

**Kedvezőtlen mutációk és polymorphismusok
előfordulása agyi érbetegségekb**

Ph.D. értekezés

Dr. Szolnoki Zoltán

2002.

Témavezető:

**Dr. Melegh Béla
egyetemi tanár**

Az értekezés alapjául szolgáló klinikai és laboratóriumi vizsgálatok elvégzése a következő intézetek szakmai kollaboratív munkája során valósult meg:

**Békés Megyei Képviselőtestület Pándy Kálmán Kórház,
I. Neurológiai Osztály**

**Pécsi Tudományegyetem, Orvosi Genetikai és
Gyermekfejlődéstani Intézet Molekuláris Genetikai és
Biokémiai Laboratórium**

**Békés Megyei Képviselőtestület Pándy Kálmán Kórház
Központi Laboratórium**

Rövidítések

Leiden V	V-ös véralvadási faktor Leiden mutációja
ACE I/D polymorphismus	Angiotensin konvertáló enzim inszerciós/deléciós polymorphismus
ACE D	Angiotensin konvertáló enzim inszerciós/deléciós polymorphismus deléciós allélja
ACE I	Angiotensin konvertáló enzim inszerciós/deléciós polymorphismus inszerciós allélja
ACE I/D	Angiotensin konvertáló enzim inszerciós/deléciós polymorphismus deléciós/inszerciós genotípusa
ACE D/D	Angiotensin konvertáló enzim inszerciós/deléciós polymorphismus deléciós/deléciós genotípusa
ACEI/I	Angiotensin konvertáló enzim inszerciós/deléciós polymorphismus inszerciós/inszerciós genotípusa
APO E polymorphismus	Apolipoprotein E polymorphismus
MTHFR C677T	Methylentetrahydrofolate reductase C677T mutáció
PLA1/PLA2 polymorphismus	Thrombocyta membran glycoprotein IIIa receptor leucin/prolin polymorphismus
PLA1; A1	Thrombocyta membran glycoprotein IIIa receptor leucin/ prolin polymorphismus leucint tartalmazó allélja

PLA2, A2	Thrombocytá membrán glycoprotein IIIa receptor leucin/ prolin polymorphismus prolint tartalmazó allélja
IS	Ischaemias stroke
LA	Leukoaraiosis
AK	Alzheimer kór
MMS	Mini Mental State
GDS	Global Deterioration Scale
OR (odds ratio)	Esélyhányados
CI (confidence interval)	Statisztikai megbízhatósági intervallum

Tartalom

1. Bevezetés	7
2. Gyakori kedvezőtlen mutációk és polymorphismusok ischaemias stroke-ban betöltött szerepének vizsgálata	9
A Leiden V mutáció valamint az angiotensin-konvertáló enzim I/D polymorphismus ischaemias stroke betegségekben betöltött szerepének vizsgálata.	9
<i>Bevezetés</i>	9
<i>A vizsgált beteg anyag</i>	9
<i>A klinikai adatok felmérése</i>	10
<i>DNS analízis</i>	11
<i>Statisztikai analízis</i>	11
<i>Eredmények</i>	12
<i>Megbeszélés</i>	16
PLA1/2 polymorphismus ischaemias stroke betegségekben való előfordulása	18
<i>Bevezetés</i>	18
<i>A vizsgált beteg anyag</i>	18
<i>A klinikai adatok felmérése</i>	18
<i>DNS analízis</i>	18
<i>Statisztikai analízis</i>	19
<i>Eredmények</i>	19
<i>Megbeszélés</i>	23
A Hong Kong és Cambridge V faktor mutációk ischaemias stroke betegségekben betöltött szerepének vizsgálata	24

<i>Bevezetés</i>	24
<i>A vizsgált beteg anyag</i>	24
<i>A klinikai adatok felmérése</i>	24
<i>DNS analízis</i>	24
<i>Eredmények</i>	25
<i>Megbeszélés</i>	25
3. Gyakori genetikai mutációk leukoaraiosisban betöltött szerepének vizsgálata	26
<i>Bevezetés</i>	26
<i>A vizsgált beteg anyag</i>	27
<i>A klinikai adatok felmérése</i>	28
<i>DNS analízis</i>	28
<i>Statisztikai analízis</i>	28
<i>Eredmények</i>	29
<i>Megbeszélés</i>	34
<i>Referenciák</i>	36
4. Az elvégzett klinikai és genetikai vizsgálatok alapján levonható általános következtetések (tézis pontok)	46
5. Az értekezéshez felhasznált eredeti publikációk listája	48
6. Az értekezéshez közvetlenül nem kapcsolódó publikációk listája	49
7. A Ph.D. értekezés alapjául szolgáló eredeti publikációk és kéziratok	51

A disszertáció I-IV-ig számozott publikációk, valamint V-ös és VI-os számmal jelölt publikációra beadott kéziratok eredményei alapján készült. A publikációk supplementumként vannak csatolva.

Bevezetés

Ischaemias stroke betegség hátterében elméletileg egyetlen gén defektus is állhat. Számos Mendeli öröklésmentet mutató betegség klinikai manifesztációja agyi infarktus lehet [1]. Populáció szinten, sokkal nagyobb jelentőséggel bírnak azonban a sporadikusan előforduló ischaemias stroke problémák. Ezen esetek aetiologiai háttere multifaktoriális. Környezeti és genetikai faktorok együttesen járulnak hozzá az agyi érbetegségekhez. A genetikai faktorok komplex rendszere, az egyes elemek interakciója döntő szerepet tölthet be a stroke kialakulásában. A legmarkánsabb klinikai rizikótényezők, mint a magasvérnyomás, diabetes mellitus, elhízás, atherosclerosis, maguk is részben polygénés háttérrel bírnak. A stroke familiáris halmozódása, stroke altípusoktól függetlenül, a genetikai hátteret hangsúlyozza [2-5]. Kiterjedt iker vizsgálatok szerint a monozygota ikrek esetén, az ikerpár egyik tagjának stroke eseménye 4-szeres relatív rizikót jelent az ikerpár másik tagjára vonatkozóan, heterozygota ikerpárokat használva kontrollként [6,7]. Ez a rizikó fokozatosan csökken a vizsgált személy korával arányosan, jelezve a külső környezeti hatás szerepének növekedését [7]. Jelenlegi ismeretink szerint agyi keringészavarral, 110 feletti genetikai alapú betegség, 175 feletti gén locus és 2050 gén mutáció hozható kapcsolatba [8].

A ischaemias stroke betegségek maguk szintén egy heterogén klinikai csoportot jelentenek. Az egyes subentitások elkülönítése a specifikus terápia kiválasztása miatt nagyon fontos. A klinikai alcsoportosítás morfológiai, radiológiai, pathológiai, valamint neurológiai jellemzők alapján történik [9]. A lezajlott stroke esemény minél pontosabb pathophysiológiai modellezése új speciálisabb terápiás megközelítést tesz lehetővé. Az etiológia pontos meghatározását nehezíti két alapvető tény: A-egy etiológiai faktor több különböző stroke altípus kialakulását okozhatja, B-egy stroke entitáshoz több etiológiai faktor interakciója járulhat hozzá.

Az agyi keringészavarokkal járó betegségek nagyfokú heterogenitása miatt az egyes genetikai, potenciális rizikó faktorok vizsgálata csak homogénebb klinikai alcsoportokban célszerű.

Kutatásaink célja a gyakori, populációs szinten problémát jelentő agyi érbetegségek genetikai hátterének vizsgálata. A vizsgálatok megtervezésekor következő szempontokat vettük figyelembe:

1, A vizsgálat tárgyát a két leggyakrabban előforduló, és populációs szinten legnagyobb problémát okozó betegségek, az ischaemias stroke (IS) valamint a vasculáris eredetű fehérállomány károsodás (Leukoaraiosis) entitások képezték.

2, Gyakori, pathophysiologiailag ezen entitásokkal kapcsolatba hozható mutációk, polymorphismusok (Leiden V mutáció, Honk Kong és Cambridge V faktor mutációk, angiotenzin convertáló enzim I/D polymorphismus, methylenetetrahydrofolat reductase C677T mutáció, PLA1/2 polymorphismus) szerepét vizsgáltuk. Ritkán előforduló polymorphismusok feltehetően kismértékben játszanak szerepet a fenti két gyakori klinikai entitás kialakulásában, másrészt e faktorok korrekt statisztikai vizsgálata igen magas betegszámot követelt volna. A Leiden V mutáció, az ACE I/D valamint PLA1/2 polymorphismusok IS-ban betöltött szerepe jelenleg ellentmondásos a szakirodalomban. A Honk Kong és Cambridge mutációk európai előfordulási frekvenciáiról jelenleg nincs publikációs adat. A methylenetetrahydrofolate dehydrogenáz C677T mutáció szerepét, valamint ezen faktor angiotensin konvertáló enzim I/D polymorphismussal való kölcsönhatását, LA-ban még korábban nem vizsgálták.

3, A két fő entitást (IS, LA) további alcsoportokra osztottuk. Az alcsoportosítás célja az volt hogy minél homogénebb, klinikailag jól definiálható entitásokat kapjunk, melyek különböző pathophysiologiai eseményeket reprezentálnak.

4, A kiválasztott mutációk alcsoportokban betöltött szerepét, valamint ahol statisztikailag kivitelezhető volt az egyes mutációk klinikai fenotípusban megnyilvánuló interakcióját vizsgáltuk.

5, IS valamint LA-ben szenvedő betegek vizsgálatának eredményeit 2 külön részben kerül tárgyalásra.

Gyakori kedvezőtlen mutációk és polymorphismusok ischaemias stroke-ban betöltött szerepének vizsgálata

A Leiden V valamint az angiotensin-konvertáló enzim I/D polymorphismus ischaemias stroke betegségekben betöltött szerepének vizsgálata

Bevezetés

A Leiden V mutáció aktivált protein C rezisztenciát okoz. A mutáció jelenléte, főleg a keringési rendszer vénás részében, trombotikus folyamatokhoz vezethet. A Leiden V mutáció [10-34] és az ACE I/D polymorphismus [35-41], stroke pathogenesisében betöltött szerepe jelenleg kérdéses. A Leiden V mutáció hozzájárulhat ischaemias stroke kialakulásához, amennyiben hypertoniával, diabetes mellitussal vagy más markáns klinikai rizikótényezővel társul [22]. A mutáció önmagában nem bizonyult major rizikótényezőnek, ischaemias stroke altípusaiban betöltött szerepe tisztázatlan. Az ACE D allél és a cerebralis kis-ér infarktus között szoros összefüggést írtak le [38]. Ezen adatokat további klinikai vizsgálatok nem erősítették meg [10,40]. ACE I/D polymorphismus stroke altípusokban betöltött szerepe szintén ellentmondásos jelenleg [10]. Ennek a klinikai tanulmánynak az volt a célja, hogy megvizsgáljuk van-e különbség a LeidenV mutáció (közvetlen trombotikus factor) és ACE D allél (indirekt kedvezőtlen vazoregulációs hatással bíró faktor), ischaemias stroke altípusokban betöltött szerepei között.

Agyi MRI és klinikai jellemzők alapján, ischaemias stroke betegeinket 3 nagy csoportba soroltuk. A Leiden V és ACE I/D genotípusok frekvenciáit statisztikailag elemeztük. A kontroll csoportot negatív koponya MRI eredménnyel rendelkező egyének képezték.

