

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

**Az apolipoprotein A5 gén természetes polimorfizmusainak
szerepe ischémiás stroke kialakulásában**

Maász Anita

Témavezető: Prof. Dr. Melegh Béla

Készült:

Pécsi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Orvosi Genetikai Intézet



Pécs, 2009

TARTALOMJEGYZÉK

1. RÖVIDÍTÉSEK	2
2. BEVEZETÉS	3
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	4
3.1. A stroke betegség és altípusainak csoportosítása	4
3.2. Az ischémiás stroke kialakulásában szerepet játszó rizikótényezők	5
3.3. Az ischémiás stroke kialakulásában szerepet játszó genetikai tényezők	6
3.4. Az apolipoprotein A5 fehérje szerepe a lipid metabolizmusban	8
4. CÉLKITŰZÉSEK	13
5. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	14
5.1. A vizsgálatban résztvevő személyek	14
5.2. Alkalmazott módszerek	15
5.2.1. Polimeráz láncreakció (PCR)	15
5.2.2. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) módszer	15
5.3. DNS szekvencia meghatározás és analízis	17
5.4. Statisztikai kiértékelés	17
6. EREDMÉNYEK	18
6.1. Az APOA5 gén promóter régiójában található T-1131C variáns vizsgálata	18
6.2. Az APOA5 gén harmadik exonjában található C56G variáns vizsgálata	21
6.3. Az APOA5 gén T1259C és IVS3+G476A variánsainak vizsgálata	24
7. AZ EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE	30
7.1. Az APOA5 gén promóter régiójában található T-1131C variáns szerepe	30
7.2. Az APOA5 gén C56G variánsának szerepe	32
7.3. Az APOA5 gén intronikus IVS3+G476A variánsának szerepe	34
7.4. Az APOA5 gén leggyakoribb haplotípusainak lehetséges szerepe	35
8. ÖSSZEFOGLALÁS	36
9. IRODALOMJEGYZÉK	37
10. KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE	50
11. MELLÉKLETEK	56
Az értekezés alapjául szolgáló eredeti közlemények	56
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	64

1. RÖVIDÍTÉSEK

ACE	angiotenzin konvertáló enzim
APOA5	apolipoprotein A5
AT1R	angiotenzin receptor
BMI	body mass index - testtömeg index
bp	bázispár
CAD	coronary artery disease - koronáriabetegség
CT	computed tomography - komputer tomográfia
DNS	dezoxiribonukleinsav
dNTP	dezinukleotidtrifoszfát
ddNTP	didezinukleotidtrifoszfát
EDTA	etilén-diamin-tetra-acetát
FCH	familiáris hiperlipidemia
HDL	high density lipoprotein
IDL	intermediate density lipoprotein
IMT	intima media thickness - az érfal intima media vastagsága
IRE	inzulin rezponzív elem
LDL	low density lipoprotein
LPL	lipoprotein lipáz enzim
LPL-HSPG	lipoprotein lipáz - heparin-szulfát-proteoglikán komplex
MELAS	mitochondriális encephalopátia, laktát-acidózis, stroke-szerű epizódok
MRI	magnetic resonance imaging – mágneses rezonanciás képalkotó eljárás
MTHFR	metilén-tetrahidrofolát-reduktáz enzim
NDS	non disabling stroke
OR	odds ratio - esélyhányados
PCR	polymerase chain reaction - polimeráz lánreakció
PLA	vérlemezke glikoprotein IIb/IIIa membránreceptor
RFLP	restriction fragment length polymorphism
PPRE	peroxiszóma proliferátor rezponzív elem
RIND	reversibilis ischémiás neurológiai deficit
SEM	standard error of mean - standard hiba
SNP	single nucleotide polymorphism
TIA	transitoricus ischémiás attack
TOAST	Trial of Org 10172 of Stroke Treatment
UTR	untranslated region - nem transzlálódó régió
VLDL	very low density lipoprotein
WHO	World Health Organization – Egészségügyi Világszervezet

2. BEVEZETÉS

Az utóbbi évtizedben jelentős progresszió volt tapasztalható nemcsak a stroke, de más cerebro- és kardiovaszkuláris betegség háttérében álló genetikai variánsok azonosításában (Allen 2000, Hassan 2000, Flossmann 2006, Aulchenko 2008, Bruneau 2008, Joy 2008). Ezen variánsok vizsgálata újfajta szemléletet nyújt a betegségek patogenezisének megismerésében. Dolgozatomban a cerebrovaszkuláris betegségek közül az ischémiás stroke kialakulásában szerepet játszó, általunk vizsgált genetikai faktorokat, mint lehetséges rizikótényezőket foglalom össze. Kutatásaimban ezek közül az apolipoprotein A5 gén (APOA5) variánsainak szerepével foglalkozom. A gén által kódolt fehérje az apolipoprotein család legutóbb felfedezett tagja (Pennacchio 2001). Mind a gén, mind az általa kódolt fehérje - a felfedezése óta - a kutatások középpontjába került. Ennek oka a lipidparaméterekre gyakorolt hatására vezethető vissza. Tudvalevő, hogy a lipidparaméterek változása – a trigliceridszint és a koleszterinszint emelkedése – sok kardio- és cerebrovaszkuláris betegség fő rizikótényezője (Toole 1986, Adams 1993).

Az agyi érbetegségek magas előfordulási aránya indokolja a megkülönböztetett figyelmet, hiszen a stroke-ot a szív- és érrendszeri megbetegedések és a rosszindulatú daganatok után a harmadik leggyakoribb halálozási okként tartják számon a fejlett gazdaságú országokban (Murray 1997, Pongvarin 1998). A stroke-os megbetegedések száma a jövőben egyre növekedhet a demográfiai változások, illetve a befolyásolható rizikófaktorok nem megfelelő kezelése miatt (Bonita 2004).

Számos szervezet összefogásával és a lakosság kellő felvilágosításával, odafigyeléssel azonban biztató eredményeket érhetünk el a prevencióban. Hasonló elemzések segítségével több más rizikótényező feltárása is megtörténhet, és ezáltal ezen vizsgálatok is hozzájárulhatnak a betegség primer (a rizikófaktorok elleni küzdelem) és szekunder (a stroke-ra hajlamos egyének kiszűrése, gondozása) prevenciójához.

A génekben található polimorfizmusok minden emberre jellemző mintázatot mutatnak. Mivel a különböző variánsokat sokféle betegséggel és bizonyos gyógyszerhatóanyagok lebontásának különbözőségeivel is összefüggésbe hozták, így a polimorfizmusok vizsgálatával lehetőség nyílik személyre szabott medicina kidolgozására, amely így felhívja a figyelmet a populációvizsgálatok fontosságára.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A stroke betegség és altípusainak csoportosítása

A stroke a WHO (World Health Organization) meghatározása szerint „az agy körülírt területeinek hirtelen kialakuló, átmenetileg fennálló vagy kedvezőtlen esetben véglegessé váló funkciókárosodása”. Ezt a definíciót több mint húsz éve használják a klinikai gyakorlatban e rendkívül heterogén betegségcsoport leírására (Truscott 1972, Walt 2003). A betegség mindkét nemet érintheti, bármely életkorban manifesztálódhat, bár 45 éves kor felett gyakoribb (Feigin 2003).

A stroke-ot kialakulásának módja szerint két nagy csoportba sorolhatjuk: vérzéses és ischémiás stroke (Toole 1986, Adams 1993). A vérzéses stroke kialakulását az agyban, vagy az agy alapján futó erek megrepedése okozza. A keletkező vérzés következtében a vér és az oxigén nem jut el a mögöttes agyterületekhez, illetve az érpályából kilépő vér megnöveli a koponyán belüli nyomást, amely összenyomhat ép agyterületeket is (Rinkel 1993).

Az ischémiás stroke a stroke-os megbetegedések 80%-át teszi ki. Kialakulásának leggyakoribb oka az artériák elzáródása (Toole 1986, Adams 1993). Az ischémiás stroke-ot időbeli lefolyás, lokalizáció, a kialakult neurológiai deficit súlyossága vagy etiológia alapján csoportosítják (Bamford 1991). Időbeli lefolyás alapján történt osztályozásnál múló jellegű ischémiákat (tranzitorikus ischémiás attack - TIA; reverzibilis ischémiás neurológiai deficit - RIND) és tartós tüneteket okozó ischémiákat (inkomplett, komplett stroke) különíthetünk el (Adams 1993, Madkour 1993). A lokalizáció alapján artériás és vénás területen zajló ischémiás történéseket különböztethetünk meg (Bamford 1991). A gyakoribb artériás történések közé a lakunáris infarktuszok, az anterior és poszterior területi ischémiák tartoznak. A kialakult neurológiai deficit súlyossága szerint rokkantságot nem okozó (minor stroke) és rokkantságot okozó stroke-ról (major stroke, non disabling stroke - NDS) beszélhetünk (TIA Trial Study 1993).

Az ischémiás stroke-ok egyes altípusainak meghatározása kétségtelenül az etiológiai szempontok alapján a legproblémásabb. Az ischémiás stroke-ot keletkezésük mechanizmusa alapján három csoportra osztották: trombózos, embóliás és hemodinamikai zavar okozta stroke (Bamford 1991, Madhumita 1993, Moossy 1993). Ezen csoportosítás jobbára a képalkotó vizsgálatokkal (computed tomography - CT,

magnetic resonance imaging - MRI) kapott eredményeken alapult. Ma már tudjuk, hogy ezek átfedhetnek egymással és nem feltétlenül specifikusak. Az alcsoportok pontos meghatározása azonban a későbbi kezelés és az újabb stroke megelőzése szempontjából nem elhanyagolható. Bamford és munkatársai a betegség kimenetelében és az újabb stroke kialakulásának valószínűségében jelentős eltéréseket találtak az egyes stroke alcsoportok között. 1991-ben vezettek be egy elsődlegesen klinikai szempontok alapján felépített csoportosítást (Oxford Community Stroke Project) (Bamford 1991). Egy másik rendszerezés 1993-ban készült el a stroke kialakulásában résztvevő leggyakoribb patofiziológiai mechanizmusokat alapul véve (Trial of Org 10172 of Stroke Treatment - TOAST) (Adams 1993). A rendszer 5 alcsoportot különít el: 1) nagyér ateroszklerotikus, 2) kisér okklúziós, 3) kardioembóliás, 4) egyéb etiológiájú stroke-ok, 5) nem ismert etiológiájú stroke-ok.

3.2. Az ischémiás stroke kialakulásában szerepet játszó rizikótényezők

Az ischémiás stroke kialakulásában számos rizikófaktort azonosítottak, amely a betegség heterogén voltát támasztja alá. A rizikótényezőket befolyásolható és nem befolyásolható csoportokba sorolták (Sacco 1997, Cubrilo-Turek 2004, Elias 2004, Lipska 2007). A nem befolyásolható kockázati tényezők közé soroljuk az életkort, melynek előrehaladtával a stroke kialakulásának valószínűsége egyre nő (Bamford 1988); a nemet, mert, a stroke a 45-85 éves férfiak korcsoportjában gyakrabban fordul elő, mint nőkben; 45 éves kor alatt és 85 év felett ilyen összefüggést nem tudtak kimutatni (Bamford 1990). Ezeken kívül az anamnézisben szereplő korábbi stroke is jelentősen megnöveli újabb cerebrovaszkuláris esemény bekövetkezésének valószínűségét (Grau 2001). A befolyásolható rizikótényezők közé a magas vérnyomás, a diabetes mellitus, az obesitas, kardiovaszkuláris betegségek megléte, magas triglicerid- és koleszterinszint, dohányzás, túlzott alkoholfogyasztás tartoznak (Barrett-Connor 1988, Cubrilo-Turek 2004). A magas vérnyomás a stroke független rizikófaktora minden korcsoportban. A kockázat a vérnyomás emelkedésével arányosan növekszik. A diastolés vérnyomás 7,5 Hgmm-rel történő emelkedése kétszeresére növelheti a stroke kialakulásának esélyét. A systolés vérnyomás emelése még nagyobb stroke kockázattal jár (Keli 1992, Collins 1994, Whelton 1994). A diabetes mellitus az ischémiás stroke kockázatát 2-4-szeresére növeli, mely egyenes arányban áll a diabetes mellitus fennállásának időtartamával (Barrett-Conor 1988, Tuomilehto 1996). Az

obesitas önállóan vagy más rizikófaktorok együttes előfordulásával emelheti a stroke kialakulásának esélyét (Goldstein 2001). A kardiovaszkuláris betegségek, mint a carotis stenosis, a perifériás érbetegség, a myocardialis infarktus és az angina is gyakran társulhatnak stroke-hoz (Sacco 1997, Cubrilo-Turek 2004). Több tanulmány is kimutatta, hogy például a carotis stenosis kétszeresére, míg az pitvarfibrilláció ötszörösére emeli a stroke kockázatát (Autret 1987, Norris 1990).

Az itt említett rizikófaktorok a betegség kialakulására nézve egyértelmű kockázati tényezőnek bizonyultak, míg ezeken kívül manapság további lehetséges rizikótényezők, például számos hajlamosító gén azonosítása is történik.

3.3. Az ischémiás stroke kialakulásában szerepet játszó genetikai tényezők

Az előző fejezetben említett, mind a kardio-, mind a cerebrovaszkuláris betegségek kialakulásában szerepet játszó környezeti rizikótényezők vizsgálata mellett egyre inkább a genomban található természetes variánsok - mint lehetséges hajlamosító faktorok - vizsgálata kerül az állatkísérletes és epidemiológiai tanulmányok középpontjába.

Az ischémiás stroke etiológiáját tekintve multifaktoriális betegség, több monogénes betegség állhat a háttérben, ugyanakkor maga a stroke is részét képezheti más multiszisztémás betegségnek (mitokondriális encephalopátia, laktát-acidózis, stroke-szerű epizódok - MELAS-szindróma) (Graeber 1998). A stroke kialakulásának esélyét akár egy gén egy polimorfizmusa is növelheti. De egy gén több polimorfizmusának vagy több gén polimorfizmusainak együttes előfordulása is többszörösére emelheti a stroke kialakulásának kockázatát, amelyet egyéb környezeti rizikótényezőkkel való interakció is befolyásolhat (Hassan 2000).

Az ischémiás stroke háttérben eddig számos gént és génvariánst azonosítottak (Hassan 2000, Casas 2004, Rao 2008). Ezek közül a renin-angiotenzin rendszerben és a nitrogén-oxid produkcióban szerepet játszó enzimeket kódoló gének, illetve a hemosztázist, a homocisztein- és a lipid metabolizmust befolyásoló gének polimorfizmusait foglalom össze az *1. táblázatban* a teljesség igénye nélkül.

