

Válasz Dr. Székács Béla egyetemi tanár, az MTA doktora opponensi bírálatára

Köszönöm dr. Székács Béla egyetemi tanárnak, az MTA doktorának, hogy értekezésemet megbírált.

Valóban, a humán fetuin-A molekulát már 1962 óta ismerjük, a kalcifikációval csak 1974-ben hozták először kapcsolatba, fehérjeláncok szerkezetét is csak az 1980-as években írták le.

A fetuin-A hatásaival kapcsolatban mindmáig jönnek újabb és újabb eredmények az alapkutatásból, ezért a korábbi klinikai megfigyeléseink is új értelmezést kapnak. Ezért nem tudtam elszakadni a molekula klinikai hasznosíthatóságának és biológiai szerepének párhuzamos vizsgálatától. A 13. fejezetben tett megállapításaim csak a saját vizsgálataim eredményein alapulnak. A leggyakrabban alkalmazott módszereket valóban a terjedelmi megfontolásból szedtem egy fejezetbe.

A bírálat tartalmi részét érintő észrevételekre és kérdésekre az alábbiakban válaszolok.

1.

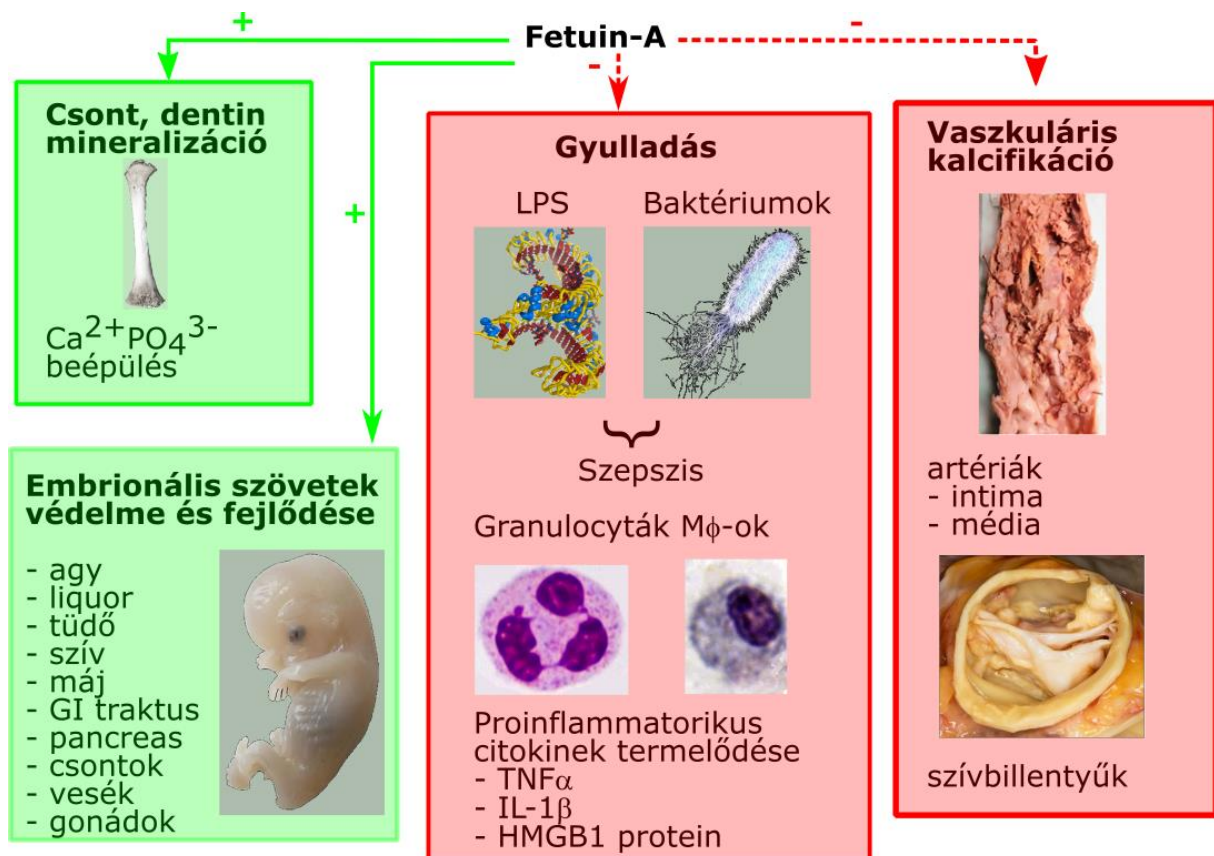
A bevezetés részben elegáns lett volna egy összefoglaló ábra, vagy legalább egy táblázat arról, hogy a fetuin-A milyen jelátviteli utakon keresztül fejti ki a hatását, ugyanakkor a végén egy újabb, de még komplexebb összefoglaló ábra arról, hogy részben a jelölt tudományos vizsgálatai alapján is, melyek azok a legfontosabb tényezők, amelyek meghatározzák a fetuin-A aktuális képződését/vérszintjét és ugyanakkor mik a fetuin általi reguláció fontosabb komponensei a két legfontosabb hatástartományban és azokon túlmenően.

Köszönöm a megjegyzést, valóban elegánsabb lett volna egy ábra a fetuin-A szintet meghatározó tényezőkről, a molekula által használt jelátviteli utakról, valamint az általa befolyásolt folyamatokról. Ezennel pótlom (1. táblázat, 1. és 2. ábra):

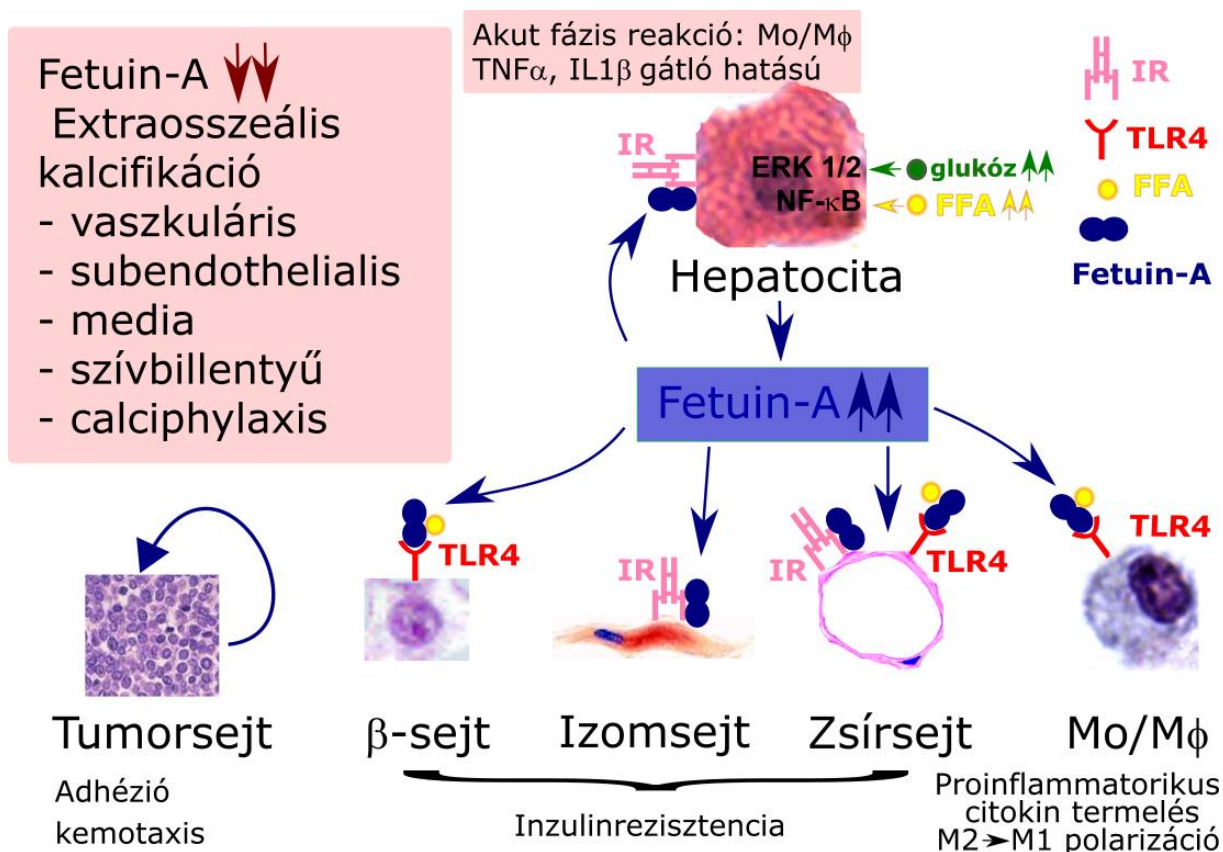
1. táblázat. A fetuin-A által befolyásolt legfontosabb intracelluláris jelátviteli utak

