

**MTA doktori értekezés**

# **NEUROPATOLÓGIAI VIZSGÁLATOK NEUROKOGNITÍV ZAVARRAL JÁRÓ BETEGSÉGEKBEN**

**Hortobágyi Tibor**



**DEBRECENI EGYETEM, ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR,  
PATOLÓGIAI INTÉZET, NEUROPATOLÓGIAI TANSZÉK**

**MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA - DEBRECENI EGYETEM  
NEUROPATOLÓGIAI KUTATÓCSOPORT (NEMZETI AGYKUTATÁSI PROGRAM)**

**2016**

## TARTALOMJEGYZÉK

|                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>ELŐSZÓ</b> .....                                                                                  | 7  |
| <b>RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE</b> .....                                                                    | 9  |
| <b>BEVEZETÉS</b> .....                                                                               | 11 |
| A neurodegeneratív betegségek általános jellemzői .....                                              | 11 |
| A neurodegeneratív betegségek klinikai osztályozása .....                                            | 12 |
| A neurodegeneratív betegségek neuropatológiai osztályozása .....                                     | 13 |
| A neuropatológiai vizsgálatok jelentősége neurodegeneratív<br>kórképekben.....                       | 14 |
| A demencia általános jellemzői.....                                                                  | 16 |
| A demencia történeti áttekintése .....                                                               | 18 |
| A demencia epidemiológiája.....                                                                      | 20 |
| Az demencia pénzügyi vonatkozásai és összehasonlítás egyéb betegségek<br>gazdasági kihatásaival..... | 21 |
| A demencia főbb klinikai típusai és okai.....                                                        | 22 |
| A demencia klinikai diagnosztikája.....                                                              | 25 |
| Rizikófaktorok és a prevenció lehetőségei.....                                                       | 26 |
| Protektív faktorok demencia vonatkozásában .....                                                     | 27 |
| A demencia kezelési lehetőségei .....                                                                | 27 |
| A demenciával járó kórképek neuropatológiai csoportosítása .....                                     | 28 |
| A demencia neuropatológiai diagnosztikája .....                                                      | 29 |
| <b>A TÉMAVÁLASZTÁS INDOKLÁSA</b> .....                                                               | 32 |
| <b>CÉLKITŰZÉSEK</b> .....                                                                            | 33 |
| <b>MÓDSZEREK</b> .....                                                                               | 34 |

|                                                                                                                                                                                                    |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS .....</b>                                                                                                                                                             | <b>36</b> |
| <b>AMOTRÓFIÁS LATERÁLIS SZKLERÓZIS ÉS FRONTOTEMPORÁLIS<br/>DEMENCIA .....</b>                                                                                                                      | <b>36</b> |
| <b>VIZSGÁLATOK FUS PROTEINOPÁTIÁKBAN.....</b>                                                                                                                                                      | <b>36</b> |
| A Fused in Sarcoma ( <i>FUS</i> ) gén mutációja familiáris amiotrófiás laterális<br>szklerózist okoz.....                                                                                          | 36        |
| Az ALS-t okozó <i>FUS</i> mutációk a fehérje nukleáris lokalizációját<br>akadályozzák és elősegítik a vad típusú <i>FUS</i> citoplazmatikus stressz<br>granulumokba történő szekvesztrációját..... | 40        |
| A Transzportin-1 (karioferin-béta2) eltérése ALS- <i>FUS</i> és FTLD- <i>FUS</i> -ban<br>különböző patomechanizmusra utal .....                                                                    | 41        |
| A humán <i>FUS</i> transzgenikus egér az ALS- <i>FUS</i> neuropatológiai jellemzőit<br>mutatja.....                                                                                                | 43        |
| <b>VIZSGÁLATOK TDP-43 PROTEINOPÁTIÁKBAN .....</b>                                                                                                                                                  | <b>45</b> |
| A TDP-43 citoplazmatikus misz-lokalizációjának hátterében a nukleáris<br>import zavara (is) áll.....                                                                                               | 45        |
| A TDP-43 patológia és a tau hasítás zavarai (mis-splicing) nem mutatnak<br>összefüggést Alzheimer-kórban.....                                                                                      | 47        |
| Az optineurin szerepe neurodegeneratív kórképekben.....                                                                                                                                            | 48        |
| A TDP-43 RNS kötőhelyeinek és az RNS hasítás (splicing) szabályozásban<br>játszott szerepének vizsgálata.....                                                                                      | 55        |
| Az alternatív RNS hasítás (splicing) az idősödő agyban és<br>neurodegeneratív kórképekben .....                                                                                                    | 58        |
| A TDP-43 ko-lokalizációjának vizsgálata az ubikvitinilált zárványokban,<br>különböző ALS típusokban és egyéb neurodegeneratív kórképekben .....                                                    | 61        |

|                                                                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| A VAPB transzgenikus mutáns egérben TDP-43 proteinopátia alakul ki ALS<br>jellegzetes neuropatológiai elváltozásaival .....                             | 64 |
| <b>C9ALS/FTD</b> .....                                                                                                                                  | 66 |
| • A C9ALS/FTD neuropatológiai és klinikopatológiai karakterizálása<br>.....                                                                             | 66 |
| • C9ORF72 mutáció ALS fenotípussal, nagyfokú agyi extramotor<br>patológiával – kognitív deficitet nem okozva .....                                      | 71 |
| • A C9ORF72 mutáció eredetének, gyakoriságának, stabilitásának<br>vizsgálata – multicentrikus genetikai tanulmány.....                                  | 73 |
| Gamma-szinuklein patológia ALS-ben.....                                                                                                                 | 73 |
| Áramütés és amiotrófiás laterális szklerózis .....                                                                                                      | 75 |
| <b>ALZHEIMER-KÓR</b> .....                                                                                                                              | 76 |
| A neuronális sejtciklus reguláció zavara, mint lehetséges<br>neurodegeneratív mechanizmus.....                                                          | 76 |
| A CDK5 aktivátor p35-p25 a memória képzés kapcsán keletkezik és<br>Alzheimer-kór korai stádiumában valamint skizofréniában expressziója<br>csökken..... | 77 |
| A CSP-alfa központi szerepe a szinaptikus degenerációban Alzheimer-<br>kórban .....                                                                     | 79 |
| Humán tau fragmens overexpresszió egérben az emberi sporadikus<br>tauopátia jellegzetességeit mutatja.....                                              | 82 |
| A klaszterin jelentősége Alzheimer-kórban .....                                                                                                         | 83 |
| <b>LEWY TESTES DEMENCIA ÉS PARKINSON-KÓRHOZ TÁRSULÓ DEMENCIA</b> .....                                                                                  | 87 |
| Regionális multiplex patológia 'score' és progrediáló kognitív deficit<br>összefüggése Lewy testes demenciákban.....                                    | 87 |

|                                                                                                                                                            |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| Lewy testes demenciában a kognitív hanyatlás gyorsabb, mint Alzheimer-kórban .....                                                                         | 90         |
| Depresszív tünetek demenciában: kliniko-patológiai tanulmányok Lewy-testes demencia (DLB) és Parkinson betegséghez társuló demencia (PDD) kórképekben..... | 91         |
| A depresszió és a szinaptikus cink ion szabályozása Alzheimer-kórban, Lewy-testes demenciában és Parkinson-kór demenciában (DLB ill. PDD) .....            | 93         |
| A szinaptikus fehérje ZnT-3 és PSD-95 vizsgálata DLB, PDD és Alzheimer-kór vonatkozásában .....                                                            | 96         |
| Dinamin-1, VAMP2, Rab3A, SNAP25, és neurogranin (szinaptikus fehérjék) és a kognitív hanyatlás összefüggése Lewy-testes kórképekben .....                  | 98         |
| Az 'unfolded protein response' (UPR) aktivációja Lewy-testes demenciákban.....                                                                             | 99         |
| <b>NEUROPATOLÓGIAI KONSZENZUS NEURODEGENERATÍV KÓRKÉPEKBEN .....</b>                                                                                       | <b>101</b> |
| A béta-amiloid lerakódás neurodegeneratív kórképekben és az idősödő agyban - neuropatológiai konszenzus kidolgozása.....                                   | 101        |
| Frontotemporális lobális degeneráció TDP-43-pozitív inklúziók (zárványok)kal (FTLD-TDP) - neuropatológiai konszenzus kidolgozása.....                      | 102        |
| FTLD-tau Pick testekkel a hippocampusban - neuropatológiai konszenzus kidolgozása.....                                                                     | 104        |
| Az idősödő agy vaszkuláris eltérései - neuropatológiai konszenzus kidolgozása.....                                                                         | 105        |
| Az idős kori tau asztrogliopátia (Aging-related tau astroglipathy; ARTAG) neuropatológiai értékelése .....                                                 | 106        |
| <b>CEREBROVASZKULÁRIS KÓRKÉPEK .....</b>                                                                                                                   | <b>109</b> |
| Vezikuláris glutamát transzporter-1 (VGLUT-1) és kognitív funkció összefüggése Alzheimer kórban, vaszkuláris és kevert demenciában .....                   | 109        |

|                                                                                         |            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| Kolinacetil transzferáz aktivitás változása vaszkuláris demenciában és stroke-ban ..... | 110        |
| Szerotonin receptor kötődés változása vaszkuláris és kevert demenciában.....            | 112        |
| Gyulladásos mediátorok szerepe kevert és vaszkuláris demenciában .....                  | 113        |
| <b>TRAUMÁS AGYKÁROSODÁS.....</b>                                                        | <b>114</b> |
| Amiloid prekursor protein (APP) – az axonális károsodás fontos markere .....            | 114        |
| A poli(ADP- ribóz) polimeráz (PARP) szerepe a neuronpusztulásban .....                  | 117        |
| <b>MEGBESZÉLÉS ÉS ÖSSZEGZÉS .....</b>                                                   | <b>118</b> |
| <b>KÖVETKEZTETÉSEK ÉS ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK.....</b>                                        | <b>131</b> |
| <b>A DOKTORI ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK.....</b>                           | <b>135</b> |
| <b>A DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT TOVÁBBI KÖZLEMÉNYEK.....</b>               | <b>140</b> |
| <b>A DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ NEM SZOROSAN KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK.....</b>           | <b>143</b> |
| <b>SZCIENTOMETRIA .....</b>                                                             | <b>151</b> |
| <b>KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....</b>                                                        | <b>152</b> |
| <b>IRODALOMJEGYZÉK .....</b>                                                            | <b>153</b> |

## ELŐSZÓ

Az emberi megismerő képesség biológiai alapja és szubsztrátuma az idegrendszer, melynek központja az agy. A neurokognitív betegségek ezt az elsőrendűen fontos képességet károsítják. A megismerés érzéki fokán sérül vagy elvész a környezetben való tájékozódás, a biológiai célok elérésének, betöltésének képessége. A megismerés magasabb, értelmi és szellemi fokán károsodik vagy elvész az ember világra nyitott szabad tekintete, tudásvágya, értelme, erkölcsisége: maga a humán mivolt. A neuropathologia az agykárosító folyamatok mibenlétével, felismerhetőségével foglalkozó tudomány, s mint ilyen a klinikai idegtudományok fontos pillére.

A várható élettartam világszerte észlelt növekedésével az idős kor betegségei nemcsak orvosi, hanem társadalmi, gazdasági szempontból is egyre jelentősebbé válnak. Ezek közül kiemelkednek a súlyos neurokognitív zavarral járó, hagyományosan demenciának nevezett kórképek. Történelmi távlatban, noha bizonyára közel egyidősek az emberiséggel, nem kapták meg a fontosságuknak megfelelő jelentőséget. A betegségeket az öregedés „természetes” részének tartották, amellyel szemben „nem lehet mit tenni”. Ezt a terápiás (és prevenciós) nihilizmust később a szintén meglehetősen passzív viszonyulást eredményező vaszkuláris patogenezis szemlélet váltotta föl és csak az 1980-as évektől beszélhetünk korszerű demencia kutatásról. A megfelelő egészségügyi ellátás azonban ma is csak a Föld népességének kevesebb, mint 10%-a számára hozzáférhető.

Szakterületem, a neuropatológia, a demenciával járó és egyéb neurodegeneratív kórképek vonatkozásában kiemelkedő jelentőségű. Ennek egyik oka, hogy a biztos diagnózis majdnem minden esetben csak neuropatológiai vizsgálattal állapítható meg. A patomechanizmus feltárása, a terápiás beavatkozások sikerének értékelése sem képzelhető el neuropatológiai háttér nélkül. A korszerű és jövőbe mutató egészségügyi ellátórendszerrel rendelkező országokban ezt felismerték, ami jelentős mértékben hozzájárult a neuropatológiai intézményi, infrastrukturális fejlődéséhez, önállóvá válásához.

A magyar neuropatológiai iskola jelentős hagyományokra tekint vissza. A szakma jelen helyzete azonban aggodalomra ad okot. Ez kiemelten igaz a neuropatológia posztmortem vizsgálatokra alapuló területére. E történelmi háttér és korkép adja értekezésem háttérét.

Munkámban a neurokognitív zavarral járó kórképek széles skáláját vizsgáló klinikai és kutató munkám eredményeit foglalom össze. Reményeim szerint az értekezésből kitűnik, hogy a különböző kórképek a különbözőségek mellett és ellenére a betegség alapjául szolgáló idegsejtpusztulás vonatkozásában sok hasonlóságot mutatnak, ami a sikeres terápiás beavatkozások szempontjából ígéretes. Bizakodhatunk ugyanis, hogy olyan gyógymódok lesznek, melyek a demenciával járó kórképek széles spektrumában eredményesen alkalmazhatók.



## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

|           |                                                      |
|-----------|------------------------------------------------------|
| AGD       | argirofil szemcse (grain) betegség                   |
| ALS       | amiotrófiás lateralis sclerosis                      |
| BNE       | BrainNet Europe                                      |
| BPSD      | 'Behavioural and Psychological Symptoms of Dementia' |
| C9ALS/FTD | C9ORF72 mutáció kapcsán kialakuló ALS és FTD         |
| CAA       | cerebrális amiloid angiopátia                        |
| CBD       | corticobasalis degeneratio                           |
| DAB       | 3,3' diaminobenzidin                                 |
| DLB       | Lewy-testes demencia ('demencia with Lewy bodies')   |
| dTAI      | diffúz traumás axonális károsodás                    |
| ER        | endoplazmatikus retikulum                            |
| FALS      | familiáris ALS                                       |
| FFPE      | formalin-fixált, paraffinba beágyazott               |
| FTD       | frontotemporális demencia                            |
| FTLD      | frontotemporális lobáris degeneráció                 |
| FUS       | 'fused in sarcoma'                                   |
| LTP       | Long Term Potentiation                               |
| MAPT      | mikrotubulus asszociált protein tau                  |
| MND       | motoneuron betegség-                                 |
| NAP       | Nemzeti Agykutatási Program                          |
| NCI       | neuronalis citoplazmaticus inklúziót                 |
| NIFID     | neuronalis intermediér filamentum inklúziós betegség |

|        |                                                           |
|--------|-----------------------------------------------------------|
| NII    | Neuronalis intranukleáris inklúzió                        |
| NLS    | nukleáris lokalizációs szignál                            |
| NOS    | nitrogen-oxid-szintetáz                                   |
| NVU    | neurovaszkuláris egység ('unit')                          |
| PARP   | poli(ADP-ribóz) polimeráz                                 |
| PDD    | Parkinson-kórhoz társuló demencia                         |
| PSD-95 | posztzinaptikus denzitás protein-95                       |
| PSP    | progresszív supranukleáris bénulás                        |
| p-tau  | foszfo-tau                                                |
| SCA    | spinocerebelláris ataxia                                  |
| SOD1   | szuperoxid dizmutáz 1                                     |
| SVD    | szubkortikális vaszkuláris demencia                       |
| TDP-43 | 'TAR DNA-binding protein 43'                              |
| TLS    | 'translocated in liposarcoma'                             |
| TMA    | Szöveti ('tissue') microarray                             |
| TNPO-1 | Transzportin-1                                            |
| UPS    | ubiquitin-proteoszóma rendszer                            |
| VCING  | 'vascular cognitive impairment neuropathological grading' |

## BEVEZETÉS

### A neurodegeneratív betegségek általános jellemzői

A neurodegeneratív kórképek alapvető jellemzője a lassú, progresszív, irreverzibilis idegsejtpusztulás. Ez gyakran szelektív neuronvesztést jelent és a különböző neurodegeneratív kórképekben más-más funkciójú agyi területek, idegsejt populációk, pályarendszerek károsodnak. Klasszikus példa erre a motoneuron betegség, ahol a mozgató neuronok szelektív vulnerabilitása áll fenn. Máig érdeemben megválaszolatlan a kérdés, hogy a motoneuron betegségben, illetve az egyéb neurodegeneratív kórképekben miért szelektív idegsejt populációkat érint a neurodegeneratív folyamat.

A genetikai, biokémiai, molekuláris patológiai és kiemelten a neuropatológiai vizsgálatok a fenti, szelektív neuron pusztulásra fókuszáló definíciót az elmúlt évek, évtizedek során pontosították. A neuropatológiai vizsgálatok során derült arra fény, hogy a neurodegeneratív kórképekben patológiás fehérje zárványok ('inklúziók') vannak, melyek központi szerepet játszanak és betegség entitást, illetve altípus definiáló szerepük is van. A biokémiai vizsgálatok igazolták, hogy e kórképekben a patomechanizmusban szerepet játszó fehérjék konformációs változása jön létre, bétaredős illetve alfa-helikális struktúrák alakulnak ki a korábban ilyen szabályos rendezettséget nem mutató molekulákban. Ezek alapján a neurodegeneratív betegségeket (legalábbis azok döntő többségét) cerebrális amiloidózisnak, illetve amiloidopátiának lehet nevezni. Ennek alapja az úgynevezett 'misfolded', azaz rosszul strukturálódó fehérjék jelenléte. A szervezetnek az ilyen fehérjék eltávolítására, e proteinek toxikus hatásának kivédésére vannak mechanizmusai, melyek közül a következőket emeljük ki: 'unfolded protein response' (UPR), az 'ubiquitin-proteasome system' (UPS) és az autofágia-lizoszóma útvonal (Cornejo és Hetz, 2013; Corneco és mtsai 2013; Nijholt és mtsai 2011a,b; Scheper és mtsai, 2011). Az úgynevezett 'chaperon' fehérjék is fontos szerepet játszanak, ezek közül kiemeljük a klaszterint, melyek saját vizsgálatainkban is szerepelnek (lásd lentebb). Fontos biokémiai szempont, hogy neurodegeneratív kórképekben a fehérjék gyakran

hiperfoszforilálódnak, nitrát csoportokban gazdagabbá válnak, és olyan toxikus oligomerekké bomlanak le, melyek proteináz rezisztensek és az agyból nehezen eltávolíthatóak.

Jean-Martin Charcot (1825-1893) francia neurológus zseniális posztulátuma, hogy a neurodegeneratív kórképek (ezek közül kiemelten a motoneuron betegség, mely Charcot kutatásainak középpontjában áll és klinikusként is e betegség vonatkozásában alkotta a legjelentősebbet) kóros fehérje aggregátumok okozta sejtpusztulással járnak, azaz cerebrális proteinopátiák. Az elmúlt mintegy 150 év neurodegeneratív kutatásai nagyrészt a Charcot posztulátum igazolása, részleteiben kifejtése. E felfedezés jelentőségét Semmelweis Ignác gyermekági láz eredete vonatkozásában tett megfigyeléséhez lehet hasonlítani.

Az elmúlt években a neurodegeneratív proteinopátiák prion-szerű terjedése kiemelt figyelmet kapott (Guo és Lee, 2014). Ezt a jellemzőt korábban a prion betegségekben már leírták és kutatták (Prusiner és munkatársai ezért Nobel-díjat kaptak). Ma már gyakorlatilag az összes cerebrális proteinopátia vonatkozásában számos érv szól amellett, hogy prion-szerű terjedésről van szó. Ezt támasztja alá a betegség neuroanatómiai régiókat involváló progressziója is, melyben valószínűleg transz-szinaptikus mechanizmusok játszanak fontos szerepet. E témában Adriano Aguzzi zürichi kutató munkásságát emelném ki, aki számos közleményben elemezte és tényekkel támasztotta alá ezt a patomechanizmust (Aguzzi és Rajendran, 2009; Eisele és Mtsai, 2009; Ashe és Mtsai, 2013).

## **A neurodegeneratív betegségek klinikai osztályozása**

E kórképek nozológiai osztályozása a klinikai kép, neuroanatómiai érintettség, sejttípusok (a fentebb részletezett szelektív vulnerabilitás szerinti) predominanciája alapján történik. A genetikai háttér jobb megismerése felismerése újabb fontos aspektus.

A klinikai-anatómiai klasszifikáció alapján alapvetően 3 nagy betegségcsoportot állapíthatunk meg.

1. *A neurokognitív hanyatlás, demencia dominálta kórképek.* Ezek neuroanatómiai szempontból a hippokampuszt, entorhinális kortextet, limbikus rendszert (amigdala, elülső cinguláris cortex stb.) és a neokortikális területeket érintik. A fokális neuroanatómiai eloszlás és a klinikai prezentáció alapján a frontotemporális demencia betegségcsoport, az Alzheimer-kór, a Lewy-testes demencia a három fő alkotó.
2. *Mozgási zavarok.* Ezen kórképekben a neuroanatómiai szempontból a bazális ganglionok, talamusz, az agytörzsi magvak, a cerebellum kéregállománya illetve magvai, a motoros kortikális régiók (precentrális gyrus) és a gerincvelő alsó motoneuronjai érintettek. Ezen kórképek klinikailag hipokinetikus, akinetikus-rigid, illetve hiperkinetikus mozgási zavarokkal járnak, mely utóbbiaknak számos neurológiai típusa van (korea, disztónia, ballizmus, atetózis stb.).
3. *A demencia és a mozgási zavar kombinációja* áll fenn számos neurodegeneratív betegségben. Ez az alapja annak a hipotézisnek, hogy a mozgási zavar-domináns és a demencia-domináns kórképek egyazon kórfolyamat eltérő klinikai-fenotipikus manifestációi lehetnek (legalábbis a neurodegeneratív betegségek egy részében).

### **A neurodegeneratív betegségek neuropatológiai osztályozása**

Ennek alapja az elváltozások neuroanatómiai eloszlása és a jellegzetes kóros fehérje típusa, eloszlása. A kóros fehérjék kimutatásához az immunhisztokémiai módszereket alkalmazzuk, a rutin diagnosztikában formalin fixált, paraffinba beágyazott (FFPE) anyagokon. A típusos illetve karakterisztikus kóros fehérje alapján a neurodegeneratív betegségeket 6 fő proteinopátia csoportjába soroljuk:

1. A mikrotubulus asszociált protein tau (MAPT). Ez kiemelt fontosságú a citoszkeleton stabilitásában. A tau fehérje foszforilációja szabályozza a mikrotubulushoz való kötődés képességét: minél inkább foszforilált a

fehérje, annál kevésbé tud kötődni. Ez a magyarázata annak, hogy az ún. tauopátiákban a tau hiperfoszforiláció következménye a kötődés csökkenése, a citoskeleton destabilizálódása, mely a neurodegeneratív kórfolyamat elindulásának fontos faktora. A tau gén a 17-es kromoszómán helyezkedik el (*MAPT*).

2. Az alfa-szinuklein a szinuklein család egyik tagja. Génje a 4-es kromoszómán helyezkedik el. A szinuklein gén rövidítése *SNCL*.
3. A TDP-43 nukleáris protein az 1-es kromoszómán, a *TARDBP* gén által kódolt.
4. A FUS ('Fused in Sarcoma') a 16-os kromoszómán kódolódik. A FUS a FET proteincsalád tagja.
5. A béta-amiloid 770 aminosav hosszúságú és a 21-es kromoszómán kódolódik. A béta amiloid az extracelluláris térben rakódik le, ellentétben a fentebb felsorolt fehérjékkel.
6. Prion protein 253 aminosav hosszúságú fehérje, mely a *PRNP* gén által kódolt a 20-as kromoszómán.
7. Poliglutamin, mely Huntington-kórra és egyéb, ún. 'triplet repeat' betegségekre jellemző.

A tauopátiákon belül fontos megkülönböztetni az ún. '3R' és '4R' tauopátiát, melyek – elsősorban a 10-es exont érintő – alternatív hasítás eredményeként létrejövő két fő fehérje variáns. Az egyikben 3 mikrotubulus kötő ismétlődő szekvencia ('repeat') tartalmú domén, a másikban 4 ilyen mikrotubulus kötő domén található, ennek megfelelően 3R illetve 4R az elnevezésük. A cerebrális proteinopátiák osztályozása részletesebben a neuropatológiai könyvekben szerepel (Kovacs és mtsai, 2016).

### **A neuropatológiai vizsgálatok jelentősége neurodegeneratív kórképekben**

Néhány, genetikailag meghatározott és már élőben teljes bizonyossággal diagnosztizálható neurodegeneratív kórképtől eltekintve (mint pl. a Huntington-kór)

kijelenthető, hogy e betegségcsoport biztos diagnózisa csak neuropatológiai vizsgálattal lehetséges. A legjobbnak tartott és neurodegeneratív kórképekre szakosodott intézményekben is pl. az Alzheimer-kór diagnosztikus pontossága mintegy 80%. A fennmaradó 20%-ban tehát csak neuropatológiai vizsgálattal lehetséges a pontos diagnózis megállapítása (noha az esetek kevesebb, mint 1%-ában a neuropatológia is csak leíró jellemzéssel szolgálhat).

Az előbbiekhöz kapcsolódva, a terápiás hatékonyság vizsgálat (pl. gyógyszer kipróbálások esetén) is csak a pontos diagnózis ismeretében lehet igazán informatív. Ezért egyre inkább felismerik, hogy pl. az Alzheimer-kór gyógyszer-kipróbálási vizsgálataiban minél több betegnél szükséges definitív (azaz neuropatológiai) diagnózis.

Számos öröklött, illetve genetikai rizikófaktorral járó betegség esetében fontos a pontos diagnózis. Gyakran csak agyszövetből diagnosztizálható a genetikai illetve egyéb molekuláris eltérés.

A posztmortem vizsgálat során agy- illetve gerincvelői vagy egyéb szövetet lehet nyerni diagnosztikus célra, továbbá kutatáshoz is. A szövetek ma már általában korszerű agybankokban kerülnek elhelyezésre. Az agybankokban tárolt anyagok akkor használhatók a legeredményesebben klinikai vagy alap kutatásokhoz, hogyha a betegekről megfelelő kórelőzmény, klinikai adat áll rendelkezésre.

A pontos diagnózis fontos epidemiológiai adat, mely az egészségügyi ellátás tervezése, a súlypontok meghatározása szempontjából is fontos.

A posztmortem neuropatológiai vizsgálat, a szövettani metszeteket is beleértve, oktatási szempontból is kiemelkedő jelentőségű. Nemcsak a patológus, illetve neuropatológus szakorvosjelöltek, szakorvosok számára, hanem a klinikai idegtudományokban dolgozóknak is. Neurológusok, pszichiáterek, neuroradiológusok általában nagyra értékelik a neuropatológiai oktatás, továbbképzés lehetőségét.

Prion betegségek gyakran utánozhatnak egyéb demenciával járó kórképeket. Ezek kiszűrése kiemelten fontos a transzmissziós terjedés veszélye miatt.

## A demencia általános jellemzői

Az Amerikai Pszichiátriai Társaság által kiadott, a mentális betegségek diagnosztikai és statisztikai kézikönyve (DSM) IV. kiadása (American Psychiatric Association, 2000) szerint a demencia a kognitív képességek olyan szintű károsodása, mely észrevehető változást okoz a társas életben és kapcsolatokban, a munka teljesítményben. Fontos diagnosztikus szempont, hogy a beteg korábbi állapotához képest lényeges a rosszabbodás, valamint, hogy a kognitív deficit nem az öntudat hirtelen zavara vagy delírium miatt alakul ki. Fontos komponens az emlékezet (memória) zavara, melyek közül társulnia kell a következő négy közül legalább egynek (Nangle és mtsai, 1994):

1. a nyelv és beszéd zavara (afázia), 2. a cselekvés zavara (apraxia), 3. a tárgyak és személyek felismerésének zavara (agnózia), 4. a terv készítés, szervezés sorrend megtartásának zavara (diszexekutív szindróma). Az 1994-ben megjelent DSM-IV-et 2013-ban követte a DSM-V (American Psychiatric Association, 2013). Radikális változás, hogy a demencia fogalma ebben már nem szerepel, hanem helyette a súlyos neurokognitív zavar („Major Neurokognitív Disorder”) áll (Blazer, 2013). Emögött az a szándék érzékelhető, hogy a demencia szóval összefüggő negatív konnotációkat kiküszöböljék. A közvélemény ugyanis a demenciával gyakran az ’őrült’, ’nem normális’ és hasonló negatív fogalmakat társítja. A DSM-V. kritériumok szerint súlyos neurokognitív zavar van, amennyiben egy vagy több kognitív domén súlyos fokú (önállóság elvesztésével járó) szerzett (azaz nem veleszületett) zavara áll fenn a következők közül: memória (amnézia; nyelv (afázia); a mozgások céltudatos és pontos végrehajtása (apraxia); a felismerés, ill. megismerés zavara (agnózia); a térben való tájékozódás zavara (topográfias dezorientáció); az önkontroll és önellátás zavara (az exekutív funkció zavara). Ezen fő kategóriák mellett a következő további képességek zavara is kritérium: számolási képességek zavara (diszkalkúlia); az érzelem kifejezésének és érzelmek megértésének, érzékelésének zavara (diszprozódia), valamint az írás képességének zavara (agráfia) (Sachs-Ericsson és Blazer, 2015; Sachdev és mtsai, 2014).



A DSM-V. további célja (a demenciához társuló negatív konnatáció kiküszöbölése mellett), hogy jobban és pontosabban meghatározza azokat a rendellenességeket, ahol a kognitív károsodás elsődleges (primer) jellemző, azoktól, ahol nem tekinthető ennek. Továbbá a demencia (főleg kezdeti stádiumában) nehéz és komplex diagnosztikus folyamatának jobban megfeleljen (American Psychiatric Association, 2013).

A korábbi (DSM-IV.) kategorizáláshoz képest a DSM-V. új entitásként tartalmazza a HIV demenciát (Goodkin és mtsai, 2014), a Huntington betegséghez társuló demenciát, a prion betegséghez társuló demenciát (a DSM-IV. csak egyetlen prion betegséget a Creutzfeld-Jakob betegséget említette; Thompson és mtsai, 2014) és a traumás agykárosodást, különös tekintettel diffúz axonális károsodással járó formájára (Carson és mtsai, 2015). A DSM-V-ben új alkategória az élvezeti szerek (elsősorban alkohol) következtében kialakuló súlyos kognitív rendellenesség, ennek is két formája a perzisztáló amnézia (amit Korsakoff demenciának is ismernek), thiamin (B1 vitamin) deficiencia kapcsán alakul ki alkoholistákban, valamint a perzisztáló demencia (ami az alkohol okozta demencia), mely esetében a krónikus alkohol toxicitás okoz általános agysorvadást (American Psychiatric Association, 2013).

A DSM mellett fontos osztályozási és meghatározási rendszer a betegségek nemzetközi osztályozása (ICD; Fulford, 1994), melynek 10. kiadása szerint a demencia olyan szindróma, ami krónikus vagy egyre súlyosbodó agyi betegség következménye (World Health Organization, 1992). A magasabb kognitív funkciók károsodásával jár (emlékezet, gondolkodás, tájékozódás, megértés, számolás, tanulás, nyelv, véleményalkotás, döntéshozatal zavara). Az öntudat azonban megőrzött. Az ICD 10 (Khan és mtsai, 2012) szerint a demencia megállapításához a tüneteknek legalább fél éven át kell jelentkezniük, továbbá az érzékszervek a megszokott és életkornak megfelelő módon működőképesek maradnak és az érzékszervi érzékelés súlyos zavara nem következik be. A fent felsorolt tüneteket jellegzetesen és rendszeresen kísérik az érzelmi élet zavarai, az érzelmi kontroll, a motiváció és a társas viselkedés, ezek megváltozása (gyakran ezek a változások a legfeltűnőbbek; Khan és mtsai, 2012).

A Magyar Tudományban közelmúltban megjelent közleményünk részletesebb általános áttekintést nyújt az öregedésről és a demenciáról (Penke, Hortobágyi, Fülöp, 2016)

## **A demencia történeti áttekintése**

A demencia bizonyára egyidős az emberiséggel. Ennek ellenére ezzel a kiemelkedően fontos betegségcsoporttal a XX. század elejéig gyakorlatilag nem foglalkozott az orvostudomány és jelentőségét (egyre nagyobb mértékben) az elmúlt 50 évben ismerték fel.

Noha a demencia első említése az ősi Egyiptomba vezethető vissza, részletesebb leírás, filozófiai gondolatok a görög-római kultúrában jelentek meg. Pitagorász például a széniumot a 63 éves kor utáni életszakaszra használta kifejezésként, mikortól nemcsak a testi, hanem a mentális képességek is hanyatlásnak indulnak. Galenus, Hippokratész szintén foglalkozott a ma demenciának nevezett fogalommal orvosi, társadalmi vonatkozásaival. A középkorban a demencia kérdéssel, úgy tűnik, nem sokat foglalkozott sem a tudomány, sem a politika. A modern pszichiátria alapítója, Pinel (1745-1826) nevéhez fűződik a demencia első jónak tartható leírása és maga a demencia fogalom is az ő nevéhez fűződik (Blancard, 1726), noha mások szerint ez a kifejezés már Pinel előtt többek által használatos volt (Boller és mtsai, 1992). A DSM (Amerikai Pszichiátriai Társaság kézikönyve) első kiadása (1952) nem is említi a demencia fogalmát, helyette az organikus agyi szindróma (OBS) kifejezést használja. A DSM-2 (American Psychiatric Association, 1968) már említi a szenilis, illetve preszenilis demencia fogalmát, de még mindig az OBS-hez kapcsolódó pszichózisok csoportjában (American Psychiatric Association, 1968). A DSM-3 (1980) már nem használja az OBS-t és először említi a demencia fogalmát hivatalosan a pszichiátriai klasszifikációban. Az időben visszatekintve döbbenetes, hogy a demencia és annak fogalma csak nem régen került az érdeklődés és alapos kutatási vizsgálatok előterébe (Nangle és mtsai, 1994).

Hogyha a tudományos aktivitás és a publikációk számát vizsgáljuk szintén meglepő eredmény, hogy pl. az Alzheimer-kór 1975-ig mindössze 42 alkalommal szerepel rákeresésre a kor legnagyobbak számító Medline adatbázisában. Az 1980-as évek elejétől számítható valójában a modern kori Alzheimer-kór kutatás, tehát nagyon fiatal területről van szó. A 1990-es évektől tekinthető robbanásszerűnek a neurodegeneratív kórképek vizsgálata. Ekkor nagy reményeket fűztek a terápiához is, számos gyógyszergyár óriási összegekkel támogatott kutatásokat, klinikai kísérleteket. Sajnos, ezek messze nem váltották be a hozzájuk fűzött reményeket, ami a finanszírozás megcsappanásához is vezetett. Az elmúlt 10 évben figyelhető meg az a tendencia, hogy a demencia kutatás és jelentős részben az ellátás az ún. 'fejlett' világban az állami szektor által egyre inkább támogatott. Ennek oka, hogy a betegség óriási terhet ró a társadalomra, nemcsak pénzügyileg, hanem minden más aspektusával (melyeket fentebb röviden ismertettünk). Ez Európai Unióban is kiemelt kutatási területnek számít a demencia és a neurodegeneratív kórképek (Sachs-Ericsson & Blazer, 2015).

Érdekes – történelmi szempontból is – az az aspektus, hogy a vaszkuláris és a neurodegeneratív mechanizmusok miként változnak a demencia koncepciókban súlypontjuk szerint (Román, 1999; Román és mtsai, 2004). Az 1980-as évek elejéig a demencia vaszkuláris hipotézise dominált, az elbutulást (noha ezzel fontosságához képest nagyon szerényen foglalkoztak) vaszkuláris folyamatokra vezették elsősorban vissza, valamint organikus pszichoszindrómának tartották (lásd fentebb). Az 1990-es, 2000-es évek a demencia neurodegeneratív aspektusait hangsúlyozta. A 2010-es évek a vaszkuláris és neurodegeneratív folyamatok egymásra hatásának fontosságát hangsúlyozza és mai tudásunk szerint ez a kiegyensúlyozottabb megközelítés vezethet eredményre a betegségcsoport jobb megismerése, megelőzése, kezelése vonatkozásában is.

## A demencia epidemiológiája

A demencia gyakorisága az életkorral nő. Noha kissé leegyszerűsített, jól megjegyezhető és a valóságtól nem lényegesen különböző prevalencia számítási mód, ha 60 éves korban a demencia előfordulását 1%-nak tekintjük, és annak 5 évente feltételezzük duplázódását. Így tehát 60 évesek között amennyiben a gyakoriság 1%-os (ami megfelel a statisztikai adatoknak jó közelítéssel), úgy 65 évesek között 2%, 70 évesek között 4%, 75 évesek között 8%, 80 évesek között 16%, 85 évesek között 32%, 90 éves korban és fölött, mintegy 64% a demencia előfordulása (Limongi és mtsai, 2015). Érdekes, hogy 90 éves kor fölött (és még inkább 100 éves kor fölött), a demencia gyakorisága platót ér el és csak minimálisan emelkedik. Ezt számos, a 100 évesek fölött előforduló demencia (elsősorban az Alzheimer-kór) gyakoriságát vizsgáló érdekes tanulmány tárgya (Bullain és Corrada, 2013; Yang, Slavin, Sachdev, 2013). A 60 éves kor alatt kezdődő demenciák, amennyiben neurodegeneratív mechanizmusúak, döntő többségben mutáció kapcsán alakulnak ki és nagyrészt familárisak; a nem neurodegeneratív demenciák pedig metabolikus, ill. környezeti tényezőkre vezethetők általában vissza. A demencia nők között mérsékelten gyakoribb (általánosságban nézve; az egyes atlípusok vonatkozásában ugyanis vannak különbségek). Lehet, hogy ennek az az oka, hogy a nők tovább élnek. Mindenesetre kijelenthető, hogy a férfi-nő incidencia különbség nem jelentős (Boller és Duyckaerts, 1997). A demencia gyakorisága a földrajzi elhelyezkedést, ill. etikumot tekintve (néhány genetikai, ill. táplálkozási-környezeti okra visszavezethető kivételtől eltekintve) érdemi eltérést nem mutat. Jól ismert kivétel a Csendes-óceáni Guam-szigetcsoporton a motoneuron betegséggel, Parkinson-kórral együttesen előforduló demencia gyakorisága. Egyes epidemiológiai adatok szerint a Parkinson-kór és a hozzá társuló demencia gyakoribb olyan vízparti régiókban, ahol a halakban feltételezhetően felhalmozódó neurotoxinok kapcsán alakulhat ki a betegség (Boller és Forbes, 1998).

## **Az demencia pénzügyi vonatkozásai és összehasonlítás egyéb betegségek gazdasági kihatásaival**

A közelmúltban végzett felmérés szerint (Gustavson és mtsai; 2011; Olesen és mtsai, 2012) az idegrendszeri betegségek költsége Európában évente 798 milliárd euró. A betegségenkénti legmagasabb költség a neurodegeneratív kórképekre esik, ezt követik a hangulati zavarok ('mood disorders'), a pszichotikus zavarok, a szorongás, addikció, stroke, fejfájás, mentális retardáció, traumás agykárosodás, szklerózis multiplex. Annak tudatában, hogy a felsorolt listán szereplő betegségcsoportok nemcsak a neurodegeneráció, hanem több más esetben is kognitív zavarral, súlyos esetben demenciával járnak (kiemeljük a stroke-ot, traumás agykárosodást, szklerózis multiplex-et), egyértelmű, hogy a demenciával járó kórképek eredményesebb diagnosztikája, kezelése nemcsak Európában, hanem világszerte prioritás. Az elmúlt évek számos kedvező, ez irányú elmozdulást mutatnak (az előtte levő évtizedek vagy talán évszázadok meglehetősen negligenciája után). Ha a betegenkénti költségeket nézzük, akkor az idegrendszeri kórképek közül a demencia az 5. helyen szerepel (a neuromuszkuláris kórképek, szklerózis multiplex, agytumороk, pszichotikus rendellenességek után), melyet szorosan követ a Parkinson-kór, mentális retardáció, traumás agykárosodás, stroke. Ha az idegrendszeri betegségek teljes költségét (798 milliárd euró) összehasonlítjuk más betegségek költségeivel, akkor az öt leggyakoribb betegségcsoport (kardiovaszkuláris, daganatos, diabétesz, krónikus tüdőbetegségek, reumatoid artritisz) összköltsége (500 milliárd euro) sem éri el az idegrendszeri betegségekre fordítandó kiadásokat. A demenciával járó kórképek gyakran egy-két évtizedes lefutásúak, ami az egészségügyi-pénzügyi vonatkozások másik fontos aspektusát jelenti. Mindezek ismeretében kiemelkedő fontosságú, hogy Magyarországon a Nemzeti Agykutató Program (NAP) kiemelten támogat idegrendszeri betegségekkel foglalkozó klinikai és alap kutatásokat, betegségmegelőzési programokat. Az értekezésben szereplő munkák egy része szintén a NAP támogatásával jöhetett létre, melyért e helyen is köszönetemet fejezem ki.

## A demencia főbb klinikai típusai és okai

A két fő típus a neurodegeneratív betegség, ill. cerebrovaszkuláris betegség kapcsán kialakuló demencia (Iadecola és Gorelick, 2003). Fontos hangsúlyozni, hogy izolált, azaz kizárólag neurodegeneratív, ill. cerebrovaszkuláris okból kialakuló demencia lényegesen ritkább, mint azt korábban gondolták. Azaz e két fő demencia típus gyakran keveredik, elsősorban a neurodegeneratív demenciákhoz társul változó mértékben a demenciát súlyosbító, annak kialakulását is elősegítő vaszkuláris komponens (Iadecola, 2010a). A cerebrovaszkuláris betegségekben is gyakori egyrészt ún. időskori, azzal összefüggésbe hozható (nem feltétlenül betegséggel azonos) neurodegeneratív patológia, elsősorban Alzheimer-kór típusú elváltozásokkal (de la Torre, 2004). Ezek gyakran súlyosabbak, mint az adott életkorban szokványos patológia. Másrészt, cerebrovaszkuláris betegség kapcsán kialakult demenciáknál gyakran szignifikáns súlyosságú (azaz önmagában is demencia okozására képes) neurodegeneratív patológia azonosítható. Az időskori neurodegeneratív elváltozások és a neurodegeneratív betegségek közötti átmenet ún. „szürke zóna” – azaz a normálisnak tartható öregedés és neurodegeneratív demencia megkülönböztetése, klinikai, ill. neuropatológiai elhatárolása és elkülönítése nem mindig lehetséges (Yarchoan és mtsai, 2012; Viswanathan és mtsai, 2009).

A neurodegeneratív demenciák között egyértelműen a leggyakoribb az Alzheimer-kór, mely az összes demencia mintegy 60%-áért felelős (Jellinger, 2008). A második leggyakoribb neurodegeneratív demencia a Lewy-testes demencia ('demencia with Lewy bodies', DLB), valamint a Parkinson-kórhoz társuló demencia (Popescu és mtsai, 2004; Jellinger és Attems, 2006), mint azt lentebb részletesebben kifejtjük, a DLB és a Parkinson-kórhoz társuló demencia (PDD) a betegség korai fázisától eltekintve, mind klinikailag, mind neuropatológiai megkülönböztethetetlen. A következő fő neurodegeneratív demencia csoport a frontotemporális lobáris degenerációk (FTLD)(mely a neuropatológiai nomenklatúrát tükrözi), ill. a klinikai szóhasználatban frontotemporális demencia (FTD). További fő csoport a központi idegrendszeri eredetű

mozgási zavarok (ún. 'movement disorders')-hoz kapcsolódó demenciák. Mivel a Parkinson-kór demencia külön csoportok képez, ezt nem ide soroljuk; itt szerepel a progresszív szupranukleáris bénulás (PSP) a kortikobazális degeneráció (CBD), a motoneuron betegséghez társulóan kialakuló demencia (ezt részletesebben lásd lentebb), Huntington kórhoz társuló demencia (Becher és mtsai, 1998). Kialakulhat továbbá neurodegeneratív demencia, a hippocampusz szklerózisa kapcsán is. Ez elkülönítendő a hippocampusz megkisebbedésével járó egyéb neurodegeneratív demenciáktól (elsősorban az Alzheimer-kórtól), mivel ehhez nem társul súlyos agykéreg sorvadás. A hippocampális szklerózis gyakori és jellegzetes oka a hosszantartó epilepszia.

