

Neurológiai kórképek genetikai háttere

Ph.D. Tézis füzet

Dr. Szekeres Márta

Szegedi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Orvosi Mikrobiológiai és Immunbiológiai
Intézet



Szeged

2016

I. BEVEZETÉS

1.1. Ischaemiás demyelinizáció patogenezeise

Az ischaemiás demyelinizációval járó kórkép, másnéven életkorral összefüggő agyi fehérállományi károsodás gyakori klinikai entitás. Ez a leggyakrabban előforduló agyi fehérállományi lézió, amelyet képalkotó felvételeken láthatunk. Neurológiai képalkotó terminológusban az ischaemiás demyelinizációt leukoaraiosisnak (LA) nevezzük. LA T2 súlyozott MRI felvételeken hyperdenz diffúz területekként jelenik meg az agyi fehérállományban. A 65 év feletti emberek ¼-ében kimutatható valamilyen fokú fehérállományi károsodás, továbbá az LA összefüggésben áll a kognitív hanyatlással, a demenciával, illetve a romló életminőséggel. Az LA egy lassan kialakuló kórkép, melyet számos klinikai- és genetikai rizikó factor befolyásol. Két fő mechanizmust feltételeznek a betegség patogenezisében. Az első, a krónikus endothel dysfunkció. A keringő endothel sejt aktivátorok, vagy azok károsodott formáinak – ICAM-1, thrombomodulin- emelkedett szintjét kimutatták LA-ban, valamint az ICAM-1 szint korrelál az LA progressziójával. A második a vér-agy-gát megnövekedett permeabilitása, melyen keresztül a plasma komponensek a környező agyi parenchymába jutnak. Egy másik elmélet alapján az agyi hypoperfúzió gliasejtekben és neuronokban energiadeficitet okoz, illetve a krónikus hypoxia közvetlenül a mitokondriumok károsodását eredményezi.

Az LA legfontosabb rizikó faktorai az öregedés, hypertonia, diabetes mellitus, stroke esemény és az ischaemiás szívbetegség. Leggyakrabban a temporalis és az occipitalis határzónák az érintettek, mivel itt végarteriolák találhatóak és itt kevés a kollaterális anasztomózis. A két rendszer csak az oldalkamrák határán találkozik.

A legfontosabb genetikai faktorok az LA patogenezisében az MTHFR (metilén-tetrahidrofolát-reduktáz) C677T variánsa, az ACE (angiotenzin-konvertáló-enzim) I/D, valamint az APOE (apolipoprotein E) 4-es vagy 2-es polymorfizmusa. A homozigóta MTHFR 677TT variánst összefüggésbe hozták az emelkedett homocystein szinttel, mely negatívan befolyásolja a vasoregulációt. Az emelkedett homocystein szint fokozza az endothel dysfunkciót. A homocysteine közvetlenül károsítja az erek szerkezetét, mint például az endothel sejtekből felszabaduló nitrogén-monoxid. Az LA mértéke pozitívan korrelál az emelkedett plasma homocystein szinttel, míg fordítottan korrelál a plasma folát szintjével. Az MTHFR A1298C genetikai variáns egy gyakori polymorfizmus, mely szintén egy fontos vasculáris rizikó factor lehet. Az ACE I/D polymorfizmusa is jelentős genetikai variáns, mely a renin-angiotenzin tengelyen keresztül fejti ki hatását a cardiovascularis rendszerre. A

homozygóta ACE D/D polymorfizmusa negatívan befolyásolja a vasoregulációt, valamint kimutatták, hogy fokozza a stroke események előfordulását. Az APOE 4 genotípusáról feltételezik, hogy gyakoribb előfordulása szerepet játszhat a az ischaemiás agyi károsodások és a stroke patogenezisében, mivel ez a genetikai variáns csökkenti a neuroregenerációs képességet. Az APOE 2-es allél jelenlétében a cytoskeleton túlzottan rigiddé válhat, melynek káros mellékhatásai lehetnek az elhúzódó agyi hypoperfúzió alatt. Kimutatták, hogy a homozygóta MTHFR 677TT és a homozygóta ACE D/D variánsok együttes előfordulása növeli az LA kialakulásának esélyét. Továbbá, ez a két polymorfizmus hozzájárul a kísér betegségek progressziójához, illetve a vasoreguláció károsodásához. Az MTHFR 677TT és ACE D/D, valamint az APOE 2 vagy 4 allélek kombinációja szintén növeli az LA rizikóját. Új kutatások kimutatták, hogy az agyban előforduló legfontosabb víz csatorna, az aquaporin 4 (AQP-4) mutációjának nemcsak a neuromielitis optica, az agyi oedema és a migrén etiológiájában van fontos szerepe, hanem az LA patogenezisében is.