A vizsgált beteg anyag

A Gyulai Pándy Kálmán Megyei Kórház I Neurológiai osztály, 1998-2000 között kezelt beteganyagából, 664 ischaemias agyi infarktuson átesett beteg került átvizsgálásra. A átvizsgálás egységes klinikai protokoll szerint történt, mely a következőket foglalta magába: részletes anamnesis felvétel, a klinikai rizikótényezők felmérése; általános fizikális és neurológiai vizsgálat; kiterjedt laborvizsgálatok; extracranialis és transcranialis doppler

ultrahang az agyi artériák állapotának megítélésére, transthoracalis és/vagy transoesophagealis szívultrahang, ahol szükséges volt; a tünetek jelentkezése után 2 napon belül elkészült agyi MRI vizsgálat (0.23T, Picker, Outlook). Azok az egyének, akiknél a klinikai adatok nem voltak egyértelműek, illetve akiknél az agyi MRI vizsgálatot valamilyen technikai ok vagy korai halálozás miatt nem lehetett elvégezni, kizárásra kerültek. A klinikai és radiológiai jellemzők alapján, a betegeket 3 nagy csoportba soroltuk. Az 1-es csoport kis-ér betegséget reprezentált (egy vagy több subcorticalis hemispherialis vagy agytörzsi infarktus, melynek legnagyobb átmérője kisebb volt, mint 15mm az MRI képeken; klinikailag klasszikus lacunar syndroma jellemezte a beteget, corticalis funkciózavarok nélkül). A 2-es csoport nagy-ér infarktusnak felelt meg (corticalis vagy cerebelláris laesiók és/vagy agytörzsi infarktusok vagy subcorticalis hemispherialis infarktusok, melyek legnagyobb átmérője meghaladta a 15 mm-t az MRI képeken; klinikailag corticalis vagy agytörzsi vagy cerebelláris tünetek voltak a jellemzők). A 3-as csoport kevert vascularis pathológiát mutatott (egy vagy több lacunaris és nagy-ér infarktus az MRI képeken). Ezen alcsoportok különböző jól definiálható vasculáris patológiákat képviseltek, melyek kialakulásában a vizsgált mutációk potenciálisan különböző szerepet tölthetnek be.

Kontroll csoportként, 199 negatív agyi MRI vizsgálattal rendelkező egyén került átvizsgálásra. A kontrollokat a Pandy Kálmán Kórház I. sz Neurológiai osztályán kezelt fekvő/járóbeteg populációjából választottuk ki. A beválasztás fő kritériuma a negatív agyi MRI vizsgálat volt. A kontroll egyének panaszai illetve betegségei (pondylopathia, lumbalis stenosis, szédülés, tenziós típusú fejfájás) nem befolyásolták a vizsgált genotípus eloszlást a szakirodalom jelenlegi álláspontja szerint. Mind a kontrollok mind a stroke betegek DNS analízisen mentek keresztül.

A klinikai adatok felmérése

Minden résztvevőnél, szérum koleszterin szint, sérum triglycerid szint, thrombocytaszám és haematokrit meghatározás történt. Magas vérnyomást akkor diagnosztizáltunk, ha a vérnyomás meghaladta a 160 Hgmm szisztolés és/vagy 95 Hgmm diasztolés értéket ismételt mérések esetén; vagy ha a beteg magas vérnyomás elleni terápiában részesült. A diabetes mellitus betegség diagnosztizálása az idevonatkozó WHO kritériumoknak [42] megfelelően történt. A diabetes mellitusra és a magas vérnyomásra vonatkozó adatokat a beteg kórtörténetéből, vagy legkorábban, a stroke eseményt követően 2 héttel elvégzett mérési adatokból nyertük. Ischaemias szívbetegnek akkor tartottuk a vizsgált egyént, ha a

kórtörténetében angina pectoris vagy szív infarktus szerepelt; vagy ha az EKG egyértelműen coronaria betegséget igazolt.

Dohányzók közé soroltuk azt a személyt, aki több mint napi 5 darab cigarettát szívott naponta legalább 1 éven keresztül. A rendszeres alkohol fogyasztás kritériumai a következők voltak: hetente egyszer vagy kétszer intoxikáció és/vagy az alkoholfogyasztás következtében kialakult munkahelyi és családi problémák). A testtömeg indexet kg/m^2 – ben adtuk meg.

DNS analízis

PCR technikával, Leiden V mutáció és ACE I/D polymorphismus meghatározás történt. A DNS izolálást [43] és a Leiden V mutáció [44] detektálását az eredeti leírások szerint végeztük. Az ACE I/D genotípusok meghatározása az eredeti leírások [45] általunk történt módosításával történtek, a heterozigóták pontosabb detektálása, valamint a vizsgálati idő lerövidítése céljából [46]. A DNS vizsgálatok a klinikai eredmények ismerete nélkül történtek.

Statisztikai analízis

A stroke csoportokban talált genotípusokat illetve allél frekvenciákat a kontroll csoportban detektált azonos mutációk gyakoriságával hasonlítottuk össze χ^2 - teszt alkalmazásával. Az ACE I/D, ACE D/D genotípusokra valamint a Leiden V mutációra vonatkozóan megadtuk a nyers esély hányadosokat (ORs). Felhasználva a klinikai és genetikai adatokat egy logisztikus regressziós modellt alkottunk. A modell tagjai a következők voltak: Leiden V mutáció, ACE D/D genotípus, testsúly index, kor, magasvérnyomás, diabetes mellitus, ischaemias szívbetegség, serum koleszterin szint, serum triglycerid szint, dohányzási és ivási szokások. A modelltől származó OR-okat WINDOWS-ra alkalmazott statisztikai programcsomag segítségével számoltuk (SYSTAT 10). A logisztikus regressziós modell alkalmazása a klinikai stroke rizikó tényezők és a genotípusok közötti esetleges kapcsolatok megítélésére illetve figyelembevételére szolgált. A logisztikus regressziós modelltől származó OR-ok a stroke altípusok és a genotípusok közötti közvetlen kapcsolat mértékét jelezték.

Eredmények

A betegek és a kontrollok klinikai jellemzőit az 1. számú táblázat tartalmazza. A testsúly indexek, serum koleszterin és triglycerid szintek szignifikánsan magasabbnak bizonyultak mindegyik stroke csoportban. A magas vérnyomás, diabetes mellitus betegség, dohányzás és alkoholfogyasztás szignifikánsan gyakrabban fordult elő mind a három stroke alcsoportban.

A három stroke csoportban talált genotípus megoszlásokat a 2. számú táblázatban adtuk meg. A Leiden V mutáció gyakrabban fordult elő a 2-es stroke csoportban (13.6%; $p < 0.025$) mint a kontroll csoportban (6.5%). A Leiden V mutáció allél gyakorisága szignifikánsan magasabb volt a 2-es csoportban (0.07; $p < 0.025$), a kontroll csoportban talált allél frekvenciához képest (0.04). A Leiden V mutációt hordozó betegek között, a nagy-ér infarktusra kapott esélyhányados 2.25 volt (95% CI; 1.16-4.34). Az 1-es (0.03), 3-as (0.04) stroke csoportban valamint az összevont stroke csoportban (1+2+3) detektált allél gyakoriság (0.05) azonban nem különbözött a kontroll csoportban észlelttől (0.04).

Az ACE D/D genotípus gyakrabban volt detektálható az 1-es csoportban (40.6%; $p < 0.0005$) mint a kontroll csoportban (22.6%). Az ACE D/D genotípust hordozó egyének között, a kis-ér infarktusra vonatkozó esélyhányados 2.31 (95%; CI, 1.49-3.57) volt. Az ACE D allél szignifikánsan gyakrabban volt detektálható az 1-es csoportban (0.63%; $p < 0.0005$) mint a kontroll egyéneknél (0.47%)

Az ACE I/D genotípus, 1-es (0.448), 2-es (0.493) és 3-as (0.47) stroke csoportban talált gyakorisága nem különbözött szignifikánsan a kontroll csoportban lévőktől (0.497). Az ACE D/D genotípus frekvenciája nem bizonyult magasabbnak az összevont (1+2+3) stroke csoportban (0.283), a kontroll csoportéhoz hasonlítva (0.226).

A heterozigóta Leiden V mutáció szignifikánsan gyakrabban fordult elő a 2-es stroke csoportban (13.2%) mint az 1-es (6%; $p < 0.01$) és 3-as (6.6%; $p < 0.025$) stroke csoportokban. Az ACE D/D genotípus szignifikánsan gyakrabban volt megtalálható az 1-es stroke csoportban (40.3%) mint a 2-es (20.7%; $p < 0.0005$) és 3-as (26.8%; $p < 0.01$) csoportban.

A logisztikus regressziós modellből számolt esélyhányadosokat a 3. táblázat tartalmazza. A több parametrikus adatfeldolgozás szerint, a Leiden V mutáció nagy-ér területi stroke bekövetkezésére (OR 2.56; $p < 0.003$), az ACE D/D genotípus (OR 2.87; 0.0005) kis-ér területi stroke kialakulásra jelent rizikótényezőt. A modellből származó adatok azt mutatták, hogy a többi vizsgált genotípus nem jelentett szignifikáns rizikótényezőt a különböző stroke entitások előfordulására.

1. Táblázat

A betegek és a kontrollok klinikai adatai

	<i>1 CSOPORT</i> <i>N=201</i>	<i>2 CSOPORT</i> <i>N=280</i>	<i>3 CSOPORT</i> <i>N=183</i>	<i>KONTROLLOK</i> <i>N=199</i>
Nem, nő, férfi	98, 103	136, 144	89, 94	98, 101
Kor, év	61.1±16.6	58.9±17.8	61.61±17.3	59.3±17.6
BMI, kg/m ²	25.6±1.4**	25.5±1.6**	25.4±1.5**	24.2±1.3
Koleszterin, mmol/L	6.7±1.4**	6.8±1.7**	6.9±1.4**	5.5±1.6
Triglycerid, mmol/L	1.72±0.82**	1.69±0.61**	1.73±0.72**	1.45±0.29
Hematocrit %	48±5	47±8	49±7	48±6
Thrombocyta, x 10 ⁹	250±41	251±31	249±28	253±18
Magasvérnyomás.	59.7%***	46.79%***	49.18%***	11.05%
Cukorbetegség	47.26%***	33.92%***	28.41%***	6.03%
Dohányzás	30.35%***	28.21%***	33.33%***	10.05%
Alkohol fogy.	12.44%*	12.14%*	13.66%**	4.02%
Ischaemias szív bet.	11.44%	12.14%	13.11%	10.05%

*: p<0.005; **: p<0.001; ***: p<0.0005;

2. Táblázat

A kontroll valamint a stroke csoportokban található genotípus megoszlások

	<i>1 Csop.</i>	<i>2 Csop.</i>	<i>3 Csop.</i>	<i>1+2+3 Csop.</i>	<i>Kontollok</i>
	<i>N</i>	<i>N</i>	<i>N</i>	<i>N</i>	<i>N</i>
<i>Genotípusok</i>					
Heterozigóta Leiden V	12 6%	37 13.2%*	12 6.6%	61 9.2%	12 6%
Homozigóta Leiden V	1 0.5%	1 0.4%	1 0.5%	3 0.45%	1 0.5%
Homozigóta és heterozigóta Leiden V	13 6.5%	38 13.6%*#	13 7.1%	64 9.6%	13 6.5%
Leiden V allél frekvencia	0.03	0.07*	0.04	0.05	0.04
ACE I/D	90 44.8%	138 49.3%	86 47%	314 47.3%	99 49.7%
ACE I/I	30 14.9%	84 30%	48 26.2%	162 24.4%	55 27.6%
ACE D/D	81 40.3%** χ	58 20.7%	49 26.8%	188 28.3%	45 22.6%
D allél frekvencia	0.63**	0.45	0.50	0.52	0.47
I allél frekvencia	0.37	0.55	0.50	0.48	0.53

*: $p < 0.025$; **: $P < 0.0005$; #OR=2.25 (95% CI, 1.16 to 4.34); χ OR=2.31 (95% CI, 1.49 to 3.57)

3. Táblázat

Multiplex logisztikus regressziós analízis eredményei

	<i>1 Csoport</i>	<i>2 Csoport</i>
<i>Genotípusok</i>	<i>OR</i>	<i>OR</i>
Heterozigóta vagy homozigóta Leiden V mutáció	0.85	2.56#
ACE D/D	2.87 ψ	1.18

OR: esélyhányados.;#: $p < 0.003$; ψ : $p < 0.0005$;

Megbeszélés

A különböző stroke csoportok különböző patológiai folyamatokat reprezentáltak. Az eddigi klinikai és patológiai adatok szerint, a lacunaris infarktusok főleg a kis penetráló artériák és arteriolák patológiai elváltozásával állnak kapcsolatban. Ezek az erek a basalis ganglionok és a subcorticalis fehérállomány vérellátását biztosítják. Patológiai elfajulásuk fibrohyalin degenerációval, érfal vastagodással és következményes érlumen beszűküléssel jellemezhető. Krónikus magasvérnyomás, diabetes mellitus betegség és a kor előrehaladása jelentik a legfontosabb rizikótényezőket kifejlődésükre. Nagy-ér infarktust, ezzel szemben, főleg nagy érszűkület, thromboticus és/vagy embóliával járó patológiás események okoznak. Mind a kis-ér, mind nagy-ér infarktus multifaktoriális betegségnek tekinthető [10,47,48]. Klinikai adataink a szakirodalomnak megfelelő összefüggéseket mutatták. A magasvérnyomás és diabetes mellitus betegségek gyakrabban fordultak elő a kis-ér patológiát mutató stroke betegek között, mint a nagy-ér infarktuson átesettek között. Ugyanakkor az emelkedett szérum koleszterin és szérum zsírsav szintek, dohányzás, alkoholfogyasztás, magas vérnyomás és cukorbetegség klinikai rizikótényezőket jelentettek mind a két érpatológia kialakulására (kis-ér és nagy-ér infarktus).