A cerebrovaszkuláris betegségek kapcsán kialakuló demenciák közül a nagyér betegség miatt kialakuló ún. 'multi-infarktus demencia', valamint a kísér betegségek kapcsán kialakuló demencia különítendő el (Federico és mtsai, 2012). Speciális formák a hereditér angiopátiák kapcsán kialakuló demenciák (CADASIL, CARASIL és más ritka hereditér angiopátiák; Tikka és mtsai, 2014; Kalimo és mtsai, 2002). A családi halmozódást mutató (familiáris) amiloid angiopátiák a következő ritka csoport. Az agyi erek arteritisze (ritkán) szintén okozhat vaszkuláris eredetű demenciát (Arima és mtsai, 2003).

Fertőzés, gyulladásos és immunmediált folyamatok okozta demenciák közül kiemelendők a granulomatózus gyulladások (pl. tuberkulózis, szarkoidózis, valamint a neuroszifilisz). A vírusfertőzések közül a HIV infekcióhoz társuló demencia a DSM V-ben külön alcsoportként szerepel (Singh, 2012). Számos kórkép közül a progresszív multifokális leukoencefalopátiát (PML-t) említjük név szerint, melyet a JC vírus okoz. Emellett számos virális encefalitisz okozhat demenciát (Graus és mtsai, 2016; Lancaster, 2016).

A prion betegségek a DSM V-ben is már új demencia kategóriaként szerepelnek. A klasszikus Creutzfeld-Jacob betegség (mely sporadikus általában és ritkán mutáció kapcsán familiáris) és az ún. variáns Creutzfeld-Jacob betegség említendő, mely a

transzmisszibilis spongiform encephalopátiák jellegzetes típusai. A ritka és Magyarországon gyakorlatilag ismeretlen kuru mellett a szintén ritka GSS (Gerstman-Straussler-Scheinker) szindróma is demenciával társuló prion betegség (Liberski és Surewicz, 2013; Liberski, 2012).

A demielinizációval járó kórképek közül a szklerózis multiplex emelendő ki, amely legújabb irodalmi adatok szerint nemcsak immunmediált, demielinizációs, hanem fontos neurodegeneratív komponensű betegség is (Haider és mtsai, 2016; Mahad és mtsai, 2015).

Immunmediált kórképek közül kiemeljük az autoimmun encephalitist, ill. annak egy rokon formáját a paraneoplasztikus encephalitist (amennyiben nem rövid lefutású és halálos) – ez szintén demenciához vezethet (Graus és mtsai, 2016).

A toxikus és metabolikus rendellenességek közül az alkoholizmus, (mely vitamin, elsősorban B1, B12 és folsav, deficienciához is vezethet), a hipotireózis, a krónikus hepatikus encephalopátia, valamint a számos (döntően genetikai háttérű) neurometabolikus (tárolási) betegség emelendő ki (Bonetti és mtsai, 2016).

További fontos csoport a traumás agykárosodás kapcsán kialakuló demencia, melynek altípusai közül a repetitív trauma kapcsán kialakuló ún. demencia pugilisztika (mely bokszolóknál meglehetősen gyakori), a gyakran multiplex diffúz vagy fokális trauma, szubdurális vérzés (késői) következményeként kialakuló demencia emelendő ki (Faden és Loane, 2015; Johnson és Stewart, 2015; Abdul-Muneer és mtsai, 2015).

Az egyéb demencia okok közül a daganatos betegségekhez társuló demencia is fontos. A fentebb említett paraneoplasztikus encephalitisz kapcsán kialakuló forma mellett az intracerebrális daganatok is okozhatnak demenciát. A frontális lebenyt ill. a hippocampuszt érintő neopláziák a neuroanatómiai vonatkozások miatt különösen hajlamosak lehetnek erre. A daganatok kapcsán említést érdemel, hogy a kemoirradiáció mellékhatásként szintén a kognitív képességek csökkenését, demenciát okozhat (ún. „kemó-agy”, mely kemoterápia után gyakran észlelt, a demencia szintjét



általában el nem érő, memória és egyéb kognitív zavarral járó tünetegyüttes (Ehrhardt és mtsai, 2015; Nudelman és mtsai, 2015)).

## **A demencia klinikai diagnosztikája**

Ez a DSM V., ICD X. diagnosztikus kritériumok alapján történik (American Psychiatric Association, 2013; World Health Organization, 1992). Ebben a neuropatológiai tárgyú értekezésben fontos kiemelni, hogy ritka kivételektől eltekintve a demencia okának biztos (definitív) diagnózisa csak a posztmortem neuropatológiai vizsgálattal lehetséges. A nem-neurodegeneratív betegségek esetében szintén fontos a neuropatológiai vizsgálat és diagnózis. Egyrészt mivel a klinikai tünetek sokszor nem egyértelműek és az oki tényezők sem azok, valamint több tényező együttállása is előfordulhat az esetek jelentős részében. A képalkotó vizsgálatok (CT, MRI, SPECT, stb.) kiemelt fontosságúak a demenciák klinikai diagnosztikájában, ill. a különböző altípusok elkülönítésében. A betegség progressziója is jól monitorozható az esetek jelentős részében képalkotós vizsgálatokkal. A betegséget már a preklinikai stádiumban jelző biomarkerek kutatása a kiemelten fontos és izgalmas tudományterület. Ebben a komplex képalkotós vizsgálatok (beleértve az idegpálya analíziseket, agyi metabolikus aktivitás vizsgálatát) mellett a testfolyadékokból (vér, cerebrospinális folyadék, nyál, vizelet) származó markerek keresése emelendő ki. Alzheimer-kór vonatkozásában a likvor tau (kóros, hiperfoszforilált forma) és béta-amiloid vizsgálata klinikailag igazoltan (a tényeken alapuló orvoslás kritériumainak megfelelően) fontos a betegség korai diagnózisában, de a progresszió és a kezelés hatékonyságának megítélésében is (Forlenza és mtsai, 2015; Kuhlmann és mtsai, 2016). Az amiloidot PET ligandumokkal jól láthatóvá lehet tenni a képalkotó eljárások során (Burton és mtsai, 2012). A fluoro-dezoxi-glükózzal végzett PET vizsgálat pedig alkalmas arra, hogy a demenciát egyéb betegségektől elkülönítsék (Urbanowitsch és mtsai, 2015).

Mérgezések is okozhatnak demenciát; ennek egyik speciális idült formája az alkoholizmus. Kapcsolatot feltételeznek továbbá a demencia és a kórnikus veseelégtelenség között (Tamura és mtsai, 2016).

## **Rizikófaktorok és a prevenció lehetőségei**

A fő kockázati tényező maga az életkor. A másik ismert hajlamosító tényező a depresszió. Fontos ugyanakkor megjegyezni, hogy a demencia a depresszió kialakulását és súlyosságát is fokozhatja, a kettő között tehát oda-vissza irányú kölcsönhatás áll fenn. A keringést terhelő rizikótényezők is fontos szerepet játszanak a demenciában (nemcsak annak vaszkuláris, hanem neurodegeneratív típusának kialakulásában). Ezek közül a magas vérnyomás, magas homocisztein szint, az elhízás, cukorbetegség emelendő ki. A glükóz anyagcsere zavara és a neurodegeneratív folyamatok közötti oki kapcsolatra egyre több adat utal, azaz a glükóz átalakulás idegrendszeri rendellenességei fontos patomechanisztikus tényezők lehetnek (Whitmer és mtsai, 2015). Ebből következik, hogy a depresszió és a cukorbetegség kezelése, az elhízás, magas vérnyomás megelőzése például rendszeres testmozgással fontosak a demencia kialakulásának, prevalenciájának kedvező befolyásolásában. Ismert, hogy a dohányzás (nemcsak a nikotin érrendszerre kifejtett hatásai révén) szintén fontos rizikótényező. Érdekes módon, egy hosszú utánkövetéses kutatás kapcsolatot mutatott ki a fogazat állapota és a demencia között (Ohara és mtsai, 2015).

A kognitív tünetek, elsősorban a memória zavarai, a demencia legismertebb és valóban legfontosabb jellemzői. Fontos azonban hangsúlyozni, hogy idegrendszeri eredetű mozgászavarok a korábban feltételezettnél jóval gyakrabban társulhatnak demenciával járó kórképekhez (lásd részletesebben lentebb).

A viselkedészavarok demenciához társulóan (BPSD – 'Behavioural and Psychological Symptoms of Dementia') fontosak és gyakoriak (Purandare és Burns, 2000). Ez a tünetcsoport szorosan kapcsolódik a gondozók helyzete és terhe problematikához. Ez

azért is fontos, mert a demens betegeket, mintegy 90%-ban a családtagok (80%-ukban nők) gondozzák, akik jelentős részben feláldozzák idejüket, életüket a betegek ápolásáért és az áldozat mértékét gyakran alábecsülik. Ismeretes, hogy a demenciát gondozók között nagyon gyakoriak pszichoszomatikus és egyéb betegségek (Volicer, 2005). A gondozók terheit jelentős részben a BPSD okozza.

Rövid magyar nyelvű közleményünkben a családorvosok figyelmét hívtuk fel a demencia szűrés fontosságára, a betegség főbb jellemzőit, korai tüneteit is taglalva (Hortobágyi és Hortobágyi, 2002).

### **Protektív faktorok demencia vonatkozásában**

Noha antihipertenzív kezelés protektív hatását prospektív tanulmány igazolni látszik (Khachaturian és mtsai, 2006), ennek hatása nem bizonyított egyéb kontrollált tanulmányban. Vizsgálták ösztrogén pótlás, nem szteroid gyulladásgátlók, sztatínok és egyéb koleszterin csökkentők hatását, melyekről egyesek kedvező eredményeket jelentettek, de bizonyítottan nem tekinthető kedvező hatásuk (Hoozemans & O'Banion, 2005; Chen és mtsai, 2003).

### **A demencia kezelési lehetőségei**

Ezek hatásukban meglehetősen limitáltak. Ennek egyik oka, hogy a neuronpusztulás irreverzibilis. Noha korábban reményeket fűztek az idegrendszerben található ún. őssejt fészkekből kiinduló neurogenesis, illetve transzplantált idegsejtek vonatkozásában, az eddigi vizsgálatok és az elméleti-idegtudományi megfontolások miatt ezek várhatóan sohasem fognak átütő eredményre vezetni. Ami lehetőségként és célként ma reális, az idegsejtpusztulás mértékének lassítása, illetve a neuronpusztulás következményeként kialakuló zavarok mérséklése. Előbbieket a neuroprotektív stratégiák jelentik, melyek több fontos aspektusa prevenció

szempontból is jelentős. Az utóbbira példa a kolinészteráz inhibitor alkalmazása, mely az agykéreg kolinerg idegvégződéseinek csökkenése miatt kialakuló neurotranszmitter deficitet úgy igyekszik mérsékelni, hogy az acetilkolin lebomlását a szinaptikus részben lassítja. Ez azonban nem befolyásolja érdemben az idegsejtpusztulás mértékét. Az ilyen és hasonló terápiás beavatkozások eredményeként növelhető a relatíve jó életminőségben töltött betegek száma, melyet (a kompenzatórikus mechanizmusok kimerülése után) az agy funkcionális képességének gyors összeomlása (és a halál) követ. A jelen, döntően neuropatológiai súlypontú értekezés kereteit meghaladja az Alzheimer-kór és egyéb demenciák vonatkozásában alkalmazott, illetve kipróbált terápiás lehetőségek ismertetése. A témáról rövid áttekintést a közelmúltban a Magyar Tudományban megjelent közleményünk tartalmaz (Penke, Hortobágyi, Fülöp, 2016).

### **A demenciával járó kórképek neuropatológiai csoportosítása**

1. Neurodegeneratív kórképek: ezek közül az Alzheimer-kór, a Lewy-testes demencia, a Parkinson-kórhoz társuló demencia, a frontotemporális demenciák, TDP-43 ill. tau pozitív formája (az utóbbi a Pick-betegség és rokon kórképek), valamint a motoneuron betegség-amiotrófiás laterális szklerózis (MND-ALS) betegség spektrum.
2. A cerebrovaszkuláris betegségek közül döntően kísérőbetegséggel járó, leegyszerűsítve szubkortikális vaszkuláris demencia (SVD)-ként jellemezhető kórkép, valamint az agyi infarktus (iszkémiás stroke) kapcsán kialakuló demenciák. Külön alcsoport a hereditér angiopátiák (amiloid angiopátiák, CADASIL, CARASIL).
3. Traumás agykárosodás, melynek altípusai közül a kontúzióknak megfeleltethető fokális agykárosodás, valamint a diffúz traumás axonális károsodás (dTAI) szerepeltek vizsgálatainkban. Új és fontos alcsoport a krónikus traumás encefalopátia (CTE), mely sportolóknál gyakori volta miatt is egyre inkább közzismert.
4. A neurodegeneratív betegségekhez sorolt, de speciális (nem teljesen ismert) „infektív” jellege miatt a prion betegségeket külön csoportban szerepeltetjük.

5) Toxikus okokból kialakuló demencia (klasszikus típusa az alkoholizmus kapcsán létrejövő demencia).

6) Ritka és neuropatológiailag nehezen vizsgálható csoport a normális likvornyomás mellett kialakuló hidrocefaluszhoz társuló demencia.

7) Egyéb ritka és nem csoportosítható formák (gyakran esetismertetések formájában).

A demencia neuropatológiai diagnosztikájának javasolt algoritmus a Greenfield's neuropatológiai kézikönyv 952. oldalán található (Lowe és Kalaria, 2015).

## A demencia neuropatológiai diagnosztikája

A klinikai adatok, képalkotón látottak áttekintése után az agy neuropatológiai vizsgálata következik. Fontos, hogy minél több releváns klinikai információ (1. ábra),

- Personal data:
  - identification code of the centre (brain bank)
  - identification code of the patient
  - gender
  - age
  - date of death (day/month/year)
  - agonic state
  - post-mortem delay
- Consent:
  - clinical autopsy
  - forensic autopsy
  - donor program
  - consent for genetic analysis
  - limitations for further studies
- Familial, genetic and environmental factors:
  - family cases
  - genetics
  - gestation
    - ✓ known obstetric complications
    - ✓ infection during prenatal period
  - environmental factors
    - ✓ smoking habits
    - ✓ alcohol abuse
    - ✓ drug abuse
    - ✓ others
  - treatment:
    - ✓ duration
    - ✓ delay without treatment before death
    - ✓ detailed treatment during the last two months
- Antecedents of infectious or contagious disease: risk factors: trauma
- Main clinical symptoms and signs:
  - focal signs or lateralisation
  - mental impairment and dementia: Mini Mental State Examination
  - psychiatric symptoms
  - motor signs:
    - ✓ parkinsonism
    - ✓ ataxia
    - ✓ chorea
    - ✓ myoclonus
    - ✓ lower motor signs
  - sensory signs
  - autonomic signs
  - epilepsy
  - others
- Course of the disease:

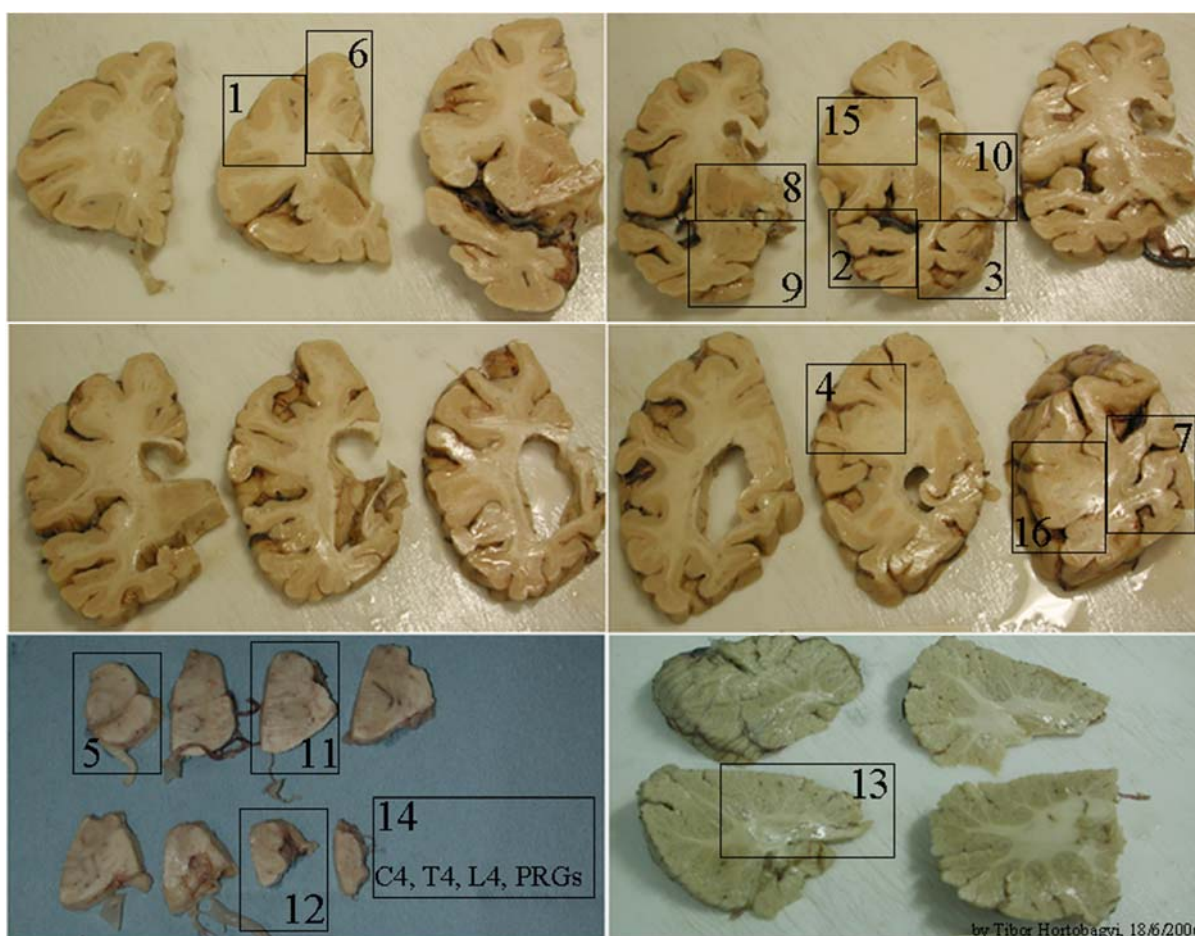
‘Minimal Clinical Data’



- acute
- sub-acute
- chronic
- relapsing/remitting
- Duration of the disease:
- Systemic disease:
- Relevant complementary examinations
  - biochemistry
  - neuroimaging
  - neurophysiology
  - others
- Clinical diagnosis:
- Cause of death (pathology diagnosis):

1. ábra. A klinikopatológiai értékeléshez ajánlott alapvető adatok listája. A legfontosabbakat piros kerettel jelöltük.

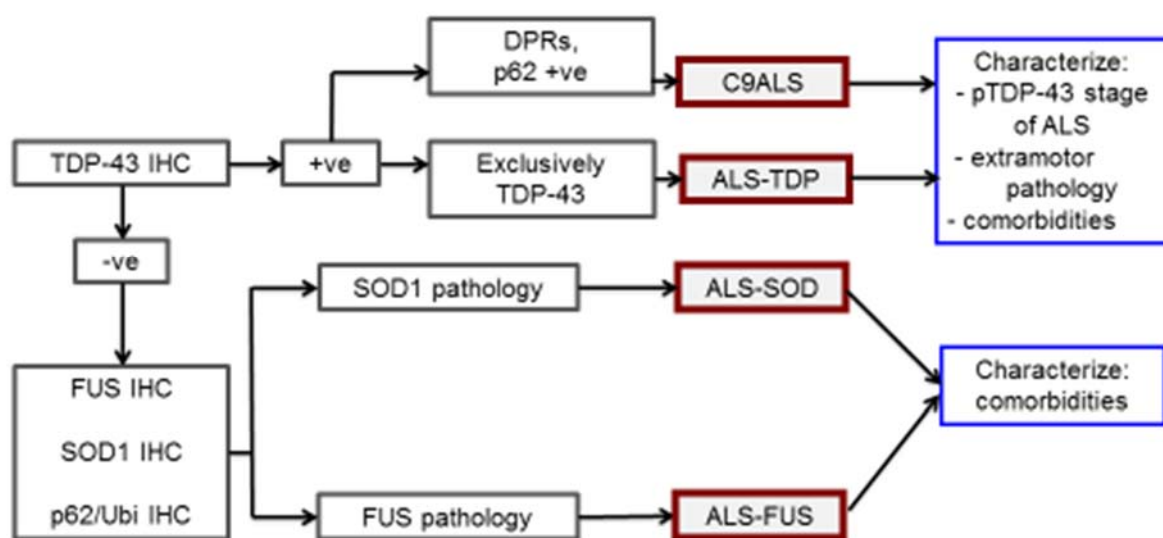
epidemiológiai és egyéb adat álljon rendelkezésre. Az úgynevezett 'minimum dataset' ajánlást a BrainNet Europe fogalmazta meg (1. ábra). Kiemeltem azokat az adatokat, amelyek megkülönböztetett fontosságúak. A demencia vonatkozásában (is) preferált feldolgozási mód, hogy az agyat középső szagittális síkban kettévágva az egyik féltekét formalinban rögzítjük. A másik féltekét pedig kb. 0,8 cm-es szeletek készítése után -80 Celsius fokra lefagyasztjuk és további diagnosztikus, illetve kutatási felhasználásra tároljuk („bankoljuk”).



2. ábra. A neuropatológiai szövettani vizsgálathoz alapvetően szükséges agyterületek bekeretezve láthatók.

A fagyasztás gyakran nem az egész féltekét érinti, hanem az agyi régiókból körülbelül 1-5 köbcentiméternyi térfogat kerül izolálásra és azt fagyasztjuk külön-külön, kicsiny zacskókban. Ez utóbbi módszer előnye, hogy a bankolt agyszövet összességében kevesebb térfogatot foglal el a hűtőben, illetve ha később diagnosztikus vagy kutatási célra célzottan csak néhány agy régióra van szükség, akkor nem egy nagyobb

agyszeletet kell felolvasztani, mert rendelkezésre áll a kért agyterületet tartalmazó részlet. Ennek azért is jelentősége van, mert a fagyasztás-felolvasztás ciklusok mind a fehérje, mind a nukleinsavak integritását jelentős mértékben csökkentik. A formalinban rögzített mintát (minimum 3 hétig tároljuk a fixatívban) felszeleteljük. Ekkor történik a makroszkópos vizsgálat, a külleírás, az agyszeletek jellemzése, és a mintavétel a paraffinba történő beágyazáshoz. A BrainNet Europe részletes protokollokat ad az agy feldolgozásával kapcsolatban (is). Ez lényegében nem tér el attól a listától, melyet értekezésembe illeszték (2. ábra). Az agyfelvágás során a protokollban meghatározott területeken kívül az egyéb azonosított fokális léziót és környezetét is beágyazzuk szövettani vizsgálatra (pl. vaszkuláris elváltozást). A paraffinba ágyazás után elsőként hematoxin-eozin festett metszeteken tekintjük át az agyszöveteket (van, aki a 'Luxol fast blue/Nissl' kettős festést preferálja). Ezt követi az immunhisztokémiai vizsgálat, mely jellemzően részletes és számos anatómia régióra



3. ábra Az ALS neuropatológiai diagnosztikájának algoritmus (Hortobágyi és Cairns, 2015)

kiterjedő. Példaként említtem a motoneuron betegség feldolgozási algoritmusát, mely egy 2015-ben megjelent könyvfejezet részeként is szerepel (Hortobágyi és Cairns, 2015): a 12.3 táblázatban 1,2,3 számokkal jelzett módon, több lépcsőben történik az immunhisztokémiai vizsgálatok elvégzése: ugyanis az esetek jelentős részében kevesebb immunhisztokémiai reakció is elég a pontos diagnózis megállapításához, így

a további lépések immunhisztokémiai reakcióinak száma csökkenthető illetve nélkülözhető, ami jelentős költség- és időmegtakarítással jár.

Az immunhisztokémiai festések és a hematoxin-eozin (szükség esetén mielin festés vagy egyéb módszer, például ezüstözés, kórokozó kimutatás) analízise után diagnosztikus algoritmusok segítségével könnyebben határozható meg a kórkép illetve annak alcsoportja. Példaként a frontotemporális demencia illetve a motoneuron betegség diagnosztikus algoritmusát szerepeltetem értekezésemhez (ábra 3.).

## A TÉMAVÁLASZTÁS INDOKLÁSA

A neurodegeneratív kórképek és azon belül is a demenciák a neuropatológia egyik legfontosabb és legdinamikusabban fejlődő területe (a másik az idegrendszeri tumorok). A patológus szakvizsga, a PhD fokozat megszerzése és kutatómunka után a neuropatológia felé történő teljes szakmai odafordulás egyik fő oka a neurodegeneratív betegségek iránti érdeklődésem volt. Ennek részben családi indíttatása is van, mivel édesapám pszichiáterként kiemelt fontosságúnak tartotta és sokat tett a demenciában szenvedő betegek és hozzátartozóik minél jobb ellátásáért. A sors különös ajándéka, hogy 2003-tól a világ egyik legjobb neurodegenerációval foglalkozó pszichiátriai intézetében, a 'King's College London Institute of Psychiatry' neuropatológiai tanszékén és a King's College Hospital neuropatológiai osztályán dolgozhattam. Itt lehetőségem volt a neuropatológia gyakorlatilag teljes diagnosztikus spektrumát művelni (amire nem volt lehetőség, azt az Egyesült Királyságban hosszabb-rövidebb tanulmányutakon tehettem meg). Hálával és köszönettel tartozom mentoromnak, Lantos Péter professzornak, aki a tanszék korábbi vezetője volt és mindenben támogatott. E helyen köszönöm meg Bódi István neuropatológus kollégámnak a Londonban együtt töltött éveket és mindezt, amit vele együtt dolgozva tanulhattam tőle. A brit patológus és neuropatológus szakvizsgák megszerzése után két évvel, 2008-tól, a King's College London egyetlen egyetemi alkalmazásban lévő neuropatológusaként a világ egyik legjobb motoneuron betegség/frontotemporális



demencia kutatócsoportja (vezetője Christopher Shaw) szenior tagjaként meghatározó éveket tölthettem a neurodegenerációval foglalkozva. 2010-es Debrecenbe települesem óta is szenior vendégkutató-és oktatóként szoros kapcsolatot tartok fenn a londoni intézettel.

## CÉLKITŰZÉSEK

### Az értekezésbe foglalt vizsgálatok főbb célkitűzései:

1. Az amiotrófiás laterális szklerózis két fő jellegzetes proteinopátia altípusa, az ALS-FUS és az ALS-TDP, patomechanizmusának vizsgálata a morfológiai és molekuláris jellemzők elemzésével, különös tekintettel az újonnan felfedezett mutációk neuropatológiai vonatkozásaira.
2. A sejtciklus reguláció zavara, mint lehetséges patomechanizmus, vizsgálata Alzheimer-kórban.
3. A 'chaperon' fehérje klaszterin jelentőségének vizsgálata Alzheimer-kórban.
4. A szinaptikus diszfunkció vizsgálata Alzheimer-kórban és Lewy testes demenciákban, különös tekintettel a betegség korai (preklinikai) fázisára.
5. A két fő Lewy testes betegség (Lewy testes demencia és Parkinson-kór demencia) összehasonlító neuropatológiai és kliniko-patológiai elemzése.
6. A többféle neurodegeneratív patológia együttállása és ennek klinikai megfelelői Lewy testes kórképekben.
7. A depresszív tünetek neuropatológiai korrelátumainak kutatása Lewy testes betegségekben és Alzheimer kórban.
8. Az 'unfolded protein response' (UPR) vizsgálata lewy testes betegségekben és Alzheimer-kórban.
9. Neuropatológiai konszenzus kritériumok kidolgozása demenciával járó neurodegeneratív és cerebrovaszkuláris kórképekben a BrainNet Europe munkacsoport tagjaként

10. Vaszkuláris és kevert (neurodegeneratív és vaszkuláris) demenciákban a kognitív hanyatlással összefüggő neurotranszmitter és gyulladásos mediátor eltérések meghatározása, kliniko-patológiai analízise
11. Az időskori agy neuropatológiai elváltozásainak vizsgálata és összehasonlítása a demenciában észlelt eltérésekkel.
12. A korai traumás axonális károsodás neuropatológiai azonosítása.
13. A PARP szerepe a neuronpusztulásban agyi traumában. A PARP gátlás, mint neuroprotektív stratégia vizsgálata.

## MÓDSZEREK

### A következő módszereket emelem ki:

#### 1. Rutin neuropatológiai feldolgozás

A klinikai adatok áttekintése, az agy makroszkópos és mikroszkópos analízise. Részletesen az értekezéshez tartozó közleményekben kerülnek leírásra, valamint a bevezetésben szerepelnek.

#### 2. Immunhisztokémia

A standardnak számító neuropatológiai módszer kutatási alkalmazáskor gyakran az antitestek létrehozását, részletes és alapos tesztelését, beállítását kívánta. Az immunhisztokémia reakció vizualizálása egyrészt 3,3' diaminobenzidin (DAB) kromogénnel történt, ami a neuroanatómiai viszonyok és celluláris lokalizáció alaposabb vizsgálatát tette lehetővé, másrészt fluoreszcens jelöléssel, ami a fehérje-fehérje interakció, ko-lokalizáció alaposabban vizsgálatát segíti.

#### 3. Western blot

Neurodegeneratív proteinopátiákban az általunk vizsgált fehérjék gyakran hiperfoszforiláltak, ubikvitiniláltak, alternatív hasítás miatt több fehérje speciést tartalmaznak. Ezek kimutatására illetve az immunhisztokémiailag igazoltak más módszerrel történő megerősítésére alkalmaztunk Western blot vizsgálatot (is).

#### 4. Genetikai vizsgálatok

Mutáció analízis, génexpresszió, RNS processzálas és RNS-fehérje interakciók vizsgálata, splicing reguláció, transzfekció, transzgenikus egértörzsek létrehozása szerepel többek között a módszerek között. Ezek beállítása, kivitelezése, értékelése PhD hallgatóim illetve genetikus kollégáim érdeme elsősorban.

#### 5. Klinikopatológiai korrelatív analízis

Ehhez az elektronikus illetve papír alapú beteg adatbázisok szolgáltak alapul.

#### 6. Statisztikai értékelés

A vizsgálatokhoz számos parametrikus, illetve non-parametrikus tesztet használtunk, melyek részletesen az értekezés alapjául szolgáló közleményekben szerepelnek.

#### 7. Sejtbiológiai vizsgálatok

A vizsgálatok egy része sejtenyészeteken történt, melyek fenntartása, a sejtekből fehérje, DNS, RNS izolálás PhD hallgatóim, illetve sejtbiológus kollégák révén történt.

#### 8. Konfokális mikroszkópia

Sejtenyészeteken illetve szöveti metszeteken történtek a vizsgálatok

#### 9. Elektronmikroszkópia

E vizsgálatok Siklós László érdemei elsősorban, akivel e vizsgálatokhoz felvettem a kapcsolatot és együtt értékeltük az eredményeket (SZBK, Szeged). Sejtenyészeteken és posztmortem agymintákon történtek a kutatásaink.

#### 10. Állatkísérletes modellek

Noha a humán agyon végzett vizsgálatok dominálják az értekezést, számos (pl. transzgenikus) egértörzsön is történt vizsgálat. Ehhez a neuropatológiai értékelésben vettem részt.

Ezek részletezése és a további módszerek az értekezés alapjául szolgáló közleményekben szerepelnek.

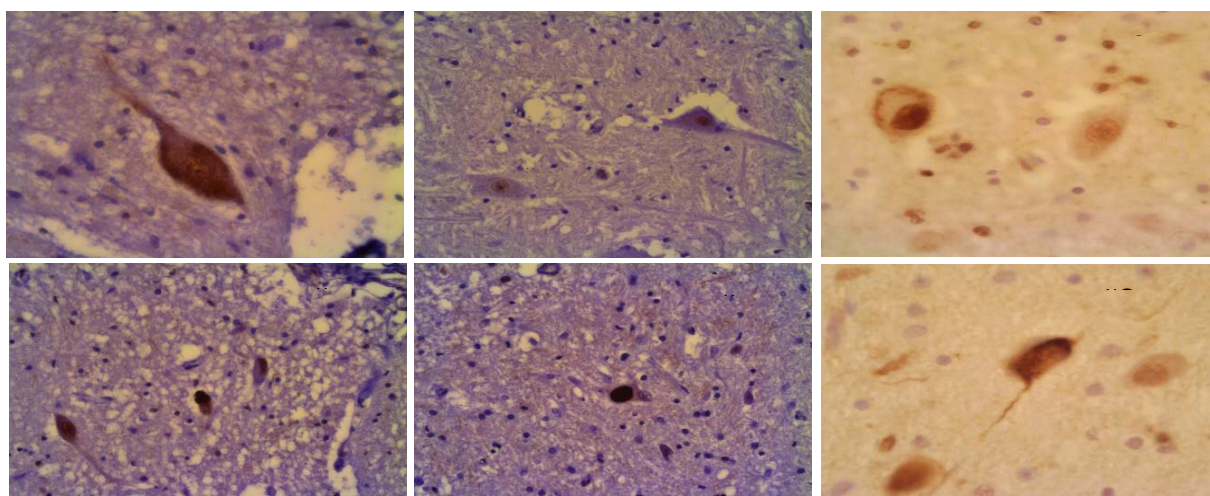
## EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

### AMOTRÓFIÁS LATERÁLIS SZKLERÓZIS ÉS FRONTOTEMPORÁLIS DEMENCIA

#### *VIZSGÁLATOK FUS PROTEINOPÁTIÁKBAN*

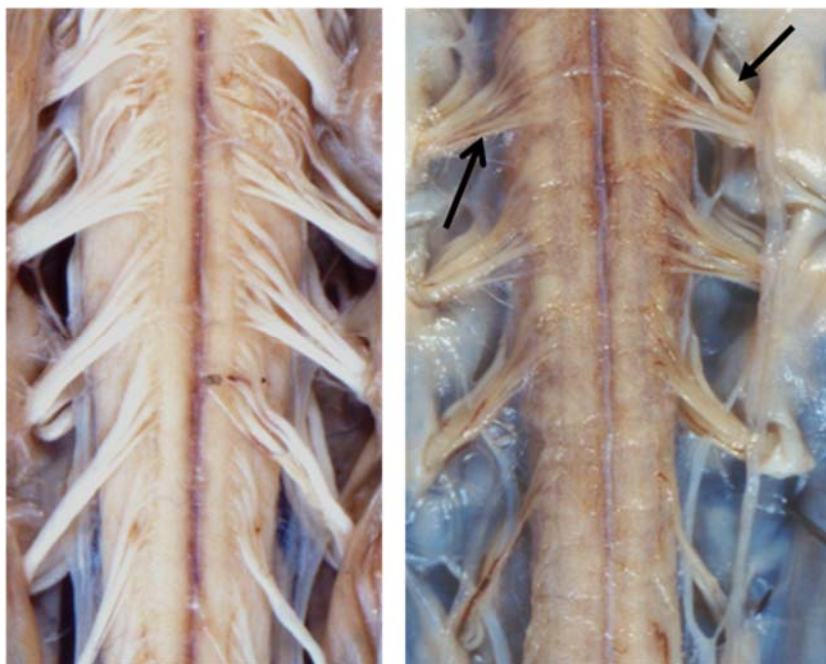
#### **A Fused in Sarcoma (FUS) gén mutációja familiáris amiotrófiás laterális szklerózist okoz**

2003 óta ismeretes, hogy a 16-os kromoszómán egy ALS kódoló gén van (Sapp és mtsai, 2003; Ruddy és mtsai, 2003). A TDP-43 fehérjét kódoló gén mutációja (TARDBP) 2008-as leírása (Sreedharan és mtsai, 2008) után munkacsoportunk a funkcionális és strukturális homológia alapján kandidáns gének listáját állította össze. Ezek között szerepelt a 'Fused in Sarcoma' FUS (ami 'translocated in liposarcoma' (TLS) néven is ismeret). A FUS egy 32 génből álló kandidáns géncsoport tagja volt. A TARDBP mutáció felfedezése után ezt a 32-es csoportot 6-ra szűkítettük, ennek egyike volt a FUS. Egy családi halmozódást mutató ALS minta-kollekcióból izolált DNS-en történt a mutáció analízis (Vance és mtsai, 2009a). Ennek eredményeként egy arginin-cisztein



4. ábra. FUS immunhisztokémia. Változatos alakú és meretű zárványok illetve diffúz citoplazmatikus jelölődés a gerincvelő motoneuronjaiban. (Vance és mtsai, 2009)

szubsztitúciót okozó mutáció igazolódott az 521-es aminosavnak megfelelően, ami ontogenetikailag nagyon konzervált régióban van a fehérje C-terminusához közel. Ez a mutáció mind a 6 ALS-ben szenvedő családtag esetében igazolódott, autoszomalis domináns öröklődési mintázatot mutatva. Egyéb familiáris illetve sporadikus ALS-es betegeknel ez a mutáció nem fordult elő. További négy családban szintén igazolódott



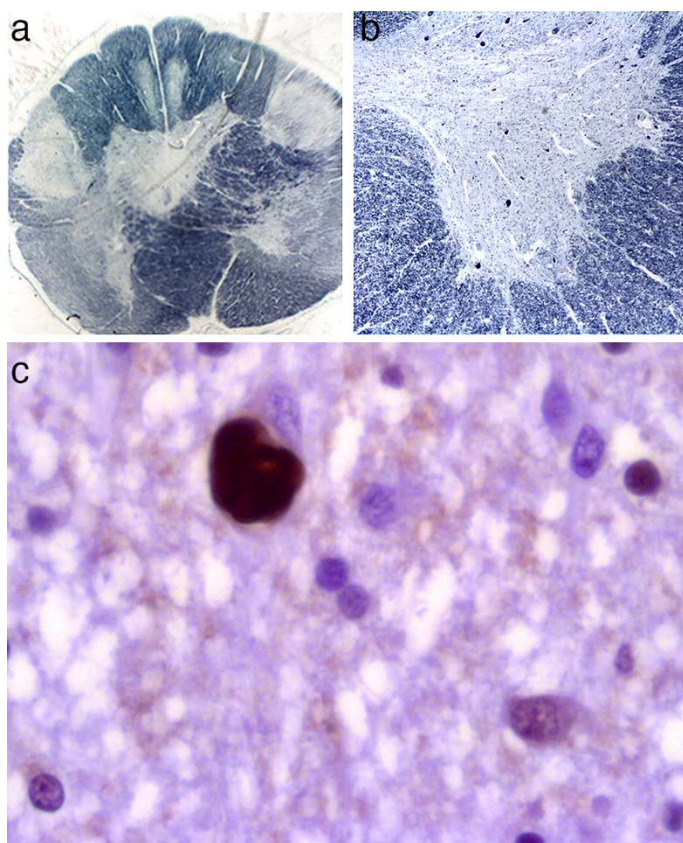
5. ábra. Az egészséges (bal oldalon) és ALS-es (jobb oldalon) gerincvelő cervikális részlete. Az elöl kilépő mozgató idegek vékonyak, a hátsó szenzoros idegek épek. (Hortobágyi és Cairns, 2015)

a fenti R521C mutáció. A további genetikai analízis során egy R521H (arginin-hisztidin szubsztitúció) mutáció is igazolódott két családban, ez is betegség-specifikus mutációnak bizonyult. A harmadik új mutáció az R514G mutáció (arginin-glicin szubsztitúció), ami egyetlen család két tagjában igazolódott. A

kontroll egyedekben sem

igazolódott mutáció, azaz nem egy genetikai variabilitásról van szó, hanem betegséget okozó mutációról. A nagyszámú eset mintáin végzett analízis alapján az összes familiáris ALS (FALS) mintegy 3%-ában igazolódott FUS mutáció. A nemzetközi együttműködés eredményeként összesen 20 FUS mutáns egyed került azonosításra, ezek egyenlő nemi eloszlást mutattak statisztikai szempontból (9 férfi, 11 nő). A betegség kezdetekor (pontosabban a tünetek jelentkezésekor) az életkor átlagosan 44,5 év volt, az átlagos túlélés pedig 33 hónap. A betegség az esetek többségében a cervikális spinális szegmentumokban kezdődött (10), 5 esetben lumbáris és 3 bulbáris kezdetű eset igazolódott (ezekről állt rendelkezésre adat a betegség kezdeti vonatkozásában). Fontos és érdekes lelet, hogy egyik beteg sem volt demens illetve





6. ábra. A gerincvelő szövettana ALS-FUS esetében. A laterális kortikospinális pályák mielinvesztése (a), a mellő szárban neuronpusztulás (b) és FUS-pozitív neuronális citoplazmatikus zárvány látszik. (Hortobágyi és Cairns, 2015)

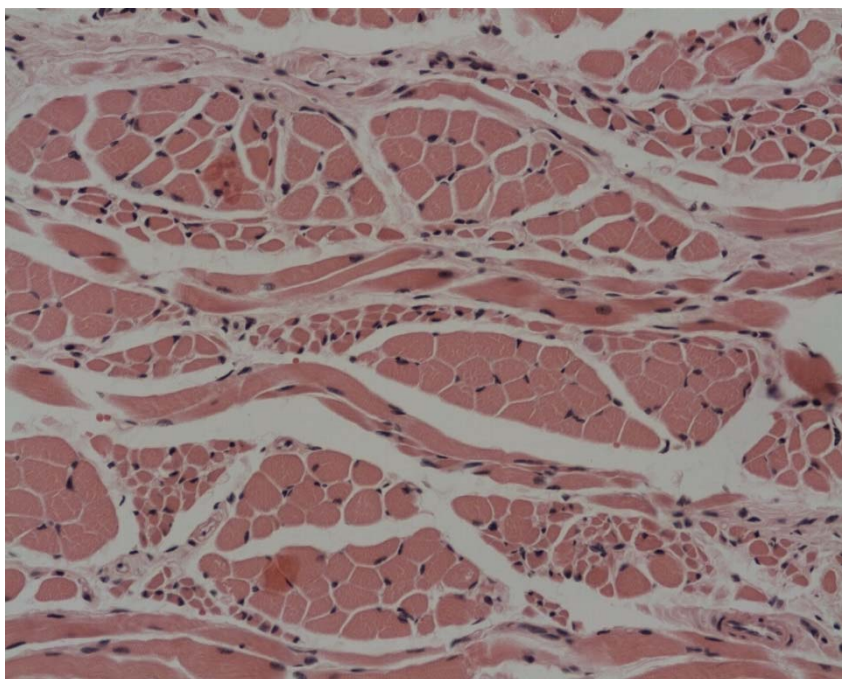
mutatta kognitív deficit jeleit (azaz a FUS mutáns ALS esetekhez nem társult klinikailag frontotemporális demencia (FTD/FTLD)).

Összesen 3 esetnek történt a részletes neuropatológiai vizsgálata (4-8. ábrák). Valamennyiben súlyos alsó motoneuron vesztés igazolódott a gerincvelőben és kisebb mértékben az agytörzsi motoros magvakban. A hátsó szarvi (szenzoros) neuronok számbeli csökkenése nem igazolódott. A hátsó fehérállományi pályarendszerekben a gerincvelőben mérsékelt mielin vesztés igazolódott és az egyik eset

súlyos (szekunder) kortikospinális traktus demielinizációt mutatott. A motoros kortexben a felső motoros neuronok pusztulása enyhe, illetve közepes mértékű volt. Ubikvitin és p62 immunhisztokémia gyakran jellegzetes szálcás (skein-szerű) citoplazmatikus zárványt (inklúziót) igazolt a mellősszarvi motoneuronokban, ami a klasszikus ALS jellemzője. Érdekes módon TDP-43 pozitív inklúziók (zárványok) sem a citoplazmában, sem a nukleuszban nem igazolódtak. A FUS ellenes antitest (számos antitest tesztelése eredményeképpen) globózus és elnyúlt, keskeny inklúziók (zárványok)at mutatott a mellősszarvi motoneuronokban a gerincvelőben és emellett disztrófiás neuritek is igazolódtak mindhárom esetben. Ilyen eltéréseket a sporadikus, SOD1 mutáns esetekben illetve a kontroll (normál) egyedek szöveteiben nem észleltünk. A mutáns FUS génnel transzfektált sejtekben (az sejtvonalak ill. primer patkány neuronális sejttenyészetek) az endogén FUS normális nukleáris lokalizációjával

szemben a mutáns gént tartalmazó sejtekben jelentős misz-lokalizáció igazolódott (azaz a sejtmagból a citoplazmába helyeződött át a fehérje). Ezt mind az immunoblot, mind a fluoreszcens immunhisztokémiai jelölések igazolták.