1. táblázat
Az ischémiás stroke kialakulásának háttérében azonosított gének és polimorfizmusaik

Gének	Polimorfizmusok	Referenciák
<i>hemosztázis</i>		
II. faktor (prothrombin) (OMIM+176930)	G20210A	Martinelli 1997, De Stefano 1998, Reuner 1998/1, Szolnoki 2002
V. faktor (Leiden) (OMIM*612309)	Arg506Gln	Markus 1996, Bentolila 1997, Hankey 2001, Juul 2002, Szolnoki 2002
VII. faktor (OMIM+227500)	Arg353Gln	Green 1991, Heywood 1997, Corral 1998
XIII. faktor (OMIM+134570)	Val34Leu	Elbaz 2000/1, Reiner 2002
fibrinogen (OMIM*134830)	G-455A	Carter 1997, Kessler 1997
<i>renin-angiotenzin rendszer</i>		
ACE (OMIM+106180)	I/D	Cambien 1992, Markus 1995, Ueda 1995, Pfohl 1998, Sharma 1998, Zee 1999, Rubattu 2004, Brenner 2005
AT1R (OMIM*106165)	A1166C	Rubattu 2004, Brenner 2005, Szolnoki 2006/1, Szolnoki 2007
<i>nitrogén-oxid-szintáz rendszer</i>		
eNOS (OMIM+163729)	Glu298Asp	Wang 1996, MacLeod 1999, Elbaz 2000/2
<i>homocisztein metabolizmus</i>		
MTHFR (OMIM*607093)	C677T A1298C	Markus 1997, Kostulas 1998, Reuner 1998/2, Eikelboom 2000, Szolnoki 2002, 2007 Szolnoki 2006/2
<i>lipidmetabolizmus</i>		
APOAI (OMIM*107680)	C-3031T 317-321ins	Eichenbaum-Voline 2004 Waterworth 2000
APOE (OMIM +107741)	ε4, ε3, ε2	Pedro-Botet 1992, Couderc 1993, Frikke-Schmidt 2001, MacLeod 2001
APOCIII (OMIM*107720)	T-2854G, C-455T C-482T, C3238G	Talmud 2002, Wang 2004, Ruiz-Narvaez 2005
LPL (OMIM*609708)	Asn291Ser	Huang 1997, Wittrup 2000

Rövidítések: ACE: angiotenzin konvertáló enzim kódoló gén; APOAI; -E; CIII: apolipoprotein AI; -E; -CIII fehérjét kódoló gének; Arg: arginin; Asn: aszparagin; AT1R: angiotenzin receptort kódoló gén; eNOS: endotheliális nitrogén-oxid szintáz enzim kódoló gén; Gln: glutamin; Leu: leucin; LPL: lipoprotein-lipáz enzim kódoló gén; MTHFR: metilén-tetrahidrofolát reduktáz enzim kódoló gén

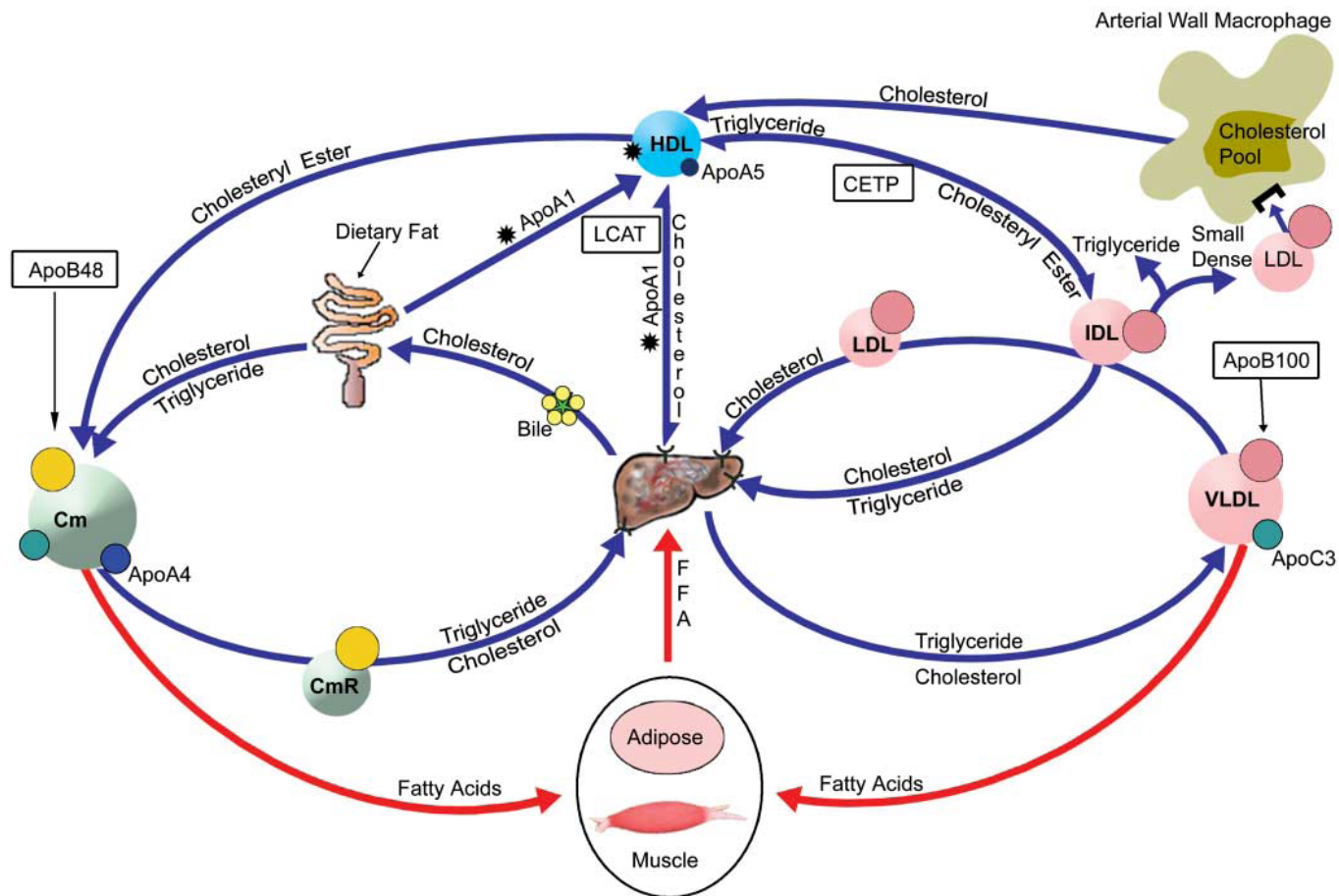
OMIM: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=OMIM>

3.4. Az apolipoprotein A5 fehérje szerepe a lipid metabolizmusban

A lipidek meghatározó szerepet játszanak a sejtmembrán felépítésében (koleszterin) és az energiaraktározásban (triglicerid). Szállításuk elkülönült kompartmentek, ún. lipoproteinek révén valósul meg. A lipoproteinek foszfolipidekből és fehérjékből (apoproteinek) állnak. A különböző lipoproteinek eltérő lipid és fehérjetartalommal bírnak, denzitásuk különböző. Csoportosításuk denzitásuk alapján történik: 1) kilomikron, amelynek a legkisebb a fehérjetartalma és a denzitása, jobbra trigliceridek szállítását végzi. 2) very low density lipoprotein - VLDL, amely a trigliceridek transzportjában vesz részt; 3) intermediate density lipoprotein - IDL, amely a trigliceridek és a koleszterin-észterek transzportját végzi; 4) low density lipoprotein - LDL, mely a koleszterin-észterek transzportjáért felelős; 5) high density lipoprotein - HDL, amelynek a legnagyobb a fehérjetartalma és a denzitása, a koleszterin-észterek és a foszfolipidek szállításában vesz részt (Morrisett 1975, Smith 1978).

A zsírsavak raktározása az adipocitákban trigliceridek formájában történik. A trigliceridek elsősorban a májban és a zsírszövetben szintetizálódnak. A májban képződött triglicerid a VLDL-be épül be, amely a keringés révén eljuttatja azt a perifériás szervekhez, főként a zsírszövethez, ahol a kapillárisok endothel sejteinek felszínén lévő glikozaminoglikánokhoz kötött lipoprotein lipáz (LPL) a triglicerideket elhasítja (Tan 1978). Az így keletkezett zsírsavakat az adipociták, vagy egyéb sejtek felveszik. A VLDL-ből képződött IDL a keringéssel a májba kerül vissza, ahol a májsejtek a felszínükön lévő apolipoprotein E receptorokkal felismerik és endocitózissal felveszik azokat. A trigliceridek az anyagcsere állapotától függően vagy lebomlanak, és energiát szolgáltatnak, vagy ketontestekké alakulnak. A trigliceridek hidrolízisét a hepaticus lipáz végzi a májsejtek felszínén. A zsírszövetben szintetizálódó trigliceridek alkotóelemei pedig a glükózanyagcseréből származnak (1. ábra) (Robinson 1973).

A koleszterin többek között a membránok fluiditását szabályozza. A szteroidhormonok és az epesavak szintézisének kiinduló molekulája. A koleszterin a szervezetben 70%-ban koleszterin-észterek formájában van jelen; vagy a táplálékkal kerül a szervezetbe, vagy *de novo* szintetizálódik. Szintézise főként a májban, a mellékvesekéregben, illetve a bélhámsejtekben folyik. A koleszterin-homeosztázis fenntartásában fontos szerepet játszik az LDL és a HDL. Az LDL lebomlásának nagy része a májban zajlik.



1. ábra A trigliceridek és koleszterin transzportjának egyszerűsített vázlatja. FFA: szabad zsírsavak; LCAT: lecitin-koleszterin-aciltranszferáz; CETP: koleszterin-észter transzfer protein; Cm: kilomikron; CmR: kilomikron remnant részecske (Shoulders 2004)

Az LDL B-100 apoproteint tartalmaz, amelyet a sejt felszínén található receptor felismer és megköt. Így az LDL endocitózis révén bejut a sejtbe, az LDL disszociál a receptorról, amely ezután visszakerül a sejt felszínére, az LDL pedig lizoszómális enzimek hatására elbomlik. A HDL reverz koleszterin-transzporttal egyéb szervekből és az artériák falából szállít koleszterint a májba, ahol az, vagy epesavakká alakul és az epébe választódik ki, vagy a VLDL-be épül be (Packard 2000, Tall 1980, Myant 1982).

A lipidek transzportját végző lipoproteinek felszínén található apoproteinek strukturális és katalitikus funkciót töltenek be (Fredrickson 1974, Schaefer 1978, Mahley 1984). Aktiválhatják, vagy gátolhatják a lipoproteinek metabolizmusában résztvevő enzimeket, illetve jelként funkcionálhatnak a máj és egyéb sejtek receptorai számára. Eddig megismert apoproteinek: AI, AII, AIV, B48, B100, CI-III, E. A fehérjecsald legutóbb felfedezett tagja az APOA5. A fehérjét két egymástól független munkacsoport azonosította (van der Vliet 2001, Pennacchio 2001). van der Vliet és munkatársai a máj regenerálódásában szerepet játszó faktorok vizsgálata közben, Pennacchio és munkatársai pedig a lipidmetabolizmus lehetséges szabályozó gégeinek kutatásakor fedezték fel. A fehérjét kódoló gén a 11q23 kromoszómán található, az APOA1/C3/A4 géneklastertől 3' irányban, 27 kilobázis távolságra az APOA4 géntől, amellyel 27%-os szekvencia-homológiát mutat (Pennacchio 2001, Groenendijk 2001). Számos tanulmány állásfoglalása szerint a géncsalád tagjai génduplikáció révén keletkeztek, bár a pontos mechanizmus, amely a géneklastert mai formáját kialakította, még nem ismert (Boguski 1986, Scott 1987). Az a tény, hogy az apo géneklastert négy tagja mind emberben, mind egér mintákban megtalálható, azt jelzi, hogy az evolúciós génduplikációs esemény a két emlősfaj utolsó közös őse idejére datálódik. Újabb tanulmányok azonban ezen géneket a csirke genomjában is azonosították, ami a génduplikációs esemény még korábbi időpontban történő, az emlősök és a madarak evolúciós szétválása előtti bekövetkezését támasztja alá (Pennacchio 2003). Az APOA5 gén 366 aminosavat kódol, alternatív poliadeniláció eredményeként két transzkriptum keletkezik (1,3 és 1,9 kb hosszúságú), amelyeknek a funkcionális vonatkozásai még nem ismertek (Pennacchio 2003). A fehérje a májban expresszálódik, molekulásúlya 39 kDa, struktúrája 76%-ban α -helikális (nagyobb fokú affinitást feltételez lipidfelületekhez), a coiled-coil elemei két domént formálnak, N-terminális régiója nagyfokú homológiát mutat más apolipoprotein doménekkal (Weinberg 2003). Koncentrációja a májban magas, HDL-hez és VLDL-hez kötöten exportálódik a

plazmába, ahol a koncentrációja rendkívül alacsony lesz: 0,1-0,4 µg/ml (Ishihara 2005, O'Brien 2005). Ez 2000-szer kevesebb, mint az APOAI és APOC3 plazmabeli koncentrációja (Merkel 2005/1). A feltételezések szerint ez az alacsony plazmakoncentráció az oka, hogy a fehérjecsalád többi tagjához képest az APOA5 fehérjét csak a közelmúltban fedezték fel (Merkel 2005/1).

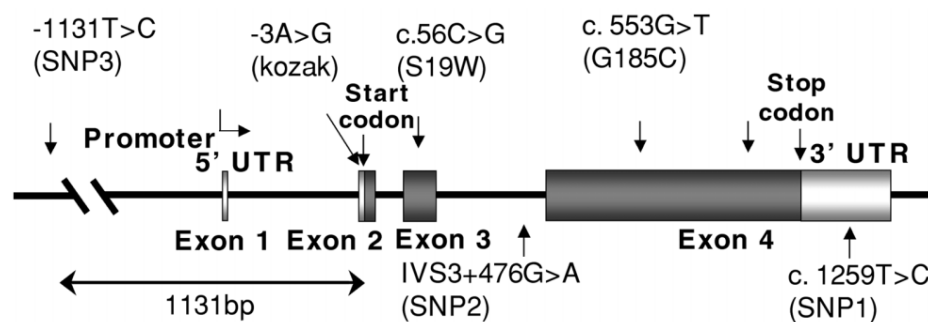
Az APOA5 fehérje a triglicerid metabolizmusának szabályozója (Nabika 2002, Pennacchio 2003, Kluger 2008, Tai 2008). A fehérjét VLDL és HDL partikulumokon találták meg, ezek között transzportálódik a metabolizmus során (Charlton-Menys 2005, O'Brien 2005). Egyes vizsgálatok alapján az APOA5 a kilomikronok és a VLDL katabolizmusát segíti elő, de a bél kilomikron és a máj VLDL termelését nem befolyásolja (Fruchart-Najib 2004, Schaap 2004, Merkel 2005/2). A plazma trigliceridek hidrolízise révén hozzájárul a triglicerid-gazdag lipoproteinek eltávolításához (Weinberg 2003, Schaap 2004). A pontos mechanizmus, amelyen keresztül az APOA5 a lipidszintet csökkentheti, még nem ismert. Egyes *in vitro* vizsgálatok direkt, mások indirekt kapcsolatot feltételeznek az APOA5 fehérje és a LPL között. Egyik feltételezés szerint az APOA5 a proteoglikánokhoz kötött LPL aktiválásával, mások szerint a lipoprotein-lipáz - heparin-szulfát-proteoglikán (LPL-HSPG) komplex stabilizálása révén fejti ki hatását (Lookene 2005). Nem kizárt, hogy az APOA5 más apolipoproteinek (APOCIII) funkcióját módosítva csökkenti a trigliceridszintet (Pennacchio 2003, Merkel 2005/1).

Az APOA5 gén polimorf természetű, felfedezése óta közel 40 polimorfizmust (SNP) azonosítottak már a szekvenciájában (Hubacek 2005, Talmud 2007). Ezek közül azonban csak néhánynak ismerjük a klinikai vonatkozásait. A strukturális változásokat okozó variánsok közül elsőként a Q148X mutációt találták meg homozigóta formában egy 9 éves fiúban (Priore Oliva 2005). A gén 4-es exonját érintő C442T nonszensz mutáció hatására glutamin helyett egy korai stop kodon keletkezik a 148-as pozícióban. A fehérje a mutáció hatására elveszítette a teljes lipidkötő hidrofób régióját, illetve a heparin-kötő régióját is, így a protein funkciója is károsodást szenvedhetett. A családtagok vizsgálati alapján a mutáció recesszív módon öröklődött, ezen kívül minden 148X variánst hordozó egyénnél obligát módon megtalálható volt a trigliceridszint-emelő 19W mutáns allél is.

Az APOA5 gén egy másik, Q139X mutációját Marçais azonosította heterozigóta formában (Marçais 2005). A gén 4-es exonjának 415-ös pozícióját érintő nonszensz mutáció hatására egy 15 kDa molekulású csonka fehérje képződik, amely

nem rendelkezik lipidkötő doménnel. A feltételezések szerint a mutáció következtében a fehérje nem tudja a LPL-HSPG komplex stabilitását biztosítani, így a plazmában trigliceridszint-emelkedés figyelhető meg.

2006-ban egy további ritka strukturális változást okozó mutációt (IVS3+G3C) találtak heterozigóta formában (Priore Oliva 2006). A mutáció a 3. intron donor splice site-ját érinti, a 3. exon kivágódását okozza, amelynek következtében egy 18 aminosavból álló fehérje expresszálódik. Az APOA5 szintje a mutációt hordozó személyben a normál határértéken belüli volt. További vizsgálat során kiderült, hogy a beteg az IVS3+G3C mutáción kívül hordozza a -1131C allélvariánst.



2. ábra: Az APOA5 gén szerkezete és természetes variánsai. Az ábrán a világos- és sötétszürke téglalapok a gén exonjait és az 5' vagy 3' nem transzlálódó régiókat jelölik. A vastag fekete vonal a nem kódoló régiókat ábrázolja. A variánsokat sorrendben az érintett pozíciót mutató szám, a normál allél és a mutáns allél jelöli. A C56G és G553T variánsok esetében zárójelben az aminosavcsere van feltüntetve. Az ábra alsó részén látható kétirányú nyíl a promóter régiót érintő polimorfizmus és a gén start kodonjának távolságát jelöli (bázispár) (Matsunaga 2006).