A CADASIL tanulmány a noth-3 gént vizsgálta, mely az agyi autoszomális domináns arteriopathia subcorticalis infarktusokkal és leukoencephalopathia patogenezisében játszhat szerepet. A mutáció az artériák falában szemcsés anyag lerakódását eredményezi, mely ismeretlen összetételű. A noth-3 génnel kapcsolatban még további vizsgálatok folynak.

1.2. A sclerosis multiplex (SM) patogenezise

A sclerosis multiplex (SM) egy krónikus immun-mediált gyulladós kórkép a központi idegrendszerben, mely leggyakrabban a középkorú embereknél jelentkezik. Az SM-re a demyelinizáció, az azt követő axonkárosodás, valamint a gyulladós sejtek infiltrációja jellemző. Az SM prevalenciája a Föld különböző részein 15/100,000 és 250/100,000 között változik. 1996-ban az Amerikai Sclerosis Multiplex Társaság a betegség 4 klinikai formáját határozta meg, melyek a következők: relapszó-remittáló (RR), 1^o- (PP) és 2^o progresszív (SP), illetve progresszív relapszó (PR). 2013-ban a bizottság a PR formát megszüntette és a klinikailag izolált szindrómát (CIS) adta hozzá. A CIS egy jól definiált szindróma, mely magába foglalja a neuritis optica-t, a cerebellaris dysfunkciót, és a parciális myelitist.

Az SM legrégebbi diagnosztikus kritérium rendszere a Schumacker Bizottság által írt 1965-ből, míg a legújabb a módosított McDonald kritérium rendszer 2010-ből. Az

Expanded Disability Status Scale (EDSS) egy módszer a SM súlyosságának számszerűsítésére (0,0: Normál neurológiai állapot és 10,0: Halál SM miatt).

Az SM pontos patogenezise még a mai napig nem teljesen tisztázott. Egy multifactoriális betegség, melyet a környezeti- és genetikai tényezők mellett infektív kórképek is befolyásolnak. A demyelinizáció hátterében az immun-mediált gyulladás négy típusát tartják számon. Az első típus esetén a cytotoxikus T-lymphocytáknak és macrophagoknak van kiemelkedő szerepük. A második, leggyakoribb típusban autorektív T-lyphocyták indukálják a myelin ellenes antitestek képződését, illetve a komplement rendszer aktivációját. A harmadik típus distalis oligodendropathia néven ismert, ahol apoptotikus kaszkád aktivációja történik. Míg a negyedik típus esetén a primer oligodendrocyta károsodást követi a secunder demyelinisatio.

A legfontosabb környezeti tényezők a kórkép patogenezisében a földrajzi elhelyezkedés (magas a rizikó Észak-Európában, Észak-Amerikában, Kanadában, Ausztrália déli részén és Új-Zélandon), a D-vitamin hiány, és a dohányzás.

Az SM kialakulásában számtalan genetikai polymorfizmust tartanak számon. A genom asszociációs vizsgálatok (GWAS) során leírt legfontosabbak a citokinek és azok receptor génjei (IL-1 β , IL-2, IL-10, TNF- α , - β), kemokinek és azok receptor génjei (CCL-5, -3, -4), cytotoxikus T-lymphocyta asszociált- 4 (CTLA-4) gén, APOE, az apoptózissal kapcsolatos gének, az MHC I és II osztály génjei (a HLA-DRB1 * 1501-DQA1 * 0102-DQB1 * 0602 (DR15)), illetve a T-sejt-receptor (TCR) gének polimorfizmusai.