A vizsgálatok érdekes észlelete, hogy a FUS (a TDP-43-hoz hasonlóan) a sejtmagból a citoplazmába helyeződik át, aggregátumokat képez, mely kóros funkciónyerés ('gain of function') vagy funkcióvesztés ('loss of function') révén járulhat hozzá az idegsejt pusztuláshoz. Az immunhisztokémiai eredmények olyannyira hasonlóak a TDP-43 és a FUS vonatkozásában, hogy ha nem ismeretes melyik antitesttel történt a jelölődés, megkülönböztethetetlen a FUS illetve TDP-43 immunhisztokémiai jelölődés mintázata.



7. ábra. A rekeszizom súlyos neurogén atrófiája ALS-FUS-ban. Sorvadt, denervált rostok csoportjai látszanak. (Hortobágyi és Cairns, 2015)

Közleményünk a Google Scholar alapján 2016. júniusában közel 1300 idézettel rendelkezik és a FUS szerepének kutatását célzó vizsgálatok egyik kiindulópontjának tekinthető. Miképpen a TDP-43 proteinopátiák önálló csoportot alkotnak a neurodegeneratív

betegségeken belül, úgy a FUS kóros fehérje aggregátumait tartalmazó esetek, mint FUS-opátiák (magyarul élőszóban inkább, mint FUS-proteinopátia) említendőek.

A vizsgálatokhoz a genomikus DNS perifériás vérből származott. A FUS gén valamennyi 15 exonja PCR reakcióval került amplifikálásra és a szekvenáláshoz oligonukleotid primereket használtak. Az amplifikált exonok direkt szekvenálását az Applied Biosystems szekvenálóján történt. A neuropatológiai vizsgálatok fontos aspektusa volt az antitestek validálása, tesztelése. Valamennyi esetből részletes neuropatológiai

analízis történt, tudományos feldolgozáshoz szükséges igényesség és részletesség szerint.

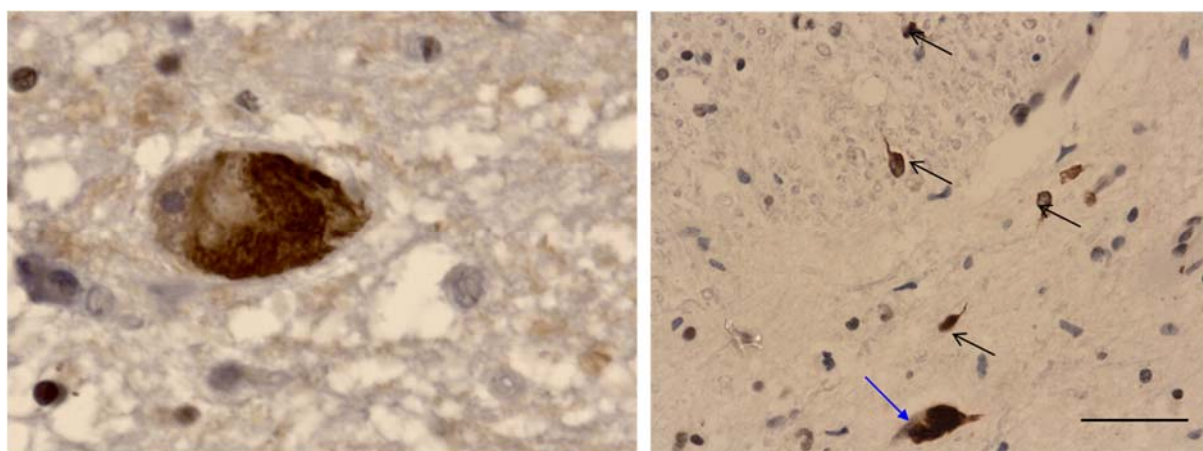
**Az ALS-t okozó FUS mutációk a fehérje nukleáris lokalizációját akadályozzák és elősegítik a vad típusú FUS citoplazmatikus stressz granulomokba történő szekvesztrációját**

Az FUS mutáció kapcsán kialakuló ALS jellemzője a nagy, FUS-immunoreaktív citoplazmatikus inklúziók (zárványok) jelenléte a túlélő motoneuronokban (Cairns és mtsai, 2007; Kobayashi és mtsai, 2010). Feltételezés szerint az e zárványokba szekvesztrált FUS az RNS processzálas zavarát okozza és a neurodegeneratív kaszkád kiindulásának egyik oka lehet (Blitterswijk & Landers, 2010; Zakaryan & Gehring, 2006). Ezen feltételezést támasztottak alá vizsgálataink, melyek elsősorban genetikai, sejtbiológiai módszerekkel vizsgálták a kérdést, de a neuropatológiai vonatkozások is fontos alátámasztást adtak (Vance és mtsai, 2009). Hogyha nukleáris lokalizációs szignált

(NLS)-t

érintő

C-



*8. ábra ALS-FUS. Neuronális és gliális expresszió FUS-pozitív zárványok a gerincvelőben. (Strong, Hortobágyi és mtsai, 2011)*

terminális FUS régiókat érintő mutációkat viszünk be sejtenyészetekbe, az a FUS citoplazmatikus felhalmozódását eredményezi. Hasonló eredményeket találunk, hogyha FUS mutációt szenvedett betegek fibroblasztjait használjuk a vizsgálatainkhoz. Érdekes és fontos eredmény, hogy a FUS lokalizációs zavar ('mislocalisatio') megfordítható, hogyha normális (vad típusú) FUS nukleáris lokalizációs szignál (NLS)-t adunk a mutáns fehérjéhez. Ez igazolja, hogy valóban az NLS és a nukleáris transzport



zavara okozta a kóros elhelyezkedést. További fontos felfedezés volt, hogy az oxidatív stressz fokozza a mutáns FUS citoplazmatikus stressz granulumokban történő felhalmozódását. Továbbá, ennek kapcsán a vad típusú FUS is nagyobb mennyiségben szekvesztrálódik ezekbe a stressz granulumokba. Ez a folyamat RNS függő. Az eredmények alátámasztják azt a korábban felvetett ún. kétlépéses ('two-hit') hipotézist, mely szerint a FUS citoplazmatikus miszlokalizációja az első lépés, amit aztán a celluláris stressz kiváltotta aggregáció és szekvesztráció követ. Mindezek az RNS processzálast olyan mértékben zavarják, hogy a neurodegeneratív folyamat elindulhat. A kérdést Christian Haass müncheni munkacsoportja is vizsgálta, az ő vizsgálataikat (Bentmann és mtsai, 2012; Bentmann, Haass és Dormann, 2013) egészítik ki és támasztják alá a londoni munkacsoport eredményei.

### **A Transzportin-1 (karioferin-béta2) eltérése ALS-FUS és FTLD-FUS-ban különböző patomechanizmusra utal**

A Transzportin-1 (TNPO-1) a nucleo-citoplazmatikus transzportban szerepet játszó, 890 aminosav tartalmú fehérje. Elsősorban a hnRNP (heterológ ribonukleoprotein) transzportban vesz részt; a hnRNP-k RNS kötő fehérjék, ezek közé tartozik a FUS is (Siomi és mtsai, 1997; Pollard és mtsai, 1996; Dormann és mtsai, 2010). Normális körülmények között a FUS a nukleusz és a citoplazma között ide-oda ingázik ('shuttles'), ennek kapcsán fejti ki génexpresszió szabályozó hatását (Zinsner és mtsai, 1997). A FUS a FET protein családba tartozik, melynek a FUS mellett még tagja az Ewing szarkóma (EWS) és a TATA box kötő fehérje asszociált faktor (TAF-15)(Law és mtsai, 2006; Kovar, 2011). A FUS, mely 526 aminosav tartalmú fehérje, a C-terminushoz közel egy ún. nukleáris lokalizációs szignált (NLS)-t tartalmaz, mely a nukleáris importhoz fontos (Lee és mtsai, 2006). A FUS mutáció, mely a familiáris ALS mintegy 3%-áért felelős, döntően ezen az NLS régió fordul elő és emiatt zavarhatja meg a nukleáris importot. Ezt támasztja alá, hogy a C-terminushoz közeli mutációkkal terhelt betegek esetében olyan neuronális citoplazmatikus inklúziók (zárványok) felszaporodását

segítik elő, melyek FUS pozitívak; ez ellentétben van azzal, amit a normál kontroll egyedekben láttunk, ott ugyanis a FUS expresszió döntően nukleáris (Vance és mtsai, 2009). A FUS-pozitív citoplazmatikus és ritkán nukleáris zárványok azonban nemcsak az ALS-ben, hanem a frontotemporális lobáris degeneráció (FTLD) egyes altípusaiban is megfigyelhetők. Ezek a neuronális intermediér filamentum inklúziós betegség (NIFID), a bazofil inklúziós testes betegség (BIBD), és az atípusos FTLD (aFTLD-U) (Neumann és mtsai, 2009). Mindenez felsorolt betegségeket ma már FTLD-FUS-nak nevezzük. Igen érdekes, hogy ezek (szemben az ALS-FUS-sal) nem a FUS gén mutáció kapcsán, hanem sporadikusan alakulnak ki (Mackenzie és mtsai, 2010).

A TNPO-1 az FTLD-FUS betegek agyában a zárványok egyik komponense (Brelstaff és mtsai, 2011). Immunhisztokémia és immunofluoreszcens vizsgálatok igazolták, hogy a TNPO-1 ko-lokalizál a FUS-sal és Western blot kísérletek is megerősítették, hogy az inszolúbilis (jellegzetesen ilyen fehérjék szerepelnek a zárványokban) TNPO-1 az FTLD-FUS esetekben lényegesen nagyobb mennyiségben van jelen, mint a kontroll egyedekében. A TNPO-1 és a FUS nukleáris importjának összefüggését támasztja alá az, hogy kórállapotokban a FUS nagyobb mennyiségben figyelhető meg a stressz granulumokban (Vance és mtsai, 2009) (Dormann és mtsai, 2010), melyek a citoplazmában helyezkednek el. Az itt részletesebben ki nem fejtendő egyéb érvek is amellet szólnak, hogy a FUS citoplazmatikus felhalmozódása, lokalizációs zavara a betegségfolyamat egyik korai fázisa lehet, miként a FUS akkumulációja a stressz granulumokban is. Mindezek alapján éreztük annak fontosságát, hogy a FUS transzport és ennek a TNPO-1-gyel kapcsolatos viszonyát alaposabban vizsgáljuk. Munkánk során a TNPO-1 expresszióját vizsgáltuk az agyban és a gerincvelőben FUS mutáns ALS (ALS-FUS), továbbá FTLD-FUS, sporadikus ALS (SALS) és C9ALS (C9ORF72 mutáció kapcsán létrejövő betegség) esetekben és összehasonlítottuk e betegcsoportokat az egészséges kontrollokban tapasztaltakkal, látottakkal (Troakes és mtsai, 2013).

Kiindulási hipotézisünk az volt, hogy az ALS-FUS esetekben, amikor a FUS gén mutációja áll a betegség kialakulásának hátterében – a mutáció pedig általában a TNPO-1 kötődéséhez esszenciálisan fontos nukleáris lokalizációs szignál (NLS) területét érinti –

a FUS és TNPO-1 nem ko-lokalizál. A nem mutáns esetekben (mint amilyen az FTLD-FUS is) azonban hipotézisünk szerint a FUS és a Transzportin-1 ko-lokalizál.

Megfelelő beteg kiválasztás, szövetizolálás után immunhisztokémiai, fluoreszcens kettős jelöléses és Western blot kísérleteket végeztünk, melyeket kiértékelünk, statisztikai tesztekkel összehasonlítottunk. Eredményeinek alátámasztották a hipotézist és igazolták, hogy az ALS-FUS (FUS mutáció kapcsán kialakuló ALS típus) patomechanizmusában különbözik az FTLD-FUS-tól. A diszkusszióban részletesen kifejtettük, hogy ez arra is utalhat, hogy eltérő patomechanizmus van a frontotemporális demenciával, illetve a motoneuron betegséggel járó FUS-opátia esetében.

### **A humán FUS transzgenikus egér az ALS\_FUS neuropatológiai jellemzőit mutatja**

A FUS mutáció és ALS kapcsolatának leírása (Vance és mtsai, 2009b) alapvetően hozzájárult a neurodegeneratív betegségek új patológiai csoportja, a FUS proteinopátia létrejöttéhez. A humán neuropatológiai, sejtbiológiai, biokémiai vizsgálatok mellett a transzgenikus egerek neuropatológiai és más módszerű tudományos analízise szolgálhat fontos adatokkal a betegség mechanizmusa vonatkozásában. Munkacsoportunk humán vad típusú FUS gént 'overexpresszáló' egértörzset hozott létre, mely a humán motoneuron betegség számos jellemzőjét mutatta (Mitchell és mtsai, 2013). Az állatok korai kezdetű progresszív alsó végtagi (hátsó végtagi) bénulást mutattak és kb. 12 hetes korukig elpusztultak. A FUS mutáns humán ALS-es esetek is relatíve fiatalabb életkorban kezdődnek, mint az ALS többi formája; a modell ebből a szempontból is hasonlít a humán FUS mutáció, illetve FUS proteinopátia kapcsán kialakuló ALS-hez. Az állatokban a gerincvelői mellső szarvi nagy motoneuronok súlyos fokú vesztesége igazolódott, mely perifériás denervációval járt, amit neurofiziológiai módszerekkel is igazolni lehetett. Fokális, jelentős mértékű izomatrófia is létrejött. A viszonylag kevés túlélő gerincvelői motoneuron a citoplazmában nagymértékben emelkedett FUS tartalmat mutatott és (ami még érdekesebb), globuláris vagy szálcsás

FUS-pozitív és ubikvitin-negatív zárványokat tartalmaztak. Emellett jelentős asztro- és mikroglialis reaktivitás is kialakult. Ezen eltérések is alapjaiban hasonlítanak a humán FUS-opátia ALS eseteiben látottakhoz. A citoplazmatikus FUS-pozitív inklúziók (zárványok) nemcsak a gerincvelőben, hanem az agyban is kimutathatók voltak, de itt nagyfokú neuronvesztés nem jött létre és a reaktív asztro- ill. mikroglialis aktiváció is minimális volt. Mindezen fent leírt elváltozások a homozigóta transzgenikus egerekre voltak jellemzőek. A hemizigóta FUS overexpresszáló egerekben, érdekes módon, nem volt ALS-re jellemző motoros fenotípus és patológia. Ezen vizsgálatok arra utalnak, hogy mutáció csak az egyik oka a FUS-hoz kapcsolódó ALS kialakulásának. A normális FUS fehérje nagyfokú expressziója szintén olyan folyamatokat indít be, mely ALS fenotípust eredményez. Ennek hátterében állhat a nagy mennyiségű fehérje intracelluláris feldolgozásának, lebontásának képtelensége. Az ilyen kóros fehérje nagyfokú felhalmozódása az ubikvitin-proteasóma rendszer (UPS) túlterhelésével járhat; továbbá, a FUS köthet olyan fehérjéket, melyek komplexet képezve normális funkciójukat már nem tudják betölteni a sejtben, ezáltal okozva a motoneuron funkcióvesztést illetve pusztulást. Érdekes módon, a másik jelentős (jelentősebb) ALS-proteinopátiában, az ALS-TDP esetében a normális (vad típus) gént illetve fehérjét expresszáló egerek szintén betegség jeleit mutatták (noha nem olyan kifejezett mértékben, mint a most ismertetett ALS-FUS modellben).

Az állatkísérletes modellünkben észlelt eredmények összhangban vannak a más betegségmodellekben látottakkal. Például a vad típusú FUS overexpressziója dózis-dependens toxicitást eredményez élesztő gombatenyészeteken (Fushimi és mtsai, 2011; Ju és mtsai, 2011), apoptotikus sejpusztulást indukál humán prosztatarák sejtvonalon (Brooke és mtsai, 2011). A *Drosophila* modellben a vad típusú FUS overexpressziója dózis függően csökkenti az élettartamot (Miguel és mtsai, 2012), a lokomóció zavara jön létre, a motoneuronokban valamint a neuromuszkuláris junkcióban morfológiai eltérések mutatkoznak (Chen és mtsai, 2011). Patkány modellben az R521C ALS-t okozó FUS mutáció overexpressziója súlyos motoros fenotípust eredményez és az állatok 10 hetes korukig elpusztulnak. Ez a

neuromuszkuláris junkció károsodásával és mintegy 10%-os neuronvesztéssel járt (Huang és mtsai, 2011).

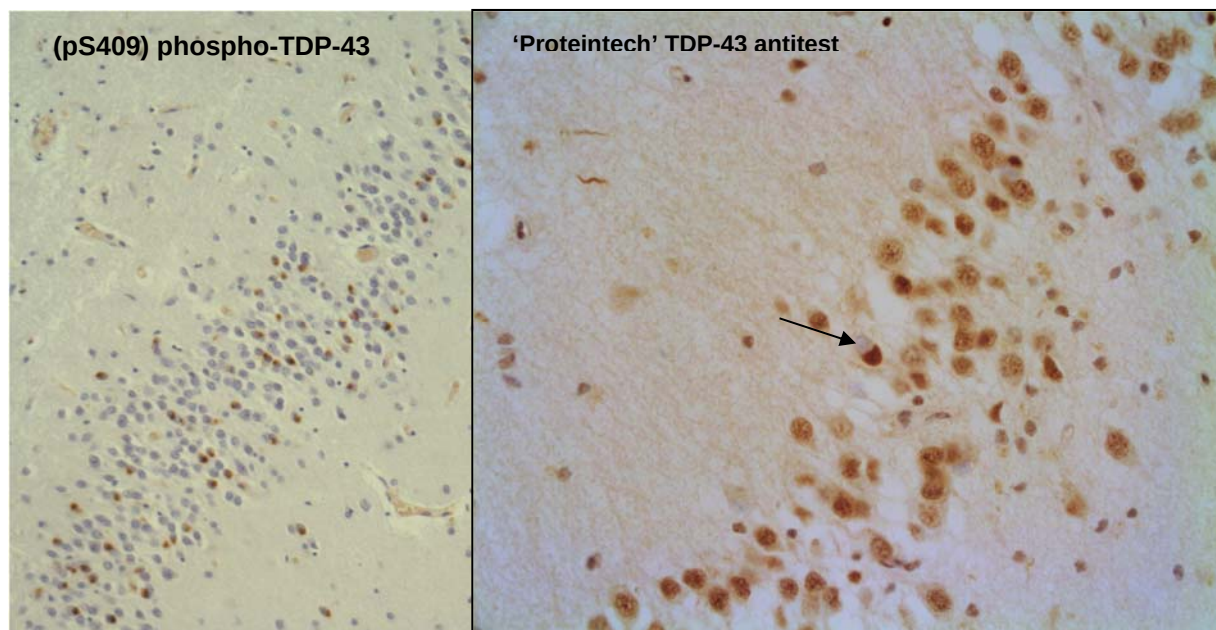
A mi, humán FUS-t overexpresszáló, egér modellünk, mint fentebb említettük, számos hasonlóságot mutat a vad típusú TDP-43-at overexpresszáló modellhez (Xu és mtsai, 2010). Abban is a testsúly gyarapodás csökkenése, motoros diszfunkció, tremor jelentkezik. Mivel mind a TDP-43, mind a FUS 'ALS-fehérje', a hasonlóságok indirekt módon arra utalnak, hogy az RNS-processzálas nagyon fontos mechanizmusa az ALS kialakulásának.

## **VIZSGÁLATOK TDP-43 PROTEINOPÁTIÁKBAN**

### **A TDP-43 citoplazmatikus misz-lokalizációjának hátterében a nukleáris import zavara (is) áll**

Az TDP-43 proteinopátiák (melynek két fő komponense az amiotrófiás laterális szklerózis (ALS) és a frontotemporális demenciák egyik csoportja (Neumann és mtsai, 2006a; Kwong és mtsai, 2008), az FTLTDP-43) jellemzője, hogy a normálisan nukleáris lokalizációjú TDP-43 fehérje a sejtmagból „eltűnik” (azaz itt nem detektálható) és a citoplazmában zárványokat, aggregátumokat képez, ill. diffúz eloszlásban felszaporodik (Ayala és mtsai, 2008). A TDP-43 mutáció okozta kórállapotokban (ami TDP-43 proteionopátiák csak nagyon kis százalékában fordul elő) (Sreedharan és mtsai, 2008a) szintén jellemző ez az ún. citoplazmatikus misz-lokalizáció (Barmada és mtsai, 2010; Winton és mtsai, 2008)(9. ábra). Ugyanakkor a kérdés nyitva maradt, hogy mi az oka annak, hogy a TDP-43 proteinopátiás esetek maradék, túlnyomó többségében a nem mutáns (azaz vad típusú) TDP-43 is a citoplazmában halmozódik fel. A mutáns esetekben lehet(ne) azzal érvelni, hogy a mutáns fehérje nukleusz és citoplazma közötti transzportja zavart szenvedhet, de a vad típusú fehérje esetében is fennáll ez, akkor valószínűleg nem a fehérje strukturális elváltozásának a következménye (Benajiba és mtsai, 2009) mindez. Ezek alapján gondoltunk arra, hogy azon mechanizmusokat

vizsgáljuk, melyek a TDP-43 nukleusz és citoplazma közötti transzportjában jelentősek. Munkánkban (Nishimura és mtsai, 2010) azon faktorokat igyekeztünk feltérképezni, amelyek a TDP-43 citoplazmából sejtmagba történő importjában szerepet játszanak (Sorokin és mtsai, 2007); a fehérje ugyanis a citoplazmában szintetizálódik, majd a magba jutva, döntően ott fejt ki hatását, mint az RNS processzáls egyik fontos regulátora, valamint más fontos nukleáris funkciók ellátója (Choi és Dreyfuss, 1984).



9. ábra. A TDP-43 citoplazmatikus lokalizációja a hippocampus fascia dentata részletében FTLD-TDP-ben. A bal oldali ábrán a kizárólag a kóros fehérjét jelölő antitesttel végzett reakció, a jobb oldali ábrán a kóros és normális fehérjét egyaránt jelölő antitesttel végzett reakció látható. Nyíl jelzi a kóros (citoplazmatikus zárványt képző) fehérje aggregátumot.

Humán neuroblasztóma sejttenyészetben 82 nukleáris transzport funkciójú fehérje ellen képeztünk siRNS konstruktokat és vizsgáltuk, hogy mely nukleáris transzport fehérjék ellen képzett siRNS-ek esetében halmozódott fel a citoplazmában a TDP-43. Ezen, szkrínelésnek is nevezhető folyamat eredményeként 5 transzport fehérje felhalmozódását észleltük az NUPL-1, NUP-62, NUP-54, a CAS és a Karioferin-Béta1. E fehérjék egy része korábban is ismert volt, mint fontos nukleáris transzport fehérjék (Kodiha és mtsai, 2008; Lee és mtsai, 2006). A további vizsgálatokban ezen öt fehérje szerepére fókuszáltunk a TDP-43 proteinopátiákban. A glutation S-transzferáz „pull-down” esszéiben a Karyopherin-Béta1 szelektíven kötődött a TDP-43-hoz, tovább

erősítve a feltételezésünket, hogy ennek a fehérjének a TDP-43 megváltozott citoplazma-nukleusz irányú transzportjában szerepe lehet. A másik fehérje a CAS ('cellular apoptosis susceptibility' fehérje) szerepét a „pull down” esszé egyértelműen nem bizonyította, de ennek jelentősége mellett szól, hogy FTLD-TDP-s betegek agyában ez extrém módon csökkent expressziójú volt az agyszövetben, melyek mind a Western blot mind az immunhisztokémiai vizsgálatok megerősítettek. Ezt a különbséget ugyan nem észleltük ALS gerincvelői mintáiban, ami utal arra, hogy az FTLD-TDP és az ALS-TDP a nagyon sok hasonlóság mellett különbözőségeket is mutat, például a TDP-43 citoplazmatikus misz-lokalizációja vonatkozásában is. A többi fehérje szerepét azért nem vizsgáltuk, mivel ezek nem esszenciális részei az ún. nukleáris pórus ('pore') komplexumnak, így ezek feltehetően nem játszanak specifikusan fontos szerepet a TDP-43 proteinopátiákban. Természetesen ezek további vizsgálata is érdekes kérdés, erre azonban a rendelkezésre álló erőforrások, idő miatt sem került sor vizsgálataink keretében. Eredményeink megerősítették, hogy a citoplazma és nukleusz közötti TDP-43 transzportban szerepet játszó fehérjék funkciózavara fontos tényező lehet e betegségcsoport patogenezisében.

### **A TDP-43 patológia és a tau hasítás zavarai (mis-splicing) nem mutatnak összefüggést Alzheimer-kórban**

Ismeretes, hogy az Alzheimer-kóros esetek mintegy 20-30%-ában TDP-43 patológia is kimutatható. Ez döntően a hippokampuszra és az entorinális kortexre lokalizálódik (Arai és mtsai, 2009). Mivel a TDP-43 döntően nukleáris fehérje, mely az RNS hasításban ('splicing'), stabilitásban fontos szerepet játszik és nagy számú gén expresszióját befolyásolja, citoplazmatikus miszlokalizációja és aggregációja hozzájárulhat az Alzheimer-kór patogeneziséhez is (legalábbis azokban az esetekben amikor az Alzheimer-kór jellegzetes tau és béta-amiloid patológiájához TDP-43 patológia is társul (Schraen-Maschke és mtsai, 2008; Leroy és mtsai, 2006)). Ez azáltal is bekövetkezhet, hogy közvetve vagy közvetlenül a tau hasítás zavarait (mis-splicing)

eredményezi, illetve a fehérje expresszióját befolyásolhatja. Mivel a tau 10-es exon (E10) mis-splicing-ja patogén lehet Alzheimer-kór vonatkozásában, összehasonlítottuk olyan Alzheimer-kóros betegek agymintáit, melyekben TDP-43 patológia előfordul, illetve nem fordul elő. A neuropatológiai vizsgálatok mellett a tau expresszióját és a splicing jellemzőit vizsgáltuk. A vizsgálatokhoz kontroll (neurológiai illetve pszichiátriai betegségben nem szenvedők) agyszövetét is használtuk. Eredményeink azt igazolták, hogy a tau splicing a 10-es exon vonatkozásában nem mutat különbséget olyan Alzheimer-kóros esetek között, melyekben van, illetve nincs járulékos TDP-43 patológia. Érdekes további adat volt, hogy határértéki szignifikanciát találtunk a 4R tau emelkedése vonatkozásában az összes Alzheimer-kórost vizsgálva a kontrollokkal szemben (Niblock és mtsai, 2016). A közleményhez kapcsolódott az első szerző Michael Niblock PhD értekezése, mely sok neuropatológiai vizsgálati eredményt is tartalmaz. Ezen további neuropatológiai eredmények külön közleményként történő publikálása terveink közt szerepel.

Eredményeink összegezve azt igazolják, hogy noha a TDP-43 RNS-t reguláló funkciója zavart szenvedhet azokban az Alzheimer-kóros esetekben, ahol TDP-43 pozitív inklúziók (zárványok) illetve egyéb TDP-43 patológiai eltérések vannak, a TDP-43 nem játszik döntő szerepet a tau hasítás illetve expresszió regulációjában. Amennyiben a TDP-43 patológia hozzájárul a klinikai tünetekhez vagy patomechanizmushoz ezen Alzheimer-kóros esetekben, az nem a tau splicing illetve expresszió regulációja általunk vizsgált aspektusain keresztül valósul meg.

### **Az optineurin szerepe neurodegeneratív kórképekben**

Az optineurin (OPTN) egy ubikviter 67 kDa-os citoplazmaticus fehérje, ami az agyban, retinában, harántcsíkolt izomban kifejezett expressziót mutat (Rollinson és mtsai; De Marco és mtsai, 2006). Fontos szerepet játszik az NF-kappaB szignál transzdukciós útvonal regulációjában (Sudhakar és mtsai, 2009), a membrán transzportban (Huber és



mtsai, 1993) és exocitózisban és számos transzkripció faktorral mutat interakciót (Moreland és mtsai, 2000), továbbá kötődik a glutamát receptorhoz (Anborgh és mtsai, 2005). Az optineurin ritka 'missens' mutációi a POAG-nek is nevezett (Park és mtsai, 2010) hereditár primer „open angle” glaukómában ismertek (Rezaie és mtsai, 2002) és mutációk a csont Paget betegségével is kapcsolatba hozhatók. 2010-ben egy familiáris ALS-ban szenvedő japán családnál először a 10-es kromoszóma egyik régióját sikerült azonosítani, ahol a későbbiekben homozigóta pontmutációt igazoltak (Chung és mtsai, 2010). Ezek után nagyszámú familiáris és sporadikus ALS eset genetikai vizsgálatával újabb mutációt sikerült igazolni (E478B) (a korábbi mutáció Q389X volt, aminosav cserét eredményezve) (Maruyama és mtsai, 2010). Ezen mutációkat kontroll esetekben, illetve glaukómás esetekben nem sikerült igazolni, azaz patogén mutációknak tarthatók. Ez tehát igazolta, illetve még inkább alátámasztotta, hogy e mutációk az ALS okozói. Így 2010-ben az addig ismert ALS okozó gének (SOD1, ANG, TARDBP, FUS, VAPB) után az OPTN is felkerült az ALS-gének listájára. A 2010-ban a Nature-ben megjelent publikációban egyetlen familiáris ALS esetet vizsgáltak neuropatológiailag, melyben az E478 mutáció igazolódott (Maruyama és mtsai, 2010). Anti-optineurin antitestekkel intracitoplazmatikus neuronális inklúziók (zárványok)at sikerült igazolni a gerincvelő motoros neuronjaiban. A szerzők sporadikusan ALS-ben és SOD1 mutáció kapcsán kialakuló familiáris ALS-ben is találtak ilyen inklúziók (zárványok)at, valamint fokozott diffúz citoplazmatikus immunopozitivitást. Ezzel szemben a kontroll esetekben a mellő szarv motoneuronokban nem voltak inklúziók (zárványok) és a citoplazmatikus optineurin szintje is alacsony volt.

Részletes klinikopatológiai vizsgálatunkban (Hortobagyi és mtsai, 2011) az optineurin mennyiségét, eloszlását, sejttípuson belüli lokalizációját, a protein jellemzőit vizsgáltuk immunhisztokémiai és biokémiai (Western blot) módszerekkel. Nemcsak ALS-es esetekben, hanem a neurodegeneratív proteinopátiák gyakorlatilag teljes spektrumát felölelő számos kórképben is kutattuk az optineurin jellemzőit.

Anyag és módszerek: agy illetve gerincvelő mintákat vizsgáltunk szövettanilag, paraffinba ágyazott (FFPE) mintákon. A Western blothoz az arra alkalmas fagyasztott

mintákat használtunk fel. Az esetlista a következő betegségeket reprezentálta: sporadikus ALS, familialis ALS (SOD1, ill. FUS mutációval), FTLD-TDP, FTLD-tau (beleértve Pick betegséget is), PSP, CBD, taugén (MAPT) mutáció okozta FTLD-tau, FTLD-FUS, Alzheimer-kór, DLB, Huntington betegség, spinocerebelláris ataxia III-as típus (SCA III. vagy Machado-Joseph betegség). Emellett természetesen kontroll eseteket is használtunk, ahol neurológiai betegségekre utaló klinikai adatok vagy neuropatológiai elváltozások nem voltak. A megfelelő szöveti integritás biztosítása érdekében a fagyasztott minták esetében a pH az elfogadható tartományban volt valamennyi kiválasztott esetben.

A betegek illetve a kontroll esetek demográfiai adatait (életkor, nem, halálok stb.) közleményünk első szupplementer (S1) táblázatában foglaltuk össze.

A neuropatológiai feldolgozás és klasszifikáció a BNE ajánlások, illetve a legfrissebb publikációk figyelembe vételével történt. Az immunhisztokémiai expressziót szemikvantitatív módon analizáltuk és a megfelelő statisztikai tesztek alkalmaztuk (részletek a közleményünkben szerepelnek).

Szöveti microarray (TMA) vizsgálata is történt az esetek jelentős részéből, párhuzamosan a standard méretű szövettani blokkok analízisével. A TMA alkalmazása az antitestek optimalizálása szempontjából is fontos volt. A vizsgálatokhoz 5 féle anti-optineurin antitestet vizsgáltunk, ugyanis a munka egyik fő aspektusa a megfelelő antitest, illetve annak megfelelő immunhisztokémiai protokolljának a meghatározása illetve megtalálása volt. Emellett az egyéb neurodegeneratív proteinopátiák detektálására alkalmasak standard egyéb antitesteket is használtuk (tau, TDP-43, FUS, poliglutamin, alfa-szinuklein). Az általános cerebrális proteinopátia marker ubikvitint és p62 is vizsgáltuk. A különböző anti-optineurin antitestek a fehérje különböző régióhoz kötődtek, így vizsgálatunk tulajdonképpen egyfajta epitóp-feltérképezésnek is megfelelt.

Nagy hangsúlyt fektettünk arra is, hogy jelentős számú, megfelelően kiválasztott agyi régiót vizsgáljunk a különböző betegségekben. Így a kiválasztott betegségekre

jellegzetes régiókon (mint például a nukleusz kaudátusz Huntington betegségben, hippokampusz Alzheimer-kórban, a cerebellum SCA-ban) olyan régiókat is vizsgáltunk, melyek nem, illetve kevésbé súlyosan érintettek a vizsgált kórképekben. Ez is egyik aspektusa volt az optineurin fehérje expressziós mintázat analízisének.

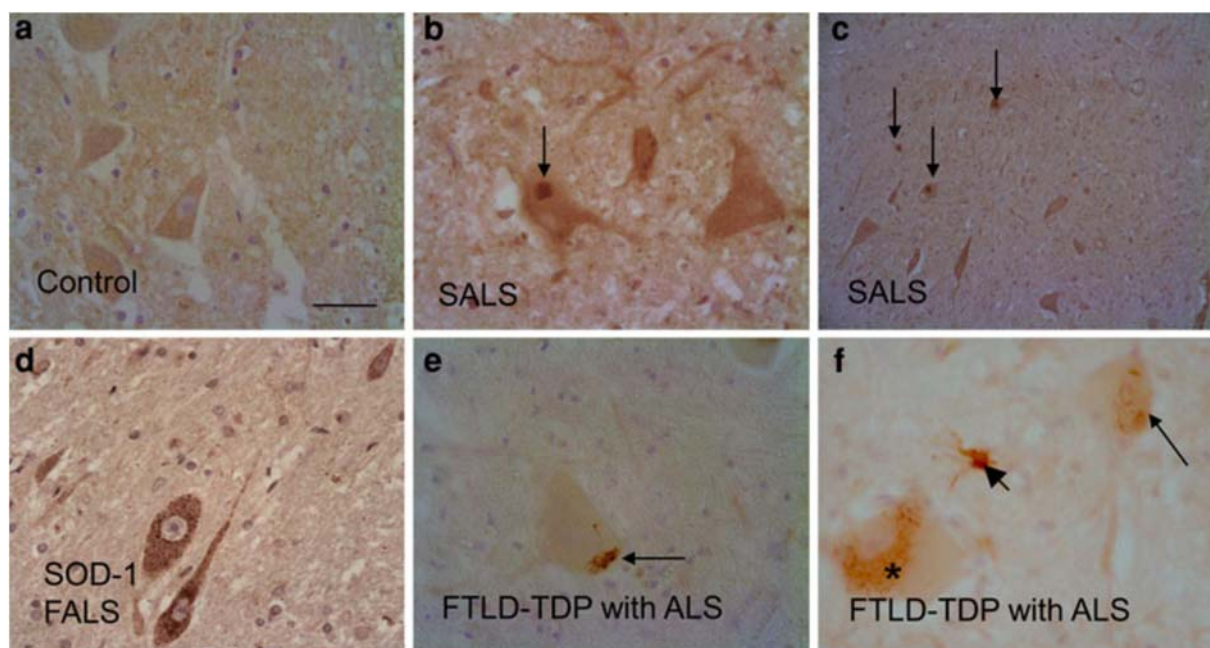
Jelentős számú kettős jelöléses vizsgálatot is végeztünk immunhisztokémiai módszerekkel. Ennek célja, értelemszerűen, annak vizsgálata volt, hogy az optineurin milyen egyéb proteinopátiában releváns fehérjékkel expresszálódik együtt, illetve mutat együttes aggregációt (ko-aggregáció) vagy biokémiai jellegű fehérje-fehérje kapcsolatot. Ahol volt kettős jelölés, ott kvantitatív analízist is végeztünk. Ehhez több, mint 500 sejtet vizsgáltunk minden esetben és az egyes illetve kettős jelölt sejtek százalékos arányát határoztuk meg.

A biokémiai vizsgálatainkhoz (Western blot módszerrel) fagyasztott mintarészleteket használtunk. Mint korábban említettük, a szöveti integritás megfelelő mértékét biztosítandó csak olyan mintákat használtunk, ahol a pH az irodalomban elfogadott tartományban volt, illetve a posztmortem idő is lehetőleg 24 órán belüli volt. A kontroll csoportként vizsgált esetek a szöveti integritás szempontjából is statisztikailag hasonlóak voltak a betegcsoporthoz, ugyanis ezeket ennek megfelelően szelektáltuk és állítottuk össze.

A gerincvelői minták esetében mikrodisszekcióval távolítottuk el a mellső szarvat, ahol a motoneuronok helyezkednek el. Azért alkalmaztuk ezt a módszert, mert egyébként feltételezéseink szerint a motoneuronok csak olyan kis számban lettek volna reprezentálva a mintában, hogy a motoneuron-specifikus expresszió detektálásához az alkalmazott módszerek szenzitivitása nem lett volna megfelelő. A Western blot vizsgálat eredményeit kvantifikáltuk. Neuronális markerként béta-3 tubulint és általános sejtmarkerként Hiszton-3 (H3) mennyiségi vizsgálatát is elvégeztük; a vizsgált fehérje (optineurin) expresszióját az általános fehérje szint illetve sejt-denzitás (sejtszám) vonatkozásában is elemeztük. Így megelőzhető, illetve jobban kiküszöbölhető, hogy olyan 'fals negatív' eredményeket kapjunk, amelynek oka nem az

expresszió csökkenése, hanem a neuronszám redukciója. Ezen megközelítési mód gyakran alkalmazott neurodegeneratív illetve egyéb, jelentős sejtpusztulással járó betegségek biokémiai vizsgálatakor. Megfelelő statisztikai teszteket alkalmaztuk (részleteket lásd közleményünkben).

Eredmények: Az öt vizsgált optineurin ellenes antitest közül a zárványok (inklúziók) kimutatására legalkalmasabb a nyúlban termelt poliklonális antitest, melyet a teljes optineurin fehérje ('full length') ellen termelt antitest. Ez az antitest kereskedelmi



10. ábra. OPTN immunhisztokémia a gerincvelőben kontroll, sporadikus ALS (SALS), SOD-1 mutáns familiáris ALS (FALS) és ALS-sel társuló FTLD esetén. Zárványok és diffúz citoplazmatikus jel látható a neurodegeneratív kórképekben. (Hortobágyi és mtsai, 2011)

forgalomban elérhető, a Sigma cégen keresztül (HPA 3360 számon). Az OPTN-C és OPTN-I antitestek (melyeket a 2010-es Nature közleményükhöz (Maruyama és mtsai, 2010) szintén elfogadható eredményt ad a kerek illetve a szálcsás inklúziók (zárványok) kimutatására, mind a gerincvelői motoneuronokban, mind az agyi kimetszésekben. Ezekkel az antitestekkel a kontroll (neurológiailag egészséges) egyedekből származó kimetszések diffúz, általában gyenge, citoplazmás neuronális jelölődést mutattak, inklúziók (zárványok) nélkül (10. ábra). Noha az inklúziók (zárványok) kimutatására a Sigma antitest volt a legmegfelelőbb, összehasonlító elemzésünk szerint az optineurin citoplazmatikus jelölődés-intenzitásának vizsgálatára az OPTN-C és az OPTN-I

antitestek jobbnak bizonyultak a többinél, beleértve a Sigma cég forgalmazta antitestet is.

Eredményeinket röviden összefoglalva kiemeljük, hogy az optineurin immunopozitív zárványok a sporadikus ALS esetek 34%-ában és FTLD-TDP esetekben közel hasonló mértékben (33%-ban) igazolódtak. Familiáris ALS-ben (SOD1 illetve FUS mutáció kapcsán) optineurin-pozitív zárványokat nem észleltünk, miként FTLD-FUS esetekben sem. Kiszámú Alzheimer-kóros esetben kevés optineurin-pozitív inklúziót találtunk, de ezek nem ko-lokalizáltak sem a kóros tau, sem a kóros TDP-43 fehérjével, azaz patogenetikai jelentőségük kérdéses. Érdekes módon, melyet későbbi, mások által végzett kutatások is megerősítettek, Huntington-kór esetén is észleltünk eltérést az optineurin immunhisztokémiai expressziójában mégpedig szemcsés (granuláris) immunopozitivitás formájában. Egy másik, mozgási zavarral járó neurológiai kórkép, az SCA3 esetében hasonlót nem észleltünk. Optineurin-pozitív zárványokat egyáltalán nem észleltünk FTLD-tau és egyik alfa-szinukleinopátia esetében sem.

A biokémiai (Western blot) vizsgálatok az FTLD-TDP betegek agyában és a sporadikus ALS betegek gerincvelőjében a kontrollokhöz képest csökkent optineurin szintet igazoltak. Ez azonban korrelált a jelentős mértékben csökkent neuron számmal, azaz nem jelent valós csökkenést a túlélő neuronok vonatkozásában.

Miként az egyéb neurodegenerációban érintett kóros fehérjék vonatkozásában ismeretes, az optineurin vonatkozásában is észleltünk gliális (elsősorban oligodendrogliális) optineurin-pozitív inklúziók (zárványok)at, továbbá az intracitoplazmaticus neuronális zárványokon kívül disztrófiás neuritekben is több helyen erős optineurin expresszió mutatkozott. Ez egybecseng az egyéb kóros fehérjék vonatkozásában látottakkal, például a kóros (hiperfoszforilált) tau is jelentős disztrófiás neurit, illetve neuropil fonal expressziót mutat a klasszikus neurofibrilláris kötegek jelenlétén túl; ugyanez megállapítható az alfa-szinuklein, TDP-43 vonatkozásában is.

A TDP-43 és Optineurin immunfluoreszcens ko-lokalizációs vizsgálata alapján megállapíthatjuk, hogy az Optineurin-pozitív struktúrák csak nagyon ritkán ko-

lokalizálnak a kóros TDP-43-mal (a kóros TDP-43 kimutatására ún. foszforiláció-specifikus (pTDP-43) antitesteket alkalmaztunk). Ezt a kvantitatív analízis, melyet statisztikai vizsgálat követett, szintén megerősítette.

Az Optineurin-pozitív inklúzió agyi, illetve gerincvelői jelenléte nem mutatott korrelációt a klinikai fenotípus, betegségstartam, demográfiai jellemzők valamelyike vonatkozásában a statisztikai analízis szerint. Megemlítendő azonban, hogy azon betegek, melyekben optineurin pozitivitást találtunk hosszabb túlélést mutattak ( $p=0,08$  statisztikai értékkel, azaz közel szignifikáns eredményt találtunk). Megjegyezzük, hogy a szöveti integritást jelző faktorok (azaz posztmortem károsodás mértékére utaló változók), úgymint a szöveti pH és a posztmortem idő, érdemben nem befolyásolta az Optineurin immunoreaktivitást.

A biokémiai (Western blot) vizsgálatok, (mint fentebb írtuk) a kontrollhoz képest csökkent szintet mutattak, mely a neuronszám csökkenésével összefüggésbe hozható és annak következményének tartható.

Vizsgálatainkat összegezve megállapítható, hogy az Optineurin-pozitív inklúziók (zárványok) relatíve ritkák és a TDP-43 proteinopátiák közé tartozó ALS és FTLD-TDP esetek kis részére szorítkoznak. Eredményeinket a neurodegeneratív betegségek széles skálájának vizsgálatára alapozzuk. Mindez nem támogatja azt a korábban tett feltevést (melyet az OPTN mutáció kapcsán a japán szerzők posztuláltak), hogy az Optineurin és az Optineurin-tartalmú zárványok központi szerepet játszanak az ALS patogenezisében, miként a rokon kórképek (úgymint FTLD-TDP) és egyéb neurodegeneratív kórképek vonatkozásában sem igazolódott ez. Mi lehet akkor az oka, hogy az Optineurin mutáció motoneuron betegséget okoz? Erre biztos válasz még nem adható. Lehetséges azonban, hogy az ALS-ben detektált mutáció a protein transzportban játszik szerepet (Park és mtsai, 2010), a kóros protein transzportálás (trafficking) pedig ismert patomechanizmusa a motoneuron betegségnek. Ugyanakkor az is ismeretes, hogy az optineurin szintet egyéb faktorok is befolyásolják, úgymint a magas proinflammatorikus citokin szint, (Tezel, 2008) – ennek ALS-ben szintén ismert az

upregulációja. Vizsgálataink azt is igazolták, hogy a optineurin-pozitív inklúziók (zárványok) ubikvitiniláltak. Ez nem meglepő, mivel az optineurinnak poliubikvitin kötő régiója van (Zhu és mtsai, 2007). Vizsgálatainkat követően számos, az optineurin szerepét vizsgáló munka történt, ezek megerősítették, hogy az optineurin nem játszik olyan központi szerepet a neurodegeneratív kórképek (különös tekintettel az ALS és a FTLD-TDP-re) vonatkozásában, mint a fő neurodegeneratív proteinopátia fehérjék (úgy, mint tau, alfa-szinuklein, Béta-amiloid, TDP-43, FUS, poliglutamin).