Az APOA5 gén felfedezésekor 4 gyakori polimorfizmust azonosítottak, amelyek mindegyike emelkedett trigliceridszinttel társult (Pennacchio 2002). Azóta ezek számtalan tanulmány vizsgálati tárgyát képezték: a T-1131C a promóter régióban; a T1259C a 3' nem transzlálódó régióban; a C56G a 3. exonban és az IVS3+G476A pedig a 3. intronban található (2. ábra). Elhelyezkedése miatt közvetlen funkcionális következménye csak a C56G variánsnak van. A 19-es kodonban szerin - triptofán aminosavcserét eredményez. Más apolipoproteinekhez hasonlóan az APOA5 is rendelkezik egy N-terminális export szignál szekvenciával, amelynek segítségével a fehérje a képződés helyéről a keringésbe jut. Az APOA5 esetében ez a szekvencia a 23 és 24-es aminosavakat érinti. A 19-es pozícióban bekövetkező aminosavcsere során egy nagyobb aminosav épül be, így az közvetlen hatással lehet az export folyamatra, az APOA5 plazmabeli koncentrációja csökkenhet, magasabb plazma trigliceridszintet eredményezve.

4. CÉLKITŰZÉSEK

Az ischémiás stroke-ban szenvedő betegeken végzett vizsgálatainkkal a következő céljaink voltak:

1. Megfigyelésünk tárgyává tettük a nemzetközi szakirodalomban más betegségek, mint például a metabolikus szindróma, a hipertrigliceridémia és az ischémiás szívbetegség kialakulásával összefüggésbe hozott, az apolipoprotein A5 gén gyakori természetes variánsainak (T-1131C, C56G, IVS3+G476A és T1259C) alléleloszlását a TOAST osztályozáshoz hasonlóan három alcsoportra osztott stroke-os betegpopulációban.
2. Megvizsgáltuk az APOA5 gén -1131C, 56G, IVS3+476A és 1259C alléljeinek a betegek és az egészséges kontrolok triglicerid- és koleszterinértékeire gyakorolt hatását.
3. Vizsgálataink továbbá az APOA5 génben található négy variáns minor alléljeinek ischémiás stroke kialakulásában betöltött esetleges hajlamosító, kockázati szerepének felderítésére irányultak.

5. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

5.1. A vizsgálatban résztvevő személyek

A vizsgálatainkba bevont beteg és kontrol egyének intézetünk biobankjában található mintákból kerültek ki, amely az országos biobank részét képezi (www.biobank.hu). A vérminták biobankba történő gyűjtése 2001 óta folyik a gyulai Pándy Kálmán Kórház Agyérbetegségek Osztálya segítségével. A betegek mindegyike akután kialakuló ischémiás stroke-ban szenvedett, vagy korábban diagnosztizált stroke miatt került a szakrendelőbe. Minden beteg részletes klinikai vizsgálaton esett át, amely magában foglalta a családi anamnézis felvételét, esetleges rizikófaktorok felmérését, teljeskörű fizikális, neurológiai, laboratóriumi és elektrokardiográfiás vizsgálatokat, az agyat ellátó erek extra-és transzkraniális Doppler-szonográfiás vizsgálatát. A tünetek kialakulását követő két napon belül mágneses rezonanciás képalkotó eljárással történt az érintett terület pontos feltérképezése. Az ilyen módon készített dokumentációt egy, a betegek klinikai és laboratóriumi adatait nem ismerő szakember értékelt ki. A nem megfelelően értékelhető MRI felvételekkel, vagy hiányos klinikai paraméterekkel rendelkező, illetve a vizsgálat időtartama alatt exitált betegeket kizártuk a tanulmányból.

A betegeket, részletes neurológiai és MRI vizsgálat után, három stroke alcsoportba soroltuk, amely csoportok alapvetően a TOAST-ban szereplő csoportoknak felelnek meg. Az első csoportba (nagyér betegek) azok az egyének kerültek, akiknek nagyér infarktusuk volt, vagyis az MRI felvételeiken legalább 1,5 cm átmérőjű kortikális vagy cerebelláris léziók, és/vagy agytörzsi infarktusok, vagy féloldali szubkortikális infarktusok voltak megfigyelhetők. A második csoportot (kisért betegek) azok az egyének képezték, akiknél az MRI felvételek kisér elzáródást igazoltak, illetve a felvételeken 1,5 cm átmérőnél kisebb szubkortikális féloldali vagy agytörzsi infarktus volt látható. A harmadik csoportba (kevert) minden olyan beteget besoroltunk, akiknél a TOAST csoportosítás szerint kardioembólia, egyéb etiológia vagy nem tisztázott etiológia miatt kialakult stroke volt kimutatható, MRI felvételeiken egy vagy több lakunáris és nagyér infarktus volt látható. A betegek ilyenén egy csoportba rendezésére, az általunk képezett csoportokban található statisztikai szempontból kis esetszámok miatt volt szükség.

A vizsgálatban részt vevő kontrol egyének anamnézisében nem volt fellelhető stroke esemény, illetve MRI és CT felvételein neurológiai elváltozás nem volt látható. A beteg egyénekhez korban illeszkedő, egészséges személyeket véletlenszerűen választottuk ki a tanulmányhoz.

5.2. Alkalmazott módszerek

5.2.1. Polimeráz láncreakció (PCR)

A munkánk során alkalmazott genomi DNS mintát etilén-diamin-tetraacetáttal (EDTA) alvadásgátolt perifériás vér fehérvérsejtjeiből nyertük rutin kisózásos módszerrel (Miller 1988). A rendelkezésünkre álló DNS mintákból a vizsgálni kívánt szakaszokat általunk tervezett polimeráz láncreakcióval amplifikáltuk fel. A módszer tervezéséhez az AY422949 azonosítójú szekvenciát alkalmaztuk (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?db=nucore&id=37499458>). A reakcióelegyet minden vizsgálatunknál 50 µl végtérfogatra állítottuk össze, melyhez 200 µM dNTP oldatot, 1 U Taq polimeráz enzimet (10 U/µl), 5 µl puffer oldatot (500 mM KCl, 14 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl; pH 9,0), 0,2 mM megfelelő primerpárt (Metabion International AG, Martinsried, Germany) és 1 µg DNS templátot használtunk. A vizsgálatokhoz alkalmazott primerek szekvenciáit és a PCR reakciók körülményeit a 2. táblázat foglalja össze.

5.2.2. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) módszer

A restrikciós endonukleázokkal történő hasításhoz 10-15 µl PCR terméket használtunk fel. A reakcióhoz minden esetben 1 U megfelelő restrikciós endonukleázt (Fermentas Inc., Burlington, ON, Canada), az enzim működéséhez szükséges 10x puffert és steril desztillált vizet használtunk. Majd a reakcióelegyet a restrikciós enzimnek megfelelő hőmérsékleten inkubáltuk. A restrikciós hasítás tervezésénél minden esetben arra törekedtünk, hogy az enzimnek a felsokszorozott DNS szakaszban a genotípustól függetlenül legyen egy obligát hasítási helye, amely segítségével meggyőződhetünk az enzim megfelelő működéséről. A vizsgálatokhoz szükséges restrikciós endonukleázokat és azok felismerési és hasítási helyeit a 2. táblázat mutatja. A keletkezett fragmenteket 3 %-os etídium-bromiddal festett agaróz gélben analizáltuk UVIdoc géldokumentációs rendszer segítségével.

2. táblázat
Az általunk vizsgált polimorfizmusok PCR-RFLP körülményei

Polimorfizmus	Az alkalmazott primerek szekvenciája	Annealing hőmérséklet (°C)	Amplifikátum hossza (bp)	A restrikciós enzim	
				Neve	Felismerési és hasítási helye
APOA5					
T-1131C (rs662799)	f: 5'-CCCCAGGAACTGGAGCGACCTT-3' r: 5'-TTCAAGCAGAGGGAAGCCTGTA-3'	55	398	<i>MseI</i>	5'-T [^] TAA-3' 3'-AAT [^] T-5'
T1259C (rs2266788)	f: 5'-TCAGTCCTTGAAAGTGGCCT-3' r: 5'-ATGTAGTGGCACAGGCTTCC-3'	64	287	<i>BseGI</i>	5'-GGATGNN [^] -3' 3'-CCTAC [^] NN-5'
C56G (rs3135506)	f: 5'-AGAGCTAGCACCGCTCCTTT-3' r: 5'-TAGTCCCTCTCCACAGCGTT-3'	64	256	<i>Cfr13I</i>	5'-G [^] GNCC-3' 3'-CCNG [^] G-5'
IVS3+G476A (rs2072560)	f: 5'-CTCAAGGCTGTCTTCAG-3' r: 5'-CCTTTGATTCTGGGGACTGG-3'	62	280	<i>MnlII</i>	5'-CCTC(N) ₇ [^] -3' 3'-GGAG(N) ₆ [^] -5'

f: forward primer; r: reverse primer

5.3. DNS szekvencia meghatározás és analízis

Eredményeink alátámasztása érdekében mindkét irányból történő direkt szekvenálással meghatároztuk néhány minta nukleotidsorrendjét. A vizsgálatot ABI Prism 3100 Avant típusú automata szekvenáló készüléken végeztük (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). A kapott szekvenciák referencia-szekvenciával történő összehasonlítását a Winstar genetikai programcsomaggal végeztük (DNASTAR Inc., Madison, WI, USA).

5.4. Statisztikai kiértékelés

A klinikai adatok minden esetben átlag \pm SEM értéként vannak feltüntetve. A változók eloszlását Kolmogorov-Smirnov teszttel vizsgáltuk. Ha a változók normál eloszlást mutattak, akkor az úgynevezett paraméteres próbákat; nem normál eloszlású változók esetén nem paraméteres próbákat alkalmaztunk. Minden esetben Kruskal-Wallis-teszttel állapítottuk meg, hogy van-e különbség az egyes csoportok értékei között. A csoportok klinikai és laboratóriumi paramétereit közötti különbségek páronkénti összehasonlításához normál eloszlású, diszkrét változók esetében χ^2 tesztet alkalmaztunk. Normál eloszlású, folytonos változóknál a két csoport paramétereit Student-féle páros t-teszttel vizsgáltuk. Nem normál eloszlású változók esetén pedig Mann-Whitney tesztet alkalmaztunk. A szignifikancia határértékét (p) minden esetben 0,05-nél állapítottuk meg.

A korreláció elemzéséhez és az esélyhányadosok megadásához logisztikus regressziós modellt használtunk. A konfidencia intervallum minden esetben 95%-os volt. A statisztikai analíziseket MS Excel, SPSS 11.5 és SAS programok segítségével végeztük (SPSS Inc, Chicago, IL; SAS Institute Inc, Cary, NC, USA).

6. EREDMÉNYEK

6.1. Az APOA5 gén promóter régiójában található T-1131C variáns vizsgálata

A vizsgált beteganyag és kontrolcsoport klinikai és laboratóriumi paramétereit a 3. táblázatban adtuk meg. Elmondható, hogy a betegcsoport szérumszintű triglicerid és összkoleszterin értékei mindhárom stroke alcsoportban szignifikánsan magasabbak voltak, mint a kontrolcsoportban ($p < 0,05$).

A vizsgált allélek egyes stroke-os alcsoportokban és a kontrol csoportban talált eloszlását a 4. táblázat szemlélteti. Az alléleloszlás minden csoportban megfelelt a Hardy-Weinberg egyensúlynak. A vizsgált pozícióban található mutáns C allél (-1131C) legalább kétszer gyakrabban fordult elő a stroke-os alcsoportokban és az összes stroke-os betegben, mint a kontrol csoportban ($p < 0,05$).

Az 5. táblázat mutatja a beteg és kontrol csoport triglicerid és összkoleszterin profilját a T-1131C genotípusok megoszlásában. Mind a beteg-, mind a kontrol csoportban szignifikánsan emelkedett trigliceridszintet találtunk a mutációt homo- vagy heterozigóta formában hordozó egyének alcsoportjában azokhoz képest, akik nem hordozták a mutációt. A koleszterinértékekben ilyen eltéréseket nem tapasztaltunk a hordozó - nem hordozó csoportokat összehasonlítva.

A vizsgálat során a logisztikus regressziós analízis segítségével kapott esélyhányadosokat (odds ratio, OR) a 6. táblázatban tüntettük fel. Az OR értékeket minden esetben a csoportok között fennálló - kor, nem, body mass index (BMI), szérumszintű összkoleszterinszint, magas vérnyomás, ischémiás szívbetegség, diabetes mellitus, dohányzás és alkoholfogyasztásbeli - különbségekkel korrigáltuk. A táblázatból kitűnik, hogy az APOA5 gén promóter régiójának -1131 pozíciójában található mutáns C allél hordozása minden csoportban hajlamosít a stroke betegség kialakulására.

3. táblázat
A T-1131C vizsgálatában részt vevő betegek és kontroklinikai és laboratóriumi paraméterei

T-1131C	Stroke-os betegcsoport			Kontrol (n=289)
	Nagyér (n=149)	Kisér (n=85)	Kevert (n=68)	
Nem (férfi/nő)	70/79	40/45	32/36	132/157
Életkor (év)	62.5 ± 10.1*	65.3 ± 11.6*	60.2 ± 15.1*	54.6 ± 13.3
BMI (kg/m ²)	25.8 ± 2.13*	26.7 ± 3.22*	25.9 ± 3.83*	23.0 ± 2.74
Összkoleszterin (mmol/l)	6.43 ± 1.76*	6.64 ± 2.43*	6.89 ± 1.74*	4.89 ± 0.74
Triglicerid (mmol/l)	1.82 ± 0.53*	1.72 ± 0.63*	2.34 ± 0.79*	1.29 ± 0.64
Magas vérnyomás	47.0%*	55.3%*	55.9%*	13.8%
Diabetes mellitus	32.9%*	43.5%*	29.4%*	5.88%
Dohányzás	28.9%*	31.8%*	33.8%*	13.8%
Alkoholfogyasztás	20.1%*	21.2%*	17.6%*	4.84%
Ischémiás szívbetegség	17.5%*	16.5%*	19.1%*	5.88%

Az értékek átlag ± SEM-ként szerepelnek, *p<0,05

4. táblázat
A T-1131C allélek eloszlása a beteg és kontrol csoportokban

T-1131C	Stroke-os betegcsoport				Kontrol csoport n=289
	Nagyér n=149	Kisér n=85	Kevert n=68	Összes beteg n=302	
TT	117 (78,5%)	67 (78,8%)	53 (77,9%)	237 (78,5%)	261 (90,3%)
TC+CC	30+2 (21,5%)	16+2 (21,2%)	14+1 (22,1%)	60+5 (21,5%)	28 (9,7%)
C allél frekvencia	11%*	12%*	12%*	12%*	5%

*p<0,05 vs. kontrol csoport

5. táblázat
A lipidparaméterek alakulása a T-1131C genotípusok tükrében a vizsgált csoportokban

T-1131C	Stroke-os betegcsoport n=302		Kontrol csoport n=289	
	TT n=237	TC+CC n=65	TT n=261	TC+CC n=28
Triglicerid (mmol/l)	1.81 ± 0.62	2.21 ± 0.61*	1.48 ± 0.05	2.00 ± 0.30*
Összkoleszterin (mmol/l)	6.61 ± 1.67	6.52 ± 1.89	5.03 ± 1.78	4.89 ± 1.56

Az értékek átlag ± SEM-ként szerepelnek, *p<0.05 vs. nem hordozó egyének (TT)

6. táblázat
A -1131C allélvariáns vizsgálata logisztikus regressziós analízissel

T-1131C	Nagyér n=149	Kisér n=85	Kevert n=68	Stroke-os betegcsoport n=302
Korrigált OR érték [#]	1,9* (1,1-5,9)	2,3* (1,3-4,9)	2,2* (1,2-5,1)	2,1* (1,3-4,7)

*p<0.05; [#]Kor, nem, BMI, szérum összkoleszterin, ischémiás szívbetegeég, magas vérnyomás, diabetes mellitus, dohányzás-, és alkoholfogyasztási szokásokban fennálló különbségekre korrigálva.

6.2. Az APOA5 gén harmadik exonjában található C56G variáns vizsgálata

A vizsgált beteganyag és kontrolcsoport klinikai és laboratóriumi paramétereit a 7. táblázat mutatja. A betegcsoport szérum triglicerid és összkoleszterin értékei mindhárom stroke alcsoportban szignifikánsan magasabbak voltak, mint a kontrol csoportban (p<0,05).