A kora gyermekkorban elszenvedett vírusinfekció, úgy mint Epstein-Barr vírus, vagy HHV6 trigger faktorként szerepelhet az SM patogenezisében. A defenzinekről, mint az AMPs (antimicrobial peptides) tagjairól új kutatások azt feltételezik, hogy fontos szerepük lehet a központi idegrendszer védelmében is a bakteriális és viriális fertőzésekkel szemben (microbiome-gut-brain axis), valamint fontos immunmoduláns szerepük is lehet. A defenzinek szerepét SM-ben eddig még nem vizsgálták.

1.3 Alzheimer-kór patogenezise

Az Alzheimer-kór egy progresszív, neurodegeneratív betegség, mely az egyik fő oka a kognitív és viselkedési károsodásoknak a társadalomunkban. A kórképet jellemzi az agyállományban, főként a hippocampusban és az agykéregben kórosan lerakódó β -amyloid ($A\beta$) peptidek, illetve a rendellenesen foszforilált tau proteinek. Sporadikus és késői típusát (late-onset AD; LOAD) különíthetjük el, mely a 65. élet év után jelentkezik, ez az érinettek 95 %-át jelenti. A 65 év feletti 5 %-a, míg a 85 év feletti 30 %-a szenved Alzheimer-kórban.

Patogenezisében genetikai és környezeti tényezők egyaránt szerepet játszanak. Számos gén szerepét leírták a betegségben, de még mindig nem ismert, hogy ezek hogyan befolyásolják az amyloid szintet. A legújabb kutatások az epigenetiaki tényezőknek is fontos szerepet tulajdonítanak. Feltételezik, hogy bakteriális vagy vírusos eredetű központi idegrendszeri fertőzések játszhatnak kezdeményező szerepet amyloid-plakk képződésben és annak növekedésében. Különböző állatokon végzett vizsgálatokkal kimutatták, hogy több patogén, mint például a *Chlamydia pneumoniae*, herpes simplex vírus, *Escherichia coli*, és a *Cryptococcus neoformans* jelentős szerepet játszhatnak az amyloid-plakk keletkezésében, illetve hogy ezek a központi idegrendszeri bakteriális vagy vírusos kórokozók felgyorsíthatják a kórkép patogenezisét. Mikrobiális fertőzés állhat az amyloidogenezis, az idegsejtsejt atrófia, az immunológiai rendellenességek, és a megváltozott génexpresszió hátterében. Watt és munkatársai 2015-ben közölték, hogy a defenzineknek szerepe lehet a betegség patogenezisében.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Különböző genetikai polymorfizmusok szerepének vizsgálata LA-ban, SM-ben és Alzheimer-kórban.

- Az MTHFR A1298C polymorfizmus vizsgálata LA-ban.
- Mitokondriumok abszolút számának meghatározása LA-ban szenvedő betegeknél.
- A humán béta defenzin-1, -2 (HBD1, HBD2) szerepe SM-ben; a DEFB1 gén egy pontos nukleotid polymorfizmusainak (SNP), illetve a DEFB4 gén kópiaszám (CN) polymorfizmusainak szerepe SM-ben.
- A humán béta defenzin-2 és alfa defenzinek (HNP 1-3) szerepe Alzheimer-kórban.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1 A beteg- és kontroll csoportok

Mind a beteg-, mind a kontroll csoportok tagjai tájékoztatva lettek és beleegyezésüket adták, hogy egészségügyi adataikat és vérmintáikat anonym módon kutatási célra felhasználjuk (Human Investigation Review Board-Szegedi Tudományegyetem, és Békés Megyei Pándy Kálmán Kórház). A vizsgálatokban résztvevők minden tagja magyar származású és magyar állampolgár.

3.2. *MTHFR A1298C variáns és mitokondriumok abszolút számának meghatározása leukoaraiosisban szenvedő betegnél*

Az MTHFR A1298C vizsgálatban a betegpopuláció 198 LA beteget tartalmazott, akik átlagos életkora $64,9 \pm 9,23$ év volt (105 nő és 93 férfi). A kontroll csoport 235 tagból állt (127 nő és 108 férfi, átlag életkor $54,7 \pm 12,8$ év), azzal a kikötéssel, hogy az agyi MRI felvételük negatív.