### **A TDP-43 RNS kötőhelyeinek és az RNS hasítás (splicing) szabályozásban játszott szerepének vizsgálata**

A TDP-43 központi szerepe a neurodegeneratív kórképekben 2006-ben Neumann ill. Arai párhuzamosan megjelent közleményei alapján vált ismertté és forradalmasította a neurodegeneratív betegségek kutatását, csoportosítását (Arai és mtsai, 2006)(Neumann és mtsai, 2006a). A TDP-43 döntően nukleáris fehérje, amelynek már korábban ismert volt a transzkripciót, az alternatív hasítást (splicing) és az RNS stabilitást befolyásoló szerepe (Buratti és Baralle, 2008; Kuo és mtsai, 2009). A TDP-43-nak két RNS felismerő motívum (RRM) doménja van, melyek nagy affinitással kötnek ún. UG-gazdag szekvenciákhoz (Buratti és Baralle, 2001). A TDP-43 misz-lokalizációja (azaz a nukleusból a citoplazmába történő „áthelyeződése”) az ALS és a FTLD patogenezisének fontos lehetséges faktora (Buratti és mtsai, 2010). TDP központi szerepét a mutáció kapcsán kialakuló familiáris ALS illetve ritkán FTLD is igazolja (Sreedharan és mtsai, 2008b). Az továbbra sem tisztázott, hogy a TDP-43, mely e betegségekben citoplazmatikus zárványokat képez, toxikus funkciónyerés révén vagy pedig a normál funkció elvesztése miatt (gain of function ill. loss of function) okozhatja a neuron pusztulást illetve a neurodegeneratív kórképek kialakulását; az sem kizárt, hogy mindkét mechanizmus szerepet játszik (Sephton és mtsai, 2011). Angol és szlovén munkacsoportokkal közös vizsgálatunkban a TDP-43 elleneshez való kötődési helyeit (ún. RNS-targeteket) és az RNS alternatív hasítás (splicing) TDP-43 általi regulációját

vizsgáltuk. Ehhez egy akkor forradalmian új módszert, az ún. individual-nucleotide resolution clip (iCLIP) módszert (König és mtsai, 2010) alkalmazták genetikus kollégáim. Vizsgálatainkhoz posztmortem agykéreg szövetet használtunk, egészséges (azaz neurológiai illetve pszichiátriai betegségben nem szenvedő) és FTLD-TDP betegek agyából. A munka jelentőségét az is jelzi, hogy ez volt a legelső vizsgálat a világon, amely posztmortem humán agyszöveten vizsgálta a protein-RNS interakciót. Ehhez kiemelt fontosságú volt a vizsgálatra megfelelő szövetek, esetek pontos kiválasztása, neuropatológiai karakterizálása, a szöveti jellemzők analízise, melyben fontos szerepet játszottam. A módszer optimalizálása posztmortem szövetmintákra kritikus, munkaigényes és innovatív fázisa volt a vizsgálatoknak. Az erőfeszítéseket siker koronázta, ugyanis nagyszámú TDP-43-ellenes kötőhelyet sikerült azonosítani a mintákban. Ezek többsége intronokat, hosszú nem kódoló RNS-eket (long noncoding RNA) és intergenikus transzkripteket azonosított, melyek jellegzetesen sok ún. UG-gazdag motívumot tartalmaztak. A TDP-43 alternatív splicing regulációs szerepét TDP-43 knock down vizsgálatokkal is igazoltuk neuroblasztóma sejtvonalon, nagyszámú splicing eltérést igazolva több, mint 150 exonban. Ezen területek és környezetük vizsgálata fontos adatokkal szolgál, illetve betekintést nyújt abba, hogy a TDP-43 miként vesz részt a splicing regulációjában. Azok az exonok, melyeket a TDP-43 (is) regulál, nagyszámú olyan gént tartalmaznak, melyek a neurális fejlődésben és számos neurodegeneratív kórképben kulcsszerepet játszanak.

A TDP-43 knock-down kísérletek abból a szempontból is jelentősek (Fiesel és mtsai, 2010), hogy segítenek olyan alternatív splicing változások meghatározására, amelyek a sejtmagban alacsony TDP-43 szint esetén relevánsak. Ugyanis a TDP-43 proteinopátiákban (ALS ill. FTLD betegségek nagy csoportjai ezek) pontosan ez a jellegzetes, neuropatológiailag észlelhető morfológiai elváltozás: a fiziológiásan nukleáris TDP-43 szintje kritikusan csökken a sejtmagban és extrém mértékben fokozódik a citoplazmában, ahol zárványképződéssel is jár. Az eredmények igazolták, hogy a TDP-43 szerepe a splicing regulációjában nagyon szorosan függ attól, hogy a pre-mRNS melyik részéhez kötődik. Olyan fontos fehérvék alternatív mRNS hasítását



regulálja a TDP-43, mint a bcl-2 (az apoptotikus szignálizációs kaszkád kulcsfontosságú fehérjéje, mely anti-apoptotikus hatású (O'Connor és mtsai, 1998)), a CNTFR (ciliáris neurotrofikus faktor receptor; Yang és mtsai, 2009), melynek szerepét ALS-ban is igazolták, az MADD (MAP-kináz aktiváló death domén), mely fontos szerepet játszik homeosztatikus stressz körülmények között a neuronok túlélésében és Alzheimer-kórban is ismeretes szerepe; az MEF2D (myocyte enhancer faktor 2D) mely szintén a neuronális túlélésben játszik fontos és Parkinson-kórban is ismert szerepe; a CDK5RAP2 (CDK5 regulációs alegység-asszociált 2-es fehérje), ami a neuronális progenitor 'sejtpool' fenntartásában játszik szerepet és kóros funkciója primer autoszomális recesszív mikrokefáliát okoz; a CTNND1 (katenin delta 1), mely a dendritikus tüskék fenntartásában, kialakulásában fontos és a cri-du-chat mentális retardációs szindrómában jelentős; a KIF1B (kinezin családtag 1B), mely az axonális vezikuláris transzporthoz szükséges és a Charcot-Marie-Tooth neuropátiában igazolt a szerepe. Emellett számos olyan gént illetve azt kódoló fehérjét igazoltunk, melyek a normális neuronális működésben központi szerepet játszanak.

A TDP-43 az összes DNS-ről RNS-re átírt gén közel harmadához kötődik. Emellett sok olyan RNS-hez is kapcsolódik, melyek nem fehérjét kódolók (de ezek az RNS-ek is fontos szerepet játszanak a géntől a fehérjéig tartó komplex folyamat szabályozásában)(Tollervey és mtsai, 2011).

Noha azoknak a géneknek a száma nem magas, melyeket a TDP-43 közvetlenül szabályoz, ezek a gének azonban olyan fehérjéket termelnek, melyek neurológiai-pszichiátriai kórképekben fontos szerepet játszhatnak, például Parkinson-kór, Alzheimer-kór esetében, valamint ALS-ben (Miklossy és mtsai, 2008).

Ezen vizsgálatok eredményeit összegezve megállapíthatjuk, hogy munkánk a TDP-43 splicing–regulációs funkciójának az első részletes jellemzése humán agyszövetben, mind egészséges egyedekben, mind neurodegeneratív kórképben szenvedő betegek vonatkozásában. Ez a TDP-43 RNS-hez kötődésének alapos megismeréséhez járult hozzá, mind a normális, mind a fenti betegségekben érintettek esetében. A vizsgálatok

számos további kutatás kiindulópontjává vált, amelyet a nagyszámú citáció is igazol (Tollervey és mtsai, 2011a).

### **Az alternatív RNS hasítás (splicing) az idősödő agyban és neurodegeneratív kórképekben**

Az életkor előrehaladása, az öregedés, a neurodegeneráció legfontosabb rizikófaktorai (Somel és mtsai, 2010). Ez a fontos evidencia, amit „az utca embere” is természetesnek tart, meglepő módon nincs súlyának megfelelően a kutatások fókuszában. Neuropatológiai vizsgálatok is alátámasztják (elég csak a rutin mindennapos neuropatológiai gyakorlatra utalni), hogy az öregedés és a neurodegeneratív kórképek számos átfedést mutatnak és közöttük az átmenet egyfajta „szürke zónának” tartható (Miller és mtsai, 2008; Erraji-Benchekroun és mtsai, 2005). Az öregedő agy vizsgálata megfelelő alapossággal, multicentrikus tanulmányok keretében csak ez elmúlt időszakban került a neuropatológus közösségben az őt megillető fontos helyre. Alafuzoff és munkatársai (köztük az értekezés szerzője) 2012-es munkája (Alafuzoff és mtsai, 2012) megtett néhány alapvetést, melyekre épülve aztán több, jelenleg is folyamatban lévő munka kezdődött. Ilyen pl. a Bristoli Egyetemen koordinált VCING (vascular cognitive impairment tanulmány), melynek kézírata már benyújtásra került, megjelenése remélhetőleg hónapokon belül megtörténik.

A Genome Research-ben publikált közleményünk (Tollervey és mtsai, 2011b), mely ezúttal is angol és szlovén, továbbá Egyesült Államokbeli munkacsoportok közreműködésével készült, bizonyos szempontból továbbvitele a Nature Neuroscience-ben szintén 2011-ben megjelent, a TDP-43 szerepét vizsgáló munkának (Tollervey és mtsai, 2011a). A kísérletek is jelentős részben átfedéssel, párhuzamosan folytak. Ezen munkában az öregedő agyban és két fontos neurodegeneratív kórkép, az Alzheimer-kór és az FTLD (frontotemporális lobáris degeneráció)-ban vizsgáltuk az alternatív RNS hasítás (splicing) jellemzőit, a fehérje szintű elváltozásokat is analizálva. Ez az első átfogó munka, mely a kérdésfelvetést az öregedés és a neurodegeneráció

vonatkozásában részletes tanulmányban vizsgálta. Az eredmények közül kiemelendő, hogy a kognitív funkciójukban normális (egészséges) egyedekben az idős kor kapcsán kialakuló splicing változások 95%-a mind az FTLD, mind az AD esetében kimutatható volt (a betegek esetében pedig életkortól függetlenül). Ezen elváltozások szoros összefüggést mutattak a PTBP függő hasítási aktivitással (polypyrimidine tract-binding protein). Az életkor és a beteg állapotban egyaránt megfigyelhető elváltozások mellett betegség-specifikus splicing elváltozásokat is igazoltunk mind AD, mind FTLD vonatkozásában; ezek tehát az egészséges egyedekben nem azonosíthatók. Ezek az elváltozások a 'neuro-oncological ventral antigen' (NOVA)-függő splicing reguláció csökkenésével hozhatók kapcsolatba (Jensen és mtsai, 2000; Ule és mtsai, 2006), melyet a nukleáris NOVA fehérjék mennyiségének csökkenése is alátámaszt. Amint várható volt, a neuronális gének közül soknak nagyfokú alul regulációja igazolódott, míg a demenciával vagy egyéb kognitív deficittel nem terhelt (ilyen szempontból egészségesnek tartható) egyedek esetében mérsékelt reguláció csökkenés (Down-regulatio) igazolódott neuronális, sőt gliális gének vonatkozásában is. Eredményeink fontos kapcsolatokat igazolnak az öregedés és a neurodegeneráció között, melyeknek a betegségek jobb megértése, sőt, a prevenció vonatkozásában is nagy jelentőségük lehet.

Ehhez a munkához a klinikopatológiai analízissel járultam hozzá, mely a betegek kognitív státuszára vonatkozó klinikai adatok gyűjtését, szöveti jellemzők alapos vizsgálatát, a minták izolálását, az eredmények értékelésében játszott közreműködést is magába foglalta. A kézirat elkészítésében, annak végső formájának kidolgozásában is jelentős szerepet játszottam, melyet a 14 szerzős munkának 3. szerzősége is jelez.

A vizsgált betegek életkora 16 és 102 év között változott. A gén-ontológiai analízis érdekes eredményekkel szolgált: míg az öregedéssel kapcsolatos génexpresszió változások elsősorban metabolikus folyamatokat érintenek, addig a betegség-specifikus elváltozások neuron-specifikus funkciók változásával (károsodásával, illetve kompenzatórikus mechanizmusok aktiválódásával) járnak, melyek közül a szinaptikus

transzmisszió és az ion csatorna gének igazolódtak kiemelt fontosságúnak (Tollervey és mtsai, 2011b).

Érdekes módon az oligodendrocita-specifikus gének mutatták a legnagyobb életkorral kapcsolatos expresszió csökkenést, ami talán kapcsolatba hozható az Alzheimer-kórban egyre jobban vizsgált és felismert oligodendroglialis patológiával.

A vizsgálat fontos konklúziója, hogy (noha az öregedés és a neurodegeneráció között jelentős átfedés is van), egyértelmű és lényeges különbségek is kimutathatók, melyek azt támasztják alá, hogy a neurodegeneráció nem „felgyorsult öregedés”, mint ez hipotézis, ill. ötlet szintjén időnként fölmerül a tudományos közösségben.

### **A vad típusú TDP-43 elősegíti a mutáns TDP-43 által kiváltott progresszív motor és kortikális neuronális degenerációt, ALS patológia jellemzőivel**

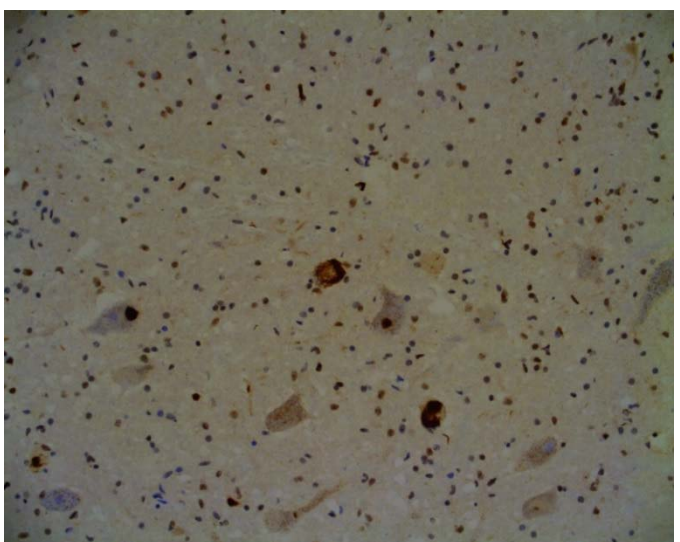
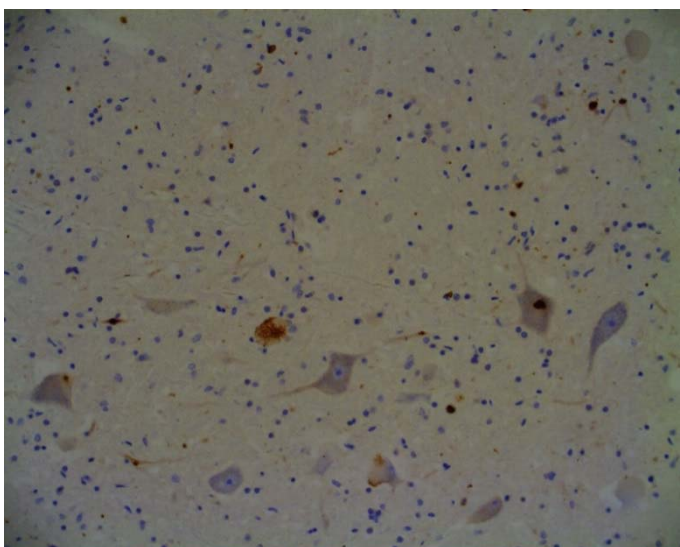
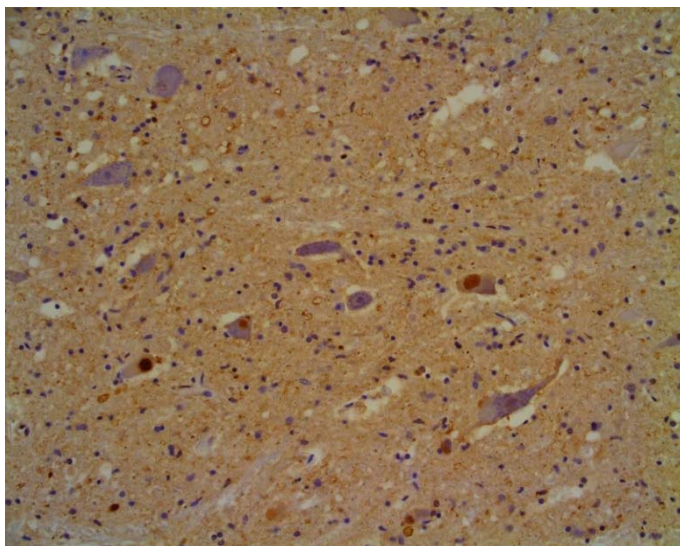
E transzgenikus egérkísérletek jelentősége, hogy egy olyan állatmodellt karakterizálnak, mely a humán ALS-nek megfelelő jellemzőikkel rendelkezik. Ez jelentős, mert a korábbi TDP-43 proteinopátia állatmodellek (Ayala és mtsai, 2011; Kraemer és mtsai, 2010; Wu és mtsai, 2010; Chiang és mtsai, 2010; Wu és mtsai, 2012; Wils és mtsai, 2009; Stallings és mtsai, 2010; Xu és mtsai, 2011; Xu és mtsai, 2010 ; Arnold és mtsai, 2013 ; Wegorzewska és mtsai, 2009 ; Janssens és mtsai, 2013 ; Guo és mtsai, 2012 ; Esmaeili és mtsai, 2013) a humán ALS morfológiai és klinikai jellemzőit csak részben (vagy még úgy sem, mert pl. embrionális korban letális) mutatják. A mi modellünk (Mitchell és mtsai, 2015) esetében a vad típusú humán TDP-43-at fokozottabban expresszáló ('overexpresszáló') egerek sem 'klinikai', sem patológiai szempontból nem mutatnak kóros elváltozásokat. Ezzel szemben, a humán mutáns TDP-43-at fokozottan expresszáló egerek életkor-függő, meglehetősen enyhe motoros és patológiás fenotípust mutatnak. Érdekes és fontos, hogy amennyiben a vad típusú és a mutáns TDP-43 ko-expresszálódik, a TDP-43 patológia és az ALS 'klinikai' fenotípusa már korai életkorban jelentkezik, gyorsan progrediál. Neuropatológiai vizsgálattal e keresztezett egerek súlyos a neuronvesztés, nagyfokú az asztroglialis

reaktív patológia, fokozott a citoplazmatikus TDP-43 akkumuláció és az inszolubilis (detergens rezisztens) TDP-43 tartalom (ez utóbbit Western blot vizsgálattal igazoltuk). A kóros lokalizáció ('miszlokalizáció') és az aggregáció a fehérje szinten jelentkezett, ami igen fontos jellemző a humán ALS-ben is. Az eredmények arra utalnak, hogy a TDP-43 mutáns formájának nukleuszból citoplazmába történő nagyfokú áthelyeződése és korai aggregációja egyfajta magot (kristályosodási pontot) jelent és a vad típusú (normális) TDP-43 gyors és irreverzibilis felhalmozódását okozza ezen aggregátumokban, ami a betegségfolyamat rapid lefolyását indokolja. Hasonló jelenséget találtunk FUS proteinopátiákban a stressz-granulumok vonatkozásában (Vance és mtsai, 2009)

Noha a TDP-43 gén (*TARDBP*) mutáció okozta ALS-sel ritka, az állatmodellünkben megmutatkozó mechanizmus a sporadikus ALS vonatkozásában is relevánsnak látszik. A TDP-43 aggregáció gátlása, valamint a misz-lokalizáció megakadályozása az ALS-ben (és egyéb TDP-43 proteinopátiában, úgymint FTLD-TDP) fontos terápiás célpont lehet és a betegség gyógyításának új útjait nyithatja meg. Ezen modellekben különböző gyógyszer-célpontok vizsgálhatók, melyek a preklinikai gyógyszerkipróbálásokhoz kiválóan megfelelnek.

### **A TDP-43 ko-lokalizációjának vizsgálata az ubikvitinilált zárványokban, különböző ALS típusokban és egyéb neurodegeneratív kórképekben**

A TDP-43 az ALS és az ALS-hez kapcsolódó egyéb TDP-43 proteinopátiák (pl. FTLD-TDP) jellegzetes inklúzió (zárvány)-képző fehérjéje. Ennek jelentősége a TDP-43 gén (*TARDBP*) mutációja és az ALS közötti kapcsolat igazolása után kiemelt fontosságúvá vált.

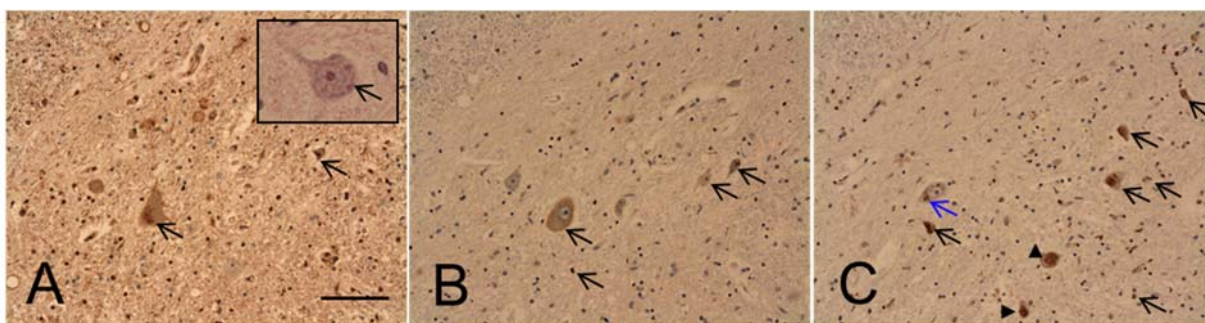


11. ábra ALS-TDP. Ubikvitin (felső kép), p62 (középen) illetve TDP-43 immunhisztokémiai detektálása a gerincvelői motoneuronokban.

Ebben a tanulmányban (Maekawa és mtsai, 2009), mely a mutáció és a betegség kapcsolatát igazoló, szintén 2009-ben megjelent közlemény után nem sokkal jelent meg, különböző ALS típusokban és egyéb neurodegeneratív kórképekben vizsgáltuk a TDP-43 és az ubikvitinilált zárványok együttállását (ko-lokalizációját). Ennek azért (is) van jelentősége, mert a zárványok vonatkozásában fontos kérdés, hogy milyen fehérjékből állnak. Ennek egyik relatíve egyszerű vizsgálati módszere az immunhisztokémia, kettős jelöléses módszerekkel, ill. egymást követő szövettani metszeteken (ún. konszekutív metszeteken)(11-12. ábrák). A vizsgálathoz a betegségben érintett releváns agyi, ill. gerincvelői területeket vizsgáltunk. Számos antitestet analizáltunk, a vizsgálat fontos rész volt ezek tesztelése, az optimális immunhisztokémiai metodika beállítása. A munka érdekessége, hogy egy ritka ALS típus (az ún. Guam-szigetcsoportha jellemző familiáris ALS) eseteit is

bevontuk a tanulmányba, melyhez John Steele, a Csendes-óceáni szigetcsoporthoz tartozó neuropatológus együttműködését is meg tudtuk nyerni. Ez utóbbi esetek begyűjtése azért is fontos volt, mert az egyik Guam esetben a TDP-43 immunoreaktivitás a kóros (hiperfoszforilált) tau-val ko-lokalizált. Azóta egyre több tanulmány igazolja, hogy a tau-patológia a TDP-43 proteinopátiákban is fontos szerepet játszik (Michael Strong és munkacsoportja London, Ontario, Kanada, egyeteméről végez kiemelkedő munkát e területen; Behrouzi és mtsai, 2016; Woolley és Strong, 2015; Tibshirani és mtsai, 2015; Campos-Melo és mtsai, 2014; Campos-Melo és mtsai, 2013).

A vizsgálat további fontos eredménye volt, hogy (noha csak egyetlen esetben) a SOD-1 mutáció kapcsán kialakuló familiáris ALS (FALS) esetében, melyben a mutáció miatt kialakuló His-48-Gln aminosav csere okozta betegséget, sikerült olyan neuront találni, ahol a TDP-43 immunoreaktív az inklúzióban. Ez azért jelentős, mert azt igazolja, hogy a SOD-1 mutáns FALS nem mindig TDP-43 negatív. Ez azonban nem változtat azon a tényen, hogy az esetek döntő többsége valóban a SOD-1 FALS nem TDP-43 proteinopátia. Az egyéb ALS típusokban a TDP-43 az esetek döntő többségében (de nem mindig) szabályos ko-lokalizációt mutatott az ubikvitinilált illetve p62 pozitív inklúziók (zárványok)kal.



12. ábra. Sorozatmetszeteken az ubikvitin (A), p62 (B) és TDP-43 immunhisztokémia, mely neuronális citoplazmatikus kolokalizációt is igazol. (Strong, Hortobágyi és mtsai, 2011)

Az eredmények tehát megerősítették a feltevést és hipotézist, hogy a TDP-43 az ubikvitinilált inklúziók (zárványok) része a TDP-43-proteinopátia csoportba tartozó ALS esetén. Ezen azonban nem kizárólagos, miként azt a munkánkban igazolt kivételek is



igazolják. A neurológiai illetve pszichiátriai szempontból normális (egészséges) kontrollok esetében TDP-43 immunoreaktív zárványok nem igazolódtak és ezen esetek negatívak voltak p62, ubikvitin, hiperfoszforilált tau, pan-neurofilament, alfa-szinuklein, cystatin-C vonatkozásában (azaz egyéb neurodegeneratív proteinopátiára utaló jeleket sem mutattak).

### **A VAPB transzgenikus mutáns egérben TDP-43 proteinopátia alakul ki ALS jellegzetes neuropatológiai elváltozásaival**

A VAPB, fiziológiás körülmények között, az endoplazmatikus retikulumra lokalizált fehérje (Anagnostou és mtsai), melynek egyre több adat szerint a mikrotubulusokkal is kapcsolata van. Noha funkciója nem ismert pontosan, szerepe lehet az endoplazmatikus retikulum és a Golgi közötti fehérje transzportban, az endoplazmatikus retikulum stressz állapotaiban, valamint az ún. 'unfolded protein response' (UPR)-ben (Bernales és mtsai, 2006). A VAPB az efrin receptorok ligandjaként is ismert (Tsuda és mtsai, 2008). Az azonban nem világos, hogy a VAPB nem megfelelő működése illetve struktúrája miképp járul hozzá a motoneuron betegség kialakulásához. A sejten belüli eloszlása, megváltozott aggregáció képessége hozhat létre olyan fehérje zárványokat, melyek egyrészt a normális működést nem teszik lehetővé, másrészt e zárványokba bevont fehérjék funkciója is elveszhet (Suzuki és mtsai, 2009). Továbbá (miként ez neurodegeneratív betegségekben általában feltételezett), toxikus funkciója is lehet e kóros fehérje zárványoknak (Bruijn és mtsai, 1997). Az eddigi, elsősorban sejtbiológiai, kísérletek alapján azonban úgy tűnik, hogy a VAPB-nek a jellegzetes mutációja (P56S) úgynevezett funkcióvesztéses ('loss of function') mutáció (Teuling és mtsai, 2007). A P56S mutáció (Kanekura és mtsai, 2006) azért is kiemelkedő jelentőségű, mert egy ritka ALS formában, mely ALS-8-nak is neveznek, a betegség és motoneuron pusztulás okozója lehet (Suzuki és mtsai, 2009). Ez a betegség néhány brazil, illetve onnan kivándorolt családban figyelhető meg (Európában elsősorban a Benelux Államokban és a közeli német területeken). Érdekes



módon ez az ALS forma nagyon lassan progrediál, az egyik legenyhébb fenotípusú ALS. Sokáig nem is vélték motoneuron betegségnek, de mind klinikai, mind neuropatológiai szempontból ma már annak tartható (Kanekura és mtsai, 2006).

Az, hogy a mutáns VAPB miként okoz motoneuron pusztulást, kevésbé ismert. A TDP-43 proteinopátia csoport felfedezését, leírását követően (illetve azzal párhuzamosan) indultak azok a kísérletsorozatok a King's College Londonban, melynek neuropatológus résztvevője voltam (Tudor és mtsai, 2010). Első lépésként egy VAPB mutáns transzgén egértörzs létrehozása történt meg genetikusok, sejtbiológusok közreműködésével. A munka további részében ezen egerek neuropatológiai karakterizálását irányítottam. Az egértörzsben érdekes módon (de többé-kevésbé egybecsengően a humán klinikai tapasztalattal) súlyos ALS fenotípus nem alakult ki (a motoros funkció lényegében épnek volt tartható). Ugyanakkor neuropatológiai vizsgálattal 18 hónapos korban kezdődően TDP-43 patológia igazolódott a mutáns egerekben. Ennek fenotípusa nagyban hasonlított a humán neuropatológiai gyakorlatban a TDP-43 proteinopátiás ALS-es esetekben észleltekhöz. A TDP-43 protein inklúziók (zárványok) VAPB-t tartalmaztak, ubikvitiniláltak voltak, p63-hoz kötődtek. A ko-lokalizáció vizsgálatára konfokális elektronmikroszkópiát, kvantitatív kép analízist, sejtszámolást végeztünk, melyek pontos és statisztikailag jól összehasonlítható adatokat adtak. A VAPB illetve TDP-43 szintjét Western blot vizsgálatokkal analizáltuk.

Az eredmények igazolták, hogy az ALS-8 humán betegség állatmodell-megfelelője is TDP-43 proteinopátia. Arra is rávilágítottunk, hogy e fehérje (mely az endoplazmatikus retikulum-Golgi-transzportban) vesz részt, lehetséges, hogy ezen mechanizmusok károsodása révén járul hozzá az ALS kialakulásához. Ez azért is érdekes, mert hasonló feltételezett mechanizmus áll az optineurin mutáció illetve diszfunkció és az ALS kialakulása hátterében (mint azt 2011-ben megjelent közleményemben is diszkutálom (Hortobágyi és mtsai, 2011)).

Ezen vizsgálatokban további érdekes szempont, hogy késői, 18 hónapos korban jelentkeztek az állatokban ezek az eltérések. A kísérlet szempontjából ez azért jelentett

nehézséget, mert az állatokat sokáig kellett fenntartani, ami a kísérletsorozat elhúzódását eredményezte. Ez rávilágít arra, hogy a neurodegeneratív betegségek kutatásában a kísérletek sokszor elhúzódnak. Ennek kapcsán jegyezzük meg, hogy kiemelten fontosak azon állatmodellek, ahol a késői életkorban kialakuló neurodegeneratív elváltozások vizsgálhatóságához nem kell olyan sokat várni. Erre gyakran szolgál megfelelő kísérleti egyednek a *Drosophila melanogaster* légy species.

## **C9ALS/FTD**

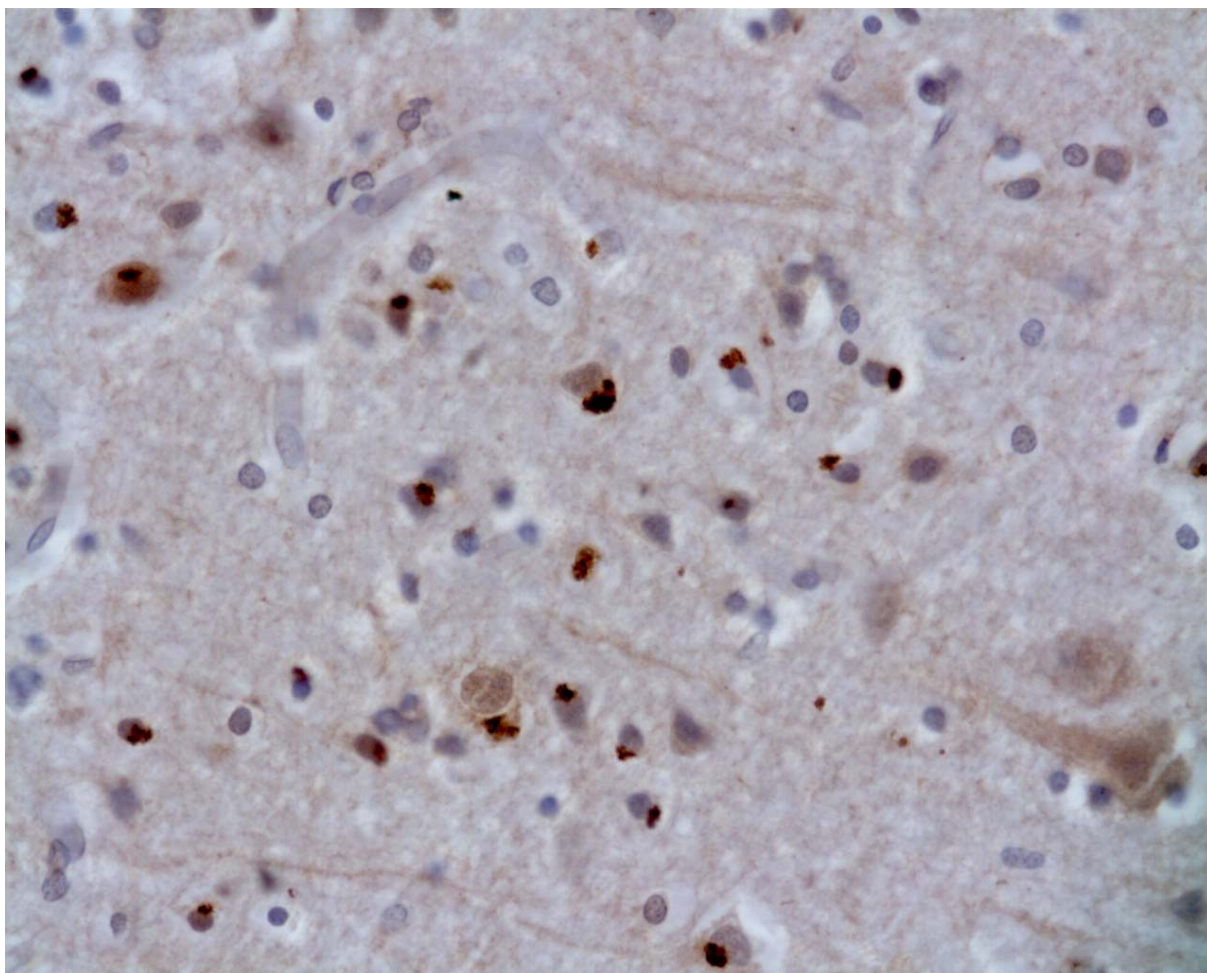
### A C9ALS/FTD neuropatológiai és klinikopatológiai karakterizálása

A neuronális és (kisebb számban gliális) citoplazmatikus (néha nukleáris) inklúziók (zárványok), melyek hiperfoszforilált (kóros) TDP-43-at tartalmaznak az ALS-TDP és a FTLD-TDP fő patológiai jellemzője (Arai és mtsai, 2006). A nukleáris citoplazmatikus inklúziók (zárványok) (NCI) többsége ubikvitin és p62 pozitivitást egyaránt mutat (Jackson és mtsai, 1996) az esetek többségében (King és mtsai, 2011). Ezzel ellentétben ismeretesek olyan esetek, ahol nagy mennyiségben találunk p62 és kisebb részben ubikvitin pozitív, de TDP-43 negatív inklúziók (zárványok)at a cerebellumban, illetve a hippokampuszban. Munkacsoportunk korábban ismertetett ilyen eseteket, melyek az évszázad első évtizedében más szerzőktől is, mint sporadikus eset ismertetések publikálásra kerültek A C9ORF72 mutáció és az ennek kapcsán kialakuló ALS és FTLD 2011-es leírása (Renton és mtsai, 2011; DeJesus-Hernandez és mtsai, 2011) után munkacsoportunk arra volt kíváncsi, hogy ezen „furcsa” esetek a C9ORF72 hexanukleotid repeat expanziós mutációját tartalmazzák-e vagy sem (Al-Sarraj és mtsai, 2011). Ehhez PCR és immunhisztokémiai vizsgálatok történtek 36 ALS, FTLD-ALS és FTLD-TDP esetben, valamint négy neurológiai betegségben nem szenvedő kontroll beteg mintáján. 36 eset közül 14-ben igazolódott a C9ORF72 mutáció ('repeat' expanzió). Valamennyi ilyen esetben nagyszámú globuláris illetve csillag alakú p62 pozitív neuronális citoplazmatikus inklúziót (NCI) találtunk a hippokampusz piramis

sejtrétegében. Érdekes módon, ezek döntő többsége a TDP-43 antitesttel (mely a TDP-43 kóros, hiperfoszforilált formáját specifikusan detektálja) negatívnak bizonyult. Ezen p62 pozitív NCI-k szintén nagy számban látszóttak a cerebellum granuláris és molekuláris sejtrétegében, valamennyi esetben, és a 14-ből 12 esetben a Purkinje sejtekben is detektálhatók voltak. Neuronális intranukleáris inklúzió (NII) a 14-ből 12 esetben igazolódott a hippocampusz piramis sejtrétegében és az esetek közül 6-ban a cerebellum granuláris sejtrétegében. Mindezek alapján megállapítható, hogy ez a szokatlan immunhisztokémiai expressziós mintázat patognomonikus a C9ORF72 repeat expanzió mutáció szempontjából pozitív ALS és FTLD-TDP-43 esetekre. Vizsgálataink arra utalnak, hogy e jellegzetes immunhisztokémiai mintázatot mutató esetek a TDP-43 proteinopátiák új csoportját képezik, melyek élesen különböznek jellemzőikben az egyéb TDP-43 proteinopátiáktól. Eredményeink továbbá azt is igazolják, hogy a p62 nemcsak a TDP-43-hoz, hanem egyéb fehérjékhez is kötődhet (amelyek a közlemény idején még nem voltak ismereteseek) a mutáció következtében, ami a neurodegeneratív folyamat vonatkozásában patomechanisztikus szerepet játszhat.

Az ALS és FTLD esetek immunhisztokémiai illetve tágabb értelemben vett neuropatológiai karakterizálása hosszú múltra tekint vissza (Pikkarainen és mtsai, 2008). Azonban Charcot XIX. századi betegségeírását (1865) követően, mely szövettani rajzokat is tartalmazott, mintegy 100 évig érdemi áttörés nem történt a betegség jellemzőinek, természetének pontosabb megismerésében (legalábbis neuropatológiai szemszögből). Charcot posztulálta, hogy a motoneuronok pusztulása fehérje inklúziókkal, (zárványok)kal hozható kapcsolatba. Ez sokakat arra indított, hogy keressenek olyan fehérjéket, amelyek ezen inklúziókban reprezentáltak. Az immunhisztokémia az 1980-as évektől történő általános elterjedése erre egyre jobb lehetőséget biztosított (Shi és mtsai, 2001). Számos fehérjét próbáltak igazolni ezen inklúziók (zárványok)ban, melyek azonban átütő eredményt, definitív fehérje azonosítását nem eredményezték. Ez az ubikvitin volt (Leigh és mtsai, 1988). Jim Lowe Notthigham és Nigel Leigh a londoni Institute of Psychiatry professzorai egymástól

függetlenül igazolták az ubikvitin jelenlétét szálcás, ill. granuláris-globuláris inklúziók (zárványok)ban, neuronok citoplazmájában, döntően motoneuronokban, mind a gerincvelőben, mind a primer motoros kéregben (Lowe és mtsai, 1988; Jackson és mtsai, 1996). Az ubikvitin azonban, mint neve is mutatja, ubikviter fehérje – és, mint azt ma már részletében is meglehetősen jól ismerjük – meglehetősen nem specifikus, ami az ubikvitin-proteoszóma rendszer (UPS) aktiválódása kapcsán mutatható ki nagyobb mennyiségben (Sampathu és mtsai, 2006). Tehát a kérdés továbbra is nyitva állt, milyen ubikvitinilált fehérjék játszhatnak szerepet a motoneuron betegség (ALS) patogenezisében, a morfológiai elváltozások létrejöttében.

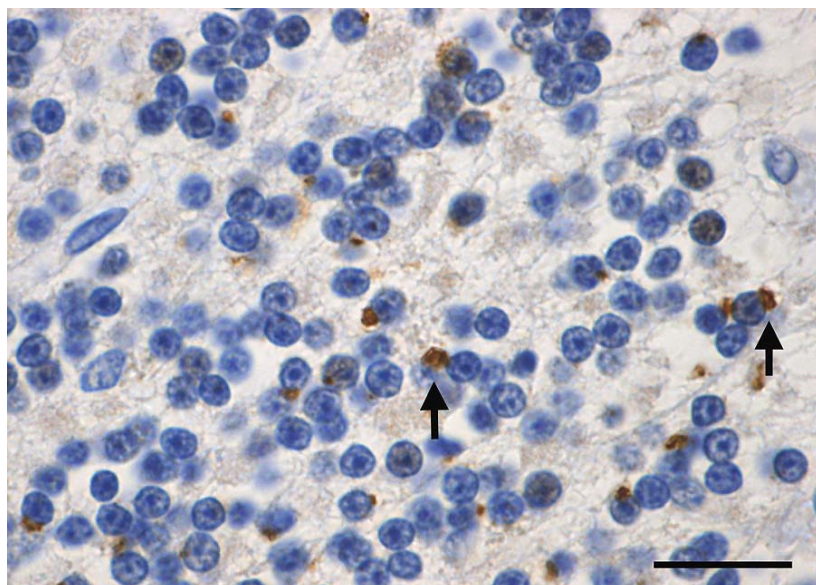


13. ábra. C9FTD/ALS. Csillag alakú citoplazmatikus p62-pozitív zárványok a frontális kortexben.

Ezen út egyik áttörése volt a TDP-43 felismerése Manuela Neumann Science folyóiratban közölt 2006-os publikációja és Arai párhuzamos közleménye (Neumann és

mtsai, 2006b; Arai és mtsai, 2006). Ezt követően a TDP-43 proteinopátiák definíciója is megtörtént.

Az ALS genetikai feltérképezése is nagy ütemben haladt az elmúlt, mintegy 10 évben. Az első gén, a szuperoxid dizmutáz (SOD), 1992-es felfedezése után meglehetősen sok idő telt el, míg a TDP-43 génje (TARDBP) a FUS, OPTN, VCP, UBQLN2 ill. a frontotemporális demencia eseteket érintő progranulin (GRN) gének szerepe



14. ábra. C9FTD/ALS. P62-pozitív zárványok a cerebellum granuláris sejtjeiben. (Hortobágyi és Cairns, 2015)

felismerésre került. Ezek után további ALS-gének is meghatározásra kerültek (lásd Hortobágyi és Cairns, 2015). Az ALS legfontosabb genetikai mutációja a C9ORF72 felfedezése azonban 2011-ig váratott magára (Renton és mtsai, 2011; DeJesus-Hernandez és mtsai, 2011). Enne oka,

hogy ez egy intronikus hexanukleotid 'repeat', amely hagyományos módszerekkel nem volt detektálható. Mindez a 9-es kromoszómán helyezkedik el, amit Vance és munkatársai egy holland betegcsoporton (családi halmozódást mutató ALS) már 2006-ban igazoltak (Vance és mtsai, 2006). Mutációt 5 éven át sok kutatócsoport kereste, miként a King's College London ALS munkacsoportja is, melynek neuropatológusként tagja voltam. Ma már történeti adat, hogy mutáció felfedezése az amerikai munkacsoportok nevéhez fűződik. Érdekességként megjegyzem, hogy valószínűleg csak hetekkel maradt le a londoni munkacsoport a mutáció felfedezéséről, mivel ekkor már mindössze három kandidáns gén maradt, melyek mutáció analízise zajlott. Ami tehát a munkacsoportnak a TDP-43 illetve a FUS kódoló génje vonatkozásában sikerült, (azaz elsőként sikerült mutációt igazolni), az a C9ORF72 vonatkozásában „nem jött

össze”. A gén pontos meghatározása azonban, mint fentebb jeleztük, 2011-ig váratott magára – ekkor DeJesus-Hernandez és Murray munkacsoportjai egymással párhuzamosan írták ezt le (DeJesus-Hernandez és mtsai, 2011; Murray és mtsai, 2011). A felfedezés után igyekeztünk azon eseteket karakterizálni, melyekben a C9ORF72 ALS-re jellemző szokatlan fenotípus mutatkozott: p62 pozitív, döntően TDP-43 negatív inklúziók (zárványok), melyek gyakran csillag alakúak, az agykéregben, a hippokampuszban és a cerebellumban (Al-Sarraj és mtsai, 2011)(13. és 14 ábra). Sejthető volt, hogy ezen esetek egy új alcsoportot képeznek és már kezdettől fogva valószínűsíthető (mivel az esetek jelentős része családi halmozódást mutatott), hogy egy új mutáció áll a háttérben. Az új betegségcsoport a C9ALS/FTD nevet kapta (ugyanis frontotemporális demenciák jelentős részében is ez a mutáció igazolható). Pontos megismerése jelenleg is folyik és a tudományterület kutatásainak egyik kiemelt területe. Ehhez kapcsolódott vizsgálatunk, amikor a „szokatlanul” kevés TDP-43-at és sok p62-t mutató eseteket (ahol ráadásul szintén szokatlanul nevezhető cerebelláris lokalizáció is igazolódott) analizáltunk C9ORF72 mutáció vonatkozásában is (King és mtsai, 2011).