A genetikai eredményeink elemzése azt mutatta, hogy a Leiden V mutáció szignifikánsan gyakoribb volt a nagy-ér infarktuson átesett betegek között, mint a stroke-mentes kontroll csoportban. A lacunaris infarktust illetve kevert vasculáris patológiát reprezentáló csoportban, a Leiden V mutáció nem fordult elő szignifikánsan gyakrabban a kontroll csoporthoz hasonlítva. Az ACE D/D genotípus gyakrabban volt detektálható a kis-ér patológiát mutató egyének között. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a Leiden V mutáció szerepet játszhat azokban a folyamatokban, melyek nagy-ér infarktust okoznak. Az ACE D/D genotípus, ezzel szemben, inkább a kis-ér betegségek kialakulásához járul hozzá. A stroke csoportok közötti statisztikai összehasonlítás, valamint a logisztikus regressziós modellből kapott eredmények megerősítették a különböző genotípusok és a stroke alcsoportok közötti kapcsolatokat. A Leiden V mutáció és ACE I/D polymorphismus, mint potenciálisan kedvezőtlen genetikai faktorok, feltehetően különböző szerepet tölthetnek be a különböző stroke altípusok kialakulásában. A vizsgált genotípusok és az ischaemias stroke, mint összevont entitás között nem találtunk szignifikáns kapcsolatot. Ezek az adatok felvetik azt a lehetőséget, amely szerint a különböző stroke pathophysiologiák kialakulására a különböző genetikai polymorphismusok lehetnek hatással. A különböző stroke altípusok kialakulását

nem csak a markáns klinikai rizikófaktorok, hanem különböző minor hatással bíró genetikai polymorphismusok befolyásolhatják. A kedvezőtlen genotípusok különböző mértékű rizikót jelenthetnek a különböző stroke típusok kialakulásában. Az ACE I/D polymorphismus egy fontos genetikai elem a renin-angiotenzin rendszerben. A rendszer aktivitása fontos szerepet tölt be a rövid és a hosszú távú cardiovascularis szabályozásban [49]. Az ACE D/D genotípus magas angiotenzin II szintet okozva, kedvezőtlen vasoregulációs hatással bír. A ACE D allél jelenléte hozzájárulhat érfal vastagodáshoz [50], érösszehúzódáshoz [51,52], simaizom proliferációhoz [50,51], és stroke-hoz [52]. Ezek a mechanizmusok megmagyarázhatják az ACE D/D genotípus kis-ér infarktusban betöltött szerepét. A Leiden V mutáció, aktivált protein rezisztenciát okozva, közvetlen thrombophiliával áll kapcsolatban [53]. Mint közvetlen thromboticus faktor, nagy-ér infarktushoz járulhat hozzá. A két mutáció közül azonban egyik sem bizonyult szignifikáns rizikó-tényezőnek ischaemias stroke-mint összevont entitás-kialakulására. Eredményeink a stroke betegségek genetikai heterogenitását hangsúlyozzák, valamint megerősítik azt a felvetett hipotézist, mely szerint mind a két vizsgált mutáció szerepet játszik bizonyos stroke alcsoportok kialakulásában. Néhány pontot szeretnénk kiemelni a tanulmányra vonatkozóan.

A, A kontroll egyének negatív agyi MRI eredménnyel bírtak. Klinikailag stroke-mentes kontroll csoport felhasználása esetén, a kontrollok „silent agyi infarktusokat” hordozhattak volna. Ez a lehetőség a kontroll és stroke betegek közötti genotípus különbségeket eltorzíthatta volna.

Ez az effektus lehet az egyik oka az általunk vizsgált genotípusok stroke-ban betöltött szerepe feletti vitának.

B, Az általunk talált genetikai heterogenitás megfelelt az ischaemias stroke-ban észlelt fő vascularis dichotomiának (kis-ér versus nagy-ér patológia).

C, Jól megválasztott klinikai csoportosítás mind a Leiden V mutáció mind az ACE I/D polymorphismus stroke alcsoportokban betöltött szerepét igazolta.

PLA1/2 polymorphismus ischaemias stroke betegségekben való előfordulása

Bevezetés

A thrombocyták felszínén található glycoprotein IIb/IIIa receptor a fibrinogén és a von Willebrand faktor megkötéséért felelős [54]. Ez a receptor funkció fontos szerepet tölt be thrombocyták összetapadásában, aggregációjában [54]. Két nagy genetikailag meghatározott, a populációban gyakran előforduló típusát (PLA1/PLA2) hozták kapcsolatba érrendszeri beteségekkel [54]. A szakirodalom szerint, a PLA2 allél szerepet tölthet be az ischaemias szívbetegségek kialakulásában [54-57]. A PLA2 allél ischaemias stroke-ban betöltött szerepe kérdéses [58-60]. Vizsgálataink során a PLA2 allél ischaemias stroke altípusaibanban betöltött szerepét elemeztük.

A vizsgált beteganyag

545 acut ishaemias stroke-on átesett beteg klinikai és genetikai adatait elemeztük. A betegek és a kontrollok beválasztása, klinikai átvizsgálási protokollja illetve klasszifikációja az előző fejezet metodikai részében leírt kritériumok szerint történt (9. oldal). A stroke betegeket három nagy csoportba soroltuk: az 1. betegcsoport kis-ér infarktust, a 2. nagy-ér infarktust, a 3. betegcsoport kevert vascularis patológiát (kis-ér és nagy-ér infarktus) reprezentált. 158 negatív koponya MRI eredménnyel rendelkező egyén szolgált kontrollként.

A klinikai adatok értékelése

A résztvevők klinikai adatainak felmérése illetve értékelése az előző fejezet metodikai kritériumai alapján történtek (10. oldal).

DNS analízis

A betegek és a kontrollok genotípus meghatározása az V-ös számmal jelzett, eredeti, publikációs céllal beadott kéziratban leírt módszer alapján történt.

Statisztikai analízis

A stroke csoportokban és a kontroll csoportban regisztrált klinikai adatokat χ^2 - teszttel vagy Mann Whitney próbával hasonlítottuk össze. A stroke és a kontroll csoportok közötti genotípus különbségeket χ^2 - teszt alkalmazásával ítéltük meg. Megadtuk a nyers - illetve az általunk felállított - logisztikus regressziós modellből származó korrigált esélyhányadosokat. A logisztikus regressziós modell elemi paramétereit a szignifikáns klinikai rizikótényezők (4. táblázat) valamint a PLA2 mutációt hordozó genotípusok képezték. A statisztikai számításokat a SYSTAT 10 programcsomag segítségével végeztük.

Eredmények

A klinikai adatokat a 4-es számú táblázat tartalmazza. A genotípus megoszlások az 5-s táblázatban, a logisztikus regressziós modellből származó eredmények a 6-os táblázatban kerültek összefoglalásra. A PLA1/PLA2 + PLA2/PLA2 genotípusok gyakrabban fordultak elő a 2-es (44.8%; $p < 0.0005$) mint a kontroll csoportban (22.2%). A PLA2 allélt hordozó személyek között, a nagy-ér infarktus bekövetkezésére vonatkozó nyers esély hányados 2.85 volt (95% CI, 1.79-4.53). Az 1-es (22.6%), 3-as (27.5%) csoportban detektált PLA1/PLA2 + PLA2/PLA2 genotípusok előfordulása nem különbözött statisztikailag a kontroll csoportban észleltől (22.2%). A PLA2 allélt tartalmazó genotípusok gyakrabban fordultak elő a 1+2+3 összevont stroke csoportban (32.5%; $p < 0.05$) mint a kontrollok között (22.2%).

4. Táblázat

A betegek és a kontrollok klinikai jellemzői

	1. Csoport	2. Csoport	3. Csoport	Kontroll
	N=168	N=210	N=167	N=158
Nem, férfi/nő	72/96	92/118	78/89	77/81
Kor, év	64.3±17.4**	65.5±14.6**	63.6±15.5**	57.3±13.4
BMI, kg/m ²	25.6±3.7	25.3±3.4	24.9±3.1	23.6±4.2
Koleszterin, mmol/L	6.1±1.8**	5.9±1.9**	5.8±1.9**	5.1±0.6
Triglycerid, mmol/L	1.6±0.7***	1.7±0.8***	1.9±0.6***	1.3±0.6
Thrombocyta, x 10 ⁹	243±51	242±52	243±48	239±51
Haemoglobin, g/L	145±32.2	148±27.8	145±33	142±29
Magasvérnyomás	57.7%***	42.9%***	48.5%***	14.6%
Cukorbetegség	48.8%***	34.8%***	33.5%***	7.6%
Dohányzás	30.9%**	34.8%***	32.3%***	14.6%
Ivás	20.8%***	22.9%***	18.6%*	7%
Ishaemic szív betegség	30.9%***	27.6%***	25.7%***	8%

*p<0.005; **p<0.001; ***p<0.0005;

5. Táblázat

Genotípus és allél megoszlások

	1. Csoport	2. Csoport	3. Csoport	Összbeteg	Kontroll
	N	N	N	N	N
Genotípusok					
A1/A1	130	117	121	368	123
	77.4%	55.7%	72.4%	67.5%	77.8%
A1/A2	35	88	44	167	33
	20.8%	41.9%**#	26.3%	30.6%*	20.9%
A2/A2	3	5	2	10	2
	1.8%	2.4%	1.4%	1.8%	1.3%
A1/A2 + A2/A2	38	94	46	177	35
	22.6%	44.8%** χ	27.5%	32.5%* ϖ	22.2%
A2 allél frekvencia	41	98	48	187	37
	12.2%	23.3%**	14.4%	17.2%*	11.7%

*P<0.05; **P<0.0005; #OR=2.73 (95% CI, 1.7 to 4.38); χ OR=2.85 (95% CI; 1.79 to 4.53)
 ϖ OR=1.69 (95% CI; 1.11-2.56)

6. Táblázat

Multiplex regressziós analízisből származó esélyhányadosok

<i>Genotípus</i>	<i>1. Csoport</i>	<i>2. Csoport</i>	<i>3. Csoport</i>	<i>1+2+3 Csoport</i>
	<i>OR (95% CI)</i>	<i>OR (95% CI)</i>	<i>OR (95% CI)</i>	<i>OR (95% CI)</i>
<i>PLA 2 mutációt hordozó genotípusok</i>	0.46 (1.09-0.2)	2.8 (4.89-1.60) *	1.04 (1.94-0.56)	1.65 (2.71-1.01) ψ

*: $p < 0.0005$; ψ : $p < 0.05$;

Megbeszélés

A PLA2 allélt tartalmazó genotípusok szignifikánsabban gyakrabban voltak detektálhatóak a nagy-ér infartuson átesett betegek között. A kis-ér és a kevert vasculáris patológiát mutató agyi infarktusokban szenvedő egyének között a PLA2 allél nem fordult elő statisztikailag gyakrabban, mint a stroke-mentes kontrollok között. Ezen eredmények azt mutatják, hogy a PLA2 allél, mint kedvezőtlen minor rizikó faktor, elsősorban a nagy-érinfarktusok kialakulásában játszik szerepet. Eredményeink az ischaemias stroke genetikai heterogenitását támasztják alá. Más klinikai és genetikai vizsgálatok, melyek szerint a PLA2 allél szintén fontos szerepet játszik az acut szív koszorúér thrombosisok kifejlődésében [61,62], megerősítik a PLA2 allél acut nagy-ér elzáródásban betöltött szerepét. A PLA2 allél hordozók felismerése esetleg segítséget nyújthat a jövőben egy adekváltabb, specifikusabb stroke prevenció és terápia kidolgozásában.