Jelátviteli út	Hatás	Irodalom
IR-TK, IRS, IRS-1 foszforiláció gátlása, GLUT-4 transzlokáció és protein kináz B aktiváció gátlás	Inzulinrezisztencia fokozódása	[1, 2]
SIRT-1 és AMPK energia szenzorok gátlása	Energia homeosztázis megbomlása zsírsejtekben	[3]
TLR4-JNK-NFκB útvonal aktiváció	Gyulladásos kaszkád aktiválódás, proinflammatorikus citokin termelés	[4, 5]
PPARγ foszforiláció fokozódása a Ras-MEK-ERK útvonal aktiválódásán keresztül	Inzulinrezisztencia fokozódása	[6]

Jelátviteli út	Hatás	Irodalom
Wnt/ β -catenin útvonal (Wnt3a) aktiváció	PPAR γ és adiponektin szintézis gátlása, inzulinrezisztencia gyulladásos zsírsejtekben	[7]
Wnt/ β -catenin útvonal (Wnt3a, Wnt5a, Wnt5b, Wnt11) gátlás	Kalcifikáció gátlása humán aorta billentyű intersticiális sejtekben	[8]



1. ábra. A fetuin-A általi reguláció legfontosabb komponensei. A serkentő folyamatokat zölddel, a gátlókat pirossal jelöltem ([9] nyomán)



2. ábra. A szérumban a fetuin-A szintet 95%-ban a hepatisz szintézis mértéke határozza meg. meghatározó legfontosabb tényezők és annak következményei ([9] nyomán)

2.

2011-től már az elhízottságot, a patológiásan fontosabb visceralis zsírtöbbletet a BMI helyett helyesebb lett volna a hasi körfoggattal jellemezni. Az akkori dolgozatokat persze magas szakmai minőséget reprezentáló és nagyon is kritikus nemzetközi szaklapok fogadták be közlésre.

A fetuin-A rs4917 és az rs4918 polimorfizmusokról szóló közleményekben már a haskörfogat is szerepel. A vizsgált személyek adatai között a legtöbb esetben megtaláltuk a haskörfogatot is. Az eredményeket az egészséges és a posztinfarktusos betegek összehasonlításával kapcsolatos, 12. kérdésnél részletezem.

3.

A jelölt miért pont a májbetegségeket és az egészséges, valamint kóros terhességet vizsgálta részletesebben a diagnosztikus hasznosíthatóságok megítélése során?

A májbetegségek vizsgálatát azért tartottam különösen érdekesnek, mert várható volt, hogy egy, döntően a máj által termelt és negatív akut fázis reaktánsként viselkedő fehérje szérumban koncentrációja csökkeni fog a máj gyulladásal járó betegségeiben. Munkacsoportunk egy korábbi keresztmetszeti vizsgálata is ezt sejtette [10].

A fetuin-A terhességi kórképekben történő vizsgálata azért volt különösen érdekes, mert a molekula az már állatokban kimutatott fetuin humán analógja. A különböző emlősökből és erszényesekből származó megfigyelések arra engedtek következtetni, hogy meghatározó szerepe van az embrionális szövetek kialakulásában, de emberben eddig érdemben nem vizsgálták. Csak két keresztmetszeti vizsgálatról lehetett tudni: egy, melyben az egészséges kontrollhoz képest emelkedett szérum szintet írtak le [11] és egy másik, mely arról számol be, hogy a fetuin-A várandós nők vizeletében is megtalálható [12]. További vizsgálat nem történt.

A fetuin-A és az inzulinrezisztencia kapcsolatának ismeretében különösen érdekesnek ígérkezett a gesztációs diabéteszben történő vizsgálata, mivel a várandósság önmagában is inzulinrezisztenciával jár, gesztációs diabéteszben meg még inkább.

4.

Megtörtént-e a Wilson kóros betegeknek a 2001-es Lipcsei kritériumok szerinti klasszifikációja?

Bár az értekezésben nem szerepel, megtörtént a ma is használatos Lipcsei kritériumok [13] szerinti besorolás. Mindegyik betegnek legalább 4-es pontszáma volt, ami a Wilson kór igen valószínű fennállására utalt (0-1: nem valószínű, 2-3: lehetséges/valószínű, 4 vagy több: igen valószínű).

5.

Wilson kóros (4.4.2. számú) táblázat: hiányolom az egészséges kontroll személyek és a májérintettségel nem rendelkező Wilson kóros betegek adatainak feltüntetését.

Ezennel pótlom:

4.4.2. táblázat. A cirrhosisal nem járó, de májérintettséget mutató és a májcirrhosisos Wilson-kóros betegek adatai (átlag $\pm$ SD)

Paraméter	Egészséges kontroll (n = 51)	Májérintettség nélkül (n = 16)	Májérintettség cirrhosis nélkül (n = 24)	Májcirrhosis (n = 10)	p [#]
Életkor a diagnózis idején (év)	35 $\pm$ 8	37 $\pm$ 14	22 $\pm$ 11	23 $\pm$ 6	0,354
Betegség időtartama (év)	-	23 $\pm$ 10	9 $\pm$ 5	13 $\pm$ 7	0,164
Fetuin-A (mg/l)	605 $\pm$ 88	562 $\pm$ 138	676 $\pm$ 149	490 $\pm$ 58	0,001
ORM (g/l)	87 $\pm$ 15	62 $\pm$ 27	52 $\pm$ 20	48 $\pm$ 12	0,879
We (mm/ó)	5 $\pm$ 4	4 $\pm$ 4	6 $\pm$ 10	3 $\pm$ 2	0,932
Vörösvértest szám (10 ⁶ /μl)	5,0 $\pm$ 0,5	5,1 $\pm$ 0,5	5,0 $\pm$ 0,5	4,9 $\pm$ 0,4	0,420
Hematokrit	0,44 $\pm$ 0,03	0,43 $\pm$ 0,03	0,43 $\pm$ 0,06	0,43 $\pm$ 0,03	0,779
Hemoglobin (g/l)	150 $\pm$ 11,0	148 $\pm$ 12,0	149 $\pm$ 20	148 $\pm$ 11	0,677
Fehérvérsajt szám (/μl)	6382 $\pm$ 1652	7221 $\pm$ 3041	6318 $\pm$ 1674	5350 $\pm$ 1186	0,129
Prothrombin aktivitás (%)	92 $\pm$ 5	90 $\pm$ 6	87 $\pm$ 11	78 $\pm$ 21	0,442