7. táblázat
A csoportok klinikai és laboratóriumi paramétereit a C56G variáns esetében

C56G	Stroke-os betegcsoport			Kontrol csoport (n=171)
	Nagyér (n=124)	Kisér (n=180)	Kevert (n=99)	
Nem (férfi/nő)	46/78	70/110	43/56	58/113
Kor (év)	65.2 ± 1.28	66.7 ± 1.14	64.7 ± 1.44	57.7 ± 1.33
BMI (kg/m ²)	25.0 ± 0.22	25.5 ± 0.14	24.7 ± 0.16	24.5 ± 0.22
Triglicerid (mmol/l)	1.75 ± 0.06*	1.77 ± 0.05*	1.70 ± 0.07*	1.55 ± 0.04
Összkoleszterin (mmol/l)	5.81 ± 0.11*	5.74 ± 0.09*	5.67 ± 0.11*	5.20 ± 0.08

#p<0.001 vs. Kontrol csoport; *p<0.05 vs. kontrol csoport

A vizsgált allélek egyes stroke-os alcsoportokban és a kontrol csoportban talált eloszlását a 8. táblázat szemlélteti. Az alléleloszlás minden csoportban megfelelt a Hardy-Weinberg egyensúlynak. A vizsgált pozícióban található mutáns G allél (56G) előfordulása a nagyér stroke-os alcsoportban bizonyult kétszer gyakoribbnak, a kontrol csoporthoz viszonyítva ($p < 0,05$). A vizsgálati eredmény ebben az esetben is statisztikailag szignifikáns volt. A kísér infarktusus és kevert etiológiájú stroke alcsoportokban a mutáns G allél halmozott előfordulása nem volt kimutatható.

8. táblázat
A C56G allélek eloszlása a beteg és kontrol csoportokban

C56G	Stroke-os betegcsoport			Kontrol csoport (n=171)
	Nagyér (n=124)	Kísér (n=180)	Kevert (n=99)	
CC	98 (79.0%)	163 (90.6%)	84 (84.9%)	153 (89.5%)
CG+GG	25+1 (21.0%)*	16+1 (9.44%)	14+1 (15.1%)	17+1 (10.5%)
G allél frekvencia	10.9*	5	8.1	5.6

* $p < 0.05$ vs. kontrol csoport

A 9. táblázat foglalja össze a betegek és a kontrol csoport triglicerid és összkoleszterin értékeinek alakulását a C56G genotípusok megoszlásának függvényében. Minden egyes stroke alcsoportban és a kontrol csoportban is szignifikánsan emelkedett trigliceridszintet találtunk a mutációt homo- vagy heterozigóta formában hordozó egyének esetében, a mutációt nem hordozókhoz képest. A koleszterinértékekben ilyen eltéréseket nem tapasztaltunk a hordozó - nem hordozó csoportokat összehasonlítva.

9. táblázat
A egyes csoportok lipidparamétereinek alakulása a C56G genotípusok hatására

C56G	Stroke-os betegcsoport						Kontrol csoport (n=171)	
	Nagyér (n=124)		Kisér (n=180)		Kevert (n=99)		CC n=153	CG+GG n=18
	CC n=98	CG+GG n=26	CC n=163	CG+GG n=17	CC n=84	CG+GG n=15		
Triglicerid (mmol/l)	1.70 ± 0.06	1.97 ± 0.15*	1.72 ± 0.05	2.21 ± 0.18*	1.73 ± 0.08	2.05 ± 0.23*	1.56 ± 0.05	1.71 ± 0.19*
Összkoleszterin (mmol/l)	5.79 ± 0.12	5.92 ± 0.28	5.79 ± 0.09	5.30 ± 0.26	5.65 ± 0.12	5.80 ± 0.25	5.18 ± 0.08	5.35 ± 0.22

*p<0.05 vs. nem hordozó egyének (CC)

A vizsgálat során a logisztikus regressziós analízis segítségével kapott esélyhányadosokat a 10. táblázatban tüntettük fel. Az OR értékeket minden esetben a kor, a nem, a BMI, a szérum összkoleszterinszint, a magas vérnyomás, az ischémiás szívbetegség, a diabetes mellitus, a dohányzás és az alkoholfogyasztás csoportok között fennálló különbségeivel is korrigáltuk. A táblázat alapján elmondható, hogy az APOA5 gén egyik exonjában található mutáns G allél hordozása a statisztikai vizsgálatok alapján csak a nagyér stroke kialakulására jelent egyértelmű rizikót. Megléte kísér és egyéb etiológiájú stroke-ok kialakulását nem befolyásolja.

10. táblázat
Az 56G variáns logisztikus regressziós vizsgálata stroke kialakulásában

C56G	Stroke-os betegcsoport		
	Nagyér (n=124)	Kísér (n=180)	Kevert (n=99)
OR	2.122* (1.258-3.580) p=0.005	0.615 (0.348-1.089) p=0.095	1.250 (0.678-2.304) p=0.474
[#] Korrigált OR	2.132* (1.184-3.840) p=0.012	0.650 (0.334-1.263) p=0.203	1.315 (0.676-2.558) p=0.421

*p<0.05; [#]Kor, nem, BMI, szérum összkoleszterin, ischémiás szívbetegség, magas vérnyomás, diabetes mellitus, dohányzás-, és alkoholfogyasztási szokásokban fennálló különbségekre korrigálva.

6.3. Az APOA5 gén T1259C és IVS3+G476A variánsainak vizsgálata

A betegek és a controlok legfontosabb klinikai és laboratóriumi paramétereit a 11. táblázatban foglaltuk össze. A betegcsoportok és a kontrol csoport különböző paramétereinek páronkénti összehasonlítására Mann-Whitney U tesztet alkalmaztunk. A betegcsoportok triglicerid- és összkoleszterin értékei szignifikánsan emelkedettnek bizonyultak a kontrol csoportéhoz viszonyítva (p<0.05).

11. táblázat

A T1259C és IVS3+G476A variánsok vizsgálatába bevont betegek és kontrok klinikai és laboratóriumi paramétere

	Stroke-os betegcsoport				Kontrol csoport
	Nagyér n=122	Kisér n=176	Kevert n=80	Összes beteg n=378	n=131
Nem (férfi/nő)	50/72	67/109	33/47	150/228	41/90
Életkor (év)	67.6 ± 1.30	66.6 ± 1.17	63.0 ± 1.35	66.1 ± 0.74	58.1 ± 1.51
BMI (kg/m ²)	25.2 ± 0.16	25.5 ± 0.15	24.9 ± 0.18	25.2 ± 0.09	24.0 ± 0.17
Triglicerid (mmol/l)	1.71 ± 0.06*	1.76 ± 0.04 [#]	1.83 ± 0.08*	1.76 ± 0.03 [#]	1.53 ± 0.05
Összkoleszterin (mmol/l)	5.90 ± 0.11 [#]	5.75 ± 0.09 [#]	5.67 ± 0.13 [#]	5.78 ± 0.06 [#]	5.18 ± 0.09

Az értékek átlag ± SEM-ként szerepelnek, *p<0.05 vs. kontrol csoport; [#]p<0.001 vs. kontrol csoport

Az APOA5 T1259C és IVS3+G476A variánsok allél- és genotípus eloszlását a 12. táblázat mutatja be. Az alléleloszlás megfelel a Hardy-Weinberg egyensúlynak. Az egyes csoportokban kapott allélfrekvenciák összehasonlítására χ^2 tesztet használtunk. Az IVS3+G476A variáns esetében a mutáns allél nagyobb gyakorisággal volt megtalálható a betegcsoportban, mint a kontrol csoportban. A T1259C variáns esetében nem volt szignifikáns eltérés az allélek eloszlásában sem a kontrol, sem a betegcsoportban.

A beteg és kontrol csoportok triglicerid és összkoleszterin szintjeinek APOA5 genotípusok szerinti megoszlását a 13. táblázat mutatja. A hordozók és nem hordozók triglicerid és összkoleszterin értékeinek páronkénti összehasonlítására Mann-Whitney U tesztet használtunk. A 1259C vagy IVS3+476A alléleket hordozók trigliceridszintje minden csoportban szignifikáns emelkedést mutatott a mutációt nem hordozókkal szemben. A koleszterinszintek csoportokon belüli összehasonlítása nem mutatott különbséget hordozók és nem hordozók között ($p < 0.05$).

A IVS3+476A és a 1259C allélvariánsok és a stroke közötti összefüggések vizsgálatának eredményét a 14. táblázat foglalja össze. Az esélyhányadosokat (OR) logisztikus regressziós analízissel számítottuk ki 95%-os konfidencia intervallum mellett. A kapott OR értékek azt mutatják, hogy az APOA5 IVS3+476A allél hordozása önálló kockázati tényezője az ischémiás stroke kialakulásának. Ezzel ellentétben a T1259C variáns regressziós vizsgálata során nem találtunk összefüggést a mutáns C allél hordozása és a betegség megléte között.

12. táblázat
A T1259C és az IVS3+G476A variánsok alléleloszlása a beteg és a kontrol csoportokban

		Stroke-os betegcsoport				Kontrol csoport
		Nagyér n=122	Kisér n=176	Kevert n=80	Összes beteg n=378	n=131
T1259C	TT	95 (77.9%)	137 (77.8%)	60 (75.0%)	292 (77.2%)	103 (78.6%)
	TC+CC	27 (22.1%)	39 (22.2%)	20 (25.0%)	86 (22.8%)	28 (21.4%)
	C allél frekvencia	11.5%	11.6%	13.1%	11.9%	11.1%
IVS3+G476A	GG	104 (85.2%)	147 (83.5%)	68 (85.0%)	319 (84.4%)	123 (93.9%)
	GA+AA	18 (14.8%)	29 (16.5%)	12 (15.0%)	59 (15.6%)	8 (6.10%)
	A allél frekvencia	7.40%*	8.52%*	7.50%*	7.94%*	3.05%

* p<0.05 vs. kontrol csoport

13. táblázat
A T1259C és az IVS3+G476A variánsok hordozásának hatása a vizsgált csoportok lipidparamétereire

	Stroke-os betegcsoport								Kontrol csoport n=131	
	Nagyér n=122		Kisér n=176		Kevert n=80		Összes beteg n=378		TT	TC+CC
T1259C	TT	TC+CC	TT	TC+CC	TT	TC+CC	TT	TC+CC	TT	TC+CC
	n=95	n=27	n=137	n=39	n=60	n=20	n=292	n=86	n=103	n=28
Triglicerid	1.64 ± 0.06	2.01 ± 0.15*	1.67 ± 0.04	2.08 ± 0.14*	1.67 ± 0.07	2.33 ± 0.24*	1.66 ± 0.03	2.12 ± 0.10*	1.45 ± 0.05	1.86 ± 0.17*
Összkoleszterin	5.90 ± 0.13	5.86 ± 0.24	5.71 ± 0.11	5.90 ± 0.19	5.57 ± 0.12	5.95 ± 0.34	5.75 ± 0.07	5.90 ± 0.14	5.25 ± 0.09	4.95 ± 0.20
IVS3+G476A	GG	GA+AA	GG	GA+AA	GG	GA+AA	GG	GA+AA	GG	GA+AA
	n=105	n=17	n=147	n=29	n=89	n=12	n=342	n=57	n=123	n=10
Triglicerid	1.65 ± 0.06	2.17 ± 0.22*	1.67 ± 0.03	2.22 ± 0.18*	1.70 ± 0.07	2.63 ± 0.36*	1.67 ± 0.03	2.29 ± 0.13*	1.49 ± 0.05	2.08 ± 0.37*
Összkoleszterin	5.87 ± 0.12	6.04 ± 0.334	5.79 ± 0.10	5.60 ± 0.21	5.66 ± 0.13	5.73 ± 0.45	5.79 ± 0.07	5.75 ± 0.17	5.23 ± 0.09	4.54 ± 0.31

Az értékek átlag ± SEM-ként szerepelnek. A triglicerid- és összkoleszterin-értékek mmol/l-ben vannak megadva. *p<0.05 vs. nem hordozó egyének

14. táblázat

Az APOA5 gén T1259C és IVS3+G476A variánsai hordozásának vizsgálata a betegcsoportokon logisztikus regresszió analízissel

		Stroke-os betegcsoport			
		Nagyér n=122	Kisér n=176	Kevert n=80	Összes beteg n=378
T1259C	OR	1.045 (0.575 - 1.901)	1.047 (0.605 - 1.813)	1.226 (0.636 – 2.363)	1.083 (0.669 - 1.754)
	Korrigált OR [#]	1.054 (0.454 – 2.451)	1.477 (0.668 - 3.267)	1.391 (0.631 – 3.066)	1.400 (0.751 - 2.609)
IVS3+G476A	OR	2.661* (1.112 – 6.369)	3.033* (1.338 – 6.877)	2.713* (1.057 – 6.962)	2.844* (1.320 – 6.124)
	Korrigált OR [#]	3.905* (1.355 – 11.253)	4.748* (1.540 - 14.640)	2.926* (1.021 – 8.384)	3.644* (1.452 – 9.144)

*p<0.05; [#]Kor, nem, BMI, szérum összkoleszterin, ischémiás szívbetege, magas vérnyomás, diabetes mellitus, dohányzás-, és alkoholfogyasztási szokásokban fennálló különbségekre korrigálva.

7. AZ EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE

7.1. Az APOA5 gén promóter régiójában található T-1131C variáns szerepe

Az APOA5 gén természetes variánsai közül a legtöbbet vizsgált eltérés a gén promóter régióját érintő T-1131C tranzíció. Ezt a variánst az egészséges európai populáció 6%-ában találták meg. Az ázsiai populációk közül a japán populációban 35%-os, a kínai populációban 29%-os, az indiai populációban pedig 20%-os gyakoriságot mutatott (HapMap, Lai 2003, Chandak 2006). Tanulmányunkban a variáns vizsgálata során az eddig európai populációra leírt eredményeknek megfelelő 5%-os allélfrekvenciát találtunk az egészséges populációt reprezentáló kontrol csoportban.

A plazma lipidszintek fontos determináló faktorai a kardio- és cerebrovaszkuláris betegségekre való hajlamosításnak (Dawber 1951). A trigliceridszint 1 mmol/l-es emelkedése férfiakban 14%-kal, nőkben 37%-kal emeli a kockázatot koronária-betegség kialakulására (Austin 1998). A lipidek pontos szerepe azonban még vitatott. Az ellentmondásokat magyarázhatja a vizsgált populációk heterogén volta, illetve, hogy a trigliceridszintet számos genetikai tényező befolyásolja, mint ahogy az általunk vizsgált APOA5 variáns is. Vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a mutáns C allél hordozása szignifikánsan emelkedett trigliceridszintet eredményez minden vizsgált csoportunkban. A -1131C allél lipidparaméterekre gyakorolt hatását számos kutatócsoport vizsgálta mind felnőttekben, mind gyermekekben (Endo 2002, Aouizerat 2003, Evans 2003, Austin 2004, Bi 2004, Hubacek 2004, Szalai 2004, Talmud 2004, Chaaba 2005, Yan 2005, Calandra 2006, Martinelli 2007, Grallert 2007, Yamada 2007). Eredményeik a trigliceridszint tekintetében egységesek és eredményeinkkel megegyeznek: a mutáns allél a vizsgált populációktól függetlenül emeli a trigliceridszintet. A -1131C allél trigliceridemelő hatása háttérben álló pontos folyamat még nem ismert. Több hipotézis is felmerült a hatásmechanizmus megismerése során. Az egyik feltételezés szerint a promóter régiót érintő eltérés a gén transzkripciójára gyakorolhat hatást. Talmud és munkatársai sejtvonalakon végzett kísérletei során a -1131C allél transzkripciót és translációt befolyásoló hatását nem tudták bizonyítani (Talmud 2005). Vu-Dac és munkatársai bioinformatikai módszerekkel sok más szabályozó szekvencia között egy peroxiszóma proliferátor reszponzív elemet (PPRE) azonosítottak ebben a promóter régióban (-272, -260), amely

az APOA5 gén expressziójának szabályozásához szükséges (Prieur 2003, Vu-Dac 2003). A -1131C allél a feltételezések értelmében megváltoztathatja az affinitást illetve a kötődést ehhez vagy más hasonló szabályozó régiókhoz, csökkentve ezzel az APOA5 gén expresszióját, így emelve a trigliceridszintet. Egyéb feltételezések szerint a -1131 más funkcionális variánsokkal erős kapcsoltságban van, így ezen a kapcsolaton keresztül fejtheti ki hatását a trigliceridszintre. Ilyen komplett kapcsoltságot az APOA5 T-1131C és A-3G variánsok között találtak. Ez a variáns a Kozak konszenzus szekvenciában (GACACCATGG), a feltételezett start kodontól 3 bp távolságra van 5' irányban (Kozak 1987). Az ebben a pozícióban történt báziscsere az APOA5 mRNS transzláció csökkenését, alacsonyabb plazma APOA5 szintet, és ezáltal emelkedett trigliceridszintet von maga után.