A Hong Kong és Cambridge V faktor mutációk ischaemias stroke betegségekben betöltött szerepének vizsgálata

Bevezetés

A Leiden V-ös faktor mutációja mellett a Hong Kong és Cambridge V faktor mutációk is thrombophiliával járnak. Az utobbi két mutáció ischaemias stroke-ban való előfordulását európai régiókban eddig még nem vizsgálták. A Hong Kong mutáció gyakrabban fordul elő mélyvénás lábszár thrombosison átesett beteg között a kínai Hong Kong populációban [63]. A Cambridge mutációt Cambridge-ben élő aktivált protein C rezisztenciót mutató egyénben írták le [64] először. Jelen vizsgálataink során elemeztük a két mutáció magyar ischaemias stroke betegekben való előfordulását.

A vizsgált beteganyag

502 akut ischaemias stroke-on átesett beteg klinikai és genetikai adatait elemeztük. A betegek és a kontrollok beválasztása, klinikai átvizsgálási protokollja illetve klasszifikációja az előző fejezet metodikai részében leírt kritériumok szerint történt (9. oldal). 158 negatív koonya MRI eredménnyel rendelkező egyén szolgált kontrollként.

A klinikai adatok értékelése

A résztvevők klinikai adatainak felmérése illetve értékelése az előző fejezet metodikai kritériumai alapján történtek (10. oldal).

DNS analízis

A betegek és a kontrollok genotípus meghatározása az VI-ös számmal jelzett, eredeti, publikációs céllal beadott kéziratban leírt módszer alapján történt.

Eredmények

Az ischaemias stroke illetve kontroll betegeink nem hordoztak se Hong Kong, se Cambridge V faktor mutációt.

Megbeszélés

A magyar populációban, a Hong Kong illetve Cambridge V faktor mutációk nem játszanak fontos szerepet az ischaemias stroke kialakulásában.

Gyakori genetikai mutációk leukoaraiosisban betöltött szerepének vizsgálata

Bevezetés

A leukoaraiosis elnevezés egy jól definiálható neuroradiológiai fogalmat jelent. Leukoaraiosisnak nevezzük a CT képeken jelszegényen, a T2 súlyozott agyi MRI képeken jeldúsan megjelenő, kétoldali, foltos vagy összefolyó subcorticalis fehérállomány károsodásokat [65,66]. A leukoaraiosis különböző súlyosságú cognitive funkciózavarral állhat kapcsolatban (enyhe gondolkodási problémák, magatartási zavarok, súlyos fokú subcorticalis dementia syndromák). Ezen cognitív funkciózavarok populációs szinten széleskörű egészségügyi problémát okoznak [65,67-72]. A 65 év feletti egyének $\frac{1}{4}$ része szenved valamilyen fokú fehérállomány károsodás miatt [65]. A kor előrehaladása, magasvérnyomás, egy korábban elszenvedett stroke esemény, diabetes mellitus és szívbetegségek tűnnek a legfontosabb klinikai rizikótényezőknek [73]. Patomechanizmusként ischaemiás demyelinizációt és kísér betegséget feltételeznek az entitás kialakulásának hátterében [73-77]. Ezek a klinikai rizikótényezők azonban nem teljesen magyarázzák a leukoaraiosis előfordulását [65,73,74,78-81]. A pontos pathomechanismus illetve etiológiai faktorok még nem ismertek. Az eddigi adatok polygénés genetikai hátteret valószínűsítenek. Az angiotensin-konvertáló enzim D/D (ACED/D) genotípusa szignifikánsan gyakrabban fordul elő leukoaraiosisban, ha az utóbbi ischaemias stroke-al társul [82]. Az angiotensinogen gén promoter pontmutációja szintén szerepet játszhat a LA kialakulásában [83]. Az apolipoprotein E (APO E) 2/3 genotípus előfordulása és a L között szintén kapcsolatot találtak [84]. Az APO E 4 allél úgy tűnik nem játszik szerepet a L kialakulásában [85]. A Paraoxanase L/L genotípus (LL PON1) hozzájárul a fehérállomány károsodások progressziójához idősebb betegek esetében [86]. Más vasculáris eredetű L-ra vonatkozó genetikai adat jelenleg nem ismert. Vizsgálataink célja az volt hogy elemezzük az ACE I/D polymorphismus illetve methylenetetrahydrofolate reductase C677T (MTHFR C677T) mutáció L kialakulásában betöltött szerepét. Ezen genetikai faktorok kísér betegséggel [87,88] vagy vasoregulációs zavarral [89] vagy stroke-al [88] állnak kapcsolatban.

A vizsgált mutációk LA-ban előforduló gyakoriságát illetve interakcióit vizsgáltuk. A leukoaraiosis csoportokban talált genetikai eredményeinket statisztikailag negatív koponya MRI eredménnyel bíró kontroll csoportunk genotípus eredményeivel hasonlítottuk össze.

A vizsgált beteganyag

A betegek kiválasztása 2 lépésben történt. Első lépésben összegyűjtöttünk egy 843 főből álló beteg populációt. Az irodalmi adatok alapján a leukoaraiosis gyakrabban fordul elő cognitív funkciózavart mutató betegek körében, így azok az egyének kerültek beválasztásra, akik gondolkodásuk lelassulására, koncentrációs és figyelem összpontosítási nehézségekre, indítékszegénységre panaszkodtak. A beválasztott betegek cognitív funkciózavara a „Global Deterioration Scale” (GDS) 2-3 illetve a „Mini Mental State” (MMS) 24-30 pont súlyossági fokozatnak felelt meg [90]. A beteg anyag, 1998-2000 között, a Gyulai Pándy Kálmán Kórház I Neurológiai osztályán került átvizsgálásra. A szakirodalmi adatok szerint, fehérállomány károsodást észleltek az Alzheimer (AK) kórban szenvedő betegek 25-65 %-ban is [91,92]. Az ACE I/D polymorphismus hatással van az AK kór előfordulására [93]. Az ACE D allél védőfaktoraként szerepelhet az AK kialakulására vonatkozóan [93]. Azok a betegek, akik dementia syndromában szenvedtek (Mini Mental State pont kevesebb mint 24), vagy a pszichiatriai átvizsgálás elsődleges pszichiatriai betegséget valószínűsített, kizárásra kerültek. Ennek szelekciónak az volt a célja, hogy csökkentsük a klinikai heterogenitást és az AK kór esetleges, ACE I/D polymorphismus előfordulására kifejtett zavaró hatását.

A második lépésben az összes beteg részletes klinikai átvizsgáláson esett át, mely a következőket foglalta magába: részletes anamnézis felvétel, a vascularis rizikófaktorok felmérése, általános fizikális belgyógyászati és neurológiai vizsgálat, kiterjedt laboratóriumi vizsgálatok (coagulopathiak, protein C, protein S, antithrombin III hiány valamint vasculitis, B12 vitamin hiány kimutatásának irányában); nyaki erek ultrahang vizsgálata, liquor immunológiai vizsgálat ahol szükséges volt; és agyi MRI vizsgálat (Picker, Outlook, 0.23T).

Azok a betegséget, illetve állapotok, melyek a szakirodalom szerint fehérállomány károsodással állhatnak kapcsolatban (vascularis eredetű fehérállomány károsodáson kívül) további kizárásra kerültek [65]. Ezek az állapotok következőket foglalták magukba: sclerosis multiplex, progresszív multifocalis leukoencephalopathia, HIV fertőzés, Creutzfeld-Jakob betegség, fertőzés utáni demyelinizáció, trauma, irradiációs encephalopathia, chemoterápia, transzfúzió utáni állapot, hyperperfúziós szindróma, B12 hiány, jól definiált örökletes

leukoencephalopathiák. A szelekció után, a vascularis eredetű fehérállomány károsodásban szenvedő betegeket 2 nagy csoportra osztottuk. Az 1-es számú csoportba kerültek azok a betegek, akiknél csak leukoaraiosiszt találtunk. A 2-es számú csoportba azokat soroltuk, akiknél leukoaraiosis és agyi infarktus is igazolódott. A leukoaraiosiszt a Fazekas féle súlyossági skála alapján definiáltuk [94,95]. Nem tartottuk leukoaraiosisnak a pontszerű vagy sapkyszerű, illetve vonalvastagságú periventricularis demyelinizációs fehérállomány károsodásokat. Ezeket a szakirodalom normalis anatómiai variációknak tartja [94,95].

362 negatív koponya eredménnyel bíró egyén szolgált kontroll csoportként. A kontrollokat, a leukoaraiosisban szenvedő betegek szelekciója után fennmaradó 614 résztvevőből választottuk ki, azzal a feltétellel, hogy koponya MRI vizsgálati eredményük ne mutasson strukturális eltérést.

A klinikai adatok felmérése

A résztvevők klinikai adatainak felmérése illetve értékelése az előző fejezet metodikai kritériumai alapján történtek (10. oldal).

DNS alalízis

PCR technikával, MTHFR C677T mutáció és ACE I/D polymorphismus meghatározás történt. A DNS izolálás [96] és a MTHFR C677T mutáció meghatározás [97] az eredeti leírás szerint volt elvégezve. Az ACE I/D polymorphismus detektálása az eredeti módszer [98] módosított változata szerint történt [99], a heterozigóták pontosabb detektálása és a vizsgálat idő lerövidítése céljából. A genetikai vizsgálatok a klinikai eredmények ismerete nélkül történt.

Statisztikai analízis

χ^2 tesztet alkalmaztam a leukoaraiosis és kontroll csoportokban detektált allél és genotípus frekvenciák statisztikai összehasonlítására. A nyers esély hányadosok (ORs) megadása a genotípusok és a leukoaraiosis közötti összefüggés megítélésére szolgált. Továbbá egy logisztikus regressziós modellt hoztunk létre, a szignifikáns klinikai rizikó faktorok (7. Táblázat) befolyásoló hatásának kiküszöbölésére. A modell tagjai a következők

voltak: kor, szignifikáns klinikai rizikó faktorok (7. táblázat), szignifikáns genotípusok (8. táblázat). A logisztikus regressziós modellből kapott esélyhányadosok a leukoaraiosis és az adott genotípusok közötti közvetlen (a talált klinikai rizikótényezőktől független) összefüggés mértékét jelezték. A logisztikus regressziós analízis a SYSTAT 10 programcsomag felhasználásával történt.