4.4.2. táblázat. A cirrhosisal nem járó, de májérintettséget mutató és a májcirrhosisos Wilson-kóros betegek adatai (átlag $\pm$ SD)

Paraméter	Egészséges kontroll (n = 51)	Májérintettség nélkül (n = 16)	Májérintettség cirrhosis nélkül (n = 24)	Májcirrhosis (n = 10)	p [#]
INR	1,07 $\pm$ 0,06	1,07 $\pm$ 0,07	1,11 $\pm$ 0,11	1,30 $\pm$ 0,51	0,461
Szérum bilirubin (μ mol/l)	12,3 $\pm$ 6,6	16,5 $\pm$ 14,4	17,0 $\pm$ 15,6	19,2 $\pm$ 8,8	0,213
SGOT (U/l)	19 $\pm$ 6	20 $\pm$ 5	37 $\pm$ 19	27 $\pm$ 5	0,092
SGPT (U/l)	12 $\pm$ 14	22 $\pm$ 9	49 $\pm$ 24	43 $\pm$ 46	0,130
Alkalikus foszfatáz (U/l)	280 $\pm$ 50	299 $\pm$ 365	335 $\pm$ 414	230 $\pm$ 58	0,643
γ GT (U/l)	30 $\pm$ 21	32 $\pm$ 28	74 $\pm$ 129	55 $\pm$ 50	0,770
LDH (U/l)	270 $\pm$ 76	318 $\pm$ 44	330 $\pm$ 116	297 $\pm$ 66	0,563
Szérum összfehérje (g/l)	71 $\pm$ 5	75 $\pm$ 3	78 $\pm$ 5	73 $\pm$ 2	0,023
Szérum albumin (g/l)	49 $\pm$ 2	49 $\pm$ 2	49 $\pm$ 3	46 $\pm$ 2	0,122
Szérum réz (μ mol/l)	-	4,4 $\pm$ 4,5	6,7 $\pm$ 4,7	6,1 $\pm$ 5,1	0,880
Szérum cöruoplazmin (g/l)	-	0,12 $\pm$ 0,12	0,09 $\pm$ 0,06	0,88 $\pm$ 2,08	0,279

#: Májérintettség cirrhosis nélkül vs. cirrhosisal, Mann-Whitney teszt; ORM: α 1-acid glikoprotein; INR: International Normalisation Rate; SGOT: szérum glutamát-oxálacetát transzamináz; SGPT: szérum glutamát-piruvát transzamináz; γ GT: gamma-glutamil transzferáz; LDH: laktát dehidrogenáz

6.

Jelölt állítja, hogy a fetuin-A az inzulin receptor tirozin kináz gátlásával hozzájárul az inzulin rezisztencia kialakulásához. Mégis, mi a magyarázata annak, hogy saját eredményei között, és az irodalomban a fetuin-A koncentráció nem konzekvensen korrelál a HbA1c-vel?

A fetuin-A koncentráció és a HbA1c közötti korreláció nem konzekvens voltának több oka van.

Az egyik, hogy a fetuin-A mégiscsak a tápláltsági állapottal elhízással, így a BMI-vel és a haskőrfogattal van szorosabb kapcsolatban, ami független az elmúlt 3 hónap glukózsztíjét mutató HbA1c-től. Az elhízás megemeli a fetuin-A szintet.

A másik, hogy a 2-es típusú cukorbetegség 75%-ában zsírmáj alakul ki, mely jelentősen emelkedett fetuin-A szinttel jár együtt, a glikémiás kontrolltól függetlenül.

A diabétesz kontroll mértéke, az antidiabetikus kezelés szintén erősen befolyásolja ezt az összefüggést. Az antidiabetikumok közül a glitazonok [14, 15] és a liraglutid [16] csökkentik a fetuin-A szintet. A metforminról megoszlanak a vélemények: egyes tanulmányok szerint szintén csökkenti [17-21], míg mások szerint nem befolyásolja azt [14, 22, 23]. Nincs direkt megfigyelés arról, hogy a cukorbetegség inzulinnal történő kezelése hogyan befolyásolja a fetuin-A szintet, de patkány hepatocytákban az inzulin fokozza a fetuin-A szintézisét [24]. A fetuin-A és az inzulin szint pozitívan korrelál egymással diabeteszesekben [25, 26], de normális glukóztoleranciájú egyéneknél ilyen összefüggés nem figyelhető meg.

7.

Ha a jelölt prae-eclampsiaiban a fetuin-A szint csökkenést gyulladásos állapot reakciójaként értelmezi, akkor ennek alátámasztására talán szerencsésebb lett volna az ezt az állapotot a vérnyomásnál talán jobban jellemző proteinuria/Fetuin-A összefüggésben is megvizsgálni? Miért hiányzik a proteinuria a terhességi kórállapotot bemutató táblázat paraméterei közül?

A prae-eclampsia diagnózisát a korábban normotenziós nőkben a 20. gesztációs hét után fellépő magasvérnyomás (szisztolés érték: ≥ 140 Hgmm vagy diasztolés érték ≥ 90 Hgmm, legalább 6 órás különbséggel mérve) és proteinuria ($\geq 0,3$ g/24 h) alapján állítottuk fel. A proteinuria nagyságát valóban helyesebb lett volna feltüntetni az 5.2.1. táblázatban.

A nagyfokú proteinuria valóban hozzájárulhat a fetuin-A koncentráció csökkenéséhez, mint ahogy azt gyermekkori nephrosis szindrómában leírták [27], bár egy másik, glomeruláris, policisztás és intersticiális vesebetegségekben végzett tanulmány szerint nem ez egyértelmű [28]. A fetuin-A molekulatömege a glikozilációtól függően 56-67 kDa, ami az albuminéval egy tartományban van (52-57 kDa), azonban a visszaszívódás mértéke („renal handling”) eltér egymástól (úgy tűnik, hogy a fetuin-A esetében a nagyobb) [27]. Ugyanakkor a CRP-vel talált negatív korreláció mégiscsak azt sejteti, hogy fetuin-A szint csökkenés elsősorban a csökkent szintézis következménye.

8.

Vizsgálták-e a szérum fetuin-A szintet szülés után is egészséges vagy gesztációs diabéteszes anyákban?

A fetuin-A szintet a szülés után mi nem vizsgáltuk, de vannak erre vonatkozó későbbi tanulmányok. Úgy tűnik, hogy a fetuin-A szint postpartum alakulása nem független a BMI alakulásától. Az emelkedett fetuin-A koncentráció a szülést követően legalább 6-12 hétig megmarad, majd csökken, de szignifikáns mértékben csak akkor, ha a BMI is kevesebb lesz. Ez elsősorban a GDM-es betegekre igaz [29]. A nem csökkenő fetuin-A viszont jelzi a jövőbeli GDM kockázatát (OR: 1.38; 95% CI: 1,01-1,88) [30, 31].

9.

