

Neurodegeneratív proteinopátiák klinikopatológiai elemzése

Doktori értekezés

Dr. Kapás István

Semmelweis Egyetem
Szentágothai János Idegtudományi Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Kovács Gábor Géza, Ph.D., intézetvezető főorvos

Hivatalos bírálók: Dr. Gunda Bence, Ph.D., egyetemi tanársegéd
Dr. Áfra Judit, Ph.D., főorvos

Szigorlati bizottság elnöke: Prof. Dr. Nagy Zoltán, az MTA doktora, egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Prof. Dr. Kamondi Anita, az MTA doktora, egyetemi tanár
Dr. Fedorcsák Imre, Ph.D., főorvos

Budapest
2015

Tartalomjegyzék

I. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	3
II. BEVEZETÉS	6
II.1. A neurodegeneratív betegségek definíciója és alapvető patomechanizmusai	6
II.2. A neurodegeneratív betegségek osztályozása	11
II.3. Az emberi prionbetegségek definíciója és felosztása	25
II.4. A humán prionbetegségek genetikai háttere	26
II.5. A prionbetegségek epidemiológiája	29
II.6. A prionbetegségek patomechanizmusa	30
II.7. Neuropatológiai jellemzők	32
II.8. Klinikai diagnosztika.....	33
II.9. Sporadikus CJB klinikopatológiai összefoglalása.....	33
II.10. Genetikai és szerzett prionbetegség klinikopatológiai összefoglalása	37
III. CÉLKITŰZÉSEK	41
III.1. A prionbetegségekkel összefüggő differenciáldiagnosztikai problémák elemzése	41
III.2. Az E200K mutációs esetek klinikopatológiai fenotípusainak meghatározása.....	41
III.3. Az E200K mutációs esetekben előforduló proteinopathiák jellemzése	41
III.4. Piroglutamát A- β oligomerek elemzése E200K mutációs esetekben	41
III.5. Heredodegeneratív kórkép etiológiájának tisztázása és karakterizálása	41
IV. MÓDSZEREK	42
IV.1. Retrospektív klinikai adatgyűjtés	42
IV.2. Immunhisztokémiai vizsgálat	45
IV.3. Prion genetikai vizsgálat.....	49
IV.4. Statisztikai leírások.....	49
V. EREDMÉNYEK	50

V.1. A prionbetegségekkel összefüggő differenciáldiagnosztikai problémák elemzése. Pellagra encephalopathia mint a CJB lehetséges differenciáldiagnózisa.....	50
V.2. E200K mutációs esetek klinikopatológiai fenotípusának meghatározása.....	57
V.3. Az E200K mutációs esetek neuropatológiai jellemzése	66
V.4. Piroglutamát A β depozitumok vizsgálata E200K mutációs esetekben.....	72
V.5. Heredodegeneratív kórkép etiológiájának tisztázása és karakterizálása	77
VI. MEGBESZÉLÉS	89
VI.1. A pellagra encephalopathia (PE) mint a sporadikus CJB differenciáldiagnózisa.....	89
VI.2. Az E200K mutációval társuló CJB klinikai fenotípusa	91
VI.3. Az E200K mutációval társuló gCJB: komplex proteinopátiák.....	96
VI.4. Piroglutamát A β depozitumok vizsgálata E200K mutációs esetekben	98
VII. KÖVETKEZTETÉSEK.....	104
VIII. ÖSSZEFOGLALÁS.....	106
IX. SUMMARY	107
X. IRODALOMJEGYZÉK.....	108
XI. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE.....	128
XI.1. A disszertációhoz kapcsolódó közlemények	128
XI.2. A disszertációtól független közlemények	128
XII. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	129

I. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

aFTLD-U	Atypical frontotemporal lobar degeneration with ubiquitinated inclusions (ubiquitin patológiát mutató FTLD úgynevezett atípusos formája)
AGD	Argyrophilic grain disease (argyrophil grain betegség)
AK	Alzheimer kór
ALS	Amyotrophias lateralsclerosis
APP	Amyloid precursor protein
BIBD	Basophilic inclusion body disease (bazofil inklúziós test betegség)
BSE	Bovine spongiform encephalopathy (Szarvasmarhák spongiform encephalopathiája)
bvFTD	A viselkedés zavarával (behavioural variant) járó frontotemporális demencia
CAA	Cerebralis amyloid angiopathia
CBD	Kortikobazális degeneráció
<i>C9ORF72</i>	Chromosome 9 open reading frame 72 gene
CHMP2B	Charged multivesicular body protein 2B gene
CDCA	Chenodeoxycholic acid (kenodeoxikolsav)
CERAD	Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease
CJB	Creutzfeldt-Jakob betegség
CHAMP2B	Charced multivesicular body protein 2B
CTX	Cerebrotendinosus xanthomatosis
DLB	Dementia with Lewy bodies (Lewy testes dementia)
DRPLA	Dentatorubo-pallidoluisian atrophia
DWI	Diffusion weighted imaging (diffúzió súlyozott MRI képalkotó technika)
FFI	Fatal familial insomnia (Örökletes halálos alvásképtelenség)
FIRDA	Frontális intermittáló ritmikus delta aktivitás
FLAIR	Fluid attenuation inversion recovery (MR képalkotásban alkalmazott módszer)

FTD	Frontotemporális demencia
FTD-3	3-as kromoszómához kötött frontotemporális demencia
FTLD	Frontotemporal lobar degeneration (Frontotemporális lebeny degeneráció)
FTLD-FUS,	
FTLD-ni,	A frontotemporális lebeny demencia neuropatológiai altípusai
FTLD-UPS	
FTDP-17T	Frontotemporális demencia és parkinsonizmus a 17-es kromoszómához kötötten
<i>FUS</i>	Fused in sarcoma gén
gCJB	Genetikai CJB
GGT	Globular glial tauopathy
<i>GRN</i>	Progranulin gén
GSSD	Gerstmann-Sträussler-Scheinker betegség
HD	Huntington betegség
iCJB	Iatrogén CJB
IF	Intermediate filaments
<i>MAPT</i>	Mikrotubulus asszociált tau protein génje
MCI	Mild cognitive impairment
MND	Motoneuron betegség
MRS	MR spektroszkópiás vizsgáló eljárás
MSA	Multiszipisztémás atrófia
NFT	Neurofibrilláris kötegek („Tangle”)
NFT-D	Neurofibrillary tangle predominant dementia
NIFID	Neuronal intermediate filament inclusion disease
NSE	Neurospecifikus enoláz
OPCA	Olivopontocerebelláris degeneráció
PD,PiD (PK)	Pick-betegség (Pick’s disease)
PE	Pellagra encephalopathia
9p	Gén lókuszt, amely a familiáris ALS-hez és a FTD-hoz köthető
PHF	Páros helikális filamentum
PK	Parkinson kór (PB: Parkinson betegség)

PNFA	Progresszív nem-fluens afázia
PPA	Primer progresszív afázia
<i>PRNP</i>	Prion protein gén
PS	Preszenilin
PSP	Progresszív szupranukleáris bénulás
PRD	Prionbetegség
PrP ^C	Celluláris prion protein
PrP ^{Res}	Proteáz rezisztens prion protein
PrP ^{Sc}	Scrapie prion protein (scrapie=surlókór, birkák prionbetegsége)
PSWC	Trifázikus periodikus éles hullám
SBMA	Spino-bulbaris muscularis atrophia
SCA	Spinocerebelláris ataxia
sCJB	Sporadikus CJB
SD	Szemantikus demencia
SNCA	Alpha-synucleint kódoló gén
SNpc	Substantia nigra (pars compacta)
TARDBP	Transactive response DNA binding protein, TDP-43 (kDa)
TRD	Trinucleotide repeat betegség (disease)
TSE	Transzmisszibilis spongiform encephalopathia
UPS	Ubiquitin proteasome system (ubiquitin proteasomális rendszer)
vCJB	Variáns CJB
VCP	Valosin containing protein gén
WE	Wernicke encephalopathia

II. BEVEZETÉS

II.1. A neurodegeneratív betegségek definíciója és alapvető patomechanizmusai

A neurodegeneratív betegségek olyan progresszív jellegű neurológiai kórképek, amelyekben a neuronok súlyos működészavara, végül korai és progresszív pusztulása figyelhető meg. Korábbi feltevések szerint a sejtek öregedésével járó folyamata, valamint a neurodegeneratív kórképekben látható „degeneráció” lényegében hasonló alapokra, mechanizmusokra épül. Azonban a modern neuropatológiai vizsgáló módszerek eredményei egyre inkább kétségbe vonják azt, hogy a „szimpla” öregedési folyamat és a sejtek betegségeivel kapcsolatos szerteágazó folyamatok sokasága azonos lenne. Habár ismertek olyan mutációk, amelyek egy adott kórképpel összefüggésbe hozhatók, ez még nem jelenti azt, hogy megértettük a betegség okát, sejszintű mechanizmusait. Egyetlen genetikai eltérés járhat többszörös patológiai eltéréssel és viszont, többszörös genetikai defektus járhat kevés eltérést mutató patológiai fenotípussal (Allan et al., 2009).

A neurodegeneratív betegségek jelentős hányada anatómiai és élettani értelemben azonos rendszerhez tartozó neuron populációt érint. Jellemző tehát neurodegeneratív betegségekre az, hogy anatómiai és/vagy funkcionális értelemben összetartozó egységeket károsítanak. Ez a szelektív vulnerabilitás elve (Dickson et al., 2011). A modern kutatások egyik fontos célja a szelektív vulnerabilitás molekuláris, sejtszintű hátterének feltárása (Double et al., 2010). A patológiai folyamatok végső közös eredménye a neuronok pusztulása. Nem csak a sejttest, hanem a myelinhüvely, a dendritek és az axonok is károsodhatnak a folyamat során. A károsodást szövetségi reakció kíséri. A kórfolyamat kialakításában genetikai, környezeti, endogén, és epigenetikus faktorok is szerepet játszanak.

A neurodegeneratív betegségek jelentősége több szempontból is hangsúlyozandó. Az érintettek -betegek és hozzátartozók- relatíve nagy száma, az elhúzódó lefolyás esetén az egészségügyi és szociális ellátó rendszerre háruló pénzügyi terhek, továbbá a család által elszenvedett pszichés megterhelés legtöbbször jelentős. Tudományos szempontból figyelemre méltó, hogy a neurodegeneratív kórképekkel kapcsolatos kutatások, amelyek a patomechanizmus tisztázására és a terápiás

lehetőségek bővítésére irányulnak, -az erőfeszítések ellenére eddig szerény eredményeket hoztak. A klinikus orvos szinte minden esetben észlel kisebb vagy nagyobb eltérést a konvencionálisnak tartott magatartási normáktól (Allan et al., 2009). A betegség lefolyása során a funkciók egy alacsonyabb szintje alakul ki és a folyamat szinte kivétel nélkül minden esetben progresszív jellegű. Az ide tartozó betegségek közül többnek az esetében a genetikai tényezők jelentősen befolyásolják a betegség kezdetének időpontját, lefolyásának időtartamát és a lefolyás során megfigyelhető progresszió ütemét. A családban több tag is érintett lehet, ilyenkor heredodegeneratív kórképről beszélünk. Gyakori a betegségek sporadikus megjelenése. Előfordulhat, hogy több sporadikus betegség van egy családon belül, amely miatt az heredofamiliáris kórképnek tűnhet.

A neurodegeneratív betegségekre jellemző a klinikai és patológiai értelemben vett sokféleség. E diverzitás ellenére a legtöbb kórkép patomechanizmusában hasonló folyamatok játszanak szerepet.

1) Az egyik igen jelentős folyamat a *sejthalál*, amelynek a következő morfológiai típusai különböztethetők meg a neurodegeneratív betegségekből (Dickson et al, 2011):

a. *Apoptózis*, amely eredetileg lényegében fiziológiás mechanizmus, mivel része a szöveti homeosztázis biztosításának. Morfológiai értelemben a folyamat során citoplazma kitüremkedések jellemzőek, a sejt zsugorodik, a sejtmag membránja körül a kromatin kondenzációja alakul ki. A lebontott sejttösztevők membránokba burkoltan (apoptotikus testek) találhatók a folyamat végén.

b. *Nekrózis*, melynek során a sejt és a sejtorganellumok duzzanata és a membrán károsodása, az intracelluláris tartalom az extracelluláris térbe kerül ki.

c. *Autofágia* során a lebontandó sejtalkotók az endoplazmatikus retikulumból kialakuló vakuolákba kerülnek, majd ezek a lizoszómákkal történő összeolvadást követően emésztődnek, esetleg tárolódnak hosszabb-rövidebb időn át (Kopper L., Schaff Zs., 2004).

2) Ugyancsak a neurodegeneratív betegségek kialakulásának alapvető mechanizmusaihoz tartozik és széles körben fordul elő az *oxidatív károsodás*. A folyamatban páratlan elektront tartalmazó reaktív oxigén keletkezik a celluláris oxidatív

anyagcserében (pl. szuperoxid). Mindez a mitokondriumban történik az oxidatív foszforiláció során. Azok a sejtek, amelyek nem tudnak védekezni az oxidatív stressz ellen, belépnek az apoptózis folyamatába és viszonylag rövid időn belül kialakul a sejthalál. A védekezés módja lehet az oxidációtól védő molekulák megnövekedett expressziója. Ilyen a szuperoxid dismutáz, a kataláz és a glutation reduktáz. Az oxidatív mechanizmusok által módosított proteinek többféle módon is megzavarhatják a sejtek funkcióját: például azáltal, hogy megváltozik a fehérjék expressziója, a proteinek anyagcsere mechanizmusa (turnover), a szintézis és lebontás közötti egyensúly, valamint a sejtek közötti jelátvitel (szignál transzdukció). A reaktív oxigén- és nitrogénvegyületek által okozott módosulások korrelálnak a patológiai eltérésekkel, a biokémiai változásokkal és a klinikummal is, mint például Alzheimer kórban (AK) ezt leírták (Butterfield et al., 2012). Ebből a megfontolásból arra is lehetne következtetni, hogy az antioxidáns vegyületek ígéretes lehetőséget jelentenek a neuroprotekciónban. Azonban az eddigi klinikai adatok még nem meggyőzőek. Sem a megelőzésben, sem a betegség lefolyásának lassításában nem sikerült egyértelmű eredményeket elérni (Casetta et al., 2005). Egyes feltételezések szerint az oxidatív stressz hatására a proteinek térszerkezetében poszt-transzlációs módosulás következik be. Emiatt változik a fehérjék szolubilitása és nő a kóros konformációjú proteinek aggregációs és inklúzió képződési hajlama (Todd et al., 2014).

3) A sejthalál és az oxidatív stressz mellett az alapvető mechanizmusok következő eleme a *kóros konformációjú proteinek aggregációja*, amelyhez a proteindegradáció egyensúlyának megbomlása is társul (Dobson, 2003; Welchman et al., 2005; Zheng et al., 2014). A neurodegeneratív betegségek közös jellemzője, hogy a proteinek elveszítik natív struktúrájukat, fibrilláris szerkezetben (béta-redő) aggregálódnak az intra- vagy extracelluláris térben. A proteinek a szintézis során specifikus háromdimenziós szerkezetet vesznek fel, amelyet harmadlagos térszerkezetnek nevezünk. Ez a folyamat a riboszómából történő kilépés után kezdődik és szoros szabályozás alatt áll. Egyes proteinek spontán veszik fel a rájuk jellemző natív konformációt. Más fehérjék pedig „bölcső” molekulák (molecular chaperones) segítségét igénylik. A proteinek natív térszerkezetének kialakulása az úgynevezett „folding” mechanizmus. A proteinek módosulása folytán a térszerkezet megváltozik, hidrofób szerkezet alakul ki, amely az

aggregációra való hajlam egyik tényezője lehet. Az aggregátumok kialakulásának korai állomása az oligomerek létrejötte, amelyek károsítják a sejtet (Dickson et al., 2011). Az oligomerek a sejtmembrán peremabilitásának megváltoztatásával, a kalcium ion homeosztázis kóros befolyásolásával is kifejthetik hatásukat, továbbá megzavarják a szinaptikus funkciókat (Glabe et al., 2006).

Az utóbbi időszakban felvetették annak lehetőségét, hogy a neurodegeneratív betegségeken észlelhető kórosan megváltozott fehérjék sejtről-sejtre terjedhetnek. Mivel ezt először prionbetegségeken írták le, ezért a többi neurodegeneratív betegségben észlelt kóros fehérjéket prionoidoknak is nevezik (Aguzzi, 2009). Ellentétben azonban a prionokkal, a prionoidok nem képesek az egyedek közötti transzmisszibilitásra (csak sejtek közötti átvitelre). Számos kísérleti eredmény támogatja ezt a patomechanizmust. A kóros proteinek sejtről sejtre történő terjedésének (seeding) folyamatát vizsgálták neuronális és nem-neuronális sejt kultúrákban, illetve állatkísérleti modellekben, lásd **1. táblázat**.

Az irodalomban a „seeding” kifejezést használják annak a folyamatnak a leírására, amelynek során egy rossz fehérje egyfajta magot képez ahhoz, hogy további fehérjemolekulák tapadjanak hozzá. Jelen dolgozatban a továbbiakban ennek a folyamatnak az említésekor a „seeding” kifejezést fogjuk használni. Az említett vizsgálatok szerint a kóros proteinek (lásd alább) képesek a normál struktúrával rendelkező fehérjék konformációjának megváltozását indukálni. A folyamat „öngerjesztő” és nemcsak az inokulációhoz közeli régiókban valósul meg. Idővel a szinapszisokkal összekapcsolt távolabbi agyi régiókban is felszaporodik a kóros protein. Mivel a fehérje overexpressziója kizárható mint a terjedés oka, öngerjesztő és transzcelluláris terjedés lehet felelős a folyamatért. A sejtek közötti transzmisszió megvalósulhat például receptor által mediált vagy folyadék fázisú endocitózis útján, illetve direkt penetrációval is bejuthat a kóros fehérje a fogadó neuronba, vagy a kóros proteint tartalmazó exoszóma összeolvad a „fogadó” neuron membránjával, így kerül a protein a megfertőzött sejtbe (Guo and Lee Nat Med 2014). Továbbá feltételeznek olyan összeköttetéseket (nanotubes) a két sejt citoplazmája között, ahol a transzmisszió létrejöhet (Guo and Lee Nat Med 2014).

1. táblázat: neurodegeneratív betegségekre jellemző legfontosabb fehérjék (nem-prion protein aggregátumok) seeding-je különböző kísérleti modellekben (Guo JL, Lee VM., 2014).

Fehérje/peptid	az oltás típusa	nem-neuronális sejtek	neuronális sejtek	állatmodell
Amyloid-β	szintetikus fibrillumok	nem vizsgálták	nem vizsgálták	vizsgálták
	egér agy lizátum	nem vizsgálták	nem vizsgálták	vizsgálták
	emberi agy lizátum	nem vizsgálták	nem vizsgálták	vizsgálták
tau	szintetikus fibrillumok	vizsgálták	vizsgálták	vizsgálták
	egér agy lizátum	nem vizsgálták	nem vizsgálták	vizsgálták
	emberi agy lizátum	nem vizsgálták	nem vizsgálták	vizsgálták
α-synuclein	szintetikus fibrillumok	vizsgálták	vizsgálták	vizsgálták
	egér agy lizátum	nem vizsgálták	nem vizsgálták	vizsgálták
	emberi agy lizátum	nem vizsgálták	nem vizsgálták	vizsgálták
TDP-43	szintetikus fibrillumok	vizsgálták	nem vizsgálták	nem vizsgálták
	egér agy lizátum	nem vizsgálták	vizsgálták	nem vizsgálták
polyglutamin	szintetikus fibrillumok	vizsgálták	nem vizsgálták	nem vizsgálták

A kóros konformációjú fehérjék felhalmozódása hangsúlyozza a proteinek lebontásában szerepet játszó celluláris rendszerek szerepét. A proteinek termelése és lebontása közötti egyensúly, a kóros konformációjú fehérjék megsemmisítése (a proteinek degradációja) alapvetően szükséges az egészséges működés fenntartásához. A folyamat fontos része az endocitózis, továbbá az autofágia, illetve az ubiquitin-proteaszómális rendszer (UPS). Az ubiquitin olyan protein, amely egy ATP-függő rendszerben aktiválódik, majd kapcsolódik a célfehérjével, amely megsemmisítésre vár. A degradációt egy makromolekuláris komplex (proteaszóma) végzi (Dickson et al., 2011). Az UPS az idegrendszer érési és fejlődési, valamint homeosztatikus folyamataiban játszik szerepet. Kontrollálja a szinaptikus funkciókat és működése összefügg a szinaptikus plaszticitással is. Az ebben a rendszerben létrejövő zavarok fontos szerepet játszanak a neurodegeneratív betegségek patomechanizmusában. Például, ha az ubiquitin nem tud konjugálódni a célfehérjével, hanem poliubiquitin láncba épül be, akkor nem a degradációt segíti, hanem ellenkezőleg, a lebontási folyamat gátlója lesz. A kutatások szerint a lehetséges terápiás stratégiák egyike az UPS működésének gátlásában résztvevő faktorok gátlása. Ezzel lehetne elérni a kóros proteinek degradációjának fokozását (Keiji et al., 2013).

4) További fontos eleme a neurodegeneratív betegségek kialakulásának a komplex *genetikai háttér*. Ugyanazon vagy hasonló klinikopatológiai fenotípus meghatározásában számos genetikai konstelláció és eltérő mutációk állhatnak. Azonban eltérő fenotípus kialakulásához hasonló genotípus is vezethet. A genetikai háttér megismerése ezért segíthet a betegségek rendszerezésében, a klasszifikációban. Amennyiben ismert a genetikai laesio, vagy a betegség alapjául szolgáló molekuláris biológiai mechanizmus, akkor a klinikai fenotípus szélesebb spektruma válik értelmezhetővé. Hasonló patológiai eltérések mögött több gén mutációja állhat.

II.2. A neurodegeneratív betegségek osztályozása

A betegségek osztályozása történhet:

- a klinikai tünetek alapján,
- a folyamatban résztvevő kóros proteinek alapján és
- az aggregálódó proteinek celluláris és anatómiai eloszlása alapján.

1) A klinikai tünetek szerinti felosztás:

A. Vannak kórképek, ahol a demencia a vezető tünet: AK, nem-Alzheimer típusú demenciák, ahol diffúz kortikális atrófia észlelhető, például Lewy testes demencia vagy Creutzfeldt-Jakob betegség (CJB). Egy fontos alcsoportja a demenciáknak a frontotemporális demencia (FTD). A frontotemporális demencia olyan klinikai gyűjtőfogalom, amelybe a memória funkciók relatív megtartottsága mellett kialakuló progresszív viselkedés-, személyiség- és beszédzavarral járó kórképek tartoznak. A legfontosabb klinikai altípus a viselkedés zavarával járó forma (bvFTD), a beszédzavarral járó formák: primer progresszív afázia (PPA), progresszív non-fluens afázia (PNFA), szemantikus demencia (SD). A frontotemporális demencia gyakran társul extrapyramidális működészavarral (amely lehet atípusos parkinsonizmus vagy kortikobazális szindróma), illetve motoneuron betegséggel. A FTD klinikai fogalom, míg neuroradiológiai illetve neuropatológiai vizsgálattal frontotemporális lobáris degeneráció (FTLD) észlelhető.

B. Mozcászavarral és a testtartás zavarával járó kórképek

Hipo- vagy hyperkinézis, dystonia, tic, blepharospasmus, myoclonus többek között Parkinson-kór (PK), multisztémás atrófia (MSA), Huntington betegség (HD), illetve progresszív szupranukleáris bénulás (PSP).

-Ataxiával járó kórképek: többek között spinocerebelláris ataxia (SCA), olivopontocerebellaris atrophia (OPCA), illetve dentatorubro-pallidoluysian atrophia (DRPLA)

-Az izomműködés zavarával, atrófiával, izomgyengeséggel járó kórképek: például amyotrophias lateralsclerosis (ALS), progresszív spinalis muscularis atrophia, illetve motoneuron betegség frontotemporális demenciával

C. Egyes esetekben, illetve kórképekben a kognitív zavar és a mozgászavar már a korai stádiumban hasonló időben jelenik meg.

2) A neurodegeneratív folyamatban résztvevő kóros proteinek szerinti felosztás:

A neurodegeneratív betegségek felosztásának egyik lehetséges módja a kóros proteinek alapján történő klasszifikáció. A jelenleg ismert legfontosabb proteinek: amyloid- β , tau protein, α -synuclein, polyglutamin, TDP-43, prion protein, FUS (fused in sarcoma). Ezek patológiás módosulásainak ismerete a klinikai vizsgálatok, a genetikai analízis mellett lényeges egy adott eset diagnosztikájában. A proteinek biomarkerként történő vizsgálata a diagnosztikán túl lényeges lehet a prognózis felállításában, a betegség folyamat és esetleges terápia követésében (Kovacs et al., 2010).

A neurodegeneratív betegségekben fontos fehérjék áttekintése:

Amyloid- β peptid

A transzmembrán lokalizációjú amyloid prekursor proteinből (APP) keletkezik két enzimatis hasítás révén. Első lépésben a prekursor fehérje extracelluláris doménjét a β -szekretáz enzim hasítja, majd az így keletkező fragmentet a transzmembrán γ -szekretáz komplex hasítja tovább. Az A β különböző helyen hasított („truncated”) formái (például N- vagy C-terminális helyen) található meg az agyban lerakódó plakkokban. Az N-terminális pozícióban történő hasítás az aggregáció és a proteolitikus degradáció elleni rezisztencia kialakításában fontos. A C-terminális pozícióban hasított formák közül az A β ₁₋₄₀ és A β ₁₋₄₂ variációknak van fontos jelentősége. Emellett kimutatták, hogy AK-ban a plakkokban A β _{pE3} (N-terminális pyroglutamate) is megtalálható (Saido et al. 1995). Az A β _{pE3-42} forma overexpressziója a neuronokban kísérleti modellekben neurodegenerációval társul (Wirhth et al. 2009; Wirhth et al. 2010).

Az A β toxikus oligomerjeinek felszaporodásához vezethetnek a következő folyamatok: ha a folyamat a túlprodukciónak irányába tolódik el, akkor a proteolitikus mechanizmus több A β proteint szabadít fel a membránból; az APP-gén duplikációja folytán ugyancsak több amyloid- β keletkezik; az eliminációs (degradációs) folyamatok elégtelen működése is az amyloid- β felszaporodásához vezet.

Az APP sejtfelszíni receptor tulajdonságaival rendelkezik, feltételezik, hogy szerepe van a sejtadhézióban és a szinaptikus plaszticitásban (Fitzjohn et al., 2001). A béta-redő konformáció kialakulásában fémionok (Cu, Zn), lipidek és pH-viszonyok játszanak szerepet (Bush et al., 1994). A korral részben a degradációs folyamatok

elégtelensége, részben az amyloid- β clearance szenved zavart. A perivaszkuláris intersticiális folyadék drainage, a lebontásban résztvevő enzimek, az A β vérbe irányuló transzportja válik elégtelenné, ez a protein felszaporodásához vezet.

AK-ban a depozitumok az A β izoformák keverékét tartalmazzák. A molekula másodlagos szerkezetére a béta-redő jellemző, elektronmikroszkóppal fibrilláris szerkezetet láthatunk. A szolubilitás csökkenése és a fibrilláris szerkezet az aggregációs hajlamot fokozza. Az agykéregben a parenchymában fokális vagy diffúz jellegű lehet az aggregált és lerakódott fehérje depozitumok morfológiája. Egyes esetekben az artériák, kapillárisok falában is megtalálható, ezt cerebraalis amyloid angiopathia-nak (CAA) nevezzük.

Tau protein

A microtubulus-asszociált protein tau (MAPT) gén által kódolt fehérje a neurodegeneratív betegségekben egyik leggyakrabban előforduló protein. A kódoló gén a 17-es kromoszóma hosszú karján található (17q21). A tau protein jelentős mennyiségben fordul elő a központi idegrendszerben, főként az axonokban található. Fiziológias szerepe a következő:

- serkenti a tubulin polimerizációt és a microtubulus stabilizációt,
- részét vesz az axonális transzport folyamatokban,
- szerepet játszik az intracelluláris szignál-transzdukcióban,
- a neuronok fejlődési folyamatában.

A tau proteinnek jelentősége van még az apoptózis regulációjában, amely a tau foszforilációs mechanizmusán keresztül valósul meg (Jian-Zhi et al., 2008). Az emberi agyban a tau proteinnek 6 izoform alakja expresszálódik. Az izoformákat az amino terminálisan elhelyezkedő 29 vagy 58 aminosavból álló inszert, illetve a karboxi terminálison levő 31 aminosav repeat alapján különítjük el. Az egyes izoform alakok az egyedi fejlődés során eltérő mértékben expresszálódnak (Lee et al., 1989). A kórképekben vagy a 3-repeat (3R) vagy a 4-repeat (4R) izoformák dominanciája észlelhető vagy mindkettő megtalálható. Fontos biokémiai modifikáció a foszforiláció, amely a betegség során kóros mértékben jelenik meg. A hyperfoszforilált tau elveszti azt a képességét, hogy kapcsolatba lépjen a microtubulussal. A protein funkcióinak elvesztése a microtubulus destabilizációjához vezet, ez a sejtfolyamatokat kedvezőtlenül befolyásolja (Kovács GG. 2015).

α -Synuclein

Az α -synuclein szinaptikus protein, gazdagon expresszálódik a központi idegrendszerben. 140 aminosavból álló protein, a β - és a γ -synucleint is magába foglaló család tagja. A családba tartozó fehérjék 127, illetve 140 aminosav hosszúságúak. Elnevezése arra utal, hogy az agyban a szinaptikus terminálban és a nukleáris régióban található (Maroteaux et al., 1988). Az α - és a β -synuclein főként az idegvégződésekben, míg a γ -synuclein az idegsejten belül lelhető fel. Foszforilációja a szerin 129-es pozícióban rendellenes lehet, ami kóros konformáció kialakulásához vezet (Goedert, 2001).

Az α -synuclein fiziológiás funkciói a következők (Furong et al., 2011):

- részt vesz a vesicularis transzportban,
- a neurotranszmitter (dopamin) felszabadításban,
- szinaptikus plaszticitásban,
- bölcső fehérje (chaperone protein),
- foszfolipáz inhibitor,
- az oxidatív stressz aktív résztvevője,
- képes modulálni a szinaptikus vesiculák mobilizációját és a membrán forgalmat.

Abban az esetben, ha a protein β -lemez struktúrát vesz fel, megnő az aggregációs hajlama. A patológiás folyamat általában a szinapszisoknál kezdődik és axonális degenerációhoz vezet. A proteint kódoló gén (*SNCA*) mutációi következtében a megnövekedett aggregációs hajlam és a lipid membránokhoz kötődés csökkent képessége alakul ki.

TDP-43 protein

A TDP-43 (transactive response DNA binding protein 43 kDa) fiziológiás szerepe az RNS és a DNS kötése. A proteint kódoló gén elnevezése: *TARDBP*. A TDP-43 nukleáris elhelyezkedésű protein, fiziológiás szerepe a transzkripció, a splicing, a transzport és a stabilizáció folyamatában fontos.

FUS és FET proteinek

A FUS (fused in sarcoma) multifunkcionális DNS/RNS kötő fehérje, amely a proteinek **FET** családjába sorolható. Ebbe a családba tartozik a FUS, továbbá a Ewing's sarcoma protein (**EWS**), a TATA-binding protein-associated factor 15 (**TAF 15**) is. A legtöbb sejttípusban a FET proteinek a főként a magban helyezkednek el, azonban képesek helyváltoztatásra a nukleusz és a citoplazma között. A feltételezések szerint a FET proteinek képesek egymással interakcióba lépni, bizonyos esetekben komplexeket képezni (Neumann et al., 2011).

Prion protein

A celluláris prion protein (PrP^C) 253 aminosvaból álló sejtfelszíni (surface) glikoprotein, amely foszfatidil inozitol horgonnyal (anchor) kapcsolódik a sejthez, és ez az extracelluláris tér felé néz. **1. ábra.**

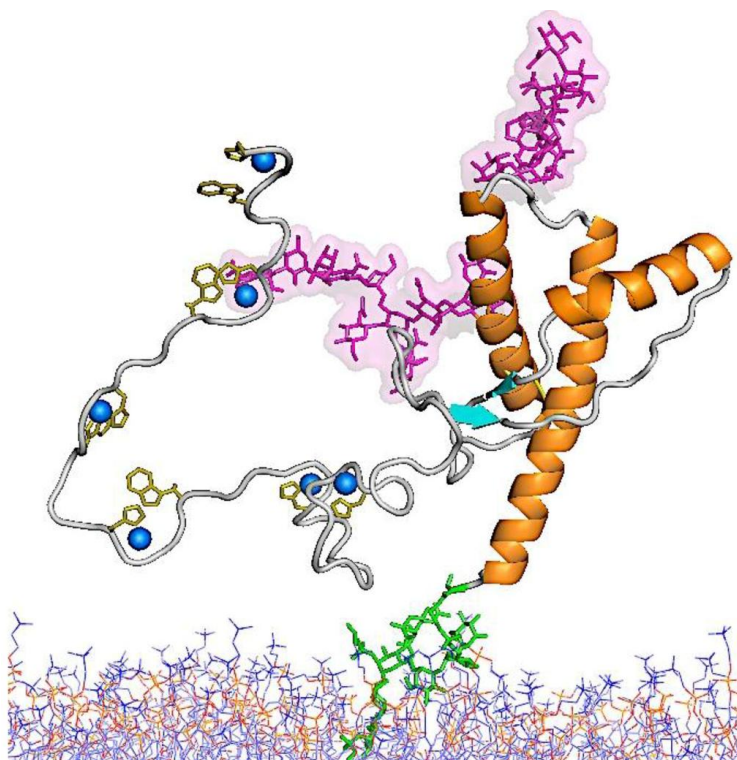
N-terminálisa kevésbé rendezett, flexibilis, a C-terminális jobban strukturált. Több hélixet tartalmaz, ami globuláris domaint alkot hurokkal. Ez a hurok flexibilis, de a szerkezetet stabilizálja az egyik glikán gyök glikozilációja. Ezen kívül még két glikán gyök van, amelyből az egyik a horgonynál található. A proteinben található még antiparalel béta lemez és merev globuláris domaint alkotó szakasz is. Az N-terminális pozitív elektrosztatikus potenciállal rendelkezik, a C-terminális töltése negatív, mivel az N-glikán része negatív. A fehérje több oktarepeat szekvenciát tartalmaz. Az oktarepeat expansziója észlelhető egyes genetikai CJB formákban.

A protein fiziológias szerepét illetően a következő funkciók ismertek (Linden et al., 2008):

- neuronális szignál transzdukcióban történő részvétel,
- intracelluláris réz ion koncentráció szabályozása,
- redox homeosztázis,
- szerepe van proliferációban és a tumorsejtek metasztázis képzésében,
- kalcium ion anyagcserében való részvétel,
- dendritikus extenzió,
- szerotonin-, noradrenerg-, tirozin- kináz aktiváció,

- az oligomer amyloid- β protein kötése,
- immun működések,
- pro- és antiapoptotikus funkció,
- perifériás idegrendszerben myelintrop működés (Bremer et al., 2010),
- sejt-sejt, sejt-mátrix adhézió,
- cirkadián ritmus szabályozás,
- a memória és a kognitív funkciók szabályozása
- a szaglás szabályozása.

Létezik a celluláris prion proteinnek egy transzmembrán formája is, amely az endoplazmatikus reticulumban található, megnövekedett expressziója szintén összefüggésbe hozható a neurodegeneráció kialakulásával (Song et al., 2013). A fiziológiás prion protein kóros konformációjú, proteáz rezisztens, béta-redőkben gazdag izoform alakja (PrP^{Sc} Sc: scrapie, amely a birkák surlókórjára utal) az ultraibolya sugárzással, magas hőmérséklettel, kémiai anyagokkal szemben jelentős mértékű rezisztenciát mutat. A celluláris prion protein elektrosztatikus, termodinamikai destabilizációja spontán konverziót eredményezhet, mely kóros protein kialakulásához vezet. A PrP^C és a PrP^{Sc} különböznek egymástól a másodlagos struktúrájukat, a proteínázzal szembeni érzékenységet és a szolubilitásukat tekintve. A PrP konformációs változatai szolgáltatják azt molekuláris hátteret, amely feltehetően összefügg a prionbetegségek klinikopatológiai értelemben vett heterogenitásával (Wadsworth et al., 2011).



1. ábra: A PrP^C struktúrájának sematikus ábrázolása. A carbohydrate csoportok rózsaszínnel jelölve; a GPI- horgony zöld színnel van jelölve (a sejtmembránhoz köti a proteint); a réz ion kötéséért felelős N terminális domain része kékkel jelölve.

Dr. Glenn Millhauser (University of California, Santa Cruz) és Dr. Valerie Daggett (University of Washington, Seattle) munkája (hivatkozva: Acevedo-Morantes et Ville, 2014).

Polyglutamin expanzió

A kódoló génben kórosan megnyúlt ismétlődés (repeat szekvenciák expanziója) a gén által kódolt polyglutamin fehérje expanziójával jár. Ilyen betegség például a Huntington-kór, illetve egyes spinocerebelláris ataxiák. A repeat szekvenciák az érintett génben mutációval jöhetnek létre, de a DNS repair mechanizmusában résztvevő proteinek szerepét is felvetették ebben a folyamatban. Ezek a fehérjék a genetikai állomány integritásának megőrzéséért felelősek, azonban a feltételezések szerint bizonyos mutációk előidézésében is szerepük lehet kóros esetben (Sleena et al., 2008). A legtöbb betegségben a mutáns protein nukleáris lokalizációja jellemző, ami arra utal, hogy a mutáns proteinnek szerepe lehet a gén regulációjában. Nem tisztázott jelenleg, hogy a mutáns protein aggregációja, vagy a kóros konformáció (folding) szerepe jelentősebb a patomechanizmusban. Feltehetően a patológiás protein valamely fiziko-

kémiai tulajdonsága interferál a fehérje proteasomális folyamatával (Bence et al., 2001).