A T-1131C nemcsak az APOA5 gén variánsaival állhat erős kapcsoltságban, hanem az apolipoprotein génklaszter - APOA5 génhez közel lokalizálódó - többi tagjának variánsaival is. Erős kapcsoltságot mutattak ki az általunk vizsgált variáns és az APOCIII gén C-482T vagy C-455T variánsai között. Az APOCIII gén promóter régiójában egy inzulin reszponzív elemet (IRE) azonosítottak, amely az APOCIII gén inzulin által történő szabályozásának kulcseleme (Ruiz-Narvaez 2005). A gén promóter régiójában bekövetkezett mutációk ezt a fontos szabályozó régiót megváltoztatják, amelynek következtében megszűnik az inzulin APOCIII-ra kifejtett *in vitro* repressziója, így emelkedik az APOCIII szintje, amely a trigliceridszint szükségszerű emelkedésével jár (Li 1995, Olivieri 2003). A T-1131C variáns a feltételezések szerint ezen a kapcsoltságon keresztül fejtheti ki hatását, azonban ez nem kizárólagosan ezen a mechanizmuson keresztül valósulhat meg.

Az APOA5 T-1131C variánsát, felfedezése óta, különböző populációkban, számos betegségcsoportban vizsgálták. Familiáris hiperlipidemiában és hipertrigliceridemiában szenvedő holland, brit, spanyol és ír populációkból származó betegekben egyértelmű hajlamosító tényezőként azonosították a betegség kialakulására (Eichenbaum-Voline 2004, Wright 2005, van Der Vleuten 2007). A T-1131C variáns metabolikus szindrómában betöltött szerepét magyar és japán betegcsoportokban vizsgálták, mindkét kutatócsoport hajlamosító tényezőnek találta a T-1131C variánst (Maasz 2007, Yamada 2007). Egy nemzetközi kooperáció (Framingham Heart Study) kritériumai szerint kardiovaszkuláris betegségben szenvedő egyéneken elvégzett genotipizálás és statisztikai vizsgálat a -1131C mutáns allél hordozását a betegség kockázati tényezőjeként definiálja (Lai 2004, Elosua 2006), ugyanakkor

koronáriabetegségben betöltött szerepe még vitatott. Magyar és kínai betegcsoportban a mutáns allél hordozása emelkedett rizikót jelentett (Bi 2004, Szalai 2004), ezzel ellentétben tunéziai és olasz betegcsoportokban ezt nem tudták kimutatni (Chaaba 2005, Martinelli 2007).

Eredményeik arra ösztönöztek minket, hogy az APOA5 T-1131C variáns hajlamosító szerepét vizsgáljuk stroke-ban szenvedő betegekben, annál is inkább, mert az APOA5 variáns szerepét ebben a betegcsoportban még nem vizsgálták. Logisztikus regressziós analízissel bizonyítani tudtuk, hogy a C allél hordozása magasabb rizikót jelent a betegség kialakulására. Az APOA5 T-1131C valószínűleg a fejezet elején leírtak alapján kóros szintre emelheti a trigliceridértékeket, ami endothel dysfunctiohoz, az endotheliális sejtekben történő abnormális lipidlerakódáshoz, ateroszklerotikus plakkok kialakulásához vezethet; az érrendszer különböző pontjain elzáródásokat okozhat, ami ischémiás stroke kialakulását idézheti elő (Prabhakaran 2006).

7.2. Az APOA5 gén C56G variánsának szerepe

Az APOA5 gén második leggyakrabban vizsgált természetes variánsa a gén harmadik exonjának 56-os nukleotidpozíciójában található C/G tranzíció. A báziscsere a 19-es aminosavat (Ser) érinti a protein szekvenciájában. Helyette a mutáns allél egy Trp aminosavat kódol. Az 56G allél populációnként eltérő előfordulást mutat. A kínai és japán populációkban rendkívül alacsony arányban fordul elő (<0,1%), az indiai populáció 3%-ában található meg, afro-amerikai és francia populációkban 4,8%, spanyol populációban ~15% az előfordulási aránya (Pennacchio 2002, Lai 2003, Martin 2003, Austin 2004, Klos 2006, Payseur 2006, HapMap). Vizsgálatainkban az európai populációkra általában jellemző, 5,6%-os mutáns allélfrekvenciát találtunk az egészséges kontrol egyéneknél.

Tanulmányunkban lehetőségünk nyílt a C56G variáns lipidparaméterekre gyakorolt hatásának vizsgálatára. A mutáns allélt homo-, vagy heterozigóta formában hordozók körében mindhárom betegcsoportban emelkedett triglicerid átlagértékeket találtunk a normál allélt hordozókhoz viszonyítva. Így eredményeink alapján azt mondhatjuk, hogy ennek a variánsnak a hordozása 16-28%-os trigliceridszint-

emelkedéssel jár, amely eredmény jól illeszkedik más kutatócsoportok által leírtakhoz. Talmud és munkatársai 8-16%-os emelkedést tapasztaltak egy kaukázusi populációban 56G allél jelenlétekor (Talmud 2005). Török populációban pedig 18-26%-os volt az emelkedés mértéke a mutáns allél hatására (Hodoglugil 2006).

A variáns lipidparaméterekre gyakorolt hatása és a mechanizmus, amelyen keresztül trigliceridszint-emelkedést képes kiváltani, számos tanulmány középpontjába került (Corella 2007, Dorfmeister 2007, Dallongeville 2008). A vizsgálatok alapján az APOA5 variánsok közül a C56G az egyetlen „funkcionális” variáns, amely nem más SNP-kel való kapcsolatán keresztül fejti ki hatását, hanem direkt módon emel trigliceridszintet. A variáns hatására ugyanis hidrophil szerin aminosav helyett hidrofób triptofán aminosav keletkezik az APOA5 szignálfehérje hidrophil doménjében, amely drasztikusan befolyásolhatja a fehérje endoplazmatikus retikulumon át történő transzlokációját, ennek következtében csökken a szekretált APOA5 fehérje mennyisége, és így trigliceridszint-emelkedés detektálható (Talmud 2005).

Természetesen az sem zárható ki, hogy a C56G variáns esetleg más polimorfizmusokkal együtt, egymás hatását felerősítve játszik szerepet betegségek kialakulásában. Schaefer és munkatársai 170 hipertrigliceridemiás beteg vizsgálata során a betegek APOE és APOA5 C56G genotípusát határozták meg. Az APOE 2/2 genotípussal rendelkező betegek majdnem mindannyian hordozták az 56G allélt is (Schaefer 2004). Normál lipidparaméterekkel rendelkező egyéneknél azonban ezek együttesen nem voltak kimutathatók. Hipotézisük szerint, a C56G kofaktorként működve vezet hypertrigliceridemia kialakulásához (Schaefer 2004, Evans 2005). Ezt azonban nagyobb populációkban végzett vizsgálatokkal eddig még nem támasztották alá.

Az APOA5 C56G variánst trigliceridszintre gyakorolt drasztikus hatásai miatt számos betegségcsoportban vizsgálták (Dallongeville 2006, Martinelli 2007, van der Vleuten 2007). A populációvizsgálatok eredményei alapján hordozása myocardialis infarktus, koronária betegség, metabolikus szindróma kialakulására jelent magasabb kockázatot (Hubacek 2004, Liu 2005, Grallert 2007). Talmud és munkatársai a mutáns allél jelenlétében gyorsabb aterogenezist mutattak ki (Talmud 2005). Az érfal intima-media vastagságának (IMT) meghatározása széleskörben elterjedt módszer a vaszkuláris elzáródások mértékének megállapítására. Egyes tanulmányok szerint az IMT egyenes arányban áll a stroke, vagy myocardialis infarktus kialakulásának valószínűségével (Bonithon-Kopp 1996, Bots 1999, O’Leary 1999, Touboul 2005).

Vizsgálatainkban az APOA5 56G allél a nagyér infarktusos betegekben nagyobb előfordulást mutatott, mint más csoportokban. Az 56G allél hordozása - a logisztikus regressziós vizsgálat eredménye szerint is - kizárólag a nagyér etiológiájú stroke kialakulására jelent nagyobb hajlamosítást. Alátámasztják megfigyelésünket a Framingham-tanulmány résztvevői körében elvégzett vizsgálatok eredményei, melyek alapján a C56G variánst nagyobb arteria carotis communis IMT-vel hozták összefüggésbe (Elosua 2006).

7.3. Az APOA5 gén intronikus IVS3+G476A variánsának szerepe

Az APOA5 gén intronikus és 3'-nem transzlálódó régióját (3'-UTR) érintő variánsokról az előzőekben felsorolt két variánshoz viszonyítva csekély ismeretanyaggal rendelkezünk. Az általunk végzett vizsgálatokból és más európai populációkon végzett tanulmányokból is világosan látszik, hogy mindkét SNP emeli a trigliceridszintet (Elosua 2006, Hodoglugil 2006, Grallert 2007). Egy vizsgált costa ricai populációban azonban nem találtak triglicerid-emelkedést a mutáns allél hordozásakor (Ruiz-Narvaez 2005). A mechanizmus, amelyen keresztül befolyásolják a trigliceridszintet, még ismeretlen; a feltételezések szerint más variánsokkal való szoros kapcsoltság játszhat szerepet ebben. Európai populációkban teljes kapcsoltságot állapítottak meg az APOA5 variánsai között (Pennacchio 2002, Talmud 2005). A costa ricai populációban a kapcsoltság csak részleges volt, ami magyarázatot szolgáltat arra, miért nem találtak összefüggést a mutáns allélek és emelkedett trigliceridszint között (Ruiz-Narvaez 2005). T1259C variáns trigliceridszint-emelő hatása ellenére a mutáns C allél hordozását nem találtuk hajlamosító tényezőnek stroke betegség kialakulására. Ezzel ellentétben az IVS3+G476A eltérés hordozása mind önmagában, mind egyéb tényezőkkel együttesen 3-4-szeresére emelheti stroke kialakulásának esélyét. A pontos mechanizmus megértése érdekében azonban további haplotípus-vizsgálatokra van szükség, amely segítségével az egyes SNP-ek együttes előfordulása és hatása tanulmányozható (Ahituv 2007).

7.4. Az APOA5 gén leggyakoribb haplotípusainak lehetséges szerepe

Pennacchio és munkatársai az APOA5 gén természetes variánsainak tanulmányozása során erős kapcsoltságot igazoltak a leggyakoribb variánsok között, amelyek így két fő haplotípust determinálnak: APOA5*2 (-1131C, 1259C, IVS3+476A) és APOA5*3 (56G) (Pennacchio 2002). A két haplotípus a vad típusú haplotípussal (APOA5*1: -1131T, 1259T, IVS3+476G, 56C) együtt a populáció ~98%-át lefedi. A fennmaradó ~2%-ba ritka haplotípusok, mint APOA5*4 (-1131C) és APOA5*5 (1259C), tartoznak (Olivier 2004, Ruiz-Narvaez 2005, Hallman 2006).

A haplotípus variánsok vizsgálatához és szerepének statisztikai elemzéséhez az általunk vizsgált beteganyag nem elegendő. A haplotípus-analízis jelen értekezésnek nem témája, azonban előzetes értékeléseink alapján elmondható, hogy az APOA5*2 haplotípus hordozása szignifikáns trigliceridszint emelkedést okoz és az összes stroke-alcsoportban hajlamosító tényezőnek bizonyult a betegség kialakulására nézve, amely eredmény alátámasztja más kutatócsoportok ezirányú megfigyeléseit. Terveink szerint további minták gyűjtésével és vizsgálatával az APOA5 gén természetes variánsai által determinált összes haplocsoport megoszlása, lipidparaméterekre gyakorolt hatása és a stroke kialakulásában betöltött szerepe vizsgálható lesz.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Tanulmányunkban a következő megfigyeléseket tettük:

1. Az apolipoprotein A5 variánsainak lipidparaméterekre gyakorolt hatásait vizsgálva elmondható, hogy a -1131C, 56G, IVS3+476A, 1259C mutáns allélek jelenléte a trigliceridek statisztikailag szignifikánsan emelkedett koncentrációját eredményezte az összes vizsgált stroke-os csoportban és a kontrolokban is.
2. A koleszterinértékeket vizsgálva sem a betegek, sem a kontrolok körében nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést egyik apolipoprotein A5 variáns hordozásának hatására sem.
3. Az allélek eloszlását vizsgálva a T-1131C, IVS3+G476A variánsok esetében a mutáns allél szignifikáns akkumulációját találtuk minden stroke-os betegcsoportban a kontrol egyénekhez viszonyítva. Ezzel ellentétben az 56G allél kizárólag nagyér infaktusos betegek csoportjában fordult elő halmozottan a kontrolokhoz képest.
4. Az apolipoprotein A5 gén T1259C variánsa esetében azonban nem tudtunk kimutatni különbséget egyik allél előfordulásában sem a beteg, sem a kontrol csoportokban, annak ellenére, hogy a tanulmányunk során, hasonlóan a másik három variánshoz, a 1259C allélvariáns hordozásának hatására is szignifikáns trigliceridszint-emelkedést tapasztaltunk.
5. Eredményeink alapján a T-1131C és az IVS3+G476A variánsok esetében a mutáns allélek hordozása minden stroke-os alcsoportban (kisér, nagyér, kevert) független kockázati tényezőnek bizonyult a betegség kialakulásában. A C56G variáns esetében ez a nagyér infarktusos csoportban volt bizonyítható. Ezekkel ellentétben, a T1259C variánst vizsgálva elmondható, hogy egyik allél hordozása sem jelent nagyobb kockázatot ischémiás stroke kialakulására.

9. IRODALOMJEGYZÉK

Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE 3rd. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*. 1993;24:35-41.

Adams R, Victor M. *Principles of Neurology*. New York, Raven Press, 1993

Ahituv N, Akiyama J, Chapman-Helleboid A, Fruchart J, Pennacchio LA. *In vivo* characterization of human APOA5 haplotypes. *Genomics*. 2007;90:674-679.

Allen JK. Genetics and cardiovascular disease. *Nurs Clin North Am*. 2000;35:653-662.

Aouizerat BE, Kulkarni M, Heilbron D, Drown D, Raskin S, Pullinger CR, Malloy MJ, Kane JP. Genetic analysis of a polymorphism in the human apoA-V gene: effect on plasma lipids. *J Lipid Res* 2003;44:1167-1173.

Aulchenko YS. Loci influencing lipid levels and coronary heart disease risk in 16 European population cohorts. *Nature Genetics*. 2008, közlés alatt

Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol*. 1998;81:7B-12B.

Austin MA, Talmud PJ, Farin FM, Nickerson DA, Edwards KL, Leonetti D, McNeely MJ, Viernes HM, Humphries SE, Fujimoto WY. Association of apolipoprotein A5 variants with LDL particle size and triglyceride in Japanese Americans. *Biochim Biophys Acta*. 2004;1688:1-9.

Autret A, Pourcelot L, Saudeau D, Marchal C, Bertrand P, de Boisvilliers S. Stroke risk in patients with carotid stenosis. *Lancet*. 1987;1:888-890.

Bamford J, Sandercock P, Dennis M, Burn J, Warlow C. Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral infarction. *Lancet*. 1991;337:1521-1526.

Barrett-Connor E, Khaw KT. Diabetes mellitus: an independent risk factor for stroke? *Am J Epidemiol*. 1988;128:116-123.

Bentolila S, Ripoll L, Drouet L, Mazoyer E, Woimant F. Thrombophilia due to 20210 G→A prothrombin polymorphism and cerebral ischemia in the young. *Stroke*. 1997;28:1846-1847.

Bi N, Yan SK, Li GP, Yin ZN, Chen BS. A single nucleotide polymorphism -1131T>C in the apolipoprotein A5 gene is associated with an increased risk of coronary artery disease and alters triglyceride metabolism in Chinese. *Mol Genet Metab*. 2004;83:280-286.