Az egészséges várandósokon és a vizsgált terhespatológiai kórképekben kapott eredmények alapján hogyan határozható meg a fetuin-A élettani szerepe a várandósság alatt?

A fetuin-A élettani szerepe a magzat egészséges fejlődésének biztosítása, melynek több elemre bontható.

Az egyik elem a gyulladásos folyamatok, elsősorban a proinflammatorikus citokinek hatásaival szembeni védelem biztosítása.

- Az amnionfolyadékban nagy mennyiségben van jelen a spermin fehérje, mely gátolja a TNF α felszabadulását makrofágokból. A gátló hatás csak fetuin-A jelenlétében érvényesül [32].
- Egy másik, ismert jelenség a high mobility group box 1 (HMGB1) fehérje termelődésének negatív feedback útján történő gátlása. A gyulladás, az elsődleges immunválasz során a monocyták, makrofágok és dendritikus sejtek HMGB1 fehérjét is termelnek. A HMGB1 veszély szignál molekula, egyben késői gyulladásos mediátor, mely többszörösére emeli a fetuin-A szintézisét a májban, viszont a fetuin-A direkt módon gátolja a HMGB1 felszabadulását [32, 33].
- Egérkísérletben nemrég kimutatták, hogy a magzati hypoxia által generált hypoxia-induced factor (HIF) protektív hatása a fetuin-A szintézis fokozódása útján valósul meg [34].
- Bár közvetlenül várandósságban nem vizsgálták, de igen valószínű, hogy a magzati élet során a fetuin-A molekula egyéb gyulladáscsökkentő hatásai is érvényesülnek, mint amilyen a makrofágok M2 irányú polarizációjának fenntartása, deaktivációja [35], a neutrofil granulocyták szuperoxid gyök felszabadulásának gátlása [36], valamint a fibrózis kialakulásában központi szerepet játszó TGF β gátlása révén a hegmentes sebgyógyulás elősegítése [37, 38].

A másik nagy terület a kalcifikáció szabályozása: „mineral capheron”-ként ott legyen csontosodás, ahol lennie kell, azaz a csontszövetben, de máshol nem. Ezt az ahsg génre kiűtött egérkísérletek bizonyítják.

A harmadik, amit kevésbé ismerünk, az az, hogy számos embrionális szövetben fejeződik ki. A fetuin-A adhézions molekulaként is szerepel. A sejt kultúrákhoz használt borjúsavó (fetal calf serum, FCS) fő alkotórészeként segíti a sejtek letapadását és kemoattraktáns hatású, melynek minden bizonnyal szerepe van az embrionális szövetek kialakulásában.

10.

A PPAR α és a PPAR γ 2 polimorfizmusok vizsgálata során a minor variánsok előfordulása esetén kedvezőbb metabolikus paramétereket talált. Az összefüggést klinikai megfigyelésekkel támasztja alá. Mi lehet a molekuláris magyarázat?

A PPAR γ 2 Pro12Ala polimorfizmus esetében az alanint kódoló minor allél valóban gyakoribb volt a nem elhízottak és a nem cukorbetegek között és ez alacsonyabb fetuin-A szinttel társult. A molekuláris mechanizmus az lehet, hogy a major Pro alléhoz képest a minor Ala allél mintegy 1,6-2,4-szer kisebb affinitással kötődik a PPAR-reszponzív (PPRE) elemhez [39]. Ez a PPAR γ célgénnek kisebb aktivációjával, a zsírszövet kisebb mértékű felszaporodásával és ezáltal a kisebb BMI-vel és inzulinrezisztenciával jár [39].

A PPAR α transzkripciós faktor a zsírsavak anyagcseréjét befolyásoló génnek expresszióját szabályozza. Az általam vizsgált PPAR α intron 7 G2467C polimorfizmus esetében szignifikánsabb magasabb fetuin-A szintet mértünk, mind a minor C allélt tartalmazó genotípusok, mind a domináns (azaz C vs. non-C nukleotidot tartalmazó) modellben. Bár vannak megfigyelések arra, hogy a C nukleotid gyakoribb - és talán előnyösebb - a nagy erő kifejtést igénylő sportot űzőkben (pl. súlyemelőkhöz) [40], a C minor allél inkább csökkent

aktivitású PPAR α variánst eredményez, mely csökkent zsírsav oxidációval, hyperlipidaemiával, fokozott balkamra hypertrophiával, nagyobb infarktus-kockázattal [41], ezen kívül rosszabb glukóz-profillal jár együtt [42].

11.

Nem eretnek gondolat 2020-ban azt állítani, hogy a radiális immundiffúzió jobb a fetuin-A koncentráció meghatározására, mint az ELISA?

Úgy gondolom, hogy nem. A radiális immundiffúziót még ma is használjuk több fehérje, így a C3 és a C4 komplement komponensek mérésére. Az általunk használt radiális immundiffúzió intra- és interassay variációs koefficiense (IACV: 3,6%, IECV: 6,2%) semmivel sem volt rosszabb, mint a kereskedelmi forgalomban lévő ELISA kiteké.

12.

Mi a magyarázata annak, hogy a szívinfarktust átvészelt betegek fetuin-A szintje magasabb az egészséges kontrollokhoz képest? Valóban az infarktus utáni állapottal hozható összefüggésbe, vagy inkább a nagyobb BMI számlájára írható? Mivel zsírsavak hatására zsírszövet is képes fetuin-A-t termelni, a kérdés most könnyebben megválaszolható lenne, ha 2011-ben a hasi viscerális zsírtömeget jobban jelző hasi körfogatot mérték volna a BMI helyett. Az infarctus utáni (fél-egy évvel későbbi!) állapotban adódik még erre a különbségre egy kiegészítő értelmezés is, de ez már a következő kérdéshez kapcsolódik.

A vizsgált személyek adatai között a legtöbb esetben megtaláltuk a haskörfogatot is, mely a vártak megfelelően szintén nagyobb volt a posztinfarktusos betegekben, mint az egészséges kontroll személyekben (102 ± 11 cm, $n = 171$ vs. 87 ± 10 cm, $n = 67$, $p < 0,001$).

Ahogy az alábbi táblázat mutatja, a két csoportot összehasonlítva akkor is megmarad a fetuin-A szint különbsége, amikor az enyhén emelkedett BMI-jű és haskörfogatú, és akkor is, - ha még ha szigorúbbak vagyunk, - és a normál BMI-jű és haskörfogatú személyeket nézzük. A különbség még akkor is megmarad, ha a posztinfarktusos betegek közül csak a nem diabéteszeseket vesszük figyelembe.