3) Az aggregálódó proteinek eloszlása (celluláris és anatómiai): a kóros konformációjú proteinek elhelyezkedése lehet extra-, illetve intracelluláris. Az anatómiai eloszlás alapján a kórképek altípusait lehet meghatározni (Kovács et al., 2010).

a. Az *extracellulárisan aggregálódó* fehérjék: A β protein és prion protein (PrP).

1. A β : Alzheimer-kórban az agyi parenchymában úgynevezett szenilis plakkok formájában deponálódik. Az agyi érfalakban felhalmozódva (lerakódva CAA: cerebrális amyloid angiopathia (CAA) alakul ki.
2. Prion protein: A kóros konformációjú, proteáz rezisztens PrP^{Sc} a központi idegrendszerben szinaptikusan, perineuronálisan, és perivakuolárisan halmozódik fel. A központi idegrendszeren kívül megtalálható a lépben, vázizomzatban, perifériás idegekben, hipofízisben, spinális gyökökben, autonóm ganglionokban is. A PrP depozitumok morfológiája különbözik az egyes genetikai kórformákban, illetve a sporadikus CJB molekuláris altípusaiban (lásd alább).

b. *Intracellulárisan aggregálódó* kóros proteinek:

1. Tau-protein: ez elsősorban az idegsejtek citoplazmájában és nyúlványaiban (dendritek illetve axon) halmozódik fel, de megjelenik az oligodendroglia és astroglia sejtekben is. Idegsejtekben neurofibrilláris köteg vagy golyó alakú zárvány formájában látható. A neurofibrilláris kötegek 4R és 3R izoformát tartalmaznak (pl. Alzheimer kór), míg egyes szubkortikális dominanciájú kórképekben 4R izoformából állnak (pl. PSP). A golyó alakú („spherical”) zárványok vagy Pick testek (ha kizárólag 3R izoformát tartalmaznak) vagy a leíró jelleggel golyó alakú zárványoknak nevezik (ha csak a4R izoformát tartalmazzák). Az astroglia sejtekben számos morfológiai megjelenés észlelhető, amely szorosan kapcsolódik a betegségekhez. Ez főleg az angol nyelvű irodalomból ismert és külön magyar nyelvű elnevezés kevésbé elterjedt.

Ilyen az astrocyta-plakk, a „tufted” astrocyta, illetve további formák. Oligodendroglia sejtekben a „coiled-body” és az utóbbi időben leírt globuláris glia zárvány látható (Kovacs GG. 2014).

2. α -synuclein: a neuronális sejtek citoplazmájában Lewy testek és Lewy neuritek láthatók Lewy testes demenciában (DLB) és Parkinson kórban; míg multiszipisztémás atrófiában (MSA) az α -synuclein ugyancsak a gliális és neuronális sejtekben található, de a citoplazmában és a sejtmagban is (Kovacs GG. et al. 2010).
3. TDP-43: frontotemporális lobáris degeneráció (FTLD) és motoneuron betegség (MND) eseteiben, illetve a két kórkép együttes előfordulása esetén (FTLD-MND) változatos eloszlásban és dominanciát mutatva fordul elő a gliális és neuronális sejtek citoplazmájában és a sejtmagban (Kovacs GG. et al. 2010).
4. FUS (FET): a gliális és neuronális sejtekben található kóros protein (Kovacs GG. et al. 2010).

A neurodegeneratív betegségek osztályozása: szintézis

A modern besorolás szerint a kórképeket a fehérjék alapján nevezzük el: az alábbiakban ezek rövid felsorolását adjuk. Megjegyzendő, hogy AK-ban két protein lerakódása dominál: A β depozitumok halmozódnak fel az extracelluláris térben, ugyanakkor intraneuronálisan neurofibrilláris degeneráció jön létre - utóbbit a kóros konformációjú tau-protein felszaporodása okozza. Tehát AK-ban két fő hisztológiai eltérés található:

- a neuronokban (perikaryonban kötegek formájában, a sejt nyúlványában neuropil fonalak formájában) aggregálódott tau található (NFT: neurofibrilláris kötegek)
- extracellulárisan amyloid- β plakkok alakulnak ki.

A neurodegeneratív betegségek kóros proteinek szerinti felosztása az **2. táblázatban** látható.

2. táblázat: a neurodegeneratív betegségek felosztása a kórfolyamatban résztvevő kóros konformációjú proteinek szerint.

PROTEINOPATHIA	BETEGSÉGNÉV	MEGJEGYZÉS
Tauopathiák	PSP, AGD, CBD, GGT	4R-tau fehérje található
	PD	3R-tau fehérje található
	NFTD	3R és 4R tau akkumuláció
	FTDP-17	
α -synucleinopathiák	PK, DLB, MSA	kódoló gén: <i>SNC</i>
TDP-43 proteinopathia	ALS	spektrum betegség csoport: motoros vagy kognitív vagy ezek együttesen jelennek meg az alcsoportokra vonatkozóan
	ALSci	
	FTLD, bvFTD	
	PNFA, SD	
FUS proteinopathia	FTLD-FUS	
	FTLD-U, NIFID	
	BIBD	
Prionbetegségek		infekciós természetű kórképek
	sCJB	sporadikus eseményhez köthető
	gCJB	<i>PRNP</i> –gén mutációihoz kötött
	vCJB	BSE-hez köthető
	iCJB	orvosi beavatkozással kapcsolatos
	FFI, sFFI	öröklődő és sporadikus halálos alvasképtelenség
	GSSD	<i>PRNP</i> -gén mutációjához kötött (prion protein amyloidosis)
	Kuru	kannibalizmussal kapcsolatos
Trinucleotide repeat betegségek (TRB)	Huntington betegség	
	Spinocerebelláris ataxiák	
	Friedreich's ataxia	
	Dentatorubral-pallidoluisian atrophia (DPA)	
	Spino-bulbar muscular atrophia	

Megjegyzendő, hogy a proteinopathia alapú felosztás átfedést mutathat a klinikopatológiai felosztással. Erre példa az FTLD felosztása. Ez ugyanis különböző proteinopathiákkal társulhat, továbbá számos génben található mutáció is FTLD-hez vezet (**3. táblázat**). A neurodegeneratív betegségek felosztásának algoritmusát (Kovács et al., 2010) az **2. ábrán** látható.

3.táblázat: FTLD neuropatológiai altípusai a 2010-es nomenklátúra szerint (Mackenzie et al., 2010)

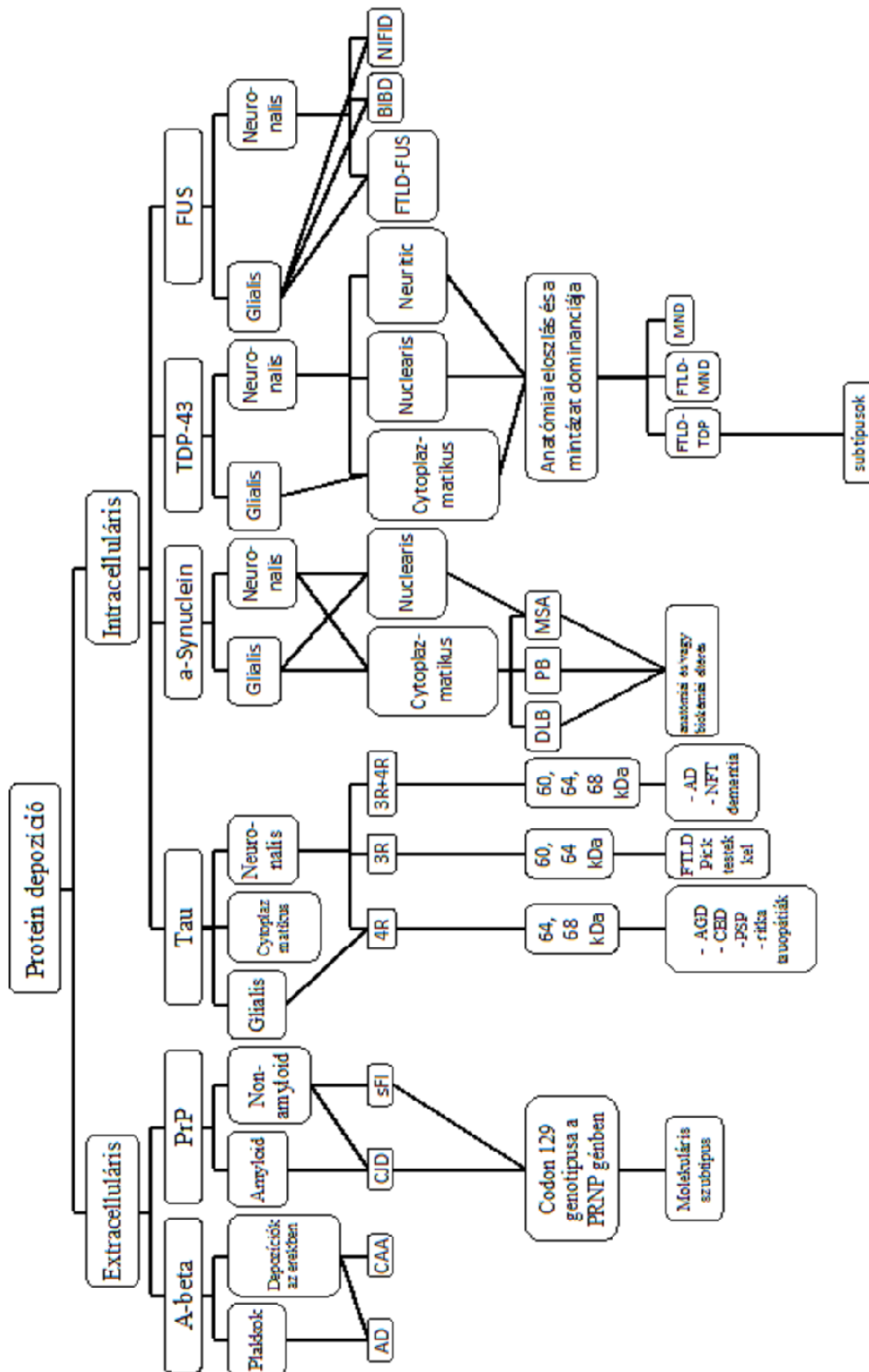
Fő molekuláris osztályok	Ismert altípus	Gén
FTLD-tau	PiD CBD PSP AGD GGT NFT-demencia	<i>MAPT</i>
FTLD-TDP	1-4 típus nem osztályozható	<i>GRN</i> <i>VCP</i> <i>C9ORF72</i> <i>TARDBP</i>
FTLD-UPS	FTD-3	<i>CHMP2B</i>
FTLD-FUS	aFTLD-U NIFID BIBD	<i>FUS</i>

Angol rövidítések:

PiD Pick' disease,

GGT globular glial tauopathy,

FTD-3	FTD linked to chromosome 3,
aFTLD-U	atypical frontotemporal lobar degeneration with ubiquitinated inclusions,
NIFID	neuronal intermediate filament inclusion disease,
BIBD	basophilic inclusion body disease,
<i>C9ORF72</i>	Chromosome 9 open reading frame 72 gene,
<i>CHMP2B</i>	Charged multivesicular body protein 2B gene,



2. ábra: A neurodegeneratív betegségek felosztásának agoritmsa (Kovács et al 2010)

Jelen dolgozat középpontjában az emberi prionbetegségekkel kapcsolatos megfigyeléseink állnak. Ezért az alábbiakban összefoglaljuk a legfontosabb ismereteket, amelyek a dolgozat megértéséhez szükségesek.

II.3. Az emberi prionbetegségek definíciója és felosztása

A humán prionbetegségeket (TSE: transzmisszibilis spongiform encephalopathiák) a konformációs neurodegeneratív betegségek archetípusának tartják. E kórképeket infekciós természetük különíti el az egyéb neurodegeneratív betegségektől (Prusiner, 1982; Supattapone, 2010). Az embert és több emlős állatfajt is érintő (Aguzzi et al., 2004), a központi idegrendszer progresszív, degeneratív elváltozásával járó, fatális kimenetelű betegségek tartoznak ide. Prionbetegségekben a celluláris prion protein (PrP^C) kóros konformációjú, béta redőkben gazdag, proteáz rezisztens izoformájának felhalmozódása észlelhető (PrP^{Sc}). A gén mutációinak hatására fiziológiásan is jelen lévő prion protein konformációja megváltozik, ennek következtében neuron károsodás, majd pusztulás alakul ki. A fiziológiásan jelen levő PrP^C jelenléte szükséges feltétele a prionbetegség kialakulásának. A prionbetegség fontos jellemzője továbbá az intercelluláris (lásd fentebb) és az interindividuális transzmisszibilitás (emberről emberre történő terjedés). A legismertebb humán prionbetegség a Creutzfeldt-Jakob betegség (CJB).

Az emberi prionbetegségek felosztása történhet az etiológia, a klinikopatológiai fenotípus, a *PRNP* (a prion protein gén) konstellációja (a mutációk) és a prion protein Western blot analízise alapján nyert jellemzői szerint. A prionbetegséget a neurodegeneratív betegségek között egyedülállónak teszi az etiológia széles spektruma: 1. infekció (pl. iatrogen inokuláció, étrendi expozíció), 2. a *PRNP* gén mutációja, 3. olyan sporadikus esemény, mely kóros PrP kialakulásához vezet (Muhammad et al., 2011).

A humán prionbetegség formái (Kovacs GG et al. 2009 a.):

Szerzett formák: a./ a kuru, amely rituálisztikus kannibalizmussal kapcsolatos, b./ a iatrogen forma, amely idegsebészeti beavatkozásokhoz (cornea és dura transzplantáció), emberi eredetű hipofízis hormonok adásához köthető, c./ a Nagy-

Britanniában leírt variáns CJB forma, amely a szarvasmarhák prionbetegségével (BSE: bovine spongiform encephalopathia) hozható kapcsolatba.

Sporadikus formák: a leggyakoribb prionbetegség formák, ahol az etiológia, ill. a fertőzés forrása nem ismert, sporadikus eseményként olyan sztochasztikus esemény feltételezhető, amely a PrP^c konverzióját okozza PrP^{Sc} formába, vagy a *PRNP* gén mutációja valószínű. A világ minden táján egyenletes eloszlásban fordul elő (sCJB: sporadikus Creutzfeldt-Jakob betegség, sFI: sporadikus halálos alvászéptelenség).

Genetikai formák: a *PRNP* gén mutációjához kötött kórképek, amelyek a prionbetegségek 5-15%-át teszik ki. Autoszomális domináns öröklésmentet mutató kórképek, mint például a genetikai Creutzfeldt-Jakob betegség (gCJB), Gerstmann-Sträussler-Scheinker betegség (GSS), illetve az örökletes halálos alvászéptelenség (FFI).

II.4. A humán prionbetegségek genetikai háttere

Az emberben a prion proteint kódoló *PRNP* gén a 20-as kromoszóma rövid karján található (20p12-ter). A *PRNP* gént három exon alkotja, az általa kódolt ubiquitáer protein (PrP^c) 253 aminosavból tevődik össze. A kódoló génszakaszokat nem választják el intronok, ami azért fontos, mert a kóros protein létrejöttének hátterében az alternatív splicing mechanizmus ennek következtében nem jöhet szóba. A betegségek kialakulásában szubsztitúciós és inszerciós mutációk valamint polimorfizmusok ismertek. A genetikai prionbetegségek autoszomális domináns öröklésmenttel öröklődnek, a penetranciával kapcsolatos vizsgálatok leginkább az E200K mutációval kapcsolatban ismertek, a penetrancia mértéke 59-89% között változik (Kovács, 2007 a).

A *PRNP* génnek legalább 30 mutációja ismert, melyek lehetnek pontmutációk, deléciók és inszerciós mutációk. Szubsztitúció esetén a *PRNP* génben adott bázispár helyére egy másik kerül, inszerció esetén többlet nukleotid épül be a génbe. Az 51 és 91-es kodon közötti szakaszban 5 oktapeptid repeat helyezkedik el. Bizonyos örökletes formákban ehhez a szakaszhoz többletként épül be különböző számú oktapeptid repeat, amely a betegség alapjául szolgál. A mutáció mindkét esetében megváltozik a felépülő polipeptid szerkezete az eredetitől eltérő aminosav beépülése miatt.

Előfordulásuk gyakoriságát és a geográfiai eloszlást tekintve a sporadikus és a genetikai CJB jelentős különbséget mutat. A vizsgálatok szerint amíg a sCJB hasonló incidenciát mutat az EUROJCJD adatszolgáltató országaiban (Ausztrália, Ausztria, Kanada, Franciaország, Németország, Hollandia, Szlovákia, Spanyolország, Svájc, Egyesült Királyság), addig a *PRNP* mutációi jelentős variabilitást mutatnak. Bizonyos mutációk ritkán fordulnak elő (PI05L, R208H, E196K, V203I), azonban az E200K mutáció az adatszolgáltató országok többségében előfordul. Ugyancsak változatos az E200K mutáció penetranciájának mértéke. Izraeli hordozók között 88%-nak, szlovákiai és olasz hordozók között 54-59%-nak találták (Kovacs et al., 2005 a).

A *PRNP* génben kialakult mutációk által okozott betegségek: genetikai (gCJB) Creutzfeldt-Jakob betegség, Gerstmann-Sträussler-Scheinker betegség (GSS), örökletes halálos alvászéptelenség (FFI: fatal familial insomnia). A gCJB-hez a *PRNP* mutációk által okozott betegségek tartoznak. Ezeknél a sporadikus formákhoz hasonló (átfedő) tüneti kép észlelhető. Neuropatológiai vizsgálatnál spongiform elváltozás, neuronvesztés, reaktív asztrogliózis található.

GSS-ben a vezető tünetek az ataxia, psuedobulbaris paresis, demencia, amely lassúbb progressziót mutat, mint amelyet az egyéb gCJB-ben tapasztalunk. A GSS fontos és az egyéb formáktól megkülönböztető neuropatológiai jellemzője a multicentrikus amyloid plakkok jelenléte.

Örökletes halálos alvászéptelenségben (FFI) klinikailag a legjellemzőbb tünet az alvászavar. Észlelhető továbbá a figyelem és a vigilitás zavara az általános intellektus megtartása mellett, progresszív dream-state, oneroid állapot, vegetatív zavarok (-emelkedett szívfrekvencia, testhőmérséklet, vérnyomás, sphincter zavarok), ataxia, myoclonus jelentkezik. EEG-vizsgálattal regisztrálható, hogy az alvási orsó és a k-komplexus előfordulása csökkent, az alvásidő fragmentálódik, folyamatos éberség-közeli állapot van, melyet REM-periódus szakít meg. Neuropatológiai értelemben jellemző a thalamusra korlátozódó neuronvesztés.

A *PRNP* mutációi közül a leggyakoribb az E200K-129M haplotípus. A mutáns allélon a 129-es pozícióban metionin kódolódik. A legnagyobb clusterek a tunéziai és líbiai eredetű zsidóság körében (Meiner et al., 1997), Szlovákiában, Chilében, Olaszországban fordulnak elő (Goldfarb et al., 1990; Hsiao et al., 1991; Brown et al., 1992; Goldfarb et al. (a), (b), 1990; Laplanche et al., 1994; Hee Suk Lee et al., 1999).

Az E200K mutáció az idevonatkozó kutatások szerint feltehetően Spanyolországból vagy a Tunéziai Djerba-ból ered. A középkorban a sephardikus zsidóság Észak Afrikába és Európába történt vándorlása során alakult ki a betegség terjedése (Chatelain 1998). Habár Európa egyes populációiban az E200K mutáció előfordulásának frekvenciája nem pontosan ismert (pl. skandináv államok), a klinikai tünetek és a patológiai tulajdonságok miatt, melyek az sCJB-hez teszik hasonlatossá, a gyakoriságát feltehetően alábecsülik (Farbu et al., 2007). A klinikai és patológiai jellegzetességek hasonlóak a sCJB MM1 szubtypusában észleltekhöz. A klinikai és patológiai jellemzők az egyes mutációk esetén világszerte hasonlóak (Bo-Yeong Choi et al., 2009).

A prionbetegségek kialakulásának patomechanizmusában fontos a polimorfizmusok megemlítése.

Polimorfizmusról beszélünk, ha a gén által kódolt aminosav eltérő a két allélen és a populációban gyakran észlelhető. A *PRNP* 129-es kodonját vizsgálták a legtöbbet ebből a szempontból. Mivel a kódolt aminosav lehet metionin (M) vagy valin (V), az anyai és apai eredetű alléleket figyelembe véve beszélhetünk homozigótákról (MM, VV) és heterozigótákról (MV). A homozigóta konstellációt rizikótényezőnek tekintik a sporadikus CJB kialakulására és az inokuláció iránti fogékonyságra egyaránt. CJB-ben szenvedő betegek között 70 % körüli az MM homozigóták aránya. Korosztályonként vizsgálva a betegeket megállapítható, hogy fiatalabb korban (49 éves korig) a VV homozigóták aránya nagyobb, az életkorral haladva jut dominanciára az MM homozigóták aránya és 80 év felett meghaladja a 80%-ot. A variáns (vCJB) formákban a betegek kivétel nélkül MM homozigóták. A 129-es kodon szerepe az örökletes formákban is jelentős. A 178-as kodon mutációjáról tudjuk, hogy CJB-t és FFI-t is előidézhethet. Ha a 129-es kodon mutáns allélja M, akkor FFI, ha V, akkor CJB lesz a kialakuló betegség. Igen lényeges, hogy a 129-es kodon genotípusa befolyásolja a betegség időtartamát és az életkort, amelyben a betegség megjelenik (Kovács, 2007 a).

A sporadikus CJB változatos klinikopatológiai spektrummal rendelkezik, a heterogén megjelenés hátterében korábban már említettük a 129-es kodon polimorfizmusát (M/V), illetve a proteínáz rezisztens prion proteint (PrP^{Res}). Ennek eltérő fiziko-kémiai tulajdonságai alapján Western blot vizsgálattal két eltérő molekulatömegű formája (19 és 21 kDa) különíthető el). A prion protein

glikozilációjának mértéke alapján további altípusok határozhatók meg (Xiao et al., 2013). A betegség altípusaiban eltérőek az idegrendszerben az érintett területek, a tünetek és a betegség kezdetének ideje, a lefolyás hossza is különböző lehet. Összefoglalva a 129-es kodon polimorfizmus szerinti három típus és legalább két molekuláris szubtípus figyelembe vételével sCJB legalább hat altípusa különíthető el (bár egyes szerzők további formákat különböztetnek meg (Collinge et al., 1996).

II.5. A prionbetegségek epidemiológiája

Az emberi prionbetegségek közül a leggyakoribb forma a sporadikus CJB. Az incidencia világszerte 1-2/ 1 millió fő/év, és egyenletes eloszlást mutat (Kovacs et al., 2004) a világ minden részén. Ez az összes prionbetegség 80-85%-át tesz ki, míg a *PRNP* mutációihoz köthető formákat (gCJB) 10-15%-ra becsülik (Kovacs et al., 2005 b).

A variáns CJB-t 1996-ban írták le először, a legtöbb eset az Egyesült Királyságban fordult elő (Will et al., 1996). Itt 174 esetet, Franciaországban 25 esetet, Spanyolországban 5 esetet, Írországon 4 esetet dokumentáltak (Referencia: Edinburgh CJD honlap). A variáns CJB transzfúzióval is átvihető (Peden et al., 2007; Hewitt et al., 2006).

A iatrogén CJB esetében a prionbetegség átvitele egyik személyről a másikra sebészeti vagy más orvosi beavatkozás (emberi dura mater graft átültetés, humán növekedési hormon kezelés, humán gonadotropin kezelés -a rekombinációs hormonkészítmények alkalmazása előtti időszakban-, idegsebészeti beavatkozások, pl. agyi mélyelektrodák behelyezése) útján történik. Klinikailag a kórképre jellemző a hosszú inkubációs idő és a cerebelláris ataxia (Brown et. al, 2006). Az iCJB közül 2010-ig világszerte összesen 420 esetet tartottak nyilván. Az első esetet 1974-ben írták le, ennél cornea transzplantáció során történt az átvitel (Duffy et al., 1974). Ez a szám tartalmazza azokat a vCJB eseteket is, ahol a betegek vér útján fertőződtek meg.

A prionbetegség magyarországi előfordulási gyakoriságáról készült tanulmány 12 év adatait (1994-2006) összegzi (Kovács et al., 2005 b; Kovács et al., 2007 b). A vizsgált időszakban csak sporadikus és genetikai prionbetegség fordult elő, variáns és iatrogen formát addig nem észleltek.

Magyarországon a genetikai formák aránya magasabb annál, mint amit az irodalomban közöltek alapján várnánk. Hazánkban az összes eset egyharmadát teszi ki a gCJB. A genetikai formák incidenciája is magasabb az irodalmi adatoknál: 0,41/1 millió fő/év. Különösen figyelemre méltó a 2006-os év, ahol az incidencia 1,4/1 millió fő/év volt. Hazánkban Pest és Bács-Kiskun megye területén és az ország keleti részében magasabb a CJB előfordulási aránya. A genetikai prionbetegségek közül a leggyakoribb az E200K mutációval járó forma. Egyes népcsoportok körében (líbiai zsidóság) ez a mutáció nagyon gyakori. Ennek háttérében genetikai vizsgálatok azt igazolták, hogy cluster-ek mentén észlelhető bizonyos földrajzi területeken e mutáció csoportosulása (Chile, Szicília, Szlovákia). A gCJB Magyarországon észlelt –az irodalmi átlagot meghaladó– előfordulási arányát a szlovákiai népességgel való szorosabb kapcsolattal és a szlovák egyéneknek az északi és a középső országrészbe történő bevándorlásával magyarázzuk.

II.6. A prionbetegségek patomechanizmusa

A prionbetegségekre jellemző infekciós természetük és a betegségben döntő szerepet játszó kóros konformációjú, proteináz rezisztens, béta-redőkben gazdag protein (PrP^{Sc}) felhalmozódása.

Jelenlegi ismereteink szerint a normál prion protein (PrP^C) hiányában nem jöhet létre prionbetegség. A betegség nem vezethető vissza pusztán a normál prion protein funkcióinak elvesztésére. Nehéz magyarázatot találni arra, hogy rekombináns úton előállított PrP alacsony infekciós potenciált mutat (Kim et al., 2010). Feltételezhető, hogy még eddig pontosan nem azonosított járulékos faktorok segítik az öngerjesztő, kaszkád jellegű folyamatot a betegség során. Az öngerjesztő folyamat a betegség terminális fázisában alakul ki. Magyarázatra vár, hogy ezek a járulékos tényezők (kofaktorok) alapvető részét képezik-e az infekciózus prion proteinnek és szerepük van a neurotoxicitásban vagy inkább csak a folyamatot segítő, katalizáló tényezőkről van inkább szó. A kaszkád jellegű folyamatban a PrP^{Sc} megköti a normál proteint (PrP^C), a kötés ideje alatt a normál protein transzformációja megy végbe és lényegében létrejön a PrP^{Sc} másolata. Ez a folyamat a normál fehérjének mint szubsztrátnak a jelenlétekor öngerjesztő módon vezet a kóros protein exponenciális arányú replikációjához, mivel a folyamatban egyre több kóros protein keletkezik (PrP^{Sc}) keletkezik (Klimova et al. 2014). Az említett öngerjesztő konformációs változás háttérében a normál fehérje

termodinamikai destabilizációja állhat. Ezt a destabilizációt a kóros protein indukálja. A *PRNP*-gén egyes mutációi esetén eltérő a destabilizáló hatás, ami magyarázat lehet a mutációk penetranciájának eltérő fokára.

Prion infekció során a perifériás immunrendszer szervei szükségesek az extraneurális prion replikációhoz és a központi idegrendszerbe történő szóródáshoz. A limfoid szervekből a perifériás neuronok közvetítésével a központi idegrendszerbe kerülnek a prionok (Klein et al., 1997). A prion protein fiziológiás funkciójának elvesztése mellett a kóros protein toxikus hatása áll a tünetek és elváltozások hátterében (a prion protein béta-redő konformációjú alakja toxikus hatású a neuronokra).

A neuronális károsodás kialakulása központi esemény a betegség folyamatában. Egy prionbetegség neuropatogenezisével foglalkozó összefoglaló tanulmány rámutat, hogy a neuronális károsodáshoz vezető folyamat komplex módon és több frontvonalon alakul ki (Kovács and Budka, 2008). A szöveti károsodás több egymással párhuzamos, egymással interakcióban levő vagy egymás után következő folyamatok eredménye.

A folyamat kezdete egy eddig még azonosítatlan esemény (ez lehet külső prion behatolása, normál prion protein spontán konverziója), amely konformációs változást indít el a PrP^C-ben. Ez az esemény a neuron reverzibilis funkcionális sérülésével jár. E folyamat során a PrP oligomer alakjának közvetlen neurotoxikus hatása olyan események láncolatát indítja el, ami apoptózishoz vagy autofágiához (vagy mindkettőhöz) vezet. A folyamat része még az oxidatív stressz, az endoszómális-lizoszómális rendszer (a sejtet érő stressz hatásra az endoplazmatikus retikulum kóros konformációjú protein termelésével válaszol), komplement aktiváció, a szinaptikus és dendritikus patológia és az UPS. A folyamatra természetesen az is hatással van, hogy a PrP^C elvesztette neuroprotektív hatását. A folyamatok függenek a megfertőzött szervezettől (fajtától), a kóros PrP típusától, valamint attól is, hogyan érte el a külső prion a központi idegrendszert. Az említett folyamatok hatására létrejön a szöveti patológia (spongiform elváltozás, asztro- és mikroglia), ez regionális variabilitást mutat. Kóros PrP felhalmozódása, majd neuronpusztulás alakul ki.

A prion szóródása (invázió) ugyancsak több tényezős mechanizmus eredménye. A szóródás függ a behatolási kaputól, a prion típusától, mennyiségétől, a gazda PrP genotípusától (Beekes et al., 2007). A gasztrointesztinális rendszer limfoid rendszere fontos szerepet játszik a prion behatolásában, innen ugyanis a perifériás idegrendszeren

keresztül (vagus és splanchnicus rendszer) a ganglionokba, majd központi idegrendszerbe jut a prion. A központi idegrendszerből ismét a periféria felé történhet vándorlás (például az izomzat felé). A PrP propagációja a következőképpen történhet: axonális transzporttal, passzív transzlokációval a perineurális limfatikus rendszerben, illetve egyfajta „dominó-szerű” konverzióval az idegsejtek membránján.

II.7. Neuropatológiai jellemzők

A prionbetegség neuropatológiai jellemzői: 1. neuronok pusztulása, 2. reaktív gliózis, 3. vakuolizáció a neuropilben (spongiform encephalopathia), 4. kóros konformációjú prion protein depozitumok megjelenése az agyban.

Sporadikus CJB esetében spongiform elváltozás látható a kortextben és/vagy a szubkortikális területen. A spongiform elváltozás mellett neuron pusztulás és gliózis figyelhető meg. A kerek, ovális vakuolák környezetében PrP immunreaktivitás mutatkozik (perivakuoláris plakk). A vakuolák a kortex neuropiljében, a cerebellum molekuláris rétegében, a nucleus caudatusban, ritkán az agytörzsben is láthatók. A kóros protein felhalmozódása szinaptikusan, perineuronálisan, perivakuolárisan figyelhető meg, de előfordul a központi idegrendszeren kívül is (lép, vázizomzat, autonóm ganglionok).

Genetikai CJB-ben az elváltozások hasonlóak a sporadikusnál látottakhoz.

FFI esetén cerebrális és cerebelláris atrófia, a thalamicus magvak területén jelentős mértékű neuron pusztulás, az astroglialis sejtek méretének növekedése és a periaqueductalis szürkeállomány astrogliosisa észlelhető. Spongiform elváltozás ebben a formában nem mutatkozik.

Variáns CJB-ben spongiform elváltozás található a n. caudatus és a putamen területén, jellegzetes a florid plakk jelenléte a cerebrális és cerebelláris kortextben.

GSS esetén amyloid plakkok találhatók a cerebrumban és a cerebellumban, a plakkok a PrP degradációja során keletkező produktumból állnak. A PrP amyloid plakkok és diffúz depozitumok a cerebrális és cerebelláris kortex területén mutatkozó neuron pusztulással és gliózissal együtt észlelhetők.

Iatrogen CJB-ben az elváltozások változatosak. Dura mater graft átültetés esetén a kialakuló patológiai eltérések általában sCJB-ben észleltekhöz hasonlítanak. Humán

gonadotropin recipienseknél cerebelláris atrófia és kuru típusú plakkk található a cerebellumban.

Kuru esetén spongiform elváltozás található a cerebrális és cerebelláris cortexben. PrP depozitumok szinaptikus és perineuronális elhelyezkedésűek, továbbá jellegzetes a kuru plakkok megjelenése (Kovács GG, Budka H 2009 a).

II.8. Klinikai diagnosztika

A diagnosztikában jelentős segítséget nyújtanak a képalkotó eljárások. Az MRI vizsgálat (DWI –diffusion weighted imaging- és FLAIR –fluid attenuation inversion recovery- szekvenciákon) típusos jelintenzitás eltérést mutat. A cortexben mindkét féltekében (lehet aszimmetrikus is a megjelenés) és a nucleus caudatus, a putamen területén látható jelintenzitás fokozódás (Zerr et al., 2009). A rutin laborvizsgálati leletek és a rutin liquor vizsgálat lelete nem mutat eltérést, a gyulladásos markerek nem emelkedettek. A liquor 14-3-3 protein tartalma (neuronális károsodás markere), a tau protein és a neurospecifikus enoláz (NSE) tartalom emelkedett. EEG-vizsgálat jellegzetesen periodikusan ismétlődő bi- vagy trifázikus éeshullámokat mutat (PSWCs: periodic sharp-wave complexes).

II.9. Sporadikus CJB klinikopatológiai összefoglalása

Klinikailag a következő fenotípus variánsok különíthetők el:

- Heidenhain típus (kezdetben progresszív vizuális zavar a jellemző tünet, esetenként kortikális vakság is kialakulhat),
- Oppenheimer-Brownell típus (cerebelláris zavar, ataxia a lefontosabb jellemzők),
- továbbá megkülönböztetnek kognitív vagy affektív tünetekkel járó variánsokat (Kropp et al., 1999; Appleby et al., 2009).

A korszerű molekuláris felosztás alapján a betegség altípusai (Parchi et al., 1999) a 129 kodon genotípusa (MM, MV, VV) és a prion protein altípusa (PrP 1-es és 2-es) alapján különíthetők el.

A sCJB molekuláris altípusainak összefoglalása a **4., 5., 6.** táblázatokban látható.

4. táblázat: A sCJB molekuláris altípusai. (Parchi et al., 1996, 1999 a,b).

Történetileg elsőként készült molekuláris altípusok szerinti besorolás, 1996-ban 4 szubtípust különít el a szerző.

Altípus	A betegség kezdete (életkor években)	Kórlefolyás (hónap)
MM1	42-91	1-18
MV1	51-72	2,5-9
VV1	24-49	14-16
MM2	49-77	9-36

A következő, 1999-ben megjelent tanulmány már 6 altípust különít el. Parchi nagyszámú beteganyagon végzett vizsgálata szerint a kóros PrP fizikokémiai tulajdonságai (1-es és 2-es típus) a *PRNP* gén 129-es codon genotípusával együtt határozza meg a sporadikus CJB fenotípusos variabilitását és teszi lehetővé a molekuláris klasszifikációt.

Időrendben a következő (2011-ben és 2012-ben közölt) besorolás már 9 altípust különít el a molekuláris altípus, hisztológiai jellemzők és a klinikai fenotípus jellegzetességeit figyelembe véve. Lásd 5. és 6. táblázatot. Ez utóbbi főként a klinikai jellemzőkre fókuszál.

5. táblázat: sCJB molekuláris altípusainak nomenklatúrája és a fontosabb klinikai jellemzők (Parchi et al., 2011)

Molekuláris típus	Hisztológiai típus	Összes eset (%)	Életkor a betegség kezdetekor (év)	A betegség lefolyásának időtartama (hónap)
MM/MV1	Diffúz szinaptikus depozitumok	40	70,1(48-86)	4,0(1-24)
VV2	Perineuronális és cerebelláris plakk jellegű depozitumok	15	64,5(45-83)	6,3(3-18)
MV 2K	Kuru plakkok	8	65,4(48-81)	15,8(5-48)
MM/MV 2C	Kortikálisan konfluáló vakuolák	~1	67,8(61-75)	20(12-36)
MM 2T	Thalamus és oliva atrófia	~1	52,3(36-71)	15,5(8-24)
VV1	Cortico-striatalis szinaptikus depozitumok	~1	39,3(24-49)	15,3(14-16)
MM/MV 1 + 2C	Kevert diffúz szinaptikus depozitok és kortikálisan konfluáló vakuolák	28	68,6(42-89)	4,0(1-26)
MV 2K + 2C	Kevert kuru plakkok és kortikálisan konfluáló vakuolák	~3	nincs adat	nincs adat
VV 2 + 1	Kevert perineuronális cerebelláris plakk-szerű depozitumok és cortico-spinalis szinaptikus depozitumok	~3	69,3(59-85)	6,5(3,5-13)

6. táblázat: sCJB molekuláris altípusainak nomenklatúrája és a fontosabb klinikai jellemzők (Parchi et al., 2012)

Molekuláris altípus	Klinikai fenotípus jellemzők
MM/MV1	Rapidán progrediáló demencia, myoclonus. Ataxia már a kezdetnél jelentkezik az esetek 50%-ában, vizuális zavar 30 %-ban. EEG-n gyakori a PSWC. Liquor 14-3-3 protein szintje emelkedett. MRI: basalis ganglionok és a cortex érintett.
VV2	Ataxia gyakori a betegség kezdetekor, melyet követ a demencia a későbbi időszakban. Tipusos esetben az EEG nem mutat PSWC-t. Liquorban 14-3-3 protein szint emelkedett. MRI: a leggyakrabban a basalis ganglionok, thalamus érintett.
MV 2K	Ataxia és a demencia a legfontosabb tünetek. A betegség lefolyása hosszú, akár két év is lehet. Tipusos esetben az EEG-n PSWC nem mutatkozik. A liquor 14-3-3 protein tartalma az esetek 60%-ában emelkedett. MRI: a basalis ganglionok, thalamus érintett.
MM/MV 2C	Kognitív zavar, myoclonus és pyramisjelek jellemző. Az ataxia nem gyakori. Tipusos esetben az EEG-n PSWC nem mutatkozik. Liquor prot. 14-3-3 tartalma a legtöbb esetben emelkedett. MRI: corticalisan kiterjedt szignálintenzitás fokozódás.
MM 2T	Alvásképtelenség és pszichomotoros hyperaktivitás jellemző a legtöbb esetben. Ataxia vagy egyéb motoros tünet lehetséges. Tipusos esetben PSWC nem látható az EEG-n. A liquor 14-3-3 tartalma az esetek nagy részében nem emelkedett. MRI: jelentős eltérés nincs, de MR spektroszkópiával thalamicus gliózis igazolható.
VV1	Progresszív demencia, majd myoclonus és pyramisjelek jelentkeznek. EEG nem mutat PSWC-t. Liquor prot. 14-3-3 teszt rendszerint pozitív. MRI: kiterjedt kérgi érintettséget jelez.
MM/MV 1 + 2C	A tünetek a PrP ^{Sc} 1-es vagy 2-es típus depozitumok relatív túlsúlyától függenek. Az esetek nagy része hasonló MM/MV1-hez
MV 2K + 2C	nincsenek adatok
VV 2 + 1	VV2-höz hasonló tünetek: ataxia, demencia

Amint látható, a sCJB MM1 és MV1 szubtípusaiban a legrövidebb a betegség lefolyási ideje, míg a legalacsonyabb életkor a betegség kezdetén VV1 szubtípusban észlelhető. A táblázatokból az is kitűnik, hogy azokban az esetekben rövid a lefolyási idő, ahol már a betegség kezdetén észlelhető és gyorsan progrediál a demencia és myoclonus is észlelhető. Az EEG tipusos jelet csak az MM/MV1 esetén mutat.