Egy részletes kliniko-patológiai tanulmány eredményeként, melyet genetikai vizsgálatok is alátámasztottak, igazoltuk, hogy ezen esetek háttérében a fent említett mutáció áll. Eredményeinket párhuzamosan közzétettük egy amerikai munkacsoporttal (Murray és mtsai, 2011), mindössze néhány héttel a mutáció megjelentetése után. Egyfajta tudománytörténeti érdekességgént említem, hogy neuropatológiai karakterizálás nagyon kompetitív feladat volt. Ennek tudatában voltunk, hiszen informális beszélgetéseken nyilvánvalóvá vált, hogy a témában vezető kutatócsoportok hasonló feladatokon dolgoznak (ez egyébként a mutáció keresésére, felfedezésére is igaz volt). Munkahelyem, a King's College London, ebben a versenyben valószínűleg csak hetekkel maradt le a mutáció felismerésében, akkor ugyanis, amikor a C9ORF72 mutációt leíró közlemény megjelent, csupán három kandidáns gén maradt a 9-es kromoszómán, mely okozhatta a mutációt: ezek egyike volt a C9ORF72. Végülis, az Acta Neuropathologica 2011 decemberi számában, párhuzamosan sikerült

megjelentetni azzal az amerikai kutatócsoporttal (Murray és mtsai, 2011) a neuropatológiai karakterizálást, akik a mutáció leírásában is szerepet játszottak (Al-Sarraj és mtsai, 2011). Ez a közlemény azóta több, mint 200 citációt vonzott.

A p62 és a TDP-43 összességében ritka ko-lokalizációját immunfluoreszcens kettős jelöléssel is igazoltuk. Ezen vizsgálati módszer azt is igazolta, illetve megerősítette, hogy a zárványok többsége p62 pozitív és TDP-43 fehérjét nem tartalmaz (legalábbis ezzel a módszerrel vizsgálva).

Ezen vizsgálatnak fontos megállapítása volt, hogy a cerebellum a C9ORF72 mutáció kapcsán gyakran érintett. Ez azért is érdekes, mert ez az anatómiai régió korábban gyakran kontroll szövetként szerepelt vizsgálatokhoz, mivel az volt az elgondolás, hogy a szokványos neurodegeneratív proteinopátiákban (az ALS és FTD különböző csoportjait is beleértve) a cerebellum valamilyen módon relatíve védettséget élvez. Ezen vizsgálataink igazolták, hogy ez nem így van. Ezzel a cerebellum és a neurodegeneráció új aspektusa került napvilágra, illetve új megvilágításba.

#### C9ORF72 mutáció ALS fenotípussal, nagyfokú agyi extramotor patológiával – kognitív deficitet nem okozva

Ez a klinikopatológiai tanulmány (is) párhuzamosan folyt a C9ORF72 mutáció karakterizálását végző vizsgálatokkal, melynek átfogó munkáját az Acta Neuropathologica-ban 2011 decemberében hoztuk nyilvánosságra (Al-Sarraj és mtsai, 2011). Amikor a munkát végeztük, még nem volt ismeretes a C9ORF72 mutáció, mely 2011 szeptemberében két független kutatócsoport által került publikálásra (DeJesus-Hernandez és mtsai, 2011; Renton és mtsai, 2011)(lásd fentebb).

A most referált munka (Troakes és mtsai, 2012) részletesen analizált négy olyan esetet, melyeknél a C9ORF72 fenotipikus jellemzői jelen voltak. A munkacsoportnak ez volt az első átfogó tanulmánya, ahol a neuropatológiai jellemzők részletes analízise történt, nagyszámú immunhisztokémiai reakció kiértékelésével is. A munka eredmények tartható, hogy elektronmikroszkópos vizsgálat is történt a jellegzetes inklúziók

(zárványok) vonatkozásában. Siklós László professzor, a Szegedi Biológiai Központ (MTA) Biofizikai Intézetének igazgatóhelyettese volt az, akihez Szegedre utaztam, és az elektronmikroszkópos vizsgálatok általa ott történtek. Ez az első közölt elektronmikroszkópos adata a C9ORF72 mutációhoz kapcsolódó esetekről. A közlemény metodikai erőssége az, hogy nemcsak immunhisztokémiai, elektronmikroszkópos vizsgálat, hanem Western blot analízis, továbbá az esetekből mutáció analízis is történt, amely megerősítette, hogy ezen esetek C9ORF72 mutációt tartalmaznak. Igazából már kész volt a kézirat, mikor a mutáció eredménye (mint fentebb említettük, 2011 szeptemberében) publikálásra került; ezek után az egyik első esetek között szerepeltek ezek, melyek analízisét Londonban elvégeztük és a mutációt igazoltuk. A lehetséges ALS-t okozó egyéb mutációkat is kizártuk (ezt természetesen akkor tettük meg, amikor még nem értesültünk a C9ORF72 mutáció felfedezéséről; a mutáció ismeretében erre ugyanis már nem lett volna szükség).

A négy kiválasztott beteg azért is alkotott egy vizsgálati csoportot, mert noha súlyos és jellegzetes neuropatológiai eltérések voltak (ami nemcsak a motor, hanem az extramotor területeket is érintette), ennek ellenére demencia illetve kognitív deficit nem mutatkozott. Azaz nem FTLD-MND, csupán ALS (MND) fenotípus volt. Ilyen súlyos fokú patológia ismeretében ez szokatlan és igazolja, hogy a C9ORF72 mutáció az előrehaladott patológia ellenére sem föltétlenül és mindig jár együtt demenciával illetve észlelhető kognitív deficittel. Megjegyezzük, hogy e betegek az Institute of Psychiatry (King's College London)-ban részletes és ismétlődő neurokognitív tesztelésen mentek át, a halált nem sokkal megelőzően is, mely (a fennálló motoneuron betegség miatt) kiemelten tekintettel volt az ALS (MND)-hez gyakran társuló demencia formák detektálására. Azaz erős és alapos vizsgálati adatok szólnak amellett, hogy ezen esetekben valóban nem mutatkozott kognitív deficit.



## A C9ORF72 mutáció eredetének, gyakoriságának, stabilitásának vizsgálata – multicentrikus genetikai tanulmány

Ehhez a munkához (Smith és mtsai, 2013) neuropatológusként nem járultam hozzá jelentős mértékben. Amiért értekezésemben szerepeltetem, annak elsődleges oka, hogy az eredmények fontos kiegészítései a témában ismertetett és diszkutált egyéb közleményeimnek és fontosságuk mellett érdekesek és gondolatébresztőek. Genetikus kollégákkal (King's College London) szoros együttműködés, rendszeres megbeszélések, diszkussziók, kölcsönösen megtermékenyítő egyeztetések révén ennek a közleménynek is részese lehettem. Továbbá, a genetikai vizsgálatok egy része olyan humán agyszöveten történt, melyek neuropatológiai karakterizálásában, a mutáció morfológiai jellemzőinek igazolásában fontos szerepet játszottam.

A számos európai génbank (ALS vonatkozású anyagokat feldolgozó központok) együttműködésének eredménye ez a munka. Bioinformatikai és genetikai analízissel igazolta a tanulmány, hogy a C9ORF72 expanszió mutáció Európában a leggyakoribb oka a familiáris és sporadikus ALS-nek, továbbá ezt mintegy 6500 évvel ezelőtt egy egyedben bekövetkező mutációra lehet visszavezetni. A mutáció stabil az azóta eltelt sok száz generáció során. Ez azért is érdekes, mert a C9ORF72 mutáció Japánban például extrém ritka, ami indirekt módon szintén alátámasztja azt, hogy ez egy európai eredetű mutáció, ami aztán „szóródott” a világban (Smith és mtsai, 2013).

### **Gamma-szinuklein patológia ALS-ben**

Az ALS-ben a motoneuronokban (és kisebb számban a gliális sejtekben) kimutatott zárványok fehérje összetétele az elmúlt évtized kutatásainak eredményeként egyre ismertebb (Hortobagyi és Cairns, 2015). Újabb és újabb komponensek jelenléte igazolódott motoneuron betegség valamennyi, illetve szelektív csoportjaiban. Kollaboratív tanulmányban (Peters és mtsai, 2015) a gamma-szinuklein lehetséges megjelenését vizsgáltuk. Azért került figyelmünk középpontjába a gamma-szinuklein,

mert egyrészt rokon vegyülete, az alfa-szinuklein számos neurodegeneratív kórképben ismert, másrészt a motoneuronok magas gamma-szinuklein expressziója (mely elsősorban az axonokban van jelen nagy mennyiségben) a korábbi vizsgálatok alapján is ismeretes volt (Ninkina és mtsai, 2009). Az axonális patológia, az axonális transzport zavara a motoneuron betegség egyik fontos patomechanisztikus, patogenetikai jellemzője (Galvin és mtsai, 1999; Galvin és mtsai, 2000). A transzgenikus egérkísérletek eredményei is arra utaltak, hogy a gamma-szinuklein lehetséges fehérje az inklúziók (zárványok)ban (Peters és mtsai, 2012). Vizsgálatainkban motoneuron betegek különböző csoportjaiban (beleértve a C9ALS/FTD-t is) és kontroll egyedek mintáin vizsgáltuk a gamma-szinuklein expressziót, immunhisztokémiai és biokémiai módszerekkel (Peters és mtsai, 2015). A gamma-szinuklein jelenléte a dorzolaterális gerincvelői fehérállományi traktusokban igazolódott axonálisan az ALS-es betegek többségében. Feltehetően a degenerálódó axonokban mutatható ki nagyobb mennyiségben. Ezen gamma-szinuklein-pozitív struktúrák negatívak voltak az egyéb, motoneuronban gyakran vizsgált protein markerekkel. A gamma-szinuklein lehetséges szerepe az axonális degenerációban és a motoneuron betegség kialakulásában továbbra is részletesebb megismerésre vár. Mind familiáris, mind sporadikus ALS esetekben sikerült gamma-szinukleint igazolni (az esetek 9/31 ill. 8/23 részében). Az axonális patológia mellett a sejttestekben is igazoltunk több motoneuronban gamma-szinuklein pozitív inklúziók (zárványok)at (noha csupán az esetek 4/58 hányadában). A familiáris esetek közül mind a SOD1, mind a C9ALS esetekben (azok egy részében) igazolódott gamma-szinuklein inklúzió. A fehérje kimutatási egyéb módszerek (Western blot, immunoblot) detergens-inszolúbilis gamma-szinuklein protein speciesteket mutatott ki, mely megerősítette az immunhisztokémiai vizsgálatok eredményeit.

## **Áramütés és amiotrófiás laterális szklerózis**

Az ALS oka és patomechanizmusa jelentős részben tisztázatlan (lásd fentebb; Strong és Rosenfeld, 2003). Számos (lehetséges, ill. bizonyított pl. genetikai) ok mellett felmerült az áramütés ('electrical injury') lehetősége, mint a motoneuron betegség ill. ALS kórfolyamatának elindítója, triggere (Greenway és mtsai, 2006; Langworthy, 1930; Macmahon, 1929; Panse, 1975; Jafari és mtsai, 2001). Ennek lehetősége mellett szólnak olyan epidemiológiai vizsgálatok, melyek szerint villanyszerelők illetve elektromágneses mezőkben dolgozóknál a motoneuron betegség gyakoribb lenne (Ahlbom, 2001; Brooks és mtsai, 2000). Kérdés megválaszolására illetve pontosabb vizsgálatára retrospektív irodalmi analízist végeztünk, az esetek klinikai osztályozásával és a patológiai eredmények értékelésével (Abhinav és mtsai, 2007). Összesen 31 közleményt találunk 1906 és 2002 közötti időszakban, melyekben összesen 96 betegről számoltak be. Ezek közül 44-nél lehet (különböző valószínűséggel) ALS a diagnózis, 44 ún. nem progresszív szindrómát mutatott, 7 progresszív alsó motoneuron szindrómát, 1 progresszív felső motoneuron szindrómával jelentkezett. A betegek között 89 férfi (93%) és 7 nő (7%) volt. A betegeket az áramütés erőssége (Voltban kifejezve) az elektromos áramütés és a betegség kezdete között eltelt időszakot figyelembe véve, a klinikai tünetek és a betegség lefolyás elemzésével végeztük. A vizsgálat részletes eredményei, a közlemények adatai, a publikációnkban szerepelnek (Abhinav és mtsai, 2007). Összességében megállapítható, hogy eredményeink nem támogatják azt a feltételezést, hogy az áramütés az ALS kialakulásában kóroki szerepet játszik. További, prospektív vizsgálatokat javasoltunk e kérdésben.

## **ALZHEIMER-KÓR**

### **A neuronális sejtciklus reguláció zavara, mint lehetséges neurodegeneratív mechanizmus**

A Preszenilin-1 (PS-1) a béta-katenin degradációjában szerepet játszik, a béta-katenin pedig a sejtciklus reguláció egyik fontos eleme (Koo és Kopan, 2004; Kang és mtsai, 1999; Saura és mtsai, 2004). További fontos és releváns adat, hogy a PS-1 mutáció familiáris Alzheimer-kór (FAD) kialakulását eredményezi a Preszenilin funkcióvesztése miatt (loss of function; Lippa és mtsai, 2000). Non-neuronális sejtekben régebb óta ismert, hogy ez a Ciklin-D1 felszaporodását eredményezi, aberráns sejtciklus aktivációval és hiperproliferációval (Tetsu és McCormick, 1999). Az volt a korábbi hipotézis, hogy a poszt-mitotikus neuronokban a sejtciklus aktiváció egy abortív folyamat, mely apoptózist indukál és így hozzájárul az Alzheimer-kór patogeneziséhez (Baldin és mtsai, 1993; Knudsen és mtsai, 2006). Vizsgálatainkban ezt céloztuk meg igazolni, illetve tesztelni: a PS-1 mutáció okoz-e Ciklin-D1 akkumulációt és következményes abortív sejtciklus aktivációt apoptózissal. A PS-1 Alzheimer-kórban is ismeretes mutációját (M146W) expresszáló transzgenikus egerekben valóban a Ciklin-D1 fokozott expressziója igazolódott, melyet apoptózis kísért. Hogyha siRNS-sel a Ciklin-D1 aktivációt gátoltuk, akkor ezt sikerült megakadályozni. Hasonló hatású volt a sejtciklus inhibitor Kvercetin alkalmazása is. Azt is igazoltuk, hogy a béta-katenin (melynek lebontásában a preszenilin fontos szerepet játszik) felhalmozódik a mutáns egerek hippocampusában, ami az aberráns sejtciklus és az apoptózis kezdeti stádiumának morfológiai jele lehet (Malik és mtsai, 2008a). Humán familiáris (PS-1 mutáns) Alzheimer-kóros betegek hippocampusában is sikerült igazolni a Ciklin-D1 fokozott neuronális expresszióját, ami arra utal, hogy a humán Alzheimer-kórban is hasonló folyamatok játszódhatnak le. Ez azért is jelentős, mert a PS-1 mutáció kapcsán eddig a gamma-szekretáz aktivitás diszregulációját tartották a fő mechanizmusnak a neurodegeneráció vonatkozásában. Tanulmányunk azt igazolja, hogy egy másik folyamat, azaz a sejtciklus diszreguláció, is szerepet játszhat a sejtpusztulásban és a

betegség kialakulásában – lehet, hogy nemcsak a PS-1 mutációval járó esetekben, hanem sporadikus Alzheimer-kórban is. Erre utal, hogy sporadikus Alzheimer-kór eseteiben is igazolódott Ciklin-D1 akkumuláció (igaz, hogy főleg - de nem kizárólagosan - gliális karakterű sejtekben): kisebb számban neuronális karakterű sejtekben is igazoltuk ezt (Malik és mtsai, 2008a). A kísérletsorozatban a transzgenikus egerekből származó primer neuronális tenyészeteken is igazoltuk az apoptotikus sejtpusztulást az aberráns sejtciklusba lépett sejteken. Humán vonatkozású kísérletek kivitelezésében és értelmezésében, valamint a sejtbiológiai, biokémiai vizsgálatok tervezésében és felügyeletében vettem részt. Antonio Currais PhD hallgatóm a cikk második szerzője, akinek közleményének utolsó szerzői (Salvador Soriano és én) voltunk a témavezetői. Noha a sejtciklus reguláció terápiás targetként is szerepelhet, ez meglehetősen távoli remény, mellékhatással járhat. A szelektív tau-foszforyláció gátlás (Hu és mtsai, 2008) hamarabb lehet ígéretes klinikai terápiás módszer.

### **A CDK5 aktivátor p35-p25 a memória képzés kapcsán keletkezik és Alzheimer-kór korai stádiumában valamint skizofréniában expressziója csökken.**

#### Alzheimer-kór

A CDK5 aktivátor p35 fehérje poszt-transzlációs modifikációja kapcsán alakul ki a p25. A korábbi vizsgálatok is utaltak arra, hogy a p25-nek szerepe lehet az Alzheimer-kór kapcsán kialakuló neurodegeneratív folyamatokban (Tseng és mtsai, 2002). Ugyanakkor kismértékű p25 expresszió fokozódás egerekben javította az emlékezetet és az emlékezést (Bian és mtsai, 2002; Peleg és mtsai, 2010; Van Den Haute és mtsai, 2001). Ezen és egyéb adatok alapján feltételezhető, hogy a p25 képzés és szerep az Alzheimer-kór korai stádiumában egyfajta kompenzatórikus mechanizmus, mely a szinaptikus plaszticitás csökkenését igyekszik ellensúlyozni. Ez a hipotézis szerint az Alzheimer-kór későbbi stádiumaiban a p25 képzés már a neurodegenerációhoz járul hozzá, azaz nem kedvező hatású (Tandon és mtsai, 2003; Giese és mtsai, 2005; Taniguchi mtsai, 2001). Vizsgálatunkban ezt a korai kompenzációs hipotézist teszteltük.

Posztmortem Alzheimer-kóros agyszövetekben a p25 és annak a prekursorának, a p35-nek a szintjét vizsgáltuk különböző agyi régiókban, az Alzheimer-kór patológia (elsősorban a foszfo-tau patológiát figyelembe véve) különböző stádiumaiban különböző súlyosságú Alzheimer-kóros betegek agyait vizsgáltuk és életkorban megfelelő kontroll csoportokból származó, mintákat is analizáltunk. Vizsgálataink igazolták, hogy p25 valóban képződik a térbeli memória kialakulása, ill. létrejötte kapcsán (ezek egér kísérletek voltak, munkatársaim végezték). Igazoltuk továbbá, hogy a p25 fokozott expressziója olyan fehérjének a képződését is fokozza, melyek dendritikus tüskék, sejt-sejt közötti kapcsolatok kialakulásában fontosak (a szeptin 7 és az 'optic atrophy 1', OPA1). Ezen változások, melyek feltételezhetően a kompenzatórikus mechanizmus részei és a memória megőrzését szolgálják, a súlyosabb Alzheimer-kórban már nem működőképesek (eredményeinek legalábbis ezt a feltételezést támasztják alá). Eredményeink részletesebben a csatolt közleményben szerepelnek (Engmann és mtsai, 2011b). A p25-öt nagyobb mértékben expresszáló transzgenikus egereken végeztük a magatartási vizsgálatokat, melyek a klasszikus ún. 'Morris water maze' vizsgálat volt, ami a térbeli memória értékelésére szolgál standard módszerként. Az egyik állatcsoportot rendszeresen gyakoroltattuk, hogy az emlékezetükbe vésődjön, hogy hol találják meg a vízben azt a kis „padot”, ahol megpihenhetnek (azaz nem kell folyamatosan úszniuk; az állatok rájönnek, hogy így könnyebb az életük és ennek a megtalálására irányulnak erőfeszítéseik). Az ilyen módon edzett állatokat később az etikai szabványoknak megfelelő módon leöltük és hippokampuszukban vizsgáltuk a releváns fehérjék expresszió szintjének változását. Az immunhisztokémiai vizsgálatok a p25, p35 analízise mellett az Alzheimer-kór diagnosztikus patológiai jellemzőjének a p-tau proteinnek a kimutatását is szolgálta. Elektronmikroszkópos vizsgálatainkkal pedig (melyek a posztmortem elváltozások miatt egérben lehetségesek megfelelő minőségben, humán anyagon csökkent értékűek, így nem alkalmaztuk) igazoltuk a preszinaptikus vezikulák és a dentritikus tüskék számának kedvező változását. Eredményeinek igazolták, hogy a p25 a hippokampális emlékezetképzésben valóban központi fontosságú fehérje és ez a

mechanizmus az Alzheimer-kór korai stádiumaiban is már károsodik (Engmann és mtsai, 2011b). Eredményeink a korábban leírt kompenzációs hipotézis ellen szólnak.

### Skizofrénia

Párhuzamosan az Alzheimer-kóros, mintákon végzett vizsgálatainkkal egy másik, kognitív funkció károsodással járó és nem ritka betegségben a skizofréniában vizsgáltuk a CDK5 aktivátor p35/p25 szerepét (Engmann és mtsai, 2011a). Vizsgálatainkat egyrészt p35 heterozigóta egereken (Ohshima és mtsai, 2005; Rojas és mtsai, 2007; Chae mtsai, 1997) végeztük (mivel a homozigóta egerek nem életképesek), másrészt skizofrén betegek agymintáin végeztük. A p35 csökkent expressziója (melyet biokémiai és immunhisztokémiai módszerekkel egyaránt igazoltunk) korrelált hiszton deacetiláz (HDAC) mediálta folyamatok csökkenésével. Ez utóbbiak helyreállítása a HDAC inhibitor MS-275 vegyülettel (Simonini és mtsai, 2006) a p35 Tg egerekben a kognitív funkciók javulását és a skizofrénia molekuláris endofenotípusának kedvező irányú változását eredményezte. Eredményeink tehát a HDAC1 inhibíció (Kim és mtsai, 2008) lehetséges terápiás célpontként való azonosítását is jelenti ebben a súlyos, nem ritka, nehezen uralható pszichiátriai kórképben. A vizsgálatsorozat részeként megállapítottuk, hogy a Szeptin7 és OPA1 fehérjék, melyek expressziója függ a p35 normális működésétől (Xie és mtsai, 2007; Tada és mtsai, 2007), szintén csökkent szintet mutat a skizofréniában. Ez igazolja, hogy a p35 útvonal károsodása az ún. downstream folyamatok elégtelen működése kapcsán is kifejti patogenetikus hatását, melyek egyik fő célpontja a szinaptikus reguláció. Továbbá, skizofréniában (csakúgy, mint Alzheimer-kórban) a szinaptikus regulációnak ilyen típusú zavara figyelhető meg, miként erre utal az OPA1, Szeptin7 szint csökkenése is.

### **A CSP-alfa központi szerepe a szinaptikus degenerációban Alzheimer-kórban**

A szinapszis vesztés Alzheimer-kórban és számos más neurodegeneratív kórképben jóval megelőzi a neuronvesztést és a memóriadeficittel is jobban korrelál, mint a

neuronpusztulás mértéke (Sze és mtsai, 1997). A szinaptikus degeneráció patomechanizmusa, különös tekintettel az Alzheimer-kórban megvalósuló folyamatokra, nem ismert a kívánatos mértékben. Ezért eredményes terápiás, betegség-moduláló beavatkozások sem lehetségesek (Heinonen és mtsai, 1995). Az egyetlen mechanizmus, amit a betegség progressziójának lassítására is használtak és a szinaptikus funkcióval kapcsolatos, az a kolinészteráz gátlás, melynek révén az acetilkolin a szinaptikus résben lassabban bomlik le, tovább van ez által jelen, és így kompenzálja bizonyos ideig és bizonyos mértékig a neuronpusztulást és következményes szinapszis veszteséget. A neuronpusztulást megelőzően korai szinapszisvesztésre vonatkozóan számos adat van az irodalomban (Giese, 2014; Engmann és mtsai, 2011; Rozzini és mtsai, 2007; Vemuganti, 2005).

Vizsgálatainkban, melynek társ-témavezetett PhD hallgatóm, Sachin Tiwari az első szerzője, a preszinaptikus vezikuláris protein CSP-alfa szerepét vizsgáltuk a szinaptikus degenerációban Alzheimer-kórban (Tiwari és mtsai, 2015). Összehasonlításul kontroll betegeket használtunk. A projekt fontos aspektusa volt, hogy a cerebellum mintáit is vizsgáltuk, itt ugyanis (rita kivételektől eltekintve) neurodegeneratív kórképekben nem történik érdemi sejtpusztulás, ez a terület bizonyos szempontból védettnek látszik a kórfolyamat vonatkozásában (Alzheimer-kór esetén ez általánosságban mindenképpen kijelenthető). Korábbi vizsgálataink (Engmann és mtsai, 2011) a CDK5 aktivátor p25 vonatkozásában már igazolták olyan patomechanizmus meglétét Alzheimer-kórban (fontos kiemelni, hogy már a betegség korai stádiumában), mely kapcsolható a szinaptogenezis, a memória, szinaptikus fehérjék szintéziséhez. E mechanizmust Karl Peter Giese összefoglaló közleménye fejti ki részleteiben (Giese, 2014). Vizsgálataink igazolták, hogy a p25 csökkent szintje, nem megfelelő képződése, korai szinaptikus diszfunkciót eredményez Alzheimer-kórban. Azt is igazoltuk, hogy a p53 regulálja a szinaptikus chaperon fehérje CSP-alfa képződését és működését (Engmann és mtsai, 2011b). Ezen vizsgálati eredményeinkre és korábbi közleményeinkre építve hipotézisünk az volt, hogy a CSP-alfa expresszió Alzheimer-kórban megváltozik. Ezt posztmortem agyszöveten vizsgáltuk. Igazoltuk, hogy a CSP-alfa mind a korai, mind a



késői Alzheimer-kórban szignifikánsan csökkent a vizsgált előagyi régiókban. Érdekes módon, a CSP-alfa expresszió már azelőtt csökken, mielőtt a szinaptikus marker szinaptofizin szintje csökken, ami arra utal, hogy a CSP-alfa változása a szinaptikus degeneráció legkorábbi fázisában történik. Érdekes módon, a CSP-alfa expressziója Alzheimer-kóros betegek esetében a cerebellumban nagy fokban emelkedett. Annak ismeretében, hogy a cerebellum Alzheimer-kórban valamilyen okból védett a szinaptikus degenerációval szemben, adataink különösen érdekesek. Arra utalhat, hogy a CSP-alfának neuroprotektív szerepe lehet. Annak vizsgálatára, hogy a CSP-alfa fokozott expresszió ('upreguláció') neuroprotektív lehet, humán tau-t expresszáló transzgenikus egereket használtunk. Ez az egértörzs a teljes vad típusú humán tau gént tartalmazza, ennek megfelelően a fehérjét expresszálja és egér tau gént és fehérjét nem tartalmaz. Ezen egértörzsben a CSP-alfa expresszió és a neuronvesztés fordított arányt mutat; azaz, a CSP-alfa expresszió fokozott, amikor a neuronvesztés nem számottevő mértékű.

Ezen adatok bizonyítéknak szolgálnak, hogy a preszinaptikus vezikuláris protein CSP-alfa kulcsszerepet játszik a szinaptikus degenerációban és protektív szerepe lehet Alzheimer-kórban. Jelentősnek tartjuk, hogy a CSP-alfa változásai (csökkenése) korai Alzheimer-kórban a szinaptikus degeneráció nagyon korai stádiumával hozható kapcsolatba. A CSP-alfa szint csökkenésének megakadályozása, lassítása, illetve olyan terápiás beavatkozások, melyek a CSP-alfa szintet emelik, potenciálisan neuroprotektívak lehetnek Alzheimer-kórban.

Miként lehetséges, hogy a CSP-alfa 'upreguláció' protektív a szinapszisok vonatkozásában (miként erre utalnak az Alzheimer-kóros cerebellumban végzett vizsgálataink, legalábbis indirekt módon)? Talán az is szerepet játszhat ebben, hogy – többek között a toxikus béta-amiloid oligomerek hatására – a szinaptikus vezikuláris transzport és 'recikling' (újrahasznosítás) károsodott, ennek fontos lépése a preszinaptikus endocitózis zavara (Park és mtsai, 2013). Transzgenikus egérkísérletek is arra utalnak, hogy a preszinaptikus degeneráció központi szerepet játszik Alzheimer-kórban (Zhang és mtsai, 2012). Mivel a CSP-alfa az endocitózisban és a szinaptikus

vezikula újrahasznosításában (recikling) fontos szerepet játszik, feltételezhető, hogy a cerebelláris CSP-alfa upreguláció egy olyan kompenzatorikus mechanizmus, ami a szinaptikus vezikula újrahasznosítás (recikling) zavarát tudja kivédeni, megelőzni. További vizsgálatok lennének érdekesek a CSP-alfa knock-out, illetve a CSP-alfát nagyobb mértékben expresszáló egértörzsekben.

A vizsgálatokhoz Western blot, immunohisztokémia volt a két fő alkalmazott metodika. Az elsőszerzős PhD hallgató társ-témavezetőjeként jelentős feladatomban volt a projekt felügyeletében, az eredmények értékelésében. Ennek megfelelően, második senior szerzőként szerepelek a közleményben.

### **Humán tau fragmens overexpresszió egérben az emberi sporadikus tauopátia jellegzetességeit mutatja**

A humán tauopátiák korábbi transzgenikus egér modelljei mutáns tau expresszió révén okoztak az emberi megbetegedéshez sokban hasonlító neuropatológiai és egyéb elváltozásokat. Az emberi tauopátiák, melyek közül gyakoriságában és jelentőségében kiemelkedik az Alzheimer kór, az esetek több, mint 90%-ában nem tau gén (MAPT) mutáció kapcsán alakulnak ki. Mivel motoneuron betegség egér és celluláris modelljeiben a vad típusú fehérje overexpressziójának kóroki szerepe számos modellben igazolódott (lásd Mitchell és mtsai 2013, Mitchell és mtsai, 2015), genetikus kollégáimmal célunk olyan egér modell létrehozása és neuropatológiai karakterizálása volt, ami hasonló paradigmán alapul: azaz a vad típusú fehérje overexpresszió. Modellünk (Bondulich és mtsai, 2016) a humán agyi tau 35 kDalton méretű fragmensét (melynek expresszióját a tau promóter szabályozza) az endogén egér tau szinthez képest csupán mintegy 10%-ban overexpresszálta. Mégis, tauopátia jellegzetes neuropatológiai, kognitív, viselkedési és sejtbíológiai jellemzői alakultak ki, többek között szinapszis vesztéssel, neurofibrilláris elváltozásokkal. Ez a modell, irodalmi adatokkal alátámasztott véleményünk szerint, a humán sporadikus tauopátiákhoz leginkább hasonló állatmodell. A betegellátásban engedélyezett vegyület, a

fenilbutatrát, nagy mértékben visszafordította (!) a kialakult eltéréseket, ami munkánk betegellátás irányába mutató transzlációs jelentőségét igazolja.

### **A klaszterin jelentősége Alzheimer-kórban**

A klaszterin multifunkcionális glikoprotein, melyet apolipoprotein-J-nek is neveznek. Genome-Wide Association Study (GWAS) segítségével igazolták a klaszterin és Alzheimer-kór kapcsolatát (Harold mtsai, 2009; Lambert és mtsai, 2009). Az is ismert, hogy a klaszterin magasabb szintje az Alzheimer-kór gyors klinikai progressziójával függ össze. Pozitron emissziós tomográfiás (PET) vizsgálatok kimutatták, hogy azon betegeknél, akiknek a temporális lebenyünkben magasabb fibrilláris béta-amiloid protein szint igazolódott, azok (és csak azok) esetén a 10 évvel korábban vett plazma mintában magasabb volt a klaszterin szint. Így tehát a klaszterin egyfajta biomarkerként is alkalmazható Alzheimer-kór magas rizikójának megállapítására, még a klinikai tünetek megjelenése előtt. Ennek igen nagy jelentősége van: mint azt az értekezés korábbi részében kifejtettem, az Alzheimer-kór és a legtöbb neurodegeneratív betegség eredményes kezelése csak akkor lenne (lesz) eredményes, ha a terápiás (elsősorban gyógyszeres) beavatkozások már a klinikai tünetek jelentkezése előtt megkezdődnének a preklinikai betegségfázisban lévő betegeknél. A biomarker kutatásnak ez fontos aspektusa és a klaszterin felfedezése e téren fontos mérföldkő az Alzheimer-kór korai diagnosztikájában (Lovestone és mtsai, 2007).

A klaszterin jelentőségét az is mutatja, hogy a transzgenikus egérkísérletek (Howlett és mtsai, 2008) a klaszterin felhalmozódását igazolták az amiloid béta plakkokban. A plakk-klaszterin asszociáció azonban nem ismert pontos részleteiben, miként a plazma klaszterin és agyi klaszterin illetve amiloid béta depozíció viszonya sem, noha a fenti eredmények igen fontos információk a további kutatásokhoz.

Ezen eredményeken kiindulva vizsgálataink igazolták, hogy Alzheimer-kóros betegek agyában (összehasonlítva hasonló életkorú, demencia tüneteit nem mutató és

Alzheimer-kór neuropatológiai jellegzetességeit sem tartalmazó kontroll egyedek agyával) a klaszterin fehérje specifikus (azaz kizárólagos) kötődést mutat az amiloid béta fehérje 40 aminosav hosszúságú altípusához, míg a 42 aminosav hosszúságú béta amiloidhoz nem. Ezen felismeréseknek alapvető jelentőségük lehet a betegség patogenezis pontosabb megértésében.

Az immunhisztokémiai vizsgálatok, különös tekintettel a kettős jelöléses immunfluoreszcens analízisre, igazolták, hogy az Alzheimer-kór típusú ún. neurites plakkokban az amiloid béta-40 (azaz a 40 aminosav hosszúságú amiloid béta altípus)-hez kötődött a klaszterin, és hasonló, mintázat igazolódott az agyi erek cerebrális amiloid angiopátia (CAA) által érintett részleteiben (Howlett és mtsai, 2013). Ismerve, hogy az amiloid béta-42 az erősebb neurotoxicitású amiloid béta altípus, eredményeink alapján ehhez az is hozzájárulhat, hogy a klaszterin (számos más modellben ismert) védő, 'chaperon' jellege a kötődés hiánya miatt nem érvényesül.

Érdekes eredményekkel szolgáltak az idős, nem Alzheimer-kóros (kontroll) egyedek agyának vizsgálatai. Kiszámú ún. diffúz (nem Alzheimer típusú) plakk igazolódott (a várakozásnak megfelelően) ezen egyéneken, melyek amiloid béta-42 és kisebb mértékben amiloid béta-40 pozitívak voltak – de ezekhez a plakkhoz klaszterin nem asszociálódott. Kis számban olyan plakkok is igazolódtak, mely amiloid béta-42 és klaszterin ko-expressziót mutattak, és ezekben a plakkokban amiloid béta nem igazolódott. Összességében, az Alzheimer-kórosokhoz képest sokkal kisebb amiloid béta depozíció igazolódott és ez is döntően amiloid béta-42-nek bizonyult a plakkok vonatkozásában. Ezzel ellentétben, a cerebrovaszkuláris amiloid néhány idősödő kontroll eset agyában döntően amiloid béta-40 jelölődést mutatott, érdemi klaszterin ko-lokalizáció nélkül. Néhány agyban, a kontroll csoportban, csupán klaszterin jelölődés igazolódott amiloid béta jelölődés nem. Vizsgálatainkhoz fiatal kontroll csoportot is választottunk, melyben amiloid béta illetve klaszterin depozíció a cerebrovaszkulaturában nem igazolódott, miként az agyi parenchimában sem. Ez a fiatal kontroll csoport 25-35 éves egyedek agyát jelentette, akik nem neurológiai betegség kapcsán haltak meg.

A klaszterint eredetileg a heréből izolálták és, mint sejtadhéziós tulajdonságokkal rendelkező fehérjét írták le (Fritz és mtsai, 1983). A korábbi kutatások Alzheimer-kórosok agyában már igazolták a klaszterin és az amiloid béta asszociációját (Killick és mtsai, 2014), de a patológiai illetve patogenetikai szempontból jelentős béta amiloid altípushoz való kapcsolatát, az erekben illetve az agyállományban történő depozíció mértékét és amiloid bétával való asszociációja különbségét mi írtuk le elsőként. A korábbi tanulmányok pontszerű jelölődést igazoltak a piramis sejtekben, melyet megerősítettünk saját munkánkban is. Noha (mint fentebb említettük) a korábbi tanulmányok (McGeer és mtsai, 1992) a neurofibrilláris kötegek (melyek tau pozitívak) és a klaszterin ko-lokalizációját írták le, saját tanulmányunkban, melyek mások eredményeivel is összhangban vannak (Giannakopoulos és mtsai, 1998), ezt nem igazoltuk sem a neurofibrilláris kötegek, sem a disztrófiás neuritek (melyek a másik igen fontos tau pozitív struktúra Alzheimer-kórban és egyéb tauopátiákban) vonatkozásában. A különböző tanulmányok közötti ellentétes eredmény lehet, hogy a különböző antitestek, eltérő immunhisztokémiai protokollok, valamint az agyszövet tárolásával, posztmortem idejével kapcsolatos különbségekre vezethetők vissza – ezeket saját tanulmányunkban is elemeztük és mások is leírták (Oda és mtsai, 1994). Ezen megjegyzésünk egy másik, posztmortem agyakon végzett vizsgálatok kapcsán gyakran felmerülő problémára irányítja a figyelmet: a posztmortem idő, valamint egyéb szöveti faktorok, úgymint (pH), a beteg agonális állapota (pl. az, hogy szeptikus volt-e vagy sem, jelentős hipoxia előzte-e meg közvetlenül a halált vagy sem) szintén befolyásolják a szöveti integritást és az eredményeket, a vizsgálatok kimenetelét. További fontos marker a szöveti integritás vonatkozásában az ún. RIN (RNA Integrity Number), melynek 6.5 feletti értéke esetén várható jól reprodukálható és tudományosan robusztus eredmény. Ezért erre tanulmányainkban (főleg a legutóbbi évek közleményeiben) kiemelt figyelmet fordítottunk.

Eredményeink magyarázatához, értékeléséhez fontos annak ismerete és hangsúlyozása, hogy az Alzheimer-kórral jellemző neurites plakkok, illetve a cerebrális amiloid angiopátia (CAA)(mely szintén Alzheimer-kórra jellemző, de arra nem

kizárólagosan) esetén más-más amiloid béta típus depozíciója igazolható. Míg az agyállományban, a neurites plakkokban döntően az amiloid béta-42, addig a CAA-ban az amiloid béta-40 (Shibata és mtsai, 2000). Ezt vizsgálataink is megerősítették. A cerebrovaszkuláris amiloid eredete nem teljesen tisztázott. Roy Weller, Southampton-i neuropatológus egyre több irodalmi adattal megerősített hipotézise alapján a béta amiloid az agyból (mintegy védekező mechanizmusként) transzportálódik az erek, illetve a liquor tér felé, és ennek a folyamatnak következménye, gyakori velejárója az érfalban történő depozíció a CAA kialakulása (Weller és mtsai, 1998; Nicoll és mtsai, 2004). Ezen hipotézis szerint a CAA tulajdonképp egyfajta protektív mechanizmusnak a velejárója. Több kísérlet, beleértve állatkísérleteket is, kimutatták, hogy az agyállományban történő kóros amiloid depozíció és az érfalban történő amiloid depozíció inverz kapcsolatot mutat (Mann és mtsai, 1996). Ugyanakkor számos eredmény és vizsgálat ezt nem tudta ilyen pontosan megerősíteni. Az is hangsúlyozandó, hogy az Alzheimer-kór végállapotában, mikor a védekező és protektív mechanizmusok teljes kimerülése, az agyi homeosztázis integritásának teljes összeomlása alakul ki, mind az érben, mind az agyállományban már extrém mennyiségű kóros fehérje deponálódik, tehát az ilyen végstádiumú agy a fenti hipotézis (és oly sok más patomechanisztikus tényező) vizsgálatára nem alkalmas.

A klaszterin jelentősége az Alzheimer-kór kialakulásában továbbra is igen vitatott. Noha ún. chaperon azaz védőfehérjeként is jellemezhető, egyértelműen pozitív és protektív jellege, legalább is az Alzheimer-kór vonatkozásában, nagyon is kérdéses. Killick és munkatársai (Killick és mtsai, 2014) állatkísérletes vizsgálatai amellet szoló érveket sorakoztatnak, hogy a klaszterin fokozott expressziója ('upreguláció'-ja) elősegíti és súlyosbítja a béta amiloid neurotoxicitást és a tau hiperfoszforilációhoz is hozzájárul; ennek igazolására intracellularis szignál transzdukciós (jelátviteli) útvonalak aktiválódását is sikerült kimutatniuk. Mindezek is aláhúzzák annak jelentőségét, hogy a béta amiloid és klaszterin viszonyát az Alzheimer-kórban, humán, posztmortem vizsgálatokban ko-lokalizációs analízissel is elemezni kell, és munkánk ehhez tett hozzá számottevő új adatokat.

Az immunhisztokémiai vizsgálatokhoz korábban formalin (formic acid) előkezelést alkalmaztak, mely nem specifikus jelölődést nagyobb mértékben eredményezett (Kitamoto és mtsai, 1987; Miller és mtsai, 2011). Vizsgálatainkban ezen előkezelést mellőztük, helyette a már standardnak mondható citrátos előkezelést és mikrohullámú utókezelést alkalmaztuk. A korábbi eredményekhez képest részben eltérő eredményeink a korábbinál alkalmazottnál ma már korszerűbb, specifikusabb, anti-amiloid béta, illetve anti-klaszterin antitestek alkalmazásával is magyarázható (az első vizsgálatok még a 90-es években, az immunhisztokémiai vizsgálatok korai időszakában történtek; Giannakopoulos és mtsai, 1998).

## **LEWY TESTES DEMENCIA ÉS PARKINSON-KÓRHOZ TÁRSULÓ DEMENCIA**

### **Regionális multiplex patológia 'score' és progrediáló kognitív deficit összefüggése Lewy testes demenciákban**

A Lewy testes demenciák két fő csoportja a demencia Lewy testekkel (DLB) és a Parkinson-kórhoz társuló demencia (PDD; Kövari és mtsai, 2009; McKeith és mtsai, 2003; Compta és mtsai, 2011). Mindkettő alfa szinukleopátiaként szerepel a betegség csoportosításban (Irwin és mtsai, 2013; Halliday és mtsai, 2011). Végstádiumában e két betegség sem klinikailag, sem neuropatológiailag nem különböztethető meg. A diagnosztikus kritérium (leegyszerűsítve) alapvetően az, hogy amennyiben a mozgási tünetek és a demencia közel egy időben kezdődtek (1 éven belüli) DLB a diagnózis, amennyiben pedig a demencia csak a mozgászavart követően több évvel jelentkezett, PDD-ről van szó (Kalaitzakis és mtsai, 2011). Ezen kórképek további fontos és tudományos szempontból igen érdekes jellemzője, hogy a domináns alfa szinuklein patológia mellett gyakori az Alzheimer-kór patológia jelenléte (azaz hiperfoszforilált tau és béta amiloid depozíció is jelentkezik (Clinton és mtsai, 2010). A teljesség kedvéért megemlítjük, hogy (miként gyakorlatilag valamennyi neurodegeneratív demenciában, kivéve a fiatal életkorban jelentkező, általában genetikailag determinált korszámú esetet) vaszkuláris eltérések is társulnak a proteinopátiákhoz, döntően

szubkortikális vaszkuláris demencia morfológiai szubsztrátjai képében. Korábbi tanulmány és jelentős részben „általános vélekedés” szerint az alfa szinuklein patológia súlyosbodása a demencia szinte kizárólagos oka és annak mértékével jól korrelál (Horvath és mtsai, 2013; Schneider és mtsai, 2012). Más tanulmányok (Compta és mtsai, 2011; Irwin és mtsai, 2013) ugyanakkor a neokortikális amiloid béta és p-tau patológia fontosságát vetették fel (noha ez a tanulmány csak PDD-s eseteket tartalmazott, DLB-s eseteket nem). Tudománytörténeti érdekességgént megjegyzem, hogy Lewy testes demenciák korábban mint az Alzheimer-kór Lewy testes variánsa szerepeltek a neurodegeneratív betegségek osztályozásában (Di Patre és mtsai, 1999). Pletykaszintű információ, hogy ezen nomenklatura fenntartása mellett még akkor is sokan érveltek, amikor tudományos vizsgálatok már egyértelműen bizonyították, hogy az Alzheimer-kórtól jól elkülönülő, saját betegség(ek)ről van szó. Az egyik fő érv az volt, hogy az Alzheimer-kórral kapcsolatos kutatásokra mindig is sokkal bőségesebben álltak rendelkezésre források, mint egyéb, demenciát okozó kórfolyamatokra. Különösen fennállt annak „veszélye”, hogy egy önállósuló nozológiai betegség entitás esetén az ez irányú kutatások lendülete megtörik, hogyha azt elválasztják a korábban „anyabetegség”-nek vélt Alzheimer-kórról.