Egészséges kontrollok és a normáltartományba tartozó paraméterekkel rendelkező posztinfarktusos betegek szérumban fetuin-A értékeinek összehasonlítása

	Kontroll		Posztinfarktusos betegek		
Paraméter	átlag $\pm$ SD	n	átlag $\pm$ SD	n	p#
BMI ≤ 30 kg/m ²	619 $\pm$ 96	81	668 $\pm$ 113	103	0,003
BMI ≤ 25 kg/m ²	622 $\pm$ 95	73	665 $\pm$ 98	50	0,023
Haskörfogat ≤ 102 cm	617 $\pm$ 96	64	668 $\pm$ 106	71	0,004
Haskörfogat ≤ 98 cm	616 $\pm$ 94	58	672 $\pm$ 109	49	0,009

Egészséges kontrollok és a normáltartományba tartozó paraméterekkel rendelkező posztinfarktusos betegek szérumban fetuin-A értékeinek összehasonlítása

	Kontroll		Posztinfarktusos betegek		
Paraméter	átlag ± SD	n	átlag ± SD	n	p#
Nem diabéteszes személyekben					
BMI ≤ 30 kg/m ²	619 ± 96	81	670 ± 117	74	0,005
BMI ≤ 25 kg/m ²	622 ± 95	73	667 ± 105	32	0,051
Haskőrfogat ≤ 102 cm	617 ± 96	64	668 ± 114	48	0,012
Haskőrfogat ≤ 98 cm	616 ± 94	58	675 ± 120	31	0,027
TNFα ≤ 4,2 µg/l	619 ± 101	27	648 ± 94	22	0,221

#: Mann-Whitney teszt

Ennek alapján opponens úr kérdésére válaszul: a posztinfarktusos betegekben mért magasabb fetuin-A koncentráció nem írható pusztán a megnövekedett BMI-haskőrfogat-zsírtömeg számlájára, hanem egyéb meghatározó tényezőket is figyelembe kell venni.

Ilyen az atherogén lipidprofil. Az emelkedett fetuin-A összefüggésben van a magas LDL, triglycerid és alacsony HDL koncentrációval és a metabolikus szindrómával [43]. Ezeket a különbségeket mi is észleltük (103. oldal, 6.1.1. táblázat).

Ahogy a csatolt táblázat mutatja, a normál tartományba eső (azaz a 4,2 µg/l és az alatti) TNFα esetén nem volt különbség a kontroll és a posztinfarktusos csoport fetuin-A szintje között. A kontrollok és a posztinfarktusos betegek közötti igen szignifikáns fetuin-A különbség a magasabb TNFα értékkel rendelkező páciensek esetében figyelhető meg. Bár a TNFα szint nem volt teljesen független a BMI-től, a szubklinikus gyulladásban észlelhető magasabb szintje és a zsírszövetekben leírt fetuin-A indukálta TNFα szintézis hatása sem hagyható figyelmen kívül [5].

Rajtuk kívül mások is összefüggést találtak a magasabb fetuin-A szint és a posztinfarktusos állapot között. Az Epic-Potsdam Study során a több, mint 27000 személy 6 évig történt követéses vizsgálatából kiderült, hogy a felső kvintilisbe tartozó fetuin-A szint 3,8-szoros (95% C.I: 2,4-6,1) infarktus-kockázatot jelent az alsó kvintilishoz képest [44].

Bár nem tartozik szorosan a kérdésre adott válaszhoz, megjegyezni kívánom, hogy a szívizom-infarktus akut szakában a fetuin-A szint csökken, ez egyértelműen az akut fázis reakció következménye, majd kb. 5-7 nap múlva visszarendeződik [45, 46].

13.

Hogyan értelmezhető a fetuin-A vérszintjének változása az érlelmeszesedés során: először emelkedik, aztán csökken? Valóban egyértelműen interpretálható a postMI állapotú, illetve a már szignifikáns alsó végtagú verőérszűkületben szenvedő, de feltehetően mindkét csoportban már szisztémás arterio-atherosclerosisban szenvedő, átlag 60 év körüli és alig eltérő BMI értékű betegekben talált alapvető fetuin-A szint eltérés (a kontrollhoz képest szignifikánsan magasabb, illetve kisebb vérszint) a jelölt által hivatkozott, korábban más szerző által megalkotott elmélettel, vagyis a fetuin-A időfüggő

változásával (nő/csökken) a vascularis károsodás, az atherosclerotikus kalcifikáció progressziója során? Mennyire gyengítheti ezt az elegáns gondolati párhuzamot az a tény, hogy a post-MI/fetuin-A tudományos vizsgálatban a koszorúerek többségének nyilvánvaló kalcifikálódott állapotán túlmenően nem történtek UH, vagy más módszerű mérések az aorta és nagyerek atherosclerotikus kalcifikációjának megítélésére, ellentétben a PAD/fetuin-A vizsgálatokkal? Amennyiben viszont így ugyancsak hipotetikusán a két betegcsoport érállapotával az igen nagy fetuin-A szint különbséget nem tudjuk teljes értékűen, legfeljebb csak részben magyarázni, jelent-e kiegészítő, vagy helyettesítő értelmezési lehetőséget az, hogy különösen újabb dolgozatok által hangsúlyozva (Rudloff et al, 2021), a multifunkciós fetuin-A egyben egy fejlődéstanilag konzerválódott „HIF target gene”, azaz a „hypoxia-inducible transcription factor” egyik célgénje a hipoxiás szövet védelmében, következésképpen a post-MI betegek esetében a balkamra szubklinikailag hipoxiás szövetei védelmében? A súlyos PAD betegekben viszont a nagyerek kalcifikációja olyan nagyfokú, hogy ez csak jelentősen lecsökkent fetuin-A mellett jöhet létre.

Az érlelmeszesedés során a szérumban fetuin-A szint kétfázisú viselkedését magyarázó hipotézist Mori és mtsai állították fel 2011-ben [47]. A kezdeti emelkedést adipocita diszfunkcióval, a végső csökkenést a kalcifikációt gátló kapacitás fokozatos kimerülésével magyarázták. A két fázis között azonban feltételeztek egy átmeneti szakaszt is, melyben a fetuin-A-t emelő faktorok (diabétesz, zsírmáj, diszlipidémia és az ezek kezelésére használt gyógyszerek) és csökkentő tényezők (vesefunkció romlása) egyaránt szerepet játszhatnak.

A mi eredményeink is, - melyek ugyanebben az időben láttak napvilágot, - egybevágnak ezzel, azaz a szívinfarktust átvészelt betegekben emelkedett, a perifériás érbetegekben csökkent fetuin-A koncentrációt mértünk.

A fetuin-A emelkedés egyértelműen adipocita diszfunkcióval, csökkent adiponektin szinttel jár, ami az érlelmeszesedésben is fontos patológiai tényező. A szívinfarktus hátterében sokszor lágy plakk mutatható ki, nem feltétlenül okozza kalcifikálódott kemény plakk az koszorúserek elzáródását.

Kimutatták, hogy a fetuin-A fokozza az érlelmeszesedés számos részjelenségét, így a humán érendothel sejteken észlelhető gyulladást, serkenti a makrofágok habos sejtekké (foam cell) való alakulását és a humán aorta simaizomsejtek kollagén termelését [48].

A PAD betegekben mért alacsonyabb fetuin-A szint nyilvánvalóan már összefüggést mutat a kalcifikációval, - még megtartott vesefunkció mellett is, - ahogy ezt a kalcifikációs és a Bollinger score-ral talált korreláció, valamint a 7.3. táblázatban leírt modellek mutatják. A vesefunkció itt azért fontos, mert beszűkülése során egyrészt a hyperphosphataemia terheli meg a szérumban kalcifikációt gátló kapacitását, másrészt a proteinuria fokozódása, és főleg a dialízis hypofetuinemiához vezet.

Megjegyzendő, hogy a fenti kétfázisú hipotézis modell első fázisában a fetuin-A molekula második, D2 doménjének van szerepe, melynek aktivitása a foszforilációtól - és valószínűleg a glikozilációtól is - függ, míg a második, kalcifikációs fázis, - pontosabban annak gátlása - a D1 doménhez kötött, mely a fent említett posztranszlációs modifikációktól függetlenül működik.