A WHO a felügyeleti rendszerek részére (Surveillance) a sCJB diagnózisának felállítását kritériumok szerint szabályozza (lásd alább).

A sCJB diagnosztikai kritériumai WHO szerint:

Definitív CJB: neuropatológiai vizsgálattal és/vagy immunhisztokémiai vizsgálattal és/vagy Western blot vizsgálattal

Probable (valószínű) CJB:

- I (rapid demencia) + a II közül 2 valamelyik + III vagy IV

- possible + 14-3-3 protein pozitivitás

Possible (lehetséges) CJB:

-I (rapid demencia) + a II közül 2 valamelyik + 2 évnél kevesebb kórlefolyás (akinetikus mutismus kialakulása)

I: rapidan progrediáló demencia

II: myoclonus, vizuális vagy cerebelláris zavar, pyramidális vagy extrapyramidális zavar, akinetikus mutismus

III: tipusos EEG

IV:szignálintenzitás fokozódás a n. caudatus/putamen területén (MRI)

II.10. Genetikai és szerzett prionbetegség klinikopatológiai összefoglalása

-Genetikai Creutzfeldt-Jakob betegség (gCJB)

Ebbe a csoportba a prion protein gén (*PRNP*) mutációiból származó kórképeket soroljuk. A mutációs eseteknél is érvényes, hogy a kórkép klinikopatológiai fenotípusát befolyásolja a *PRNP* gén 129-es kodonjának polimorfizmusa és a kóros prion protein (PrP^{Sc}) molekuláris tulajdonsága. Ebből következik, hogy azonos mutáció esetén is lehet eltérő a fenotípus, ha különböző a 129-es kodon genotípusa és/vagy különböznek a proteáz rezisztens prion protein fiziko-kémiai tulajdonságai (Puoti et al., 2000). A klinikai képhasonló a sporadikus esetekhez. A gCJB klinikai és hisztopatológiai spektruma jelentős hasonlatosságot mutat a sCJB-ben észleltekhöz, (a betegség kezdetekor észlelt életkor, a lefolyás időtartama, klinikai megjelenés, EEG-változások tekintetében). Néhány mutáció esetén azonban korábbi a betegség kezdete, mint sCJB-ben.

A betegek átlagos életkora a betegség kezdetekor 62 év, az átlagos betegség lefolyás időtartama 5 hónap. A vizsgálatok az E200K mutáció homozigóta eseteiben szignifikánsan korábbi indulást találtak (Simon et al., 2000), de a tünetek nem voltak

jelentősen eltérőek a két csoportban. Kezdeti tünetek: kognitív zavar, pszichiátriai zavar (80-83%). A pszichiátriai zavarok prodromalis jelenséggént a CJB-betegek 18-39%-ában megjelennek szorongás, alvászavar formájában (Shoudu et al., 2001). Az ataxia és a myoclonus gyakori, az egyéb mozgászavarok kisebb gyakorisággal fordulnak elő (Oren et al., 2012). A cerebelláris tünetek 43-55%, vizuális zavarok 19%, a myoclonus 19%-ban fordulnak elő. A terminális fázisban a demencia 100%-ban, a myoclonus 73%-ban, epilepsziás roham 40%-ban, típusos EEG aktivitás (PSWC) 76%-ban, liquor 14-3-3 protein pozitivitása 80%-ban fordul elő (Brown et al., 1991; Ladogana et al., 2009).

-Örökletes halálos alvászéptelenség (fatal familial insomnia-FFI)

FFI esetében az induláskor észlelt átlagéletkor 45 év, a lefolyás 129-es kodon homozygota esetén 8-11 hónap, míg heterozygota esetben 72 hónap is lehet. A fenotípus nem ahhoz a kodonhoz kötődik, amely a mutáns, hanem egy másik polimorfizmust mutató kodonhoz. A D178N mutáció esetén FFI alakul ki, ha a 129-es kodonnál M kódolódik, azonban gCJB alakul ki, ha a 129-es kodon valint kódol. A betegség sporadikus formája (sFI) ritkán fordul elő.

Klinikailag jellemző az alvás-ébrenlét ciklus zavara, vegetatív zavarok, hyperpyrexia, diplopia, myoclonus, nem annyira demencia, mint inkább tudati alteráltság, oneroid állapotok, eljátszott álmotartalmak megjelenése észlelhető (Gallassi et al., 1996). A liquor tau- és 14-3-3 protein vizsgálata gyenge pozitivitást mutat, plazma katecholamin szintje és kortizol szintje emelkedett. Poliszomnográfias vizsgálattal észlelhető elváltozások a következők: a lassú hullámú alvás drasztikusan csökken, illetve eltűnik, REM-periódusban az izomtónus megtartott. Neuropatológiai értelemben a thalamikus magvak súlyos atrófiája látható. Ugyancsak atrófia alakul ki az oliva inferiorban. Kifejezett mértékű neuronvesztés, asztroglíózis észlelhető spongiform átalakulás nélkül (Taratuto et al., 2002; Gambetti et al., 1995, Chapman et al., 1996).

-Gerstmann-Sträussler-Scheinker betegség (GSS).

A kórfolyamat lényege a prion proteinnek a degradációs folyamatban létrejövő amyloid jellegű átalakulása (Ghetti et al., 1988). Tünetileg jellemző a betegségre a progresszív

cerebelláris ataxia, akinetikus parkinsonizmus, pyramisjelek, valamint már a betegség kezdetekor kialakuló kognitív zavarok. Neuropatológiai értelemben az amyloid plakkok megjelenése észlelhető az agykéregben, a bazális ganglionokban és a kisagyban. Ritka előfordulású betegség (2-5/100 millió fő/ év).

Leggyakoribb haplotípus a P102L-129M, az ataxia mellett pseudobulbaris tünetek, dysarthria, szimpatikus túlműködés, viselkedési és kognitív zavarok jellemzőek. Képalkotó vizsgálatokkal cerebelláris atrófia mutatható ki, EEG vizsgálattal pszeudoperiodikusan megjelenő éles hullámok észlelhetők.

-Variáns Creutzfeldt-Jakob betegség (vCJB)

A betegség fiatalabbakat érint, átlagos életkor a betegség kezdetekor 28 év. A kezdeti tünetek pszichiátriai jellegűek: szorongás, emocionális labilitás, depresszió. Jellemzőek a szenzoros zavarok: dysaesthesia, paraesthesia, fájdalom, mozgászavarok: myoclonus, choreiform jellegű mozgás alterációk, majd a betegség előrehaladott fázisában demencia, akinetikus mutismus alakul ki. MRI képalkotással DWI és FLAIR szekvencián a posterior thalamusban és a pulvinarban, mutatkozik jelintenzitás fokozódás. EEG-vizsgálattal atipusos lassú aktivitás észlelhető, csak kevés esetben látható PSWC. A liquor 14-3-3 protein tesztje pozitív, a liquorban mért tau-szint emelkedett.

Neuropatológiailag a posterior thalamus magvakban neuronvesztés és asztrocitózis látható, a lymphoid szervekben PrP^{Sc} akkumulálódik. Neuropatológiai szempontból fontos az úgynevezett florid típusú amyloid plakkok megjelenése. Fontos megjegyezni, hogy rizikótényezőként tarják számon a kodon 129 MM genotípust, valamint a vérátömlesztést, 55 évnél alacsonyabb életkort (Ward et al., 2006; Kovacs et al., 2009 b).

-Iatrogén Creutzfeldt-Jakob betegség (iCJB)

A szerzett prionbetegségek igen fontos csoportja a vCJB és a kuru mellett (Will, 2003). Általában orvosi tevékenység, idegsebészeti beavatkozás során történik a prionbetegség átvitele egyik személyről a másikra.

A klinikai tünetek közül a cerebellaris ataxia emelhető ki, a demencia nem feltétlenül jelenik meg (ha igen, akkor inkább csak a betegség későbbi fázisában). Mivel itt a lymphoid szervek érintettsége hiányzik, a iatrogen JCB különbözik a vCJB-től.

Rizikótényezőként az expozíció mellett a kodon 129 MV genotípust tartják számon. Dura mater graft esetén rövid inkubációs időt észleltek. Humán gonadotropin alkalmazásából származó iCJB esetén a klinikumot a progresszív cerebelláris ataxia és a demencia jellemzi, a demencia később jelenik meg a betegség lefolyása során (de hiányozhat is).

-Kuru

A Pápua Új Guineában 1940-ben kialakult epidémiát kannibalisztikus szertartásokhoz kötik (Alpers 2008 ; Manuelidis et al., 2009). Az esetszám 200 feletti, az inkubációs idő sokszor meghaladta a 10 évet is. A feltételezések szerint az epidémia kezdete egy sporadikus CJB esethez kapcsolódhat. A legfontosabb klinikai jellemzők:

- a koordináció és a
- poszturális stabilitás zavara,
- dysarthria,
- progresszív jellegű ataxia,
- choreoathetosis és
- a demencia.

Rizikótényezőként a kodon 129 MM genotípust, az epidémiával szembeni egyfajta rezisztencia faktorként a 129 MV genotípust és a *PRNP* G127V mutációt tudták bizonyítani (Mead et al., 2009).

III. CÉLKITŰZÉSEK

III.1. A prionbetegségekkel összefüggő differenciáldiagnosztikai problémák elemzése

A gyakorlatban jól ismertek a prionbetegségek klinikai diagnosztikájának nehézségei. A WHO kritériumrendszere szerint a definitív diagnózis felállítása neuropatológiai vizsgálattal és/vagy immunhisztokémiai vizsgálattal és /vagy Western blot vizsgálattal igazolt proteáz rezisztens PrP alapján lehetséges (Kovács et al., 2007; WHO;2003). Jelen dolgozat egyik témaköre a prionbetegségek felügyeleti rendszeréhez kerülő kórképekkel összefüggő leggyakoribb differenciáldiagnosztikai problémák aspektusainak számbavétele.

III.2. Az E200K mutációs esetek klinikopatológiai fenotípusainak meghatározása

Magyarországon a leggyakoribb *PRNP* mutáció az E200K. Célunk, hogy az E200K mutációs esetek klinikopatológiai fenotípusát elemezzük, meghatározzuk a korai klinikai kép prediktív értékét, illetve összehasonlítsuk a leggyakoribb sporadikus CJB molekuláris altípussal (sCJBMM-1).

III.3. Az E200K mutációs esetekben előforduló proteinopathiák jellemzése

Az E200K mutációs esetek komplex proteinopathiaként történő jellemzése. Azt elemeztük, hogy a kóros prionfehérje mellett milyen formában fordul elő tau-pathologia, továbbá A- β és α -synuclein lerakódás.

III.4. Piroglutamát A- β oligomerek elemzése E200K mutációs esetekben

Az E200K mutációs esetekben elemeztük, hogy Alzheimer kórral összehasonlítva az A β pE3 oligomerek szintén észlelhetők-e az E200K gCJB esetekben, továbbá, hogy ezek aránya az A β lerakódásokhoz viszonyítva különbözik-e az Alzheimer kórhoz képest.

III.5. Heredodegeneratív kórkép etiológiájának tisztázása és karakterizálása

Az örökletes neurodegeneratív kórképek elemzése során felfigyeltünk egy ritka heredodegeneratív kórképre. Egy családban két fiútestvér esetét vizsgáltuk, akiknél nagyon hasonló tüneti lefolyás és súlyos progresszió mutatkozott. Szisztémás neuropatológiai vizsgálatot és genetikai vizsgálatot végeztünk, hogy meghatározzuk a kórképet.

IV. MÓDSZEREK

IV.1. Retrospektív klinikai adatgyűjtés

A tudományos vizsgálatok során alkalmazott módszerek között az idő dimenziót alapul véve megkülönböztetünk:

1. keresztmetszeti vizsgálatot (cross sectional study), amelyben egyszeri alkalommal, egy adott időpontban rögzített állapot a vizsgálandó;
2. longitudinális (követéses, follow up study) vizsgálatot, ahol *a.*: trend vizsgálat keretében egy általános populáción belüli változásokat követjük, *b.*: kohorsz vizsgálatban specifikus tulajdonságokkal rendelkező populációban vagy részpopulációban a minta időbeli alakulását követjük, *c.* panel vizsgálat során sorozatban vizsgáljuk a populáció ugyanazon egyedeit;
3. prospektív vizsgálatot (lényegében ilyen típusúak a természettudományos kísérletek is), ahol a méréseket és/vagy megfigyeléseket a vizsgálat során végezzük, a keletkező adatok ennek a tevékenységnek a produktumai;
4. retrospektív vizsgálatot, melynek során az elemzés időpontjához viszonyítva megelőző eseményekkel, korábban keletkezett adatokkal dolgozunk.

A tudományos vizsgálatokban alkalmazott stratégiákat tekintve számszerűen mérhető (kvantitatív) információk gyűjtése történhet. A kvalitatív jellegű kutatásban nem evidens kauzális összefüggések feltárása, egy adott probléma megértésének előmozdítása lehet a cél (például induktivitás vagy az interaktivitás módszerét alkalmazva). A tudományos vizsgálatok fontos része a konceptualizálás, amelynek során rögzítenünk kell, hogy adott terminuson, kifejezésen, fogalmon mit értünk, kijelöljük azt a határt, amelyet a jelentés felölel (Majoros, 2004; Pakai, Kivés 2013).

Munkánk során mi a retrospektív klinikai adatgyűjtés módszerét alkalmaztuk.

A Semmelweis Egyetem Neuropatológiai és Prionbetegség Referencia Központ anyagából olyan gCJB eseteket gyűjtöttünk össze, amelyek a genetikai vizsgálat során E200K mutációnak bizonyultak. Az eseteket referáló intézmény által küldött orvosi dokumentáció (halotti epikrízis, kórrajz – és az ezekben feltüntetett klinikai adatok,

eszközös vizsgálati eredmények) feldolgozása retrospektív módszerrel történt. Minden esetben felüntettük a következő adatokat: életkor, nem, genetikai prionbetegségre vonatkozó családi anamnézis, a betegség lefolyásának időtartama hónapokban megadva.

A klinikai adatok közül az EEG, a protein 14-3-3, MRI és a kodon 129-es vizsgálattal kapcsolatban rögzítettük, hogy a vizsgálat megtörtént-e, ha igen, akkor milyen eredménnyel. Ahol nem volt vizsgálat, ezt külön jelöltük, a vizsgálat leletét pozitívként jelöltük, ha az EEG PSWC-t, az MRI a basalis ganglionok területén vagy a cortex területén jelintenzitás eltérést (fokozódást) mutatott. Negatívnak jelöltük a leletet, ha gCJB-re specifikus eltérés nem volt. A kórrajzok retrospektív feldolgozása során olyan klinikai tüneteket különítettünk el, melyek az irodalmi adatok szerint is gyakoriak, jellemzőek (epilepsziás roham, demencia, akinetikus mutismus) az E200K mutációs esetekre; illetve ellenkezőleg, ritkának (perifériás neuropátia) számítanak.

Minden esetnél jelöltük az adott tünet meglétét vagy hiányát, továbbá korai és késői tüneteket különítettünk el annak alapján, hogy a tünet mikor jelent meg. Az E200K mutációs esetek klinikopatológiai fenotípusának vizsgálatakor készült munkánkban a tünetet koraiként jelöltük akkor, ha az első neurológiai vizsgálat során észlelték vagy a kórkép indulásakor jelentkezett első tünetként, még a hospitalizáció előtt. Későinek határoztuk meg a tünetet, ha a kórlefordulás során később alakult ki. Az adatokat a statisztikai feldolgozás számára táblázatos formában rögzítettük. A beteg kórtörténetét összefoglaló orvosi dokumentáció alapján (kórrajz, halotti epikrízis) összegyűjtöttük a klinikus orvos által leírt tüneteket. Természetesen a beteg állapotának jellemzése, a tünetek leírása magában hordoz bizonyos mértékű szubjektivitást. A klinikumban többfajta kifejezést alkalmazhatnak egy bizonyos tünet leírására, jellemzésére. Ezért összegyűjtöttük, konceptualizáltuk az adott tünetre alkalmazott kifejezéseket, terminusokat, melyek a tünet, állapot megragadására szolgálnak. Ezeket a következőkben ismertetjük:

Ataxia: végtagi és törzsataxia, járászavar, állás- és járásképtelenség, széles alapú járás, spinális ataxia.

Demencia: kognitív deficit, mentális képességek romlása, deteriorizáció, memória zavar, mentális meglassultság, mnesztiko-intellektuális hanyatlás.

Parkinsonizmus: végtagi rigiditás, rigoros tónusfokozódás, hipokinézis, hypomimia, nyugalmi tremor, axiális tünetek, pulsios tendentia, csoszogó járás.

Pyramistünetek: fokozott reflexek (hyperreflexia), hemiparesis, spasticitás, centralis facialis paresis, Babinski tünet.

Szédülés: az egyensúly zavara, vertigo, járási és tartási bizonytalanság, instabilitás.

Neuropátia: alsó végtagi érzészavar (hypoesthesia, paraesthesia), alsó végtagi ataxia, miográfiás, neurográfiás vizsgálattal vagy biopsziás vizsgálattal igazolt neuropátia.

Dystonia: akaratlan végtagi mozgások, paratonia, orofacialis dyskinesis, athetoid dyskinesis, felső végtagot érintő fokális dystonia, egyéb dyskinesiak.

Hangulati zavar: deprimált hangulat, feszültség, anxietas, nyugtalanság, dysthymia, változékonny hangulat, levertség, alvászavar, insomnia (következményes fáradtság, bágyadtság), halálfélelem.

Beszédzavar: dysarthria, elkent beszéd, a beszéd megértésének zavara, perseveratio, töredezett beszéd, a fluencia zavara (aphasiform beszédzavar).

Személyiség változása: anosognosia, a viselkedés változása, inadekvát félelmi reakciók, dühkitörések, agresszivitás, az iniciatíva csökkentebb szintje, frontális és temporális tünetek, mérsékelt emocionális rapport készség, paranoid gondolatok, ellenségesség, a kritikai érzék hiánya, agitáltság.

Memória deficit: a rövidtávú memória zavara, az emlékezet általános zavara, csökkent felidézési képesség, feledékenység.

Tremor: fej-, törzs-, ajak-, kézuji tremor, intenciós tremor, statikus vagy posturalis tremor.

Vizuális zavar: diplopia, a látásélesség romlása, vizuális hallucinációk, opticus apraxia, kortikális vakság, hemianopia.

Epilepsziás roham: fokális (motoros, szenzoros, vizuális, vertiginosus) vagy grand mal roham, nem motoros jelenségek (például elhúzódó aura állapot).

Myoclonus: myoclonusok a mimikai, perioralis vagy a vázizomzatban,

Akinetikus mutismus: részleges (részleges mozgások és kontaktus a környezettel) vagy komplett (nincs reakció a környezet ingereire) akinetikus mutismus.

Zavartság: a pszichés folyamatok egységének sérülésével járó állapot, delirosus, ködös, tájékozatlansággal, nyugtalansággal járó állapotok.

Incontinentia: a széklet vagy a vizelet visszatartásának zavara.

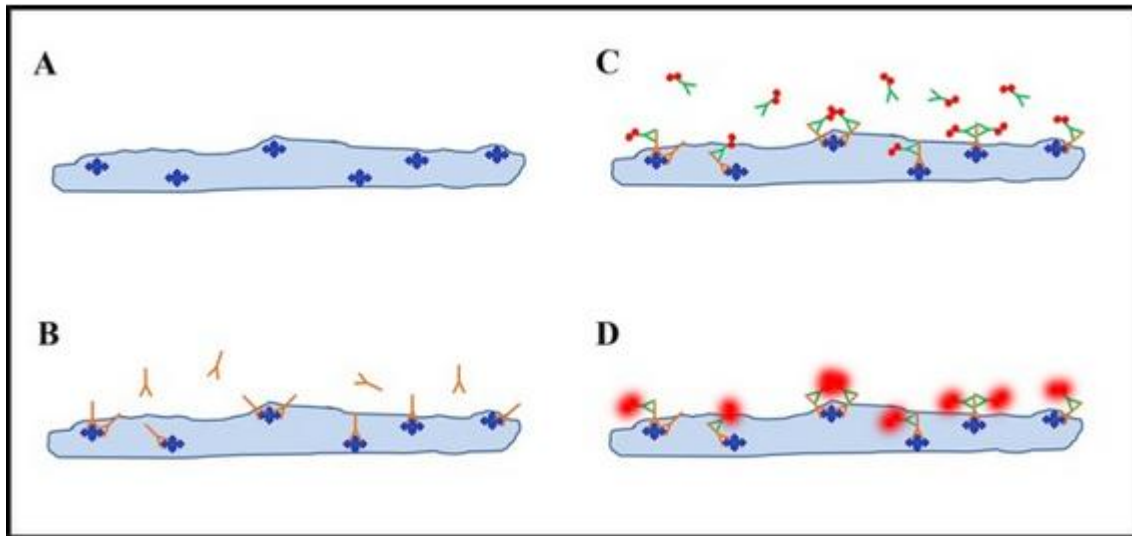
Somnolentia: a tudat vigilitási niveau-jának váltakozása, aluszékonyság.

Tekintészavar: a vezetett vagy command jellegű szemmozgások bármely irányú gyengesége, korlátozottsága.

IV.2. Immunhisztokémiai vizsgálat

Az általunk alkalmazott immunhisztokémiai vizsgálat leírása előtt a definíció és röviden az elméleti alapokról (forrásként a következő anyagot használtam fel: <http://elte.prompt.hu/sites/default/files/tananyagok/szovettan/ch03s12.html> 3. fejezet).

Az immunhisztokémia olyan módszer, amely szöveti vagy sejten belüli molekulák jelenlétének és lokalizációjának kimutatására alkalmas az antigén-antitest kötés felhasználásával. Az antigén-antitest kötés mikroszkópos vizsgálatát enzimek vagy fémkolloidok színes termékeket létrehozó katalitikus reakciója, vagy fluorokrómok teszik lehetővé. Az immunhisztokémia módszerével főként fehérjéket és glikoproteineket detektálunk.



3. ábra: Az immunhisztokémiai vizsgálatokban használt komplex elvi felépítése

	Magyarázat: Antigénként szereplő, fixált protein: kék színű, fordított V alakú jel Az antigénhez specifikusan kötődni képes elsődleges antitest: zöld színű, fordított Y alakú jel A jelölő anyagot hordozó szekunder antitest: sárga színű, fekvő Y alakú jel forrás: http://elte.prompt.hu/sites/default/files/tananyagok/szovettan/ch03s12.html (3. fejezet)
--	--

4. ábra: antigén, antitest, jelölő anyag komplexének elvi felépítése

Munkáink során a kóros prion protein kimutatására alkalmazott immunhisztokémiai vizsgálatokat a következő lépésekben végeztük el.

1. A blokkokat 98 %-os hangyasavban történő áztatást követően vízben átmostuk és formalinba helyeztük;
2. 5 µm vastagságú metszeteket használtunk, a megfelelő mértékű tapadás elérése érdekében poly-L-lysine (Sigma-Aldrich), Vectabond (Vector) vagy szilán bevonattal

rendelkező (Dako) lemezeket alkalmaztunk; a metszeteket vizes atmoszféra követően pikrinsavba helyeztük (15 perc), majd ismételt vizes öblítés történt;

3. Ezután 3 %-os hidrogén-peroxid oldatba helyeztük a metszeteket az endogen peroxidáz blokkolása céljából (30 perc), majd vizes átöblítést végeztünk;

4. Desztillált vízben autoklávba helyeztük (121 °C fokon 10 perc), a lehűlést követően

5. 96 %-os hangyasav oldatba helyeztük a metszeteket (5 perc), majd vizes atmoszféra történt;

(Az epitóp feltárás antitestenként különböző. Az általunk használt antitesteket, a hígítás mértékét és az antigén feltárás hőmérsékletét a 7. táblázatban tüntetjük fel.)

6. Guanidin tiocianát oldatban kezeltük a metszeteket (4 °C fokon 2 órán át) és vizes, majd tris-pufferes öblítés (TBS pH =7,6) következett;

7. Sertés szérum alkalmazása történt a nem specifikus kötőhelyek blokkolása céljából (10 perc);

8. Elsődleges antitesttel történő inkubálás, melynek ideje a típustól függően 30 perctől 12 óráig terjedően tart, ezt követően kétszer 5 perces TBS-el történő atmoszféra következett;

9. Ezt követően biotinilált másodlagos antitesttel történő inkubálás (30 perc) következett, a másodlagos antitest: nyúl-anti-egér, kétszer 5 perces TBS-el történő atmoszféra után;

10. Avidin-biotin komplex volt a következő lépés (30 percen át), (Amersham Life Science, Sigma-Aldrich, Dako), melyet TBS-el történő öblítés követett ismét;

11. Diaminobenzidin-tetrahidroklorid (DAB, Fluka Chemie AG, Dako) és Fast Red (Sigma-Aldrich) kromogén használatával értünk el barna, illetve vörös színű festődést a metszeteken.

7.táblázat: munkánk során használt antitestek, az egyes antitesteknél használt hígítás és az antigén feltárás hőmérséklete.

	Antitest	Hígítás	Inkubációs idő	Antigén feltárás hőmérséklete	Gyártó
PrP	Anti prion protein monoclonal antibody 12F10	1:500 pufferrel hígítva	1 óra nedves kamrában szobahőmérsékleten	121 °C-on 10 perc deszt.vízben	Cayman Chemicals
Tau	anti-human PMF-TAU (AT8) Monoclonal antibody pSer202/Thr 205	1:200 pufferrel hígítva		100 °C-on 10 perc feltáró oldatban	Thermo Scientific Pierce Biotechnology
α-syn	anti-human alpha synuclein monoclonal antibody 5G4 -anti- α -synuclein 4D6	1:2000 pufferrel hígítva 1:10,000		100 °C-on 10 perc feltáró oldatban	AJ Roboscreen Leipzig, Németország - Dedham, MA;USA
TDP-43	anti-phospho TDP-43 pS409/410-1 polyclonal antibody	1:1000 pufferrel hígítva		100 °C-on 10 perc feltáró oldatban	cosmo Bio co., LTD
AβpE3 oligomer	8C4 antibody	1:100 pufferrel hígítva		100°C-on 10 perc feltáró oldatban + 5 perc hangyasav (98%)	Kooperáció keretében Prof. T. Bayer, Göttingen
Abeta antitest	Anti-humán beta-amyloid (anti-A β) 6F/3D	1:100 pufferrel hígítva		1 perc hangyasav (98%)	Dako, Glostrup, Denmark

Szemikvantitatív score képzése: vizsgálatunk során „0”-val jelöltük, ha nem volt látható amyloid plakk a látótérben; „1”-es jelölést használtunk, ha nagyon kevés plakk (1-1) volt látható; „2”-vel jelöltük, ha néhány plakk volt a látótérben; „3”-assal jelöltük, ha sok; és „4”-es jelölést használtunk, ha nagyon sok plakk volt látható és ezek intenzíven festődtek.

IV.3. Prion genetikai vizsgálat

A DNS kivonása vérből történt. A *PRNP* kódoló szakaszának amplifikációját PCR technika segítségével végeztük. 35 ciklus volt 94⁰C-on egy percre, 72⁰C-on egy percre, illetve egy utolsó lépés 72⁰C-on 10 percre. A PCR reakciós elegy 50 µl, amelyben 100 ng DNS, 200 µM dNTP, 15 mM-os MgCl₂, 50 mM KCl, 10 mM TrisCl, (pH=8,3) 1 U taq polimeráz és 0,1 µM primer volt. A termék szekvenálása ThermoSequenase dye primer 7-deaza ciklus szekvenáló kit (Amersham Pharmacia Biotech) használatával történt négy átfedő szegmensben fluoreszcenciával jelölt primerekkel. A szekvenáló reakciót ALF Express DNS analízis rendszer (Amersham Pharmacia Biotech) analízálta.

IV.4. Statisztikai leírások

A különböző prionbetegség csoportok életkorának, illetve a kórlefolyás időtartamának összehasonlításában nemparaméteres módszert alkalmaztunk, mivel az egyes csoportokra a normál eloszlás nem feltételezhető (Mann-Whitney U-Test). Az egyes tünetek, illetve vizsgálati eredmények gyakoriságát pedig Chi² vizsgálattal hasonlítottuk össze. Szignifikánsnak azt az eredményt tartottuk, ahol a p érték 0.05 alatt volt.

V. EREDMÉNYEK

V.1. A prionbetegségekkel összefüggő differenciáldiagnosztikai problémák elemzése. Pellagra encephalopathia mint a CJB lehetséges differenciáldiagnóza.

Munkánkban olyan esetek elemzését végeztük el, amelyeket a klinikai tünetek, vizsgálatok alapján CJB-re gyanúsként utaltak a magyar Prionbetegség Referencia Központba. Az általunk vizsgált 59 esetből, melyek nem bizonyultak CJB-nek, ötnél neuropatológiailag pellagra encephalopathia igazolódott. A betegek életkora 40-48 év között volt a haláluk idején. A betegség lefolyása 2-24 hónap között váltakozott. Az öt esetből 1 nő, 4 férfi volt. A neuropatológiai vizsgálat kiterjedten előforduló chromatolytikus neuronokat talált. A klinikumra minden esetben jellemző volt a progresszív neuropszichiátriai zavarok előfordulása. A leggyakoribb neurológiai tünetek a következők voltak: állás-, járászavar, para- vagy tetraspaszticitás, extrapyramidális tünetek, incontinencia, myoclonus. A tüneteket retrospektív módon elemeztük a klinikai anyagban. 14-3-3 protein vizsgálat egy betegnél történt, a vizsgálat eredménye pozitív volt. Így a WHO klasszifikációs kritériumai alapján a probable (valószínű) CJB csoportba lehetett sorolni

Az általunk vizsgált esetek

Összesen 230 priongyanús esetet elemeztünk, az esetek klinikai és neuropatológiai vizsgálata 1998 és 2009 között történt. A betegeknél rapidan progrediáló demencia volt észlelhető a kórlefordulás során. Gyors lefordulást mutató demenciának tartottuk azt az esetet, ahol kevesebb, mint 36 hónap telt el az első tünetek észlelésétől a halálig. A liquor 14-3-3 protein vizsgálat csak 2005-től történik felügyeleti rendszerünkben. Neuropatológiai vizsgálat 223 esetben történt, ez az összes eset 97 %-a. Hét eset a surveillance kritériumok szerint mint valószínű (probable) sCJB volt minősíthető. 164 esetenél definitív prionbetegség igazolódott. Munkánkban azt az 59 (223-164) esetet (27 nő és 32 férfi) elemezzük, ahol a neuropatológiai vizsgálattal prionbetegség nem volt igazolható.

Az esetek diagnosztikus csoportokba sorolása

Az 59 eset neuropatológiai vizsgálatának eredményeként a következő diagnosztikus csoportok különültek el: neurodegeneratív betegség (NDD), tumoros folyamat (TU),

metabolikus háttérű kórkép (MET), vaszkuláris eredetű patológia (VASC), kórokozó által okozott vagy paraneopláziás encephalitis (ENC), kevert etiológiájú patológia (MIX). Az eseteket -ahol lehetett- surveillance kritériumok (WHO) szerinti „lehetséges” vagy „valószínű” csoportba soroltuk. **8.táblázat.**

8.táblázat : az általunk vizsgált (nem prionbetegségnek bizonyult) esetek diagnosztikus csoportokba történő sorolása. AK: Alzheimer kór, LBD: Lewy body disease, MSA: Multiple system atrophy, PSP: Progressive supranuclear palsy, FTLD-TDP: Frontotemporális lebeny degeneráció.

Csoport	Diagnózis	Eset	WHO krit. szerint	
			lehetséges	valószínű
NDD	AK	11	5	0
	LBD	6	4	0
	MSA	1	0	0
	PSP	1	0	0
	FTLD-TDP	1	0	0
TU	Primer cerebrális tumor	3	3	0
	Meningealis carcinomatosis	2	0	1
	Multiplex metasztázis	1	0	0
MET	Pellagra encephalopathia (+ vermis atrophia)	5	4	1
	Wernicke encephalopathia	1	0	0
VASC	Vascularis leukoencephalopathia	2	2	0
	Multiplex infarctus	6	3	0
ENC	Striatalis encephalitis (paraneoplasias)	1	1	0
	Meningoencephalitis (viralis vagy tuberculosus)	5	1	0
	Limbicus encephalitis (paraneoplasias)	1	0	1
MIX	AK + LBD	1	1	0
	AK + multiplex infarctus	4	4	0
	AK + vascularis leukoencephalopathia	1	1	0
	AK + meningealis carcinomatosis	1	1	0
	AK + metabolicus gliosis	1	0	0
	AK + encephalitis	2	1	1
	Cerebellaris degeneratio + multiplex infarctus	1	0	0
	Metabolicus gliosis + lacunaris infarctusok	1	1	0
Össz.		59	31	3

A halál időpontjában észlelt életkor ($\pm$ standard deviáció) $65,3 \pm 8,7$ év volt (alsó és felső életkori határ: 38-87). A betegség lefolyás átlagos időtartama (az első tünetek megjelenésétől): $9,3 \pm 8,7$ (range: 0,5-36 hónap).

Az 59 esetből a leggyakrabban előforduló kórkép a neurodegeneratív betegség volt (n=20, az esetek 33,8 %-a; átlagéletkor: $67,1 \pm 5,9$ év; átlagos betegség lefolyás: $13,7 \pm 10,2$ hó), a gyakoriság sorrendjében a következő csoport a cerebrovaszkuláris kórképek (n=8, 13.5 %; $66,4 \pm 7,7$; $3,6 \pm 2,3$), metabolikus eredetű betegségek (n=6, 10,1 %; $49,6 \pm 7,3$; $7,1 \pm 6,7$), encephalitis (n=7, 11,8 %; $70,1 \pm 6,4$; $3,5 \pm 2,6$), végül a tumoros betegségek (n=6, 10,1 %; $59,5 \pm 17,5$; $6,9 \pm 5,7$). 12 esetben észleltünk kevert jellegű neuropatológiai eltérést (20 %; $67,9 \pm 6,2$; $8,6 \pm 8,3$). Az adatokat táblázatos formában is feltüntetjük a **9. táblázatban**.

A WHO szerinti kritériumok alapján a „valószínű” sCJB csoportba 3 eset volt sorolható. A három eset közül neuropatológiailag 1 paraneopláziás encephalitisnek, 1 meningealis carcinomatosisnak, 1 pedig pellagra encephalopathianak bizonyult. 31 esetben klinikailag „lehetséges” sCJB minősítés volt alkalmazható. 25 esetben a besorolást nem tudtuk elvégezni, mivel nem történt EEG-, MRI- vagy liquor 14-3-3 protein szint vizsgálat.

9. táblázat: az egyes diagnosztikai csoportokba sorolt esetek száma és százalékos aránya az összes esethez (n=59) viszonyítva; átlagos életkor a halál idején években; az átlagos betegség lefolyás időtartama hónapokban.

Kórkép (esetszám)	Arány (%)	Átlagos életkor a halál időpontjában (év)	Betegség lefolyás (hónap)
NDD (n=20)	33,8	$67,1 \pm 5,9$	$13,7 \pm 10,2$
VASC (n=8)	13,5	$66,4 \pm 7,7$	$3,6 \pm 2,3$
MET (n=6)	10,1	$49,6 \pm 7,3$	$7,1 \pm 6,7$
ENC (n=7)	11,8	$70,1 \pm 6,4$	$3,5 \pm 2,6$
TU (n=6)	10,1	$59,5 \pm 17,5$	$6,9 \pm 5,7$
MIX (n=12)	20,3	$67,9 \pm 6,2$	$8,6 \pm 8,3$

A pellagra encephalopathia esetek klinikopatológiai jellemzése

A gyors progressziójú demenciával járó 59 esetből, melyeknél a prionbetegség nem igazolódott, ötnél diagnosztizáltunk neuropatológiai vizsgálattal pellagra encephalopathiat. Összehasonlítva a többi esettel, ezek a betegek szignifikánsan fiatalabbak voltak. A betegség lefolyás 2-24 hónapja során progresszív neuropszichiátriai tüneteket észleltek az orvosok. A leggyakoribb tünetek a kognitív deficit, magatartás zavar és testtartás-, valamint járászavar. Para- vagy tetraspaszticitás (extrapyramidális tünetekkel), inkontinencia 3 esetben jelentkezett. Két betegnél észleltek konvulziókat, ugyancsak két betegnél figyeltek meg myoclonust. Szenzoros zavar, afázia, kezelhetetlen diarrhoea egy-egy betegnél jelentkezett. Az EEG-vizsgálat egyik beteg esetében sem mutatott PSWC-t, diffúzan jelentkező lassú hullámokat regisztráltak, lásd **5. ábra**.