A mitokondrium tanulmányban 234 LA beteg tartozott (123 nő és 111 férfi, átlag életkor: $71,6 \pm 10,8$ év) és 123 kontroll (65 nő és 58 férfi, átlag életkor $59,4 \pm 8,62$ év), azzal a kikötéssel, hogy az agyi MRI felvételük negatív.

A mintákat a Békés Megyei Pándy Kálmán Kórház Neurológiai osztályán gyűjtötték.

3.3. *Humán béta defenzinek szerepének vizsgálata SM-ben*

A vizsgálat 250 SM beteget tartalmazott, átlagos életkor $44,23 \pm 13,02$ év. A mintákat a Békés Megyei Pándy Kálmán Kórházból és a SZTE-ÁOK Neurológiai Klinikától kaptuk.

A kontroll csoport 232, életkornak és a nemnek megfelelően egyeztetett egészséges véradót tartalmazott (Országos Vérellátó Szolgálat Szegedi Regionális Központ).

3.4. *Humán α - és β -defenzinek szerepének vizsgálata Alzheimer-kórban*

A vizsgálatban 206 AD beteg vett részt (69 férfi és 137 nő, az átlagos életkor $76,42 \pm 4,21$ év) és a betegség átlagos kezdete 65 éves kor volt (SZTE-ÁOK Pszichiátriai Klinika).

A kontroll csoport 250 életkornak és nemnek megfelelően egyeztetett egészséges véradót tartalmazott (92 férfi és 158 nő, átlag életkor $72,69 \pm 6,82$ év) normális kognitív funkciókkal (Országos Vérellátó Szolgálat Szegedi Regionális Központ).

3.5. DNS preparálás

A genomiális DNS-t 200 µl perifériás, EDTA-val antikoagulált teljes vérből extraháltuk. Kétféle DNS extrakciót alkalmaztuk. Az egyik a Miller-féle kisózásos módszer, a másik DNS extrakció a High Pure PCR Template Preparation Kittel (Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, Németország, Cat.No: 1796828) történt. A DNS-koncentrációt Qubit fluorométerrel mértük (Invitrogen, Carlsbad, USA). További felhasználásig -20 °C-on tároltuk a DNS mintákat.

3.5.1 MTHFR A1298C variáns meghatározása leukoaraiosisban

Az MTHFR A677T és A1298C variánsokat a LightCycler probe system használatával azonosítottuk.

3.5.2 Mitokondriumok abszolút számának meghatározása leukoaraiosisban szenvedő betegeknél

A vizsgálatot TaqMan valós idejű PCR-assay segítségével végeztük, egyedileg tervezett mitokondriális (m)- és deletált mitokondriális (dm) DNS-re specifikus primerek és próbák segítségével.

3.5.3 DEFB1 SNP-k meghatározása SM-ben

A vizsgálathoz a Custom TaqMan® SNP Genotyping Assays-t (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) használtuk.

3.5.4 DEFB4 gén kópiaszám meghatározása SM-ben és Alzheimer-kórban

TaqMan real-time PCR assay-t alkalmaztuk, a DEFB4 génre specifikus amplifikációs rendszerrel.

3.6. ELISA vizsgálatokat a gyártó ajánlásainak megfelelően végeztük.

3.7. Statisztikai vizsgálatok

A GraphPad Prism 5 programot alkalmaztuk a statisztikai számításokhoz (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

4.1 Az MTHFR A1298C variáns szerepe leukoaraiosisban

Korábbi tanulmányok kimutatták, hogy az emelkedett homocysztein szint kapcsolatba hozható az LA-val. Szintén az emelkedett homocysztein szinttel hozták összefüggésbe az endothel diszfunkciót és a microangiopathiát. A genetikai vizsgálatok MTHFR C677T variánssal kapcsolatban kimutatták, hogy bár a 677T variáns kedvezőtlen hatású, mert emeli a szérum homocysztein szintet, önmagában ez a polymorfizmus nem növeli a LA kockázatát. Azt is kimutatták korábban, hogy a 677T variáns kombinációban más genetikai variánsokkal növeli az LA-ra való rizikót.