Mindezek alapján opponens úr kérdésére, miszerint megnyugtatóan magyarázza-e ez a modell a fetuin-A szint változását, nem lehet egyértelmű igennel válaszolni. A modell csak a szérumban

koncentrációt veszi figyelembe és nem számol a fetuin-A mellett a másodlagos kalciprotein részecskék (CPP-k) mikrokörnyezeti gyulladásokkeltő hatásaival, például azzal, hogy az ér simaizomsejteket kaszkádszerűen chondro-osteogenetikus irányba transzformálják, fokozott vezikulum-termelést indukálnak és elősegítik az extracelluláris mátrixhoz való kötődést és további meszesedési gócok képződését [49].

A fetuin-A gén HIF által történő aktivációja viszont valóban jelenthet kiegészítő értelmezést. Kimutatták, hogy az ischaemiás posztkonkondicionálás fokozza a fetuin-A expressziót akut STEMI betegekben, de itt HIF-et nem mérték [50]. Az értekezés beadását megelőzően zebrahalban megfigyelték, hogy krónikus hipoxiában a HIF fokozza a fetuin termelődését [51]. A perifériás érbetegség adatainak elemzése során, a fetuin-A-nak a szöveti hipoxiát jelző laktát szinttel való szoros pozitív korrelációt észlelve magam is felfigyeltem a HIF esetleges szerepére. A HIF célszekvenciáját (TACGTG) az értekezés írásának idején megtaláltam a fetuin-A promoterének II. számú, az expressziót fokozó régiójában (a -709. és a -714. bázispár között). Az értekezés beadását követően jelent meg az a közlemény, melyre opponens úr is hivatkozik. Rudloff és mtsai vemhes patkányokban kimutatták, hogy a HIF fokozza fetuin-A expressziót, ezáltal is védve a hipoxiás stressz ellen [34]. Úgy gondolom, hogy a fetuin-A koncentráció és a szöveti hipoxia markerei közötti összefüggés roppant érdekes és mindenképpen érdemes tovább vizsgálni.

14.

Ha a fetuin-A negatív akut fázis fehérje, hogyan értelmezhető az a jelenség hogy elhízásban, ahol a kórosan felszaporodott zsírszövet gyulladásos jelenségeket mutat, mégis emelkedik a szintje? Ez a jelölt értelmezése szerint azzal függ inkább össze, hogy a szabad zsírsavak hatására a zsírszövet is szignifikáns mértékben termel fetuin-A-t? Vagy inkább azzal az időtartamilag nem kielégítően pontosított ismeretünkkel, amit más vonatkozásban a jelölt is megemlít, hogy akut gyulladásban adott citokinek hatására ugyan a fetuin-A akut negatív fázis fehérjeként viselkedik, vérbeli koncentrációja csökken, de a nem nagy intenzitású krónikusan érvényesülő gyulladásos közegben a fetuin termelődés már nem csökken, sőt akár emelkedhet is?

Professzor úr által említett mindkét mechanizmusra vannak bizonyítékok.

A fetuin-A negatív akut fázis fehérje tulajdonságát súlyos gyulladásos betegségekben írták le először [52], mely egyértelműen a proinflammatorikus citokineknek a fetuin-A májbeli termelődése gátlásának következménye [53]. Később kiderült, hogy számos más szövet is termeli, ahol a szintézis regulációja ettől eltérő lehet. Így a zsírszövetben fetuin-A expressziója fokozódik a szabad zsírsavak hatására, és ha a zsírszövet nagysága is kellőképpen megnő, termelődhet már annyi fetuin-A, mely a vérszintet is megemeli. A molekula promoter régiójának szerkezete is ezt a kettősséget tükrözi: a két gátló régió között egy stimuláló szakasz található [54]. A szabad zsírsavakat a fetuin-A endogén ligandként megköti, majd a makrofágok és az adipociták TLR4 receptoraihoz viszi, mely, az NFκB útvonalon krónikus gyulladást indukál és tart fenn [55, 56].

15.

Már az 1980-as években leírták, hogy a fetuin-A (akkor még $\alpha 2$ -HS glycoproteinnek nevezett fehérje) vérszintje az életkorral csökken. Ez csak hormonokhoz hasonlóan következmény, vagy van esetleg szerepe a fetuinnek az öregedés regulációjában?

A fetuin-A vérszintje felnőttkorban már messze nem mutat olyan mértékű csökkenést, mint ahogy azt az embrionális kortól kezdve, az újszülött és gyermekkorban megfigyelték. A felnőttkori trendet mi is észleltük, bár statisztikailag nem volt szignifikáns (3. táblázat).

3. táblázat. A szérum fetuin-A koncentráció alakulása változásai 204 egészséges kontroll személyben

	Fetuin-A (mg/l)		
Életkor (év)	n	Medián (Q1-Q3)	Átlag $\pm$ SD
21-30	37	575 (532-664)	615 $\pm$ 121
31-40	45	583 (532-706)	613 $\pm$ 90
41-50	76	591 (554-639)	601 $\pm$ 75
51-60	33	564 (515-653)	594 $\pm$ 89
61-80	13	542 (513-662)	572 $\pm$ 89
Összesen	204	592 (539-663)	603 $\pm$ 90

Kruskal-Wallis teszt: $\chi^2 = 3,170$, $p = 0,530$; ANOVA: $F = 0,748$, $p = 0,560$

A fetuin- szint felnőttkori csökkenés oka nem ismert. Feltételezhető ugyan egyszerű kimerülés, de valószínűbbnek tartom, hogy az életkor előrehaladtával a proinflammatorikus citokinek gátolhatják a szintézisét. A fetuin-A-nak több oldalról is szerepe lehet az öregedéssel járó folyamatokban. A fetuin-A génre kiütött egerekben nem következik be az életkorral járó testsúlynövekedés [57].

A fetuin-A szerepe az öregedés regulációjában leginkább a kalcifikációt gátló hatással kapcsolatos.

Foszfátherhelésre a csontszövet (elsősorban az osteociták) fibroblast növekedési faktor (FGF) 23-at termelnek, mely a vesében, receptora és a Klotho fehérje komplexéhez kapcsolódva a foszfát ürítését serkenti, ezáltal fenntartva a foszfát anyagsere egyensúlyát. A Klotho fehérje magasabb szintje hosszabb élettartammal, csökkent öregedéssel, sőt jobb kognitív funkcióval is társul [58]. A foszfor elsődleges, ill. másodlagos kalciprotein részecskék (CPP) formájában is szállítódik, melyekben precipitációt a fetuin-A gátolja. A Klotho fehérje egyben fokozza a fetuin-A termelődését a májban, mely szintén a foszfát lerakódása ellen hat. Mindezek a folyamatok megakadályozzák a CPP-k lerakódását. A CPP-k lerakódásának következménye a gyulladás, a rendellenes kalcifikáció, az érfalmerevség fokozódása és az öregedés. A keringő másodlagos CPP-k mennyisége az életkorral növekszik. A foszfor bevitelének fokozódása, a Klotho fehérje nem megfelelő működése, a fetuin-A szint csökkenése mind ebbe az irányba hat [59].

A magasabb fetuin-A szint esetén lassabb az időskori szellemi hanyatlás, az Alzheimer-kór progressziója [60], sőt az rs4917 és rs4918 major allélek (CC) homozigótákban 3,9-szer nagyobb eséllyel alakul ki Alzheimer kór [61].

16.