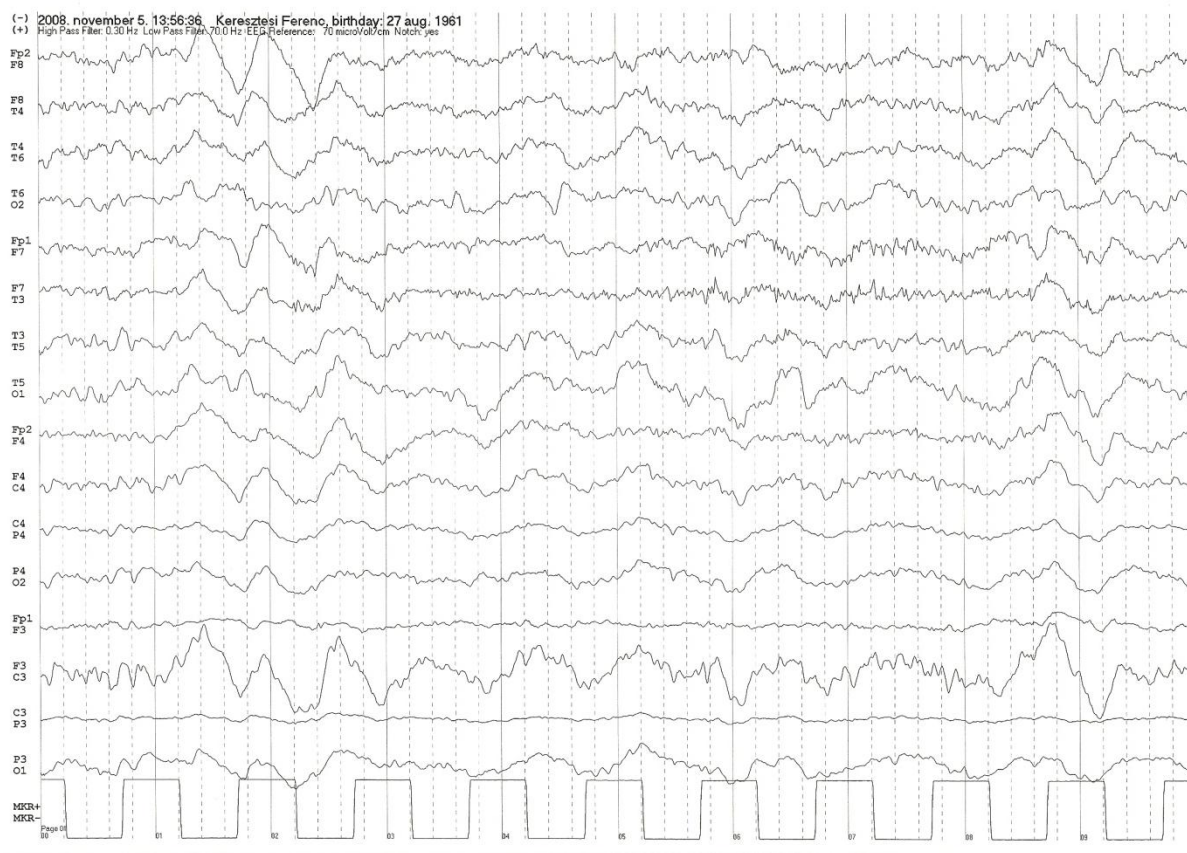
Liquorvizsgálat mind az öt betegnél normál referencia tartományba eső rutin paramétereket mutatott. Egy betegnél történt 14-3-3 protein vizsgálat, pozitív eredménnyel. A vizsgálatok eredményei és a klinikai tünetek alapján egy eset a „valószínű” sCJB csoportba volt sorolható a neuropatológiai vizsgálat előtt. Három esetben végeztek koponya MRI vizsgálatot, egyik esetben sem volt látható szignálintenzitás növekedés a stritatum vagy a thalamus területén. (lásd **10. táblázat**).

A neuropatológiai vizsgálat mind az öt betegnél egyöntetű képet mutatott (**6. ábra**). Chromatolyticus α -B-crystallin negatív neuronok voltak láthatók excentrikusan elhelyezkedő sejtmaggal. Az elváltozást mutató neuronok főként a neokortexben, thalamusban és az agytörzsi magvakban voltak megfigyelhetők. Argyrophil vagy ubiquitin immunoreaktív inklúziókat nem tudtunk kimutatni. Hiányoztak a neurodegeneratív betegségekkel kapcsolatos protein (α -synuclein, tau, TDP-43, A β , prion protein) lerakódások, továbbá a gyulladásos elváltozások, a neuropil spongiform átalakulása és a vaszkuláris léziók is. Nem mutatkoztak a betegeknél Wernicke encephalopathia hisztopatológiai jelei sem. Három esetben észleltünk jelentős mértékű Purkinje sejt pusztulást és atrófiát az anterior vermis területén.

10. táblázat: az öt pellagra encephalopathia eset klinikai adatai és a vizsgálati eredmények összefoglalása.

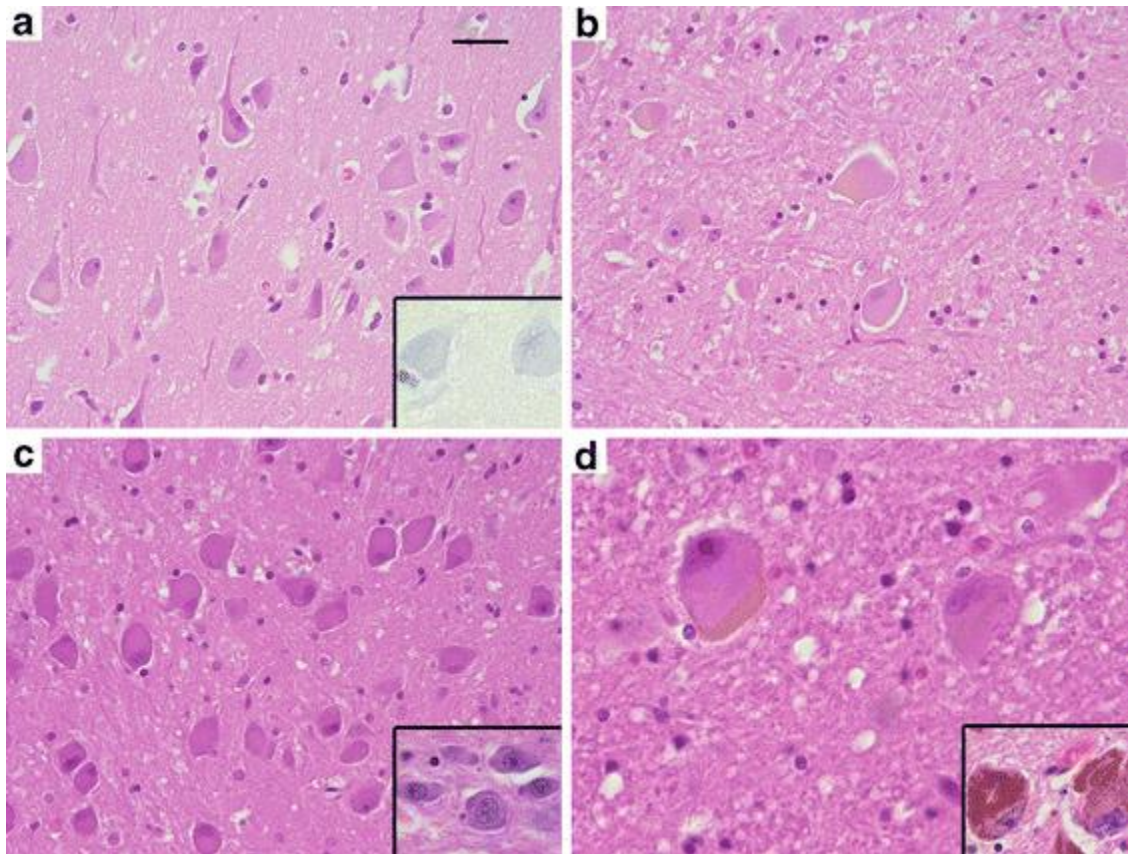
(nt:nem történt; steat.:steatosis hepatis)

Pellagra encephalopathia esetek	1.	2.	3.	4.	5.
Életkor a halál idején (év)	40	48	45	47	45
A halál ideje	2002	2003	2005	2009	2009
Nem (f:férfi, n:nő)	f	f	f	f	n
Kórlefolyás (hónapokban)	4	24	4	2	24
Alkohol abusus időtartama (év)	>5	>5	10	>15	>2
Progrediáló demencia	+	+	+	+	+
Tetra- vagy paraparesis	+	-	+	+	-
Ataxia	-	+	+	+	+
Dysarthria/dysphagia	+	+	-	-	-
Myoclonus	+	-	-	+	-
Rigor	+	-	-	-	-
Pyramis jelek	+	-	+	+	-
Incontinentia	-	+	+	-	+
Hallucinációk	-	-	+	+	-
Szorongás	-	-	+	-	-
Konvulziók	-	-	+	-	+
Tudatzavar	-	+	+	+	-
EEG: PSWC/trifázikus hullámok	-	-	-	-	-
MRI: szignál fokozódás (basal ggl)	-	nt	-	nt	-
Liquor 14-3-3 protein	nt	nt	nt	+	nt
Máj patológia	steat.	steat.	steat.	steat.	steat.
Chromatolyticus neuronok	+	+	+	+	+



5.ábra. Egyik pellagra encephalopathia esetünk EEG felvétele. Diffúzan meglassult elektromos tevékenység látható értékelhető oldaliság, fokális tünet vagy izgalmi tevékenység nélkül.

(a 9. táblázatban 4-es számmal jelölt beteg anyaga).



6. ábra: a 9. táblázatban 4-es számmal jelölt beteg hisztológiai vizsgálata

a: anterior cingularis cortex. A jobb alsó mezőben látható nagyítás jelzi a neuronok alpha-B-crystallin immunoreaktivitásának hiányát.

b: thalamus nucleus ventrolateralis

c: nuclei basis pontis. A jobb alsó mezőben összehasonlításként patológiai elváltozást nem mutató agyból készült hisztológiai kép a nuclei basis pontis-ről.

d: locus coeruleus. A jobb alsó mezőben összehasonlításként patológiai elváltozást nem mutató agyból készült hisztológiai kép a locus coeruleusról.

Összefoglalva, ebben a tanulmányunkban leírtuk a CJB leggyakoribb klinikai differenciáldiagnosztikai aspektusait és felhívtuk a figyelmet arra, hogy pellagra encephalopathia is utánozhatja CJB tüneteit.

V.2. E200K mutációs esetek klinikopatológiai fenotípusának meghatározása

Magyarországon a leggyakrabban előforduló *PRNP* mutáció az E200K (Glu200Lys) mutáció. Munkánk során ezen mutációhoz kötött prionbetegség klinikopatológiai fenotípusának meghatározását végeztük el. Kísérletet tettünk továbbá a korai klinikai tünetek prediktív értékének meghatározására. Amint az ismert, a klinikai fenotípus és a hisztopatológiai spektrum hasonló a sporadikus formákhoz. Az irodalmi közlések szerint a kodon 129 polimorfizmusa befolyásolja a betegség kialakulásának idejét és lefolyását. Vizsgálatunkban hetvenöt E200K mutációs eset klinikai fenotípusát és a tüneteknek a 129-es kodon genotípusával kapcsolatos viszonyát vizsgáltuk. Vizsgálatunk során összehasonlítottuk az E200K mutációs esetek és a sporadikus CJBMM1 típus (leggyakoribb sCJB altípus) klinikai fenotípusát. Ezt elvégeztük úgy is, hogy az E200K genotípusait (MM, MV) egy csoportként kezeltük, majd az MM és MV típust külön is összehasonlítottuk a sCJBMM1 típussal.

A Semmelweis Egyetem Neuropatológiai és Prionbetegség Referencia Központ anyagából olyan gCJB eseteket gyűjtöttük össze, amelyek genetikai vizsgálat során E200K mutációnak bizonyultak. 1994 és 2012 közötti időtartam során 75 olyan esetet találtunk, melyben igazolódott az E200K mutáció. Az eseteket beutaló intézmény által küldött orvosi dokumentációt (halotti epikrízis, kórrajz és az ezekben feltüntetett klinikai adatok, vizsgálati eredmények) retrospektív módszerrel dolgoztuk fel. A vizsgált esetek között a nemek aránya a következő volt: 28 férfi, 47 nő. Anyagunkban a vizsgált 16 sCJBMM1 eset közül 6 férfi, 10 nőbeteg volt. Minden esetben felüntettük a következő adatokat: életkor, nem, genetikai prionbetegségre vonatkozó családi anamnézis, a betegség lefolyásának időtartama hónapokban megadva. A klinikai adatok közül az EEG, a liquor protein 14-3-3 szint, MRI és a kodon 129-es vizsgálatokkal kapcsolatban rögzítettük, hogy a vizsgálatok megtörténtek-e, ha igen, akkor milyen eredménnyel. Ahol nem volt vizsgálat, ezt külön jelöltük. A vizsgálat leletét pozitívként jelöltük, ha az EEG PSWC-t, az MRI a basalis ganglionok területén vagy kortikálisan jelintenzitás fokozódást mutatott. Negatívnak jelöltük a leletet, ha gCJB-re specifikus eltérés nem volt. A kórrajzok retrospektív feldolgozása során 16 olyan klinikai tünet

különült el, mely az irodalmi adatok szerint is gyakori, jellemző (pl. epilepsziás roham, demencia, akinetikus mutismus) az E200K mutációs esetekre, illetve ellenkezőleg, ritkának (pl. peripheriás neuropathia) számít. Minden esetről jelöltük az adott tünet meglétét vagy hiányát, továbbá korai és késői tüneteket különítettünk el annak alapján, hogy a tünet mikor jelent meg. A tünetet koraiként jelöltük akkor, ha a beteg első neurológiai vizsgálatkor vagy kórházi felvételekor már észlelhető volt. Későinek akkor jelöltük a tünetet, ha a kórlefolyás során az első vizsgálat után hetekkel, azaz későbbi periódusban jelent meg.

A 75 E200K mutációs esetet a betegek halálának időpontjában észlelt életkor, a betegség lefolyásának időtartama, a klinikai tünetek jellege, gyakorisága szempontjából vizsgáltuk. Elemeztük a változók és a kodon 129-es genotípus kapcsolatát. A kodon 129 MM és MV genotípus aránya a vizsgált esetek között 57,3 % és 41,3% volt. A betegeknek a halál idején észlelt életkorát illetően nem találtunk szignifikáns különbséget az MM (57,95 év, range: 31-77) és az MV (58,45 év, range: 42-77) csoport között. Nem volt szignifikáns eltérés a betegség lefolyás időtartamában sem a két genotípus között, bár az MV csoportban hosszabb a lefolyás (MM:3,7 hó, MV:4,3 hónap). Lásd **11. táblázat**.

11. táblázat: az életkor és a betegség lefolyás időtartam összefüggése a genotípussal
E200K mutációs esetekben

129MM genotípus (N=35)							
kórlefordyas (hónap)	minimum	maximum	átlag	alsó kvartilis (25%)	medián	felső kvartilis (75%)	standard deviáció
	1	12	3,7	2	3	4	2,429
129MV genotípus (N=22)							
kórlefordyas (hónap)	minimum	maximum	átlag	alsó kvartilis (25%)	medián	felső kvartilis (75%)	standard deviáció
	2	7	4,3	2,75	4	6	1,919
p=0,151							

129MM genotípus (N=43)							
életkor a halál idején (év)	minimum	maximum	átlag	alsó kvartilis (25%)	medián	felső kvartilis (75%)	standard deviáció
	31	77	59,09	54	59	65	10,358
129MV genotípus (N=31)							
életkor a halál idején (év)	minimum	maximum	átlag	alsó kvartilis (25%)	medián	felső kvartilis (75%)	standard deviáció
	42	75	58,23	53,25	59	64,5	8,1
p=0,738							

A csoportok számtani átlaga és helyzeti középértéke (mediánja) között kismértékű eltérést találtunk. A kvartilisek elemzése azt mutatja, hogy a kórlefordyas 129MM esetén gyorsabb, a betegek 75%-a 4 hónapon belül hal meg, 129MV csoportban 6 hónapon belül. Az életkor tekintetében a két csoport között jelentős eltérést ezzel a módszerrel nem tudtunk kimutatni.

A férfiak és a nők csoportját összehasonlítva nem találtunk szignifikáns eltérést sem a betegség lefordyas időtartamának hosszát, sem a halál idején észlelt életkort tekintve. A

betegség lefolyás korai és késői időszakában kialakult tüneteket illetően a következőt találtuk.

A négy leggyakoribb korai tünet: ataxia, demencia, szédülés, vizuális zavar (az előfordulás százalékos aránya sorrendben: 61,3%, 44,0%, 26,7%, 25,3%.) A korai időszakban férfiaknál a vizuális zavar és az ataxia volt gyakoribb, míg a nőknél a szédülés, a hangulati zavar és a demencia. A késői tünetek között a gyakorisági sorrend: demencia, myoclonus, akinetikus mutismus, ataxia (54,7%, 46,7%, 34,7%, 33,3%).

12. táblázat: korai tünetek E200K mutációs esetekben (a négy leggyakoribb korai tünet: ataxia, demencia, szédülés, vizuális zavar)

Klinikai tünetek	összes eset	kodon 129 MM	kodon 129 MV	p
korai ataxia	46/68 (61,3%)	24/39 (61,5%)	21/28 (75%)	0,168
korai demencia	33/68 (44%)	18/39 (46,1%)	15/28 (53,5%)	0,363
korai Parkinson	4/68 (5,3%)	3/39 (7,7%)	1/ (28) (3,6%)	0,441
korai pyramis jel	12/68 (16%)	7/39 (17,9%)	4/(28) (14,3%)	0,479
korai szédülés	20/67 (26,7%)	9/39 (23,1%)	10/(27) (37%)	0,17
korai polyneuropathia	8/68 (10,7%)	5/39 (12,8%)	3/(28) (10,7%)	0,554
korai dystonia	9/68 (12%)	5/39 (12,8%)	4/(28) (14,2%)	0,569
korai hangulat zavar	13/68 (17,3%)	9/39 (23,1%)	4/(28) (14,2%)	0,283
korai beszédzavar	10/68 (13,3%)	3/39 (7,7%)	6/(28) (21,4%)	0,104
korai személyiség-változás	15/67 (20%)	9/39 (23,1%)	6/(27) (22,2%)	0,589
korai memoria deficit	16/68 (21,3%)	11/39 (28,2%)	5/(28) (17,8%)	0,247
korai tremor	9/68 (12%)	6/39 (15,4%)	3/(28) (10,7%)	0,431
korai vizualis zavar	19/68 (25,3%)	12/39 (30,7%)	7/(28) (25%)	0,407

Sem a korai, sem a késői tünetek között nem találtunk olyat, melynek előfordulási gyakorisága különbözött volna a két kodon 129-es genotípus csoportban (MM, MV). A négy tünet, amely a betegség teljes lefolyása alatt észlelhető volt: ataxia, demencia, parkinsonizmus, vizuális zavar. (**12. és 13-as táblázat**).

Férfiaknál a késői tünetek között gyakoribb a parkinsonizmus és az ataxia, míg nőknél a későbbi betegség periódusban a vizuális zavar és a myoclonus fordul elő gyakrabban. A differencia nem szignifikáns. A tünetek előfordulási gyakorisága nem különbözik lényegesen az irodalomban talált adatoktól. Az E200K mutációs eseteknél relatíve gyakori peripherias neuropathia aránya anyagunkban 10,7 %, ami -mint a többi tünet is- az MM és MV csoportban nem különbözik lényegesen. Nem különbözik a két csoport az elvégzett klinikai vizsgálatok (EEG, protein 14-3-3, MRI) pozitivitási arányát illetően sem, százalékos arány sorrendben: 49,3% (MM:61,8%, MV:60,0%), 62,7% (MM és MV:100,0%), 30,7% (MM:63,6%, MV:60,0%). Lásd **14-es táblázat**. Az összehasonlításhoz vizsgált 16 sCJBMM1 eset átlagos életkora a halál idején: 62,75 év (range: 50-76). A betegség lefolyás átlagos időtartama 3,18 hónap (range: 1-14).

13-as táblázat: késői tünetek E200K mutációs esetekben (a késői tünetek között a gyakorisági sorrend: demencia, myoclonus, akinetikus mutismus, ataxia)

Klinikai tünetek	összes eset	kodon 129 MM genotípus	kodon 129 MV genotípus	p
késői demencia	41/68 (54,7%)	23/39 (58,9%)	17/28 (60,7%)	0,545
késői ataxia	25/66 (33,3%)	18/38 (47,4%)	7/(27) (25,9%)	0,067
késői Parkinson	10/65 (13,3%)	4/37 (10,8%)	6/(27) (22,2%)	0,186
késői epi. roham	6/65 (8%)	3/37 (8,1%)	2/(27) (7,4%)	0,649
késői myoclonus	35/65 (46,7%)	19/37 (51,3%)	15/27 (55,5%)	0,469
késői tremor	2/65 (2,7%)	0/37 (0%)	2/(27) (7,4%)	0,174
késői vizuális zavar	6/65 (8%)	5/37 (13,5%)	1/(27) (3,7%)	0,188
akinetikus mutismus	26/65 (34,7%)	18/37 (48,6%)	8/(27) (29,6%)	0,101

14. táblázat: a genotípus és a klinikai vizsgálatok pozitivitási arányának kapcsolata E200K mutációs esetekben

Vizsgálat	Vizsgált esetek száma/összes	MM genotípus (vizsgálat pozitivitása %)	MV genotípus (vizsgálat pozitivitása %)
EEG készült	60/75		
EEG pozitív	37/75	61,80%	60,00%
14-3-3 készült	47/75		
14-3-3 pozitív	47/75	100%	100%
MRI készült	37/75		
MRI pozitív	23/37	63,60%	60%
Kodon 129 MM	43/74		
Kodon 129 MV	31/74		

Ezek az arányok alacsonyabbak az irodalomban talált adatoknál, azonban figyelembe kell venni, hogy a betegek egy részénél nem történt vizsgálat, illetve nem áll rendelkezésünkre a vizsgálati eredmény. Szignifikáns negatív korrelációt találtunk a beteg életkora és a lefolyás időtartama között (idősebb életkor rövidebb lefolyással kapcsolódik, amelyben szerepet játszhat az idősebb beteg polimorbiditása is). A nemek között nem találtunk szignifikáns eltérést az egyes változók tekintetében, habár a tünetek közül a Parkinson tünet gyakoribb volt a férfiaknál, főként a kodon 129 MV eseteknél. Anyagunkban 5 olyan eset fordult elő, ahol szupranukleáris tekintésbénulás alakult ki a kórlefejtés során (3 férfi és két nő beteg). Életkoruk 51 és 62 év között változott, a betegség lefolyásának időtartama esetükben 1 és 7 hónap között volt. Előfordult konjugált bulbus deviáció, vertikális irányú tekintési gyengeség és az összes tekintési irányban észlelt tekintési zavar. Periférás neuropathia 8 esetben volt megfigyelhető a betegek között (4 férfi és négy nő). Életkoruk 41 és 65 év között változott. Alsó végtagi disztális túlsúlyú érzészavart (hypoesthesia, paraesthesia) és alsó végtagi ataxiát figyeltek meg a klinikai tünetek között. Közülük elektrofiziológiai vizsgálatot (elektromyographia, elektroneurographia) egy esetben végeztek. A lelet szerint kevert (szenzoros és motoros) polyneuropathia volt igazolható. Egy másik esetben idegbiopsziás mintavétel is történt, a lelet nem specifikus axonális polyneuropathiát véleményezett.

Az E200K és az sCJBMM1 esetek klinikumának összehasonlítását először úgy végeztük el, hogy az E200K mutációs eseteknél a 129-es kodon genotípusokat (MM, MV) egy csoportnak vettük. Az összehasonlítás eredménye azt mutatja, hogy a két csoportban a betegség kezdetekor észlelt életkor tekintetében nincs különbség. A betegség lefolyásának időtartama viszont jelentősen különbözik egymástól. Átlagos életkor: E200K (129-es kodon MM,MV) /N=75/: 58,16 év, medián: 59. Átlagos életkor: sCJBMM1 /N=16/: 62,75 év, medián: 65. Átlagos betegség lefolyás: E200K (129-es kodon MM,MV) /N=58/: 3,9 hó, medián: 3. Átlagos betegség lefolyás sCJBMM1 /N=16/: 3,19 hó, medián: 2.

Lásd **15.és 16. táblázatot**

Szignifikáns különbség mutatkozott azonban a korai szakaszban jelentkező ataxia ($p=0,002$) és demencia ($p=0,027$) tekintetében az E200K csoport javára. Amennyiben az E200K eseteket 129-MM és 129-MV csoportra választva külön hasonlítottuk össze az sCJBMM1 csoporttal, akkor a következő eredményt kaptuk. Az elemzés szerint az E200K-129MM típusban is a korai fázisban jelentkező ataxia ($p=0,014$) és demencia ($p=0,053$) szignifikánsan gyakoribb, mint az sCJBMM1 csoportnál. Ugyanez az eredmény adódott, amikor az E200K-129MV típust hasonlítottuk össze az sCJBMM1 csoporttal. Ataxia esetén $p=0,002$, demencia esetén $p=0,024$. Továbbá azt találtuk, hogy nem szignifikáns mértékben, de parkinsonizmus gyakrabban fordul elő az E200K-129MV csoportban, mint sCJBMM1 esetében.

15. táblázat: az E200K (MM, MV) (N=75) csoport és a sCJBMM1 (N=16) esetek összehasonlítása a betegség kezdetekor észlelt életkor tekintetében. Nem mutatkozik szignifikáns különbség a két csoport között.

E200K (129MM, 129MV) N=75							
Átlagos életkor a betegség kezdetekor (év)	átlag	minimum	maximum	alsó kvartilis (25%)	medián	felső kvartilis (75%)	standard deviáció
	58,16	31	78	54	59	64,25	9,327
sCJBMM1 N=16							
Átlagos életkor a betegség kezdetekor (év)	átlag	minimum	maximum	alsó kvartilis (25%)	medián	felső kvartilis (75%)	standard deviáció
	62,75	50	76	54,25	65	69	8,473
p=0,106							

16. táblázat: az E200K (129-es kodon MM, MV) (N=58) csoport és a sCJBMM1 (N=16) esetek összehasonlítása a betegség lefolyásának időtartama szempontjából. Szignifikáns különbség mutatkozik a két csoportban a kórlefordulás idejét tekintve.

E200K (129MM, 129MV) N=58							
A betegség lefordulás átlagos időtartama (hónap)	átlag	minimum	maximum	alsó kvartilis (25%)	medián	felső kvartilis (75%)	standard deviáció
	3,9	1	12	2	3	6	2,241
sCJBMM1 N=16							
A betegség lefordulás átlagos időtartama (hónap)	átlag	minimum	maximum	alsó kvartilis (25%)	medián	felső kvartilis (75%)	standard deviáció
	3,19	1	14	1	2	3	3,391
p=0,031							

Összefoglalva, ebben a tanulmányunkban elemeztük a Magyarországon leggyakoribb E200K PRNP mutációs esetek klinikopatológiai fenotípusát. Bár a genetikai és a sporadikus csoport esetén észlelt kórlefordulás időtartama szignifikánsan eltért egymástól, felhívtuk a figyelmet arra, hogy a klinikai tünetek alapján –családi anamnézis hiányában- nem lehet biztonsággal az E200K genetikai CJB eseteket elkülöníteni a leggyakoribb sporadikus CJB molekuláris altípustól.

V.3. Az E200K mutációs esetek neuropatológiai jellemzése

Az E200K mutáció világszerte legelterjedtebb a *PRNP* gén mutációi közül. Mint arra már utaltunk korábban, klinikailag átfedő vonásokkal rendelkezik a sporadikus CJB-vel. Vizsgálatunkban a prionbetegséghez társult jelentős neuropatológiai elváltozások kimutatását tűztük ki célul. Különböző európai országokból származó 39 E200K mutációs eset klinikai, neuropatológiai és biokémiai feldolgozását végeztük el. Az eseteket CJB gyanújával küldték a felügyeleti rendszerhez a klinikai kritériumok alapján történő besorolás után. A posztmortem neuropatológiai vizsgálat igazolta a CJB-t. A klinikai és neuroradiológiai vizsgálatok adatait retrospektív módon gyűjtöttük be és összegeztük. 39 esetből 38 beteg klinikai adatai álltak rendelkezésre. A *PRNP* codon 129 analízise 36 beteg esetében történt meg. A halál idején észlelt életkor nem különbözött a kodon 129 genotípusaitól függően, azonban a betegség lefolyás időtartama hosszabb volt az MV esetekben, bár a differencia anyagunkban nem érte el a szignifikancia mértékét.

Klinikai tünetek összefoglalása

A leggyakoribb klinikai tünetek a következők voltak: demencia, ataxia, melyeket a myoclonus követett. Vertikális tekintési gyengeség az esetek 10,3 %-ában, polyneuropathia (axonális és kevésbé gyakran demyelinizációs) az esetek 15,4 %-ában szerepelt a tünetek között. Korai pszichiátriai tüneteket vagy viselkedés változást a betegek 1/5-ben írtak le. Koponya MRI vizsgálat lelete a betegek 1/3-ában állt rendelkezésre. A basalis ganglionok területén a betegek felénél észleltünk szignálintenzitás növekedést. A thalamus területén 4 esetben volt jelintenzitás fokozódás, közülük 2 esetében a jelfokozódás kifejezettebb volt, mint a basalis ganglionok területén. Ez a vCJB-nél ismert pulvinar jelre emlékeztetett. EEG-n trifázikus morfológiát mutató PSWC a betegek 43 %-ában mutatkozott.

Neuropatológiai elváltozások

Spongiform átalakulás, neuronvesztés és reaktív asztroglózis változatos mértékben, de minden esetben megfigyelhető volt. Vaszkuláris jellegű patológia infarktussal két esetben fordult elő. A spongiform átalakulás eloszlása viszonylag egyöntetű volt minden betegnél függetlenül a 129-es kodon genotípusától. A neocorticalis régiók, a

nucleus caudatus, a putamen és a thalamus magvak voltak a leginkább érintettek. A cortexben a mélyebb rétegek voltak gyakran involváltak, míg a hippocampalis régió, a subiculum és az entorhinalis cortex mutatta a legsúlyosabb károsodást. Figyelemre méltó, hogy minden esetben a cerebellaris cortex volt a leginkább megkímélt. A gliózis és a neuronvesztés követte a spongiform átalakulás mértékét, de meghaladta azt a thalamusban és különösen az agytörzsi magvakban. Neuron pusztulás és extracelluláris pigment gyakran volt megfigyelhető nem csak a substantia nigra területén, hanem a locus coeruleusban és a dorsalis raphe magban is. A substantia nigra szöveti károsodása közepes mértékű volt a 129-es kodon homozigóták (129-MM) 28 %-ában, illetve a heterozigóták (129-MV) 42 %-ában; súlyos mértékű károsodás volt a 129-es kodon homozigóták (129-MM) 14 %-ában és a heterozigóták (129-MV) 7 %-a esetében. Egy esetben láttunk súlyos kortikális károsodást, amely fehérállományi myelin veszteséssel, gliózissal járt. Ez megfelel a CJB panencephalopathias formájának. A 62 éves betegnél a betegség lefolyásának időtartama 14 hónap volt.

A proteinopathiák jellemzése

Prion protein

Immunfestéssel diffúz, illetve szinaptikus depozitumok, egyenetlen aggregátumok ábrázolódtak a neuropilben vagy a vakuolák körül, továbbá amyloid karakterisztikával nem jellemezhető plakkok, finom perineuronális immundepozitumok és intraneuronális lerakódások voltak láthatók. A kortikális régiókban laminaris hangsúlyozottságú PrP immunreaktivitás volt látható sok esetben. Szinaptikus és intraneuronális immundepozitumokat észleltünk az agytörzsi magvakban és más szubkortikális területeken. A régiók érintettsége nem volt szignifikánsan eltérő az esetek között, a szinaptikus PrP immunreaktivitás minden esetben megfigyelhető volt, azonban plakk-jellegű lerakódások és az intraneuronális PrP immundepozíció volt az uralkodó a 129-MV esetekben. Intraneuronális immunreaktivitás rendszerint az agytörzsi magvakban volt, továbbá feltűnt, hogy a cortexben a mélyebb rétegek érintettsége kifejezettebb volt. Az esetek többségében a cerebellumban a PrP immunoreaktivitás a molekuláris rétegre szorítkozott a felszínre merőleges sávszerű mintát kialakítva. Érdekes módon ezek az esetek kevésbé mutattak spongiform jellegű átalakulást a molekuláris rétegben és

kevésbé mutattak neuronvesztést a granuláris rétegben, ha összehasonlítjuk azokkal az esetekkel, ahol diffúz, szinaptikus PrP immunreaktivitás mutatkozott a csíkolat képződése nélkül.

Tau patológia

Három fajta mintázat volt elkülöníthető immunfestéssel (AT8 antitest alkalmazásával).

1. 36 esetben (93,3 %) apró neuriteket észleltünk, főként azokban a régiókban, melyek a szöveti károsodást mutatták (neuronvesztés, spongiform átalakulás). Ezt a gerincvelő hátsó szarvában is észleltük abban az egy esetben, amelyben a gerincvelő rendelkezésre állt.

2. 15 esetben (38,4 %) neurofibrilláris degenerációt észleltünk. További három esetben a neurofibrilláris kötegek jelenléte a dorsalis raphe magvak és a locus coeruleusra korlátozódott.

3. 13 esetben (33,3 %) olyan tauopathiák mutatkoztak, amelyeket nem tudtunk egyértelműen besorolni a klasszikus primer tauopathiák fenotípusaiba. Ezt a csoportot alcsoportokra osztottuk az anatómiai eloszlás alapján:

a. hat esetben neurofibrilláris kötegek, diffúz citoplazmatikus immunreaktivitás (pretangle-like) és fonalas elrendeződés a nucleus caudatusban, a putamenben, agytörzsben (substantia nigra, dorsalis raphe mag és locus coeruleus), kevésbé a thalamusban, egyes neokortikális régiók. Nem fordultak elő astrocytás plakkok, rojtos astrocyták, de látható volt valamennyi pontszerűen festődő astrocyta nyúlvány. Oligodendroglia zárványok csak elvétve voltak láthatók;

b. további hét esetben a neuronális és gliális tau depozíciók szokatlan eloszlása volt megfigyelhető a hippocampusban (neurofibrilláris kötegek és főként diffúz neuronális granuláris citoplazmatikus immunreaktivitás nemcsak a CA4, CA3 és CA2 szubrégiókban és gyrus dentatusban, hanem CA1 szubrégióban és a subiculumban, csekély mértékű neurofibrilláris degenerációval (vagy annak teljes hiányával) az entorhinalis cortexben. Argyrophil szemcsék itt nem voltak láthatók, de valamennyi oligodendroglialis tau immunpozitivitást és az astrocyta nyúlványokban pontszerű immunfestődést megfigyeltünk. Érdekes módon ezekben az esetekben a locus coeruleusban voltak neurofibrilláris kötegek.

c. a neurit profilokat 3R- és 4R tau elleni antitest alkalmazásával is detektáltuk. A szubkortikális neurofibrilláris kötegek túlnyomóan 4R tau proteinből álltak. A neokortikális régiókban és a hippocampusban mind 3R, mind 4R immunpozitív neurofibrilláris kötegek voltak. A fonalszerű szerkezetek főleg 4R pozitivitást mutattak. Kettős jelölés alapján ezek neurofilamentekkel társultak nem pedig astrocyta nyúlványokkal.

α -synuclein patológia

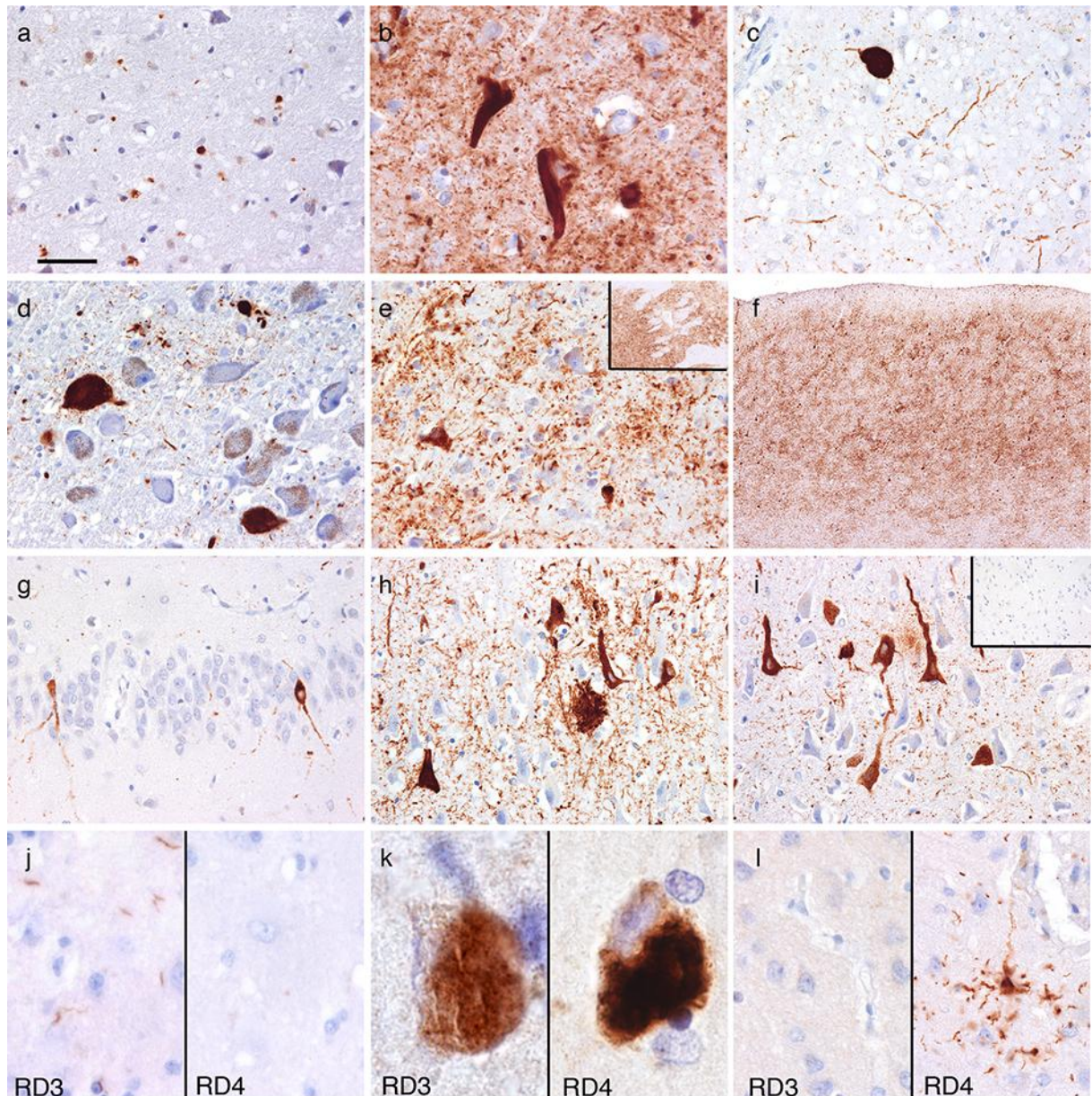
Típusos Lewy testek és Lewy neuritek, melyek a Braak stadiumokat követték, voltak hat esetben (15,4 %); ebből három beteg (53, 66 és 66 évesek) neokortikális érintettségű (Braak 5-6), két betegnél (67 és 68 évesek) a limbikus rendszert érintette a folyamat (Braak 4); egy beteg (60 éves), akinél az agytörzs érintettsége volt jellemző.