Jelen tanulmány azt mutatja, hogy az a személy, aki akár heterozygóta A1298C vagy homozygóta 1298CC variánst hordoz, annak magasabb a kockázata az LA kialakulására. Ezt a genetikai variánst eddig még semmilyen LA eset-kontroll tanulmányban sem vizsgálták. Eredményeink arra utalnak, hogy az A1298C polymorfizmus fontosabb lehet az LA evolúciójában, mint a C677T változat. Azt is megállapítottuk, hogy ha a heterozygóta C677T és a A1298C variánsok külön-külön fordulnak elő, akkor nem jelentenek kockázatot az LA kialakulására. Azonban ezek kombinációja ugyanazon személy esetén növeli az LA rizikóját. Jelenleg a pontos oka ennek a szinergizmusnak nem ismert. Két lehetséges magyarázat lehet: (1) a két változat potenciálisan növeli a szérum homocysztein szintet addiktív módon, illetve (2) az együttes előfordulása a két kedvezőtlen MTHFR genetikai variánsnak befolyásolhatja az enzim regulációját. Az A1298C és C677T változatok az enzim nem megfelelő szabályozásához vezethetnek, mely az MTHFR kedvezőtlen fenotípusát eredményezheti.

4.2 Mirokondriumok abszolút száma a leukocytákban LA-ban

A mDNS és a dmDNS tartalmát statisztikailag azonosnak találtuk az LA- és a kontroll csoportban, de a K-érték szignifikánsan alacsonyabb volt az LA-csoportban, mint a kontroll csoportban. Ez arra utalhat, hogy a dmDNS nagyobb arányban volt jelen az LA-csoportban. A dmDNS mitokondriális hibához vezethet a következő módokon: a, kevesebb energiatermelés; b, alacsonyabb szabadgyökfogó kapacitás; c, alacsonyabb mértékű alkalmazkodást a mindenkori energiaigényhez; e, alacsonyabb metabolikus kapacitás; f, nagyobb mértékű szabadgyök termelés; és g, általános zavar a mitokondriális genetikai szabályozásban. Sajnos nincs genetikai vagy biokémiai adat arra, hogy ezek közül mely mechanizmusok létezhetnek, de az alacsonyabb energiakapacitás valószínűnek látszik, mely szerepet játszhat az LA patomechanizmusában. Korábban leírták molekuláris szinten, hogy az LA eredhet egy nagyon

enyhe, de krónikus hypoxiás állapotból, amely oka különböző környezeti és genetikai hajlamosító tényező lehet. A jelenlegi eredmények egyetértenek a korábbiakkal hogy a szétkapcsoló (uncoupling) protein genetikai variánsai szerepet játszanak az LA kialakulásában. A szétkapcsoló fehérjék szabályozzák a mitokondriumokban az elektrokémiai grádienszt a belső és külső terek között, ez a gradiens alapvető a mitokondriumok energia termelésében. Ha a dmDNS bármilyen biokémiai meghibásodással társul, akkor a kompenzálatlan és nagyobb arányú dmDNS-t tartalmazó sejtek energetikai szempontból kedvezőtlenek lehetnek. Eredményeink arra utalnak, hogy minél kisebb a különbség a sejtek mDNS (amely kompenzálja dmDNS okozta zavart) és dmDNS tartalma között, annál nagyobb lehet a kockázata az LA kialakulásának egy adott egyénben.

Összességében, az eredményeink azt sugallják, hogy a dmDNS és a mDNS tartalom aránya jelentős szerepet játszhat az LA patogenezisében.