- Boguski MS, Birkenmeier EH, Elshourbagy NA, Taylor JM, Gordon JI. Evolution of the apolipoproteins. Structure of the rat apo-A-IV gene and its relationship to the human genes for apo-A-I, C-III, and E. *J Biol Chem*. 1986;261:6398-6407.
- Bonita R, Mendis S, Truelsen T, Bogousslavsky J, Toole J, Yatsu F. The global stroke initiative. *Lancet Neurol* 2004;3:391-393.
- Bonithon-Kopp C, Touboul PJ, Berr C, Leroux C, Mainard F, Courbon D, Ducimetière P. Relation of intima-media thickness to atherosclerotic plaques in carotid arteries. The Vascular Aging (EVA) Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:310-316.
- Bots ML, Hoes AW, Hofman A, Witteman JC, Grobbee DE. Cross-sectionally assessed carotid intima-media thickness relates to long-term risk of stroke, coronary heart disease and death as estimated by available risk functions. *J Intern Med* 1999;245:269-276.
- Brenner D, Labreuche J, Poirier O, Cambien F, Amarenco P; GENIC Investigators. Renin-angiotensin-aldosterone system in brain infarction and vascular death. *Ann Neurol*. 2005;58:131-138.
- Bruneau BG. The developmental genetics of congenital heart disease. *Nature*. 2008;451:943-948.
- Calandra S, Priore Oliva C, Tarugi P, Bertolini S. APOA5 and triglyceride metabolism, lesson from human APOA5 deficiency. *Curr Opin Lipidol*. 2006;17:122-127.
- Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D, Luc G, Bard JM, Bara L, Ricard S, Tiret L, Amouyel P, Anhenc-Gelas F, Soubrier F. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature*. 1992;359:641-644.
- Carter AM, Catto AJ, Bamford JM, Grant PJ. Gender-specific associations of the fibrinogen B beta 448 polymorphism, fibrinogen levels, and acute cerebrovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:589-594.
- Casas JP, Hingorani AD, Bautista LE, Sharma P. Meta-analysis of genetic studies in ischemic stroke: thirty-two genes involving approximately 18,000 cases and 58,000 controls. *Arch Neurol*. 2004;61:1652-1661.
- Chaaba R, Attia N, Hammami S, Smaoui M, Mahjoub S, Hammami M, Masmoudi AS. Association of SNP3 polymorphism in the apolipoprotein A-V gene with plasma triglyceride level in Tunisian type 2 diabetes. *Lipids Health Dis*. 2005;4:1.
- Chandak GR, Ward KJ, Yajnik CS, Pandit AN, Bavdekar A, Joglekar CV, Fall CH, Mohankrishna P, Wilkin TJ, Metcalf BS, Weedon MN, Frayling TM, Hattersley AT. Triglyceride associated polymorphisms of the APOA5 gene have very different allele frequencies in Pune, India compared to Europeans. *BMC Med Genet*. 2006;7:76.
- Charlton-Menys V, Durrington PN. Apolipoprotein A5 and hypertriglyceridemia. *Clin Chem*. 2005;51:295-297.

- Collins R, MacMahon S. Blood pressure, antihypertensive drug treatment and the risks of stroke and of coronary heart disease. *Br Med Bull.* 1994;50:272-298.
- Corella D, Lai CQ, Demissie S, Cupples LA, Manning AK, Tucker KL, Ordovas JM. APOA5 gene variation modulates the effects of dietary fat intake on body mass index and obesity risk in the Framingham Heart Study. *J Mol Med.* 2007;85:119-128.
- Corral J, Gonzalez-Conejero R, Lozano ML, Rivera J, Vicente V. Genetic polymorphisms of factor VII are not associated with arterial thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 1998;9:267-272.
- Couderc R, Mahieux F, Bailleul S, Fenelon G, Mary R, Fermanian J. Prevalence of apolipoprotein E phenotypes in ischemic cerebrovascular disease: a case control study. *Stroke.* 1993;24:661-664.
- Dallongeville J, Cottel D, Montaye M, Codron V, Amouyel P, Helbecque N. Impact of APOA5/A4/C3 genetic polymorphisms on lipid variables and cardiovascular disease risk in French men. *Int J Cardiol.* 2006;106:152-156.
- Dallongeville J, Cottel D, Wagner A, Ducimetière P, Ruidavets JB, Arveiler D, Bingham A, Ferrières J, Amouyel P, Meirhaeghe A. The APOA5 Trp19 allele is associated with metabolic syndrome via its association with plasma triglycerides. *BMC Med Genet.* 2008;9:84.
- Dawber TR, Meadors GF, Moore FE. Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. *Am J Public Health Nations Health.* 1951;41:279-281.
- De Stefano V, Chiusolo P, Paciaroni K, Casorelli I, Rossi E, Molinari M, Servidei S, Tonali PA, Leone G. Prothrombin G20210A mutant genotype is a risk factor for cerebrovascular ischemic disease in young patients. *Blood.* 1998;91:3562-3565.
- Dorfmeister B, Cooper JA, Stephens JW, Ireland H, Hurel SJ, Humphries SE, Talmud PJ. The effect of APOA5 and APOC3 variants on lipid parameters in European Whites, Indian Asians and Afro-Caribbeans with type 2 diabetes. *Biochim Biophys Acta.* 2007;1772:355-363.
- Eichenbaum-Voline S, Olivier M, Jones EL, Naoumova RP, Jones B, Gau B, Patel HN, Seed M, Betteridge DJ, Galton DJ, Rubin EM, Scott J, Shoulders CC, Pennacchio LA. Linkage and association between distinct variants of the APOA1/C3/A4/A5 gene cluster and familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:167-174.
- Eikelboom JW, Hankey GJ, Anand SS, Lofthouse E, Staples N, Baker RI. Association between high homocysteine and ischemic stroke due to large- and smallartery disease but not other etiologic subtypes of ischemic stroke. *Stroke.* 2000;31:1069-1075.
- Elbaz A, Poirier O, Canaple S, Chedru F, Cambien F, Amarenco P. The association between the Val34Leu polymorphism in the factor XIII gene and brain infarction. *Blood.* 2000;95:586-591. (Elbaz 2000/1)

- Elbaz A, Poirier O, Moulin T, Chédru F, Cambien F, Amarenco P. Association between the Glu298Asp polymorphism in the endothelial constitutive nitric oxide synthase gene and brain infarction. *Stroke*. 2000;31:1634-1639. (Elbaz 2000/2)
- Elias MF, Sullivan LM, D'Agostino RB, Elias PK, Beiser A, Au R, Seshadri S, DeCarli C, Wolf PA. Framingham stroke risk profile and lowered cognitive performance. *Stroke* 2004;35:404-409.
- Elosua R, Ordovas JM, Cupples LA, Lai CQ, Demissie S, Fox CS, Polak JF, Wolf PA, D'Agostino RB Sr, O'Donnell CJ. Variants at the APOA5 locus, association with carotid atherosclerosis, and modification by obesity: the Framingham Study. *J Lipid Res* 2006;47:990-996.
- Endo K, Yanagi H, Araki J, Hirano C, Yamakawa-Kobayashi K, Tomura S. Association found between the promoter region polymorphism in the apolipoprotein A-V gene and the serum triglyceride level in Japanese schoolchildren. *Hum Genet* 2002;111:570-572.
- Evans D, Buchwald A, Beil FU. The single nucleotide polymorphism -1131T>C in the apolipoprotein A5 (APOA5) gene is associated with elevated triglycerides in patients with hyperlipidemia. *J Mol Med* 2003;81:645-654.
- Evans D, Seedorf U, Beil FU. Polymorphisms in the apolipoprotein A5 (APOA5) gene and type III hyperlipidemia. *Clin Genet*. 2005;68:369-372.
- Feigin VL, Lawes CM, Bennett DA, Anderson CS. Stroke epidemiology: a review of population-based studies of incidence, prevalence, and case-fatality in the late 20th century. *Lancet Neurol* 2003;2:43-53.
- Flossmann E. Genetics of ischaemic stroke; single gene disorders. *Int J Stroke*. 2006;1:131-139.
- Fredrickson DS. Plasma lipoproteins and apolipoproteins. *Harvey Lect*. 1974;68:185-237.
- Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Thudium D, Moes Gronholdt ML, Tybjaerg-Hansen A. APOE genotype predicts AD and other dementia but not ischemic cerebrovascular disease. *Neurology*. 2001;56:194-200.
- Fruchart-Najib J, Baugé E, Niculescu LS, Pham T, Thomas B, Rommens C, Majd Z, Brewer B, Pennacchio LA, Fruchart JC. Mechanism of triglyceride lowering in mice expressing human apolipoprotein A5. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;319:397-404.
- Goldstein LB, Adams R, Becker K, Furberg CD, Gorelick PB, Hademenos G, Hill M, Howard G, Howard VJ, Jacobs B, Levine SR, Mosca L, Sacco RL, Sherman DG, Wolf PA, del Zoppo GJ. Primary prevention of ischemic stroke: A statement for healthcare professionals from the Stroke Council of the American Heart Association. *Stroke*. 2001;32:280-299.

Grallert H, Sedlmeier EM, Huth C, Kolz M, Heid IM, Meisinger C, Herder C, Strassburger K, Gehringer A, Haak M, Giani G, Kronenberg F, Wichmann HE, Adamski J, Paulweber B, Illig T, Rathmann W. APOA5 variants and metabolic syndrome in Caucasians. *J Lipid Res.* 2007;48:2614-2621.

Graeber MB, Müller U. Recent developments in the molecular genetics of mitochondrial disorders. *J Neurol Sci.* 1998;153:251-263.

Green F, Kelleher C, Wilkes H, Temple A, Meade T, Humphries S. A common genetic polymorphism associated with lower coagulation factor VII levels in healthy individuals. *Arterioscler Thromb.* 1991;11:540-546.

Groenendijk M, Cantor RM, De Bruin TW, Dallinga-Thie GM. The apoAI-CIII-AIV gene cluster. *Atherosclerosis* 2001;157:1-11.

Hallman DM, Srinivasan SR, Chen W, Boerwinkle E, Berenson GS. Longitudinal analysis of haplotypes and polymorphisms of the APOA5 and APOC3 genes associated with variation in serum triglyceride levels: the Bogalusa Heart Study. *Metabolism* 2006;55:1574-1581.

Hankey GJ, Eikelboom JW, van Bockxmeer FM, Lofthouse E, Staples N, Baker RI. Inherited thrombophilia in ischemic stroke and its pathogenic subtypes. *Stroke.* 2001;32:1793-1799.

Hassan A, Markus HS. Genetics and ischaemic stroke. *Brain* 2000;123(Pt 9):1784-1812.

Heywood DM, Carter AM, Catto AJ, Bamford JM, Grant PJ. Polymorphisms of the factor VII gene and circulating FVII:C levels in relation to acute cerebrovascular disease and poststroke mortality. *Stroke.* 1997;28:816-821.

Hodoglugil U, Tanyolaç S, Williamson DW, Huang Y, Mahley RW. Apolipoprotein A-V: a potential modulator of plasma triglyceride levels in Turks. *J Lipid Res.* 2006;47:144-153.

Hubacek JA, Skodova Z, Adamkova V, Lanska V, Poledne R. The influence of APOAV polymorphisms (T-1131>C and S19>W) on plasma triglyceride levels and risk of myocardial infarction. *Clin Genet* 2004;65:126-130.

Hubacek JA. Apolipoprotein A5 and triglyceridemia. Focus on the effects of the common variants. *Clin Chem Lab Med.* 2005;43:897-902.

Huang P, Kostulas K, Huang WX, Crisby M, Kostulas V, Hillert J. Lipoprotein lipase gene polymorphisms in ischaemic stroke and carotid stenosis. *Eur J Clin Invest.* 1997;27:740-742.

Ishihara M, Kujiraoka T, Iwasaki T, Nagano M, Takano M, Ishii J, Tsuji M, Ide H, Miller IP, Miller NE, Hattori H. A sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for human plasma apolipoprotein A-V concentration. *J Lipid Res.* 2005;46:2015-2022.

- Joy T, Lahiry P, Pollex RL, Hegele RA. Genetics of metabolic syndrome. *Curr Diab Rep.* 2008;8:141-148.
- Juul K, Tybjaerg-Hansen A, Steffensen R, Kofoed S, Jensen G, Nordestgaard BG. Factor V Leiden: the Copenhagen City Heart Study and 2 meta-analyses. *Blood.* 2002;100:3-10.
- Keli S, Bloemberg B, Kromhout D. Predictive value of repeated systolic blood pressure measurements for stroke risk. The Zutphen Study. *Stroke.* 1992;23:347-351.
- Kessler C, Spitzer C, Stauske D, Mende S, Stadlmüller J, Walther R, Rettig R. The apolipoprotein E and beta-fibrinogen G/A-455 gene polymorphisms are associated with ischemic stroke involving large-vessel disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:2880-2884.
- Kostulas K, Crisby M, Huang WX, Lannfelt L, Hagenfeldt L, Eggertsen G, Kostulas V, Hillert J. A methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in ischaemic stroke and in carotid artery stenosis. *Eur J Clin Invest.* 1998;28:285-289.
- Kozak M. An analysis of 5'-noncoding sequences from 699 vertebrate messenger RNAs. *Nucleic Acids Res.* 1987;15:8125-8148.
- Klos KL, Hamon S, Clark AG, Boerwinkle E, Liu K, Sing CF. APOA5 polymorphisms influence plasma triglycerides in young, healthy African Americans and whites of the CARDIA Study. *J Lipid Res.* 2005;46:564-571.
- Kluger M, Heeren J, Merkel M. Apoprotein A-V: An important regulator of triglyceride metabolism. *J Inherit Metab Dis.* 2008 közlés alatt
- Lai CQ, Tai ES, Tan CE, Cutter J, Chew SK, Zhu YP, Adiconis X, Ordovas JM. The APOA5 locus is a strong determinant of plasma triglyceride concentrations across ethnic groups in Singapore. *J Lipid Res* 2003;44:2365-2373.
- Lai CQ, Demissie S, Cupples LA, Zhu Y, Adiconis X, Parnell LD, Corella D, Ordovas JM. Influence of the APOA5 locus on plasma triglyceride, lipoprotein subclasses, and CVD risk in the Framingham Heart Study. *J Lipid Res* 2004;45:2096-2105.
- Li WW, Dammerman MM, Smith JD, Metzger S, Breslow JL, Leff T. Common genetic variation in the promoter of the human apo CIII gene abolishes regulation by insulin and may contribute to hypertriglyceridemia. *J Clin Invest.* 1995;96:2601-2605.
- Lipska K, Sylaja PN, Sarma SP, Kutty VR, Thankappan KR, Vasan RS, Radhakrishnan K. Risk factors for acute ischaemic stroke in young adults in South India. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007;78:959-963.
- Liu H, Zhang S, Lin J, Li H, Huang A, Xiao C, Li X, Su Z, Wang C, Nebert DW, Zhou B, Zheng K, Shi J, Li G, Huang D. Association between DNA variant sites in the apolipoprotein A5 gene and coronary heart disease in Chinese. *Metabolism* 2005;54:568-572.

- Lookene A, Beckstead JA, Nilsson S, Olivecrona G, Ryan RO. Apolipoprotein A-V-heparin interactions: implications for plasma lipoprotein metabolism. *J Biol Chem.* 2005;280:25383-25387.
- Maasz A, Kisfali P, Horvatovich K, Mohas M, Marko L, Csongei V, Farago B, Jaromi L, Magyari L, Safrany E, Sipeky C, Wittmann I, Melegh B. Apolipoprotein A5 T-1131C variant confers risk for metabolic syndrome. *Pathol Oncol Res.* 2007;13:243-247.
- MacLeod MJ, Dahiyat MT, Cumming A, Meiklejohn D, Shaw D, St Clair D. No association between Glu/Asp polymorphism of NOS3 gene and ischemic stroke. *Neurology.* 1999;53:418-420.
- MacLeod MJ, De Lange RP, Breen G, Meiklejohn D, Lemmon H, Clair DS. Lack of association between apolipoprotein E genotype and ischaemic stroke in a Scottish population. *Eur J Clin Invest.* 2001;31:570-573.
- Mahley RW, Innerarity TL, Rall SC Jr, Weisgraber KH. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *J Lipid Res.* 1984;25:1277-1294.
- 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;26:1329-1333.
- Markus HS, Zhang Y, Jeffery S. Screening for the factor-V Arg 506 Gln mutation in patients with TIA and stroke. *Cerebrovasc Dis.* 1996;6:360-362.
- Markus HS, Ali N, Swaminathan R, Sankaralingam A, Molloy J, Powell J. A common polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene, homocysteine, and ischemic cerebrovascular disease. *Stroke.* 1997;28:1739-1743.
- Martin S, Nicaud V, Humphries SE, Talmud PJ; EARS group. Contribution of APOA5 gene variants to plasma triglyceride determination and to the response to both fat and glucose tolerance challenges. *Biochim Biophys Acta* 2003;1637:217-225.
- Martinelli I, Franchi F, Akwan S, Bettini P, Merati G, Mannucci PM. The transition G to A at position 20210 in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is not associated with cerebral ischemia [letter]. *Blood.* 1997;90:3806.
- Martinelli N, Trabetti E, Bassi A, Girelli D, Friso S, Pizzolo F, Sandri M, Malerba G, Pignatti PF, Corrocher R, Olivieri O. The -1131 T>C and S19W APOA5 gene polymorphisms are associated with high levels of triglycerides and apolipoprotein C-III, but not with coronary artery disease: an angiographic study. *Atherosclerosis* 2007;191:409-417.
- Madhumita S, Muppala MR, Castaldo JE, Gee W, Reed JF, Morris DJ. The impact of cardiac index on cerebral haemodynamics. *Stroke* 1993;24:1686-1690.
- Madkour O. Transient ischemic attacks. electrophysiological (conventional and topographic EEG) and radiological (CCT) evaluation. *J Neurol Sciences* 1993;119:8-17.