A β depozitumok

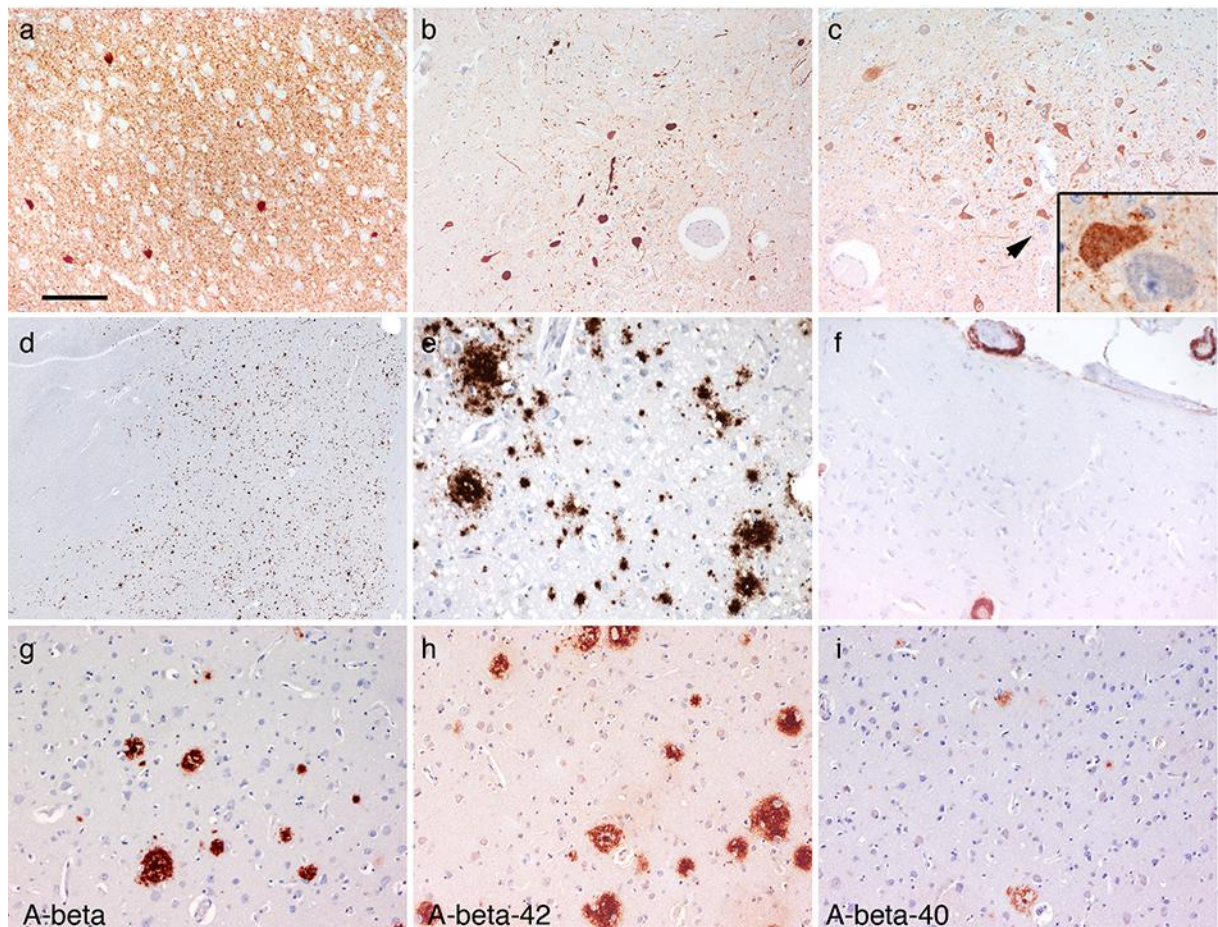
Főként diffúz depozitumokat találtunk, közülük néhányuk többszörös kisméretű maggal rendelkezett. Neuritikus plakkok csak néhány esetben voltak láthatók.

A parenchymában található depozitumok túlnyomóan A β -42 és kevesebb részben amyloid- β -40 immunoreaktivitással rendelkeztek. 21 esetről (53,8 %) észleltünk a parenchymában amyloid- β - proteint, ez a frontális, temporális, occipitális régiókat érintette általában, a basalis gangliont öt, míg a cerebellumot két esetben. Cerebrális amyloid angiopathiát (CAA) kilenc betegnél találtunk (23,07 %): a folyamat a leptomeningeális és kortikális ereket érintette, de a kapillarisokat nem.

51 éves volt a legfiatalabb beteg, akinél parenchymás amyloid- β -depozitumokat találtunk, 54 éves pedig a legfiatalabb, akinél A β - CAA-t.



7. ábra. Foszforilált tau immunreaktivitás: a. neuritikus mintázatok a neupilben spongiform átalakulással (AT8 thalamus). b. neurofibrilláris kötegek a temporális kortexben (AT8). c. Globozus (golyó alakú) neurofibrilláris kötegek és fonalak a putamenben (AT8) és locus coeruleusban (d). Túlnyomóan fonalszerű tau- patológia és neuronális citoplazmatikus immunreaktivitás a nucleus caudatusban (e. jobbra fent áttekintő ábra) és a frontális kortexben (f) Diffúz neuronális citoplazmatikus immunreaktivitás a gyrus dentatus granularis rétegében (g), a CA2/3 szubrégióban (h), és a CA1 szubrégióban (i) vékony fonalakkal és pontszerű lerakódásokkal a neupilben és az entorhinalis cortex viszonylagos megkíméltsége (i. jobbra fent, AT8 alkalmazásával). A neuritikus mintázatok főként 3R tauval szemben mutatnak immunreaktivitást (j ábra baloldali része), golyó alakú struktúrák a szubkortikális régiókban, melyek immunreaktivitást mutatnak 3R (k ábra baloldali része) és 4R tauval (k ábra jobb oldali része) szemben is, a fonalszerű struktúrák főként 4R immunreaktivitást mutatnak (i ábra jobb oldali része).



8. ábra: α -synuclein és amyloid- β (A β) immunreaktivitás E200K mutációval társuló genetikai CJB esetén: jellegzetes α -synuclein immunpozitív kortikális Lewy-testek és Lewy neuritek a frontális cortexben (a), és agytörzsi típusú Lewy-testek a nyúltvelőben (b) a feltüntetett esetekben az α -synuclein patológia összhangban van a Braak-féle beosztással. Túlnyomóan neuronális granuláris szerkezetet mutató diffúz citoplazmatikus immunreaktivitás, amely a nyúltvelő raphe magvak, a dorsalis vagus mag neuronjaira korlátozódik (c, a sejt nyílheggyel jelölve, nagyított formában az ábra jobb alsó részében) a Lewy-testek és Lewy neuritek hiányoznak. Kiterjedt A β lerakódás diffúz plakkok és fokális depozitumok formájában a striatumban (d,e) és az erek falában a frontális cortexben (f). Parenchymás A β lerakódás, amely főként anti-A β -42 immunreaktív (h) és kevésbé anti-A β -40 immunreaktív (i).

Foszforilált TDP-43, FUS és ubikvitin immunhisztokémia.

A vizsgált területeken nem találtunk neuritikus profilt vagy intracelluláris FUS depozitumokat. Ugyancsak hiányzott a foszforilált TDP-43 protein az általunk vizsgált összes esetben. Változatos mennyiségű granuláris immunreaktivitást mutatott az

ubiquitin a neuropilben azokon a területeken, ahol a neuritikus profilok is kimutathatók voltak. Főként a pyramis sejtek körül a hippocampalis CA1-es szubrégióban találtunk periszomatikus granulumokat 13 esetben (33 %).

A proteinopathiák összegzése

Vizsgálatunk során 36 esetben (92,3 %) találtunk a PrP mellett valamilyen társuló protein depozitumot. A halál idején észlelt életkor és a betegség lefolyás időtartama nem különbözött attól függően, hogy voltak-e társuló depozitumok vagy nem.

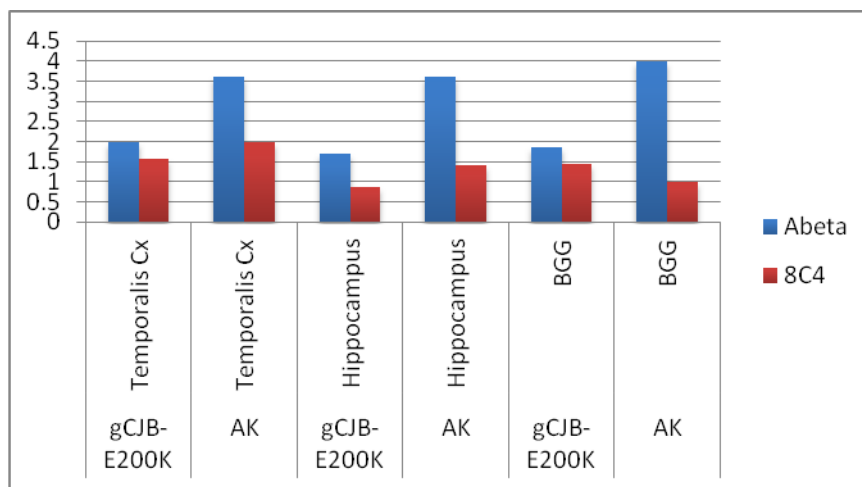
Az α -synucleinopathiák esetén a rapidan progrediáló demenciát megelőzően már történt neurológiai vizsgálat pl. nyelvtremor, a viselkedés megváltozása vagy L-Dopa terápiára reagáló típusos parkinsonizmus miatt. A basalis ganglionok területén észlelt tau patológia eseteiben dystonia, chorea vagy rigiditás, két esetben szupranukleáris tekintésbénulás volt észlelhető. Azokban az esetekben, ahol memória-zavart észleltek kezdeti tünetként, neurofibrillaris degeneráció volt igazolható. A kórkép gyors progressziót mutató klinikai szakasza nem különbözött az egyes protein depozitumok eseteiben. Vizsgálatunk szerint a *PRNP* gén 129-es kodonjának polimorfizmusa érdemben nem befolyásolta a társuló proteinopathiát.

Összefoglalva, ebben a tanulmányunkban kimutattuk, hogy a prion protein immunhisztokémiai mintázat E200K *PRNP* mutációs esetekben sajátos mintázatokat mutathat (csíkolat a kisagyban, intraneuronális lerakódások), továbbá, hogy egyéb proteinopathiák nagyon gyakran jelennek meg. Ez felhívja a figyelmet arra, hogy a *PRNP* más neurodegeneratív betegségek patomechanizmusában is szerepet játszhat.

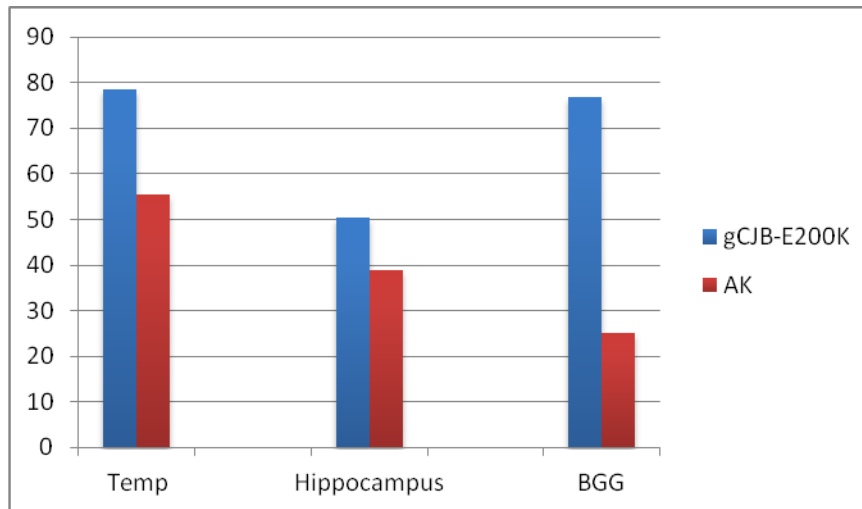
V.4. Piroglutamát A β depozitumok vizsgálata E200K mutációs esetekben

Mivel az E200K genetikai CJB esetekben fiatalabb korú betegeknél (60) gyakran észleltünk prionbetegség szövettani jelei mellett egyéb neurodegeneratív betegség jellemzőit, ezért a következő tanulmányban arra voltunk kíváncsiak, hogy az E200K esetekben a A β lerakódása az Alzheimer kórhoz hasonló mértékben tartalmaz-e úgynevezett piroglutamát-oligomereket. Vizsgálataink során azt észleltük, hogy mind a

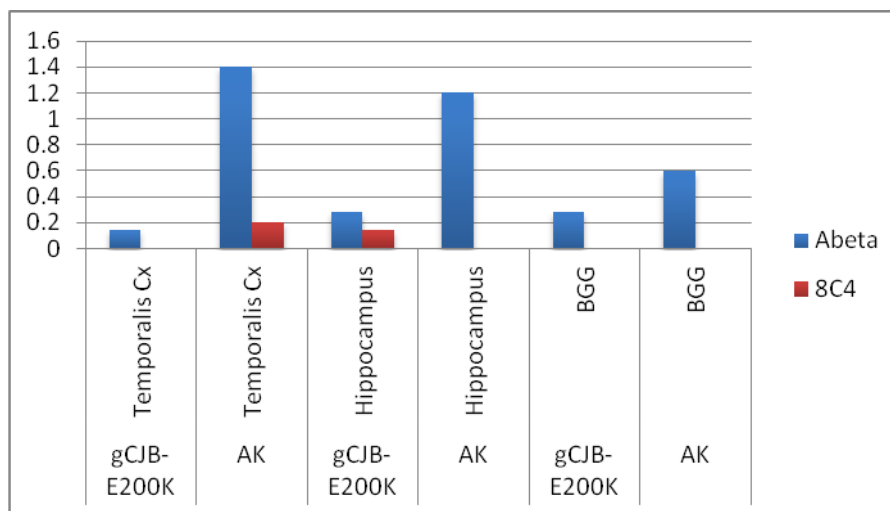
diffúz típusú, mind az úgynevezett maggal rendelkező A β plakkok AK mintákban nagyobb számban fordulnak elő. Fontos megjegyezni, hogy piroglutamát oligomer ellenes antitesttel végzett immunhisztokémiai vizsgálat azonban E200K gCJB esetekben is mutatott immunreaktivitást, továbbá azt figyeltük meg, hogy a piroglutamát oligomerek nagyobb arányban voltak jelen A β lerakódásban E200K esetekben (**9. 10. 11. ábra**). Ezt a jelenséget azonban főleg diffúz típusú plakkoknál észleltük, míg a maggal rendelkező plakkok esetében ez nem volt jelen. Ez arra hívhatja fel a figyelmet, hogy prionbetegségben az A β plakkok más patomechanizmussal generálódnak.



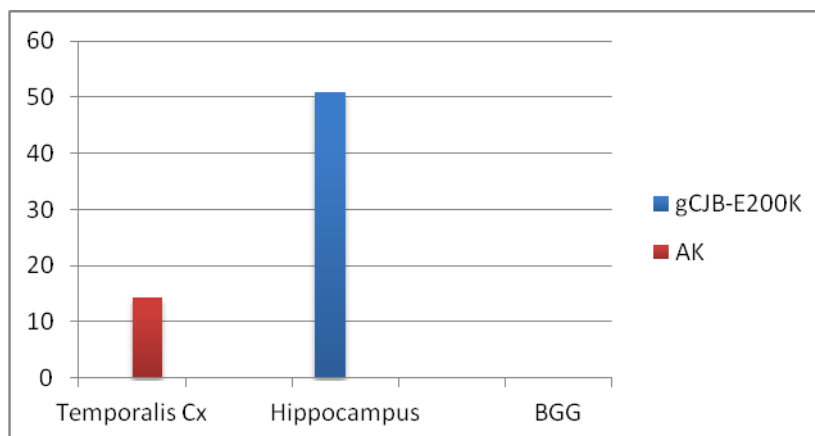
9. ábra: A β - immunoreaktív diffúz típusú plakkok és piroglutamát-oligomer immunoreaktív (8C4) diffúz típusú plakkok szemikvantitatív elemzése (átlagérték) három anatómiai régióban (temporális cortex, hippocampus), basalis ganglion –BGG) E200K gCJB és Alzheimer kóros (AK) esetekben. AK-ban az A β pozitív plakkok nagyobb számban fordulnak elő.



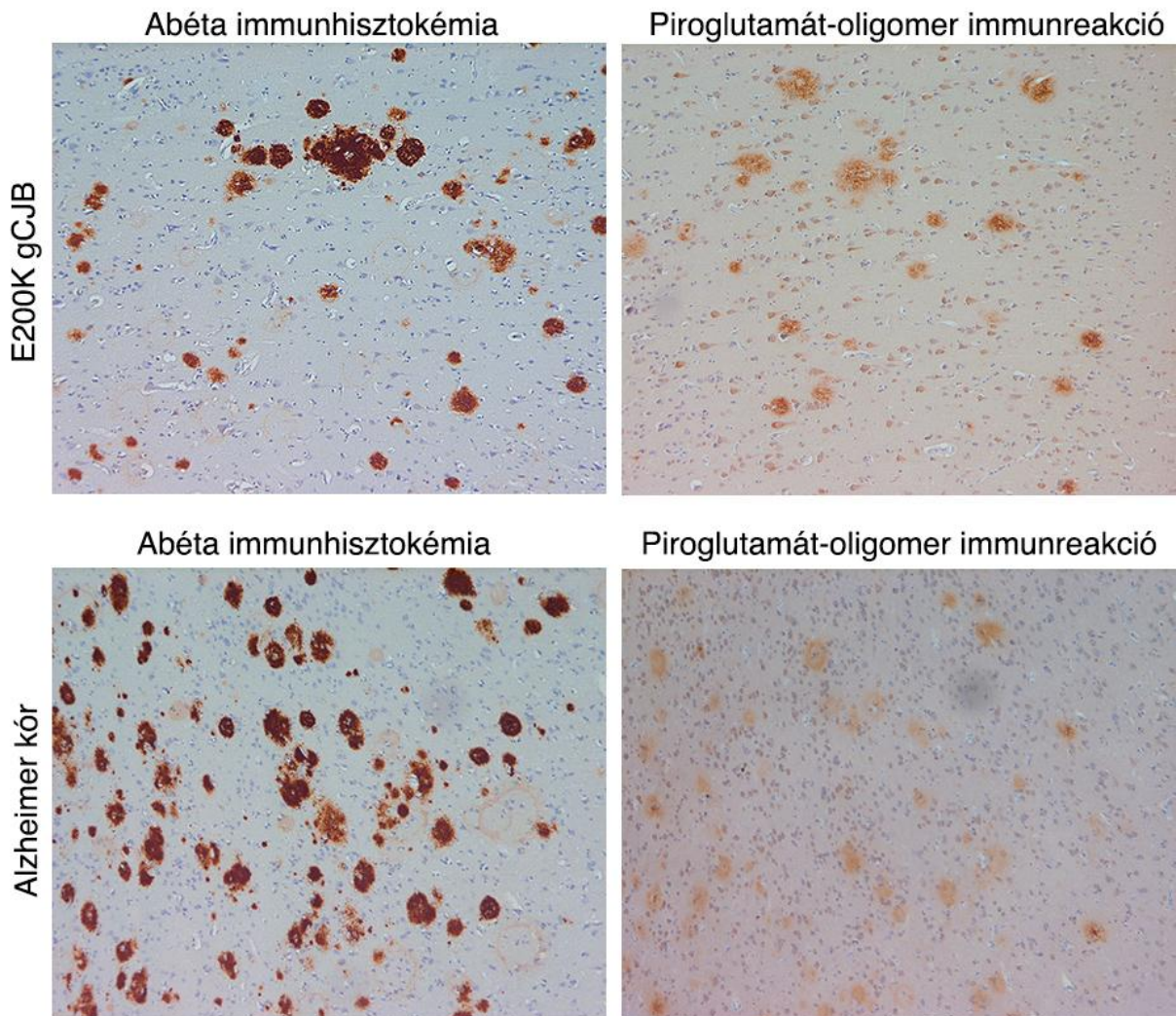
10.ábra: Piroglutamat-oligomer immunoreaktív diffúz típusú plakkok százalékos aránya az A β immunoreaktív (8C4) diffúz típusú plakkokhoz képest három anatómiai régióban (temporális cortex, hippocampus, basalis ganglion –BGG) E200K gCJB és Alzheimer kóros (AK) esetekben. E200K gCJB esetekben az arány magasabb.



11. ábra: A β immunoreaktív maggal rendelkező amyloid plakkok és piroglutamat-oligomer immunoreaktív (8C4) maggal rendelkező amyloid plakkok szemikvantitatív elemzése (átlagérték) három anatómiai régióban (temporális cortex, hippocampus, basalis ganglion –BGG) E200K gCJB és Alzheimer kóros (AK) esetekben. AK-ban az A β pozitív plakkok nagyobb számban fordultak elő.



11. ábra: Piroglutamát-oligomer immunoreaktív (8C4) maggal rendelkező A β plakkok százalékos aránya az A β immunoreaktív maggal rendelkező amyloid plakkokhoz képest három anatómiai régióban (temporális cortex, hippocampus, basalis ganglion –BGG) E200K gCJB és Alzheimer kóros (AK) esetekben. E200K gCJB esetekben az arány magasabb a hippocampusban



12. ábra: A β és piroglutamát oligomer antitesttel készült immunreakció a temporális cortexben E200K gCJB és Alzheimer kór esetekben. Az oligomer piroglutamát aránya a teljes A β plakkokhoz képest nagyobbak tűnik E200K gCJB-ben, mint Alzheimer kórban.

Összefoglalva, ebben a tanulmányunkban kimutattuk, hogy az E200K *PRNP* mutációs esetekben az A β plakkokban jelen vannak a piroglutamát-A β -oligomerek, továbbá előzetes megfigyeléseink szerint ezek aránya az A β plakkokon belül nagyobb lehet, mint Alzheimer kórban.

V.5. Heredodegeneratív kórkép etiológiájának tisztázása és karakterizálása

Egy tanulmányunkban két fiútestvér esetét elemeztük, akiknél progresszív neurodegeneratív kórképet okozó anyagcserezavart igazoltunk genetikai és biokémiai vizsgálattal. A fontosabb tünetek közé tartozik a kognitív zavar, később demencia és egyéb progresszív neurológiai tünetek kialakulása, juvenilis cataracta és már a csecsemőkorban induló és lényegében folyamatosan észlelhető, változó intenzitású krónikus diaorrhea. Az általunk vizsgált idősebb testvér folyamatos progressziót mutató, befolyásolhatatlan kórkép tünetei között 46 éves korában halt meg. Fiatalabb fiútestvére jelenleg is él, nála a kórkép lényegében ugyanolyan tüneti lefolyással jár. A neuropatológiai vizsgálat az idősebb testvérnél cerebrotendinosus xanthomatosiszt verifikált. Az élő testvérnél elvégeztük a speciális biokémiai és genetikai vizsgálatokat, amelyek az ő esetében is igazolták a kórképet.

Az általunk vizsgált esetek leírása:

Az idősebb fiútestvér kórtörténete.

Az anya első terhességéből per vias naturales, időre és farfekvéssel született (születési súly: 3800 g). Mozgásfejlődése rendben volt, beszédfejlődése késett. Három hónapos korban kórházi kezelés történt súlyos hasmenés, hypokróm anémia miatt, transzfúziós kezelésben részesült. 4 hónapos korban a medenceövi csontozat gyengesége miatt fűzött kapott, gyógyszeres kezelést is beállítottak, D-vitamint szedett. Óvodai közösségbe nehezen illeszkedett be. Általános iskola alsó tagozatában gyenge tanulmányi eredmények miatt a szülők kérésére pszichológiai vizsgálat történt. A vizsgálat enyhe értelmi fogyatékosságot véleményezett, deficit mutatkozott a logikai gondolkodásban, emlékezeti funkciókban, a kombinatív képesség területén. Fáradékonyság jelentkezett, lassú, zárkózott, feszült volt. Kisegítő iskolába utalták. 10 éves korban kórházi kezelésre került sorfokozódó görcsös hasi fájdalom miatt. Organikus eltérést nem találtak hipaciditáson kívül.

14 évesen ismét a szülők kérésére vizsgálták gyermekpszichológiai tanácsadóban tanulási nehézségek, „ideges panaszok” miatt (MAWI, Bender, emberrajz, Raven, Rorschach, Thomas és iskolai tudásanyag felmérés, IQ=73, VQ=71, PQ=64. A VQ-PQ különbsége organikus károsodást jelzett. Gyermekpszichológus a normál övezet

és debilitás határának megfelelő intellektus, egyenlőtlen, kiegyensúlyozatlan teljesítményszint miatt organikus neurológiai kivizsgálást javasolt. Beszéde hadaróvá vált, feszültségek, alkalmazkodási zavarok jelentkeztek. A környezet inadekvát indulati kitöréseket észlelt, tic-jellegű megnyílvánulások voltak észlelhetők. A javasolt neurológiai kivizsgálás 24 évesen neurológiai osztályon történt meg. Felvételi neurológiai statusa negatív, statikus kézujj tremor, hyperhydrosis palmaris et plantaris, dermatographismus diagnózist írtak le a zárójelentésében. EEG-vizsgálat lelete: szabálytalanabb, lassúbb tevékenység. Encephalopathia gyanúját vetették fel. Még ebben az évben hepatológiai szakambulancia vizsgálta: Gilbert kórt állapítottak meg. Két év múlva mindkét szem látásjavító műtétét végezték el fokozódó visus romlás, cataracta miatt.

32 évesen munkáját nem tudta ellátni, depercentualizációs eljárás történt, melynek keretében tájékozódó neuropszichológiai vizsgálatot végeztek. MMMS:52/100 pont. A kortikális és szubkortikális funkciókat mérő részpróbák és a megjegyző emlékezet területén mutatkozott deficit. Markáns mértékű mentális hanyatlás miatt, a beteg önellátása csak folyamatos és minden napszakra kiterjedő segítséggel volt biztonságos. Az orientáció, a memória, a figyelem, psychomotoros tempo, a meglévő ismeretek mobilizálásának képessége, praxis területén elmaradás volt megállapítható.

33 évesen járásbizonytalanság, szédüléssel panaszok, feszültség, idegesség, járászavar jelentkeztek. Neurológiai vizsgálat mindkét oldalon fokozott mélyreflexeket, alsóvégtagi túlsúlyú enyhefokú izomhypotrophiát, súlyosfokú alsó végtagi ataxiát írt le. 36 éves korban ambuláns neurológiai gondozás során mitochondrialis encephalomyopathia gyanúját vetették fel. Járása tovább romlott, egy alkalommal a jo-i végtagok megfeszülésével járó epileptiform rosszullét zajlott. Beszéde nazális színezetűvé vált. Fokozott sajátreflexeket találtak jobb alsóvégtagi dominanciával, alsóvégtagi és medenceövi izomhypotrophia, spasticus tonsufokozódás is megállapítható volt. Ismétlődő indulati kitörések jelentkeztek. Koponya CT-vizsgálat a cerebellaris, frontalis liquorterek mérsékelt tágultságát véleményezte. A cerebellum mindkét oldalán szimmetrikusan 2 cm körüli hypodensitas volt látható, melyet degeneratív elváltozásnak vagy régebbi károsodásnak minősített a radiológus. Ingerlékeny, indulatkitörések jelentkeztek, járása spastico-paretico-atacticus volt. Dysarthria, tetrapyramis tünetek, tetraparesis, tetraataxia volt észlelhető jobboldali túlsúllyal.

38 éves korban a feszültség, gyakori agresszivitás, rohamszerű indulati kitörések, kedvetlenség, gyengeség, jelentkeztek. Fizikai fáradékonyság mindennapossá vált. Rehabilitációs osztályon próbálták mozgásait javítani, sikertelenül. Az otthonát már nem tudta elhagyni a progresszív járásromlás miatt. Kapaszkodva közlekedett, önellátásban segítségre szorult. Spasztikus tetraparesis, alsóvégtagi és törzsataxiát észleltek, jobb lábfejét csapta. Részlegesen orientált, kérdésekre egyszavas válaszokat adott. Antipszichotikum adására az indulati megnyilvánulások mérséklődtek.

41 évesen állapota fokozatosan tovább romlott, súlyos dysarthria, dysphagia jelentkezett. Már csak járókerettel tudott néhány lépést megtenni. Hasi UH-vizsgálat történt hasi panaszok miatt, a lelet hepato-splenomegaliát, diffuse májlaesiót, a cholecystaban koleszterol polypusokat írt le.

45 éves korban éjszakai GM-roham miatt neurológiai osztályos felvétel történt, koponya CT-vizsgálatot végeztek, a lelet szerint a basalis és felszíni liquorterek diffúzan tágultak, a cerebellumban mindkétoldalon kiterjedt hypodenzitás ábrázolódott. A falxban ventralisan nagy meszesedés mutatkozott. Jobb centralis facialis paresis, dysarthria, dysphagia, csak sejthető garatreflex volt statuszában észlelhető. Testszerte fokozott mélyreflexeket találtak oldaldifferencia nélkül. Súlyosfokú spasticus tetraparesis mutatkozott. Súlyos fertőzés alakult ki, a bal comb ventralis felszínén abscessus jelent meg, RTG-felvétel szerint a bal combfej és collum femoris felszívódott, az acetabulum inhomogen, felritkult. Testszerte izomhypotrophia, contractura alakult ki, nehezen uralható, ismétlődő görcsrohamok jelentkeztek, exitált.

A fiatalabb fiútestvér kórtörténete.

Édesanyja második graviditásából született időre, 4000 gr súllyal. Először 4 hónapos korban jelentkeztek hasmenéses panaszok, gyermekorvos máját nagyobbra tapintotta. Ezt követően visszatérően voltak hasmenéssel járó rövidebb-hosszabb időszakok a beteg életében. Két éves korban fulladásos panaszok miatt kórházban kezelték, Pseudocroup kórismét vélelmeztek. Kilenc éves korban általános iskolában jelentkezett először tanulási nehézség, mely állandósult, teljesítménye elmaradt a várttól.

25 éves korban látászavar háttérében szemészeti vizsgálat cataractát igazolt, mindkét szem műtétét elvégezték. 28 évesen elhúzódó köhögés, fulladásos panaszok

miatt pulmonológiai klinikán vizsgálták és kezelték, asthma bronchiale diagnózist állítottak fel. Mellkas RTG-felvétel lelete nagyobb szívet, fokozott bronchialis rajzolatot írt le. Egy év múlva az asztma ellenes kezelés alkalmazása mellett köhögés, nehézlégzés, mellkasi szorító fájdalom jelentkezett. Ugyancsak ekkor állandó hasmenés (napi 2-3-szori székletürítéssel) miatt kivizsgálás történt belgyógyászati klinikán. Három harántujjnyival nagyobb májat, emelkedettebb májenzimeket, a colon fokozott spaszticitását, irritabilitását találták. Az ekkor elvégzett EKG bal kamra hypertrófia kifejezett jeleit mutatta. A belgyógyászati vizsgálat Gilbert-kórt, hyperbilirubinaemiát tételezett fel az emelkedett májenzimek hátterében.

29 évesen orrsövényf erdülés miatt műtétet végeztek, valamint a balo-i hangszalagról polyp eltávolítása történt. Az ebben az időszakban állandósult hasmenés miatt kolonoszkópiás vizsgálatot végeztek, a lelet szerint organikus eltérés nem találtak, megerősítették a korábbi feltételezést (irritabilis colon syndroma).

29 évesen került sor először neurológiai ambuláns vizsgálatra főként az alsóvégtagokban jelentkező izom-és végtagfájdalmak miatt. Jobb oldalon pozitív Babinski jelet találtak. 30 évesen neurológiai osztályos felvételle, vizsgálatra került sor valamennyi végtagban jelentkező izomláz- szerű fájdalom, fizikai teljesítő képesség csökkenése miatt. Neurológiai státuszában a következőket találták: lépcsőnjárás kacsázó jellegű, guggolásból kapaszkodva áll fel. Leletek: hepatomegalia májkárosodással, szív balra jelentősen nagyobb, laborvizsgálat hyperlipidaemiát, emelkedett transzamináz értéket mutatott. Belgyógyászati vizsgálat nyomán renalis tubularis acidosiszt véleményeztek. Tartós légzési zavar, enyhe acidosis, krónikus. hasmenés, alapján mitochondrialis myopathia, metabolicus myopathia gyanúja merült fel.

Állapota tovább romlott, alsó végtagi gyengeség fokozódott. Neurológiai státuszában: ptosis, Achilles-areflexia, egyébként inkább élénkebb mélyreflexek, medenceövbén, combokban hypotrophias izomzat, csökkentebb tonus, sarokra állás ereje gyengült, a felső végtagokban izomerő gyengülés terhelésre sem jelentkezett, de mindkét oldalon a m. deltoideusban fasciculatio jeleket láttak, azonban ezt később nem tudják megerősíteni. ENG és EMG vizsgálat történt: szimmetrikus peroneus vezetési sebesség csökkenés és neurogen EMG jelek neuropátia mellett szólt. Izom-, és idegbiopsziás vizsgálat, fény- és EM-os feldolgozás történt: kevert típusú neuropátiát, neurogen izombántalomra utaló jeleket találtak.

Endokrinológiai gondozás történik (jelenleg is) hypogonadismus miatt. Endokrinológus javaslata alapján osteodensitometriás mérés történt, amely osteoporosist igazolt.

31 éves korban a gyermekkortól ismert, több szervrendszert érintő betegség és kórházi kezelések (pulmo: asthma, emésztőrendszer: diarrhoea, hyperbilirubinaemia, szem: mko cataracta, endocrin: hypogonadismus miatt testosteron substitutióban részesül) alapján neurológus mitochondrialis encephalo-myopathiát véleményezett. Mozgásteljesítménye romlott: 100-200 métert tudott menni folyamatosan, lábfejét csapta, lépcsőn lefelé járás nem volt kivihető. Neurológiai státuszában a következő rögzítették: mindkét lábfej dorsalflexioja pareticus, guggolásból kapaszkodva tudott felállni, alsó végtagi proximalis típusú hypotrophiát véleményeztek.

33 éves korban diffúz hasi panaszok miatt hasi UH-vizsgálat történt, a lelet szerint hepatomegalia, diffúz májlaesio jelei voltak láthatók.

35 éves korban állapotrosszabbodás miatt ismét neurológiai vizsgálatot végeztek. A lelet szerint járása mérsékeltten nehezített, fáradékony, emellett alsóvégtagi hyperreflexia, közepes fokú alsóvégtagi ataxia volt észlelhető. Mindkét lábfej dorsalflexioja erő ellenében gyengült. Ugyancsak ebben az évben végeztek újabb hasi UH-vizsgálatot: máj megnagyobbodás, diffúz májlaesio, nagyobb epehólyagban sludge került leírásra.

36 éves korban neurológus ismét progressziót talált: tetraataxia, élénk felsővégtagi mélyreflexek, igen élénk patella reflex, renyhe Achilles reflexek, mindkét alsóvégtagban spasticus tónusfokozódás. Ebben az évben reumatológiai vizsgálat történt endokrinológus javaslatára. A jobb tuber tibiae alatt diónyi kemény terimét észleltek, a bal sarok plantáris felszine nyomásérzékeny. Idiopathias osteoporosist véleményeztek, alpha D3 terapiát kezdtek. Még ebben az évben újabb neurológiai vizsgálat történt: igen élénk felsővégtagi, élénk alsóvégtagi mélyreflexek, jobb oldalon pozitív Hoffmann-Trömner jel, mindkét oldalon pozitív Babinski-jel, mindkét alsó végtagban spasztikus tonusfokozódás, enyhe paraparesis került rögzítésre, mindkét lábfej dorsalflexios ereje gyengült, tetraataxia alsóvégtagi túlsúllyal, járás szélesebb alapú volt.

37 és 40 éves kor között több alkalommal végeztek hasi UH-vizsgálatot és végtagi lágyrész UH-vizsgálatot. A jelentős májlaesioval járó hepatomegalia progressziót mutatott. Jobb oldalon a ligamentum patellae tapadásától disztális irányban

észlelhető tömött tapintatú terimét szervült haematomának, térfoglaló folyamatnak értékelték. Neurológiai vizsgálat (38 éves korban) szerint paraparesis alakult ki, járásnál jobb lábát húzta, enyhe moria mutatkozott a betegnél. Járása romlott, fáradékony, sokszor elesett, lépcsőn lefelé nem tudott közlekedni. Dysarthria, jobb oldalon igen élénk, baloldalon fokozott mélyreflexek, jobb oldalon Babinski pozitív, járásnál jobb lábát húzta, cirkumdukált, insomniát, móriát talált a vizsgálat. Végtagi lágyrész UH-vizsgálat történt: jobb oldalon a tuberositas tibiae magasságában 53x17 mm-es képlet ábrázolódott, az Achilles-ín duzzadt, ödemás jellegű, benne elszórtan meszesedés volt látható.