A jelölt végül két kórállapot esetében foglal állást a fetuin-A koncentráció vizsgálat diagnosztikus hasznosíthatósága mellett a klinikai gyakorlatban. Az általa említett markáns koncentráció eltérés kívánalma mellett még milyen beválogatási/kirostálási szempontok határozták meg az MTA doktori értekezés címére adott végső választ? A kimaradtak közül a fetuin-A vonatkozásában a klinikumban még mely kórfolyamatokban/kórállapotokban várható a (más diagnosztikus paramétereket felülmúló) gyakorlati hasznosíthatóság kritériumának való jövőbeli megfelelés?

További szempont volt a meghatározás bonyolultsága, nagy számban történő kivitelezhetősége, valamint költségessége.

Az általam meghatározottakon kívüli klinikai területeken való alkalmazhatóságot illetően a fetuin-A vizsgálata hasznos lehet:

- Veseelégtelenségben a fetuin-A szint csökkenésének prognosztikus jelentősége jól ismert [62], azonban a kalciprotein részecskék koncentrációjának, a szabad és kötött fetuin-A arányának vizsgálata még jobb prognosztikus marker lehet.
- A fetuin-A vizsgálata hasznos lehet a kalcifikáció zavarával járó szisztémás csontbetegségekben (pl. Paget kórban).
- A szérum koncentráció mellett a fetuin-A szöveti vizsgálata különösen érdekes lehet tumorokban, így primer csont- és májtumorokban, valamint az olyan daganatokban, melyek csontáttét képeznek.

Külön távlatot jelent a fetuin-A ellenes antitestek alkalmazhatósága a klinikai diagnosztikában. Ilyen antitesteket endometriosisban is észleltek, összefüggést keresve a meddőséggel [63]. Fetuin-A ellenes antitesteket egyes tumorok mikrokörnyezetében is kimutattak, így 79%-os szenzitivitással korai emlőrákban [64].

Végül még egyszer köszönöm dr. Székács Béla professzor úrnak, hogy értekezésemet megbírálta és nyilvános vitára alkalmasnak találta.

Budapest, 2021. május 9.



dr. Kalabay László

Hivatkozások jegyzéke

1. Srinivas P. R., Wagner A. S., et al. Serum alpha 2-HS-glycoprotein is an inhibitor of the human insulin receptor at the tyrosine kinase level. *Molecular Endocrinology*. 1993;7(11):1445-1455.
2. Malin S. K., Mulya A., et al. Fetuin-A is linked to improved glucose tolerance after short-term exercise training in nonalcoholic fatty liver disease. *J Appl Physiol* (1985). 2013;115(7):988-994.
3. Chattopadhyay M., Mukherjee S., et al. Impairment of energy sensors, SIRT1 and AMPK, in lipid induced inflamed adipocyte is regulated by Fetuin A. *Cell Signal*. 2017;42:67-76.
4. Shen X., Yang L., et al. Fetuin A promotes lipotoxicity in beta cells through the TLR4 signaling pathway and the role of pioglitazone in anti-lipotoxicity. *Mol Cell Endocrinol*. 2015;412:1-11.
5. Hennige A. M., Staiger H., et al. Fetuin-A induces cytokine expression and suppresses adiponectin production. *PLoS One*. 2008;3(3):e1765.
6. Das S., Chattopadhyay D., et al. Increase in PPAR γ inhibitory phosphorylation by Fetuin-A through the activation of Ras-MEK-ERK pathway causes insulin resistance. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2021;1867(4):166050.
7. Agarwal S., Chattopadhyay M., et al. Fetuin-A downregulates adiponectin through Wnt-PPAR γ pathway in lipid induced inflamed adipocyte. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2017;1863(1):174-181.
8. Khan K., Yu B., et al. The Role of Wnt/ β -Catenin Pathway Mediators in Aortic Valve Stenosis. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:862.
9. Bourebaba L., Marycz K. Pathophysiological Implication of Fetuin-A Glycoprotein in the Development of Metabolic Disorders: A Concise Review. *J Clin Med*. 2019;8(12).
10. Kalabay L., Cseh K., et al. [Diagnostic value of the determination of serum alpha2-HS-glycoprotein]. *Orvosi Hetilap*. 1992;133(25):1553-1554; 1559-1560.
11. Cleve H, H. D. Quantitative variations of the group-specific component (Gc) and of barium-alpha2-glycoprotein of human serum in health and disease. In: H. Peeters, editor. *Proteins and Biological Fluids*. 14. Oxford, UK: Pergamon Press; 1966. p. 273-276.
12. Shinagawa S., Saitoh M. A study on proteins contained in urine of gestosis patients. *Biological Research in Pregnancy & Perinatology*. 1983;4(4):140-144.
13. Ferenci P., Caca K., et al. Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease. *Liver Int*. 2003;23(3):139-142.
14. Mori K., Emoto M., et al. Effects of pioglitazone on serum fetuin-A levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2008;57(9):1248-1252.
15. Ochi A., Mori K., et al. Direct inhibitory effects of pioglitazone on hepatic fetuin-A expression. *PLoS One*. 2014;9(2):e88704.
16. Zhang L. Y., Qu X. N., et al. Effect of liraglutide therapy on serum fetuin A in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2020;44(5):674-680.
17. Diaz M., Gallego-Escuredo J. M., et al. Low-Dose Spironolactone-Pioglitazone-Metformin Normalizes Circulating Fetuin-A Concentrations in Adolescent Girls with Polycystic Ovary Syndrome. *Int J Endocrinol*. 2018;2018:4192940.
18. Esteghamati A., Afarideh M., et al. Comparative effects of metformin and pioglitazone on fetuin-A and osteoprotegerin concentrations in patients with newly diagnosed diabetes: A randomized clinical trial. *Diabetes Metab Syndr*. 2015;9(4):258-265.
19. Sheriba N. A., Ahmed I. Z., et al. Effect of Metformin therapy on serum Fetuin levels in insulin resistant Type 1 diabetics. *Curr Diabetes Rev*. 2017.
20. Trepanowski J. F., Mey J., et al. Fetuin-A: a novel link between obesity and related complications. *Int J Obes (Lond)*. 2015;39(5):734-741.
21. Haukeland J. W., Dahl T. B., et al. Fetuin A in nonalcoholic fatty liver disease: in vivo and in vitro studies. *Eur J Endocrinol*. 2012;166(3):503-510.
22. Schinzari F., Tesaro M., et al. Calcification biomarkers and vascular dysfunction in obesity and type 2 diabetes: influence of oral hypoglycemic agents. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2019;317(4):E658-e666.
23. Gateva A., Kamenov Z., et al. MCP-1 and fetuin A levels in patients with PCOS and/or obesity before and after metformin treatment. *Central European Journal of Medicine*. 2013;8(5):679-684.
24. Ohnishi T., Nakamura O., et al. Effects of cytokines and growth factors on phosphorylated fetuin biosynthesis by adult rat hepatocytes in primary culture. *Biochemical & Biophysical Research Communications*. 1994;200(1):598-605.
25. Stefan N., Hennige A. M., et al. Alpha(2)-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is associated with insulin resistance and fat accumulation in the liver in humans. *Diabetes Care*. 2006;29(4):853-857.
26. Xu Y., Xu M., et al. Serum fetuin-A is correlated with metabolic syndrome in middle-aged and elderly Chinese. *Atherosclerosis*. 2011;216(1):180-186.