Többek között a fent leírtak alapján vizsgálataink fő célja az volt, hogy a két legfontosabb Lewy testes demenciában, négy releváns agyi régióban (ezen régiókat aszerint választottuk, hogy szinukleinopátiákban, Alzheimer-kórban, mindkettőben vagy egyikben sem gyakran érintett), az alfa szinuklein p-tau és béta-amiloid patológia súlyosságát vizsgáljuk (Howlett és mtsai, 2015). A vizsgálatok fő iránya a neuropatológiai értékelésen alapult, szemikvantitatív (0-3-ig terjedő) módon. A szinukleinopátiák esetében a Lewy testeket, disztrófiás Lewy neuriteket, Alzheimer-kór esetében a tau pozitív kötegeket és neurofibrilláris fonatokat, szálcsákat, béta amiloid esetében pedig az Alzheimer-kór típusú plakkokat értékeltük. Azokat az antitesteket használtunk, melyek a rutin patológiai diagnosztikában ajánlottak és számos más tanulmány alapján is legmegfelelőbbek e patológiák értékelésére, mind diagnosztikus, mind tudományos szempontból. Emellett immunoesszé vizsgálatokat is



végeztünk amiloid béta 42, ill. 40 aminosav hosszúságú variáns, a foszfo-tau (p-tau) és totál tau irányában. A statisztikai vizsgálatokat non-parametrikus korrelatív tesztek és regressziós analízisek alapján végeztük, miként az közleményünkben részletesebben is szerepel (Howlett és mtsai, 2015). A klinikai adatok alapján a demencia teszt (MMSE) halál előtti eredményét, valamint a több éves utánkövetés során észlelt MMSE értékromlás progressziójának mértékét is korreláltattuk a morfológiai és immunoesszé eredményekkel. Eredményeink igazolták egyrészt a korábban már ismert tényt, hogy az alfa szinuklein patológia súlyossága összefüggést mutat a kognitív képességek csökkenésével, a demencia súlyosságával. Ennél fontosabb eredményünk, hogy igazoltuk, hogy mindkét Lewy testes demenciában (azaz a PDD-ben és a DLB-ben egyaránt) az Alzheimer-kór típusú tau és béta amiloid patológia együttes fennállta az alfa szinuklein patológiával nagyobb fokú kognitív deficitet, gyorsabb állapotromlást eredményez (természetesen neuropatológiai vizsgálattal csak a végállapot értékelhető; de azokban az esetekben, ahol a posztmortem vizsgálat súlyos komorbiditást igazolt, a premortem kognitív állapotromlás mértéke is szignifikánsan magasabbnak bizonyult).

További érdekes eredmény, hogy a memóriadeficitet tükröző MMSE teszt értékének csökkenése pontosabb jelzője volt az ezzel együtt járó patológia súlyosságának (posztmortem vizsgálatkor), mint a halál előtti legutolsó MMSE vizsgálat (teszt) eredménye. Az immunoesszé eredmények egyes régiókban (pl. a BA9 frontális agyi régióban és a BA21 temporális agyi régióban) szoros, szignifikáns korrelációt mutattak az amiloid béta 40 és 42 koncentrációjával, ill. a neuropatológiai vizsgálattal értékelhető ún. plakk score-ral. Tau esetében a korreláció kevésbé volt egyértelmű. Az amiloid béta 42 csak a DLB (és nem a PDD) csoportban mutatott szignifikáns korrelációt a kognitív hanyatlással (azaz az MMSE értékcsökkenése mértékével). Nagyszámú változó és neuroanatómiai régió, valamint betegcsoport közötti összefüggések statisztikai analízise, azok eredményei, közleményünkben szerepelnek részletesen (Howlett és mtsai, 2015). Az eredmények összességében igazolják, hogy a proteinopátia-jellegű patológia összegzett értéke (azaz a fő, alfa szinuklein patológia

mellett a járulékos béta amiloid, ill. tau patológia figyelembevétele is) pontosabban korrelál a kognitív képességek hanyatlásának mértékével, és logikus következtetés, hogy ezek a kórfolyamatban is szinergisztikus módon vesznek részt. Klinikai vonatkozása vizsgálatainknak, hogy ezek alapján joggal felmerül, hogy Lewy testes demencia valamelyik formájában szenvedőknél, amennyiben Alzheimer-kór típusú patológia valamilyen módon igazolható (pl. speciális PET vizsgálatokkal), anti-Alzheimer-kór terápia is indokolt. Kérdéses, hogy ex juvantibus kezelés adható-e a Lewy testes demencia betegcsoporthoz tartozó érintetteknek.

Eredményeink tovább erősítik azt az ismeretet (melynek jelentősége még sem a kutatásban, sem a klinikai gyakorlatban nem eléggé kerül figyelembe vételre), hogy neurodegeneratív betegségek nagyon gyakran kevert proteinopátiák összességei, ahol az egyik, domináns proteinopátia mellett egyéb kóros fehérjék is megjelenhetnek (melyek egyébként más kórképekre jellemzők dominánsan).

### **Lewy testes demenciában a kognitív hanyatlás gyorsabb, mint Alzheimer-kórban**

A harmadik munka egy ötéves prospektív vizsgálat, mely az eddigi legnagyobb DLB betegcsoporton, az eddigi leghosszabb utánkövetéses tanulmány (Rongve és mtsai, 2016). Itt is a boncolásra kerülő eseteknél a neuropatológiai diagnózis megállapításában, az eltérések neuroanatómiai eloszlásának jellemzésében, a klinikopatológiai korrelációban, a közlemény elkészítésében vettem részt. DLB mellett, mint neurodegeneratív kontrolcsoport, Alzheimer-kórban szenvedő betegek is részt vettek a tanulmányban. A korábbiakhoz hasonlóan, ennek a tanulmánynak is erőssége és különlegessége, hogy enyhe kognitív zavarral küzdő betegeknél kezdődött az utánkövetés, azaz a kórkép klinikailag potenciálisan (jobban) befolyásolható fázisában analizáltuk a betegeket. A vizsgálat legfontosabb eredménye, hogy igazolta (részletes statisztikai analízissel megerősítve), hogy a DLB betegek esetében a kognitív hanyatlás gyorsabb, mint Alzheimer-kóros betegeknél. Ennek jelentősége van a kezelés

megtervezése, a beteg illetve a család részéről a várható kimenetelre és tünetekre való megfelelő felkészülés vonatkozásában. Mindennek természetesen egészségügyi-ökonómiai szempontjai, konklúziói is vannak. Ezen túl a klinikai vizsgálatok ('trials') tervezésénél is figyelembe veendő ez a különbség, azaz az Alzheimer-kóros és DLB-s betegeket nem helyes, ha homogén „demencia” csoportot képeznek (Ferman és mtsai, 2004). További neuropatológailag releváns eredménye ennek a vizsgálatnak, hogy megerősítette azt a korábban is már többször leszögezett tényt, hogy a neurodegeneratív demenciák biztos diagnózisa csak a neuropatológiai vizsgálattal lehetséges (ritka kivételektől eltekintve). A legalaposabb klinikai vizsgálat is eltéréseket mutat a klinikai, illetve a neuropatológiai diagnózis összevetése vonatkozásában. Ez aláhúzza annak jelentőségét, hogy demens betegeknél lehetőleg kerüljön sor alapos (standardoknak megfelelő, részletes) neuropatológiai analízisre. Ennek pénzügyi vonatkozásai (azaz a neuropatológiai vizsgálat költségei) azonban Magyarországon nem állnak rendelkezésre. Ha figyelembe vesszük, hogy a betegség kezelése (az adott beteg vonatkozásában) sokszorosa, mint a végleges és biztos diagnózist adó vizsgálat költsége, akkor mindenképpen érdemes lenne erre egészségpénztári vagy más forrásból finanszírozási keretet biztosítani. Ebben a vizsgálatban a betegcsoport további követése folyamatban van és a hosszabb utánkövetési idő után újabb hasonló tanulmányok várhatóak, immár nagyobb neuropatológailag igazolt esetszámmal, feltehetően a mostani publikációnál magasabb impakt faktorú folyóiratban.

### **Depresszív tünetek demenciában: kliniko-patológiai tanulmányok Lewy-testes demencia (DLB) és Parkinson betegséghez társuló demencia (PDD) kórképekben**

A depresszió sokszor korai, néha első tünete a neurodegeneratív kórképeknek. Ezért ennek korai felismerése, kezelése kiemelt fontosságú – nemcsak a beteg, hanem család és a gondozók szempontjából is. A Lewy-testes demencia (DLB) és depresszió kapcsolata sokkal kevésbé ismert, mint Alzheimer-kór esetében. Többek között emiatt

a depresszió gyakoriságának, jellemzőinek és a diagnózissal, a rizikó faktorok közül az APOE genotípussal, klinikai tünetekkel való összefüggését két klinikai tanulmányban elemezte Frederike Fritze a Stavangeri Egyetem doktorandusza, Dag Aarsland professzor munkacsoportjából. Ezen munkákban illetve e közlemények kialakulásához nem járultam hozzá olyan nagymértékben, mint a munkacsoporttal közös más tanulmányokhoz. A kézirat elkészítésében közreműködéssel és konzultatív munkával tettem meg azt a hozzájárulást, amivel a nem szembetűnően sok szerzős (5 illetve 8) közleményekben társszerzőként szerepelhetek. Hasonló jellegű, klinikai munka Auning elsőszerzős közleménye, mely szintén az Aarsland vezette munkacsoporttal valósult meg. Közreműködésem ebben is hasonló, mint a fent jelzett két munkában. A vizsgálatok a depresszió gyakoriságát igazolták a DLB betegek esetén, mint gyakori kezdeti illetve korai tünet. Számos, klinikai szempontból kiemelten fontos különbség mutatkozott a tünetlista vonatkozásában Alzheimer-kór és DLB összehasonlításakor. Ezen megfigyelések a jelenleg is folyó klinikopatológiai tanulmányaink egyik fő területét képezik. Az alábbiakban három utánkövetett betegcsoport ('kohort') klinikopatológiai vizsgálati eredményeit összegzem röviden. Ehhez a munkához az időközben meghaltak neuropatológiai vizsgálati eredményeivel járultam hozzá, valamint a közlemény elkészítésében vettem részt.

Az első tanulmány (Fritze és mtsai, 2011a) Lewy-tesztelés demencia és Alzheimer-kór vonatkozásában a depresszív tünetek gyakoriságát elemezte. Ehhez a munkához az időközben meghaltak neuropatológiai vizsgálati eredményeivel járultam hozzá, valamint a közlemény elkészítésében vettem részt. Az eredmények közül kiemelendő, hogy mindkét demencia típus esetében a kognitív hanyatlás a depressziós tünetek súlyosbodásával összefüggést mutat. Továbbá, hogy az utánkövetés kezdetén depressziós betegek többsége az utánkövetés időszak végére is depressziós volt, a pszichiátriai kezelési protokollok ellenére. Fontos kiemelni, hogy noha a vizsgálatban elsősorban enyhe demenciában szenvedő betegek szerepeltek, közöttük is gyakori volt a depresszió. Ezt azért lényeges hangsúlyozni, mert számos korábbi tanulmány már igazolta, hogy súlyos demenciában jelentős depresszív komponens mutatkozik a

betegek számottevő részében (Stetler és Miller, 2011; Fritze és mtsai, 2010; Korczyn és Halperin, 2009; Montgomery és Asberg, 1979), (Weintraub és mtsai, 2010a). Eredményeinek alapján hipotetizálható, hogy a kognitív hanyatlást csökkentő gyógyszerek a depresszív szimptomákra is kedvező hatással lehetnek.

A következő tanulmány (Fritze és mtsai, 2011b) szintén az enyhe demenciában jelentkező depressziót vizsgálta, különös tekintettel a klinikai tünetek, diagnózis, és az Apolipoprotein E (Apo E) genotípus összefüggéseire (Delano-Wood és mtsai, 2008; Jiang és mtsai, 2008; Slifer és mtsai, 2009). E munkában is a boncolásra kerülő esetek neuropatológiai feldolgozásával, klinikopatológiai korrelációval, a közlemény elkészítésében való közreműködéssel vettem részt. Eredményként megállapítható, hogy (mint azt korábbi vizsgálataink is igazolták) már enyhe demenciában is viszonylag gyakori a depresszió. Továbbá, hogy ez gyakoribb és súlyosabb DLB esetén, mint Alzheimer-kórban. Az Apo E genotípus korrelációs vizsgálatok (melyekben nem vettem részt) igazolták, hogy az Apo E4 szignifikáns összefüggést mutat a depresszió gyakoriságával.

### **A depresszió és a szinaptikus cink ion szabályozása Alzheimer-kórban, Lewy-testes demenciában és Parkinson-kór demenciában (DLB ill. PDD)**

Amint korábbi tanulmányainkban is igazoltuk, a depresszió gyakori demenciában: kb. 20% Alzheimer-kórban és 30% fölötti DLB ill. PDD esetén (Fritze és mtsai, 2011a; Fritze és mtsai, 2011b). Ennek igen nagy jelentősége van, mivel kognitív zavar melletti hangulati eltérések nemcsak a beteg, hanem a hozzátartozó, gondozó illetve összességében az egész egészségügyi ellátórendszer számára jelentős további terheket jelentenek, beleértve a jelentős pénzügyi kiadásokat is (Byers és Yaffe, 2011). Továbbá a depresszió, mint a demencia fontos és kiemelt rizikófaktora is ismeretes (Gracia-García és mtsai, 2015; Köhler és mtsai, 2011). További probléma, hogy a jelenleg klinikailag alkalmazott antidepresszánsok, melyek a nem demens populáció estében gyakran igen hatásosak, az AD ill. PD beteg populációban nem tűnnek effektívnek

(Munro és mtsai, 2012; Bains és mtsai, 2002; Weintraub és mtsai, 2010b; Banerjee és mtsai, 2011; Banerjee és mtsai, 2013). Mindezek alapján felmerül annak lehetősége, hogy a demens betegek esetében a depresszió más molekuláris mechanizmussal alakul ki, mint a nem demens populációban. E kérdés megválaszolása kiemelt jelentőségű, hogy mihamarabb eredményesebb terápiás beavatkozások, kezelések legyenek lehetségesek. Így került figyelmünk előterébe a cink homeosztázis és a szinaptikus diszfunkció problematikája a depresszió vonatkozásában. A szinaptikus és (neuronális) cink szintet a különböző cink transzporterek (ZnTs) szabályozzák. Ezek cinkszállító fehérjék, a cink ionokat kivonják a citoszolból, és a megfelelő orgenellumokhoz szállítják, ahol funkciójukat kifejtik; adott esetben ez nem egy orgenellum, hanem egy neuroanatómiai egység, úgymint a szinapszis. Egyszerűsítve úgy is fogalmazhatunk, hogy valamennyi orgenellum ill. neuroanatómia egység saját cink transzporterrel rendelkezik. A szinaptikus jelátvitelben fontos cink transzporter a ZnT3, ami a cink ionokat a glutamáterg vezikulákba szekvesztrálja, még mielőtt a glutamát azokból felszabadul és ezáltal a szinaptikus jelátvitel egyik fontos modulátora is (Palmiter és mtsai, 1996; Linkous és mtsai, 2008; Cole és mtsai, 1999; Gundelfinger és mtsai, 2006). Indirekt módon erre utal, hogy a cink megvonása a táplálékból rágcsálókban a szinaptikus cink szint jelentős csökkenését eredményezi és az állatok depresszió-szerű tüneteket mutatnak. Ha pedig antidepresszáns jellegű molekulákat adunk, akkor a depresszió-szerű tünetek csökkennek és a szerzők úgy gondolják, ennek a hatásmechanizmusa a cink koncentráció kedvező változásában rejlik (Swardfager és mtsai, 2013; Nowak és Schlegel-Zawadzka, 1999; Takeda és mtsai, 2012). Egy másik, eltérő mechanizmusú, módszer az elektrokonvulzív terápia, melyet (főleg korábban) szintén alkalmaztak a súlyos depresszió kezelésére. Egyes adatok szerint ez szintén növeli a szinaptikus cink ion szintet (Nowak és Schlegel-Zawadzka, 1999). Számos tanulmány utal arra, hogy a csökkent szérumszintű cink koncentráció és a depresszió között kapcsolat van; többségében a szérumszintű cink szintjének a csökkenése (Swardfager és mtsai, 2013). Klinikai tanulmányok (noha nem nagyszámú betegcsoporton) szintén azt igazolják, hogy cink szupplementáció kedvező hatású lehet depresszió

vonatkozásában, akár járulékos antidepresszív kezelés nélkül vagy azzal együtt (Lai és mtsai, 2012).

Tanulmányunkban a ZnT-3 szintjét vizsgáltuk Alzheimer-kóros, DLB-s valamint PDD-s betegekben és a cink szint és a depresszió (a klinikai betegadatokból ismert) súlyosságát hasonlítottuk össze (Whitfield és mtsai, 2015a). A 9-es Brodmann areát (BA9) választottuk, mivel ezen dorzolaterális/frontáliskortikális régió a frontális-szubkortikális neuronális hálózatok révén a depresszió neuroanatómiájában ismert és fontos szerepet játszik. Továbbá, e régió mind térfogatában, mind metabolikus aktivitásában érintett lehet depresszióban (mindkettőben csökkent) és a DLB tüneteinek és patológiájának is egyik fontos neuronatómiai szubsztrátja (McKeith és mtsai, 2005; Khundakar és mtsai, 2009; Khundakar és Thomas, 2009). A másik két régió, melyet összehasonlításul választottunk, a következők voltak: a gyrus cinguli elülső része (BA24), valamint a parietális lebeny alsó lobulusa (BA40). Alaphipotézisünk a következő volt: a ZnT-3 szintje a prefrontális kortexben csökkent, ez a szinaptikus cink reguláció zavarát eredményezi, ami depresszióval társulhat a vizsgált demenciákban.

Vizsgálatot nagyszámú beteganyagon végeztük, megfelelő kontroll csoporttal együtt. A ZnT-3 szintjét Western blot módszerrel vizsgáltuk, melyhez mintegy fél gramm fagyasztott agyszövetet izoláltam, amit aztán homogenizáltunk és a fehérjeszint meghatározásra került. Ehhez gélelektroforézissel (10%-os SDS-PAGE) megtörtént a fehérje szeperáció, nitrocellulóz membránra a transzfer és anti-ZnT-3 antitesttel detektáltuk a fehérjét. Kontrollként anti-béta 3 tubulin reakció történt, ennek szintjére normalizáltuk a ZnT-3 szintet. A kvantifikálása az ún. Odyssey fluoreszcens szkennelés módszerrel történt. Patkány agykéregből vett minták szintjét tekintettük alapértéknek, ehhez viszonyítottunk. Azért döntöttünk a patkány agykéregszint alapértékének tekintése mellett, mert a béta-3 tubulin szintje a régióktól függően jelentősen változott. Protein kémikus munkatársaimmal történt konzultáció alapján hoztuk meg ezt a döntést.

A statisztikai analízist egyrészt regresszió analízissel, másrészt Mann-Whitney tesztel végeztük a fehérjék vonatkozásában. ANOVA ill. Bonferroni tesztek is végeztünk ('post-hoc') a depresszió és a fehérjeszint összehasonlítására.

Eredmények: miután összesen 95 beteg illetve kontroll 3 régióját megvizsgáltuk a BA9-es régióban a ZnT-3 szintjének csökkenése és a depresszió között magasan szignifikáns összefüggést találtunk, mely a különböző demencia típusok vonatkozásában egyaránt fennállt. Férfi-nő különbség nem igazolódott. Ezt a kérdést azért is vizsgáltuk alaposan, mert ismeretes, hogy egyes demenciák, mint például az Alzheimer-kór, nőkben gyakoribbak (Barnes és mtsai, 2005; Rocca és mtsai, 1991; Fratiglioni és mtsai, 1997). Eredményeink arra utalnak, hogy a cink szint modulációjára irányuló terápiás próbálkozások kedvezőek lehetnek a vizsgált demenciákban gyakori depresszió kezelésében is.

### **A szinaptikus fehérje ZnT-3 és PSD-95 vizsgálata DLB, PDD és Alzheimer-kór vonatkozásában**

Korábbi vizsgálatainkban (lásd feljebb) a ZnT-3 és a depresszió kapcsolatát igazoltuk a három jelentős demencia csoportban. Ezen, következő munkánkban a vizsgálatokat kiegészítettük a poszt-szinaptikus denzitás protein 95 (PSD-95) vizsgálatával, valamint ezen munkában immunhisztokémiai korreláció is történt az alfa-szinuklein, béta-amiloid, tau patológia mértéke és a ZnT-3 ill. PSD-95 immunhisztokémia illetve fehérje expresszió vonatkozásában (Whitfield és mtsai, 2014). Valamennyi eredményünket korreláltattuk a kognitív hanyatlás mértékével. Fontos vizsgálati részként, összehasonlítottuk a Lewy-testes demenciák két fő típusát, az DLB-t és PDD-t. Ismét ugyanazt a három régiót vizsgáltuk (BA9, BA40, BA24), mint a korábbi tanulmányunkban. A PSD-95 vizsgálata mellett azért döntöttünk, mert egyrészt ezt DLB és PDD esetében még nem vizsgálták, másrészt egy poszt-szinaptikus fehérjét is szeretnénk volna részletesen analizálni, és a PSD-95 szintjét Alzheimer-kórban korábban már igazolták (Love és mtsai, 2006; Gyls és mtsai, 2004). Továbbá, a PSD-95



a transzgenikus egér kísérletekben tapasztaltak alapján a tanulás és a memória deficit vonatkozásában is valószínűleg szerepet játszik (Migaud és mtsai, 1998; Adlard és mtsai, 2010; Adlard és mtsai, 2008). A neuropatológiai értékelés standard guideline-ok és kritériumok szerint történt a diagnosztika vonatkozásában, míg az immunhisztokémiai és Western blot, valamint a demencia klinikai score-ok összehasonlításához szemikvantitatív vizsgálatokat és megfelelő statisztikai teszteket alkalmaztuk. Ezek szintén számos korábbi, részben munkacsoportunk által végzett munkákra, közleményekre is alapultak. Eredményeink közül a következőket emeljük ki: a ZnT-3 és a PSD-95 szintjének csökkenése és a kognitív hanyatlás között minden betegcsoportban szignifikáns összefüggés igazolódott. Ennek mértéke azonban a különböző agyi régiókban változó volt, a legkifejezettebb a prefrontális kortexben (BA9)-ben volt, ami ezen régió kognitív funkcióban játszott fontos szerepének ismeretében nem meglepő. A szinaptikus fehérjék szintje és a neurodegeneratív kóros proteinek (béta-amiloid, tau, alfa-szinuklein) között is számos szignifikáns korreláció igazolódott. Ami fontos, meglepő és érdekes lelet volt, hogy a két alfa-szinukleinopátia, melyek a Lewy-testes betegségek csoportjának fő reprezentánsai, a DLB a PDD között a PSD-95 vonatkozásában jelentős, szignifikáns különbséget találtunk. Ez azért is érdekes, mert a kérdés továbbra is nyitott, hogy a PDD és a DLB egyazon betegség különböző megjelenési formája, vagy pedig két külön entitás. Eredményeink az utóbbi mellett szólnak. Érdekes módon a PSD-95 és ZnT-3 az alfa-szinukleinopátiákban (DLB és PDD) szignifikánsan csökkent, míg Alzheimer és kontroll egyedekben nem figyelhető meg változás. Ezek alapján fölmerül annak lehetősége, hogy ezeket a markereket biomarkerként is alkalmazzuk DLB, PDD elkülönítésére egyéb kórképektől. Jelenleg folyamatban vannak nemzetközi munkacsoportunk részéről a cerebrospinális folyadék (liquor) vizsgálatok a fehérjék vonatkozásában, biomarker analízis részeként.

## **Dinamin-1, VAMP2, Rab3A, SNAP25, és neurogranin (szinaptikus fehérjék) és a kognitív hanyatlás összefüggése Lewy-testes kórképekben**

A korábbi vizsgálatokkal (részben) párhuzamosan illetve azok folytatásaként két másik szinaptikus vonatkozású fehérjét vizsgáltunk Lewy-testes kórképekben (DLB és PDD) valamint Alzheimer-kórban és (miként korábbi vizsgálatainkban is) hasonló korú kontroll betegcsoportban (akik nem szenvedtek neurológiai kórképekben és nem mutatták neurokognitív deficit jeleit). A Dinamin-1-nek az endocitózisban, a neurotranszmitter újrafelvételben, a receptor internalizációban van szerepe és így a szinaptikus transmisszió egyik kevésbé ismert, de bizonyára fontos komponense (Torre és mtsai, 1994). A szinaptikus vezikulák endocitózisában játszott szerepét gén 'knock-out' (KO) egérkísérletek is igazolták (Raimondi és mtsai, 2011). Emellett fontos szerepet játszik a neuron szerkezeti stabilitásában, erre utal, hogy a neurit képződés stádiumában kifejezett 'upreguláció'-ja ismert (Torre és mtsai, 1994), míg a neurit retrakció kapcsán alul regulált (Hinshaw, 2000; Clayton és Cousin, 2009; Macia és mtsai, 2006). További részletes adatok közleményünkben is szerepelnek (Vallortigara és mtsai, 2014). Noha a Dinamin-1 szint a különböző demencia típusokban nem mutatott különbséget és nem eltérő a kontroll csoport részletétől sem, azonban ha a Dinamin-1 szintet a kognitív hanyatlás mértékével azonosítjuk, akkor pozitív korreláció igazolódott. Ez az eltérés a prefrontális cortex (BA9) vonatkozásában igazolódott. Érdekes módon a Dinamin-1 neuropatológiai jellemzőkkel (plakk score alfa-szinuklein pozitivitás gyakorisága, tau denzitás) sem mutatott szignifikáns összefüggést.

Ezzel szemben a kalcium /kalmodulin-dependens protein kináz II alfa (CaMK II) szintje szignifikáns különbséget mutatott valamennyi demencia típusban a kontroll csoporthoz képest. A precentrális gyrusban (BA24) a CaMK II a szinaptikus plaszticitásban és a kognitív funkciókban ismeretes szerepet játszik (Wang és Kelly, 1995; Wang és mtsai, 2005; Giese és mtsai, 1998; Kelly és mtsai, 2005; Kelly és Ferreira, 2006). Vizsgálati eredményeink ezeket lényegében megerősítik (Vallortigara és mtsai, 2015). Ezen munka eredményei további vizsgálatok szükségességére és fontosságára irányítják a figyelmet, valamint arra, hogy a kalcium diszreguláció egyes agyi régiókban

fontos lehet, melyek a CaMK-II és Dinamin-1 függő molekuláris jelátviteli mechanizmusokat is befolyásolhatják és ezáltal a kognitív hanyatláshoz hozzájárulhatnak.

Ezek után további szinaptikus fehérjék (Dinamin-1, VAMP2, Rab3A, SNAP25, és neurogranin) összefüggését igazoltuk a kognitív hanyatlás mértékével (Vallortigara és mtsai, 2015; Bereczki és mtsai, 2016).

### **Az 'unfolded protein response' (UPR) aktivációja Lewy-testes demenciákban**

Az UPR olyan intracelluláris, sejt-túlélést segítő védekező mechanizmus, mely a sokféle okból kialakuló endoplazmatikus retikulum stressz kapcsán alakul ki. Az utóbbi időben az UPR számos neurodegeneratív kórképben vizsgált, mint lehetséges terápiás célpont (Niblock & Gallo, 2012; Hortobagyi és mtsai, 2011; Uchikado és mtsai, 2006). Ugyanakkor alfa-szinuklein rendellenességekben (szinukleinopátiákban) szerepét nem vizsgálták. Az UPR útvonal fontos mediátora a glükóz-regulált protein 78 (GRP-78) melyet 'binding immunoglobulin protein' (BiP) néven is ismernek. Ezen fehérje szintjét vizsgáltuk posztmortem agyszövetben, Parkinson-kór demencia (PDD), Lewy-testes demencia (DLB) és összehasonlításként Alzheimer-kór betegi esetében, valamint a betegségekhez tartozó esetekkel egyeztetett korú kontroll egyedekben (Baek és mtsai, 2015). Western blot és immunhisztokémiai vizsgálatokat végeztünk. Eredményeink azt igazolták, hogy a GRP-78 fehérje szintje a DLB-s és PDD-s betegekben nagyobb mértékben emelkedett, mint az Alzheimer-kóros illetve kontroll esetekben, a vizsgált régiók közül a gyrus cinguliban és a parietális agykéreg részletben. Ugyanakkor nem volt érdemi (szignifikáns) eltérés a prefrontális és a temporális kortikális területeken. Az alfa-szinuklein és a GRP-78 szintje között pozitív korreláció igazolódott a gyrus cinguliban, míg az Alzheimer-kór típusú patológia inverz összefüggést mutatott a parietális lebeny vonatkozásában. A többi vizsgált eltérés nem volt szignifikáns. Eredményeink azt igazolják, hogy az UPR fontos szerepet játszik Lewy-testes

demenciákban; sőt, az UPR aktiváció ezen kórképekben nagyobb mértékű, mint Alzheimer-kórban. Ennek oka lehet, hogy az endoplazmatikus retikulum stressz mértéke szinukleinopátiákban eltérő Alzheimer-kórhoz képest. Ez újabb különbséget mutat e betegségcsoportok között. Eredményeink továbbá megerősítik, hogy az UPR-t mint terápiás célpontot érdemes az alfa-szinukleinopátiák vonatkozásában is részletesebben vizsgálni.

Az endoplazmatikus retikulum (ER) stressz gyakori eltérés neurodegeneratív kórképekben (Amarilio és mtsai, 2005). Mivel az ER fontos szerepet játszik a sejt homeosztázisának fenntartásában, a celluláris folyamatok szabályozásában illetve kontrollálásában, a nem megfelelő módon strukturált fehérjék ('unfolded proteins') és a kalcium homeosztázis zavara az endoplazmatikus retikulumban ún. ER stresszt okoz (De Brito & Scorrano, 2008). Erre az ER stresszre a sejt védekező válasza az UPR. Az UPR aktiválódás megnöveli a sejt proteinfeldolgozó kapacitását ('protein folding capacity') továbbá az ún. minőségellenőrzés és a protein degradáció mechanizmusai is kedvezően változnak. Noha az emberi testben a rosszul strukturált ('misfolded') fehérjék akkumulációja legtöbbször kezelhető probléma, többek között az sejtújdonképződés révén, a poszt-mitotikus neuronokban ez a lehetőség nem áll fenn és a neuronok túlélése igen nagy mértékben az UPR-től függ (Bernales és mtsai, 2006).

Munkánk az első igazolása az UPR aktivációnak nemcsak a Lewy-testes kórképekben, de az alfa-szinukleinopátiák tágabb betegségcsoportjában is. Az eredmények azt is igazolják, hogy amennyiben a Lewy-testes kórképekhez járulékos Alzheimer-kór típusú patológia társul (ami igen gyakran előfordul) az az UPR további aktiválódását eredményezi.

## **NEUROPATOLÓGIAI KONSZENZUS NEURODEGENERATÍV KÓRKÉPEKBEN**

### **A béta-amiloid lerakódás neurodegeneratív kórképekben és az idősödő agyban - neuropatológiai konszenzus kidolgozása**

Noha az Alzheimer-kór fő neuropatológiai jellemzőjét Alois Alzheimer több, mint 100 éve (1912-ben) leírta, a béta-amiloid, mint egyik fő kórjelző és kóroki fehérje purifikálása és karakterizálása csak 1984-ben történt meg (Glenner és Wong, 1984a; Glenner és Wong, 1984b; Braak és mtsai, 2003). További 5 év múlva igazolódott, hogy a béta-amiloid az APP prekursor fehérje kóros lebomlásának eredménye (Selkoe, 1989). Ezen felismerést követően az amiloid depozíció neuropatológiai vizsgálata kiemelt fontosságúvá vált és része a rutin neuropatológiai feldolgozásnak. Ugyanakkor átfogó, konszenzus vizsgálat mindez ideig nem történt a béta-amiloid depozíció neuropatológiai értékelésére vonatkozóan. Ennek kapcsán jegyezzük meg, hogy a béta-amiloid egyrészt az agy állományában egyrészt diffúz másrészt Alzheimer-kórra specifikus neurites plakkok formájában, továbbá amiloid angiopátiaként manifesztálódik (Aho és mtsai, 2006; Thal és mtsai, 2002). Noha mindkettő jól ismert és a neuropatológiai leletben elengedhetetlen része az Alzheimer-kóros agy jellemzésének, a leírás sokszor nem elég alapos és a szemikvantitatív becslés jelentős eltéréseket mutat neuropatológusok ill. neuropatológiai centrumok között. Ennek ismeretében és kiküszöbölésére, különösen fontos egységes álláspont kialakítása, melyet a BNE részletes vizsgálata tett lehetővé (Alafuzoff és mtsai, 2009). Összesen 26 neuropatológus elemezte a nagyszámú agyat, annak 6 olyan régióját, mely része a rutin neuropatológiai feldolgozásnak. Öt amiloid depozíciós fázist határoztunk meg, és ennek meghatározásában 81%-os egyetértés igazolódott. Az amiloid angiopátia (CAA) és annak típusa vonatkozásában 93 ill. 74%-os volt az egyetértés. Ezen eredmények (attól függ, milyen szemszögből nézzük) kedvezőnek, de akár kedvezőtlennek is tarthatók. További vizsgálatok alapultak erre (és hasonló munkákra). Ma már az Alzheimer-kór diagnosztikus kritériumai között (Montine és mtsai, 2012) egy

meglehetősen egységesnek mondható béta-amiloid depozíció vizsgálat, gradálás is szerepel.

### **Frontotemporális lobális degeneráció TDP-43-pozitív inklúziók (zárványok)kal (FTLD-TDP) - neuropatológiai konszenzus kidolgozása**

A 31 neuropatológus részvételével történt analízis az ubikvitin, p62, illetve TDP-43 ellenes különböző antitestek megbízhatóságát, a kiértékelés reprodukálhatóságát vizsgálta (Alafuzoff és mtsai, 2015). A projekt első, metodológiai részletében a p62 immunhisztokémiai jelölődés adta a legegységesebb (legmagasabb konszenzus értékű) eredményt. Ugyanakkor a diagnosztikailag leghasznosabb az anti-TDP-43 antitestek használata volt, melyek közül kiemelkedik a patológiás TDP-43-at specifikusan felismerő, ún. foszfo-specificus antitestek használata. Ez nem meglepő annak ismeretében, hogy mind az ubikvitin, mind a p62 nemcsak a TDP-43-at, hanem gyakorlatilag valamennyi neurodegeneratív proteinopátia-fehérjét (azaz a tau-t, béta-amiloidot, alfa-szinukleint, FUS-t, prion proteint, huntingtint stb.) jelöli (Pikkarainen és mtsai, 2010). Ugyanis e markerek, mármint a p62 és az ubikvitin az ubikvitin-proteaszóma szisztéma (UPS) felé degradálás céljából eljuttatott fehérjék meglehetősen univerzálisnak tartható markere.

A foszfo-TDP-43 ellenes antitestek előnye, hogy csak a kóros (hiperfoszforilált) TDP-43 fehérjét jelöli (McNicol és Richmond, 1998; Hasegawa és mtsai, 2008). Ezzel szemben az általános TDP-43 ellenes antitestek gyakorlatilag valamennyi sejtben nukleáris (fiziológiás) jelölődést adnak, mely a kóros (döntően intracitoplazmaticus, illetve disztrófiás neuritek képében megjelenő) eltérések felismerését megnehezítik. Időigényes, jelentősebb hibaszázalékkal járó vizsgálatot tesznek szükségessé, nagyobb mikroszkópos nagyítást szükségessé téve (D'Amico és mtsai, 2009; Shi és mtsai, 2001). A vizsgálat javaslatot is tett a legmegfelelőbbnek látszó antitestekre.

A projekt második részletében az FTLD-TDP szubtípusok konszenzusként elfogadott klasszifikációja szerint A, B, C altípusként jelzett osztályozást teszteltük. Ez a Mackenzie és munkatársai által 2011-es kidolgozott klasszifikáció (Mackenzie és mtsai, 2006; Mackenzie és mtsai, 2011). A vizsgálat eredményeként a C altípus diagnosztizálása esetén volt a legjobb az értékelő neuropatológusok közötti konszenzus, míg az A és a B típusok közötti differenciáció lényegesen alacsonyabb konszenzussal jellemezhető. A kevert típusok (AB, AC vagy BC), nem meglepő módon, szintén alacsony konszenzus jellemzők mellett kerültek diagnosztizálásra. A munka eredményeként, a legfontosabbakat kiemelve, megállapítást nyert, hogy a TDP-43-proteinopátiával járó demencia (FTLD-TDP) megbízhatóan diagnosztizálható neuropatológus szakorvosok által (független attól, hogy frontotemporális demencia diagnosztikában mennyire jártasak; ennek kapcsán megjegyezzük, hogy a neuropatológusok számottevő része a szakvizsga minimum követelményeken túlmenően nem tapasztalt illetve tájékozott ezen speciális, dinamikusan változó neuropatológiai részterületen. Vizsgálataink jelentőségét is aláhúzta, hogy a metodológiai fejlesztések, beleértve az egyre specifikusabb és szenzitívebb antitestek kidolgozását, a kóros proteinopátia-fehérjék vonatkozásában kiemelt jelentőségűek.

Ez a vizsgálat abból a szempontból is jelentős, hogy a neuropatológusok közötti kapcsolat erősítését szolgálja és a megjelent publikációval jelzi a neuropatológiai diagnosztika fontosságát a neurodegeneratív kórképekben általában, valamint az újnak tekinthető betegség típusok (mint az FTLD-TDP) vonatkozásában.

A munkához szöveti microarray (Tissue MicroArray, TMA) blokkokat használtunk, ami a munka és a tanulmány egyik limitációja is, ugyanis a neurodegeneratív betegségek napi és rutin diagnosztikájában nem néhány mm átmérőjű szövetdarabokat, hanem jelentős kiterjedésű (gyakran makroblokk) kimetszéseket használunk (Kauppinen és mtsai, 2006; Karlsson és Karlsson, 2011). Ez a módszer ugyanakkor (más szemszögből vizsgálva) pozitív eredményként is fölfogható, hiszen igazolja azt, hogy megfelelő szaktudással rendelkező orvosok (azaz neuropatológus szakorvosok) akár ilyen kicsiny,

mintarészleteken is elfogadhatónak tartható (helyenként kiváló) konszenzust érhetnek el a diagnózis és az elváltozások természetének megítélése vonatkozásában.

Egy ilyen vizsgálatnak (tovább)képzési, edukációs jellege is van, különösen azon neuropatológusok vonatkozásában, akik ritkábban látnak neurodegeneratív eseteket, illetve egyedül dolgozó szakemberként napi szintű konzultációra nincs lehetőségük (sajnos ez a legtöbb európai országban dolgozó neuropatológusra igaz, beleértve Magyarországot is).

### **FTLD-tau Pick testekkel a hippokampuszban - neuropatológiai konszenzus kidolgozása**

A frontotemporális demencia (FTLD) klasszikus típusa a Pick betegség (korábban valamennyi frontotemporális demenciát Pick betegségnek hívtak; Bergeron és mtsai, 2003), melynek tipikus jellemzője az ún. tau pozitív Pick testek jelenléte a hippokampuszban és az agykéregben, neuronok citoplazmájában (Dickson, 1998; Arai és mtsai, 2001; Dalfó és mtsai, 2006). BNE által koordinált munkában, melynek vezetője Kovács Gábor bécsi neuropatológus volt, nagyszámú Pick betegség eset hippokampuszának neuropatológiai vizsgálatát végeztük el (Kovacs és mtsai, 2013). A részletes vizsgálat során különböző tau ellenes antitestek (melyek közül az ún. három ill. négy 'repeat' (3R, 4R) ellenes antitestek és az általános diagnosztikában használt AT8 antitest szerepelt), alfa-szinuklein, TDP43, p62, valamint ubikvitin antitestek analízise történt. A vizsgálat Pick betegségben meglehetősen egységes patológiát igazolt és ritkán volt ko-existáló egyéb proteinopátia. Az esetek nagy többsége az ún. 3R pozitív tau zárványokat tartalmazott (azaz negatív volt a 4R pozitív inklúziók (zárványok) ellen végzett immunhisztokémiai vizsgálattal). Ugyanakkor 66 eset közül 6 ún. nem osztályozható ('unclassifiable')-nek bizonyult a jelenlegi tauopátia osztályozás alapján, melyek esetében felmerült új entitások lehetősége (pl. globuláris gliális tauopátia; (Kovacs és mtsai, 2008)). A 3R és 4R típusú tau patológiai korai leírása és jellemzése de Silva és munkatársai munkájában szerepel (de Silva és mtsai, 2006)



## **Az idősödő agy vaszkuláris eltérései - neuropatológiai konszenzus kidolgozása**

Az idősödő agyban, illetve a demenciában szenvedő betegek cerebrumában a neurodegeneratív proteinopátiák értékelésére évtizedek óta kialakultak a standardizált kritériumok, melyek rendszeresen (a kor követelménynek és a tudomány fejlődésének megfelelően kb. 10 évente) megújításra kerülnek (The National Institute on Aging, and Reagan Institute Working Group on Diagnostic Criteria for the Neuropathological Assessment of Alzheimer's Disease, 1997; Pantoni és mtsai, 2006; Fischer és mtsai, 1991). Ez sajnos nem jelenthető ki a vaszkuláris eltérésekre, melynek értékelése és megítélése meglehetősen szubjektív, centrumonként, illetve neuropatológusonként jelentős változatosságot mutat és standardizált kritériumok, stádium beosztás, gradálás gyakorlatilag nem létezik (Nagata és mtsai, 2007; Scheinberg, 1988; Montine és mtsai, 2012). Ennek szükségessége pedig egyértelmű, hiszen a vaszkuláris eltérések szerepe a demenciában egyre inkább felismert (Gorelick és mtsai, 2011). Történelmileg megemlítendő, érdekes és fontos jelenség, hogy Alois Alzheimer és kortársai neuropatológiai demencia kutatása eredményeként több, mint 100 éve meghatározásra kerültek a ma „neurodegeneratív proteinopátiák”-nak nevezett betegségcsoport legfőbb jellemzőinek fő jegyei (Stefanits és mtsai, 2012). Azonban az ő leírásuk és tulajdonképpen a neurodegeneratív proteinopátiáknak alapjainak lerakása nem forradalmasította a kor szemléletét és hosszú évtizedekig (tulajdonképpen a 70-80-as évekig) az a koncepció uralkodott, hogy a demencia döntően egy vaszkuláris probléma (Scheinberg, 1988). A molekuláris biológia, proteomika, patológia (beleértve az immunhisztokémiai módszereket is) fejlődésével a 80-as évektől kerültek felismerésre és részletesebb leírásra a neurodegeneratív proteinopátiák. Ekkor az inga átlendült a másik, demencia=neurodegeneráció végletbe (Grinberg és Heinsen, 2010). Ez számos következménnyel járt; többek között a nagy gyógyszercégek óriási összegeket fektettek a neurodegeneratív folyamatok kutatásába, melyek azonban (sajnos) gyakorlatilag mind kudarcot vallottak. Az elmúlt

10 évben az előbb jelképesen említett inga, mely a vaszkuláris és a neurodegeneratív demencia-mechanizmusok között ingadozott az elmúlt, mintegy 100 évben, kezd beállni a középvonalba: azaz annak felismerése zajlik ugyanis napjainkban, hogy a demencia vaszkuláris és neurodegeneratív folyamatok együttes következménye (Gorelick és mtsai, 2011). Sőt ennél is több: a demencia ezen folyamatok jelenleg ma még kevésbé ismert kölcsönhatásának az eredménye (az esetek többségében). Ezen is indokolja annak fontosságát, hogy a vaszkuláris eltérések neuropatológiai jellemzését közelítsük ahhoz az alapossághoz, mely a neurodegeneratív proteinopátiákra jellemző (Behrouzi és mtsai, 2016). Ehhez egy fontosnak tartható lépcső volt a BNE vaszkuláris eltéréseket egységesíteni szándékozó neuropatológiai munkája. 32 neuropatológus vett részt ebben, 22 centrumból (a debreceni neuropatológia egyetlen magyar résztvevő intézetként szerepel)(Alafuzoff és mtsai, 2012). A vizsgálat során mind a szabad szemmel látható (makroszkópos) eltéréseket, mind a mikroszkópos eltéréseket igyekeztünk összehasonlítani. Konklúzióként az állapítható meg, hogy (miként ez a kiindulási hipotézisben is szerepelt) az értékelés meglehetősen heterogén, szubjektív és további vizsgálatok szükségesek e téren.