41 éves korban pulmonológiai kontroll történt tartós köhögés miatt. Reumatológiai kontroll és kezelés osteoporosis miatt. Ugyanekkor neurológiai vizsgálatot végeztek állapotának romlása miatt. Sokszor elesett, lépcsőn nem tudott közlekedni. Rehabilitációs osztályos kezelésre utalták progrediáló, az alsóvégtagokat érintő izomgyengeség, bizonytalan járás, fáradékonyosság miatt. Még ebben az évben ambuláns traumatológiai ellátás történt elesés következtében kialakult fejsérülés miatt.

42 éves korban neurológus mentális retardációt tetraparesist véleményezett. Pulmonológiai intézeti kezelés történt nehézlégzés, éjjeli apnoe miatt. Alváslaborban obstructív alvási apnoe syndromát állapítottak meg. Rehabilitációs osztályos kezelésben vesz részt, mivel mozgásállapota tovább romlott. Ismételten elesett, metatarsus fracturát szenvedett.

43 éves korban fokozódó kognitív deficit miatt tájékozódó neuropszichológiai vizsgálat történt (MMSE:20/30 pont, órarajzoló teszt: 0 pont). Spasztikus, alsóvégtagi túlsúlyú tetraparesist, mindkét oldalon pozitív Hoffmann-Trömner és Babinski jelet találtak. Koponya MR-vizsgálat FLAIR és T2 súlyozott felvételeken mindkét oldalon a cerebellumban szimmetrikusan a középvonal mellett 20 mm-es magas jelintenzitású terület, a gerincvelő-agytörzs átmenetben 20x10 mm-es magas jelintenzitású terület ábrázolódott. Lásd **13. ábra**. Összefoglaló táblázatban tüntetjük fel a testvérpár tüneteit, az elvégzett vizsgálatok eredményeit. Lásd **17. táblázat**.

17. táblázat: a korai tünetek és a betegség lefolyása során később megjelenő tünetek; az elvégzett vizsgálatok a testvérpár kórtörténete során.

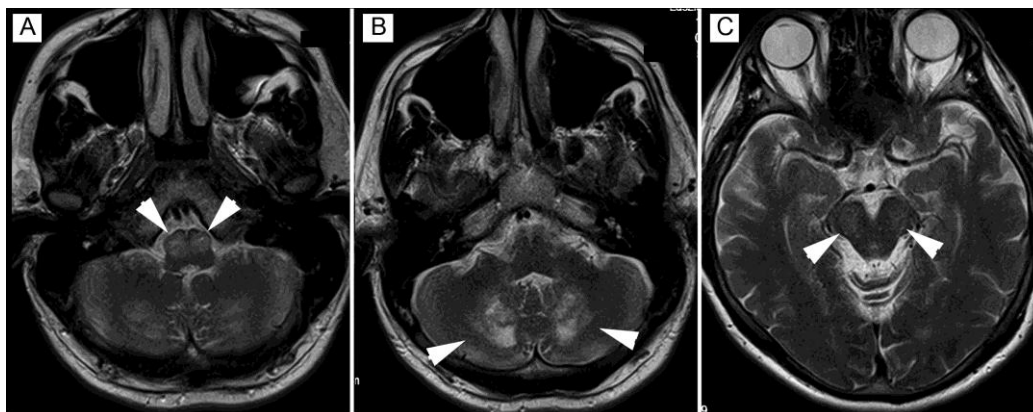
	Idősebb testvér	Fiatalabb testvér
kor (év)	45	43
nem	férfi	férfi
A betegség időtartama (év)	12	13
Genetikai vizsgálat	nem történt	igazolt CTX
Neuropatológia	történt	nem történt
MRI vizsgálat	nem történt	történt

Első tünetek

kognitív zavar	+	+
diaorrhoea	+	+
cataracta	+	+
járászavar	+	-
szédülés	+	-

A betegség lefolyása során később megjelenő tünetek

konvulzív roham	+	-
dysarthria	+	+
ataxia	+	+
izom hypotrophia	+	+
fokozott mélyreflexek	+	+
spasztikus tetraparesis	+	+
dysphagia	+	-
tetrapyramis tünetek	+	+
peripherias neuropátia	-	+
mentális hanyatlás	+	+
agresszivitás	+	+
hepatomegália	+	+
osteoporosis	-	+
dyspnoe (apnoe)	-	+
tendon xanthomák	+	+
krónikus hasi fájdalom	+	+



13. ábra: a fiatalabb fiútestvér koponya MRI vizsgálatának képanyagából. T2 szekvencián fokozott szignálintenzitás látható a nyúltvelői pyramisban (A), a cerebelláris fehérállományban (B) és a pedunculusok (C) területén.

A plazma kolesztanol szintjének meghatározása a fiatalabb testvérnél gázkromatográfiás és tömegspektrometriás eljárással történt (Ahmida et al. 2006). A *CYP27A1* gén exonjait PCR módszerrel amplifikáltuk. A plazma kolesztanol szint 76,4 $\mu\text{mol/l}$ volt (normál tartomány: 2-12,6 $\mu\text{mol/l}$), amely érték a diagnosztikus tartományba esik (Pilo-de-la-Fuente et al., 2011 b). A genetikai vizsgálat során a c.379C>T mutációra nézve homozigótának bizonyult.

Neuropatológiai elváltozások az idősebb fiútestvérnél

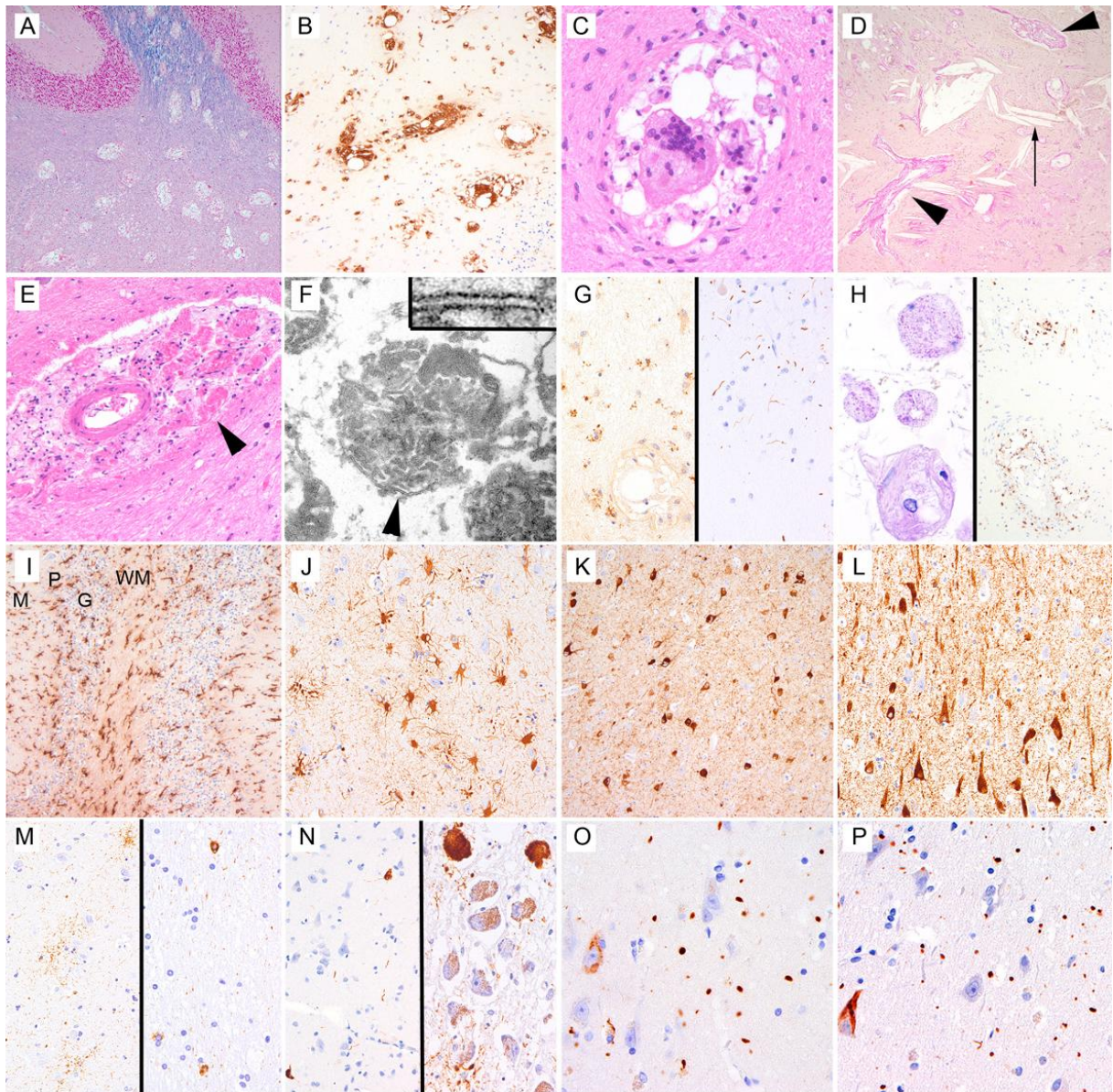
Perivaszkulárisan makrofág szaporulatot, többmagvú óriássejteket, fibrotikus ereket, koleszterol csíkokat találtunk főként a cerebelláris fehérállományban, a nucleus caudatusban, a globus pallidusban, a pedunculusokban, a híd bázisán és a pyramisban. A perivaszkuláris terekben PAS-pozitív szemcsés anyag felszaporodását észleltük. Ezek ultrastrukturális szerkezetüket tekintve 12-15 nm vastagságú membránok tekervényeiből álló képletek. Autofluoreszcenciát és Sudan-fekete pozitivitást mutattak lipidekre jellemzően.

Myelin- és axonvesztés, PAS-pozitív degradációs termékek a makrofágokban, CD8-pozitív T-sejtek a perivaszkuláris terekben: a cerebellumban, a pedunculusokban, a pons bázisán és a pyramisokban találtuk ezeket az elváltozásokat. Kifejezett volt a neuronális sejtpusztulás az oliva inferiorban, a nucleus dentatusban és a cerebelláris kortextben reaktív mikrogliózissal társulva. Következmenyes asztrogliózist láttunk az amygdalában.

Az elváltozások között nem találtunk neuritikus plakkokat, amyloid- β immunoreaktív parenchymás vagy perivaszkuláris depozitumokat, TDP-43, α -synuclein immunoreaktív struktúrákat. Viszont immunfestéssel foszfo-tau széles körben kimutatható volt.

A tau-patológia túlnyomóan a limbikus rendszerben volt megfigyelhető, ezen belül is az amygdalában és a hippocampusban (CA1 szubrégió). Jellemző volt a diffúz neuronális citoplazmatikus megjelenés; szemcsés és finom granuláris immunreaktivitás az asztrociták nyúlványaiban; oligodendroglialis tekercselt testek az amygdalában és a hippocampusban a fehérállományban.

Neuronális tau immunreaktivitást és finom tau-fonalakt találtunk a kortikális területeken és a locus coeruleusban. A tau-patológia kimutatására főként AT8 anti-tau antitesteket használtunk. Az említett struktúrák csaknem kizárólag a 4R tau izoformnak megfelelő immunreaktivitást mutatták, míg a neurofibrilláris kötegek 3R tau izoformnak megfelelő immunpozitivitást jeleztek. A szemcsék és a kötegek ubiquitin- és p62 immunpozitivitást mutattak és Gallyas-féle ezüstözést alkalmazva argyrophilnak bizonyultak.

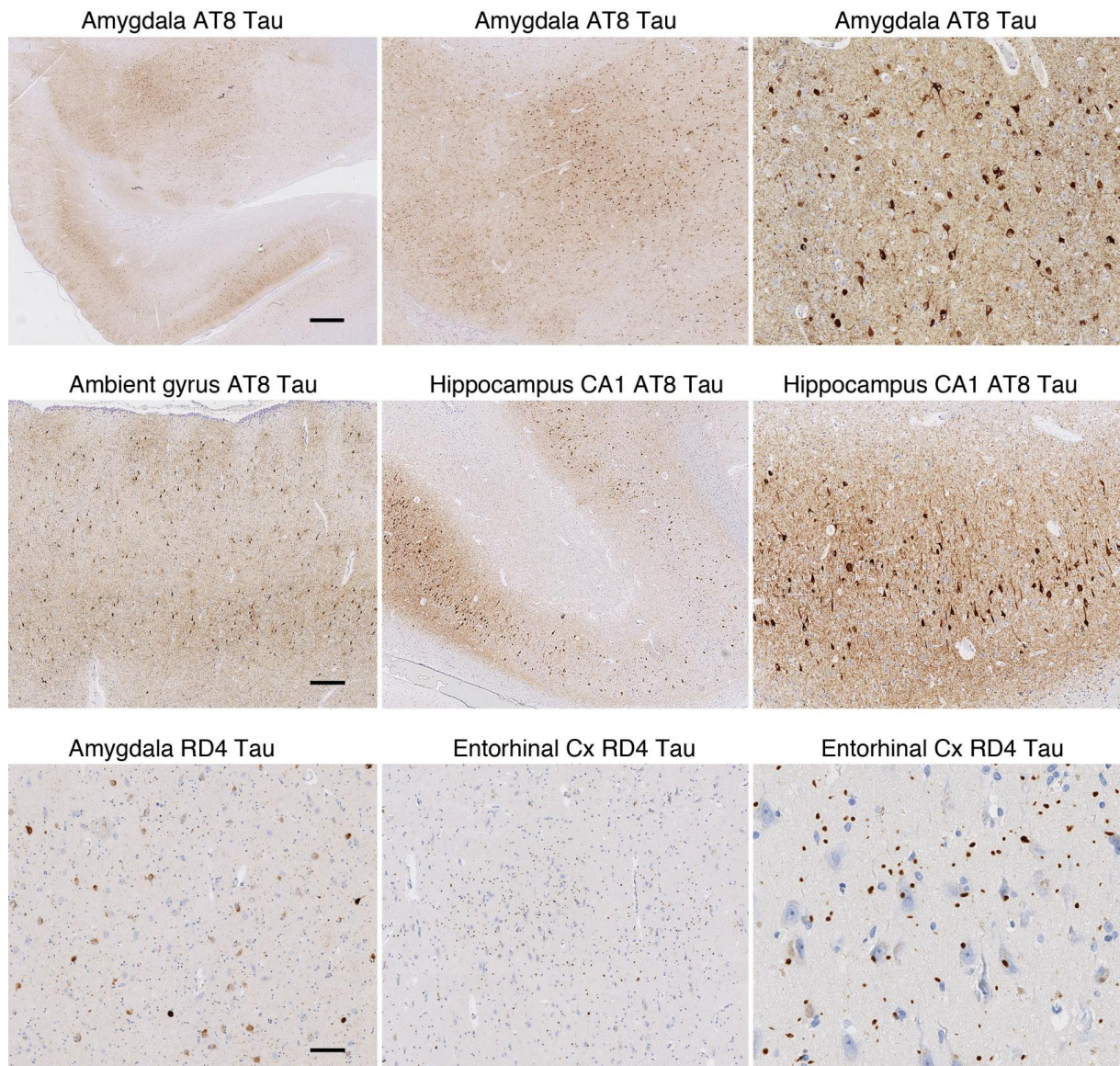


14. ábra: Neuropatológiai elváltozások az idősebb fiútestvérnél.

A kisagyi fehérállományban (A) leukodystrophia jellegű elváltozások láthatók. Gyakori a perivascularis makrofágok jelenléte (B), amelyet CD68 immunpozitivitás is igazol. Egyrészt többmagvú sejt (C). Fibrotikus reek és koleszterin kristályok is láthatók (D). A perivascularis makrofágok granularis anyagot tárolnak (E; nyílhegy), amely tubularis szerkezetet mutat elektronmikroszkópiával (F; nyílhegy). Kifejezett demyelinizáció (G –baloldali kép myelin bázikus protein elleni antitesttel készült immunfestés) és axonpusztulás (G –jobboldali kép, SMI-31 axonmarkerrel készült immunreakció). PAS pozitív anyag a habos makrofágokban (H; bal), amelyhez CD8 pozitív citotoxikus T sejtek csatlakoznak (H; jobb) a kisagyban. Idegsejtpusztulás és reaktív mikroglia az agykéregben (I; M: molekuláris réteg, P: Purkinje sejtréteg, G: granularis réteg, WM: fehérállomány). Reaktív astroglia az amygdalában (J). Diffúz neuronális citoplazma tau immunpozitivitás és neurofibrilláris kötegek az amygdalában (K) és a

hippocampus CA1 szubrégióban (L). Astrocyták (M; bal) és oligodendrocyták (M; jobb) tau pozitivitása. Neuronális tau pozitivitás és vékony neuritek a temporális cortexben (N; bal) és a locus coeruleusban (N; jobb). (L-N: AT8 tau antitesttel készült immunfestés). 4R tau izoforma immunpozitivitás (O), illetve p62 immunreaktivitás (P).

Neuropatológiai elváltozások az idősebb fiútestvérnél.



15. ábra: tau-patológia a limbikus rendszerben

Tau patológiai elváltozások különböző agyrégiókban (AT8 foszfospecifikus tau antitesttel készült immunhisztokémiai festés).

Magyarázat a 18. táblázathoz: amíg a leukodystrophia, perivaszkularis macrofág szaporulat, gliózis a pons bázisán, a cerebellaris fehérállományban, a pyramisban és a pedunculusokban, a Purkinje sejtek rétegében volt túlnyomó részben észlelhető, a

tauopathia előfordulásának súlyponti területe a limbikus rendszer: hippocampus CA1-CA4, entorhinalis cortex, nucleus subthalamicus, locus coeruleus, amygdala.

18. táblázat: neuropatológiai elváltozások az idősebb fiútestvérnél

Anatómiai régió	Leukodystrophia	Gliosis	Perivascularis makrofág	Tauopathia
Frontalis cortex	-	-	-	+
Cinguláris cortex	-	-	-	+
Parietalis cortex	-	-	-	-
Temporalis cortex	-	-	-	+
Occipitalis cortex	-	-	-	+
Hippocampus CA1-CA4	-	-	-	++
Gyrus dentatus	-	-	-	-
Entorhinalis cortex	-	-	-	+++
Nucleus caudatus	-	+	+	+
Nucleus accumbens	-	+	+	+
Putamen	-	-	-	+
Globus pallidus	-	+	++	-
Thalamus	-	-	-	-
Nucleus subthalamicus	-	-	-	-
Amygdala	-	++	-	+++
Substantia nigra	-	+	-	+
Nucleus raphe dorsalis	-	+	-	+
Locus coeruleus	-	+	-	++
Nucleus dorsalis nervi	-	-	-	+
Oliva inferior	-	++	+	-
Nucleus dentatus	-	+++	+++	-
Purkinje sejtek (cerebell)	-	+++	-	-
Molekuláris réteg	-	+	+	-
Granuláris réteg	-	++	+	-
Capsula interna	-	-	-	-
Periventr. fehéráll.	-	-	-	-
Corpus callosum	-	-	-	-
Pedunculus cerebri	++	++	++	-
Pons bázisa	+++	+++	+++	-
Pyramis	++	++	++	-
Cerebelláris fehéráll.	+++	+++	+++	-

Összefoglalva, ebben a tanulmányunkban részletes klinikopatológiai vizsgálat alapján definiáltuk egy örökletes betegség etiológiáját, amely terápiás következményekkel is járt. Felhívtuk a figyelmet arra, hogy a lipid metabolizmus zavara az agy korai öregedésének megfelelő tau patológiával társul.

VI. MEGBESZÉLÉS

VI.1. A pellagra encephalopathia (PE) mint a sporadikus CJB differenciáldiagnózisa

Munkánkban olyan PE (pellagra encephalopathia) eseteket mutatunk be, amelyeket klinikailag CJB-re gyanúsként utaltak neuropatológiai vizsgálat elvégzése céljából. Vizsgálataink szerint PE differenciál-diagnózisként merülhet fel alkoholt rendszeresen fogyasztó betegeknél gyors progressziót mutató demencia eseteiben.

Hangsúlyozandó, hogy a kórkép a klinikai képet és a laborvizsgálati leleteket (liquor 14-3-3 protein pozitivitás) illetően is utánozhatja az sCJB-t. Eseteinkben azonban az EEG és az MRI vizsgálat eredményei nem támasztották alá a sCJB diagnózisának gyanúját.

A prionbetegségek felügyeleti rendszerében vizsgált esetek között öt beteget találtunk, akiknél a rapid progressziót mutató demencia háttérében PE igazolódott neuropatológiai vizsgálattal. Az általunk vizsgált anyagban a következő további kórképek voltak igazolhatók: neurodegeneratív betegségek, tumor, cerebrovaszkuláris kórképek, gyulladásos, metabolikus háttérű folyamatok, kevert kórképek. A PE-t leszámítva, eredményeink összhangban vannak a mienkhez hasonló elemzésekkel, melyeket ugyancsak neuropatológiai vizsgálatokkal támasztottak alá (Chitravas et al. 2011; Gelpi et al. 2008; Heinemann et al. 2007; Josephs et al. 2009; Van Everbroeck et al. 2004). Fontos megemlíteni, hogy tanulmányunk az irodalomban -tudomásunk szerint- először hívta fel a figyelmet arra, hogy PE is utánozhatja a CJB-t.

A PE-t klinikailag a gyors progressziót mutató demencia, fluktuáló jellegű zavartság, liberációs jelek és start myoclonus jellemzi. A kórkép feltehetően gyakrabban fordul elő, mint amennyi esetben a diagnózist felállítják (Hauw et al. 1988). Az előfordulási gyakoriság pontosabb megállapítása az alacsony boncolási arány miatt nehéz. A klasszikusnak számító tünetek (dermatitis, diaorrhoea) sok esetben hiányozhatnak, ez nehezíti a helyes diagnózis felállítását. Az általunk vizsgált öt esetben a gyors progressziót mutató demencia és a járászavar uralta a tüneti képet. Ehhez cerebelláris tünetek (4 esetben) és pyramisjelek (3 esetben) társultak. A betegség lefolyása 2 és 24 hónap között váltakozott. Ezek az adatok összhangban vannak más tanulmányok eredményeivel, amelyek PE eseteiben tudati vigilitási zavarról,

„gegenhalten”-ról, myoclonusról, ataxiáról, cerebelláris tünetekről, fokozott reflexekről, neuropátiáról, autonóm diszfunkcióról és agyidegtünetekről számolnak be (Ishii and Nishiara 1981; Ishii and Nishiara 1985; Serdaru et al. 1988). A mi eseteink közül egy esetet a WHO prionbetegség surveillance kritériumok szerint mint „valószínű” sCJB-nek klasszifikáltuk a neuropatológiai vizsgálat előtt. Ez rámutat az agyi boncolás jelentőségére a gyors progressziót mutató demenciák esetén a prionbetegségek felügyeleti rendszerében. Ha nem történik neuropatológiai vizsgálat, akkor a hozzátartozók részére a klinikus CJB diagnózisát mondta volna, továbbá a közegészségügyi szerveknek is CJB esetként került volna jelentésre.

Az a tény, hogy a PE encephalopathia ilyen (relatív magas) számban fordul elő a klinikailag CJB-gyanús eseteink között, arra utal, hogy az ismert alkoholfogyasztó betegeknél körültekintéssel kell eljárunk, ha gyors progressziójú demencia jelentkezik.

A klinikai gyakorlat során a krónikus jelleggel alkoholt fogyasztó betegek nagy dózisú prompt tiamint kapnak, amennyiben progresszív neurológiai tüneteket észlelnek náluk. Ez a terápiás stratégia hasznos abból a szempontból, hogy elkerülhető legyen a WE (Wernicke encephalopathia). Az általunk vizsgált esetek között egyébként WE nem fordult elő. A tiamin és pyridoxin terápia alkalmazása során nő a szükséglet a pyridin koenzimek iránt, melyek kofaktora a nikotin acid. A niacid iránti megnövekedett metabolikus igény (a niacid a NAD és NADP kofaktora) vezet a beteg állapotának további romlásához, valamint ahhoz, hogy meghal, mielőtt a pellagra jellegzetes elváltozásai kialakulhatnának. A koenzimek iránti megnövekedett szükségletet a jelenlegi klinikai gyakorlat során általában nem elégítjük ki. Ez vezet a gyakran észlelhető klinikai progresszióhoz még a tipikus tüneti triász megjelenése előtt (dermatitis, diarrhoea, demencia), amely alapján felismerhető lenne a PE (Serdaru et al. 1988). A niacin hiány a relatív szerotonin deficiencia következményeként neuropszichiátriai tünetekhez vezethet, továbbá a csökkent kynuren- sav szintézis szintén hozzájárul a neurotoxicitáshoz (Brown 2010). Továbbá a corpus callosumban észlelt mikrostrukturális elváltozások is befolyásolhatják a klinikai képet krónikus alkoholistáknál (Pfefferbaum et al. 2006).

A fentieket figyelembe véve, a klinikai gyakorlat szempontjából tiamin mellett niacin adása ajánlott krónikus alkoholistáknak. Ez nem csak a terápiás siker érdekében

fontos, hanem a diagnózis felállításában is hasznos segítség lehet gyors progressziójú demencia esetén (Borwn 2010).

Neuropatológiai szempontból a PE-ban látható chromatolytikus neuronok jól elkülöníthetők a neurodegeneratív betegségekben látható puffadt (ballooned) idegsejtektől. Ez utóbbiak gyakran láthatók a limbikus rendszert érintő neurodegeneratív betegségekben. Utóbbi esetekben azonban az alpha-B-crystallin (stressz-válasz protein) pozitívak, míg PE-ben negatívak a puffadt idegsejtek. Fontos hangsúlyozni, hogy eseteinkben nem találtunk neurodegeneratív folyamattal kapcsolatba hozható fehérje depozitumokat.

Az általunk elvégzett vizsgálat és korábbi tanulmányok arra hívják fel a figyelmet, hogy a PE gyanúja fel kell, hogy merüljön olyan krónikus alkoholfogyasztóknál, akiknél a következő tünetek észlelhetők: gyors progressziót mutató demencia és para- vagy tetraparezis, neuropátia, vizuális zavar, myoclonus (Ishii and Nishihara 1981; Ishii and Nishihara 1985; Serdaru et al. 1988). Munkánk alapján megfogalmazható, hogy a PE-t úgy kell tekinteni, mint a sCJB egyik differenciáldiagnosztikai lehetőségét, amennyiben 14-3-3 protein meghatározás eredménye rendelkezésre áll liquorból. A niacin metabolitok értékelése és az MRI által igazolt izolált anterior vermis atrófia magas jelintenzitás eltérés nélkül segít a sCJB és a PE differenciálásában (Zerr et al. 2009).

VI.2. Az E200K mutációval társuló CJB klinikai fenotipusa

Az E200K mutációs eseteknél a betegség indulásakor észlelt átlagos életkor 62 év, az átlagos betegség lefolyás időtartama 5 hónap. Az idevonatkozó vizsgálatok szignifikánsan korábbi betegség kezdetet találtak az E200K mutáció homozigóta eseteiben (Simon et al., 2000), azonban a betegség jellemzői statisztikailag nem voltak eltérőek a homozigóta és heterozigóta csoportokban. A korai tünetek (Parchi et al., 1999): kognitív zavar, pszichiátriai jellegű problémák (80-83 %), megjegyzendő, hogy a pszichiátriai tünetek mint prodromális megnyilvánulások a CJB esetek 18-39 %-ban észlelhetők, például szorongás, alvászavar formájában (Shoudu et al., 2001); törzsataxia vagy végtagi ataxia (88%); myoclonus (58 %). A betegség lefolyása során az esetek 95 %-ában megjelenik legalább egy extrapyramidális tünet, pl. rigiditás, bradykinesis,

dystonia, tremor (Oren et al., 2012). A betegség terminális szakaszában szinte mindig kialakul a demencia (100 %), myoclonusok (73 %), cerebellaris tünetek (79 %), epilepsziás rohamok (40%), tipusos EEG aktivitás: PSWC (76 %), a liquorban a 14-3-3 protein 80 %-ban pozitív (Ladogana et al., 2009). A mágneses képalkotó eljárások jelentős segítséget nyújtanak a CJB diagnózisának felállításában (Breithupt et al., 2013). Sporadikus CJB (MM1-es alcsoport) és gCJB esetén hasonló területeken látható jelintenzitás fokozódás a diffúzió súlyozott (DWI) és a FLAIR szekvenciákon.

A betegség prodromális stádiumában gyakran jelentkezik szédülés, személyiség változás, cephalalgia (Schelzke et al., 2012). A klinikai képet jellemzi, hogy a prodromális szakaszt követően megjelennek, majd kifejlődnek a pyramis és extrapyramidális jelek, cerebellaris tünetek. Lehet a betegség megjelenése atipusos, melyre a korai betegség kezdet, a myoclonus és a tipusos EEG- jelek hiánya jellemző, valamint felső végtagi dystonia, hemichorea, szupranukleáris tekintésbénulás, insomnia, szenzoros zavarok is észlelhetők.

Néhány irodalmi közlés beszámol alvászéptelenségről (insomnia) E200K 129-MM esetekben. Az örökletes halálos alvászéptelenség (FFI) majdnem kizárólagosan a *PRNP* 178-as kodonjának patogénikus mutációjához kötötten jelenik meg. A neuropatológiai vizsgálat az E200K mutációs esetekben az FFI-hez hasonlóan a thalamus kifejezett mértékű érintettségét találta (Taratuto et al, 2002; Neufeld et al., 1996). A betegeknél az alvászéptelenség mellett a kezdeti tünetek között zavartság, személyiség változás, főként éjszaka megnyilvánuló bulimiás epizódok ellenére kialakuló testsúly csökkenés jelentkezik. A betegek térben és időben dezorientáltak, nyugtalanság, izgatottság, vizuális hallucinációk észlelhetők. Tachypnoe, állandósult láz, neurológiai vizsgálattal élénk ínreflexek, az izomzatban spasztikus tónusfokozódás található. EEG-n a specifikus alvási minták hiányoznak, majd a betegség későbbi fázisában generalizált kisülések jelennek meg. Szintén ritka és atípusos esetben myoclonus és specifikus EEG- tevékenység (PSWC) nélkül észleltek szupranukleáris tekintésbénulást korai tünetként (Bertoni et al., 1992).

A kóros konformációjú prion protein főként a központi idegrendszerben akumulálódik: cerebrum, a basalis ganglionok területe, cerebellum, gerincvelő érintett főként. Ez változatos klinikai tüneteket okoz. Hisztológiai eltérések E200K

mutációban: spongiform elváltozás, asztrogliózis a cerebrális kortexben, a striatumban, a medialis thalamusban és a cerebellumban.

A perifériás idegrendszer általában nem vagy ritkán érintett. Neuropátiás (demyelinisációs vagy axonális) tünetek néhány esetben észlelhetők (Antoine et al., 1996; Neufeld et al., 1992), E200K mutációs esetekben igen ritka esetben fordulnak elő. Ilyen tünet lehet: csökkent vagy kiesett alsó végtagi ínreflexek (pl. az Achilles reflex nem váltható ki). Az alsó végtag extenziója csökkent, szenzoros zavarok jelentkeznek, mint pl. pallesthesia (vibrációs érzés), szűrő jellegű fájdalom (tűszúrás érzés).

Eredményeink 75 beteg (gCJB E200K mutációs eset) vizsgálatának anyagából származnak. Az eredmények a klinikai tüneteket és azok előfordulási gyakoriságát illetően nem különböznek lényegesen az irodalomban közölt adatoktól. A viszonylag gyakori perifériás neuropátia előfordulási aránya (10,7 %) nem különbözött lényegesen a 129MM és az 129MV csoportban, mint ahogyan a többi tünet esetében sem találtunk szignifikáns eltérést a két genotípus között.

Az irodalom szerint a kórkép nem különül el élesen az sCJB-től, de van néhány megkülönböztető vonás, továbbá előfordulhat a tünetek között pl. PSP, polyneuropathia, pszichiátriai zavar. A gCJB esetén a betegség lefolyása hosszabb, az sCJB MM1 molekuláris altípusban a perifériás neuropathia ritkábban fordul elő. A vCJB fiatalabb életkorban fordul elő és a lefolyás hosszabb. A betegség kezdetétől szenzoros abnormalitások (fájdalom, dysaesthesia) és pszichiátriai tünetek uralják a képet (Zeidler et al., 1997), amelyek nem specifikusak az E200K mutációs esetekre. Mint ismert, a kodon 129 genotípus hatással van a klinikopatológiai fenotípusra. Az irodalmi adatok szerint van fenotípusbeli eltérés a két genotípus között. Sporadikus CJB-ben a típusos EEG elváltozás (periódusosan jelentkező meredekhullámok –PSWC „periodic sharp wave complex”- trifázisos morfológiával) nagyobb valószínűséggel detektálható 129MM homozigótáknál, kisebb arányban jelenik meg heterozigóta esetekben (129MV) és legkisebb valószínűséggel jelenik meg 129VV homozigótáknál. A klinikai tünetek heterozigótáknál általában ataxiával és dysarthriával kezdődnek, míg 129MM homozigóta esetekben a tüneti képet kezdetől a demencia vizuális zavar, myoclonus, aphasia, apraxia, dysphagia határozza meg (Parchi et al., 1996).

Az egyik tanulmányunkban az E200K mutáció eseteiben 43%-ban (Kovacs et al., 2011), míg egy másikban (amiben nem magyar esetek is voltak) 65 %-ban találtak

PSWC-t (Kovacs et al., 2005 a). Shmuel és munkatársai által elvégzett vizsgálatban az E200K mutációs esetek 38 %-ában fordult elő típusos EEG jel és 62 %-ban diffúz lassú hullám tevékenység. Az egyidejűleg elvégzett MRI vizsgálatának eredményeit összevetették az EEG vizsgálatok eredményeivel. Vizsgálataik alapján feltételezhető, hogy a lassú atktivitás a basalis ganglion elváltozásaival, míg a PSWC a corticalis degeneratív elváltozásaival hozható összefüggésbe (Shmuel et al., 2012) .

Anyagunkban az EEG-felvétel (a vizsgált 75 esetből 60-nál készült EEG) 49,3 %-ban (37/70) mutatott PSWC-t, amely nem tér el lényegesen az irodalmi adatoktól. Az arány nem különbözött a két genotípusban (129MM:61,8 %, 129MV:60,0 %). A nem típusos EEG eltérések mellett előfordult még diffúz lassulás, bilaterális meredekhullámok, intermittáló delta aktivitás, diffúz korticalis és diencephalikuss működészavar, éles delta tevékenység.

Anyagunkban (75 esetből 37-nél készült MRI-vizsgálat) 62 %-ban (23/37) volt igazolható kortikális és basalis ganglion területi szignálintenzitás fokozódás. A két genotípus közötti találati arány közel azonos volt (129MM: 63,6 %, 129MV: 60,0 %).

Az MRI- elváltozások tekintetében (Lee és munkatársai, 2009) szerint a gCJB és sCJB esetén hasonlóak az MRI képalkotás során látható jelintenzitás eltérések lokalizációi. Az általuk vizsgált anyagban található 29 gCJB (E200K vagy V210I) és 29 sCJB eset MRI leletének összehasonlítását végezték el. FLAIR szekvenciákon a putamenben 55 %-ban, a nucleus caudatusban 66 %-ban (DWI jelmenetben 33 % és 60 % az arány) találtak jelintenzitás fokozódást, mely nem különbözött szignifikánsan a sCJB eseteknél talált eredményektől. A mágneses képalkotás módszerének szenzitivitását gCJB és sCJB esetén 79 % és 72 %-osnak találta a vizsgálat.

Thalamo-striatalis diffúzió csökkenés összehasonlítását is elvégezték el E200K mutációs betegeknél, illetve vizsgálták a mutáció egészséges hordozóit és a mutációt nem hordozó családtagokat is. Az eredmények szerint a mutációt hordozóknál már évekkal a tünetek kialakulása előtt kimutatható a diffúzió redukciója egy jól meghatározható szubkortikális területen.

Anyagunkban (75-ből 47 esetben történt liquor protein 14-3-3 meghatározás). A vizsgálat minden vizsgált esetben pozitív volt, tehát 100 %-os szenzitivitás mutatkozott.

A liquor 14-3-3 protein pozitivitás (mint a neuronális sérülés ismert biomarkere) támogatja a CJB diagnózist. A sCJB esetében a vizsgálat szenzitivitása 94 % ,

amely a betegség utolsó stádiumában nő. E200K mutáció eseteiben 90 %, vCJB esetén 40-58 % között van a szenzitivitás (Quadrio et al., 2011).

Ladogana szignifikáns eltérést talált a 14-3-3 protein szintjét illetően a gCJB különböző csoportjaiban (különböző mutációk és GSS, valamint FFI). Pozitív volt a protein 14-3-3 teszt a legtöbb gCJB betegnél, függetlenül a mutáció típusától. 81 %-nak találta a 14-3-3 teszt pozitivitási arányát az E200K eseteiben, míg egyéb gCJB esetén ez 72 % volt. MM homozigótákban 78,1 %, MV esetén 88,2 %, VV homozigótákban 0 %-nak találta az arányt (Ladogana et al., 2009).

Vizsgálatunkban nem tudtunk szignifikáns kapcsolatot igazolni a tünetek és vizsgálati adatok, valamint a kodon 129-es genotípus között. Azaz klinikai tünetek önmagukban nem bizonyultak prediktív értékűnek arra, hogy valaki a mutációt hordozza. Bár a betegség lefolyásának időtartama hosszabb az 129-MV genotípus esetén, mint a 129-MM esetekben, anyagunkban ez a különbség nem volt szignifikáns. A klinikai fenotípus vizsgálatunkban nem különbözik alapvetően az E200K-129MM homozigóta és E200K-129MV heterozigóta esetekben. Ugyanezt az eredményt kaptuk akkor is, ha betegség lefolyásának időtartamát korai és késői periódusra osztottuk és ennek megfelelően korai és késői tüneteket különböztettünk meg. A tünetek nem bizonyultak prediktív értékűnek E200K mutációt hordozóknál a kodon 129 genotípusra nézve.