A tanulmány korlátai:

1. A mitokondriumok számát az érintett agyi szövetekben nem lehetett vizsgálni, mivel ez egy klinikai tanulmány egy humán beteg populációban. Az agyi biopszia nem lett volna etikus, ezért nem tudtunk meghatározni a mitokondriumok számát különböző humán szövetekben.
2. Ebben a tanulmányban nem azt vizsgáltuk, hogy a mitokondriumokban hogyan következik be a mDNS károsodás.
3. Bár a logisztikus regresszió módszere jelentősen csökkentette a zavaró hatásokat, a klinikai tényezőket, mint az életkor, a magas vérnyomás és a cukorbetegség, az eredményeket meg kell erősíteni egy nagyobb populációt tartalmazó tanulmányban.

4.3 Humán β -defenzinek szerepe SM-ben

A humán β -defenzinek kezdeti védelmi vonalként működhetnek a központi idegrendszerben, akár antimikrobiális tényezőként, akár immunmodulátorként, esetleg mindkét szerepet ellátva. Ebben a tanulmányban a humán β -defenzinek és a SM közötti összefüggést vizsgáltuk. A tanulmányban a DEFB1 gén három SNP-jét vizsgáltuk. A C-44G genotípus eloszlásában találtunk különbséget az SM- és a kontroll csoport között. A GG genotípus frekvenciája szignifikánsan magasabb volt a kontroll populációban. Ez azt sugallja, hogy a G allél jelenléte felerősíti HBD1 fehérje antimikrobiális aktivitását, amely kevésbé gyakori az SM betegek között. A C-44G SNP G allélja egy feltételezett kötőhelyet generál a

nukleáris factor κ B (NF κ B) számára, mely valószínűleg indukálja a fehérje fokozott expresszióját. Ez megmagyarázza azt, hogy miért tulajdonítanak védő hatást a GG genotípusnak atópiás dermatitisben, valamint diabeteses betegekben a *Candida* kolonizációval szemben. Ezzel szemben azok az alanyok, akik a -44-es génlókuszon CC genotípust hordoznak, nagyobb eséllyel fertőződnek meg. A fenti eredmények összhangban vannak a jelenlegi megfigyeléseinkkel, hogy a GG fenotípusnak védő szerepe lehet a SM-mel szemben. A 250 SM beteg között csak 9-ben (4%) volt GG homozygóta és 62% volt CC homozygóta, ezzel szemben a kontroll csoportban 45% volt CC homozygóta. Ezek a megfigyelések megerősítik a DEFB1 polymorfizmusok szerepét SM-ben.

Hasonlóképpen, alacsonyabb keringő HBD2 szint volt megfigyelhető az SM betegekben, melynek oka az alacsonyabb DEFB4 kópiaszám lehet. A kópiaszám és a keringő HBD2 közötti korrelációt vizsgáltuk. A kontroll csoportban mind a magasabb, mind az alacsonyabb kópiaszámok esetén pozitív korrelációt találtunk az ELISA-val meghatározott plasma HBD2 szintek között. Az SM csoportban alacsonyabb kópiaszám esetén alacsonyabb keringő HBD2 szintet találtunk, viszont magasabb kópiaszámok esetén a keringő HBD2 szintje nem emelkedett meg. Ez arra utalhat, hogy más tényezők még befolyásolhatják a magas kópiaszám esetén mért alacsony plazma szintet SM-es betegek esetén. Valószínűleg ennek hátterében az SM-ben megváltozott microbiom állhat, melyet egy nemrégiben készült tanulmány igazolt (microbiome-gut-brain axis).

További vizsgálatok szükségesek annak tisztázására, hogy a humán béta defenzinek károsodott funkciója hogyan befolyásolhatja az SM patomechanizmusát.

4.4 Összefüggés a humán béta defenzin-2, a humán alfa defenzinek (HNP 1-3) és az Alzheimer-kór között