Marçais C, Verges B, Charrière S, Pruneta V, Merlin M, Billon S, Perrot L, Drai J, Sassolas A, Pennacchio LA, Fruchart-Najib J, Fruchart JC, Durlach V, Moulin P. ApoA5 Q139X truncation predisposes to late-onset hyperchylomicronemia due to lipoprotein lipase impairment. *J Clin Invest*. 2005;115:2862-2869.

Matsunaga A, Arishima H, Niimura H, Zhang B, Uehara Y, Ohwaki K, Morita M, Hayashida K, Saku K. Strong linkage disequilibrium and association of -1131T>C and c.553G>T polymorphisms of the apolipoprotein A5 gene with hypertriglyceridemia in a Japanese population. *Circ J* 2007;71(5):746-52.

Merkel M, Heeren J. Give me A5 for lipoprotein hydrolysis! *J Clin Invest* 2005;115:2694-2696. (Merkel 2005/1)

Merkel M, Loeffler B, Kluger M, Fabig N, Geppert G, Pennacchio LA, Laatsch A, Heeren J. Apolipoprotein AV accelerates plasma hydrolysis of triglyceride-rich lipoproteins by interaction with proteoglycan-bound lipoprotein lipase. *J Biol Chem* 2005;280:21553-21560. (Merkel 2005/2)

Miller S. A., Dykes D. D., and Polesky H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16:1215–1218.

Morrisett JD, Jackson RL, Gotto AM Jr. Lipoproteins: structure and function. *Annu Rev Biochem*. 1975;44:183-207.

Moossy J. Pathology of cerebral atherosclerosis. Influence of age, race, and gender. *Stroke* 1993;24[suppl. I]:I-22-I-23.

Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 1997;349:1436-1442.

Myant NB. Cholesterol transport through the plasma. *Clin Sci (Lond)*. 1982;62:261-71.

Nabika T, Nasreen S, Kobayashi S, Masuda J. The genetic effect of the apoprotein AV gene on the serum triglyceride level in Japanese. *Atherosclerosis* 2002;165:201-204.

Norris JW, Zhu CZ. Stroke risk and critical carotid stenosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1990;53:235-237.

O'Brien PJ, Alborn WE, Sloan JH, Ulmer M, Boodhoo A, Knierman MD, Schultze AE, Konrad RJ. The novel apolipoprotein A5 is present in human serum, is associated with VLDL, HDL, and chylomicrons, and circulates at very low concentrations compared with other apolipoproteins. *Clin Chem*. 2005;51:351-359.

O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK, Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999;340:14-22.

- Olivier M, Wang X, Cole R, Gau B, Kim J, Rubin EM, Pennacchio LA. Haplotype analysis of the apolipoprotein gene cluster on human chromosome 11. *Genomics* 2004;83:912-923.
- Olivieri O, Bassi A, Stranieri C, Trabetti E, Martinelli N, Pizzolo F, Girelli D, Friso S, Pignatti PF, Corrocher R. Apolipoprotein C-III, metabolic syndrome, and risk of coronary artery disease. *J Lipid Res.* 2003;44:2374-2381.
- Packard CJ, Demant T, Stewart JP, Bedford D, Caslake MJ, Schwertfeger G, Bedynek A, Shepherd J, Seidel D. Apolipoprotein B metabolism and the distribution of VLDL and LDL subfractions. *J Lipid Res.* 2000;41:305-18.
- Payseur BA, Clark AG, Hixson J, Boerwinkle E, Sing CF. Contrasting multi-site genotypic distributions among discordant quantitative phenotypes: the APOA1/C3/A4/A5 gene cluster and cardiovascular disease risk factors. *Genet Epidemiol.* 2006;30:508-518.
- Pedro-Botet J, Sentí M, Nogués X, Rubiés-Prat J, Roquer J, D'Olhaberriague L, Olivé J. Lipoprotein and apolipoprotein profile in men with ischemic stroke. Role of lipoprotein(a), triglyceride-rich lipoproteins, and apolipoprotein E polymorphism. *Stroke.* 1992;23:1556-1562.
- Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, Cohen JC, Cox DR, Fruchart JC, Krauss RM, Rubin EM. An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. *Science* 2001;294:169-173.
- Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, Krauss RM, Rubin EM, Cohen JC. Two independent apolipoprotein A5 haplotypes influence human plasma triglyceride levels. *Hum Mol Genet* 2002;11:3031-3038.
- Pennacchio LA, Rubin EM: Apolipoprotein A5, a newly identified gene that affects plasma triglyceride levels in humans and mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:529-534.
- Pfohl M, Fetter M, Koch M, Barth CM, Rudiger W, Haring HU. Association between angiotensin I-converting enzyme genotypes, extracranial artery stenosis, and stroke. *Atherosclerosis.* 1998;140:161-166.
- Poungvarin N. Stroke in the developing world. *Lancet.* 1998;352(Suppl 3:SIII)19-22.
- Prabhakaran S, Rundek T, Ramas R, Elkind MS, Paik MC, Boden-Albala B, Sacco RL. Carotid plaque surface irregularity predicts ischemic stroke: the northern Manhattan study. *Stroke.* 2006;37:2696-2701.
- Predictors of major vascular events in patients with a transient ischemic attack or non disabling stroke. The Dutch TIA Trial Study Group. *Stroke* 1993;24:527-531.
- Prieur X, Coste H, Rodriguez JC. The human apolipoprotein AV gene is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and contains a novel farnesoid X-activated receptor response element. *J Biol Chem* 2003;278:25468-25480.

Priore Oliva C, Pisciotta L, Li Volti G, Sambataro MP, Cantafora A, Bellocchio A, Catapano A, Tarugi P, Bertolini S, Calandra S. Inherited apolipoprotein A-V deficiency in severe hypertriglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:411-417.

Priore Oliva C, Tarugi P, Calandra S, Pisciotta L, Bellocchio A, Bertolini S, Guardamagna O, Schaap FG. A novel sequence variant in APOA5 gene found in patients with severe hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis.* 2006;188:215-217.

Rao R, Tah V, Casas JP, Hingorani A, Whittaker J, Smeeth L, Sharma P. Ischaemic Stroke Subtypes and Their Genetic Basis: A Comprehensive Meta-Analysis of Small and Large Vessel Stroke. *Eur Neurol.* 2008;61:76-86.

Reiner AP, Frank MB, Schwartz SM, Linenberger ML, Longstreth WT, Teramura G, Rosendaal FR, Psaty BM, Siscovick DS. Coagulation factor XIII polymorphisms and the risk of myocardial infarction and ischaemic stroke in young women. *Br J Haematol.* 2002;116:376-382.

Reuner KH, Ruf A, Grau A, Rickmann H, Stolz E, Jüttler E, Druschky KF, Patscheke H. Prothrombin gene G20210→A transition is a risk factor for cerebral venous thrombosis. *Stroke.* 1998;29:1765-1769. (Reuner 1998/1)

Reuner KH, Ruf A, Kaps M, Druschky KF, Patscheke H. The mutation C677→T in the methylene tetrahydrofolate reductase gene and stroke. *Thromb Haemost.* 1998;79:450-451. (Reuner 1998/2)

Rinkel GJE, Gijn J, Wijdicks EFM. Subarachnoid haemorrhage without detectable aneurysm. A review of the causes. *Stroke* 1993;24:1403-1409.

Robinson DS. Plasma triglyceride metabolism. *J Clin Pathol Suppl (Assoc Clin Pathol).* 1973;5:5-10.

Rubattu S, Di Angelantonio E, Stanzione R, Zanda B, Evangelista A, Pirisi A, De Paolis P, Cota L, Brunetti E, Volpe M. Gene polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone system and the risk of ischemic stroke: a role of the A1166C/AT1 gene variant. *J Hypertens.* 2004;22:2129-2134.

Ruiz-Narvaez EA, Yang Y, Nakanishi Y, Kirchdorfer J, Campos H. APOC3/A5 haplotypes, lipid levels, and risk of myocardial infarction in the Central Valley of Costa Rica. *J Lipid Res* 2005;46:2605-2613.

Sacco RL, Benjamin EJ, Broderick JP, Dyken M, Easton JD, Feinberg WM, Goldstein LB, Gorelick PB, Howard G, Kittner SJ, Manolio TA, Whisnant JP, Wolf PA. American Heart Association Prevention Conference. IV. Prevention and Rehabilitation of Stroke. Risk factors. *Stroke.* 1997;28:1507-1517.

Schaap FG, Rensen PC, Voshol PJ, Vrans C, van der Vliet HN, Chamuleau RA, Havekes LM, Groen AK, van Dijk KW. ApoAV reduces plasma triglycerides by inhibiting very low density lipoprotein-triglyceride (VLDL-TG) production and

stimulating lipoprotein lipase-mediated VLDL-TG hydrolysis. *J Biol Chem* 2004; 279: 27941-27947.

Schaefer JR, Sattler AM, Hackler B, Kurt B, Hackler R, Maisch B, Soufi M. Hyperlipidemia in patients with apolipoprotein E 2/2 phenotype: apolipoprotein A5 S19W mutation as a cofactor. *Clin Chem*. 2004;50:2214.

Schaefer EJ, Eisenberg S, Levy RI. Lipoprotein apoprotein metabolism. *J Lipid Res*. 1978;19:667-87.

Scott J. The human apolipoprotein genes. *Oxf Surv Eukaryot Genes*. 1987;4:168-197.

Sharma P. Meta-analysis of the ACE gene in ischaemic stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;64:227-230.

Shoulders CC, Jones EL, Naoumova RP. Genetics of familial combined hyperlipidemia and risk of coronary heart disease. *Hum Mol Genet*. 2004;13 Spec No 1:R149-60.

Smith LC, Pownall HJ, Gotto AM Jr. The plasma lipoproteins: structure and metabolism. *Annu Rev Biochem*. 1978;47:751-7.

Szalai C, Keszei M, Duba J, Prohászka Z, Kozma GT, Császár A, Balogh S, Almássy Z, Fust G, Czinner A. Polymorphism in the promoter region of the apolipoprotein A5 gene is associated with an increased susceptibility for coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2004;173:109-114.

Szolnoki Z, Somogyvari F, Kondacs A, Szabo M, Fodor L. Evaluation of the interactions of common genetic mutations in stroke subtypes. *J Neurol*. 2002;249:1391-1397.

Szolnoki Z, Havasi V, Talián G, Bene J, Komlósi K, Somogyvári F, Kondacs A, Szabó M, Fodor L, Bodor A, Melegh B. Angiotensin II type-1 receptor A1166C polymorphism is associated with increased risk of ischemic stroke in hypertensive smokers. *J Mol Neurosci*. 2006;28:285-290. (Szolnoki 2006/1)

Szolnoki Z, Somogyvári F, Szabó M, Kondacs A, Fodor L, Melegh B. A metiléntetrahydrofolsav-reduktáz gén C677T- és A1298C mutációinak interakciója ischémiás stroke-ban. *Ideggyogy Sz*. 2006;59:107-112. (Szolnoki 2006/2)

Szolnoki Z, Maasz A, Magyar L, Horvatovich K, Farago B, Somogyvari F, Kondacs A, Szabo M, Bodor A, Hadarits F, Melegh B. The combination of homozygous MTHFR 677T and angiotensin II type-1 receptor 1166C variants confers the risk of small-vessel-associated ischemic stroke. *J Mol Neurosci*. 2007;31:201-207.

Tai ES, Ordovas JM. Clinical significance of apolipoprotein A5. *Curr Opin Lipidol*. 2008;19:349-354.

Tall AR, Small DM. Body cholesterol removal: role of plasma high-density lipoproteins. *Adv Lipid Res*. 1980;17:1-51.

Talmud PJ, Hawe E, Martin S, Olivier M, Miller GJ, Rubin EM, Pennacchio LA, Humphries SE. Relative contribution of variation within the APOC3/A4/A5 gene cluster in determining plasma triglycerides. *Hum Mol Genet* 2002;11:3039-3046.

Talmud PJ, Martin S, Taskinen MR, Frick MH, Nieminen MS, Kesäniemi YA, Pasternack A, Humphries SE, Syväne M. APOA5 gene variants, lipoprotein particle distribution, and progression of coronary heart disease: results from the LOCAT study. *J Lipid Res*. 2004;45:750-756.

Talmud PJ, Palmen J, Putt W, Lins L, Humphries SE. Determination of the functionality of common APOA5 polymorphisms. *J Biol Chem*. 2005;280:28215-28220.

Talmud PJ. Rare APOA5 mutations--clinical consequences, metabolic and functional effects: an ENID review. *Atherosclerosis*. 2007;194:287-292.

Tan MH. The lipoprotein lipase system: new understandings. *Can Med Assoc J*. 1978;118:675-80.

The International HapMap Consortium. The International HapMap Project. *Nature* 2003;426:789-796.

Toole JF. *Cerebrovascular Disorders*. New York, Raven Press, 1986

Touboul PJ, Labreuche J, Vicaud E, Amarenco P; GENIC Investigators. Carotid intima-media thickness, plaques, and Framingham risk score as independent determinants of stroke risk. *Stroke*. 2005;36:1741-1745.

Truscott BL. WHO on stroke. *Ann Intern Med*. 1972;76:139-40.

Tuomilehto J, Rastenyte D, Jousilahti P, Sarti C, Vartiainen E. Diabetes mellitus as a risk factor for death from stroke. Prospective study of the middle-aged Finnish population. *Stroke*. 1996;27:210-215.

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;13:1597-1601.

van der Vleuten GM, Isaacs A, Zeng WW, ter Avest E, Talmud PJ, Dallinga-Thie GM, van Duijn CM, Stalenhoef AF, de Graaf J. Haplotype analyses of the APOA5 gene in patients with familial combined hyperlipidemia. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1772:81-88.

van der Vliet HN, Sammels MG, Leegwater AC, Levels JH, Reitsma PH, Boers W, Chamuleau RA. Apolipoprotein A-V: a novel apolipoprotein associated with an early phase of liver regeneration. *J Biol Chem*. 2001;276:44512-44520.

Vu-Dac N, Gervois P, Jakel H, Nowak M, Bauge E, Dehondt H, Staels B, Pennacchio LA, Rubin EM, Fruchart-Najib J, Fruchart JC. Apolipoprotein A5, a crucial determinant

of plasma triglyceride levels, is highly responsive to peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators. *J Biol Chem.* 2003;278:17982-17985.

Walt G. WHO's World Health Report 2003. *BMJ* 2004;328:6.

Wang Q, Liu X, O'Connell J, Peng Z, Krauss RM, Rainwater DL, VandeBerg JL, Rubin EM, Cheng JF, Pennachio LA. Haplotypes in the APOA1-C3-A4-A5 gene cluster affect plasma lipids in both humans and baboons. *Hum Mol Genet* 2004;13:1049-1056.

Wang XL, Sim AS, Badenhop RF, McCredie RM, Wilcken DE. A smoking-dependent risk of coronary artery disease associated with a polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene. *Nat Med.* 1996;2:41-45.

Waterworth DM, Hubacek JA, Pitha J, Kovar J, Poledne R, Humphries SE, Talmud PJ. Plasma levels of remnant particles are determined in part by variation in the APOC3 gene insulin response element and the APOCI-APOE cluster. *J Lipid Res.* 2000;41:1103-1109.

Weinberg RB, Cook VR, Beckstead JA, Martin DD, Gallagher JW, Shelness GS, Ryan RO. Structure and interfacial properties of human apolipoprotein A-V. *J Biol Chem.* 2003;278:34438-34444.

Whelton PK. Epidemiology of hypertension. *Lancet.* 1994;344:101-106.

Wittrup HH, Nordestgaard BG, Sillesen H, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. A common mutation in lipoprotein lipase confers a 2-fold increase in risk of ischemic cerebrovascular disease in women but not in men. *Circulation.* 2000;101:2393-2397.

Wright WT, Young IS, Nicholls DP, Patterson C, Lyttle K, Graham CA. SNPs at the APOA5 gene account for the strong association with hypertriglyceridaemia at the APOA5/A4/C3/A1 locus on chromosome 11q23 in the Northern Irish population. *Atherosclerosis.* 2005;185:353-360.

Yamada Y, Kato K, Hibino T, Yokoi K, Matsuo H, Segawa T, Watanabe S, Ichihara S, Yoshida H, Satoh K, Nozawa Y. Prediction of genetic risk for metabolic syndrome. *Atherosclerosis.* 2007;191:298-304.

Yan SK, Cheng XQ, Song YH, Xiao XH, Bi N, Chen BS. Apolipoprotein A5 gene polymorphism -1131T-->C: association with plasma lipids and type 2 diabetes mellitus with coronary heart disease in Chinese. *Clin Chem Lab Med* 2005;43:607-612.