Szignifikáns negatív összefüggést találtunk a betegek életkora és a betegség lefolyás időtartama között. Ennek magyarázata lehet az is, hogy az idősebb kor rendszerint polimorbiditással, a társult betegségek kumulálódó negatív hatásával jár együtt. A tünetek és a beteg neme közötti kapcsolat nem szignifikáns, de adataink szerint a Parkinson szindróma gyakoribb férfiakban, főként kodon 129-MV esetén. A szédülés, demencia, myoclonus, hangulati zavar ezzel szemben nőknél fordul elő gyakrabban.

Az E200K esetek és a sporadikus CJBMM1 csoport összehasonlítása során kapott eredményeink szerint a következő állapítható meg. A gCJB nem különíthető el a sporadikus esetektől az életkor, a klinikum alapján. A betegség lefolyását tekintve szignifikáns különbség mutatkozott vizsgálatunkban a két csoport között. Bár egyes tünetek a betegség lefolyásának korai stádiumában gyakoribbak a genetikai formáknál, mint a sporadikus esetekben (ataxia, demencia). Gyakoran hiányzik a családi

anamnézis, illetve nem ismertek a családtagokkal kapcsolatos információk. Vagy pozitív a családi anamnézis, de a családtag más betegség következtében halt meg, mielőtt a gCJB klinikuma kialakulhatott volna. Az említett szempontok és vizsgálatunk adatai kiemelik az *in vivo* genetikai vizsgálatok jelentőségét. A genetikai vizsgálat eredménye támpontot adhat, segít értelmezhetővé tenni a rendelkezésre álló klinikai adatokat.

Nem utolsó sorban a *PRNP* gén 129-es kodonjának polimorfizmusa mellett a tünetek elemzésekor a kóros prion protein típusát is fontos figyelembe venni. A kóros konformációjú, proteáz rezisztens prion protein molekuláris szubtypustól (PrP^{Res} 1, 2) függő fiziko-kémiai tulajdonságai befolyásolhatják a klinikopatológiai fenotípust (Collins et al., 2006).

VI.3. Az E200K mutációval társuló gCJB: komplex proteinopátiák

Vizsgálataink során kimutattuk, hogy a kóros PrP lerakódása, illetve egyéb neuropatológiai elváltozások és proteinopátiák változatos formában jelennek meg *PRNP* mutációs esetekben.

Neuronvesztést észleltünk a substantia nigra területén, amelyet α -synuclein inklúziók jelenléte kísért, de neuronvesztés előfordult inklúziók nélkül is. Az irodalomban sporadikus CJB esetén is leírták a nigrostriatális rendszer károsodását (Vital et al., 2009). A PrP depozitumok morfológiája változatosabb képet mutatott: durvább megjelenésű immundepozitumok (plakkok, foltos, egyenetlen perivakuoláris) és ugyancsak több intraneuronális PrP aggregátum volt kimutatható 129MV eseteiben, összehasonlítva a 129MM homozigótákkal.

A legfontosabb eredmény azonban, hogy egyéb (nem PrP) kóros fehérjelerakódást is igazoltunk.

Tau patológia mutatkozott kis neuritikus profilok formájában, Braak és Braak féle beosztásnak megfeleltethető neurofibrilláris degenerációként (Braak H, Braak E 1991), továbbá észleltünk tau patológiát nem szokványos megjelenésben. Ez utóbbit szoros anatómiai eloszlásban találtuk asztrocita tau patológia nélkül, amely ilyen formában nem fordul elő sporadikus tauopathiákban (nem prionbetegségben). A

neurofibrilláris kötegek gyakran előfordultak az agytörzsi magvakban (raphe mag, locus coeruleus) viszonylag fiatal E200K gCJB betegekben, hasonló módon ahhoz, ahogyan azt az AK-ban és MCI-ben a betegség korai vonásaként leírják (Grudzien et al., 2007; Simic et al., 2009). Szerzett prion betegségben, vCJB-ben a plakkok környezetében neuritikus profilok találhatók (Giaccone et al., 2008), míg a neurofibrilláris kötegek olyan *PRNP* mutációk konzisztens jellemzői, melyek PrP amyloidosisal járnak (Ghetti et al., 1996). A tauopathia egy szokatlan formáját írták le R208H mutációban, amely CJB fenotípusú volt (Roeber et al., 2005). Kettős immun jelzéses vizsgálataink szerint a tauopathiák túlnyomó többsége neuronális eredetű.

Megfigyelhető volt A β lerakódások, amelyet Ghoshal és munkatársai (2009) már korábban leírtak E200K mutációs gCJB esetekben. Ezenkívül, Braak-féle beosztás szerint besorolható Lewy test patológiát és túlnyomóan neuronális granuláris α -synuclein immunreaktivitást észleltünk az agytörzsi magvakban Lewy testek nélkül (az esetek felében). Ez a megfigyelés alátámaszthatja azt az elgondolást, hogy a PrP és az α -synuclein interaktív viszonyban vannak. Habár a kodon 129-es polimorfizmusa nem befolyásolja az α -synucleinopathia kialakulására való hajlamot (Scholz et al., 2006), a kórkép klinikai megjelenését azonban befolyásolhatja (Gossrau et al., 2006).

Anyagunkban nem fordult elő TDP-43 proteinopátia. Ez összhangban van más tanulmányok eredményeivel (Isaacs et al., 2008). PrP, az A β és az α -synuclein produkciója az endoszomális-lizoszomális rendszerben lehet átfedésben egymással (Kovács et al., 2007 c; Pan et al., 2008). Kölcsönös interakciókat figyeltek meg a tau protein, az amyloid- β és az α -synuclein között (Kovács et al., 2010). Az általunk észlelt protein depozíciók spektruma különbözik attól, amit a PrP amyloidózisban (pl. GSS) leírtak, továbbá attól is, amit sCJB esetén látni (Debatin et al., 2008 Vital et al., 2009). A tauopathiákra vonatkozó megfigyeléseink a különböző országokból származó betegek esetében nem egyeznek azzal, amelyek a sporadikus tauopathiákra jellemzőek (Cairns et al., 2007). Ez a tény arra utal, hogy a mutáns PrP kölcsönhatásban lehet a tau proteinnel (Wang et al., 2008). A celluláris prion protein az amyloid- β termelésének szabályozásában vesz részt és in vitro körülmények között tau proteinnel alkot komplexet (Wang et al., 2008). A PrP és az α -synuclein homológ régiókkal rendelkeznek és a homológ peptidek elősegíthetik az α -synuclein fibrillizációját (Du et al., 2006).

Megfigyeléseink és a korábbi tanulmányok arra utalnak, hogy a mutáns PrP metabolizmusa és intracelluláris forgalma interferál az egyéb proteinek termelésével, feldolgozásával és ez kóros depozitumok kialakulásához vezet. Eredményeink alapján az E200K mutáció fontos modell lehet annak megértésében, hogy milyen molekuláris kölcsönhatások lehetnek a neurodegenerációval kapcsolatos proteinek között. Eredményeink azt is megerősítik, hogy E200K mutáció esetében komplex patogenetikus kölcsönhatások felelősek a penetranciában és a klinikai fenotípusban észlelt különbségekért. Megfigyeléseinkből levont következtetések alapján javasolható, hogy a klinikus orvos gondoljon a genetikai CJB lehetőségére olyan kórkép esetén, amikor a korai indulású neurológiai tünetek gyors progressziójú fázisba fordulnak át.

VI.4. Piroglutamát A β depozitumok vizsgálata E200K mutációs esetekben

Az utóbbi időben írták le, hogy AK-ban szolubilis oligomer A β molekulák fontos szerepet játszanak a patomechanizmusban. Wirths és munkatársainak sikerült olyan antitesteket előállítani, amelyek a alacsony molekulásúlyú A β pE3 oligomereket ismernek fel (Wirths et al. 2010). Azt is kimutatták, hogy az A β plakkoknak csak egy részét teszik ki ezek az oligomer formák (Venkataramani et al. 2012). A mi vizsgálataink azt igazolták, hogy az E200K *PRNP* mutációs esetekben A β pE3 oligomerek ugyanúgy jelen vannak mint AK-ban. Érdekes módon azonban AK-hoz képest úgy tűnik, hogy E200K mutációs esetekben az oligomer molekulák egy adott A β plakkban nagyobb arányban vannak jelen, mint AK-ban. Hangsúlyozni, kell, hogy vizsgálataink szemikvantitatív jellegűek, azaz további morfológiai vizsgálatokat kell elvégezni, hogy ezt megerősítsük.

V.5. Cerebrotendinosus xanthomatosis: a korai öregedés patológiai jegyeit mutató neurodegeneratív elváltozás

A cerebrotendinosus xanthomatosis (CTX) ritka, autoszomális recesszív öröklésmentet mutató, klinikai és molekuláris heterogenitást mutató metabolikus (lipid tárolási) betegség. A mitochondrialis *CYP27A1* gén mutációi okozzák a betegséget. A gén által kódolt szterol 27-hidroxiláz enzim deficienciája alakul ki. Következésképpen az epesavak szintézisének zavara alakul ki, a kóros anyagcseretermékek (koleszterin, kolesztanol) az agyban és az inakban szaporodnak fel. A csökkent epesav pool felelős a megnövekedett koleszterol bioszintéziséért (feed back) és a koleszterol, kolesztanol overprodukciónak okozza a tüneteket. A koleszterol és kolesztanol akkumuláció a központi és perifériás idegrendszert, az egyes izmok inait, a tüdőt, a májat, a vesét érinti. Korai és jelentős mértékű ateroszklerózis, több szervrendszert érintő, progresszív jellegű kórkép alakul ki normál szérumszintű koleszterin mellett. Az enzim szerepe, illetve a hiányában kialakuló zavar jelenleg is intenzív kutatás tárgya (Weingartner et al. 2010). Feltételezik ugyanis, hogy a szérumszint szabályozásában az enzim nem egyedül az epesavak és a kapcsolódó reverz koleszterol transzport mechanizmusa útján vesz részt.

Eddig a génnek (*CYP27A1*) mintegy 50 olyan mutációját azonosították, amely betegséggel jár. Az enzim hiánya az 5 α -kolesztanol akkumulációjához vezet a vérben és a test szöveteiben. A molekuláris defektus következménye: 1. a koleszterol oldallánc csökkent oxidációja; 2. az epesavak redukált szintézise; 3. csökkent kenodeoxikolsav (CDCA) termelés.

Egy tanulmány adatai szerint (Moghadasian 2004) addig az egész világon alig több, mint 200 betegről számoltak be, ebből 175 esetet dokumentáltak. Első ízben 1936-ban Schneider nevű szerző közölte egy 36 évesen meghalt, mentálisan sérült beteg esetét, akinél xanthomatosis elváltozásokat talált az idegrendszerben (Schneider 1936). 1937-ben került közlésre a következő eset, ahol demens, ataxiás, cataractában szenvedő betegnél találtak xanthomákat az inakban és az idegrendszerben (Van Bogaert et al. 1937). Biztosan jelentős mértékben aluldiagnosztizált betegségről van szó, egy 2011-es közlés szerint (Dinelli et al., 2011) az Egyesült Államokban a CTX prevalenciája 3-5/100 000 fő. Ez az arány az összes lakosságra vonatkoztatva több, mint 8000 beteget

jelentene, azonban a kezelt betegek száma nem érte el a 100 főt. Egy a spanyol CTX esetek gyakoriságát, klinikai, genetikai és a prognosztikai tényezőket is áttekintő -2011-ben született- tanulmány szerint Spanyolországban a becsült minimum prevalencia 1/1 800 000 volt. Azonban a szerzők nem zárják ki egyes régiók közötti különbségek kialakulásának lehetőségét, melyet hajlamosító tényezőknek lehet tulajdonítani (Pilo-de-la-Fuente et al., 2011 a). A betegség tüneteinek kialakulásáért az 5- α -kolesztanol szérumban és szövetekben megfigyelt akkumulációja a felelős.

A xanthomatosus károsodások által a leginkább érintett szervek: cerebrum (ateroszklerózis), szemlencse (cataracta), inak (xanthomatosis). A hisztológiai vizsgálat az idegrendszerben myelin destrukciót mutat, koleszterol csíkok és gliózis alakul ki az agytörzsben és a cerebellumban. Az agyi károsodás neurológiai tünetek megjelenéséhez vezet, amely a negyedik-ötödik évtizedben válik markánssá, de klinikai tünetek már a második-harmadik évtizedben is jelentkezhetnek. A xanthomák megjelenése és növekedése a második évtizedre tehető: leggyakoribb az Achilles ín és a quadriceps ín felett, de lehetnek a triceps és a kézujjak extenzorainak inai felett is xanthelasmák és tuberosus xanthomák.

Gyermekek-, sőt már a csecsemőkorban kialakuló tünetek: krónikus hasmenés, juvenilis cataracta, tanulási nehézségek az iskoláskorban. A cataracta már 5-6 éves korban is megjelenhet (zonularis corticalis lencsehomály). A *korai* bilateralis cataracta és a diaorrhoea többnyire a neurológiai tünetek előtt jelenik meg, ami nehezíti a diagnózis felállítását, ugyanis a klinikus neurológiai jelek hiányában nem gondolnak CTX-re (Dinelli et al., 2011). A betegség kezelhető, leghatékonyabb a CDCA orális szupplementációja, mely gátolja az excesszív kolesztanol szintézist, a kóros epesav szintézist, csökken a plazma kolesztanol koncentrációja. Emellett a terápiát kiegészíthetik HMG-CoA reduktáz inhibitorral (statin), melynek hatásmechanizmusa CTX-ben egyelőre pontosan nem ismert. Terápiás lehetőség még az LDL ferézis, mely csökkenti a plazma kolesztanol szintjét.

A tünetek az előfordulási gyakoriság sorrendjében: tendon xanthoma (45%), alacsony intelligencia (81%), cataracta (90%), diaorrhoea (33%), pyramis jelek (67%), cerebelláris tünetek (60%), alacsony intellektus (57%), epilepsziás roham, perifériás neuropátia (24%) (Verrips et al., 2000). Kevésbé gyakori: coronaria betegség, a mérsékelt pulmonalis elégtelenség, az osteoporosis, fracturák. A neurológiai tünetek a

második évtizedtől progrediálnak: alacsony intellektus, illetve progrediáló demencia, ataxia, cerebellaris tünetek (intenciós tremor, nystagmus, ataxias járás) agytörzsi tünetek, pyramis- és extrapyramidális tünetek, tartási és járási zavar, perifériás neuropátia, spinális parezis, convulziók, spasticitás, pes cavus jellegű láb deformitás, kesztyű- vagy harisnya eloszlást mutató paresthesia, alsó végtagi izomatrófia, szfinkter zavarok, nyelészavar, pszichiátriai jellegű problémák fordulnak elő. Klinikai értelemben két alcsoport különíthető el. Klasszikus formának tartják a dominánsan cerebellaris (pl. ataxia) vagy egyéb szupratentorialis régióhoz köthető tünetekkel járó betegséget, míg spinális formának a krónikus myelopathianak megfelelő tünetekkel (spasztikus paraparesissel) járó CTX-t. A spinális forma prognózisa kevésbé kedvezőtlen, mint a klasszikus formáé. Ritkán parkinsonizmus (Chen-San Su, Wen-Neng Chang et al., 2010; Mignarri, 2012), illetve focalis (oromandibularis) dystonia fordulhat elő (Alcalay et al., 2009). Differenciáldiagnosztikai problémákat vethet fel a Friedreich ataxiával, csecsemőkori febrilis konvulzióval, genuin epilepsziával, mentális retardációval, Marinesco-Sjogren syndromával (cerebellaris ataxia, veleszületett cataracta, mentális retardatio) való összetévesztés lehetősége (Karandikar et al., 2009).

Normál hemogram és normál szérum koleszterol, illetve triglicerid érték mellett minden CTX-ben szenvedő betegnél emelkedett a plazma- és a szöveti kolesztanol, ill. a 27-karbon epe alkohol koncentrációt mutatnak. Vizeletben ürülnek az epe-alkohol glukuronidok. Egészségeseknél a szérum kolesztanol/koleszterol hányados: 0.02, CTX-ben ez az érték 30. Ugyanakkor a CTX-betegekből a plazma teljes koleszterol koncentráció és a lipoprotein profil a normál tartományban, vagy ez alatt mérhető. Ugyancsak alacsony a CDCA szérumban és az epesavnak az epében mért koncentrációja. Ez utóbbi a felelős a már csecsemő- vagy gyermekkorban megjelő hasmenésért. A kolesztanol megjelenése az idegrendszerben sérült vér-agy gát funkcióra utal. Feltételezik, hogy LDL-koleszterol a plazmából átmegy a vér-agy gáton és kolesztanolt visz magával. Jelenleg nem tudjuk, hogy a megnövekedett kolesztanol bioszintézis és ennek akkumulációja okozza a neurológiai diszfunkciókat önmagában, vagy más mechanizmuson keresztül alakul ki a sérülés. Feltételezik, hogy a CTX-ben képződő vizsgálatokkal gyakran igazolható cerebrális és cerebelláris atrofia hátterében a kolesztanol apoptotikus működést serkentő szerepe állhat. A tény, hogy a familiáris hyperkoleszterinémiában nincsenek neurológiai tünetek és CDCA terápia effektív, arra

utalhat, hogy a kolesztanol maga károsítja a cerebrális funkciókat. A központi idegrendszer neuropatológiai vizsgálatakor granulomatosus és xanthomatosus elváltozások mutatkoznak a cerebellumban, a globus pallidusban és a cerebellaris pedunculusokban (Gallus et al., 2006).

Az általunk bemutatott két CTX-eset (testvérpár) klinikai fenotípus spektruma megfelelést mutat az irodalomban eddig közölt esetekkel. Az általunk igazolt mutáció már ismert volt korábban (Gallus et al. 2006). A cerebelláris fehérállományt érintő degeneratív elváltozásokat képalkotó vizsgálattal (MRI) és neuropatológiai vizsgálattal is igazolták (Gallus et al. 2006; Soffer et al. 1995).

T2W, FLAIR MRI- képek hyperintenzitást mutatnak a pyramispályákon és bilaterális hyperintenzitást a cerebellum nucleus dentatusban és a mély cerebellaris fehérállományban (Karandikar et al., 2009). A fehérállomány relatíve megkímélt marad (Guerra et al., 2010). Agyi MRS (spektroszkópiás képalkotás) vizsgálatok csökkent n-acetilaszpártát és megnövekedett laktát szignálokat mutatnak, ami arra utal, hogy axonális sérülés és mitokondriális diszfunkció észlelhető az agyban (De Stefano et al., 2001).

A vizuális kiváltott válasz (VEP) és szomatoszenzoros kiváltott válasz (SSEP) vizsgálatok csökkent centrális vezetést mutatnak. A neurográfias vizsgálatok demyelinizációs eredetű neuropátiát vagy axonális neuropátiát, ill. kevert neuropátiát mutatnak, de bizonyos százalékban normál vezetési sebességet jelezhetnek (Pilo-de-la-Fuente et al., 2011).

Munkánk során az idősebb fiútestvér cerebrumának neuropatológiai feldolgozását végeztük el. A talált neuropatológiai eltéréseket négy csoportba sorolhatjuk: 1. xanthomatosus elváltozások; 2. axon- és myelinvesztés a fehérállományban; 3. neuronpusztulás következményes asztrogliózissal; 4. tauopathia a limbikus rendszerben, amely AGD-nek felel meg. A leukodystrophia, a gliózis és a perivaszkuláris makrofág szaporulat a cerebelláris fehérállományban, a pons bázisán, a pyramisban, a pedunculusokban, a Purkinje sejtek rétegében, a nucleus dentatusban voltak túlnyomó részben megfigyelhetők. A tauopathia előfordulásának súlyponti területe a limbikus rendszer: hippocampus CA1-CA4, entorhinalis kortex, nucleus subthalamicus és locus coeruleus.

Öregedéssel társuló (korfüggő) neurodegeneratív elváltozás hisztopatológiai bizonyítékát eddig nem közöltek CTX-ben. Nem találtunk szenilis plakkot vagy amyloid- β protein depozitumot a cerebrális parenchymában vagy vaszkulaturában, ahogyan az AK-ban megfigyelhető. AK-al kapcsolatos morfológiai vonásként Braak és Braak szerinti III-as stádiumnak megfelelő neurofibrilláris degenerációt figyeltünk meg. Esetünkben a kötegek alacsony száma és neuronális tau-nak megfelelő immunoreaktivitás mutatkozott a neokortikális régiókban és a substantia nigraban (Alafuzoff et al. 2008). A génnek egy másik mutációja is ismert, amely enyhe fokú neurofibrilláris degenerációval jár és ugyancsak hiányoznak a A β plakkok (Wallon et al. 2010).

A tau- immunoreaktivitás részletes feldolgozása során kiderült, hogy a tau-patológia főképpen a limbikus rendszert érinti és az előrehaladott AGD jegyeit mutatja. Mint ismert az AGD korral társuló betegség (Ferrer et al. 2008; Tolnay et al. 2004). Elméletileg feltételezhető, hogy a koleszterol helyét a sejtplazma membránjában az excesszív módon termelődő kolesztanol foglalja el megváltoztatva a membrán fluiditását (Seyama 2003). Ez, valamint a stressz kinázok aktiválódása vagy a mitochondriális diszfunkció (Gallus et al. 2006) lehet felelős a limbikus tauopathiáért és az AGD-szerű neurodegenerációért (Ferrer et al. 2008; Ilieva et al. 2011). Az AGD etiológiája nem ismert. Társulhat egyéb tauopathiákkal vagy AK-al és legvalószínűbb, hogy csökkenti a kognitív funkciók romlásának küszöbét. Vizsgálatunk eredményei arra utalnak, hogy CTX-ban az agy korai öregedésével összefüggő folyamat észlelhető. Ez a folyamat nem az AK-nak megfelelő patológiával (Nelson et al. 2011), neurofibrilláris kötegekkel és amyloid- β plakkokkal jár, hanem túlnyomóan a limbikus rendszert érintő tauopathiával, amelyet AGD-szerű vonások jellemeznek.

VII. KÖVETKEZTETÉSEK

1)

A prionbetegségek felügyeleti rendszeréhez küldött prionbetegségekre gyanús eseteket a neuropatológiai vizsgálatok eredményei alapján osztályoztuk. Prionbetegség szempontjából differenciáldiagnosztikai szempontból a következő kórképek jönnek elsősorban számításba: 1. egyéb neurodegeneratív (nem prion) betegségek (melyek tartalmazzák a kevert kórképeket is); 2. gyulladásos folyamatok (beleértve paraneoplasias encephalitist); 3. továbbá metabolikus encephalopathiák. Eseteink között relatíve gyakorinak találtuk a pellagra encephalopathiat. Azaz pellagra ecephalopathia differenciáldiagnosztikai problémaként merülhet fel Creutzfeldt-Jakob betegséggel kapcsolatban.

2)

Rendszereztük az E200K *PRNP* mutációhoz kapcsolt prionbetegség klinikai fenotípusait. Vizsgálatunkban 75 E200K *PRNP* mutációs eset klinikai fenotípusát és a tüneteknek a 129-es kodon genotípusával kapcsolatos viszonyát vizsgáljuk. Eredményeink alapján az E200K *PRNP* mutációval társuló genetikai CJB, amelyben gyakran hiányzik a pozitív családi anamnézis, klinikailag nem különíthető el a leggyakoribb sporadikus CJB-től, továbbá nincs olyan klinikai tünet, ami alapján felmerülhetne a génmutáció.

3)

E200K *PRNP* mutációhoz kapcsolt prionbetegség esetekben szisztémás neuropatológiai vizsgálatot végeztünk a kóros prionfehérje és egyéb neurodegeneratív betegséghez köthető fehérjék (tau, α -synuclein, β -amyloid, TDP43) immunpozitivitási mintázatának elemzéséhez. Vizsgálataink alapján gyakori jelenség, hogy E200K *PRNP* mutációs genetikai CJB esetekben a kóros prion fehérje mellett más neurodegeneratív betegségre jellemző kóros fehérje lerakódás észlelhető.

4)

Vizsgálataink alapján piroglutamát A β oligomerek az Alzheimer kórhoz hasonlóan jelen vannak az E200K mutációhoz köthető genetikai CJB-ben észlelhető A β plakkokban. Vizsgálataink felvetik, hogy arányuk magasabb az A β plakkokban.

5)

Részletes klinikopatológiai vizsgálattal felvetettük cerebrotendinosus xanthomatosis lehetőségét egy családi halmozódást mutató kórképnél. Ezt biokémiai és genetikai vizsgálattal igazoltuk. A komplex klinikai kép mellett neuropatológiai vizsgálattal argyrophil grain betegséget is észleltünk, amely öregedéshez társuló kórkép. Azaz a kolesztenol metabolizmus zavara az idegrendszerben a korai öregedési folyamat jeleivel társul.

VIII. ÖSSZEFOGLALÁS

A dolgozatban neurodegeneratív kórképeket okozó proteinopátiák klinikopatológiai elemzését végeztük el. Részletesen foglalkozunk a prionbetegségek klinikopatológiájával. A prionbetegségek egyik formája (a *PRNP* gén E200K mutációjával járó genetikai CJB) Magyarországon gyakrabban fordul elő, mint az irodalmi adatok alapján várható. Ezért gyors progressziót mutató demenciával járó kórképek esetén differenciáldiagnosztikai problémát jelenthet a klinikus orvos számára. Leírtuk a CJB leggyakoribb klinikai differenciáldiagnosztikai aspektusait és felhívtuk a figyelmet arra, hogy pellagra encephalopathia utánozhatja a CJB tüneteit. Elvégeztük az E200K mutációs esetekhez kötött prionbetegség klinikopatológiai fenotípusának meghatározását. A fenotípus és a tüneteknek a 129-es kodon genotípusával kapcsolatos viszonyát vizsgálva megállapítottuk, hogy a tünetek nem rendelkeznek prediktív értékkel a genotípusra nézve és az E200K mutációs esetek nem elkülöníthetők a leggyakoribb sporadikus CJB molekuláris altípustól, habár a kórlefolyás időtartamát tekintve a különbség szignifikánsnak mutatkozott. Az E200K mutációs esetek klinikai és neuropatológiai jellemzése során a tünetek elemzése mellett a prion protein, a tau, az α -synuclein patológia és az amyloid- β depozitumok részletes leírását adjuk. Vizsgálataink alapján gyakori jelenség, hogy E200K *PRNP* mutációs genetikai CJB esetekben a kóros prion fehérje mellett más nd betegségre jellemző kóros fehérje lerakódás észlelhető. Elemzésünk szerint az E200K mutációs esetekben egyéb proteinopathiák gyakran jelennek meg, ez arra utal, hogy a *PRNP* gén más nd betegségek patomechanizmusában is szerepet játszhat. Piroglutamát A β depozitumok E200K mutációs esetekben történő vizsgálata során megfigyeltük, hogy az E200K mutációs esetekben az AK-hoz hasonlóan A β plakkokban jelen vannak a piroglutamát-A β -oligomerek. Előzetes megfigyeléseink szerint ezeknek aránya az A β plakkokon belül nagyobb lehet, mint Alzheimer kórban. Cerebrotendinosus xanthomatosis esetek klinikopatológiai elemzése során kimutattuk, hogy a tau-patológia főként a limbikus rendszert érinti és az előrehaladott AGD jegyeit mutatja.

Tehát a komplex klinikai kép mellett neuropatológiai vizsgálattal argyrophil grain betegséget is észleltünk, amely öregedéshez társuló kórkép. Azaz a koleszterol metabolizmus zavara az idegrendszerben a korai öregedési folyamat jeleivel társul.

IX. SUMMARY

In this thesis we analyzed clinicopathological proteinopathies causing neurodegenerative diseases. We deal in detail with clinicopathology of prion diseases within neurodegenerative illnesses. One form of the prion diseases (*PRNP* gene is E200K genetic mutation of CJD) occur more frequently in Hungary than expected on hand of data in the literature. Therefore, in cases of disorders associated with rapid progression dementia, a differential diagnostic problem emerges for clinicians. We described the most common clinical differentialdiagnostic aspects and concluded that pellagra encephalopathia a non prion disease can mimic symptoms of CJD. We carried out det in E200K mutation cases linked to prion diseases. We made an attempt to determine the predictive value of early clinical symptoms. Examining the relationship between phenotype and symtoms related to the genotype of codon 129 it was found that symptoms do not have any predicative value considering genotypes, nor can E200K mutation cases be distinguished from the most common molecular subtype of sporadic CJD. Duration was only difference between the two groups. Along with characterization of clinical and neuropathological patterns of E200K mutation cases, a detailed description is added of prion protein, the tau, α -synuclein pathology and the amyloid- β deposits. Our studies have shown that in genetic CJD cases with E200K *PRNP* mutation in addition to abnormal prion protein deposits characteristic for other neurodegenerative diseases were also present. Since in the E200K mutation cases quite often other proteinopathies also appear, it can be concluded that *PRNP* gene may plays an important role in the patomechanism of other neurodegenerative (non prion) diseases. Testing the deposits of A β pyroglutamate E200K mutation cases we observed that the E200K *PRNP* mutation cases like AK in A β plaques are present pyroglutamate A β oligomers. According to our observations, the proportion of these may be higher in A β plaques than Alzheimer disease. Clinicopathological analyses of cerebrotendinosus xanthomatosis cases showed that tau-pathology mainly affects the limbic system and shows signs of advanced argyrophilic grain disease. In addition to the complex clinical picture we observed argyrophil grain disease with neuropathological examination, which is associated with diseases related to aging. Namely, the colestanol metabolic disturbance of the nervous system can be associated with early signs of aging process.

X. IRODALOMJEGYZÉK

Acevedo-Morantes C Y, Wille H. (2014) The structure of Human Prions: from biology to structural models - considerations and pitfalls. *Viruses-Basel*, 10: 3875-3892.

Aguzzi A, Polymenidou M. (2004) Mammalian prion biology: one century of evolving concepts. *Cell*, 2: 313-327.

Aguzzi A. (2009) Cell biology: Beyond the prion principle. *Nature*, 7249: 924-925.

Ahmida HS, Bertucci P, Franzo L, Massoud R, Cortese C, Lala A, Federici G. (2006) Simultaneous determination of plasmatic phytosterols and cholesterol precursors using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) with selective ion monitoring (SIM). *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 1: 43-47.

Alauzoff I, Arzberger T, Al-Sarraj S, Bodi I, Bogdanovic N, Braak H, Bugiani O, Del-Tredici K, Ferrer I, Gelpi E, Giaccone G, Graeber MB, Ince P, Kamphorst W, King A, Korkolopoulou P, Kovacs GG, Larionov S, Meyronet D, Monoranu C, Parchi P, Patsouris E, Roggendorf W, Seilhean D, Tagliavini F, Stadelmann C, Streichenberger N, Thal DR, Wharton SB, Kretschmar H. (2008) Staging of neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease: a study of the BrainNet Europe Consortium. *Brain Pathol*, 4: 484-96

Alcalay R, Wu S, Patel S, Frucht S. (2009) Oromandibular dystonia as a Complication of Cerebrotendinous Xanthomatosis. *Movement Disorders*, 9: 1397-1399.

Allan H. Ropper, Martin A. Samuels. Adams and Victor's Principles of Neurology (Ninth edition) McGraw-Hill Medical, 2009: 1011-1014.

Alpers MP. (2008) The epidemiology of kuru: monitoring the epidemic from its peak to its end. *Philos Trans Roy Soc Lond B Biol Sci*, 1510: 3707-3713.

- Antoine JC, Laplanche JL, Mosnier JF, Beaudry P, Chatelain J, Michel D. (1996) Demyelinating peripheral neuropathy with Creutzfeldt-Jakob disease and mutation at codon 200 of the prion protein gene. *Neurology*, 4: 1123-1127.
- Appleby BS, Appleby KK, Crain BJ, Onyike CU, Wallin MT, Rabins PV. (2009) Characteristics of Established and Proposed Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease Variants. *Arch Neurol*, 2: 208-215.
- Beekes M, McBride PA. (2007) The spread of prions through the body in naturally acquired transmissible spongiform encephalopathies. *FEBS J*, 3: 588- 605.
- Bence NF, Sampat RM, Kopito RR. (2001) Impairment of the ubiquitin-proteasome system by protein aggregation. *Science*, 5521: 1552-1555.
- Bertoni JM, Brown P, Goldfarb LG, Rubenstein R, Gajdusek DC. (1992) Familial Creutzfeldt-Jakob Disease (Codon 200 Mutation) With Supranuclear Palsy. *JAMA*, 17: 2413-2415.
- Choi BY, Kim SY, Seo SY, An SS, Kim S, Park SE, Lee SH, Choi YJ, Kim SJ, Kim CK, Park JS, Ju YR. (2009) Mutations at codons 178, 200-129, and 232 contributed to the inherited prion diseases in Korean patients. *BMC Infect Dis*, 9: 132.
- Braak H, Braak E. (1991) Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol*, 4: 239-259.
- Breithaupt M, Romero C, Kallenberg K Begue Chr, Sanchez-Juan P, Eigenbrod S, Kretschmar H, Schelzke G, Meichtry E, Taraturo A, Zerr I. (2013) Magnetic Resonance Imaging in E200K and V210I Mutations of Prion Protein Gene. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 1: 87-90.
- Bremer J, Baumann F, Tiberi C, Wessig C, Fischer H, Schwarz P, Steele AD, Toyka KV, Nave KA, Weis J, Aguzzi A. (2010) Axonal prion protein is required for peripheral myelin maintenance. *Nat Neurosci*, 3: 310-318.
- Brown P, Goldfarb LG, Gibbs CJ Jr, Gajdusek DC. (1991) The phenotypic expression of different mutations in transmissible familial Creutzfeldt-Jakob disease. *Eur J Epidemiol* 5: 469-476.

Brown P, Gálvez S, Goldfarb LG, Nieto A, Cartier L, Gibbs CJ Jr, Gajdusek DC. (1992) Familial Creutzfeldt-Jakob disease in Chile is associated with the codon 200 mutation of the PRNP amyloid precursor gene on chromosome 20. *J Neurol Sci*, 1-2: 65-67.

Brown P, Brandel JP, Preece M, Sato T. (2006) Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease: the waning of an era. *Neurology*, 3: 389-93.

Brown TM. (2010) Psychosomatics, Pellagra: an old enemy of timeless importance. 2: 93-97.

Bush AI, Pettingell WH Jr, Paradis MD, Tanzi RE. (1994) Modulation of A β adhesiveness and secretase site cleavage by zinc. *Biol Chem*, 16: 12152-12158.

Butterfield DA, Perluigi M, Reed T, Muharib T, Hughes CP, Robinson A, Sultana R. (2012) Redox proteomics in selected neurodegenerative disorders: from its infancy to future applications. *Antioxid Redox Signal*, 11: 1610-55.

Cairns NJ, Bigio EH, Mackenzie IR, Neumann M, Lee VM, Hatanpaa KJ, White CL, Schneider JA, Grinberg LT, Halliday G, Duyckaerts C, Lowe JS, Holm IE, Tolnay M, Okamoto K, Yokoo H, Murayama S, Woulfe J, Munoz DG, Dickson DW, Ince PG, Trojanowski JQ, Mann DM. (2007) Neuropathologic diagnostic and nosologic criteria for frontotemporal lobar degeneration: consensus of the Consortium for Frontotemporal Lobar Degeneration, 1: 5-22.

Casetta I, Govoni V, Granieri E. (2005) Oxidative stress, antioxidants and neurodegenerative diseases. *Curr Pharm Des*, 16: 2033-52.

Chapman J, Arlazoroff A, Goldfarb LG, Cervenakova L, Neufeld MY, Werber E, Herbert M, Brown P, Gajdusek DC, Korczyn AD. (1996) Fatal insomnia in a case of familial Creutzfeldt-Jakob disease with the codon 200Lys mutation. *Neurology*, 3: 758-761.

Chatelain J, Delasnerie-Laupretre N, Lemaire MH, Cathala F, Launay JM, Laplanche JL. (1998) Cluster of Creutzfeldt-Jakob disease in France associated with the codon 200 mutation (E200K) in the prion protein gene. *Eur J Neurol*, 5: 375-379.

Su CS, Chang WN, Huang SH, Lui CC, Pan TL, Lu CH, Chuang YC, Huang CR, Tsai NW, Hsieh MJ, Chang CC. (2010) Cerebrotendinous Xanthomatosis Patients With and

Without Parkinsonism: Clinical characteristics and Neuroimaging Findings. *Movement Disorders*, 4: 452-458.

Chitravas N, Jung RS, Kofskey DM, Blevins JE, Gambetti P, Leigh RJ, Cohen ML. (2011) Treatable neurological disorders misdiagnosed as Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol.*, 3: 437-44.

Collinge J, Sidle KC, Meads J, Ironside J, Hill AF. (1996) Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of 'new variant' CJD. *Nature*, 6602: 685-690.

Collins SJ, Sanchez-Juan P, Masters CL, Klug GM, van Duijn C, Pileggi A, Pocchiari M, Almonti S, Cuadrado-Corrales N, de Pedro-Cuesta J, Budka H, Gelpi E, Glatzel M, Tolnay M, Hewer E, Zerr I, Heinemann U, Kretschmar HA, Jansen GH, Olsen E, Mitrova E, Alperovitch A, Brandel JP, Mackenzie J, Murray K, Will RG. (2006) Determinants of diagnostic investigation sensitivities across the clinical spectrum of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain*, 9: 2278-2287.

Debatin L, Streffer J, Geissen M, Matschke J, Aguzzi A, Glatzel M. (2008) Association between deposition of beta-amyloid and pathological prion protein in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurodegener Dis*, 6: 347-54.

De Stefano N, Dotti MT, Mortilla M, Federico A. (2001) Magnetic resonance imaging and spectroscopic changes in brains of patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *Brain*, 1: 121-131.

Dickson DW, Weller, RO. *Neurodegeneration: The molecular Pathology of Dementia and Movement Disorders*. Blackwell Publishing Ltd. Second Edition ISN Neuropath Press, Second Edition ISN Neuropath Press, 2011: 13-17.