Magasabb indukálható HBD-2 koncentrációkat találtuk a cerebrospinális folyadékban és szérumban az Alzheimer-kórban szenvedő betegeknél. A lényegesen magasabb DEFB4 kópiaszám lehet az oka a megnövekedett keringő HBD2 szintnek a betegek vérmintájában és liquorjában. A magas HBD expresszió a cerebrospinális folyadékban arra utalhat, hogy az agy szintetizálhatja az antimikrobiális peptideket, melyek keringenek a kamra rendszerben és védik a központi idegrendszert a mikrobiális fertőzésekkel szemben. A neuropatológiai és gyulladásos folyamatokra a choroid plexus működésében létrejött zavar adhat magyarázatot. Az *in vitro* eredmények arra utalnak, hogy az astrocyták felelősek a helyi HBD-2 szintéziséért

az agyban. Az astrocyták és a mycroglia sejtek fontos szerepet töltenek be az agyi ideggyulladásos válaszban, és az *in vitro* termelődő HBD-1 és -2; és módosíthatják az adaptív immunitást. Williams és munkatársai Alzheimeres agyszövetben szignifikánsan emelkedett HBD-1 mRNS szintet igazoltak a chorioid plexusban, és megnövekedett fehérje szintet a hippocampus idegsejtjeiben. A megnövekedett HBD-1 expresszió az Alzheimer-kórban szenvedő agyában egy védekező válasz lehet a gyulladásos stimulusra és potenciális modulátora a gazdaszervezet veleszületett immunválaszának. Azt feltételezik, hogy a krónikus infekció lehet a kezdeti esemény az Alzheimer-kórban, mely egy perzisztáló gyulladást indukál, ami indirekt módon idézhető elő a β -amyloid túlprodukción. Könnyen előfordulhat, hogy a defenzinek is részt vesznek az amyloid képződésében. Számtalan antimikrobiális peptid mutat a β -amyloidhoz hasonló konformációt, mint például β -lemez, melyek oligomerizációja hozzájárulhat a β -amyloid képződéséhez. Illetve nem régen bizonyították a HBD2 oligomerizációs monomer létezését.

Nemcsak a HBD2 szint emelkedett az Alzheimer-kórban szenvedő betegek cerebrospinális folyadékában és szérumában, hanem a HNP1-3 szintek is magasabbak. Eredményeink összhangban vannak Watt és munkatársainak 2015-ben közölt adataival, akik arról számoltak be, hogy a perifériás α -defenzinek emelkedettek Alzheimer-kórban, azonban liquorban nem mérték az α -defenzinek szintjét.

A jelen tanulmány támogatja azt a nézetet, hogy az α és β defenzineknek a potenciális szerepe lehet az Alzheimer-kór kialakulásában, függetlenül attól, hogy a defenzinek emelkedett szintjének a következménye a gyulladás, vagy ők maguk indukálják degenerációt és az amyloid képződést. Jelenleg ennek a mechanizmusa még nem ismert. További vizsgálatok szükségesek ezek tisztázására, a szabályozási funkciók, a defenzinek pontos szerepének tisztázására az Alzheimer-kór patogenezisében.

3. ÖSSZEFOGLALÁS ÉS ÚJ EREDMÉNYEK

- Az MTHFR A1298C polymorfizmusa és LA közötti összefüggés; egy személy, aki akár heterozygóta A1298C vagy homozygóta 1298CC variánst hordoz magasabb a kockázata az LA kialakulására, mint aki nem hordozza azt.
- A dmDNS és a mDNS tartalom aránya jelentős szerepet játszhat az LA patogenezisében. További vizsgálatok szükségesek.
- SM-es betegekben a rendkívül alacsony GG genotípus a C-44G SNP DEFB1 gén esetén, a magas frekvenciájú alacsony kópiaszám (<4) DEFB2 gén esetén, és a jelentősen csökkent a HBD2 plazmaszint felhívja a figyelmet humán béta defenzinek szerepére a betegség patogenezisében.
- Az α és β defenzineknek a potenciális szerepe lehet az Alzheimer-kór kialakulásában. Függetlenül attól, hogy a defenzinek emelkedett szintjének a következménye a gyulladás, vagy ők maguk indukálják degenerációt és az amyloid képződést. A pontos patomechanizmus felderítése további vizsgálatokat igényel.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném kifejezni legőszintébb hálámat Prof. Mándi Yvette-nek, Dr. Somogyvári Ferencnek (Orvosi Mikrobiológiai és Immunbiológiai Intézet, Szegedi Tudományegyetem ÁOK) és különösen Dr. Szolnoki Zoltánnak (Békés Megyei Pándy Kálmán Kórház, Neurológiai Osztály vezető főorvosa), akik segítették immunbiológiai, mikrobiológiai, genetikai és neurológiai tanulmányaimat, illetve támogatták tudományos munkámat.