Eredmények

A betegek és a kontroll csoport klinikai adatait a 7-es számú táblázat tartalmazza. Nem találtunk szignifikáns különbséget a leukoaraiosis alcsoportok és a kontroll csoport között a testsúly index, serum koleszterin szint, serum triglycerid szint, a thrombocyta szám, az ishaemias szívbetegségek, haematokrit, ivási és dohányzási státusz vonatkozásában. A magasvérnyomás szignifikánsan gyakrabban fordult elő az 1-es csoportban (49.65%, $p < 0.005$) és a 2-es csoportban (48.84%, $p < 0.025$) mint a kontroll csoportban (33.98%). A cukorbetegség előfordulása a 2-es csoportban (25.58%, $p < 0.005$) magasabb volt a kontrollokhoz hasonlítva (12.98%).

A genotípus megoszlások illetve a nyers esélyhányadosok a 8-as számú táblázatban kerültek megadásra. Az ACE D/D genotípus gyakrabban fordult elő 2-es (38.37%, $p < 0.0005$) és a kombinált leukoaraiosis (1+2) csoportokban (28.82%, $p < 0.025$) mint a kontroll csoportban (20.17%). Az ACE D/D genotípus 1-es csoportban észlelt gyakorisága (23.08%) nem különbözött statisztikailag a kontroll csoporthoz hasonlítva (20.17%). Az ACE D/D genotípust hordozó beteg között, a 2-es csoportra vonatkozó nyers esélyhányados 2.46 (95% CI, 1.49-4.08) volt. Az 1-es csoportban észlelt ACE D allél frekvencia (0.49) nem különbözött statisztikailag a kontroll csoportban észlelttől (0.47).

Bár az ACE D allél előfordulása szignifikánsan magasabb volt a 2-es csoportban (0.61, $p < 0.001$) mint a kontrollok között (0.47), az ACE I/D genotípus 1-es (51.05%), 2-es (45.35%) és 1+2 kombinált (48.91%) csoportokban talált frekvenciája nem különbözött statisztikailag a kontroll csoportban találttól (53.04%). A homozigóta MTHFR C677T mutáció 1-es (14.68%), 2-es (15.12%) és 1+2-es (14.84%) kombinált csoportokban lévő gyakorisága nem különbözött a kontroll egyénekhez hasonlítva (9.94%). Hasonlóan a heterozigóta MTHFR C677T mutáció, 1-es (34.27%), 2-es (37.21%) valamint 1+2-es kombinált (35.37%) csoportokban való megoszlása nem mutatott szignifikáns különbséget a kontrollokhoz képest (35.08%). Az ACE D/D és homozigóta MTHFR C677T mutációk

együttes előfordulása szignifikánsan magasabbnak adódott az 1-es (11.89%, $p < 0.0005$; OR 4.75, 95% CI 2.12-10.65), 2-es (12.79%, $p < 0.0005$, OR 5.16, 95% CI 2.12-12.6) és az 1+2-es kombinált csoportban (12.23%, $p < 0.0005$, OR 4.9, 95% CI 2.33-10.3) mint a kontroll csoportban (2.79%).

A logisztikus regressziós számításból származó korrigált esélyhányadosokat a 9-es táblázat tartalmazza. Azok a betegek akik ACE D/D genotípust hordoznak fokozott rizikóval bírnak cerebrális infarktussal kombinálódó leukoaraiosis kialakulására (logisztikus regressziós analízisből származó OR 1.79, 95% CI 1.08-2.96, $p < 0.025$). Az ACE D/D és a homozigóta MTHFR C677T genotípusok együttes előfordulása fokozott rizikót jelent leukoaraiosis, (logisztikus regressziós elemzésből származó OR 8.16, 95% CI 2.85-23.36, $p < 0.0005$) valamint cerebrális infarktussal kombinálódó leukoaraiosis kialakulására (logisztikus regressziós elemzésből származó OR 3.93, 95% CI 1.3-11.82, $p < 0.015$).

7. Táblázat
Betegek és a kontrollok klinikai adatai

	<i>1. Csoport</i>	<i>2. Csoport</i>	<i>Kontroll</i>
	<i>N=143</i>	<i>N=86</i>	<i>N=362</i>
Sex, Nő, Férfi	70, 73	42, 44	172, 190
Kor, év	68.02±12.4****	66.45±13.32**	61.34±11.46
BMI, kg/m ²	24.5±4.3	23.9±3.9	24.1±3.5
Koleszterin, mmol/L	6.2±1.4	6.3±1.5	6.2±1.7
Triglyceridek, mmol/L	1.57±0.9	1.55±0.8	1.54±0.8
Haematocrit %	46.3±5.8	44.9±8.7	45.1±7.2
Thombocytá, x 10 ⁹	232±44	238±47	235±41
Magasvérnyomás	49.65%***	48.84%*	33.98%
Diabetes mellitus	15.38%	25.58%***	12.98%
Dohányzás	30.07%	27.91%	27.9%
Ivás	12.59%	12.79%	9.67%
Ischemias szív beteg.	11.19%	12.79%	12.98%

*p<0.025; **p<0.01; ***p<0.005; ****p<0.001;

8. Táblázat

A különböző genotípus megoszlások a leukoaraiosis csoportokban és a kontrollok között

	1. Csoport	2. Csoport	1+2 Csoport	Kontroll
	<i>N</i>	<i>N</i>	<i>N</i>	<i>N</i>
<i>Genotípusok</i>				
ACE I/D	73 51.05%	39 45.35%	112 48.91%	192 53.04%
ACE I/I	37 25.87%	14 16.28%	51 22.27%	97 26.8%
ACE D/D	33 23.08%	33 38.37%**** τ	66 28.82%**	73 20.17%
ACE D allél frekvencia	0.49	0.61***	0.53*	0.47
Homozigóta MTHFR C667T	21 14.68%	13 15.12%	34 14.85%	36 9.94%
Heterozigóta MTHFR C667T	49 34.27%	32 37.21%	81 35.37%	127 35.08%
Homozigóta MTHFR C667T és ACE D/D együtt	17 11.89%**** ξ	11 12.79%****Φ	28 12.23%****ϑ	10 2.76%

*p<0.05; **p<0.025; ***p<0.001; ****p<0.0005;

τ: OR=2.46 (95% CI, 1.49 to 4.08); ξ: OR=4.75 (95% CI, 2.12 to 10.65);

Φ: OR=5.16 (95% CI, 2.12 to 12.6); ϑ: OR=4.9 (95% CI, 2.33 to 10.3).

9. Táblázat**Multiplex regressziós modelből származó esélyhányadosok**

<i>Genotípusok</i>	<i>1. Csoport</i>	<i>2. Csoport</i>	<i>1+2 Csoport</i>
	<i>OR (95% CI)</i>	<i>OR (95% CI)</i>	<i>OR (95% CI)</i>
Homozigóta MTHFR C667T + ACE D/D	8.16 (2.85-23.36) ψ	3.92 (1.3-11.82) *	5.76 (2.43-13.63) ψ
<i>ACE D/D</i>	0.61 (0.34-1.11)	1.79 (1.08-2.94) #	1.32 (0.92-1.52)

*: $p < 0.015$; #: $p < 0.025$; ψ : $p < 0.0005$;

Megbeszélés

A leukoaraiosis egy gyakran előforduló neuroradiológiai fogalom, elsősorban az idősebb és középkorú korosztályokat érinti [65,73]. A kor, magasvérnyomás és cukorbetegség, mint vasculáris rizikó tényezők a fehérállomány kis-ér rendszerében patológiás elfajulásokat okozhatnak [73,100,101]. Kóros vasoregulációs folyamatok, melyeket magasvérnyomás, cukorbetegség, egy korábban lezajlott stroke esemény vagy szívbetegség is létrehozhat, szintén hozzájárulhatnak leukoaraiosis kialakulásához [102-105]. Ezzel összhangban, vizsgálataink során, a magasvérnyomás klinikai rizikótényezőt jelentett mind a leukoaraiosis mind cerebralis infarktussal kombinálódó leukoaraiosis kifejlődésére. Nem volt különbség ebben a tekintetben a két csoport között. A cukorbetegség azonban nem jelentett klinikai rizikót az infarktus nélküli leukoaraiosis kialakulására. Ez az adat illetve a diabetes mellitusnak a cerebralis infarktussal járó leukoaraiosis csoportban észlelt szignifikánsan magasabb aránya, azt jelzi, hogy a cukorbetegség feltehetően a vasculáris patológiához és nem a leukoaraiosishoz járul hozzá közvetlenül. Hasonló következtetést vontak le más klinikai vizsgálat során [75].

Az ACE D/D genotípus szignifikáns rizikót jelentett cerebralis infarktussal járó leukoaraiosis kialakulására. Az ACE I/D polymorphismus a renin-angiotenzin rendszer egyik fontos genetikai eleme. A rendszer aktivitása meghatározó szerepet játszik a cardiovascularis rendszer rövid illetve hosszú távú szabályozásában [89]. Az ACE D/D genotípus, meghatározva az angiotenzin II serum szintjét, kedvezőtlen hatást fejt ki a vasoregulációs rendszerre [89]. Az ACE D allél jelenléte vasculáris érfal megvastagodáshoz [106], érösszehúzódáshoz [107], simaizom proliferációhoz [107] és stroke események [88,108] kifejlődéséhez járulhat hozzá. Ezek a mechanizmusok magyarázattal szolgálhatnak az ACE D/D genotípus, cerebralis infarktussal kombinálódó leukoaraiosis kialakulásában betöltött szerepére. A homozigóta MTHFR C677T mutáció, amely magasabb serum homocystein szinttel állhat kapcsolatban, szintén kedvezőtlen vasoregulációs hatással bír [109-114]. Az emelkedett serum homocystein szint számos szinten okozhat endothel funkciózavart [114]. A homocystein az endothel sejtek által termelt NO produkciót csökkenti. A homocystein közvetlenül is károsítja az érfalat [114]. Korábbi megfigyelések szerint leukoaraiosisban szenvedő betegek serumában szignifikánsan magasabb a serum homocystein szint és szignifikánsan alacsonyabb a serum folsav szint [115]. Vizsgálatainkban, a homozigóta MTHFR C677T és ACE D/D genotípus külön-külön nem bizonyultak rizikótényezőnek

infarktus nélküli leukoaraiosis kialakulására. A két genotípus együttes előfordulása azonban szignifikánsan gyakrabban volt észlelhető mind a két leukoaraiosis csoportban. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a két homozigóta genotípus - mint egymással kölcsönhatásban lévő genetikai faktorok - szignifikáns genetikai rizikót jelentenek leukoaraiosis kialakulására. A két mutáció együttes előfordulását szintén megfigyeltük korábban ischaemias stroke esetében [116,117]. Ezek az adatok azt mutatják, hogy pathophysiologiai alapon kedvezőtlen hatású genetikai mutációk illetve polymorphizmusok, melyek egyedül nem jelentenek szignifikáns rizikót, együttesen szerepet játszhatnak agyi keringészavarral járó kórképek kifejlődésében. Eredményeink valamint az a tény, hogy mindkét mutáció (ACE D/D és MTHFR C677T) fontos pathophysiologiai szerepet játszik a cardiovasculáris rendszer szabályozásában, összhangban áll a korábban felvetett hipotézissel, mely szerint a vasoregulációs zavarok nagymértékben hozzájárulnak leukoaraiosis kialakulásához.