Dinelli MM, DeBarber AE, Bock CJ, Anadiotis G, Merkens LS, Steiner RD, Stout AD. (2011) Cerebrotendinous xanthomatosis: A Treatable Disease With Juvenile Cataracts as a Presenting Sign *Arch. Ophthalmol*, 8: 1087-1088.

Dobson CM. (2003) Protein folding and misfolding. *Nature* 6968: 884-890.

Double KL, Reyes S, Werry EL, Halliday GM. (2010) Selective cell death in neurodegeneration: Why are some neurons spared in vulnerable regions? *Progress in Neurobiology* 3: 316–329.

Du HN, Li HT, Zhang F, Lin XJ, Shi JH, Shi YH, Ji LN, Hu J, Lin DH, Hu HY. (2006) Acceleration of alpha-synuclein aggregation by homologous peptides. *FEBS Lett.*, 15: 3657-64.

Duffy P, Wolf J, Collins G, DeVoe AG, Streeten B, Cowen D. (1974) Possible person-to-person transmission of Creutzfeldt-Jakob disease. *N Engl J Med*, 12: 692-693.
<http://elte.prompt.hu/sites/default/files/tananyagok/szovettan/ch03s12.html> 3. fejezet.
 (utolsó ellenőrzés:2014.04.06.)

Farbu E, Tysness OB, Mørk S, Krossnes BK, Bindoff LA. (2007) Two Norwegian sisters with late onset Creutzfeldt-Jakob disease caused by the E200K mutation. *J Neurol*, 2: 262–263.

Ferrer I, Santpere G, Arzberger T, Bell J, Blanco R, Boluda S, Budka H, Carmona M, Giaccone G, Krebs B, Limido L, Parchi P, Puig B, Strammiello R, Ströbel T, Kretschmar H. (2007) Brain protein preservation largely depends on the postmortem storage temperature: implications for study of proteins in human neurologic diseases and management of brain banks: a BrainNet Europe Study. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1:35-46.

Ferrer I, Santpere G, van Leeuwen FW. (2008) Argyrophilic grain disease. *Brain Jan*; 6: 1416-32.

Fitzjohn SM, Morton RA, Kuenzi F, Rosahl TW, Shearman M, Lewis H, Smith D, Reynolds DS, Davies CH, Collingridge GL, Searbrook GR. (2001) Age-related impairment of synaptic transmission but normal long-term potentiation in transgenic mice that overexpress the human APP695SW mutant form of amyloid precursor protein. *J Neurosci* 13: 4691-4698.

Furong Ch, Vivacqua G, Yu S. (2011) The role of alpha-synuclein in neurotransmission and synaptic plasticity. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 4: 242–248.

Gallassi R, Morreale A, Montagna P, Cortelli P, Avoni P, Castellani R, Gambetti P, Lugaresi E. (1996) Fatal familial insomnia: behavioral et cognitive features. *Neurology*, 4: 935-939.

- Gallus GN, Dotti MT, Federico A. (2006) Clinical and molecular diagnosis of cerebrotendinous xanthomatosis with a review of the mutations in the CYP27A1 gene. *Neurol Sci*, 2: 143-149.
- Gambetti P, Parchi P, Petersen RB, Chen SG, Lugaresi E. (1995) Fatal familial insomnia and familial Creutzfeldt-Jakob disease: clinical, pathological and molecular features. *Brain Pathol*, 1: 43-51.
- Gelpi E, Heinzl H, Höftbereger R, Unterberger U, Ströbel Th, Voigtlander T, Drobne E, Jarius Chr, Lang S, Waldhör Th, Bernheimer H, Budka H. (2008) Creutzfeldt-Jakob Disease in Austria: An Autopsy-Controlled Study. *Neuroepidemiology*, 4: 215-221.
- Ghetti B, Farlow M, Conneally M. (1988) Amyloid plaques and neurofibrillary tangles of Gerstmann-Straussler-Scheinker disease. *Neurology*, Suppl.1: 266
- Ghetti B, Piccardo P, Frangione B, Bugiani O, Giaccone G, Young K, Prelli F, Farlow MR, Dlouhy SR, Tagliavini F. (1996) Prion protein amyloidosis. *Brain Pathol*, 2: 127-45.
- Ghoshal N, Cali I, Perrin RJ, Josephson SA, Sun N, Gambetti P, Morris JC. (2009) Codistribution of amyloid beta plaques and spongiform degeneration in familial Creutzfeldt-Jakob disease with the E200K-129M haplotype, *Arch Neur*, 10: 1240-6.
- Giaccone G, Mangieri M, Capobianco R, Limido L, Hauw JJ, Haïk S, Fociani P, Bugiani O, Tagliavini F. (2008) Tauopathy in human and experimental variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurobiol Aging*. 12: 1864-73
- Glabe CG, Kaye R. (2006) Common structure and toxic function of amyloid oligomers implies a common mechanism of pathogenesis. *Neurology*. Suppl 1: S74-78.
- Glatzel M, Abela E, Maissen M, Aguzzi A. (2003) Extraneural pathologic prion protein in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *N Engl J Med* 19: 1812-1820.
- Goedert M. (2001) Alpha-synuclein and neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* 7: 492-501.

Goldfarb LG, Mitrova E, Brown P, Toh BN, Gajdusek DC. (1990) Mutation in codon 200 of scrapie amyloid protein gene in two clusters of Creutzfeldt-Jakob disease in Slovakia. *Lancet* 8713: 514-515. (a)

Goldfarb LG, Korczyn AD, Brown P, Chapman J, Gajdusek DC. (1990) Mutation in codon 200 of scrapie amyloid precursor gene linked to Creutzfeldt-Jakob disease in Sephardic Jews of Libyan and non-Libyan origin. *Lancet* 8715: 637-638. (b)

Gossrau G, Herting B, Möckel S, Kempe A, Koch R, Reichmann H, Lampe JB. (2006) Analysis of the polymorphic prion protein gene codon 129 in idiopathic Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 3: 331-337.

Grudzien A, Shaw P, Weintraub S, Bigio E, Mash DC, Mesulam MM. (2007) Locus coeruleus neurofibrillary degeneration in aging, mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 3: 327-335.

Guerra S, Stromillo ML, Mignari A, Battaglini M, Marino S, Perri CD, A Federico, MT Dotti, N De Stefano. (2010) Clinical relevance of brain volume changes in patients with cerebrotendinous xanthomatosis *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 11: 1189-1193.

Guo JL, Lee VM. (2014) Cell-to-cell transmission of pathogenic proteins in neurodegenerative diseases. *Nat Med.* 2: 130-138.

Hansen HC, Zschocke S, Sturenburg HJ, Kunze K (1998) Clinical changes and EEG patterns preceding the onset of periodic sharp wave complexes in Creutzfeldt–Jakob disease. *Acta Neurol Scand* 2: 99–106.

Hauw JJ, De Baecque C, Hausser-Hauw C, Serdaru M. (1998) Chromatolysis in alcoholic encephalopathies. Pellagra-like changes in 22 cases. *Brain.* Pt 4: 843-57.

Hee SL, Sambuughin N, Cervenakova L, Chapman J, Pocchiari M, Litvak S, Qi HY, Budka H, del Ser T, Furukawa H, Brown P, Gajdusek DC, Long JC, Korczyn AD, Goldfarb LG (1999) Ancestral Origins and Worldwide Distribution of the PRNP 200K Mutation Causing Familial Creutzfeldt-Jakob Disease. *Am. J. Hum. Genet.* 4: 1063–1070.

- Heinemann U, Krasnianski A, Meissner B, Varges D, Kallenberg K, Schulz-Schaeffer WJ, Steinhoff BJ, Grasbon-Frodl EM, Kretzschmar HA, Zerr I. (2007) Creutzfeldt-Jakob disease in Germany: a prospective 12-year surveillance. *Brain*. Pt 5: 1350-1359.
- Hewitt PE, Llevelyn CA, Mackenzie J, Will RG. (2006) Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion: results of the UK Transfusion Medicine Epidemiology Review study. *Vox Sang* 3: 221-230.
- Hill AF, Desbruslais M, Joiner S, Sidle KC, Gowland I, Collinge J, Doey LJ, Lantos P. (1997) The same prion strain causes vCJD and BSE. *Nature* 6650: 448-50.
- Hill AF, Joiner S, Wadsworth JD, Sidle KC, Bell JE, Budka H, Ironside JW, Collinge J. (2003) Molecular classification of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain* Pt 6: 1333-46.
- Hsiao K, Meiner Z, Kahana E, Cass C, Kahana I, Avrahami D, Scarlato G, Abramsky O, Prusiner SB, Gabizon R. (1991) Mutation of the prion protein in Libyan Jews with Creutzfeldt-Jakob disease. *N Engl J Med* 16: 1091-1097.
- Ilieva EV, Kichev A, Ferrer A, Pamplona R, Portero-Otin M. (2011) Mitochondrial dysfunction and oxidative and endoplasmic reticulum stress in argyrophilic grain disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 4: 253-263.
- Isaacs AM, Powell C, Webb TE, Linehan JM, Collinge J, Brandner S. (2008) Lack of TAR-DNA binding protein-43 (TDP-43) pathology in human prion diseases. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 4: 446-456.
- Ishii N, Nishihara Y. (1981) Pellagra among chronic alcoholics: clinical and pathological study of 20 necropsy cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 3: 209-215.
- Ishii N, Nishihara Y. (1985) Pellagra encephalopathy among tuberculous patients: its relation to isoniazid therapy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 7: 628-634.
- Jian-Zhi W, Liu F. (2008) Microtubule-associated protein tau in development, degeneration and protection of neurons. *Progress in Neurobiology* 2: 148–175.
- Josephs KA, Ahlskog JE, Parisi JE, Boeve BF, Crum BA, Giannini C, Petersen RC. (2009) Rapidly progressive neurodegenerative dementias. *Arch Neurol.* 2: 201-207.

Kapas I, Majtenyi K, Törö K, Keller E, Voigtlander T, Kovacs GG. (2012) Pellagra encephalopathy as a differential diagnosis for Creutzfeldt-Jakob disease. *Metab Brain Dis* 2: 231-235.

Karandikar AA, Pushparajan S, Madhavan S, Srinivas R. (2009) Case report: Cerebrotendinous xanthomatosis. *Indian J Radiol Imaging* 4: 314-317.

Keiji T, Matsuda N. (2014) Proteostasis and neurodegeneration: The roles of proteasomal degradation and autophagy. *Biochimica et Biophysica Acta* 1: 197-204.

Kim JI, Cali I, Surewicz K, Kong Q, Raymond GJ, Atarashi R, Race B, Qing L, Gambetti P, Caughey B, Surewicz WK.. (2010) Mammalian prions generated from bacterially expressed prion protein in the absence of any mammalian cofactors. *J Biol Chem*. 19: 14083-14087.

Klein M, Frigg R, Flechsig E, Kalinke U, Bluethmann H, Bootz F, Suter M, Zinkernagel RM, Aguzzi A. (1997) A crucial role for B cells in neuroinvasive scrapie. *Nature* 6661: 687-690.

Klimova N, Makarava N, Baskakov IV. (2015) The diversity and relationship of prion protein self-replicating states. *Virus Res*. 207: 113-9.

Kopper L., Schaff Zs. (szerk.) *Patológia. Medicina Könyvkiadó Rt. Budapest, 2004:48-54.*

Korczyn AD, Chapman J, Goldfarb LG, Brown P, Gajdusek DC (1991) A mutation in the prion protein gene in Creutzfeldt-Jakob disease in Jewish patients of Libyan, Greek, and Tunisian origin. *Ann NY Acad Sci* 640: 171-176.

Kovacs GG, Trabattoni G, Hainfellner JA, Ironside JW, Knight RS, Budka H. (2002) Mutations of the prion protein gene phenotypic spectrum. *J Neurol* 11: 1567-1582.

Kovacs GG, Voigtlander T, Gelpi E, Budka H. (2004) Rationale for diagnosing human prion disease. *World J Biol Psychiatry* 2: 83-91.

Kovács GG, Majtényi K. (2005) Creutzfeldt-Jakob disease in Hungary. *Folia Neuropathol*, 4: 279-285. (b)

Kovács GG, Puopolo M, Ladogana A, Pocchiari M, Budka H, van Duijn C, Collins SJ, Boyd A, Giulivi A, Coulthart M, Delasnerie-Laupretre N, Brandel JP, Zerr I, Kretschmar HA, de Pedro-Cuesta J, Calero-Lara M, Glatzel M, Aguzzi A, Bishop M, Knight R, Belay G, Will R, Mitrova E. (2005) Genetic prion disease: the EUROCD experience. *Hum Genet.* 2: 166-174. (a)

Kovács GG, Gelpi E, Ströbel T, Ricken G, Nyengaard JR, Bernheimer H, Budka H. (2007) Involvement of the endosomal-lysosomal system correlates with regional pathology in Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neuropathol Exp Neurol.* 7: 628-636. (c)

Kovács GG. (2007) Az emberi prionbetegségek genetikai háttere. *Ideggyogy Sz.* 11-12: 438-446. (a)

Kovács GG, Bakos Á, Mitrova É, Minárovits J, László L, Majtényi K. (2007): Emberi prionbetegségek: magyarországi tapasztalatok. *Ideggyogy Sz.* 11-12: 447-452. (b)

Kovacs GG, Budka H. (2008) Prion Diseases: From Protein to Cell Pathology. *The American Journal of Pathology*, 3: 555-565.

Kovacs GG, Horvath S, Ströbel T, Puskas M, Bakos A, Summers DM, Will RG, Budka H. Genetic Creutzfeldt-Jakob disease mimicking variant Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 12: 1410-1411. (b)

Kovacs GG, Budka H. (2009) Molecular pathology of human prion diseases. *Int J Mol Sci* 3: 976-999. (a)

Kovacs GG, Botond G., Budka H. (2010) Protein coding of neurodegenerative dementias: the neuropathological basis of biomarker diagnostics. *Acta Neuropathol* 4: 389-408.

Kovacs GG, Seguin J, Quadrio I, Höfberger R, Kapas I, Streichenberger N, Biabace AG, Meyronet D, Sciot R, Vandenberghe R, Majtenyi K, Laszlo L, Ströbel T, Budka H, Perret-Liaudet A. (2011) Genetic Creutzfeldt-Jakob disease associated with the E200K mutation: characterization of a complex proteinopathy. *Acta Neuropathol.* 1: 39-57.

Kovacs GG. (2015) Neuropathology of tauopathies: principles and practice. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 1: 3-23.

Kropp S, Schulz-Schaeffer WJ, Finkenstaedt M, Riedemann C, Windl O, Bernhard JS, Zerr I, Kretzschmar HA, Poser S. (1999) The Heidenhain Variant of Creutzfeldt-Jakob Disease. *Arch Neurol.* 1: 55-61.

Ladogana A, Sanchez-Juan P, Mitrová E, Green A, Cuadrado-Corrales N, Sánchez-Valle R, Koscova S, Aguzzi A, Sklaviadis T, Kulczycki J, Gawinecka J, Saiz A, Calero M, van Duijn CM, Pocchiari M, Knight R, Zerr I. (2009) Cerebrospinal fluid biomarkers in human genetic transmissible spongiform encephalopathies. *J Neurol* 10: 1620-1628.

Laplanche JL, Delasnerie-Laupretre N, Brandel JP, Chatelain J, Beaudry P, Alpérovitch A, Launay JM. (1994) Molecular genetics of prion diseases in France. French Research Group on Epidemiology of Human Spongiform Encephalopathies *Neurology* 12: 2347-2351.

Lee G, Neve RL, Kosik KS. (1989) The microtubule binding domain of tau protein. *Neuron* 6: 1615-1624

Lee H, Rosenmann H, Chapman J, Kingsley PB, Hoffmann C, Cohen OS, Kahana E, Korczyn AD, Prohovnik I. (2009) Thalamo-striatal diffusion reductions precede disease onset in prion mutation carriers. *Brain.* Pt 10: 2680-2687.

Lee H, Sambuughin N, Cervenakova L, Chapman J, Pocchiari M, Litvak S, Qi HY, Budka H, del Ser T, Furukawa H, Brown P, Gajdusek DC, Long JC, Korczyn AD, Goldfarb LG. (1999) Ancestral origins and worldwide distribution of the PRNP 200K mutation causing familial Creutzfeldt-Jakob disease. *Am J Hum Genet.* 4: 1063-1070.

Linden R, Martin V, Prado M, Cammorata M, Izquiere I, Brentani R. (2008) Physiology of the prion protein. *Physiol Rev* 2: 673-728.

Mackenzie IRA, Neumann M, Bigio EH, Cairns NJ, Alafuzoff I, Kril J, Kovacs GG, Ghetti B, Halliday G, Holm IE, Ince PG, Kamphorst W, Revesz T, Rozemuller AJ, Kumar-Singh S, Akiyama H, Baborie A, Spina S, Dickson DW, Trojanowski JQ, Mann DM. (2010) .Nomenclature and nosology for neuropathologic subtypes of frontotemporal lobar degeneration: an update. *Acta Neuropathol.* 1: 1-4.

Majoros P. A kutatásmódszertan alapjai. Perfekt Gazdasági Tanácsadó, Oktató és Kiadó Részvénytársaság. Budapest 2004: 86-91.

Manuelidis L, Trisha Chakrabarty, Kohtaro Miyazawa, Nana-Aba Nduom, and Kaitlin Emmerling. (2009) The kuru infectious agent is a unique geographic isolate distinct from Creutzfeldt-Jakob disease and scrapie agents. Proc Natl Acad Sci U S A. 32: 13529–13534.

Maroteaux L, Campanelli JT, Scheller RH. (1988) Synuclein:a neuronspecific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal. J Neurosci 8: 2804-2815.

Mead S, Webb TE, Cambell TA, Beck J, Linehan JM, Rutherford S, Joiner S, Wadsworth JD, Heckmann J, Wroe S, Doey L, King A, Collinge J. (2007) Inherited prion disease with 5-OPRI: phenotype modification by repeat length and codon 129. Neurology 8: 730-738

Mead S,Whitfield J, Poulter M, Shah P, Uphill J, Campbell T, Al-Dujaily H, Hammerich H, Beck J, Mein CA, Verzilli C, Whittaker J, Alpers MP, Collinge J. (2009) A novel protective prion protein variant that colocalises with Kuru exposure. N Engl J Med 21: 2056-2065.

Meiner Z, Gabizon R, Prusiner SB. (1997) Familial Creutzfeldt-Jakob Disease Codon 200 Prion Disease in Libyan Jews. Medicine 4: 227-237.

Mignarri A., Falcini M, Vella A, Giorgio A, Gallus GN, Del Puppo M, Vattimo A, Federico A, Dotti MT. (2012) Parkinsonism as neurological presentation of late-onset cerebrotendinous xanthomatosis. Parkinsonism and Related Disorders 1: 99-101.

Moghadasian MH.(2004) Cerebrotendinous xanthomatosis: clinical course, genotypes and metabolic backgrounds. Clin Invest, Feb; 1: 42-50.

Muhammad I, Mahmood S. (2011) An overview of human prion diseases. Virology Journal 8: 559.

Nelson PT, Head E, Schmitt FA, Favis PR, Neltner JH, Jicha GA, Abner EL, Smith CD, Van Eldik LJ, Scheff SW. (2011) Alzheimer's disease is not 'brain aging':

neuropathological, genetic, and epidemiological human studies. *Acta Neuropathol (Berl)* 5: 571-587.

Neufeld MY, Josiphov J, Korczyn AD. (1992) Demyelinating peripheral neuropathy in Creutzfeldt-Jakob disease. *Muscle Nerve* 11: 1234-1239.

Neufeld MY, Werber E, Herbert M, Brown P, Gajdusek DC, Korczyn AD, Chapman J, Arlazoroff A, Goldfarb LG, Cervenakova L. (1996) Fatal insomnia in a case of familial Creutzfeldt-Jakob disease with the codon 200Lys mutation. *Neurology* 3: 758-761.

Neumann M, Bentmann E, Dormann D, Jawaid A, DeJesus-Hernandez M, Ansorge O, Roeber S, Kretzschmar HA, Munoz DG, Kusaka H, Yokota O, Ang LC, Bilbao J, Rademakers R, Haass C, Mackenzie IR. (2011) FET proteins TAF15 and EWS are selective markers that distinguish FTLD with FUS pathology from amyotrophic lateral sclerosis with FUS mutations. *Brain*. Pt 9: 2595-2609.

Neumann M, Kovacs GG, Mackenzie RA *Neuropathology of Frontotemporal Dementia and Related Disorders (kézirat)*

Nixon R, Camicioli R, Cervenakova L, Mastrianni J. (2000) The PRNP-V180I mutation is associated with abnormally glycosylated PrPCJD and intracellular PrP accumulations. In: XIVth International Congress of Neuropathology Brain Pathol Birmingham, UK, p 670

Oren OS, Prohovnik I, Korczyn AD, Inzelberg R, Appel S, Kahana E, Reosenmann H, Chapman J. (2012) Characterization of Movement Disorders in Patients with Familial Creutzfeldt-Jakob Disease carrying the E200K Mutation. *Israel Med Assoc J* 3: 162-165.

Pakai A, Kívés Zs. (2013) Mintavétel és adatgyűjtési módszerek az egészségtudományi kutatásokban. *Nővér*, 3: 1-44.

Pan T, Kondo S, Le W, Jankovic J. (2008) The role of autophagy-lysosome pathway in neurodegeneration associated with Parkinson's disease. *Brain*. Pt 8: 1969-1978.

Parchi P, Castellani R, Capellari S, Ghetti B, Young K, Chen SG, Farlow M, Dickson DW, Sima AA, Trojanowski JQ, Petersen RB, Gambetti B. (1996) Molecular Basis of Phenotypic Variability in Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease. *Annals of Neurology* 6: 767-778.

Parchi P, Giese A, Capellari S, Brown P, Schulz-Schaeffer W, Windl O, Zerr I, Budka H, Kopp N, Piccardo P, Poser S, Rojiani A, Streichemberger N, Julien J, Vital C, Ghetti B, Gambetti P, Kretzschmar H. (1999) Classification of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease based on molecular and phenotypic analysis of 300 subjects. *Ann Neurol*. 2: 224-233. (a)

Parchi P, Capellari S, Brown P. (1997) Molecular et clinico-pathologic phenotypic variability in genetic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 97: 10168-10171. (b)

Parchi P, Strammiello R, Notari S, Giese A, Langeveld JP, Ladogana A, Zerr I, Roncaroli F, Cras P, Ghetti B, Pocchiari M, Kretzschmar H, Capellari S. (2009) Incidence and spectrum of Creutzfeldt-Jakob disease variants with mixed phenotype and co-occurrence of PrPSc types: an updated classification *Acta Neuropathol*. 5: 659-671.

Parchi P, Strammiello R, Giese A, Kretzschmar H. Phenotypic variability of sporadic human prion disease and its molecular basis: past, present, and future. (2011) *Acta Neuropathol*, 121: 91–112.

Parchi P, de Boni L, Saverioni D, Cohen ML, Ferrer I, Gambetti P, Gelpi E, Giaccone G, Hauw JJ, Höftberger R, Ironside JW, Jansen C, Kovacs GG, Rozemuller A, Seilhean D, Tagliavini F, Giese A, Kretzschmar HA. (2012) Consensus classification of human prion disease histotypes allows reliable identification of molecular subtypes: an inter-rater study among surveillance centres in Europe and USA. *Acta Neuropathol*. 4: 517-29.

Peden AH, Head MW, Ritchie DL, Bell JE, Ironside JW. (2004) Preclinical vCJD after Blood transfusion in a PRNP codon 129 heterozygous patient. *Lancet* 9433: 527-529.

Pfefferbaum A, Adalsteinsson E, Sullivan EV. (2006) Dysmorphology and microstructural degradation of the corpus callosum: Interaction of age and alcoholism. *Neurobiol Aging*. 7: 994-1009.

Pilo-de-la-Fuente B, Jimenez-Escrig A, Lorenzo JR, Pardo J, Arias M, Ares-Luque A, Duarte J, Muniz-Pérez S and Sobrido MJ. (2011) Cerebrotendinous xanthomatosis in Spain: clinical, prognostic, and genetic survey *European Journal of Neurology* 18:1203-1211. (a)

Pilo-de-la-Fuente B, Sobrido MJ, Giros M, Pozo L, Lustres M, Barrero F, Macarrón J, Díaz M, Jimenez-Escrig A. (2011) Usefulness of cholestanol levels in the diagnosis and follow-up of patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *Neurologia* 7: 397-404. (b)

Prusiner SB. (1982) Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* ; 216: 136-144.

Puoti G, Rossi G, Giaccone G, Awan T, Lievens PM, Defanti CA, Tagliavini F, Bugiani O. (2000) Polymorphism at Codon 129 of PRNP Affects the Phenotypic Expression of Creutzfeldt-Jakob Disease Linked to E200K Mutation. *Annals of Neurology* 2: 269-270.

Quadrio I, Perret-Liaudet A, Kovacs GG. (2011) Molecular diagnosis of human prion disease. *Expert Opin Med Diagn*. 4: 291-306.

Roeber S, Krebs B, Neumann M, Windl O, Zerr I, Grasbon-Frodl EM, Kretschmar HA. (2005) Creutzfeldt-Jakob disease in a patient with an R208H mutation of the prion protein gene (PRNP) and a 17-kDa prion protein fragment. *Acta Neuropathol*. 4: 443-448.

Saido TC, Iwatsubo T, Mann DM, Shimada H, Ihara Y, Kawashima S. (1995) Dominant and differential deposition of distinct beta-amyloid peptide species, A beta N3(pE), in senile plaques. *Neuron* 2: 457-466.

Santpere G, Puig B, Ferrer I. (2006) Low molecular weight species of tau in Alzheimer's disease are dependent on tau phosphorylation sites but not on delayed post-mortem delay in tissue processing. *Neurosci Lett*. 1-2: 106-110.

Schneider C. Über eine eigenartige Hirnerkrankung (vaskuläre Lipidose) 1936 Allg Z Psych ;104-144

Serdaru M, Hausser-Hauw C, Laplane D, Buge A, Castaigne P, Goulon M, Lhermitte F, Hauw JJ. (1988) The clinical spectrum of alcoholic pellagra encephalopathy. A retrospective analysis of 22 cases studied pathologically. Brain. Pt 4: 829-842.

Seror I, Lee H, Cohen OS, Hoffmann C, Prohovnik I. (2010) Putaminal volume and diffusion in early familial Creutzfeldt–Jakob Disease. Journal of the Neurological Sciences 1-2: 129–134.

Seyama Y. (2003) Cholesterol metabolism, molecular pathology, and nutritional implications. J Med Food Fall, 3: 217-224.

Scholz G, Hans A. Kretschmar HA, Zerre I. (2012) Clinical aspects of common genetic Creutzfeldt-Jakob disease. Eur J Epidemiol Feb, 2: 147–149.

Scholz SW, Xiomerisiou G, Fung HC, Eerola J, Hellström O, Papadimitriou A, Hadjigeorgiou GM, Tienari PJ, Fernandez HH, Mandel R, Okun MS, Gwinn-Hardy K, Singleton AB. (2006) The human prion gene M129V polymorphism is not associated with idiopathic Parkinson's disease in three distinct populations. Neurosci Lett. 3: 227-229.

Shmuel A, Chapman J, Prohovnik I, Hoffman C, Cohen OS, Blatt I. (2012) The EEG in E200K familial CJD: relation to MRI patterns. J Neurol 3: 491-496.

Shoudu Z, Kim CH, Rahman H. (2001) Psychotic Symptoms Presented in Familial Creutzfeldt-Jakob Disease, Subtype E200K. J Clin Psychiatry 9: 734-735.

Simic G, Stanic G, Mladinov M, Jovanov-Milosevic N, Kostovic I, Hof PR. (2009) Does Alzheimer's disease begin in the brainstem? Neuropathol Appl Neurobiol. 6: 532-554.

Simon ES, Kahana E, Chapman J, Treves TA, Gabizon R, Rosenmann H, Zilber N, Korczyn AD. (2000) Creutzfeldt-Jakob Disease Profile in Patients Homozygous for the PRNP E200K Mutation. Ann Neurol 2: 257-260.

Sleena M., Panigrahi GB, Ranum LP, Pearson CE. (2008) Mutagenic roles of DNA “repair” proteins in antibody diversity and disease-associated trinucleotide repeat instability. *DNA repair (Amst)* 7: 1135–1154.

Soffer D, Benharroch D, Berginer V. (1995) The neuropathology of cerebrotendinous xanthomatosis revisited: a case report and review of literature. *Acta Neuropathol (Berl)* 90: 213-220.

Song Z, Zhao D, Yang L. (2013) Metabolism of minor isoforms of prion proteins: Cytosolic prion protein and transmembrane prion protein. *Neural Regen Res.* 30: 2868-2878.

Spillantini MG, Crowther RA, Jakes R, Cairns NJ, Lantos PL, Goedert M. (1998) Filamentous alpha-synuclein inclusions link multiple system atrophy with Parkinson’s disease and dementia with Lewy bodies. *Neurosci Lett* 3: 205-208.

Supattapone S. (2010) Biochemistry. What makes a prion infectious? *Science* 5969: 1091-1092.

Taratuto AL, Piccardo P, Reich EG, Chen SG, Seveler G, Schultz M, Luzzi AA, Rugiero M, Abecasis G, Endelman M, Garcia AM, Capellari S, Xie Z, Lugaresi E, Gambetti P, Dlouhy SR, Ghetti B. (2002) Insomnia associated with thalamic involvement in E200K Creutzfeldt–Jakob disease. *Neurology* 3: 362–367.

Tofaris GK, Spillantini MG. (2007) Physiological and pathological properties of alpha-synuclein. *Cell Mol Life Sci* 17: 2194-2201.

Todd K, Fossati S, Ghiso J, Rostagno. (2014) A Mitochondrial dysfunction induced by a post-translationally modified amyloid linked to a familial mutation in an alternative model of neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta.* 12PtA: 2457-2467.

Tolnay M, Clavaguera F. (2004) Argyrophilic grain disease: a late-onset dementia with distinctive features among tauopathies. *Neuropathology* 4: 269-283.

Van Bogaert L, Scherer HJ, Epstein E. (1937) Une forme cérébral de la cholesterinose généralisée Paris: Mason et Cie

Van Everbroeck B, Dobbeleir I, De Waele M, De Deyn P, Martin JJ, Cras P. (2004) Differential diagnosis of 201 possible Creutzfeldt-Jakob disease patients. *J Neurol.* 3: 298-304.

Verrips A, Hoefsloot LH, Steenbergen GC, Theelen JP, Wevers RA, Gabreëls FJ, van Engelen BG, van den Heuvel LP. (2000) Clinical and molecular genetic characteristics of patients with cerebrotendinous xanthomatosis. *Brain.* Pt 5: 908-919.

Vital A, Fernagut PO, Canon MH, Joux J, Bezard E, Martin-Negrier ML, Vital C, Tison F. (2009) The nigrostriatal pathway in Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neuropathol Exp Neurol.* 7: 809-815.

Zeidler M, Stewart G E, Barraclough C R, Bateman D E, Bates D, Burn D J, Colchester A C, Durward W, Fletcher N A, Hawkins S A, Mackenzie J M, Will R G. (1997) New variant Creutzfeldt-Jakob disease: neurological features and diagnostic tests. *The Lancet*, 9082: 903-907.

Zerr I, Kallenberg K, Summers DM, Romero C, Taratuto A, Heinemann U, Breithaupt M, Varges D, Meissner B, Ladogana A, Schuur M, Haik S, Collins SJ, Jansen GH, Stokin GB, Pimentel J, Hewer E, Collie D, Smith P, Roberts H, Brandel JP, van Duijn C, Pocchiari M, Begue C, Cras P, Will RG, Sanchez-Juan P. (2009) Updated clinical diagnostic criteria for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain.* Pt 10: 2659-2668.

Zheng C, Geetha T, Babu JR. (2014) Failure of Ubiquitin Proteasome System: Risk for Neurodegenerative Diseases. *Neurodegener Dis.* 4: 161-175.

Xiao X, Yuan J, Haik S, Cali I, Zhan Y, Moudjou M, Li B, Laplanche JL, Laude H, Langeveld J, Gambetti P, Kitamoto T, Kong Q, Brandel JP, Cobb BA, Petersen RB, Zou WQ. (2013) Glycoform-selective prion formation in sporadic and familial forms of prion disease. *PLoS One.* 3: e58786

Wallon D, Guyant-Marechal L, Laquerriere A, Wevers RA, Martinaud O, Kluijtmans LA, Yntema HG, Saugier-Verber P, Hannequin D. (2010) Clinical imaging and neuropathological correlations in an unusual case of cerebrotendinous xanthomatosis. *Clin Neuropathol* 6: 361-364.

Wang XF, Dong CF, Zhang J, Wan YZ, Li F, Huang YX, Han L, Shan B, Gao C, Han J, Dong XP. (2008) Human tau protein forms complex with PrP and some GSS- and fCJD-related PrP mutants possess stronger binding activities with tau in vitro. *Mol Cell Biochem.* 1-2: 49-55.

Ward HJT, Everington D, Cousens SN, Smith-Bathgate B, Leitch M, Cooper S, Heath C, Knight RS, Smith PG, Will RG. (2006) Risk factors for variant Creutzfeldt-Jakob disease: a case- control study. *Ann Neurol* 1: 111-120.

Weingartner O, Laufs U, Böhm M, Lütjohann D. (2009) An alternative pathway of reverse cholesterol transport: The oxysterol 27-hydroxycholesterol. *Atherosclerosis* 1: 39-41.

Welchman R, Gordon C, Mayer R. (2005) Ubiquitin and ubiquitin-like proteins as multifunctional signals. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8: 599-609.

WHO (2003) WHO manual for surveillance of human transmissible spongiform encephalopathies including variant Creutzfeldt-Jakob disease. Geneva: WHO; 2003.

Will RG, Ironside JW, Zidler M, Cousens SN, Estibeiro K, Alperovitch A, Poser S, Pocchiari M, Hofman A, Smith PG. (1996) A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in UK. *Lancet* 9006: 921-925

Will RG.(2003) Acquired prion disease: iatrogenic CJD, variant CJD, kuru. *Br Med Bull* ; 66: 255-265.

Williams D.R. (2006) Tauopathies: classification and clinical update on neurodegenerative diseases associated with microtubule-associated protein tau. *Internal Medicine Journal* 10: 652–660.

Wirhth O, Breyhan H, Cynis H, Schilling S, Demuth HU, Bayer TA. (2009) Intraneuronal pyroglutamate-Aβ₃₋₄₂ triggers neurodegeneration and lethal neurological deficits in a transgenic mouse model. *Acta Neuropathol* 4: 487-496.

Wirhth O, Erck C, Martens H, Harmeier A, Geumann C, Jawhar S, Kumar S, Multhaup G, Walter J, Ingelsson M, Degerman-Gunnarsson M, Kalimo H, Huitinga I, Lannfelt L, Bayer TA (2010) Identification of low molecular weight pyroglutamate Aβ₃₋₄₂

oligomers in Alzheimer disease: A novel tool for therapy and diagnosis. J Biol Chem 53: 41517-41524.

XI. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

XI.1. A disszertációhoz kapcsolódó közlemények

1. **Kapás I**, Majtenyi K, Törö K, Keller E, Voightländer T, Kovacs GG. (2012) Pellagra encephalopathy as a differential diagnosis for Creutzfeldt-Jakob disease. *Metab Brain Dis.* 2: 231-5.
2. Kovacs GG, Seguin J, Quadrio I, Höftberger R, **Kapás I**, Streichenberger N, Biacabe AG, Meyronet D, Sciot R, Vandenberghe R, Majtenyi K, László L, Ströbel T, Budka H, Perret-Liaudet A. (2011) Genetic Creutzfeldt-Jakob disease associated with the E200K mutation: characterization of a complex proteinopathy. *Acta Neuropathol.* 1: 39-57.
3. **Kapás I**, Katkó M, Harangi M, Paragh G, Balogh I, Kóczi Z, Regelsberger G, Molnár MJ, Kovacs GG. (2014) Cerebrotendinous xanthomatosis with the c.379C>T (p.R127W) mutation in the CYP27A1 gene associated with premature age-associated limbic tauopathy. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 3: 345-50

XI.2. A disszertációtól független közlemények

1. Vincze A, **Kapás I**, Molnar MJ, Kovács GG. (2010) Clinicopathological variability in neurodegeneration with brain iron accumulation. *Ideggyogy Sz.* 3-4: 129-35.

XII. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom mindazoknak, akik közvetlenül vagy közvetve hozzájárultak e dolgozat létrejöttéhez.

Mindenek előtt szeretnék köszönetet mondani Dr. Kovács Gábor Géza Professzor Úrnak, aki segítette munkámat, és aki türelmesen, de következetesen fáradozott azon, hogy formálja szemléletemet és lehetővé tette, hogy elsajátítsam a kutatómunka módszertanának alapjait. Hálával tartozom hatékony segítségéért, személyes példája számomra meghatározó volt, nélküle nem születhetett volna meg ez az értekezés.

Köszönöm Dr. Majtényi Katalin Professzor Asszonynak, hogy munkámat kezdettől fogva bőséges és értékes szakmai tapasztalatokkal segítette.

Köszönetet mondok Dr. Korona Árpád Főorvos Úrnak, aki első munkahelyi vezetőm volt. A Horányi-klinika szellemében tanította a kezdőket, ő volt az, aki megerősített abban a hitemben, hogy az orvosi munkában feltétel nélküli tiszteletet, alázatot követelnek a tények, de ez a feltétel nélküli tisztelet jár a beteg embernek és a beteg szenvedésének is.

Megköszönöm továbbá a Semmelweis Egyetem ÁOK Neuropatológiai és Prionbetegség Referencia Központ munkatársainak, Ress Katalinnak és Lenkei Zoltánné Mariannak, hogy a laboratóriumban végzett munkám során és az adatfeldolgozásban nélkülözhetetlen segítők voltak. Szeretném hálámat kifejezni a kollégáknak, akik értékes adatokkal, információkkal segítették munkámat, hozzájárultak a pontosabb adatgyűjtéshez. Hálás vagyok a betegeknek, hozzátartozóknak, akik orvosi munkámban rendelkezésre álltak a vizsgálatkor, adatok felvételénél.

Köszönet illeti családomat a munkámban nyújtott töretlen támogatásért.