### **Az idős kori tau asztroglipátia (Aging-related tau astroglipathy; ARTAG) neuropatológiai értékelése**

A mikrotubulus asszociált fehérje tau (MAPT) a tubulinhoz kötődve annak polimerizációját és stabilizációját, mikrotubulussá formálódását segíti (Goedert és mtsai, 1989). Amennyiben a tau hiperfoszforilált vagy mutált (illetve más, még kevésbé tisztázott eltéréseket mutat), ezt a funkciót nem tudja ellátni, a citoszkeleton stabilitása megbomlik. Ez fontos aspektusa a neurodegenerációnak (Dickson és mtsai, 2011; Kovacs, 2015; Murray és mtsai, 2014), amint ezt részletesen kifejtettük az értekezés bevezetőjében is. Ezen konszenzus közlemény kapcsán azt szeretném kiemelni, hogy a tau patológia nemcsak a neuronokban, hanem a gliális sejtekben is igen kifejezett lehet (Ikeda és mtsai, 1998; Wakabayashi és mtsai, 2000). A

jellegzetesen neuronális tau patológiával járó kórképek, úgymint az Alzheimer-kór, a frontotemporális lobális degeneráció tau patológiával (FTLD-tau), valamint a Pick-betegség döntően neuronális elváltozásokkal jár a tau patológia vonatkozásában is (Beach és mtsai, 2003). Vannak továbbá olyan kórképek, melyeknél a neuronális patológia mellett, sőt azt meghaladó mértékben, gliális patológia alakul ki. Ilyen a progresszív szupranukleáris bénulás (PSP), a kortikobazális degeneráció (CBD), az argirofil szemcse (grain) betegség (AGD), a neurofibrilláris köteg domináns szenilis demencia, melyet korábban 'tangle-only' (azaz csak kötegeket tartalmazó) demenciának ismertek (Goedert és mtsai, 1989) és ma a primer életkorral kapcsolatos tauopátia (Primary age-related tauopathy; PART) kategóriájába tartozik (Crary és mtsai, 2014). A legutolsóként említett 'tangle-only' demencia és PART igen kifejezett neuronális patológiát is mutat, azaz elkülönítendő a korábban említett tauopátiáktól. Mindezen ismert kórképekben, melyek meglehetősen jól (de természetesen messze nem eléggé) karakterizáltak, a tau patológia gyakran asztrocitákat is érint, sokféle formában. A jelen konszenzus tanulmány, mely a témában ismert és elismert patológusokat sorakoztatja fel a világ minden részéről, ezt a heterogén betegségcsoportot vizsgálja neuropatológiai szempontból és határozza meg a neuropatológiai értékelés konszenzuson alapuló stratégiai alapelveit (Kovacs és mtsai, 2016). Az ARTAG esetén megjelenő tau eltérések különböznek a korábban már jól meghatározott asztrociter tau patológiáktól (úgy, mint a bolyhos asztrocita, asztrocita plakk, elágazódó asztrocita vagy a globularis asztrogliális inklúziók (zárványok)). Ezen eltérések az időskori agyban észlelhetők, jelölődnek a foszforiláció-specifikus ún. 4R tau ellenes antitestekkel (a tauopathiák az alternatív splicing-ra visszavezethető izoformák megléte illetve hiánya alapján 3R illetve 4R tauopátiákként csoportosíthatók).

Az értékelésnek négy lépcsőjét határozták meg a tanulmányban résztvevők:

1. Öt alaptípusnak az elkülönítése, attól függően, hogy hol helyezkedik el az ARTAG-jellegű tau patológia (szubpiális, szubependimális, perivaszkuláris, fehérállományi, szürkeállományi);
2. A nagyobb neuroanatómiai régió vonatkozásában dokumentálni a

regionális érintettséget: mediális temporális lebeny, valamelyik lebeny (frontális, parietális, occipitális, laterális, temporális), szubkortikális, agytörzsi; 3. A tau asztroglipátia súlyosságának szemikvantitatív dokumentálása; 4. a szubregionális érintettség pontos meghatározása.

Ezen új betegség entitás (ARTAG) klinikai relevanciája ma még ismeretlen. Lehet, hogy összefügg neurológiai illetve pszichiátria tünetekkel, de erre vonatkozóan meggyőző adatok még nincsenek; ezek további vizsgálatokat igényelnek, klinikopatológiai korrelációval. A tanulmány a különböző tau patológiákat, melyek asztrocitákban előfordulnak, típusos képeken mutatta be, mely szintén része a konszenzusnak és a további vizsgálatok kiindulási pontjául szolgálhat. Noha mindez alapvetésnek tűnhet, mégis kiemelt fontosságú: ugyanis gyakran még a tapasztalt neuropatológusok között sem elégséges a konszenzus illetve meglehetősen individuális a megközelítése annak, hogy a sok szempontból hasonló elváltozásokat minek nevezik. Gyakran attól függ, hogy melyik „iskolába” járt a neuropatológus, a vezető intézetek picit más és más módon értékelik esetenként ezeket a morfológiailag sok hasonlóságot (is) mutató tau patológiai eltéréseket.

A tanulmány következő fázisában, mely folyamatban van, digitális neuropatológiai módszerrel, nagyobb számú kutató bevonásával történik meg a most javasolt konszenzuson alapuló értékelési módszer validálása. Az ezt követő fázis lehet a klinopatológiai korreláció, morfológiai jellegű biomarkerek azonosítása, illetve a képalkotóval (elsősorban MRI) látottakkal való összevetés. Ezt követheti aztán esetleg terápiás relevanciák, kezelési módok, klinikai kipróbálások (trial) kezdeményezése.

Fontos észlelet volt, hogy a különböző ARTAG típusok gyakran kombináltan jelennek meg. A tanulmány fontos aspektusa, hogy a neuropatológusok közötti kommunikációt, konszenzus keresést erősítette. A terminológia újra áttekintése és standardizálása igen fontos, melyet egy-két évtizedente meg kell tenni (márcsak a szövettani, immunhisztokémiai technikák fejlődése miatt is, pl. a konfokális vagy fluoreszcens mikroszkópos vizsgálatok újabb eredményeinek figyelembe vételével). A különböző

ARTAG altípusok differenciálása segít megérteni, hogy az ARTAG miként kapcsolódik egyéb tauopátiákhoz. Közlemény 4-es ábrája az ARTAG koncepció áttekinthető sémáját adja, mely a mindennapi gyakorlatban differenciál diagnosztikai problémák megoldásához is segítséget jelenthet, nemcsak a témával szorosan és specializáltan foglalkozó neuropatológusok számára.

## **CEREBROVASZKULÁRIS KÓRKÉPEK**

### **Vezikuláris glutamát transzporter-1 (VGLUT-1) és kognitív funkció összefüggése Alzheimer kórban, vaszkuláris és kevert demenciában**

A vaszkuláris demencia (egyes epidemológiai adatok szerint) a neurodegeneratív demenciák után következő második leggyakoribb oka a kognitív hanyatlásnak és demenciának (Areosa és mtsai, 2005). Fontossága ellenére jóval kevesebbet tudunk azokról a molekuláris mechanizmusokról, melyek a vaszkuláris demencia hátterében állnak.

A glutamát ismert, mint központi idegrendszer legfontosabb excitatorikus aminosav neurotranszmittere, ami a magasabb mentális funkciókban is fontos szerepet játszik (Danbolt, 2001). A vezikuláris glutamát transzportereknek számos csoportja van, ezek közül a VGLUT-1 mutat a szinapszisokkal szoros kapcsolatot, szerepe van a LTP (Long Term Potentiation)-ben és a memóriában egyaránt (Varoqui és mtsai, 2002). A VGLUT-1 ugyanakkor Alzheimer-típusú demenciában is szerepet játszhat (Kírvell és mtsai, 2006). Klinikopatológiai tanulmányunkban azt vizsgáltuk, hogy iszkémiás stroke-ot szenvedett betegeknél van-e különbség a vezikuláris glutamát transzporter 1-es típusának expressziójában a kognitív hanyatlást mutató, illetve nem kognitíve hanyatló betegek között (Kírvell és mtsai, 2010). Retrospektív betegadat analízist végeztünk, melynek része volt a kognitív tesztek analízise is. Két olyan neokortikális agyi régiót választottunk, (BA-9 és BA-20) melyekről már álltak rendelkezésre adatok Alzheimer-kór típusú demencia vonatkozásában, és melyek részei a rutin neuropatológiai

feldolgozásnak továbbá funkcionális és szinaptikus kapcsolataik révén vaszkuláris demenciában is érintettek lehetnek. A fehérjeszintet Western blot vizsgálattal mértük, az eredményeket korreláltattuk a neuropatológiai eltérésekkel (úgy mint cerebrális amiloid angiopátia és egyéb jellemzők). Általános szinaptikus markerként szinaptofizint alkalmaztunk – ez valamennyi vizsgált betegcsoportban (vaszkuláris demencia, kevert Alzheimer és vaszkuláris demencia, Alzheimer-kór, 'stroke without demencia') esetében a kontrollhoz képest szignifikáns, a csoportok között viszont nem szignifikáns különbséget mutatott. A VGLUT-1 szintje a demenciát nem szenvedő stroke-os betegek esetében magasan szignifikánsan emelkedettebb volt, mint valamennyi más demencia csoportban (vaszkuláris demencia, kevert demencia, Alzheimer demencia). Lényeges (szignifikáns) különbségeket találtunk a frontális illetve a temporális lebenyből származó kimetszések (BA-9 illetve BA-20 régiók) összehasonlításával. Ez arra utal, hogy a frontális lebenyben a kognitív deficitet nem mutató betegek esetében sokkal jobb megőrzöttséget mutat a VGLUT-1. Ezek az eredmények azt igazolják, hogy a glutamáterg szinapszisok relatív prezervációja (mely a frontális kortexben sokkal kifejezettebb, mint a temporális kortexben) fontos a kognitív képességek minél jobb megőrzésében és a stroke-ot követő demencia elleni védelemben. A VGLUT-1 fontos szerepet játszhat az iszkémiás károsodást követően a neuronális hálózatok késői, hosszabb távú rekonstrukciójában, a kognitív funkció minél jobb megőrzésében. Mindennek terápiás implikációi is vannak, melyek további vizsgálatát javasoljuk (Kírvell és mtsai, 2010).

### **Kolinacetil transzferáz aktivitás változása vaszkuláris demenciában és stroke-ban**

A kolinerg deficit az Alzheimer-kór jellemzője és ennek megfelelően a kolinészteráz inhibitorok a klinikai tünetek (elsősorban a memóriazavar) súlyosbodását jelentős ideig késleltetni képesek (Keverne és mtsai, 2007). Az acetilkolin fontos neurotranszmitter a szinapszisokban és a kolinacetil transzferázaktivitás csökkenése a neuronális

diszfunkció, szinaptikus zavar révén jelentősen hozzájárul a kognitív deficithez (Dekosky és mtsai, 2002). Ez elsősorban a neokortex, még pontosabban a frontális és temporális lebenyek területén jelentkező zavar. Korai tanulmányok (Gottfries és mtsai, 1994) vaszkuláris demenciában jelentős kognitív deficitet írtak le a 90-es évek közepén, míg több, mint egy évtizeddel később egy részletesebb tanulmány csak a vaszkuláris demencia Alzheimer-kórral szövődött eseteiben írta ezt le (Perry és mtsai, 2005). Más vaszkuláris kórképekben, úgymint a CADASIL esetén is kognitív deficitről számoltak be kutatók (Caeiro és Ferro, 2006). A vaszkuláris kognitív deficithez vezető kórképek, illetve ko-existáló patológiák részletesebb, szisztematikus analízise azonban tanulmányunkig nem jelent meg. Tanulmányunkban, mely neurokémiai, neuropatológiai vonatkozásokat egyaránt tartalmaz, az addig közölt legnagyobb betegcsoport posztmortem anyagán végeztük vizsgálatainkat (Sharp és mtsai, 2009). Az életkorban megfeleltetett kontroll csoportok mellett (multi) infarktus demencia, szubkortikális iszkémiás elváltozás kapcsán kialakuló vaszkuláris demencia (SIVD), Alzheimer-kór és vaszkuláris demencia keveredése, tiszta Alzheimer-kór, valamint stroke-ot szenvedő betegek (klinikailag detektálható demencia nélkül) csoportjait hasonlítottuk össze. A posztmortem idő, a szöveti pH, férfi-nő arány, életkor vonatkozásában a csoportok (egyetlen változó és egyetlen csoport kivételével) homogénnek bizonyultak, statisztikai szempontból is (az egyetlen kivétel az Alzheimer-kór és vaszkuláris demencia együttes előfordulása esetén az életkor volt a kontroll csoporthoz (és csak ehhez a csoporthoz) viszonyítva). A vizsgálat során a kolinacetil transzferázaktivitást vizsgáltuk két olyan neuroanatómiai régióban (frontális lebeny BA9), valamint temporális lebeny (BA20-21), melyek mind a vaszkuláris, mind a neurodegeneratív folyamatokban érintettek lehetnek (noha változó mértékben). Valamennyi eset standard diagnosztikus kritériumok alapján neuropatológiailag karakterizálva volt (három diagnosztikus centrum, összesen három konzultáns neuropatológusa részéről, melyek közül az egyik én voltam). A neurokémiai vizsgálatokhoz az agykéreg mikrodisszekciója történt (amit én végeztem). A kolinacetil transzferáz aktivitás mérése enzim esszé révén történt (Davies, 1979; Fonnum, 1975).

Meghatározott protein mennyiségre normalizáltuk az eredményeket. Részletes, több tesztet magába foglaló statisztikai analízis történt parametrikus illetve non-parametrikus releváns statisztikai módszerekkel.

Az eredmények a kolinacetil transzferáz aktivitás szignifikáns csökkenését igazolták a vaszkuláris demencia + Alzheimer-kór (azaz kevert demencia) betegségcsoportban. Infarktus demencia (poszt-stroke demencia) csoport esetén jelentős, 27%-os kolinacetil transzferáz aktivitás emelkedést észleltünk a frontális lebenyben (a temporális lebenyben nem) a kontroll csoporttal összehasonlítva).

Eredményeink egy része azt igazolja, hogy a vaszkuláris illetve kevert demenciák különböző típusainak analízise, összehasonlítása fontos, ugyanis ez messze nem homogén betegségcsoport. A vaszkuláris és Alzheimer-kór társulásával járó kevert demencia esetén észlelt szignifikáns kolinacetil transzferáz aktivitás csökkenés is aláhúzza annak jelentőségét, hogy a neurovaszkuláris egység károsodása ilyen esetben lehet a legsúlyosabb, következményes jelentős kognitív deficittel. Ez aláhúzza annak jelentőségét, amit értekezésünkben több helyen is hangsúlyoztunk, hogy mind a vaszkuláris, mind a neuronális komponensét a demencia kialakulásának fontos tanulmányozni, terápiásan kezelni és ez differenciált szemléletet igényel. A poszt-stroke demenciában észlelt kolinacetil transzferáz aktivitás emelkedés egyfajta regeneratív aktivitás (sprouting?) következménye is lehet, mint azt közleményünkben részletesen diszkutáljuk (Sharp és mtsai, 2009).

### **Szerotonin receptor kötődés változása vaszkuláris és kevert demenciában**

E tanulmányban (Elliott és mtsai, 2009) különböző vaszkuláris demencia altípusok (úgy mint multi-infarktus demencia, szubkortikális fehérállomány károsodással kapcsolatos vaszkuláris demencia, és kevert Alzheimer+vaszkuláris demencia) agymintáiból radioligand kötődéses vizsgálatok történtek a korábban leírt metodikák (Moretti és mtsai, 2008; Perry és mtsai, 2005) szerint. A tanulmányhoz klinikopatológiai



analízissal, az esetek neuropatológiai karakterizálásával és a fagyasztott agyszövet mikrodisszekciójával járultam hozzá. A vizsgálat fontos része volt az eredmények korrelálása különböző kognitív funkciót jelző tesztek eredményeivel, melyeket nem sokkal a halál előtt végeztek el a betegeken. Két fontos agyi régió, a prefrontális kortex (BA9) és a középső temporális gyrus (BA20-21) vizsgálata történt, mivel e területek érintettsége a kognitív funkcióval összefüggést mutat nemcsak vaszkuláris, de neurodegeneratív (pl. Alzheimer-kór típusú) demenciákban is. Eredményeink, melyek részletesen a Brain folyóiratban jelentek meg 2009-ben (lásd közlemények jegyzéke), a különböző vaszkuláris demencia típusok közötti különbségekre hívják fel a figyelmet neurokémiai szinten és a szerotonin receptor fontosságát igazolják a kognitív funkciókban vaszkuláris illetve kevert demenciákban. A munka jelentősége, hogy új farmakológiai kezelési lehetőségekre irányítja a figyelmet.

### **Gyulladásos mediátorok szerepe kevert és vaszkuláris demenciában**

Ez az előbb részletezetthez hasonlóan döntően neurokémiai vizsgálat, melyhez neuropatológiai analízissal, korrelációval és a szövetminta pontos neuroanatómiai lokalizáció szerinti izolálásával járultam hozzá. Emellett a kézirat elkészítésében, a munkaterv konceptualizálásában is részt vettem. A prefrontális kortex (BA9) kortikális és szubkortikális fehérállományi területeiben számos gyulladásos mediátor és kemokin kimutatását végeztük (részleteket lásd közleményünkben (Mulugeta és mtsai, 2008). Kontrollként megfelelő életkorú, demenciában illetve egyéb neurológiai-neuropszichiátriai kórképben nem szenvedő betegek mintáit használtuk. ELISA módszerrel történt a gyulladásos mediátorok kvantitatív kimutatása. A monocita kemoattraktáns protein (MCP1) drasztikus csökkenése a vaszkuláris és kevert vaszkuláris+Alzheimer-kór demenciában volt a legjelentősebb lelet. Emellett az Interleukin-6 (IL-6) szintén szignifikáns csökkenést mutatott e kórképekben. A neuro-inflammatorikus válaszreakció vaszkuláris és kevert (vaszkuláris + Alzheimer-kór típusú) demencia késői fázisában mérsékeltebb, mint Alzheimer kórban. Ezen

eredmények különböznek a korábbi, csak Alzheimer-kóros betegek mintáin nyert eredményektől, ami a neurodegenatív és vaszkuláris (ill. kevert) demenciák között újabb különbséget igazol, ami a terápiás megközelítés személyre szabottabb jellegét indokolja.

## **TRAUMÁS AGYKÁROSODÁS**

### **Amiloid prekursor protein (APP) – az axonális károsodás fontos markere**

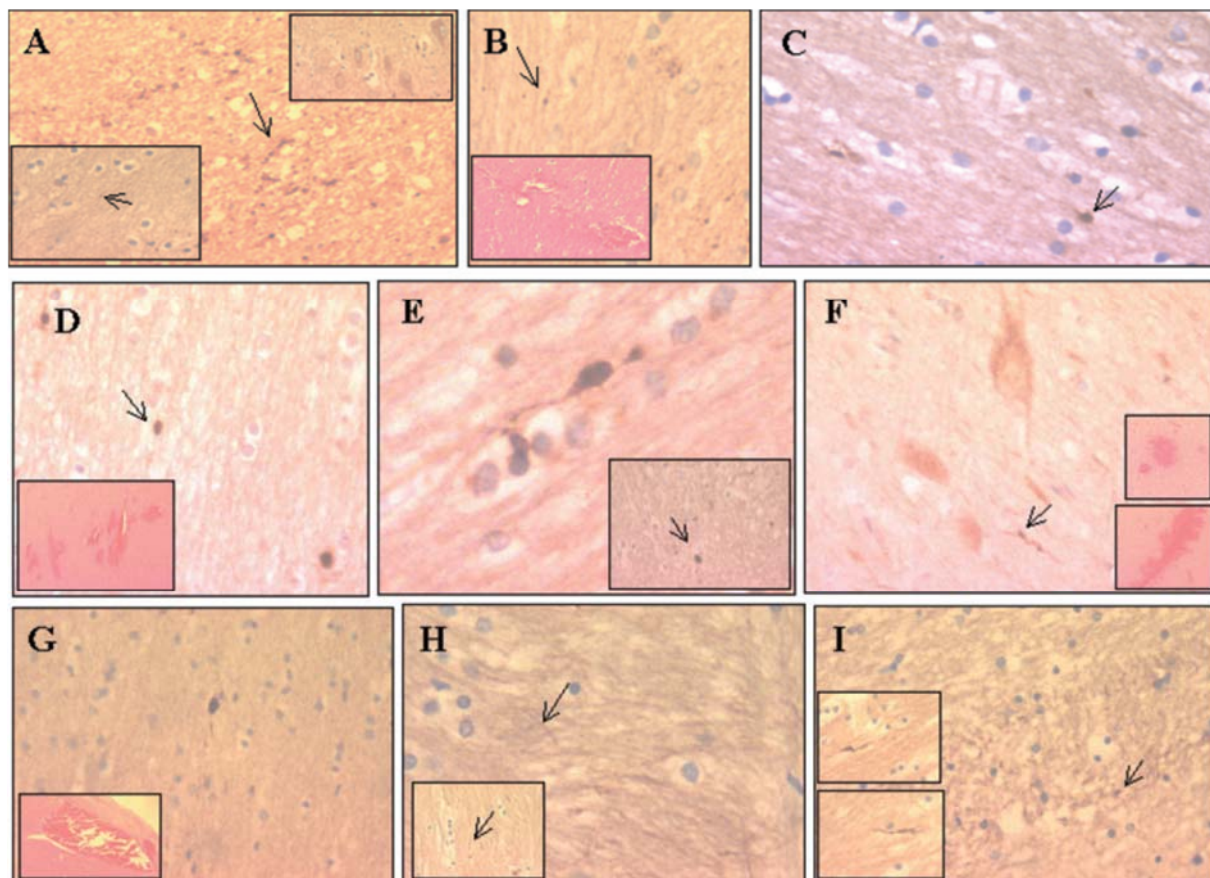
Az amiloid kaszkád lényeges korai folyamata az inszolúbilis, potenciálisan neurotoxikus béta-amiloid képződése az amiloid prekursor fehérjéből (APP). Az APP a központi idegrendszerben bőségesen előforduló (ubikviter) fehérje, mely a sejtmembrán glikoproteinjeként fontos szerepet játszik a sejtadhézióban, neuroprotektív hatású és axonális transzport révén a szinapszisba jutva ott is lényeges modulátor szerepet játszik. A neuroprotektív hatása a szekretált, és a sejt környezetébe bocsátott N-terminális fehérje fragmensek révén valósul meg leginkább. A fehérje a 21-es kromoszómán kódolt és alternatív fehérje hasítás (splicing) és proteolitikus processzálas után 3 fő altípusa ismeretes. Az axonális transzport jellegzetesen gyors anterográd mozgását (pontosabban aktív transzportját) jelenti a fehérjének. Ez magyarázza, hogy axonális károsodás esetén a károsodástól proximálisan a fehérje felhalmozódik. Ez az alapja annak, hogy az axonális károsodás immunhisztokémiai detektálására alkalmas. Az APP kóros lebomlása az ún. amiloidogén proteolitikus útvonal révén az Alzheimer-kórra jellegzetes béta-amiloidot eredményezi, mely plakkokban lerakódva az Alzheimer-kór talán legjellegzetesebb morfológiai szubsztrátuma. Fiziológiás körülmények között az axonokban élettanilag transzportálódó APP mennyisége olyan csekély, hogy immunhisztokémiaileg nem detektálható. Axonális károsodás kapcsán azonban (mint fentebb írtuk) fölhalmozódik. Noha ez a fölhalmozódás nem specifikus az axonális károsodás etiológiájára vonatkozóan, a traumás agykárosodás kapcsán kialakuló APP felhalmozódás,

mintázata jellegzetesen elkülönül a például iszkémiás behatás kapcsán kialakuló axonális károsodás mintázatától.

Az APP (többek között) a neurodegeneratív kórképek kialakulásában játszott szerepe miatt került érdeklődésünk előterébe az elmúlt évtized második felében. Ekkor jelentős számú forenzikus neuropatológiai esetet is láttam neuropatológusként, ahol gyakran felmerült a kérdés, az elhunyt szenvedett-e trauma kapcsán vagy esetleg attól függetlenül kialakuló axonális károsodást, és ha igen, ennek mértéke alapján lehet-e következtetni arra, hogy a trauma és a halál ok-okozati kapcsolatban állt; ha igen, akkor ez milyen mértékű (azaz a trauma közvetlen és egyedüli haláloknak tartható-e). A többségében fiatal elhunytakat verekedés, autóbaleset, magasból leesés vagy egyéb okból szenvedtek sérülést és később meghaltak. A bíróság számára mindig fontos kérdés, hogy a vallomások illetve videofelvételek alapján bekövetkezett trauma okozta-e a súlyos fokú agysérülést vagy az egy esetleg korábban bekövetkező trauma késői következménye (ennek lehetőségét általában a védelem kéri tisztázni bírósági ügyekben).

Vizsgálatainkban arra kerestünk választ, hogy mi az a legkorábbi időpont, amikor traumás eredetű diffúz axonális károsodás APP immunhisztokémiával kimutatható (Hortobágyi és mtsai, 2007). A korábbi adatok két órát jelöltek meg (Blumbergs és mtsai, 1995) de az APP transzportjának sebességét és egyéb élettani, ill. kórélettani szempontokat figyelembe véve feltételezhetőnek tartottuk, hogy ez már korábbi időben is kimutatható lehet. Ezért traumás esetekből 3 csoportot hoztunk létre: 30 percnél rövidebb túlélés, 35-60 perc közötti túlélés, valamint 45-109 perc közötti túlélés olyan traumás esetekben, ahol diffúz axonális károsodás illetve trauma kapcsán kialakuló halál kizártnak tartható. Vizsgálataink során fontos aspektus volt az immunhisztokémiai módszer optimalizálása, az antigén előhívó módszerek kipróbálása, az antitestek tesztelése. Eredményeinket, a módszereket

közleményünkben foglaltuk össze (Hortobágyi és mtsai, 2007). Megállapítottuk, hogy minimum 35 perces túlélés szükséges (és elégséges) olyan mértékű APP felhalmozódásra a sérült axonokban, ami rutin gyakorlatban is használható immunhisztokémiai módszerekkel detektálható (15. ábra). Közleményünk fontos hivatkozási alap azóta is bírósági tárgyalásokon. Egy másik közleményünkben (Hortobágyi és mtsai, 2008) foglaltuk össze a diffúz axonális károsodás jelentőségét



15. ábra. Korai traumás axonális károsodás kimutatása APP immunhisztokémiával. Nyíl jelöli az axonsérülés kapcsán felhalmozódó APP-t. (Részletes leírást lásd: Hortobágyi és mtsai, 2007)

valamint azt, hogy hogyan lehet ezt diagnosztizálni, miként kell értékelni. Ezen közleményünkben kitértünk az ún. „Shaken baby syndrome”-ra, mely terminológia helyett ma már „non-accidentalis károsodás” fogalmat használják.

## **A poli(ADP-ribóz) polimeráz (PARP) szerepe a neuronpusztulásban**

A PARP (1C2.4.2.30) a sejtmagban aktív enzim, mely számos szervben, köztük az agyban is előfordul (Ha és Snyder, 2000). A PARP a DNS lánc károsodott, feltöredezett területeihez köt nagy affinitással: a nyugalmi aktivitás 500 szorosát is képes elérni (Berger, 1985; Wright és mtsai, 1996). További kedvező tulajdonsága, hogy egyéb DNS reparáló fehérjékhez is képes kötődni (de Murcia és de Murcia, 1994; Zhang és mtsai, 1994). Paradox módon, a PARP nagyfokú aktivitása mégis a sejt pusztulását eredményezheti, apoptotikus mechanizmussal (Bürkle és mtsai, 1999). Ennek oka, hogy a PARP működése nagy ATP igényű és ennek kapcsán a reperiatív aktivitás mintegy feléli a sejt energiatartalékait (mely általában a DNS károsodást okozó sejttrauma miatt amúgy is limitált) és az apoptotikus kaszkád beindulását eredményezi (Muiras és Bürkle, 2000). Ezért joggal feltételezhető, hogy a PARP túlzott aktivitásának gátlása PARP inhibitorokkal akár kedvező hatású is lehet nagyfokú neuron pusztulással járó kórképekben (Takahashi és mtsai, 1999; Görlach és mtsai, 2000; Ciani és mtsai, 2001). E hipotézis tesztelésére állatkísérleteket végeztünk. Modellként a traumás agykárosodás illetve fokális agyi lézió elfogadott módszerét az ún. hideg léziót alkalmaztuk (Klatzo és mtsai, 1958). E lézió kapcsán egy centrális, nekrotikus területet olyan zóna övez, melyben kifejezett apoptotikus aktivitás zajlik. Ez utóbbi lehet tehát az antiapoptotikus ill. egyéb neuroprotektív beavatkozások célterülete, mely bizonyos szempontból megfelel az iszkémiás stroke-ot akut fázisban övező ún. penumbra zónának. Kísérleteinkben a neuronális NO szintetáz (nNOS) aktiválódás (ami fontos DNS károsító mechanizmus) és a PARP aktiválás kapcsolatát, a szelektív illetve kombinált inhibíció lehetőségeit vizsgáltuk modellünkben. Eredményeinek, melyek részletesen a közleményünkben szerepelnek (Hortobágyi és mtsai, 2003), igazolták, hogy a fokális agyi lézió követő korai PARP aktiváció (legalább is részben) az nNOS indukcióval kapcsolatos. Mind az nNOS, mind a PARP aktiváció gátlása az adekvát farmakon bejuttatási módszer alkalmazásával hatásosan csökkenti a lézió kiterjedését. Kísérleteinkben több koncentrációt és bejuttatási módszert (intraperitoneális, intracerebroventrikuláris) alkalmaztunk. A lézió kiterjedésének mérése mellett a PARP

aktiváció kapcsán felszabaduló PAR expresszióját illetve mennyiségét mértük immunhisztokémiai illetve immunoblot módszerekkel.

Egy másik, párhuzamosan végzett kísérlet sorozatban Lacza Zsomborral és munkatársaival a PARP gátlás más vonatkozású kedvező hatását igazoltuk agyi traumában, állatkísérletes modellen (Lacza és mtsai, 2003). A PARP gátlás a neurális őssejt transzplantáció hatékonyságát fokozta, melyet a túlélő sejtek száma, a funkcionális vizsgálati eredmények (neurológiai score) javulása is alátámasztott (Lacza és mtsai, 2003). A PARP jelentőségével munkacsoportom jelenleg is foglalkozik. Csonka Tamás PhD hallgató a PARP szerepét vizsgálta meningeomában, ennek a tumor grádushoz és progresszióhoz való kapcsolatát kiemelten elemelve (Csonka és mtsai, 2014).

## MEGBESZÉLÉS ÉS ÖSSZEGZÉS

A neurodegeneratív kórképek gyakorisága a várható élettartam hosszabbodásával egyre nő. Ezen kórképek ma még nem gyógyíthatók és a jelenleg alkalmazott beavatkozások is csak mérsékelt hatásúak. A korábban reményt keltő állatkísérletes modellekben sikeres terápiás stratégiák eredményessége a humán alkalmazáskor elmaradt. Ennek jelentős részben a patomechanizmus még nem megfelelő ismerete az oka. E hiányosságok kiküszöbölésében a 21. századi szemléletű neuropatológia sokat tesz és tehet a jövőben is. Munkáink ezen erőfeszítésekhez kapcsolódnak.

Az amiloid-kaskád hipotézis vitatott volta miatt is más lehetséges kóroki folyamatokat kezdtünk vizsgálni Alzheimer-kórban: a sejtciklus-szabályozás és a gyulladásos mediátorok szerepét; utóbbiakat az Alzheimer-kórral gyakran társuló és ko-faktorként ható iszkémiás mechanizmusú vaszkuláris demenciákban is vizsgáltuk. A beta amiloidhoz kötődő és feltételezhetően protektív szerepű chaperon fehérje (klaszterin) szerepét vizsgáltuk a különböző hosszúságú és eloszlású béta amiloid fehérjék vonatkozásában. A jelentős neuroanatómiai különbségek leírása, a kolokalizációs vizsgálatok és állatkísérletek eredményei nemcsak a klaszterin de más chaperon

fehérjék szerepét is segíthetnek tisztázni és a sikereesebb terápiás megoldások tervezéséhez járulhatnak hozzá.

Az abortív neuronális sejtciklus, mint az Alzheimer-kór egyik lehetséges patogenetikai tényezője fontos része vizsgálatainknak. Az idegtudományok egyik alaptétele, hogy a neuronok nem osztódnak. Ebből az következik (következne), hogy e sejtekben nincs sejtciklus, tehát ennek lépéseit reguláló mechanizmus sem indokolt illetve értelmezhető. Igaz ugyan, hogy az idegrendszer néhány privilegizált sejt-fészkében ('niche') neurogenesis történhet, akár a felnőttkorban is (periventrikuláris terület, hippocampusz például), ez azonban nem mitotikus folyamat, hanem szunnyadó őssejtek aktiválódása és differenciálódása kapcsán jöhet létre (Andrews és Faller, 1991). Valóban, mitotikus neuront még senki sem látott, pedig bizonyára sokaknak nem kerülné el ez a figyelmét. De mi lehet annak az oka, hogy az idegsejtek nem osztódnak? Számos hipotézis merül föl. Az egyik, hogy a neuronok (pontosabban ezek egyik szubpopulációja) fontos szerepet játszanak az emlékezetben, azok fehérjék, ill. neuronális hálózatok formájában történő tárolására (ami mind a mai napig részleteiben nem tisztázott, igen fontos kérdés; Herrup és mtsai, 2004). Egy sejt osztódása az az eredeti sejt elvesztése és így az emlékezet nyomainak változásával, elvesztésével is járhat. A másik lehetséges hipotézis, miszerint egy sejtosztódás annyira „megrázza” a sejtet, az egész citoskeletális architektúrájának átalakulásával, hogy ez bizonyára a neuronális konnektivitás, hálózatképzés és memórián túl is fontos és igen sérülékeny, finom rendszerét is oly mértékben megzavarhatná, hogy a normális idegfunkció károsodhat (Vincent és mtsai, 1996). Már ezek alapján is megérthető és elfogadható, hogy a neuronok létrejöttük után már kívül állnak és hozzáférhetetlenek a sejtosztódás kontroll-mechanismusai számára (Arendt és mtsai, 1996; Yang és mtsai, 2001). Ezt az elgondolást azonban megkérdőjelezte néhány igen meglepő és váratlan tudományos felfedezés. Ezek közé tartozik, hogy a különböző neuronális stresszek következtében indukálódó neuronális apoptózis kapcsán számos sejtciklus marker és regulátor fehérje (különös tekintettel a ciklinekre és a ciklin dependens kinázokra), melyek a sejtciklus gépezet fontos komponensei, fokozott expressziót mutatnak. Ilyen

celluláris stressz az oxidatív károsodás, trofikus faktorok deprivációja (Malik és mtsai, 2008; Engmann és mtsai, 2011b; Baldin és mtsai, 1993; Giacinti és Giordano, 2006, Currais és mtsai, 2009). Mindezek és további vizsgálatok is arra utaltak, hogy a neuronális sejtciklus szunnyadó formában létezik, ha ez aktiválódik, akkor azonban ez abortív, önpusztító folyamatokat eredményez, azaz apoptózist indukál. Ezen mechanizmus Alzheimer-kór patogenezisében, az e kórképben megvalósuló neuron-vesztés kialakulásában is jelentős szerepet játszhat, melyet – legalábbis részben - a neurotoxikus amiloid béta 42 aminosav hosszúságú izoformája indukált (Malik és mtsai, 200b). Az aberráns sejtciklus szerepét saját vizsgálataink (Malik és mtsai, 2008a) is alátámasztják és ezt a kérdést áttekintő közleményben is taglaltuk (Currais és mtsai, 2009). Familiáris Alzheimer-kóros esetekben, valamint sporadikus Alzheimer-kóros agymintákon egyaránt vizsgáltuk a sejtciklus regulátor fehérjék expressziós változását mind biokémiai, mind szövettani módszerekkel. Az eredmények alátámasztották, hogy a poszt-mitotikus neuronok (az Alzheimer-kórban is igen nagymértékben jelentkező) exogén stresszek hatására abortív sejtciklust aktivációt szenvednek el, melyek az apoptotikus sejtpusztulás irányába irreverzibilisen mozdítják el a sejtet. Mindennek természetesen potenciális terápiás jelentősége is van. Az elmúlt 10 év azonban e téren sem hozott áttörést – de ez nem kérdőjelezi meg alapjaiban az ez irányú további vizsgálatok és újabb megközelítések létjogosultságát.

A WNT/beta katenin jelátviteli útvonal sejtciklus regulációban játszott szerepére számos közlemény utal, mint azt korábban ismertetet közleményünkben is diszkutáltuk (Currais és munkatársai, 2009). Egy további és ehhez kapcsolható vizsgálat (Halleskog mtsai, 2011) Harkány Tiborral közösen témavezetett kutatónk, Jan Mulder másodszerzőségével készült. A munka igazolta, hogy a WNT/béta-katenin szignalizációs útvonal aktiválódik és pro-inflammatorikus Alzheimer-kórban A humán Alzheimer-kóros anyagon végzett vizsgálatok, a minták karakterizálása és kiválasztása révén járultam hozzá. Noha hozzájárulásom nem volt központi szerepű ebben a munkában, értékezősemenben azért szeretném szerepeltetni, mert igen fontos és új eredményekre világít rá. Igazolta ugyanis, hogy az Alzheimer-kór súlyosbodásával



(mely egyre magasabb Braak&Braak stádiumokban nyilvánul meg, legalábbis a tau patológiai vonatozásában és neuropatológiai szempontból) a mikroglia morfológiailag változik és egyre inkább pro-inflammatorikus fenotípust vesz föl. A WNT szignalizációs útvonal aktiválódása kapcsán a béta-katenin szint is emelkedik a mikrogliaiban. A kérdés fölmerült és a munka részleteiben vizsgálja (Halleskog és mtsai, 2011), hogy a béta-katenin emelkedése mikrogliaiban az Alzheimer-kóros betegek esetében kedvező vagy káros kimenetelű-e. Ez azt az alapkérdést érinti, hogy a mikroglia különböző neurodegeneratív folyamatokban milyen szerepet játszik (Hanisch és Kettenmann, 2007; Weinstein és mtsai, 2010). Ennek igen nagy irodalma van és ezek alapján megállapítható összefoglaló jelleggel, hogy a mikroglia szerepe neurodegeneratív kórképekben kétélű: a kezdeti, pro-inflammatorikus fázis a betegség folyamat progressziója ellen szól, míg kórképek előrehaladottabb stádiumaiban (erre mind Alzheimer-kór, mind motoneuron betegség esetében nagyszámú adat van) már káros és a betegség súlyosbodását nagy fokban gyorsítja (Miller és Streit, 2007; Hanisch, 2002). A most hivatkozott közleményünkben eredményeinek arra utalnak, hogy a WNT aktiváció és a következményes béta-katenin változás kedvezőtlen jel, ami terápiás célpont is lehet. Fontos aspektus, melyet a közlemény részletesen diszkutál, hogy a GSK3 inhibitor (mely a tau hiperfoszforilációt gátolja) ezt a pro-inflammatorikus mikroglia aktiválódást mellékhatásként elősegíti. Így a GSK3 gátlók terápiás alkalmazásánál ezt a hatást is figyelembe kell venni (Halleskog mtsai, 2011).

Több, az értekezésem alapjául nem szolgáló munkánk (ezek az értekezés végén külön felsorolásban szerepelnek) és is olyan kérdésekkel foglalkozik, melyek demenciával járó kórképekben is relevánsak. Ilyenek a sejtciklus szabályozásában és a genom integritásában fontos fehérjék, úgy, mint a p53, PARP, Ki-67 szerepét vizsgáló alapvetően neuroonkológiai tárgyú munkák. Mivel a sejtciklus szabályozása mind a tumorokban (a kontrollálatlan sejtszaporodás miatt), mind a neurodegeneratív kórképekben (az irreverzibilis és megállíthatatlan sejtpusztulás miatt) jelentősek, mindkét jellegű folyamat lényegében ugyanak a kérdésnek aspektusait vizsgálja. Ugyanis neurodegeneratív kórképekben aberráns, apoptózist indukáló sejtciklus

indukálódik. A tumor és a neurodegeneráció kutatás, a neuroonkológia és a demencia témái és eredményei közötti áthajlások az orvosi kutatások egyik roppant érdekes, kevésbé kiaknázott részét képezik. Számos (de a téma jelentőségéhez képest mégis elenyészően kevés) közlemény foglalkozik ezzel a témával, melyek közül kiemeljük Michael Strong (London/Ontario, Kanada) professzor és munkacsoportja közleményeit (Behrouzi és mtsai, 2016; Campos-Melo és mtsai, 2013; Tibshirani és mtsai, 2015).

A szinaptikus diszfunkció és neurodegeneráció kapcsolatának kutatása kiemelt területe az elmúlt mintegy 5 évem kutatómunkájának, Alzheimer-kór és PDD, DLB vonatkozásában. Az eredmények igazolják, hogy e folyamatok kótraiak a betegség kialakulásakor, jelentős kompenzatorikus mechanizmusok vannak, és a szinaptikus (elsősorban preszinaptikus) reguláló folyamatok lényeges és kevésbé ismert, újabb aspektusát jelentik a szinaptikus patofiziológiának. Az endokannabinoid rendszer szerepe Alzheimer-kórban egyre inkább felismert és kollaboratív munkáim miatt is említést érdemel értekezésemben. Az endokannabinoid rendszert nemcsak a kannabisz fogyasztás addiktív és egyéb káros hatásai miatt vizsgálják egyre kiterjedtebben, hanem számos betegség, beleértve neurodegeneratív betegségeket is, vonatkozásában is egyre több adat szól amellett, hogy szerepe van a patomechanizmusban. Továbbá az endokannabinoid szignalizációs mechanizmusok befolyásolása potenciális terápiás lehetőségeket rejt magában. Ezen vizsgálatokhoz kapcsolódóan vettem részt abban a nemzetközi kutatásban, amelynek eredményeként megjelent közleményben (Mulder és mtsai, 2011) a brit Alzheimer alapítvány támogatásával társ-témavezetett poszt-doktor kutató, Jan Mulder az első szerző. A 2-arachidonoil-glicerol (2-AG) a szinaptikus transzmisszió olyan modulátora, mely postszinaptikusan termelődik, innen került a szinaptikus részbe és a pre-szinaptikus kannabinoid-1 (CB1) receptorok aktiválásán keresztül képes a neurotranszmissziót befolyásolni. Alzheimer-kórban a szinaptikus transzmisszió zavara központi szerepet játszik a memória deficitben és a kognitív hanyatlás egyéb aspektusaiban, elsősorban a hippocampális neuronális hálózatok károsodása révén. Joggal feltételezhető (és más neurodegeneratív kórképekben végezett vizsgálatok eredményei is erre utalnak), hogy

ezen kannabinoid szignalizációs mechanizmus zavara szerepet játszik az Alzheimer-kórban észlelt szinaptikus diszfunkcióban is. Protein meghatározásos vizsgálatok és kvantitatív morfometria igazolta, hogy noha a CB1 kannabinoid receptor proteinszint a hippocampusban mind Alzheimer-kórban, mind a kontroll betegekben azonos (azaz változatlan) szintű, Alzheimer-kórban a CB1-receptor-pozitív preszinapszisok béta-amiloidot tartalmazó szenilis plakkokat vesznek körül és itt jelentős mikroglia akkumuláció jön létre. Ezen elváltozások korrelációt mutattak az egyre súlyosabb Braak stádiumú Alzheimer-kórral. A kannabinoid rendszer komponenseinek szintézisében résztvevő enzimek szintje is jelentős változást mutatott Alzheimer-kórban. Az eredmények, melyek részletesen a közleményben ismertetettek, azt igazolják, hogy az endokannabinoid szignalizáció kóros fokozódása, elsősorban a szenilis plakkok körül, hozzájárul az Alzheimer-kórban kiemelten fontos szinaptikus diszfunkció kialakulásához. A vizsgálatokban neuropatológiai korrelációval, az Alzheimer és kontroll esetek analízisével, szövettanilag és neuroanatómiai korrelációval, az immunhisztokémiai eredmények értékelésével és a kézirat elkészítésében végzett közreműködéssel vettem részt. Egy másik, korábbi kollaboratív munka a nukleusz bazális Meynert (NBM) szerepét vizsgálta Alzheimer-kórban. Itt már korai stádiumban is jelentős neurodegeneratív tau patológia figyelhető meg a neuropatológiai tapasztalat szerint is. A mag kolinerg projekciójának nagyfokú károsodása (csökkenése) Alzheimer-kórban az agykérgi kolinerg szinaptikus „input” deficitjét eredményezi. Az Alzheimer-kór ún. kolinerg hipotézisének ez az egyik fő jellemzője, a Meynert magban észlelt elváltozások ennek egyik alapját képezik. Harkány Tibor, akivel PhD hallgatóként a 90-es években (majd a későbbiekben is) együtt dolgozhattam, abban az időben egyik fő kutatási területként foglalkozott az NBM és Alzheimer-kór kapcsolatával, állatkísérletes modellekben. Ezen munkába bekapcsolódva több közleményben (Harkany és mtsai, 2002 ; Harkany és mtsai, 2001 ; Harkany és mtsai, 1999) társszerző vagyok. Ezeket nem szerepeltetem az MTA doktori értekezésem alpműveiként, de ezen munkák ahhoz (ha nem is szorosan) kapcsolhatók. Egy jelentős terjedelmű (több, mint 70 oldal) összefoglaló közleményünket, mely a Reviews in the Neurosciences-ben

jelent meg 2002-ben (Härtig és mtsai, 2002) a neuropatológiai vizsgálatokra fókuszáló értekezésemben az értekezés alapjául szolgáló munkák között szerepeltetem. Noha ez a sokat idézett munka elsősorban Harkány Tibor érdeme, a szerzőcsoport egyetlen (neuro)patológus tagjaként vettem részt a közlemény elkészítésében.