Genetikai vizsgálatok és klinikai megfigyelések lehetővé teszik a leukoaraiosis kifejlődésében szerepet játszó fontosabb rizikótényezők feltárását és így feltehetően új lehetőséget nyitnak meg a speciálisabb prevenció illetve terápia kidolgozására. Az emelkedett szérumszint homocystein szint, mely oki kapcsolatban állhat homozigóta MTHFR C677T mutáció előfordulásával, csökkenthető fokozott napi folsav bevitellel [114]. A homozigóta MTHFR C677T és ACE D/D genotípus együttes előfordulása felhívhatja a figyelmet panaszmentes egyéneknél kialakult kórosan megváltozott keringésszabályozásra, melyet a vérnyomás kóros napi ingadozása, alacsony vérnyomással járó krízisek vagy fokozott orthostasis jellemezhet [102,103]. Ezeket a klinikai jellemzőket korábban mind leírták leukoaraiosisban szenvedő betegekben [104,105,118,119]. A keringésszabályozás zavara és az általunk leírt genotípus mintázat közötti lehetséges kapcsolat igazolása további klinikai megerősítésre szorul. A vasculáris genetikai rizikó faktorok interakcióinak klinikai hatásai feltehetően nagy kihívást jelentenek a jövőben [120]. A leukoaraiosis genetikai aspektusának vizsgálata esetleg felgyorsítja a pontosabb pathomechanizmus megértését, és új lehetőséget nyit egy speciális prevenció és terápia kialakítására.

Referenciák:

1. Natowicz M, Kelley RI. Mendelian etiologies of stroke [review] *Ann Neurol* 1987;22:175-92.
2. Alberts MJ. Genetic aspects of cerebrovascular disease. *Stroke* 1990;22:276-280.
3. Kiely DK, Wolf PA, Cupples A, Beiser AS, Myers R. Familial aggregation of stroke: The framingham study. *Stroke* 1993;24:1366-1371.
4. Wannamethee SG, Shaper AG, Ebrahim S. History of parental death from stroke or heart trouble and the risk of stroke in middle-aged men. *Stroke* 1996;27:1492-1498.
5. Liao D, Myers R, Hunt S et al. Familial history of stroke and stroke risk. *Stroke* 1997;28:1908-1912.
6. Brass LM, Isaacsohn JL, Merikangas KR, Robinette CD. A study of twins and stroke. 1992;23:221-223.
7. Brass LM, Carrano D, Hartigan PM, Concato J, Page WF. Genetic risk for stroke : A follow-up study of the National Academy of Sciences/Vetteran Administration twin registry. *Neurology* 1996;46:A212.1.
8. Saver JL, Tamburi T (2000) Genetics of cerebrovascular disease. In: Pulst SM.(ed) *Neurogenetics*. Oxford University Press, New York, pp 403-431.
9. Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle J et al. Classification of subtype of acute ischaemic stroke. *Stroke* 1993;24:35-41.
10. Hassan A, Markus HS. Genetics and ischaemic stroke. *Brain* 2000;123:1784-812.
11. Szolnoki Z, Somogyvári F, Szabó M, Fodor L. A clustering of unfavourable common genetic mutations in stroke cases. *Acta Neurol Scand* 2000;102:124-8.
12. Szolnoki Z, Somogyvári F, Szólics M, Szabó M, Fodor L. Common genetic mutations as possible aetiological factors in stroke. *Eur Neurol* 2001;45:119-20.
13. Glueck CJ, Fontaine RN, Wang P. Interaction of heritable and estrogen-induced thrombophilia: possible etiologies for ischaemic optic neuropathy and ischaemic stroke. *Thromb Haemost* 2001;85:256-9.
14. Szolnoki Z, Somogyvári F, Kondacs A, Szabó M, Fodor L. Evaluation of the roles of the Leiden V mutation and ACE I/D polymorphism in subtypes of ischaemic stroke. *J Neurol* 2001;248:756-61.
15. Appleby RD, Olds RJ. The inherited basis of venous thrombosis. *Pathology* 1997;29:341-7.

16. Catto A, Carter A, Ireland H, et al. Factor V Leiden gene mutation and thrombin generation in relation to the development of acute stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:783-5.
17. Chimowitz M, Mansbach H, Schmaier A. Factor V mutation and cryptogenic stroke in the young. *Stroke* 1996;27:188.
18. De Lucia D, Papa ML, Ammendola F, et al. Association of elevated level of prothrombin fragment 1+2 and Arg506 to Gln mutation in patients with a history of ischemic stroke. *J Neurosurg Sci* 1999;43:45-50.
19. Elbaz A, Amarenco P. Genetic susceptibility and ischemic stroke. *Curr Opin Neurol* 1999;12:47-55.
20. Eskandari MK, Bontempo FA, Hassett AC, Furaki H, Makaroun MS. Arterial thromboembolic events in patients with the factor V Leiden mutation. *Am J Surg* 1998;176:122-5.
21. Gaustadnes M, Rudiger N, Moller J, Rasmussen K, Bjerregaard Larsen T, Ingerslev J. Thrombophilic predisposition in stroke and venous thromboembolism in Danish patients. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1999;10:251-9.
22. Huisman MV, Rosendaal F. Thrombophilia. *Curr Opin Hematol* 1999;6:291-7.
23. Kontula K, Ylikorkala A, Miettinen H, et al. Arg506Gln factor V mutation (factor V Leiden) in patients with ischaemic cerebrovascular disease and survivors of myocardial infarction. *Thromb Haemost* 1995;73:558-60.
24. Lalouschek W, Aull S, Serles W, et al. C677T MTHFR mutation and factor V Leiden mutation in patients with TIA/minor stroke: a case-control study. *Thromb Res* 1999;93:61-9.
25. Longstreth WT Jr, Rosendaal FR, Siscovick DS, et al. Risk of stroke in young women and two prothrombic mutations: factor V Leiden and prothrombin gene variant (G20210A). *Stroke* 1998;29:577-80.
26. Ludemann P, Nabavi DG, Junker R, et al. Factor V Leiden mutation is a risk factor for cerebral venous thrombosis: a case control study of 55 patients. *Stroke* 1998;29:2507-10.
27. McColl MD, Chalmers EA, Thomas A, et al. Factor V Leiden, prothrombin 20210G A and the MTHFRC677T mutations in childhood stroke. *Thromb Haemost* 1999;81:690-4.
28. Meschia JF, Biller J, Witt T, Geist A, Rhinehart S. Is hormone replacement a risk factor for ischemic stroke in women with factor V Leiden mutation? *Arch Neurol*. 1998;55:1137-9.

29. Nabavi DG, Junker R, Wolff E, et al. Prevalence of factor V Leiden mutation in young adults with cerebral ischemia. A case-control study on 225 patients. *J Neurol* 1998;245:653-8.
30. Notsu Y, Nabika T, Park HY, Masudu J, Kobayashi S. Evaluation of genetic risk factors for silent brain infarction. *Stroke* 1999;30(9):1881-6.
31. Orlandi G, Pellegrinetti A, Fioretti C, Martini A, Murri L. Factor V Leiden mutation in a case with ischemic stroke: which relationship? *Angiology* 1998;49:79-82.
32. Rees DC, Cox M, Clegg JB. World distribution of factor V Leiden. *Lancet* 1995;346:1133-4.
33. Ridker PM, Glynn RJ, Miletich JP, Goldhaber SZ, Stampfer MJ, Hennekens CH. Age-specific incidence rates of venous thromboembolism among heterozygous carriers of factor V Leiden mutation. *Ann Intern Med* 1997;126:528-31.
34. Zenz W, Bodo Z, Plotho J, et al. Factor V Leiden and prothrombin gene G20210A variant in children with ischemic stroke. *Thromb Haemost* 1998;80:763-6.
35. Agerholm-Larsen B, Tybjaerg-Hansen A, Frikke-Schmidt R, Gronholdt ML, Jensen G, Nordestgaard BG. ACE gene polymorphism as a risk factor for ischemic cerebrovascular disease. *Ann Intern Med* 1997;127:346-55.
36. Doi Y, Yoshinari M, Yoshizumi H, Ibayashi S, Wakisaka M, Fujishima M. Polymorphism of the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene in patients with thrombotic brain infarction. *Atherosclerosis* 1997;132:145-50.
37. Kostulas K, Huang WX, Crisby M, et al. An angiotensin-converting enzyme gene polymorphism suggests a genetic distinction between ischaemic stroke and carotid stenosis. *Eur J Clin Invest* 1999;29:478-83.
38. Markus HS, Barley J, Lunt R, et al. Angiotensin-converting enzyme gene deletion polymorphism. A new risk factor for lacunar stroke but not carotid atheroma. *Stroke* 1995;26:1329-33.
39. Takami S, Imai Y, Katsuya T, et al. Gene polymorphism of the renin-angiotensin system associated with risk for lacunar infarction. The Ohasama study. *Am J Hypertens* 2000;13:121-7.
40. Ueda S, Weir CJ, Inglis GC, Murray GD, Muir KW, Lees KR. Lack of association between angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and stroke. *J Hypertens* 1995;13:1597- 601.

41. Zee RY, Ridker PM, Stampfer MJ, Hennekens CH, Lindpainter K. Prospective evaluation of the angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and the risk of stroke. *Circulation* 1999;99:340-3.
42. Group WS. Report on diabetes mellitus. WHO Tech Rep Ser 1985;727.
43. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 16(3): 1215.
44. Greengard JS, Xu X, Gandrile S, Griffin JH. Alternative PCR method for diagnosis of mutation causing activated protein C resistant Gln506-factor V. *Thromb Res* 1995;80:441-3.
45. Rigat B, Hubert C, Corvol P, Soubrier F (1992) PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucleic Acids Res* 20(6): 1433.
46. Somogyvári F, Szolnoki Z, Márki-Zay J, Fodor L. Real-time PCR assay with fluorescent hybridization probes for exact and rapid genotyping of the angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism. *Clin Chem* 2001;47:1728-9.
47. Adams RD, Victor M (1977) Cerebrovascular Diseases. In: Adams RD (ed) *Principles of Neurology*. McGraw-Hill, Inc., New York, pp 669-748.
48. Poirier J, Gray F, Escourolle R (1990) Vascular Pathology. In: Poirier J (ed) *Manual of Basic Neuropathology*. W.B. Saunders Company. Harcourt Brace Jovanovich, Inc., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, pp 65-102
49. Malik FS, Lavie CJ, Mehra MR, Milani RV, Re RN (1997) Renin-angiotensin system: genes to bedside. *American Heart Journal* 134(3): 514-526.
50. Bonithon-Kopp C, Ducimetiere P, Touboul PJ et al. (1994) Plasma angiotensin-converting enzyme activity and carotid wall thickening. *Circulation* 89(3): 952-954.
51. Daemen MJ, Lombardi DM, Bosman FT, Schwartz SM (1991) Angiotensin II induces smooth muscle cell proliferation in the normal and injured rat arterial wall. *Circ Res* 68(2): 450-456.
52. Doi Y, Yoshinari M, Yoshizumi H, Ibayashi S, Wakisaka M, Fujishima M (1997) Polymorphism of the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene in patients with thrombotic brain infarction. *Atherosclerosis* 132(2): 145-150.
53. Appleby RD, Olds RJ (1997) The inherited basis of venous thrombosis. *Pathology* 29(4): 341-347.