Zee RY, Ridker PM, Stampfer MJ, Hennekens CH, Lindpaintner K. Prospective evaluation of the angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and the risk of stroke. *Circulation.* 1999;99:340-343.

10. KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

A dolgozat alapjául szolgáló eredeti közlemények

1. Havasi V, Szolnoki Z, Talian GC, Bene J, Komlosi K, **Maasz A**, Somogyvari F, Kondacs A, Szabo M, Fodor L, Bodor A, Melegh B. Apolipoprotein A5 gene promóter region T-1131C polymorphism associates with elevated circulating triglyceride levels and confers susceptibility for development of ischemic stroke. J Mol Neurosci. 2006;29(2):177-183.

Impakt Faktor: 2,965 (2006)

2. Szolnoki Z, **Maasz A**, Magyar L, Horvatovich K, Farago B, Somogyvari F, Kondacs A, Szabo M, Fodor L, Bodor A, Hadarits F, Melegh B. Coexistence of angiotensin II type 1 receptor A1166C and angiotensin-converting enzyme D/D polymorphism represents susceptibility for small vessel associated ischaemic stroke. Neuromolecular Med. 2006;8(3):353-360.

Impakt Faktor: 3,396 (2006)

3. **Maasz A**, Kisfali P, Szolnoki Z, Hadarits F, Melegh B. Apolipoprotein A5 gene C56G variant confers risk for the development of large-vessel associated ischemic stroke. J Neurol. 2008;255(5):649-54.

Impakt Faktor: 2,536 (2008)

4. **Maasz A**, Kisfali P, Horvatovich K, Szolnoki Z, Csongei V, Jaromi L, Safrany E, Sipeky C, Hadarits F, Melegh B. Apolipoprotein A5 gene IVS3+G476A allelic variant confers susceptibility for development of ischemic stroke. Circ J. 2008;72(7):1065-70.

Impakt Faktor: 2,387 (2008)

Egyéb közlemények

1. Putnoky P, Deak V, Bekasi K, Palvolgyi A, **Maasz A**, Palagyi Z, Hoffmann G, Kerepesi I. H protein of bacteriophage 16-3 and RkpM protein of *Sinorhizobium meliloti* 41 are involved in phage adsorption. *J Bacteriol.* 2004,186(6):1591-1597.
Impakt Faktor: 4,146 (2004)
2. Komlosi K, Kellermayer R, **Maasz A**, Havasi V, Hollody K, Vincze O, Merkli H, Pal E, Melegh B. Maternally inherited deafness and unusual phenotypic manifestations associated with A3243G mitochondrial DNA mutation. *Pathol Oncol Res.* 2005;11(2):82-86.
Impakt Faktor: 1,162 (2005)
3. **Maász A**, Horvatovich K, Magyar L, Talián C G, Bokor S, Laczy B, Tamaskó M, Molnár D, Wittmann I, Melegh B. Search for mitochondrial DNA T4291C mutation in Hungarian patients with metabolic syndrome. *Orv Hetil.* 2006;147(15):693-696.
4. **Maász A**, Melegh B. A mitokondriális DNS és mutációi. *Gyermekorvos Továbbképzés.* 2006,5(5):324-330.
5. **Maasz A**, Kisfali P, Horvatovich K, Mohas M, Marko L, Csongei V, Farago B, Jaromi L, Magyar L, Safrany E, Sipeky C, Wittmann I, Melegh B. Apolipoprotein A5 T-1131C variant confers risk for metabolic syndrome. *Pathol Oncol Res.* 2007;13(3):243-247.
Impakt Faktor: 1,272 (2007)
6. Szolnoki Z, **Maasz A**, Magyar L, Horvatovich K, Farago B, Somogyvari F, Kondacs A, Szabo M, Bodor A, Hadarits F, Melegh B. The combination of homozygous MTHFR 677T and angiotensin II type-1 receptor 1166C variants confers the risk of small-vessel-associated ischemic stroke. *J Mol Neurosci.* 2007;31(3):201-207.
Impakt Faktor: 1,735 (2007)
7. Sáfrány E, Csöngéi V, Járomi L, **Maász A**, Magyar L, Sipeky C, Melegh B. Mitochondrial DNA and its mutations: new advances in a new field. *Orv Hetil.* 2007; 148(21):971-978.

8. Farago B, Talian GC, **Maasz A**, Magyar L, Horvatovich K, Kovacs B, Cserep V, Kiszfali P, Kiss CG, Czirjak L, Melegh B. Prevalence of functional haplotypes of the peptidylarginine deiminase/citrullinating enzyme gene in patients with rheumatoid arthritis: no influence of the presence of anti-citrullinated peptide antibodies. Clin Exp Rheumatol. 2007;25(4):523-528.

Impakt Faktor: 2,270 (2007)

9. Kiszfali P, Mohas M, **Maasz A**, Hadarits F, Marko L, Horvatovich K, Oroszlan T, Bagosi Z, Bujtor Z, Gasztonyi B, Wittmann I, Melegh B. Apolipoprotein A5 IVS3+476A allele confers risk for metabolic syndrome. Circ J. 2008;72(1):40-43.

Impakt Faktor: 2,387 (2007)

10. Farago B, Magyar L, Safrany E, Csongei V, Jaromi L, Horvatovich K, Sipeky C, **Maasz A**, Radics J, Gyetvai A, Szekanecz Z, Czirjak L, Melegh B. Functional variants of interleukin-23 receptor gene confer risk for rheumatoid arthritis but not for systemic sclerosis. Ann Rheum Dis. 2008;67(2):248-250.

Impakt Faktor: 7,188 (2008)

11. **Maasz A**, Komlosi K, Hadzsiev K, Szabo Z, Willems PJ, Gerlinger I, Kosztolanyi G, Mehes K, Melegh B. Phenotypic variants of the deafness-associated mitochondrial DNA A7445G mutation. Curr Med Chem. 2008;15(13):1257-62.

Impakt Faktor: 4,823 (2008)

12. Szolnoki Z, **Maasz A**, Magyar L, Horvatovich K, Farago B, Kondacs A, Bodor A, Hadarits F, Orosz P, Ille A, Melegh B. Galectin-2 3279TT variant protects against the lymphotoxin-alpha 252GG genotype associated ischaemic stroke. Clin Neurol Neurosurg. 2009;111(3):227-30.

Impakt Faktor: 1,323 (2008)

13. Kiszfali P, Mohas M, **Maasz A**, Hadarits F, Marko L, Késői L, Horvatovich K, Oroszlan T, Bagosi Z, Bujtor Z, Rinfel J, Gasztonyi B, Wittmann I, Melegh B. Haplotype analysis of the apolipoprotein A5 gene in patients with metabolic syndrome. Nutr Metab Card Dis, 2009 közlés alatt *Impakt Faktor: 3,565 (2008)*

Összesített impakt faktor (idézhető absztraktok nélkül): 41,155

Idézhető absztraktok

1. Horvatovich KZ, Magyarai L, **Maasz A**, Talian GC, Tamasko M, Laczy B, Wittmann I, Melegh B. Search for mitochondrial DNA T4291C mutation in Hungarian metabolic syndrome patients. *Eur J Hum Genet*, 2005;13(S1):279.
2. **Maasz A**, Komlosi K, Hadzsiev K, Kellermayer R, Havasi V, Szabo Z, Melegh B. Novel variant of the mitochondrial DNA A7445G mutation in a Hungarian pedigree. *Eur J Hum Genet*, 2006; 14(S1):264.
3. Horvatovich K, Magyarai L, **Maasz A**, Farago B, Laczy B, Marko L, Wittmann I, Melegh B. Association between ApoA5 T-1131C mutation and triglyceride level in Hungarian patients with metabolic syndrome and diabetes mellitus. *Eur J Hum Genet*, 2006;14(S1):236.
4. Talian GC, Horvatovich K, **Maasz A**, Magyarai L, Illes T, Melegh B. New polymorphisms in the filamin B gene: novel candidates for causing disease? *Eur J Hum Genet*, 2006;14(S1):250.
5. Havasi V, Szolnoki Z, Talian GC, Bene J, Komlosi K, **Maasz A**, Somogyvari F, Kondacs A, Szabo M, Fodor L, Bodor A, Melegh B. Apolipoprotein A5 gene promoter T-1131C polymorphism associates with elevated triglyceride levels and confers susceptibility for ischemic stroke. *Eur J Hum Genet*, 2006;14(S1):285.
6. Farago B, Talian GC, **Maasz A**, Magyarai L, Horvatovich K, Kovacs B, Cserep V, Kisfali P, Kiss C, Melegh B. Padi4_89*G/A, padi4_90*T/C and padi4_92*G/C SNPs in the gene of the peptidylarginine deiminase citrullinating enzyme type 4 (PADI4) are not associated with rheumatoid arthritis in Hungarian patients. *Eur J Hum Genet*, 2006;14(S1):326.
7. Horvatovich K, Magyarai L, **Maasz A**, Faragó B, Laczy B, Markó L, Wittmann I, Melegh B. ApoA5 T-1131C mutáció és trigliceridszint közötti összefüggés vizsgálata metabolikus szindrómában és II. típusú diabetes mellitusban szenvedő betegcsoportban. *Klin Kísérl Lab Med* 2006;(S32):69.

8. Talián CsG, Havasi V, Szolnoki Z, Bene J, Komlósi K, **Maász A**, Somogyvári F, Kondacs A, Szabó M, Fodor L, Bodor A, Melegh B. Apolipoprotein A5 gén T-1131C polimorfizmus társulása emelkedett triglicerid szinttel és az ischaemiás agyvérzéssel. *Klin Kísérl Lab Med* 2006;(S32):70.
9. Faragó B, Talián CsG, **Maász A**, Magyarai L, Horvatovich K, Kovács B, Cserép V, Kisfali P, Kiss Cs, Czirják L, Melegh B. A peptidilarginin deimináz enzimet kódoló gén funkcionális haplotípusainak gyakorisága rheumatoid arthritis betegekben. *Klin Kísérl Lab Med* 2006;(S32):101.
10. Farago B, Magyarai L, Csongei V, Jaromi L, Safrany E, Horvatovich K, Sipeky C, **Maasz A**, Radics J, Czirjak L, Melegh B. Interleukin 23 receptor 3'-utr c2370a snp confers risk for rheumatoid arthritis. *Eur J Hum Genet*, 2007;15(S1):256-257.
11. Kisfali P, Horvatovich K, Mohas M, **Maasz A**, Marko L, Csongei V, Farago B, Jaromi L, Magyarai L, Safrany E, Sipeky C, Wittmann I, Melegh B. Common allelic variants of APOA5 gene in the metabolic syndrome. *Eur J Hum Genet*, 2007;15(S1):210.
12. Csongei V, Jaromi L, Safrany E, Sipeky C, **Maasz A**, Magyarai L, Horvatovich K, Farago B, Takacs I, Melegh B. Polimorphisms of the MDR1 gene in a Hungarian Roma population sample. *Eur J Hum Genet*, 2007;15(S1):260.
13. Sáfrány E, Farago B, Csongei V, Magyarai L, **Maasz A**, Sipeky C, Jaromi L, Horvatovich K, Radics J, Czirjak L, Melegh B. Interleukin-23 receptor (IL23R) gene C2370A polymorphism in scleroderma patients. *Eur J Hum Genet*, 2007;15(S1):256.
14. Horvatovich K, Magyarai L, **Maasz A**, Kisfali P, Bokor S, Farago B, Csongei V, Jaromi L, Safrany E, Sipeky C, Molnar D, Melegh B. Apolipoprotein A5 T-1131C alleles in pediatric patients with obesity and metabolic syndrome. *Eur J Hum Genet*, 2007;15(S1):178.

15. Járomi L, **Maasz A**, Szolnoki Z, Kisfali P, Horvatovich K, Magyar L, Safrany E, Csöngéi V, Sipeky C, Melegh B. Apolipoprotein A5 gene T1259C polymorphism associated with elevated circulating triglyceride levels but does not confer susceptibility for ischaemic stroke. *Eur J Hum Genet*, 2007;15(S1):235.
16. **Maasz A**, Horvatovich K, Kisfali P, Mohas M, Marko L, Csöngéi V, Farago B, Jaromi L, Magyar L, E Safrany, Sipeky C, Wittmann I, Melegh B. Apolipoprotein A5 T-1131C variant confers risk for metabolic syndrome. *Eur J Hum Genet*, 2007;15(S1):178.
17. Kisfali P, Mohás M, **Maász A**, Hadarits F, Markó L, Késői I, Oroszlán T, Bagosi Z, Bujtor Z, Rinfel J, Gasztonyi B, Wittmann I, Melegh B. Apolipoprotein A5 gene APOA5*2 haplotype variant confers risk for the development of metabolic syndrome. *Eur J Hum Genet*, 2008;16(S2):328.
18. **Maasz A**, Kisfali P, Jaromi L, Szolnoki Z, Hadarits F, Melegh B. Apolipoprotein A5 gene IVS3+G476A allelic variant confers susceptibility for development of ischemic stroke. *Eur J Hum Genet*, 2008;16(S2):293.
19. Sáfrány E, Csöngéi V, Járomi L, Magyar L, **Maász A**, Sipeky C, Zeher M, Melegh B. Interleukin-23 receptor (IL23R) gene polymorphisms in patients with Sjögren syndrome. *Eur J Hum Genet*, 2008;16(S2):349.
20. Sipeky C, Csöngéi V, Faragó B, Horvatovich K, Járomi L, Kisfali P, **Maász A**, Magyar L, Sáfrány E, Takács I, Melegh B. Haplotype profile of vitamin K epoxide reductase (VKORC1) as determinant of warfarin sensitivity in Roma population. *Eur J Hum Genet*, 2008;16(S2):393.

11. MELLÉKLETEK

Az értekezés alapjául szolgáló eredeti közlemények

I.

[Havasi V, Szolnoki Z, Talián G, Bene J, Komlósi K, Maász A, Somogyvári F, Kondacs A, Szabó M, Fodor L, Bodor A, Melegh B. Apolipoprotein A5 gene promoter region T-1131C polymorphism associates with elevated circulating triglyceride levels and confers susceptibility for development of ischemic stroke. J Mol Neurosci. 2006;29(2):177-83.]

II.

[Szolnoki Z, Maasz A, Magyar L, Horvatovich K, Farago B, Somogyvari F, Kondacs A, Szabo M, Fodor L, Bodor A, Hadarits F, Melegh B. Coexistence of angiotensin II type-1 receptor A1166C and angiotensin-converting enzyme D/D polymorphism suggests susceptibility for small-vessel-associated ischemic stroke. *Neuromolecular Med.* 2006;8(3):353-60.]

III.

[Maász A, Kisfali P, Szolnoki Z, Hadarits F, Melegh B. Apolipoprotein A5 gene C56G variant confers risk for the development of large-vessel associated ischemic stroke. J Neurol. 2008 May;255(5):649-54. Epub 2008 Feb 18.]

IV.

[Maasz A, Kisfali P, Jaromi L, Horvatovich K, Szolnoki Z, Csongei V, Safrany E, Sipeky C, Hadarits F, Melegh B. Apolipoprotein A5 Gene IVS3+G476A Allelic Variant Confers Susceptibility for Development of Ischemic Stroke. Circ J. 2008 Jul;72(7):1065-70.]

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A doktori disszertációm alapjául szolgáló kutatómunkát a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karán az Orvosi Genetikai és Gyermekfejlődéstani Intézetben végeztem.

Köszönettel tartozom mindenekelőtt témavezetőmnek, Dr. Melegh Béla Professzor Úrnak, hogy lehetővé tette a Ph.D. programba való bekapcsolódásomat. Szeretnék köszönetet mondani támogatásáért, bizalmáért, munkám irányításáért és bírálataiért.

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Szolnoki Zoltánnak és munkatársainak a terjedelmes beteganyag összegyűjtéséért és a gyümölcsöző kollaborációért.

Köszönet illeti Ph.D. hallgató társaimat, hogy munkámat szakmai tudásukkal és hasznos tanácsaikkal segítették. Külön köszönetemet szeretném kifejezni Kisfali Péternek, aki tapasztalatait és tudását megosztva nagyban hozzájárult az értekezés alapjául szolgáló genetikai vizsgálatok kivitelezéséhez.

Köszönettel tartozom a laboratóriumban dolgozó valamennyi asszisztensnek, különösképpen Papp Editnek és Szegfűné Ózdi Melindának, akik munkájukkal a technikai problémák áthidalásában sok segítséget nyújtottak.

Végül, de nem utolsósorban őszinte hálával tartozom Férjemnek, Szüleimnek és Öcsémnek, amiért szerető gondoskodásukkal és türelmükkel segítettek, bíztattak és mindig mellettem álltak, megteremtve ezzel munkámhoz a harmonikus családi háttérrel.

Az értekezést Édesapám emlékének ajánlom.