aissa Zahra, **Nádasdi Ákos**, Hadarits Orsolya, Rigó János, Somogyi Anikó.
A melatoninreceptor 1B rs10830963 génvariáns szerepe a terhességi cukorbetegség kialakulásában és kezelésében Diabetologia Hungarica 27: 2 pp. 79-90. (2019)

11. Köszönetnyilvánítás.

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Dr. Firneisz Gábornak, témavezetőmnek, szakmai iránymutatásáért, részletes, építő kritikáiért és támogatásáért.

Köszönöm Dr. Tóth Miklós, Dr. Igaz Péter és Dr. Masszi Tamás Professzor Uraknak, hogy a Semmelweis Egyetem II számú Belgyógyászati, majd később Belgyógyászati és Hematológiai Klinikán lehetővé tették a kutatómunkát.

Külön köszönöm Dr. Somogyi Anikó Professzorasszony, programvezető segítségét, útmutatását.

Köszönöm a vizsgálatokban nélkülözhetetlen továbbá a képalkotó technikával kapcsolatos kérdésekben nyújtott segítségét dr. Gál Viktornak, továbbá az Agyi Képalkotó Központ munkatársainak a segítségét a vizsgálatok elvégzésében.

Hálás vagyok Dr. Patócs Attila professzor úrnak és a Semmelweis Egyetem Laboratórium Medicina Intézet Központi Laboratóriuma és Klinikai Genetikai és Endokrinológiai Laboratórium munkatársainak a segítségéért, továbbá a Semmelweis Egyetem II Belgyógyászati Klinika/ Belgyógyászati és Hematológiai Klinika minden munkatársának.

Köszönöm továbbá a Transzlációs Medicina Intézet által nyújtott segítséget.

Köszönöm Dr. Kukor Zoltánnak a segítségét a méréstechnika területén.

Szintén köszönöm Dr. Herold Zoltánnak a statisztikai elemzésekben nyújtott segítségét.

Nem utolsó sorban köszönöm szüleim és munkatársaim támogatását.