27. Fischer D. C., Schaible J., et al. Reduced serum fetuin-A in nephrotic children: a consequence of proteinuria? *Am J Nephrol.* 2011;34(4):373-380.
28. Kishore B. K., Gejyo F., et al. Alpha 2HS-glycoprotein in the serum and urine of patients with renal diseases. *Postgrad Med J.* 1983;59(691):304-307.
29. Iyidir O. T., Degertekin C. K., et al. Serum levels of fetuin A are increased in women with gestational diabetes mellitus. *Arch Gynecol Obstet.* 2015;291(4):933-937.
30. Rottenkolber M., Ferrari U., et al. The Diabetes Risk Phenotype of Young Women With Recent Gestational Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(6):E910-918.
31. Pinnaduwa L., Ye C., et al. Changes Over Time in Hepatic Markers Predict Changes in Insulin Sensitivity, β -Cell Function, and Glycemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018;103(7):2651-2659.
32. Wang H., Zhang M., et al. Fetuin protects the fetus from TNF. *Lancet.* 1997;350(9081):861-862.
33. Wang H., Sama A. E. Anti-inflammatory role of fetuin-A in injury and infection. *Curr Mol Med.* 2012;12(5):625-633.
34. Rudloff S., Janot M., et al. Fetuin-A is a HIF target that safeguards tissue integrity during hypoxic stress. *Nat Commun.* 2021;12(1):549.
35. Wang H. C., Zhang M. H., et al. Fetuin (alpha(2)-HS-glycoprotein) opsonizes cationic macrophage-deactivating molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1998;95(24):14429-14434.
36. Terkeltaub R. A., Santoro D. A., et al. Serum and plasma inhibit neutrophil stimulation by hydroxyapatite crystals. Evidence that serum alpha 2-HS glycoprotein is a potent and specific crystal-bound inhibitor. *Arthritis & Rheumatism.* 1988;31(9):1081-1089.
37. Wang X. Q., Hayes M. T., et al. Fetuin-A: a major fetal serum protein that promotes "wound closure" and scarless healing. *J Invest Dermatol.* 2008;128(3):753-757.
38. Demetriou M., Binkert C., et al. Fetuin/alpha 2-HS glycoprotein is a transforming growth factor-beta type II receptor mimic and cytokine antagonist. *Journal of Biological Chemistry.* 1996;271(22):12755-12761.
39. Deeb S. S., Fajas L., et al. A Pro12Ala substitution in PPARgamma2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet.* 1998;20(3):284-287.
40. Ahmetov, II, Mozhayskaya I. A., et al. PPARalpha gene variation and physical performance in Russian athletes. *Eur J Appl Physiol.* 2006;97(1):103-108.
41. Doney A. S., Fischer B., et al. Association of common variation in the PPARA gene with incident myocardial infarction in individuals with type 2 diabetes: a Go-DARTS study. *Nucl Recept.* 2005;3:4.
42. Maciejewska-Skrendo A., Buryta M., et al. The Polymorphisms of the Peroxisome-Proliferator Activated Receptors' Alfa Gene Modify the Aerobic Training Induced Changes of Cholesterol and Glucose. *J Clin Med.* 2019;8(7).
43. Ix J. H., Shlipak M. G., et al. Association between human fetuin-A and the metabolic syndrome: data from the Heart and Soul Study. *Circulation.* 2006;113(14):1760-1767.
44. Weikert C., Stefan N., et al. Plasma fetuin-a levels and the risk of myocardial infarction and ischemic stroke. *Circulation.* 2008;118(24):2555-2562.
45. Snyder S., Durham B. C., et al. Serum lipids and glycoproteins in acute myocardial infarction. *Am Heart J.* 1975;90(5):582-586.
46. Mathews S. T., Deutsch D. D., et al. Plasma alpha(2)-HS glycoprotein concentrations in patients with acute myocardial infarction quantified by a modified ELISA. *Clinica Chimica Acta.* 2002;319(1):27-34.
47. Mori K., Emoto M., et al. Fetuin-A: a multifunctional protein. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov.* 2011;5(2):124-146.
48. Naito C., Hashimoto M., et al. Facilitatory effects of fetuin-A on atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2016;246:344-351.
49. Aghagolzadeh P., Bachtler M., et al. Calcification of vascular smooth muscle cells is induced by secondary calciprotein particles and enhanced by tumor necrosis factor-alpha. *Atherosclerosis.* 2016;251:404-414.
50. Liu S. H., Huo Y. E., et al. Ischemic postconditioning may increase serum fetuin-A level in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing percutaneous intervention. *Clin Lab.* 2013;59(1-2):59-64.
51. Marques I. J., Leito J. T., et al. Transcriptome analysis of the response to chronic constant hypoxia in zebrafish hearts. *J Comp Physiol B.* 2008;178(1):77-92.
52. Lebreton J. P., Joisel F., et al. Serum concentration of human alpha 2 HS glycoprotein during the inflammatory process: evidence that alpha 2 HS glycoprotein is a negative acute-phase reactant. *Journal of Clinical Investigation.* 1979;64(4):1118-1129.
53. Daveau M., Christian D., et al. The synthesis of human alpha-2-HS glycoprotein is down-regulated by cytokines in hepatoma HepG2 cells. *FEBS Letters.* 1988;241(1-2):191-194.
54. Banine F., Gangneux C., et al. Positive and negative elements modulate the promoter of the human liver-specific alpha2-HS-glycoprotein gene. *European Journal of Biochemistry.* 2000;267(4):1214-1222.

55. Pal D., Dasgupta S., et al. Fetuin-A acts as an endogenous ligand of TLR4 to promote lipid-induced insulin resistance. *Nat Med.* 2012;18(8):1279-1285.
56. Dasgupta S., Bhattacharya S., et al. NF-kappaB mediates lipid-induced fetuin-A expression in hepatocytes that impairs adipocyte function effecting insulin resistance. *Biochemical Journal.* 2010;429(3):451-462.
57. Mathews S. T., Singh G. P., et al. Improved insulin sensitivity and resistance to weight gain in mice null for the Ahsg gene. *Diabetes.* 2002;51(8):2450-2458.
58. Dubal D. B., Yokoyama J. S., et al. Life extension factor klotho enhances cognition. *Cell Rep.* 2014;7(4):1065-1076.
59. Kuro O. M. Phosphate as a Pathogen of Arteriosclerosis and Aging. *J Atheroscler Thromb.* 2020.
60. Smith E. R., Nilforooshan R., et al. Plasma fetuin-A is associated with the severity of cognitive impairment in mild-to-moderate Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2011;24(2):327-333.
61. Geroldi D., Minoretti P., et al. Genetic association of alpha2-Heremans-Schmid glycoprotein polymorphism with late-onset Alzheimer's disease in Italians. *Neurosci Lett.* 2005;386(3):176-178.
62. Stenvinkel P., Wang K., et al. Low fetuin-A levels are associated with cardiovascular death: Impact of variations in the gene encoding fetuin. *Kidney Int.* 2005;67(6):2383-2392.
63. Pillai S., Rust P. F., et al. Effects of antibodies to transferrin and alpha 2-HS glycoprotein on in vitro sperm motion: implications in infertility associated with endometriosis. *American Journal of Reproductive Immunology.* 1998;39(4):235-242.
64. Yi J. K., Chang J. W., et al. Autoantibody to tumor antigen, alpha 2-HS glycoprotein: a novel biomarker of breast cancer screening and diagnosis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18(5):1357-1364.