Szeretnék köszönetet mondani az Orvosi Mikrobiológiai és Immunbiológiai Intézet minden tagjának a fáradhatatlan támogatásért tanulmányaim során. Köszönöm a sok segítséget és tanácsot Dr. Burián Katalinnak, az intézet vezetőjének, valamint a Dr. Spengler Gabriellának, Dr. Mosolygó Tímeának, Dr. Horváth Ádámnak, illetve Dr. Horváth Beatrixnak. Szeretném megköszönni a kiváló technikai segítséget Müller Györgyinek.

Végül szeretném megköszönni a családomnak és a közeli barátaimnak, a türelmet és a bátorítást, a sok segítséget a Ph.D. tanulmányaim során.

PUBLIKÁCIÓK

- I. Szolnoki Z, Szaniszló I, Szekeres M, Hirti K, Kondacs A, Mándi Y, Nedo E, Somogyvári F: Evaluation of the MTHFR A1298C variant in leukoaraiosis. *Journal of Molecular Neuroscience* 2012;46(3):492-6.
IF: 2.891
- II. Szekeres M, Somogyvári F, Bencsik K, Szolnoki Z, Vécsei L, Mándi Y: Genetic polymorphisms of human β -defensins in patients with multiple sclerosis. *Clinical Neuroscience* 2015;68(3-4):127-33.
IF: 0.343
- III. Szolnoki Z, Szekeres M, Szaniszló I, Balda Gy, Bodor A, Kondács A, Mándi Y, Somogyvári F: Decreased number of mitochondria in leukoaraiosis. *Archives of Medical Research* 2015;46(8):604-8.
IF: 2.645
- IV. Szekeres M, Ivitz E, Datki Zs, Kálmán J, Pákáski M, Várhelyi Z P, Klivényi P, Zádor D, Somogyvári F, Szolnoki Z, Vécsei L, Mándi Y: Relevance of defensin β -2 and α defensins (HNP1-3) in Alzheimer's disease. *Psychiatry Research* 2016;239:342-5.
IF: 2.467

KONFERENCIA ELŐADÁSOK, POSZTER PREZENTÁCIÓK

Szekeres M, Somogyvari F Genetikai mutációk *'in silico'* vizsgálata XXV. Neumann Kollokvium, Szeged, 2012.november 23-24., Összefoglaló: 24. oldal

Szekeres M, Szolnoki Z, Szaniszló I, Hitri K, Kondacs, Mándi Y, Nédo E, Somogyvári F Az MTHFR A1298C variáns szerepe a leukoaraiosisban Doktoranduszok Országos Szövetsége, „Tavaszi Szél 2013” nemzetközi tudományos konferencia, Nyugat-magyarországi Egyetem, Közgazdaságtudományi Kar, Sopron, 2013. május 31 – június 2., Összefoglaló: 28. oldal

Marta Szekeres, Zoltan Szolnoki, Yvette Mandi, Ferenc Somogyvari, Evaluation of the MTHFR A1298C Variant in Leukoaraiosis, 8th Yes (Young European Scientist) Meeting '13, The Faculty of Medicine of the University of Porto (FMUP), Portugal, 19-22 September 2013, Guide book: page 72.

Szekeres M, Somogyvári F. Quantitation of DEFA1A3 gene copy number polymorphism by allele specific amplification and real-time PCR III. Interdisciplinary Doctoral Conference 2014, Faculty of Medicine of the University of Pécs, Pécs, 15-17 April 2014, Abstract book: page 15.

Márta Szekeres, Ádám Horváth, Tamás Kegyes, Ferenc Somogyvári Optimization of the mastermixes ICoSTAF'2014 (International Conference On Science and Technique based on Applied and Fundamental research), University of Szeged Faculty of Engineering, Szeged, 25 April 2014, Book of abstracts: page 44.