54. Durante-Mangoni E, Davies GJ, Ahmed N, Ruggiero G, Tuddenham EG. Coronary thrombosis and the platelet glycoprotein IIIa gene PLA2 polymorphism. *Thromb Haemost* 1998;80: 218-9.
55. Kastrati A, Schömig A, Seyfarth M et al. PIA polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risk of restenosis after coronary stent placement. *Circulation* 1999;99: 1005-10.
56. Hooper WC, Lally C, Austin H et al. The relationship between polymorphisms in the endothelial cell nitric oxide synthase gene and the platelet GPIIIa gene with myocardial infarction and venous thromboembolism in African Americans. *Chest* 1999;116: 880-6.
57. Wiess EJ, Bray PF, Tayback M et al. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N Engl J Med* 1996;334 :1126-8.
58. Carter AM, Catto AJ, Bamford JM, Grant PJ. Platelet GP IIIa PIA and GP Ib variable number tandem repeat polymorphisms and markers of platelet activation in acute stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18 :1124-31.
59. Wagner KR, Giles WH, Johnson CJ et al. Platelet glycoprotein receptor IIIa polymorphism P1A2 and ischemic stroke risk: the stroke prevention in young women study. *Stroke* 1998;29: 581-5.
60. Carlsson LE, Greinacher A, Spitzer C, Walther R, Kessler C. Polymorphism of the human platelet antigens HPA-1, HPA-2, HPA-3, and HPA-5 on the platelet receptors for fibrinogen (GPIIb/IIIa), von Willebrand factor (GPIb/IX), and collagen (GPIa/IIa) are not correlated with an increased risk for stroke. *Stroke* 1997;28: 1392-5.
61. Mikkelsen J, Perola M, Penttila A, Goldschmidt-Clermont PJ, Karhunen PJ. The GPIIIa (beta3 integrin) PIA polymorphism in the early development of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2001;154(3):721-7.
62. Mikkelsen J, Perola M, Laippala P, Penttila A, Karhunen PJ. Glycoprotein IIIa PI(A1/A2) polymorphism and sudden cardiac death. *J Am Coll Cardiol* 2000;36(4):1317-23.
63. Chan WP, Lee CK, Kwong YL, Lam CK, Liang R: A novel mutation of Arg306 of factor V gene in Hong Kong Chinese. *Blood* 1998;91(4):1135-9.
64. David Williamson, Karen Brown, Roger Luddington, Caroline Baglin, Trevor Baglin: factor V Cambridge: A New Mutation (Arg³⁰⁶→Thr) Associated With Resistance to Activated Protein C. *Blood* 1998, (91):1140-44
65. van Gijn J: Leukoaraiosis and vascular dementia. *Neurology* 1998;51(Suppl. 3):3-8

66. Steingart A, Hachinski VC, Lau C, Fox AJ, Fox H, Lee D, Inzitari D, Merskey H: Cognitive and neurologic findings in demented patients with diffuse white matter lucencies on computed tomographic scan (Leuko-Araiosis). *Arch Neurol* 1987;44:36-9.
67. Steingart A, Hachinski VC, Lau C, Fox AJ, Diaz F, Cape R, Lee D, Inzitari D, Merskey H: Cognitive and neurologic findings in subjects with diffuse white matter lucencies on computed tomographic scan (Leuko-Araiosis). *Arch Neurol* 1987;44:32-5.
68. Hachinski VC, Potter P, Merskey H: Leuko-Araiosis. *Arch Neurol* 1987;44:21-3.
69. Junque C, Pujol J, Vendrell P, Bruna O, Jodar M, Ribas JC, Vinas J, Capdevila A, Marti-Vilalta JL: Leuko-araiosis on magnetic resonance imaging and speed of mental processing. *Arch Neurol* 1990;47:151-6.
70. Liu CK, Miller BL, Cummings JL, Mehringer CM, Goldberg MA, Howng SL, Benson DF: A quantitative MRI study of vascular dementia. *Neurology* 1992;42:138-43.
71. Ylikoski R, Ylikoski A, Erkinjuntti T, Sulkava R, Raininko R, Tilvis R: White matter changes in healthy elderly persons correlate with attention and speed of mental processing. *Arch Neurol* 1993;50:818-24.
72. Hachinski VC, Potter P, Merskey H: Leuko-araiosis: an ancient term for a new problem. *Can J Neurol Sci* 1986;13:533-34.
73. Pantoni L, Garcia JH: Pathogenesis of Leukoaraiosis, a review. *Stroke* 1997;28:652-59.
74. Inzitari D, Diaz F, Fox A, Hachinski VC, Steingart A, Lau C, Donald A, Wade J, Mulic H, Merskey H: Vascular risk factors and leuko-araiosis. *Arch Neurol* 1987;44:42-7.
75. Wiszniewska M, Devuyst G, Bogousslavsky J, Ghika J, van Melle G: What is the significance of leukoaraiosis in patients with acute ischemic stroke? *Arch Neurol* 2000;57:967-73.
76. Spolveri S, Baruffi MC, Cappelletti C, Semerano F, Rossi S, Pracucci G, Inzitari D: Vascular risk factors linked to multiple lacunar infarcts. *Cerebrovasc Dis* 1998;8(3):152-7.
77. Leys D, Englund E, Del Ser T, Inzitari D, Fazekas F, Bornstein N, Erkinjuntti T, Bowler JV, Pantoni L, Parnetti L, De Reuck J, Ferro J, Bogousslavsky J: White matter changes in stroke patients. Relationship with stroke subtype and outcome. *Eur Neurol.* 1999;42(2):67-75. Review.
78. Iijima M, Ishino H, Seno H, Inagaki T, Haruki A: An autopsy case of Binswanger's disease without hypertension and associated with cerebral infarction in the terminal stage. *Jpn J Psychiatr Neurol* 1993;47:901-7.

79. Loizou LA, Jefferson JM, Smith WT: Subcortical arteriosclerotic encephalopathy (Binswanger's type) and cortical infarct in a young normotensive patient. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1982;83:423-39.
80. Ma KC, Lundberg PO, Lilja A, Olsson Y: Binswanger's disease in the absence of chronic arterial hypertension: a case report with clinical, radiological and immunohistochemical observation on intracerebral blood vessels. *Acta Neuropathol (Berl)* 1992;83:434-9.
81. Henon H, Godefroy O, Lucas C, Pruvo JP, Leys D: Risk factors and leukoaraiosis in stroke patients. *Acta Neurol Scand* 1996;94(2):137-44.
82. Amar K, Macgowan S, Wilcock G, Lewis T, Scott M: Are genetic factors important in the aetiology of leukoaraiosis? Results from a memory clinic population. *Int J Geriatr Psychiatry* 1998;13:585-90.
83. Schmidt H, Fazekas F, Kostner GM, van Duijn CM C, Schmidt R: Angiotensinogen gene promoter haplotype and microangiopathy-related cerebral damage: results of the Austrian stroke prevention study. *Stroke*. 2001;32(2):405-412
84. Schmidt R, Schmidt H, Fazekas F, Schumacher M, Niederkorn K, Kapeller P, Weinrauch V, Kostner GM: Apolipoprotein E polymorphism and silent microangiopathy-related cerebral damage. Results of the Austrian Stroke Prevention Study. *Stroke* 1997;28:951-6.
85. Sawada H, Udaka F, Izumi Y, Nishinaka K, Kawakami H, Nakamura S, Kameyama M: Cerebral white matter lesions are not associated with ApoE genotype but with age and female sex in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000;68(5):653-6.
86. Schmidt R, Schmidt H, Fazekas F, Kapeller P, Roob G, Lechner A, Kostner GM, Hartung HP: MRI cerebral white matter lesions and paraoxonase PON1 polymorphism : three-year follow-up of the Austrian stroke prevention study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(7):1811-6.
87. Evers S, Koch HG, Grotemeyer KH, Lange B, Deufel T, Ringelstein EB: Features, symptoms, and neurophysiological findings in stroke associated with hyperhomocysteinemia. *Arch Neurol* 1997;54(10):1276-82.
88. Markus HS, Barley J, Lunt R, Bland JM, Jeffery S, Carter ND, Brown MM: Angiotensin-converting enzyme gene deletion polymorphism. A new risk factor for lacunar stroke but not carotid atheroma. *Stroke* 1995;26:1329-33.

89. Malik FS, Lavie CJ, Mehra MR, Milani RV, Re RN: Valvular and congenital heart disease. Renin-angiotensin system: genes to bedside. *American Heart Journal* 1997;134:514-27.
90. Zaudig M. A. new systematic method of measurement and diagnosis of “mild cognitive impairment” and dementia according to ICD-10 and DSM-III-R criteria. *Int Psychogeriatr* 1992;4 suppl 2(3):203-19.
91. Brun A, Englund E: A white matter disorder in dementia of the Alzheimer type: a pathoanatomical study. *Ann Neurol* 1986;19:253-62.
92. Bennett DA, Gilley DW, Wilson RS, Huckman MS, Fox JH: Clinical correlates of high signal lesion on magnetic resonance imaging in Alzheimer’s disease. *J Neurol* 1992;239:186-90.
93. Kehoe PG, Russ C, McIlory S, Williams H, Holmans P, Holmes C, Liolitsa D, Vahidassr D, Powell J, McGleenon B, Liddell M, Plomin R, Dynan K, Williams N, Neal J, Cairns NJ, Wilcock G, Passmore P, Lovestone S, Williams J, Owen MJ: Variation in DCP1, encoding ACE, is associated with susceptibility to Alzheimer disease. *Nature Genetics* 1999; 21:71-2.
94. Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, Hurtig HI, Zimmerman RA. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer’s dementia and normal aging. *AJR Am Roentgenol* 1987;149:351-56.
95. Fazekas F, Kleinert R, Offenbacher H, Schimdt R, Kleinert G, Payer F, Radner H, Lechner H: The pathologic correlate of incidental MRI white matter signal hyperintensities. *Neurology* 1993;43:1683-9.
96. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF: A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1998;16:1215-8.
97. Clark ZE, Bowen DJ, Whatley SD, Bellamy MF, Collins PW, McDowell IF: Genotyping method for methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) thermolabile variant using heteroduplex technology. *Clin Chem* 1998;44:2360-2.
98. Rigat B, Hubert C, Corvol P, Soubrier F: PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucleic Acids Res* 1992;20(6):1433.
99. Chiang FT, Hsu K, Chen W, Tseng C, Tseng Y: Determination of angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms: step-down PCR increases detection of heterozygotes. *Clin Chem* 1998;44(6):1353-6.
100. Adams RD, Victor M: Cerebrovascular Diseases; In Adams RD (ed): *Principles of Neurology*. New York, McGraw-Hill Inc,1977, pp 669-748.

101. Poirier J, Gray F, Escourolle R: Vascular Pathology. In Poirier J (ed): Manual of Basic Neuropathology. Philadelphia, WB Saunders Company. Harcourt Brace Jovanovich Inc, 1990, pp 65-102.
102. Shimada K, Kawamoto A, Matsubayashi K, Nishinaga M, Kimura S, Ozawa T: Diurnal blood pressure variations and silent cerebrovascular damage in elderly patients with hypertension. *J Hypertens* 1992;10:875-8.
103. Tohgi H, Chiba K, Kimura M: Twenty-four-hour variation of blood pressure in vascular dementia of the Binswanger type. *Stroke* 1991;22:603-8.
104. Ginnanneschi A, Marinoni M, Inzitari D, Amaducci A: Blood pressure monitoring in patients with leukoaraiosis. *Neurology* 1992;42(suppl. 3):273. Abstract.
105. McQuinn BA, O'Leary DH: White matter lucencies on computed tomography, subacute arteriosclerotic encephalopathy (Binswanger's disease), and blood pressure. *Stroke* 1987;18:900-5
106. Bonithon-Kopp C, Ducimetiere P, Touboul PJ, Fève JM, Billaud E, Courbon D, Heraud V: Plasma angiotensin-converting enzyme activity and carotid wall thickening. *Circulation* 1994;89:952-4.
107. Daemen MJ, Lombardi DM, Bosman FT, Schwartz SM: Angiotensin II induces smooth muscle cell proliferation in the normal and injured rat arterial wall. *Circ Res* 1991;68:450-6.
108. Doi Y, Yoshinari M, Yoshizumi H, Ibayashi S, Wakisaka M, Fujishima M: Polymorphism of the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene in patients with thrombotic brain infarction. *Atherosclerosis* 1997;132:145-50.
109. Wang X: A theory for the mechanism of homocysteine-induced vascular pathogenesis. *Med Hypotheses* 1999;53(5):386-94.
110. Bortolotto LA, Safar ME, Billaud E, Lacroix C, Asmar R, London GM, Blacher J: Plasma homocysteine, aortic stiffness, and renal function in hypertensive patients. *Hypertension* 1999;34(4 Pt 2):837-42.
111. Bostom AG, Rosenberg IH, Silbershatz H, Jacques PF, Selhub J, D'Agostino RB, Wilson PW, Wolf PA: Nonfasting plasma total homocysteine levels and stroke incidence in elderly persons: the Framingham Study. *Ann Intern Med* 1999;131(5):352-5.
112. Perry IJ: Homocysteine, hypertension and stroke. *J Hum Hypertens.* 1999;13(5):289-93.
113. Okamura T, Kitamura A, Moriyama Y, Imano H, Sato S, Terao A, Naito Y, Nkagawa Y, Kiyama M, Tamura Y, Iida M, Suzuki H, Komachi Y: Plasma level of homocysteine is

