

**Kedvezőtlen mutációk és polymorphismusok előfordulása agyi
érbetegségekben**

Ph.D. értekezés tézisei

Dr. Szolnoki Zoltán

2002.

Doktori Iskola Vezetője:

Dr. Sümegi Balázs
egyetemi tanár

Programvezető:

Dr. Melegh Béla
egyetemi tanár

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar
Biokémiai és molekuláris biológiai program
Doktori Iskola

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**

A disszertáció I-IV- ig számozott publikációk, valamint V-VII-es számmal jelölt publikációra beadott kéziratok eredményei alapján készült.

Bevezetés

Ischaemias stroke betegség hátterében elméletileg egyetlen gén defektus is állhat. Számos Mendeli öröklésmentet mutató betegség klinikai manifesztációja agyi infarktus lehet. 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 stroke familiáris halmozódása, stroke altípusoktól függetlenül, a genetikai hátteret hangsúlyozza.

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=LA) 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 korrekst 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 pathophisiologiai 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 és az ACE I/D polymorphismus, stroke pathogenesisében betöltött szerepe jelenleg kérdéses. A Leiden V mutáció hozzájárulhat ischaemias stroke kialakulásához, amennyiben hypertóniával, diabetes mellitussal vagy más markáns klinikai rizikótényezővel társul. 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. Ezen adatokat további klinikai vizsgálatok nem erősítették meg. ACE I/D polymorphismus stroke altípusokban betöltött szerepe szintén ellentmondásos jelenleg. 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 factor), ischaemias stroke altípusokban betöltött szerepei között.

Agyi MRI és klinikai jellemzők alapján, ischaemias sroke betegeinket 3 nagy csoportba soroltuk. A Leiden V és ACE I/D genotípusok frekvenciáit statisztikailag elemeztük. A kontroll csoportot negatív koonya 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. 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 cerebellaris 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. Mind a kontrollok mind a stroke betegek DNS analízisen mentek keresztül.

DNS analízis

PCR technikával, Leiden V mutáció és ACE I/D polymorphismus meghatározás történt. 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 logisztikus regressziós modell alkalmazása a klinikai stroke rizikó tényezők és a genotípusok közötti esetleges kapcsolatok megítélésére illetve figyelembevételére szolgált. A logisztikus regressziós modellből származó OR-ok a stroke altípusok és a genotípusok közötti közvetlen kapcsolat mértékét jelezték.

Eredmények

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, .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 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 modelltől származó adatok azt mutatták, hogy a többi vizsgált genotípus nem jelentett szignifikáns rizikótényezőt a különböző stroke entitások előfordulására.

Megbeszélés

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. 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 patologia).

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. Ez a receptor funkció fontos szerepet tölt be thrombocyták összetapadásában, aggregációjában. Két nagy genetikailag meghatározott, a populációban gyakran előforduló típusát (PLA1/PLA2) hozták kapcsolatba érrendszeri betegségekkel. A szakirodalom szerint, a PLA2 allél szerepet tölthet be az ischaemias szívbetegségek kialakulásában. A PLA2 allél ischaemias stroke-ban betöltött szerepe kérdéses. Vizsgálataink során a PLA2 allél ischaemias stroke altípusaibanban betöltött szerepét elemeztük.

A vizsgált beteganyag

545 acut ischaemias stroke-on átesett beteg klinikai és genetikai adatait elemeztük. 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 kóponya MRI eredménnyel rendelkező egyén szolgált kontrollként.

DNS analízis

A betegek és a kontrollok genotípus meghatározása az VI-os 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.

Eredmények

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%).

Megbeszélés

A PLA2 allélt tartalmazó genotípusok szignifikánsabban gyakrabban voltak detektálhatóak a nagy-ér infarktuson 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 akut szív koszorúér thrombosisok kifejlődésében, megerősítik a PLA2 allél akut 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. A Cambridge mutációt Cambridge-ben élő aktivált protein C rezisztenciót mutató egyénben írták le először. Jelen vizsgálatunk során elemeztük a két mutáció magyar ischaemias stroke betegekben való előfordulását.

A vizsgált beteganyag

502 acut ischaemias stroke-on átesett beteg klinikai és genetikai adatait elemeztük. 158 negatív koponya MRI eredménnyel rendelkező egyén szolgált kontrollként.

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. A leukoaraiosis különböző súlyosságú cognitive funkciózavarral állhat kapcsolatban (enyhe gondolkodási problémák, magatartási zavarok, súlyos fokú subcorticalis dementia syndromák). Ezen cognitive funkciózavarok populációs szinten széleskörű egészségügyi problémát okoznak. A 65 év feletti egyének $\frac{1}{4}$ része szenved valamilyen fokú fehérállomány károsodás miatt. A kor előrehaladása, magasvérnyomás, egy korábban elszenvedett stroke esemény, diabetes mellitus és szívbetegségek tűnnek a legfontosabb klinikai rizikótényezőknek. Patomechanizmusként ischaemiás demyelinizációt és kísér betegséget feltételeznek az entitás kialakulásának hátterében. Ezek a klinikai rizikótényezők azonban nem teljesen magyarázzák a leukoaraiosis előfordulását. A pontos pathomechanismus illetve etiológiai faktorok még nem ismertek. Az eddigi adatok polygénés genetikai hátteret valószínűsítene. Vizsgálataink célja az volt hogy elemezzük az ACE I/D polymorphismus illetve methylentetrahydrofolate reductase C677T (MTHFR C677T) mutáció leukoaraiosis kialakulásában betöltött szerepét. Ezen genetikai faktorok kísér betegséggel vagy vasoregulációs zavarral vagy stroke-al állnak kapcsolatban. A vizsgált mutációk leukoaraiosisban előforduló gyakoriságát illetve interakcióit vizsgáltuk. A leukoaraiosis csoportokban talált genetikai eredményeinket statisztikailag negatív koonya 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 kognitív funkciózavart mutató betegek körében, így azok az egyének kerültek beválasztásra, akik gondolkodásuk lelassulására, koncentrációs és figyelem összpontosítási nehézségekre, indítékszegénységre panaszkodtak.

A második lépésben az összes beteg részletes klinikai átvizsgáláson illetve agyi MRI vizsgálaton esett át.

Azok a betegségek, illetve állapotok, melyek a szakirodalom szerint fehérállomány károsodással állhatnak kapcsolatban (vascularis eredetű fehérállomány károsodáson kívül) további kizárásra kerültek. 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 leukoaraiosist találtunk (N=143). A 2-es számú csoportba azokat soroltuk, akiknél leukoaraiosis és agyi infarktus is igazolódott (N=86). A leukoaraiosist a Fazekas féle súlyossági skála alapján definiáltuk. Nem tartottuk leukoaraiosissnak a pontszerű vagy sapkaszerű, illetve vonalvastagságú periventricularis demyelinizációs fehérállomány károsodásokat. Ezeket a szakirodalom normalis anatómiai variációknak tartja.

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.

DNS analízis

PCR technikával, MTHFR C677T mutáció és ACE I/D polymorphismus meghatározás történt.

Statisztikai analízis

χ^2 tesztet alkalmaztam a leukoaraiosis és kontroll csoportokban detektált allél és genotípus frekvenciák statisztikai összehasonlítására. A nyers esélyhányadosok (ORs) megadása a genotípusok és a leukoaraiosis közötti összefüggés megítélésére szolgált. Továbbá egy logisztikus regressziós modellt hoztunk létre, a szignifikáns klinikai rizikó faktorok befolyásoló hatásának kiküszöbölésére. A logisztikus regressziós modellből kapott esélyhányadosok a leukoaraiosis és az adott genotípusok

közötti közvetlen (a talált klinikai rizikótényezőktől független) összefüggés mértékét jelezték.

Eredmények

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%).

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, $p < 0.015$).

Megbeszélés

A leukoaraiosis egy gyakran előforduló neuroradiológiai fogalom, elsősorban az idősebb és középkorú korosztályokat érinti. A kor, magasvérnyomás és cukorbetegség, mint vasculáris rizikó tényezők a fehérállomány kis-ér rendszerében patológiás elfajulásokat okozhatnak. Kóros vasoregulációs folyamatok, melyeket magasvérnyomás, cukorbetegség, egy korábban lezajlott stroke esemény vagy szívbetegség is létrehozhat, szintén hozzájárulhatnak leukoaraiosis kialakulásához.

Az ACE D/D genotípus szignifikáns rizikót jelentett cerebralis infarktussal járó leukoaraiosis kialakulására. 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. 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 cardiovascularis 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 szérum homocystein szint, mely oki kapcsolatban állhat homozigóta MTHFR C677T mutáció előfordulásával, csökkenthető fokozott napi folsav bevitellel. 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. Ezeket a klinikai jellemzőket korábban mind leírták leukoaraiosisban szenvedő betegekben. 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. A leukoaraiosis genetikai aspektusának vizsgálata esetleg felgyorsítja a pontosabb pathomechanizmus megértését, és új lehetőséget nyit egy speciális prevenció és terápia kialakítására.

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. Pathophysiologiailag 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. Pathophysiologiailag 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 pathophysiologailag 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, Szabó M. Genotype predisposition to leukoaraiosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* (in press)
- VI **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).
- VII. 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. Mark 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 Sciences and Continuing Education. Szeged, 1999. Cephalalgia 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 szubtypusaiban. 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 Sciences 2001;187(supp 1):191.

- **Megjelent illetve elfogadott közlemények kumulatív impakt faktora: 12.73**
- **Megjelent illetve elfogadott közlemények publikációs index száma: 4.393**