- correlated to extracranial carotid-artery atherosclerosis in non-hypertensive Japanese. *J Cardiovasc Risk* 1999;6(6):371-7.
114. Welch GN, Lascenzo J: Homocysteine and atherothrombosis. *N. Engl. J. Med* 1998;338:1042-50.
115. Clarke R, Joachim C, Esiri M, Morris J, Bungay H, Molyneux A, Budge M, Frost C, King E, Barnetson L, Smith AD: Leukoaraiosis at presentation and disease progression during follow-up in histologically confirmed cases of dementia. *Ann N Y Acad Sci* 2000;903:497-500.
116. Szolnoki Z, Somogyvári F, Szabó M, Fodor L: A clustering of unfavourable common genetic mutations in stroke cases. *Acta Neurol Scand* 2000;102:124-8.
117. Szolnoki Z, Somogyvári F, Szólics M, Szabó M, Fodor L. Common genetic mutations as possible aetiological factors in stroke. *Eur Neurol* 2001; 45:119-120.
118. Harrison MJG, Marshall J: Hypoperfusion in the aetiology of subcortical arteriosclerotic encephalopathy (Binswanger type). *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1984;47:754.
119. Matsushita K, Kuriyama Y, Nagatsuka K, Nakamura M, Sawada T, Omae T: Periventricular white matter lucency and cerebral blood flow autoregulation in hypertensive patients. *Hypertension* 1994;23:565-8.
120. Hassan A, Markus HS: Genetics and ischaemic stroke. [review]. *Brain* 2000;123:1784-12.

Az elvégzett klinikai és genetikai vizsgálatok alapján levonható általános következtetések (tézis pontok)

- A. Kedvezőtlen, egészséges populációban is gyakran előforduló mutációk, polymorphismusok különböző stroke altípusok kialakulásához járulhatnak hozzá, mintegy szuszeptibilitás génként viselkedve.**
- B. Pathophysiologailag kedvezőtlen, de egészséges egyéneknél is gyakran előforduló mutációk szerepének vizsgálata csak jól definiálható klinikai csoportokban célszerű.**
- C. A Leiden V mutáció, mint minor, de szignifikáns rizikótényező, szerepet játszhat ischaemias cerebrális nagy-ér infarktusok kialakulásában.**
- D. Az ACE D/D genotípus, mint minor, de szignifikáns rizikó faktor, szerepet játszhat ischaemias cerebrális kis-ér infarktusok kialakulásában.**
- E. A Leiden V és ACE D/D genotípusok önmagukban, ischaemias stroke (mint összevont kevert entitás) kialakulásához nem járulnak hozzá szignifikánsan.**
- F. A PLA2 allél minor, de szignifikáns rizikótényezőt jelentet cerebrális nagy-ér infarktusok kialakulására.**
- G. A magyar populációban, a Hong Kong és Cambridge V faktor mutációk nem töltenek be fontos szerepet az ischaemias stroke kialakulásában.**
- H. Vizsgálataink az agyi keringészavarral járó betegségek genetikai heterogenitását igazolják.**
- I. Pathophysiologailag kedvezőtlen, de egészséges egyéneknél is gyakran előforduló mutációk, mint minor de magasan szignifikáns rizikó faktorok, különböző típusú érpathológiákhoz járulhatnak hozzá.**
- J. Önmagukban nem szignifikáns, kedvezőtlen mutációk és polymorphismusok együttes előfordulása - mint szignifikáns, hajlamosító genotípus konstelláció - közvetlen rizikót jelenthet keringési eredetű agyi károsodások kifejlődésére**
- K. A kedvezőtlen mutációk és polymorphismusok együttes előfordulása - additív interakción keresztül - patológiás klinikai fenotípus kialakulásához járulhat hozzá.**

- L. A kedvezőtlen mutációk és polymorphismusok együttes előfordulása önmagában is, más állandó klinikai rizikótényezők (magasvérnyomás, diabetes mellitus) fennállása nélkül is, hozzájárulhat agyi keringési zavarokhoz.**
- M. A leukoaraiosis kialakulásában, több pathophysiologialag kedvezőtlen hatású mutáció (homozigóta MTHFR C677T, ACE D/D) együttes előfordulása fontos szerepet tölt be.**
- N. A homozigóta MTHFR C677T és ACE D/D genotípusok együttes előfordulása 4-5 szörös rizikót jelenthet leukoaraiosis kifejlődésére.**
- O. A leukoaraiosisban szenvedő betegeknél talált genotípus konstelláció, magyarázatot szolgáltat az ezekben a betegeknél gyakrabban előforduló vasoregulációs zavarokra.**
- P. A leukoaraiosisban szenvedő betegeknél talált genotípus konstelláció új terápiás és preventív lehetőségeket vet fel.**

Az értekezéshez közvetlenül felhasznált eredeti publikációk listája

- I. **Szolnoki Z**, Somogyvári F, Szabó M, Fodor L. A clustering of unfavourable common genetic mutations in stroke cases. *Acta Neurol Scand* 2000;102:124-8.
- II. **Szolnoki Z**, Somogyvári F, Szólics M, Szabó M, Fodor L. Common genetic mutations as possible aetiological factors in stroke. *Eur Neurol* 2001;45:119-20.
- III. **Szolnoki Z**, Somogyvári F, Kondacs A, Szabó M, Fodor L. Evaluation of the roles of the Leiden V mutation and ACE I/D polymorphism in subtypes of stroke. *J Neurol* 2001;248:756-761.
- IV. **Szolnoki Z**, Somogyvári F, Kondacs A, Szabó M, Fodor L. Evaluation of the roles of common genetic mutations in leukoaraiosis. *Acta Neurol Scand* 2001;104:281-287.
- V. **Szolnoki Z**, Somogyvári F, Kondacs A, Szabó M, Bene J, Havasi V, Komlósi K, Melegh B. Increased frequency of platelet glycoprotein IIIa PLA allele in large vessel pathology associated ischaemic stroke. 2002 (közlés alatt).
- VI. Komlósi K, Havasi H, Bene J, Ghosh M, **Szolnoki Z**, Melegh G, Nagy Á, Tóth G, Stankovics J, császár A, Tóth K, Mózsik G, Romics L, Méhes K, Kosztolányi G, Melegh B. Search for factor V Cambridge and Honk Kong mutations. 2002 (közlés alatt).

Az értekezéshez közvetlenül nem kapcsolódó publikációk listája

Cikk formájában megjelent publikációk jegyzéke:

1. Szólics M, Szabó M, Kondacs A, **Szolnoki Z.** Changes visual evoked potentials in patients with migraine. Journal of Neurology (Moszkva). 1997;2:13-17.
2. Márk L, **Szolnoki Z.**, Simondán Gy, Kondacs A, Wolf I, Fazekas T. Az arteria carotisok atherosclerosisának és az ischaemiás szívbetegségek rizikófaktorainak kapcsolata magas veszélyeztetettségű populációban. Magyar Belorvosi Archivum. 1998;5:375-280.
3. Somogyvári F, **Szolnoki Z.**, Márky-Zay J, Fodor L. Real-Time PCR Assay with fluorescent hybridization probes for exact and rapid genotyping of the angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism. Clinical Chemistry. 2001. 47(9):1728-9.

Kongresszusi előadások, pályamunkák és idézhető absztraktok jegyzéke:

1. **Szolnoki Z.**, Szabó M, Szólics M, Kondacs A: Duplex scan és kvantitatív EEG vizsgálatok jelentősége agyi occlusio, valamint stenosis eseteiben. Első Magyar Stroke Konferencia. Budapest, 1992. november 26-28. Ideggyógyászati Szemle 1993;5-6:209.
2. **Szolnoki Z.**, Szabó M, Szólics M, Kondacs A: A kvantitatív EEG és SPECT vizsgálatok eredményeinek összevetése agyi keringészavarral járó kórképekben. Fiatal Neurológusok Fóruma. Szombathely, 1995. Szeptember 28-30. Ideggyógyászati Szemle 1995;9-10:330.
3. **Szolnoki Z.**, Szabó M, Szólics M, Kondacs A: Comparative analysis of the results of quantitative EEG and SPECT examinations in patients with circulatory disorder. Second Congress of the European Federation of Neurological Sciences. Olaszország, Róma, European Journal of Neurology. 1996;2(supplement 5):215
4. **Szolnoki Z.** Keringési eredetű fehérállomány-betegségek pathomechanismusa és annak klinikai vonatkozásai. Magyar Stroke Társaság által meghirdetett országos pályamunka. 1997; Első helyezés.
5. Márk L, **Szolnoki Z.**, Simondán G: Coronary heart disease risk factors and carotid atherosclerosis in a high risk Hungarian population. Atherosclerosis 1997;134(1-2):162 Sp. Iss.

6. **Szolnoki Z.** Szabó M, Kondacs A: Comparative analysis of the results of quantitative EEG and SPECT examinations in patients with circulatory disorder. 4th International Conference on Stroke and 1st Conference of the Mediterranean stroke Society. Marrakech, Marocco, 1998. Március 4-7. European Journal of Neurology 1998;5 (supplement 1):27.
7. **Szolnoki Z.** Somogyvári F, Szólics M, Szabó M: Common genetic mutations as possible etiological factors in stroke. 31st International Danube Symposium for Neurological Sciencies and Continuing Education. Szeged, 1999. Cephalalgica Hungarica 1999;5:60.
8. Somogyvári F, **Szolnoki Z.** Márki-Zay J, Fodor L, Szabó M: The possible role of common genetic mutations in thrombotic processes. Third International Symposium on Molecular Diagnostics in Laboratory Medicine. Austria, Graz, 2000.04. Laboratoriums Medizin Journal of Laboratory Medicine. 2000;4:218.
9. **Szolnoki Z.** Somogyvári F, Szabó M, Fodor L. Clustering of common genetic mutations may possible cause thrombotic processes in a clinically healthy circulatory system. 10th Meeting of the European Neurological Society. Jerusalem, Israel. 2000. Junius 18-22. Journal of Neurology 2000;247(supplement 3):192.
10. **Szolnoki Z.** Somogyvári F, Szabó M, Fodor L. Clustering of common genetic mutations may play roles in pathogenesis of stroke with no clinical risk factors. Magyar Ideg- és Elmeorvosok Társaságának XXXIII Nemzeti Nagygyűlése nemzetközi részvétellel. 2000.nov. 16. abstract book 2000;66.
11. **Szolnoki Z.** Somogyvári F, Szabó M, Kondacs András. A Leiden V mutáció és az ACE I/D polymorfizmusok szerepének vizsgálata agyi infarktusok szubtípusaiban. A Magyar klinikai Neurogenetikai Társaság IV. Szimpoziuma- nemzetközi részvétellel. 2001. November 8-10. Szombathely Ideggyógyászati Szemle.2001;54(9-10):308.
12. **Szolnoki Z.** Somogyvári F, Kondacs A, Szabó M. Evaluation of the roles of the Leiden V mutation and the ACE I/D polymorphism in subtypes of stroke. XVII World Congress of Neurology, London 17-22, June 2001; Journal of the Neurological Sciencies 2001;187(supp 1):191.

**A Ph.D. értekezés alapjául szolgáló eredeti
publikációk és kéziratok**

I.

II.

III.

IV.

V.

VI.