Másik kiemelt kutatási területem a motoneuron betegség és rokon kórfolyamatok, ahol elsősorban a TDP-43 és FUS fehérjék és kóroki szerepét kutattu, humán szöveteken (agy, gerincvelő, ideg, izom), állatkísérletes modelleken, sejtenyészeteken végzett kísérletekkel. Ez a kapcsolódó jelátviteli útvonalak, mechanizmusok feltérképezését is jelentette. Eredményeink más neurodegeneratív kórképekben is potenciálisan jelentős és eddig részletesen nem kutatott patomechanizmusokra vetett fényt. Kiemeljük az RNS processzálas zavarát, a nukleusz és citoplazma közötti fehérje transzport rendellenességeit, a kóros fehérjék direkt toxicitását, a zárványokba és stressz granulumokba szekvesztrálódó normális és kóros fehérjék kóroki jelentőségét, az ubikvitin-proteaszóma rendszer túlterheltségét, az autofágia mechanizmusok zavarát, az endoplazmikus retikulum-Golgi transzport folyamatok rendellenességeit.

A ko-egzisztáló 'multiplex' patológiák meglepte sokkal inkább szabály, mint kivétel a neurodegeneratív betegségben szenvedők agyának neuropatológiai vizsgálatát végzők számára. Szisztematikus, részletes analízis azonban kevés van – így munkánk hiánypótló, elsősorban a szinukleinpátiák (ezek közül is a DLB és PDD) valamint a tau- és béta amiloid patológiát egyaránt mutató Alzheimer-kór vonatkozásában.

A klinikopatológiai vizsgálatok külön csoportot alkotnak közleményeim között. Ezek is hangsúlyozzák eddigi tudományos, oktató, diagnosztikus tevékenységem döntően klinikai jellegét. Ezen dolgozatok a morfológiai (neuropatológiai) vizsgálattal értékelhető strukturális elváltozások és a klinikai kép, beleértve a képalkotón látott eltérések korrelációját is tartalmazzák. A vizsgálatok jelentős részben prospektíven utánkövetett betegcsoporton történtek.

A neuropatológiai diagnosztikus kritériumok kidolgozása is fontos, tudományos igényességű, nemzetközi kollaborációban végzett munka, mely számos, demenciához

vezető kórkép esetében közreműködéssel történt. Ezek értelemszerűen 'sokszerzős' munkák, melyek azonban (bizakodom) az értekezésemet bírálók szemében nem csökkentik az ebben való részvétel jelentőségét. Ilyen munkák más témában is sokszerzősként jelennek meg és a szerzői közössége bekerülése a szakmai elismerés egyik objektív jelének is tartható.

Számos áttekintő közleményben is vizsgáltuk azokat a mechanizmusokat, melyek a sejtpusztulás kiváltó okai, illetve annak lezajlása közben történnek. Kiemeljük az apoptotikus sejtpusztulás mechanizmusát az iszkémiás léziók környezetében elemző közleményeinket (Rákos és mtsai, 2007, Zádor és mtsai, 2003 és 2004), a sejtciklus és annak szabályozási zavara szerepét taglaló munkáinkat a neurodegeneratív, elsősorban az Alzheimer-kór típusú demenciában (Malik és mtsai, 2008). Megemlítenédők a könyvfejezetek, melyek a frontotemporális demencia és motoneuron betegség neuropatológiai jellemzőjével foglalkozik és kiterjedten taglalja a kialakulás mechanizmusait is (Strong, Hortobágyi és mtsai, 2011; Hortobágyi és Cairns, 2015). Ezen munkák az értekezést meghaladó terjedelemben és bőséges referencia listával szolgálnak további információval, ill. információ forrással.

Az iszkémia-indukálta apoptotikus sejtpusztulás jellemzőit és a neuroprotekciónak lehetőségeit agyi iszkémiában több közleményünkben vizsgáltuk. Az iszkémia a sejtpusztulás fontos triggerre, nemcsak cerebrovaszkuláris betegségekben, hanem – mint arra egyre több kísérletes és epidemiológiai adat is utal – a neurodegeneratív kórképekben, sőt traumás agykárosodás kapcsán is. További fontos aspektus, hogy az apoptotikus sejtpusztulás egyfajta „programozott” mechanizmussal valósul meg, melynek kezdeti fázisa farmakológiai módszerekkel, illetve az endogén neuroprotektív mechanizmusok serkentésével befolyásolhatók lehetnek. Mint Cosntantiono ladecola és kutatócsoportja erre több összefoglaló tanulmányában rámutatott, (ladecola, 2010b), a neurodegeneratív és vaszkuláris folyamatok nagyon szoros kapcsolatban állnak. Ennek egyik központi eleme a neurovaszkuláris egység ('unit')(NVU) károsodása, mely vaszkuláris illetve neurális/neuronális okból egyaránt előfordulhat. Megjegyezzük, hogy ebben a gliális sejteknek (elsősorban az asztrocitáknak) is fontos

szerepük van, hiszen a glia-talpak a vér agy gát fontos komponensei. Továbbá, az asztrogialis sejtek egyfajta puffer funkciót látnak el neurotoxikus folyamatokban, ami neurodegeneráció illetve markáns iszkémia esetén is előfordulhat. Az apoptotikus mechanizmusokat összefoglaló első közleményünk 1997-ben jelent meg (Hortobágyi és Nagy, 1997). A második összefoglaló közleményem (Zádor és mtsai, 2003 ennek frissítése és a molekuláris mechanizmusok vonatkozásában az ott leírtak bővebb kifejtése. A munka, tudomásom szerint, azóta is a legfrissebb, a témát átfogó magyar nyelvű folyóirat közlemény. A közlemény első szerzője, Zádor Zsolt, orvostanhallgatóként kapcsolódott be az írásba; emlékezetes és örömteli munka volt első tudományos közleményei megjelenéséhez hozzásegíteni őt.

Az apoptózis közleménnyel közel egy időben beadott, de (technikai okokból) egy évvel később megjelent munka a neuroprotekciónak lehetőségeit, a kudarcok okait tekinti át agyi iszkémiában (Zádor és mtsai, 2004). Sajnos, azóta sem jobb érdemileg a helyzet: a neuroprotekciónak terápiásan átütő lehetőségeit azóta sem sikerült a klinikai gyakorlatban kifejleszteni, meghonosítani. Ennek kapcsán fontos és egyre többet diszkutált kérdés, hogy az állatmodelles kísérletekben elért kedvező eredmények miért nem eredményesek (azaz vallanak rendre kudarcot) klinikai kipróbálások során. E kérdés tárgyalása meghaladja a jelen értekezés kereteit, ennek kapcsán a bőséges irodalom közül néhány közleményre utalunk (Fluri és mtsai, 2015; Chesselet és Carmichael, 2012). Az apoptózis mechanizmusát illetve a neuroprotekciónak lehetőségeit vizsgáló közleményeink néhány aspektusát értekezésünkben is szerepeltetjük. A további adatok vonatkozásában utalunk a közleményekre.

Neurogenesis és neuronális integritás vizsgálata humán stroke-ban fontos és klinikailag is kiemelten releváns kérdés. Hüttner Hagen és munkatársaival kollaborációban történtek azok a metodikailag és eredményeiben egyaránt érdekes vizsgálatok (Hüttner és mtsai, 2014), melyet nem szerepeltettem értekezésem alapjául szolgáló közlemények között, de e fejezetben említést érdemel. A munkához a különböző időszültségű stroke-os betegek agyszövet mintáinak biztosításával, az izolált agyszövetek neuropatológiai analízisével, a közlemény készítésekor fölmerülő

neuropatológiai vonatkozások, kérdések diszkutálásával, megválaszolásával járultam hozzá. A szerzők között egyetlen neuropatológusként, úgy érzem, hozzájárulásom a közleményhez szignifikánsnak tartható. A kérdésfelvetés azon alapult, hogy egyre jobban vizsgált az a kérdés, hogy van-e érdemi neurogenesis stroke után felnőttekben (Jin és mtsai, 2006). Ennek alapja az, hogy ún. őssejt fészkek ('niche'-ek) vannak a központi idegrendszerben, úgymint a hippocampusz granuláris sejtrétegében, a periventricularis geminatív zónában és nem kizárt, hogy egyebütt is (Ohira és mtsai, 2010). Az elképzelés, teoretikus feltevés, az, hogy ezen őssejtek stroke után hozzájárulhatnak a neurogenesishez (Spalding és mtsai, 2013). Mivel a stroke visszavonhatatlan idegsejt pusztulással jár, mely tömeges, bármilyen lehetőség, ami az elveszett neuronok pótlására szolgál, nagy ígéret. Noha az újonképzett neuronoknak a maguk funkcionális aktivitását, kapcsolatrendszerét is ki kell (kéne) alakítani, mely a kérdést tovább árnyalja (Benavides és mtsai, 2002). Ez utóbbi megjegyzéshez kapcsolódva, hasonló problematika merült fel a korábban alkalmazott idegsejt transzplantáció vonatkozásában is; ismeretes, hogy például Parkinson-kóros betegeknél a szubsztancia nigrába vagy a striátumba fecskendeztek dopaminerg sejteket (Benavides és mtsai, 2002; Santos és mtsai, 2007). Noha ezek jelentős része túlélte, érdemi integráció, hosszú távú haszon a beteg funkcionális állapota vonatkozásában nem volt. Visszatérve az alapkérdésre, a vizsgálatok a DNS integritás, neurogenesis kérdését kutatták komplex metodológiával, mely immunhisztokémia, transzkriptom elemzés, genom vizsgálatot is magába foglalt. Talán legérdekesebb része a munkának a környezeti háttérsugárzás részeként jelenlevő szénizotóp koncentrációjának vizsgálata a neuronális DNS-ben. Ez a háttérsugárzás jelentős részben az atombomba kísérletekre vezethető vissza, ennek ingadozása, geográfikus jellemzői jól ismertek és pontosan meghatározottak. Ez alapján lehet következtetni arra, hogy a stroke környezetében vizsgált neuronok a születés óta jelenlevő sejtekkel vagy pedig neurogenesis kapcsán jöttek-e létre. A vizsgálat komplex, annak részletei a közleményben szerepelnek (Hüttner és mtsai, 2014). A vizsgálatok konklúziójaként kijelenthető, hogy az idült post stroke-os esetekben a környező neuronok DNS

integritást mutattak nagy fokban, neurogenesisre utaló jelek nem voltak sem a vizsgálat időpontjában, sem arra utaló jelek, hogy ez a stroke-ot követően bekövetkezett volna. Ezzel szemben az akut stroke vonatkozásában jelentős DNS fragmentáció és DNS repair mechanizmusok beindulása igazolódott. Összegezve, ezen eredmények azt igazolják, hogy a neuronok túléléséhez intakt (vagy csak kis mértékben károsodott, azaz reparálható) genom szükséges és a poszt-stroke neurogenesis vonatkozásában a túlzottnak tartható elvárások nem látszanak megalapozottnak.

Egy új módszer kidolgozásában és validálásában is részt vettem szegedi kutatókkal együttműködve, mely a perilezionális sejtek gyors vizualizációját teszi lehetővé (Rákos és mtsai, 2007).

A vaszkuláris eltérések az idős kori agyban, különös tekintettel a neurodegeneratív elváltozásokkal is terhelt cerebrumra, napjainkban a neuropatológiai értékelés és diagnosztika aktív területe (Selkoe, 1989; Alafuzoff és mtsai, 1999). A VCING tanulmánya az Egyesült Királyságban a legfontosabb vaszkuláris eltérések konszenzus-értékelését tűzte ki célul. Ennek közlése az értekezés írásával párhuzamos, azaz várhatóan hamarosan publikálásra kerül a kézirat. BrainNet Europe (BNE) konzorcium is publikált 2012-ben egy, a vaszkuláris eltérések értékelésének problematikáját felvető, konszenzust kereső közleményt, melyben szintén részt vettem (Alafuzoff és mtsai, 2012). Ez a vizsgálat is alátámasztotta és megerősítette annak jelentőségét és szükségességét, hogy a neuropatológusok mihamarabb konszenzusra jussanak az elváltozások nomenklatúrája, súlyosságának stádiumba sorolása vonatkozásában. A neurodegeneratív elváltozások terén ez az elmúlt évtizedekben megtörtént, letisztult, jelenleg az újabb eredmények kapcsán a vizsgálati módszerek frissítése zajlik csupán a neurodegeneratív proteinopátiák területén. A következő években remélhetőleg hasonló szintre és minőségre jut a vaszkuláris eltérések értékelése is. A Bristoli Egyetem Neuropatológiai Intézeti által kezdeményezett, Egyesült Királyságban zajló vizsgálat mintegy tucatnyi neuropatológus részvételével, melyek között félig kakukktojásként én is szerepelek, a résztvevőkkel való szoros szakmai kapcsolat okán. Ez, a 'vascular cognitive impairment neuropathological grading' (VCING) című



együttműködés a vaszkuláris eltérések posztmortem földolgozásának jelen állását dolgozza fel. A munka kézírata 2016. májusában lett közlésre beküldve. Egy további vaszkuláris neuropatológiai együttműködésben nemcsak a neuropatológiai, hanem a képalkotós (posztmortem MRI stb.) vizsgálatok is szerepelnek. Ezen munka az értekezés készítésének időpontjában már benyújtásra került és elbírálásra vár, egy 7 impakt faktoros folyóiratnál (BMC Medicine).

A cerebrovaszkuláris kórképekben a kognitív deficit és az iszkémiás stroke patogenezisében szerepet játszó neurotranszmitterek, mediátorok szerepét, kapcsolatát vizsgáltuk. A glutamát, kolinacetil transzferáz, szerotonin, gyulladásos mediátorok mennyiségét, ezek időbeli alakulását vizsgáltuk az iszkémiás agykárosodás és neurodegeneratív betegségek különböző (al)típusaiban és ezek kombinációi (azaz együttes fennállása) esetén (Kivell és mtsai, 2010 Sharp és mtsai, 2009 Elliott és mtsai, 2009 Mulugeta és mtsai, 2008). A megközelítés fontos és a korábbiakban mások által publikáltakhoz képest eltérő jellemzője az altípusok szerinti vizsgálat. Hangsúlyoztuk, hogy nemcsak a tudományos kutatás, hanem a klinikai kezelés eredményessége is az iszkémiás stroke alcsoportokra bontásával növelhető. A neuroprotektív stratégiák klinikai eredménytelensége is részben erre vezethető vissza, mint azt több összefoglaló közleményben is tárgyaltuk (Zádor és mtsai, 2003 és 2004). Korábban komoly reményeket fűztek a stroke utáni (pontosabban a stroke indukálta) neurogenesis terápiás kihasználásához. A vizsgálataink e reményeket cáfolták, ugyanis a számottevő neurogenesis hiányát igazolták iszkémiás stroke-ban (Hütthner és mtsai, 2014). Az időskori agy vaszkuláris eltéréseinek neuropatológiai értékelése egységesebb és konszenzusra alapuló szemléletet, megközelítést igényel. Ennek fontos lépése az az európai kollaboráció (Alafuzoff és mtsai, 2012), melynek résztvevője voltam. Ennek folytatásaként jelenleg (2016 június) két hasonló kézirat van elbírálási fázisban.

A traumás agykárosodás és a neurodegeneráció közötti kapcsolat vizsgálata napjaink kutatásainak egyik érdekes területe; egyre nyilvánvalóbb a szoros összefüggés. Vizsgálataimban a PARP szerepét és az inhibíció lehetséges neuroprotektív szerepét vizsgáltam állatkísérletes modellekben. E munkák megerősítették a feltételezést, hogy

a PARP a trauma kapcsán is kialakuló DNS károsodás következményeként aktiválódik, ez hozzájárul a sejt ATP hiányához (ugyanis a PARP DNS hibajavító működése nagy ATP igényű) és ennek révén pusztulásához. Megállapítottuk, hogy a PARP aktiváció a nNOS indukcióval kapcsolatos és mindkét aktiválódó enzim gátlása csökkenti a lézió kiterjedését. Egy másik vizsgálat a kísérletes őssejt transzplantáció vonatkozásában igazolta a PARP-gátlás kedvező szerepét. Megjegyezzük, jó hogy a PARP jelenlegi neuroonkológiai és stroke kutatásainkban is vizsgált molekula (8e vizsgálatok azonban nem részei az értekezésnek). A traumás agykárosodás és az Alzheimer-kór érdekes átfedése, hogy az axonálisan gyorsan transzportálódó amiloid prekursor protein (APP), ami a béta amiloid prekursor fehérjéje, felhalmozódik a trauma miatt károsodó axonokban és immunhisztokémiaileg kimutatható. Ez volt az alapja a vizsgálatainkban, melyekben igazoltuk, hogy az APP kimutatása meglehetősen pontosan jelzi a korai axonális károsodást is (de a mintegy 30 percn belül nem, azaz hirtelen halálnál nem mutatható ki). Eredményeik a forenzikus neuropatológiai gyakorlat részévé váltak és bírósági ügyekben a szakértői vélemények egyik alap irodalmi hivatkozása.

A fenti felsorolás is jelzi, hogy a demenciák számos etiológiából eredően alakulhatnak ki, miként azt az értekezés korábbi részében is hangsúlyoztuk és közismert tény. Munkáink a demenciák komplex neuropatológiai hátterét vizsgálta többféle kialakulási mechanizmus, kórkép analízisével, melyek során a az együtt előforduló különböző patomechanizmusok, patológiák értékelése, összevetése, a közöttük levő kapcsolat értelmezése, diszkussziója is szerepel.

## KÖVETKEZTETÉSEK ÉS ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

### Neurodegeneratív kórképek

1. A Fused in Sarcoma (FUS) gén mutációja jellegzetes neuropatológiai képpel járó familiáris amiotrófiás laterális szklerózist okoz
2. Az ALS-t okozó FUS mutációk a fehérje nukleáris lokalizációját akadályozzák és elősegítik a vad típusú FUS citoplazmatikus stressz granulumokba történő akkumulációját (szekvesztráció).
3. A Transzportin-1 (karioferin-béta2) vizsgálata ALS-FUS (FUS mutáció kapcsán kialakuló ALS típus) és FTLD-FUS-ban igazolta, hogy a két FUS-proteinopátia patomechanizmusában lényegesen különbözik egymástól.
4. A humán vad típusú FUS gént 'overexpresszáló' transzgenikus egér a motoneuron betegség számos jellemzőjét mutató betegségmodell.
5. A TDP-43 citoplazmatikus misz-lokalizációjának hátterében a nukleáris import zavara (is) áll.
6. A TDP-43 patológia és a tau hasítás zavarai (mis-splicing) nem mutatnak összefüggést Alzheimer-kórban.
7. Az optineurin fehérje a TDP-43 proteinopátiákban az esetek kis hányadában mutatható ki a kóros fehérje zárványokban és ritkán Alzheimer-kórban és Huntington-kórban is azonosítható a kóros fehérje aggregátumokban.
8. A TDP-43 RNS kötőhelyeinek meghatározása és az RNS hasítás (splicing) szabályozásban játszott szerepének igazolása TDP-43 proteinopátiákban – neuropatológiai vonatkozások.
9. Az alternatív RNS hasítás (splicing) jellemzőinek meghatározása az idősödő agyban és neurodegeneratív kórképekben – neuropatológiai vonatkozások.
10. A normális (vad típusú) humán TDP-43 elősegíti a mutáns TDP-43 által kiváltott progresszív motor és kortikális neuronális degenerációt, ALS patológia jellemzőivel társultan.
11. A TDP-43 átfogó neuropatológiai jellemzése az ubikvitinilált zárványokban, különböző ALS típusokban és egyéb neurodegeneratív kórképekben.

12. A VAPB transzgenikus mutáns egérben TDP-43 proteinopátia alakul ki jellegzetes neuropatológiai elváltozásokkal.
13. A C9ALS/FTD neuropatológiai és klinikopatológiai karakterizálása.
14. A C9ORF72 mutáció esetének leírása, mely ALS fenotípussal és nagyfokú agyi extramotor patológiával jár, de kognitív deficitet nem okoz.
15. Gamma-szinuklein patológia igazolása ALS-ben.
16. Az elektromos áramütés valószínűleg nem játszik kóroki szerepet amiotrófiás laterális szklerózis kialakulásában.
17. Az abortív neuronális sejtciklus az Alzheimer-kór egyik lehetséges patogenetikai tényezője.
18. A neuronális sejtciklus reguláció zavara lehetséges neurodegeneratív mechanizmus (a presenilin-1 mutáció kapcsán kialakult Alzheimer-kóros betegek agyának vizsgálata és sejtbiológiai analízis alapján).
19. A CDK5 aktivátor p35-p25 a memória képzés kapcsán keletkezik és Alzheimer-kór korai stádiumában valamint skizofréniában expressziója csökken.
20. Az Alzheimer-kórban jelentős szinaptikus degeneráció ellen védő hatású fehérje (CSPalpha) szerepét és jelentőségét igazoltuk állatkísérletes modellekben és humán agyszövet vizsgálatával.
21. A humán tau fehérje fragmenst kis mértékben overexpresszáló egértörzs létrehozása, mely sporadikus humán tauopátiák releváns állatmodellje. E modellben a fenilbutarát terápiás hatása igazolódott.
22. A chaperon fehérje klaszterin specifikus (kizárólagos) kötődést mutat az amiloid béta fehérje 40 aminosav hosszúságú altípusához Alzheimer kórban.
23. A regionális multiplex patológia 'score' és a progrediáló kognitív deficit összefügg Lewy testes demenciákban.
24. Az 'unfolded protein response' (UPR) aktiválódik Lewy-testes demenciákban.

25. Demenciában már a korai stádiumban is viszonylag gyakori a depresszió, ami gyakoribb és súlyosabb DLB esetén, mint Alzheimer-kórban – klinikopatológiai igazolás.
26. Lewy testes demenciában a kognitív hanyatlás gyorsabb, mint Alzheimer-kórban – klinikopatológiai igazolás.
27. A depresszió és a szinaptikus cink ion szabályozás eltérései összefüggnek Alzheimer-kórban, Lewy-testes demenciában és Parkinson-kór demenciában (DLB ill. PDD)
28. A ZnT-3 és a PSD-95 szinaptikus proteinek szintjének csökkenése és a kognitív hanyatlás között összefüggés van Alzheimer-kórban és Lewy testes demenciákban. Ez neuroanatómiai régió függő és eltérő DLB és PDD vonatkozásában.
29. A szinaptikus protein VAMP2, dynamin-1, Rab3A, SNAP25 és neurogranin pozitív korrelációt mutatnak a kognitív hanyatlás mértékével Alzheimer kórban és Lewy testes demenciákban.

#### Neuropatológiai konszenzus kritériumok kidolgozásában részvétel

30. A béta-amiloid lerakódás neurodegeneratív kórképekben és az idősödő agyban
31. Frontotemporális lobális degeneráció TDP-43-pozitív zárványokkal (FTLD-TDP)
32. FTLD-tau Pick testekkel a hippokampuszban
33. Az idősödő agy vaszkuláris eltérései
34. Az idős kori tau asztroglipátia (Aging-related tau astroglipathy; ARTAG)

#### Cerebrovaszkuláris kórképek

35. A glutamáterg szinapszisok relatív prezervációja a frontális kortexben sokkal kifejezettebb, mint a temporális kortexben fontos a kognitív képességek megőrzésében és a stroke-ot követő demencia elleni védelemben.

36. Poszt-stroke demenciában kolinacetil transzferáz aktivitás emelkedés van, ami regeneratív aktivitás (sprouting?) következménye is lehet.
37. A kolinacetil transzferáz aktivitás csökken vaszkuláris demencia + Alzheimer-kór (azaz kevert demencia) esetén.
38. A neuro-inflammatorikus válaszreakció vaszkuláris és kevert (vaszkuláris + Alzheimer-kór típusú) demencia késői fázisában mérsékeltebb, mint Alzheimer kórban.

### Agyi trauma

39. Az amiloid prekursor protein (APP) immunhisztokémia a traumás axonális károsodást minimum 35 perces túlélés után már képes kimutatni a részleteiben meghatározott antigén-előhívási módszerek alkalmazásával.
40. Az nNOS indukálja a PARP aktivációt agyi trauma modellben, ami neuronpusztulást eredményez. Mind a nNOS, mind a PARP inhibíció neuroprotektív hatású fokális agyi trauma modellben.

## A DOKTORI ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

1. Bereczki E., Francis P.T., Howlett D., Pereira J.B., Höglund K., Bogstedt A., Cedazo-Minguez A., Baek J-H., Hortobágyi T., Attems J., Ballard C., Aarsland D. Synaptic proteins predict cognitive decline in Alzheimer`s disease and Lewy body dementia. **Alzheimer`s & Dementia.** 2016; (on-line first) doi: 10.1016/j.jalz.2016.04.005
2. Bondulich M.K., Guo T., Meehan C., Manion J., Rodriguez Martin T., Mitchell M., Hortobágyi T., Brion J-P, Noble W., Hanger D.P.: Tauopathy induced by low level expression of a human brain-derived tau fragment in mice is rescued by phenylbutyrate  
**Brain.** 2016; (on-line first) doi: 10.1093/brain/aww137
3. Baek J-H., Whitfield D., Howlett D., Francis P., Bereczki E., Ballard C., Hortobágyi T., Attems J., Aarsland D.: Unfolded protein response is activated in Lewy body dementias.  
**Neuropathology & Applied Neurobiology.** 2016; 42:352-365.
4. Rongve A., Soennesyn H., Skogseth R., Oesterhus R., Hortobágyi T., Ballard C., Auestad B.H., Aarsland D.: Cognitive decline in dementia with Lewy bodies: A 5-year prospective cohort study.  
**BMJ Open.** 2016; 6(2):e010357. doi:10.1136/bmjopen-2015-010357
5. Kovacs G.G., Ferrer I., Grinberg L.T., Alafuzoff I., Attems J., Budka H., Cairns N.J., Crary J.F., Duyckaerts C., Ghetti B., Halliday G.M., Ironside J.W., Love S., Mackenzie I.R., Munoz D.G., Murray M.E., Nelson P.T., Takahashi H., Trojanowski J.Q., Ansorge O., Arzberger T., Baborie A., Beach T.G., Bieniek K.F, Bigio E.H., Bodi .I, Dugger B.N., Feany M., Gelpi E., Gentleman S.M., Giaccone G., Hatanpaa K.J., Heale R., Hof .PR., Hofer M., Hortobágyi T., Jellinger K., Jicha G.A., Ince P., Kofler J., Kövari E., Kril J.J., Mann D.M., Matej R., McKee A.C., McLean C., Milenkovic I., Montine T.J., Murayama S., Lee E.B., Rahimi J., Rodriguez R.D., Rozemüller A., Schneider J.A., Schultz C., Seeley W., Seilhean D., Smith C., Tagliavini F., Takao M., Thal D.R., Toledo J.B., Tolnay M., Troncoso J.C., Vinters H.V., Weis S., Wharton S.B., White C.L. 3rd, Wisniewski T., Woulfe J.M., Yamada M., Dickson D.W.: Aging-related tau astroglipathy (ARTAG): harmonized evaluation strategy.  
**Acta Neuropathologica.** 2016; 131:87-102.
6. Niblock M., Hortobágyi T., Troakes C., Al-Sarraj S., Spickett C., Jones R., Shaw C., Gallo J-M.: Lack of association between TDP-43 pathology and tau mis-splicing in Alzheimer`s disease.  
**Neurobiology of Aging.** 2016; 37:45-46.
7. Vallortigara J., Whitfield D., Quelch W., Alghamdi A., Howlett D., Hortobágyi T., Johnson M., Attems J., O`Brien J., Thomas A., Ballard C.G., Aarsland D., Francis P.T.: Decreased levels of VAMP2 and monomeric alpha-synuclein correlate with duration of dementia.  
**Journal of Alzheimer`s Disease.** 2015; 50:101-110.

8. Alafuzoff I., Pikkarainen M., Neumann M., Arzberger T., Al-Sarraj S., Bodi I., Bogdanovic N., Bugiani O., Ferrer I., Gelpi E., Gentleman S., Giaccone G., Graeber M.B., Hortobágyi T., Ince P.G., Ironside J.W., Kavantzias N., King A., Korkolopoulou P., Kovács G.G., Meyronet D., Monoranu C., Nilsson T., Parchi P., Patsouris E., Revesz T., Roggendorf W., Rozemuller A., Seilhean D., Streichenberger N., Thal D.R., Wharton S., Kretschmar H. Neuropathological assessment of the pathology in frontotemporal lobar degeneration with TDP-43 positive inclusions. An Inter-laboratory study by the BrainNet Europe consortium.  
**Journal of Neural Transmission.** 2015; 122:957-972.
9. Mitchell J.C., Constable R., So E., Vance C., Scotter E., Glover L., Hortobágyi T., Arnold E.S., Ling S-C., McAlinis M., Da Cruz S., Polymenidou M., Tessarolo L., Cleveland D.W., Shaw C.E.: Wild type human TDP-43 potentiates ALS-linked mutant TDP-43 driven progressive motor and cortical neuron degeneration with pathological features of ALS.  
**Acta Neuropathologica Communications.** 2015; 3:36. doi: 10.1186/s40478-015-0212-4.
10. Howlett D.R., Whitfield D., Johnson M., Attems J., O'Brien J.T., Aarsland D., Lai K.P.M., Lee J.H., Chen C., Ballard C., Hortobágyi T., Francis P.T.: Regional multiple pathology scores are associated with cognitive decline in Lewy body dementias.  
**Brain Pathology.** 2015; 25:401-408. doi: 10.1111/bpa.12182.
11. Peters O.M., Shelkovernikova T., Highley R., Cooper-Knock J., Hortobágyi T., Troakes C., Ninkina N., Buchman V.L.: Gamma synuclein pathology in amyotrophic lateral sclerosis.  
**Annals of Clinical and Translational Neurology.** 2015; 2:29-37. doi: 10.1002/acn3.143
12. Whitfield D.R., Vallortigara J., Alghamdi A., Hortobágyi T., Ballard C., Thomas A.J., O'Brien J.T., Aarsland D., Francis P.T.: Depression and synaptic zinc regulation in Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease dementia.  
**American Journal of Geriatric Psychiatry.** 2015; 23:141-148. doi: 10.1016/j.jagp.2014.05.001.
13. Bodoki L., Vincze M., Griger Z., Csonka T., Dankó K., Hortobágyi T.: Inclusion body myositis. (*Zárványtestes myositis.*) (in Hungarian)  
**Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience.** 2015; 68:59-67.
14. Tiwari S.S., D'Orange M., Troakes C., Shurovi B.S., Engmann O., Noble W., Hortobágyi T., Giese K.P.: Evidence that the presynaptic vesicle protein CSPalpha is a key player in synaptic degeneration and protection in Alzheimer's disease.  
**Molecular Brain.** 2015; 8:6
15. Whitfield D.R., Vallortigara J., Al-ghamdi A., Howlett D., Hortobágyi T., Johnson M., Attems J., Newhouse S., Ballard C., MD; Thomas A.J., O'Brien J.T., Aarsland D., Francis P.T.: Assessment of ZnT3 and PSD95 protein levels in Lewy body dementias



and Alzheimer's disease: association with cognitive impairment.

**Neurobiology of Aging.** 2014; 35:2836-2844. doi:

10.1016/j.neurobiolaging.2014.06.015.

16. Vallortigara J., Rangarajan S., Whitfield D.R., Alghamdi A., Howlett D.R., Hortobágyi T., Johnson M., Attems J., Ballard C., Thomas A.J., O'Brien J.T., Aarsland D., Francis P.T.: Dynamin1 concentration in prefrontal cortex is associated with cognitive impairment in Lewy body dementia.  
**F1000Research.** 2014; 3:108 (doi:10.12688/f1000research.3786.1)
17. Kovacs G.G., Rozemuller A.J., van Swieten J.C., Gelpi E., Majtenyi K., Al-Sarraj S., Troakes C., Bódi I., King A., Hortobágyi T., Esiri M.M., Ansorge O., Giaccone G., Ferrer I., Arzberger T., Bogdanovic N., Nilsson T., Leisser I., Alafuzoff I., Ironside J.W., Kretzschmar H., Budka H.: Neuropathology of the hippocampus in FTLD-Tau with Pick bodies: A study of the BrainNet Europe Consortium.  
**Neuropathology & Applied Neurobiology.** 2013; 39:166-178.
18. Mitchell J.C., McGoldrick P., Vance C., Hortobágyi T., Sreedharan J., Rogelj B., Tudor E.L., Smith B.N., Klasen C., Miller C.J., Cooper J.D., Greensmith L., Shaw C.E.: Overexpression of human wild-type FUS causes progressive motor neuron degeneration in an age and dose-dependent fashion.  
**Acta Neuropathologica.** 2013; 125:273-88.
19. Vance C., Scotter E.L., Nishimura A.L., Troakes C., Mitchell J.C., Kathe C., Urwin H., Manser C., Miller C.C., Hortobágyi T., Dragunow M., Rogelj B., Shaw C.E.: ALS mutant FUS disrupts nuclear localisation and sequesters wild-type FUS within cytoplasmic stress granules.  
**Human Molecular Genetics.** 2013; 22:2676-2688.
20. Troakes C.\*, Hortobágyi T.\*, Vance C., Al-Sarraj S., Rogelj B., Shaw C. Transportin 1 co-localisation with FUS inclusions is not characteristic for ALS-FUS confirming disrupted nuclear import of mutant FUS and distinguishing it from FTLD-FUS.  
**Neuropathology & Applied Neurobiology.** 2013; 39:553-561.
21. Howlett D.R., Hortobágyi T.\*, Francis P.T.\*: Clusterin associates specifically with Abeta40 in Alzheimer's disease brain tissue.  
**Brain Pathology.** 2013; 23: 623-632. doi: 10.1111/bpa.12057
22. Troakes C., Maekawa S., Wijesekera L., Rogelj B., Siklós L., Bell C., Smith B., Newhouse S., Vance C., Johnson L., Hortobágyi T., Shatunov A., Al-Chalabi A., Leigh N., Shaw C.E., King A., Al-Sarraj S.: An MND/ALS phenotype associated with *C9orf72* repeat expansion: Abundant p62 positive, TDP-43 negative inclusions in cerebral cortex, hippocampus and cerebellum but without associated cognitive decline.  
**Neuropathology.** 2012; 32:505-514.
23. Alafuzoff I., Gelpi E., Al-Sarraj S., Arzberger T., Attems J., Bodi I., Bogdanovic N., Budka H., Bugiani O., Englund E., Ferrer I., Gentleman S., Giaccone G., Graeber M.B., Hortobágyi T., Höftberger R., Ironside J.W., Jellinger K., Kavantzias N., King A.,

Korkolopoulou P., Kovács G.G., Meyronet D., Monoranu C., Parchi P., Patsouris E., Roggendorf W., Rozemuller A., Seilhean D., Streichenberger N., Thal D.R., Wharton S.B., Kretzschmar H. The need to unify neuropathological assessments of vascular alterations in the ageing brain: Multicentre survey by the BrainNet Europe consortium.

**Experimental Gerontology.** 2012; 47:825-33.

24. Fritze F., Ehrt U., Hortobágyi T., Ballard C., Aarsland D.: Depressive symptoms in Alzheimer's disease and Lewy body dementia: A one-year follow-up study.

**Dementia and Geriatric Cognitive Disorders.** 2011; 32:143-149.

25. Hortobágyi T.\*, Troakes C.\*, Nishimura A.L.\*, Vance C., van Swieten J.C., Seelaar H., King A., Al-Sarraj S., Rogelj B., Shaw C.E.: Optineurin inclusions occur in a minority of TDP-43 positive ALS and FTLD-TDP cases and are rarely observed in other neurodegenerative disorders.

**Acta Neuropathologica.** 2011; 121:519-527.

26. Fritze F., Ehrt U., Sønnesyn H., Kurz M., Hortobágyi T., Nore S.P., Ballard C., Aarsland D.: Depression in mild dementia: Associations with diagnosis, APOE genotype and clinical features.

**International Journal of Geriatric Psychiatry.** 2011; 26:1054-1061.

27. Tollervey J.R., Curk T., Rogelj B., Briesse M., Cereda M., Kayikci M., Hortobágyi T., Nishimura A.L., Župunski V., Patani R., Chandran S., Rot G., Zupan B., Shaw C.E., Ule J. Characterising the RNA targets and position-dependent splicing regulation by TDP-43; implications for neurodegenerative diseases.

**Nature Neuroscience.** 2011,14 :452-458.

28. Engmann O., Hortobágyi T., Thompson A.J., Guadagno J., Troakes C., Soriano S., Al-Sarraj S., Kim Y., Giese K.P.: Tau kinase The Cdk5 activator p25 is generated during memory formation and decreases during Alzheimer's disease.

**Biological Psychiatry.** 2011; 70:159-168.

29. Tollervey J.R., Wang Z., Hortobágyi T., Kayikci M., Curk T., Rot G., Zupan B., Clark T.A., Schweitzer A.C., Rogelj B., Shaw C.E., Ule J.: Alternative mRNA isoforms relate neurodegeneration to the aging process.

**Genome Research** 2011; 21:1572-1582.

30. Engmann O., Hortobágyi T., Thompson A.J., Schneider T., Kreutz M.R., Kim Y., Nikolic M., Bannerman D., Giese K.P.: Schizophrenia is associated with dysregulation of Cdk5 activator that regulates synaptic protein expression and cognition.

**Brain.** 2011; 134:2408-2421.

31. Auning E., Rongve A., Fladby T., Booij J., Hortobágyi T., Siepel F.J., Ballard C., Aarsland D.: The pre-dementia stage of dementia with Lewy bodies

**Dementia and Geriatric Cognitive Disorders.** 2011; 32:202-208.

32. Al-Sarraj S., King A., Troakes C., Smith B., Maekawa S., Bodi I., Rogelj B., Al-Chalabi A., Hortobágyi T., Shaw C.E.: p62 positive, TDP-43 negative, neuronal cytoplasmic and intranuclear inclusions in the cerebellum and hippocampus define the pathology of *C9orf72* linked FTLD and MND/ALS.  
**Acta Neuropathologica.** 2011; 122:691-702.
33. Tudor E.L., Galtrey C.M., Perkinton M.S., Lau K-F., De Vos K.V., Mitchell J.C., Ackerley S., Hortobágyi T., Vámos E., Leigh P.L., Klasen C., McLoughlin D.M., Shaw C.E., Miller C.C.: Amyotrophic lateral sclerosis-linked mutant VAPB transgenic mice develop TDP-43 pathology.  
**Neuroscience.** 2010;167:774-785.
34. Nishimura A.L., Župunski V., Troakes C., Fratta P., Kathe C., Howell M., Gallo J.-M., Hortobágyi T., Shaw C.E., Rogelj B.: Nuclear import impairment causes cytoplasmic trans-activation response DNA-binding protein accumulation and is associated with frontotemporal lobar degeneration.  
**Brain.** 2010; 133: 1763-1771.
35. Kirvell S.L., Elliott M.S., Kalaria R.N., Hortobágyi T., Ballard C.G., Francis P.T.: Vesicular glutamate transporter and cognition in stroke: a case-control autopsy study in stroke.  
**Neurology.** 2010;75:1803-1809.
36. Vance C.\*, Rogelj B.\*, Hortobágyi T.\*, De Vos K.J.\*, Nishimura A.L., Sreedharan J., Hu X., Smith B., Ruddy D., Wright P., Ganeslingam J., Tripathi V., Al-Sarraj S., Al-Chalabi A., Leigh P.N., Blair I.P., Nicholson G., de Bellerocche J., Gallo J-M., Miller C.C., Shaw C.E.: Mutations in FUS, an RNA Processing Protein, Cause Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis Type 6.  
**Science.** 2009;323:1208-1211.
37. Alafuzoff I., Thal D.R., Arzberger T., Al-Sarraj S., Bodi I., Boluda S., Bugiani O., Dyckaerts C., Gelpi E., Gentleman S., Giaccone G., Graeber M., Hortobágyi T., Höftberger R., Ince P., Ironside J.W., Kavantzias N., King A., Korkolopoulou P., Kovács G.G., Meyronet D., Monoranu C., Nilsson T., Parchi P., Patsouris E., Pikkarainen M., Revesz T., Rozemuller A., Seilhean D., Schulz-Schaeffer W., Streichenberger N., Wharton S.B., Kretzschmar H.: Assessment of  $\beta$ -amyloid deposits in the human brain: a study of the BrainNet Europe Consortium.  
**Acta Neuropathologica.** 2009;117:309-320.
38. Currais A., Hortobágyi T., Soriano S.: The neuronal cell cycle as a mechanism of pathogenesis in Alzheimer's disease  
**Aging.** 2009;1:363-371 <http://www.impactaging.com/papers/v1/n4/full/100045.html>
39. Elliott M.S.J., Ballard C.G., Kalaria R.N., Perry R., Hortobágyi T., Francis P. T.: Increased binding to 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors in vascular dementia and stroke is related to infarct injury and cognition.  
**Brain** 2009;132:1858-1865. DOI:10.1093/brain/awp069

40. Sharp S.I., Francis P.T., Elliott M.S.J., Kalaria R.N., Bajic N., Hortobágyi T., Ballard C.G.: Choline acetyltransferase activity in vascular dementia and stroke. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders**. 2009;28:233-238.
41. Maekawa S., Leigh P.N., King A., Jones E., Steel J.C., Bódi I., Shaw C.E., Hortobágyi T., Al-Sarraj S.: TDP-43 consistently co-localised with ubiquitinated inclusions in sporadic and Guam amyotrophic lateral sclerosis but rarely in familial amyotrophic lateral sclerosis with and without SOD1 mutation. **Neuropathology**. 2009; 29: 672–683
42. Malik B, Currais A, Andres A, Towlson C, Pitsi D, Nunes A, Niblock M, Cooper J, Hortobágyi T., Soriano S.: Loss of neuronal cell cycle control as a mechanism of neurodegeneration in the presenilin-1 Alzheimer's disease brain. **Cell Cycle**. 2008; 7:637-46.
43. Mulugeta E., Molina-Holgado F., Elliott M.S., Hortobágyi T., Perry R., Kalaria R.N., Ballard C.G., Francis P.T.: Inflammatory mediators in the frontal lobe of patients with mixed and vascular dementia. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders**. 2008; 25:278-286.
44. Hortobágyi T., Wise S., Hunt N., Cary N., Djurovic V., Fegan-Earl A., Shorrocks K., Rouse D, Al-Sarraj S.: Traumatic axonal injury in the brain can be detected using  $\beta$ -APP immunohistochemistry in a minimum of 35 minutes after head injury to human adults. **Neuropathology and Applied Neurobiology**. 2007;33:226-237.
45. Hortobágyi T., Görlach C., Benyó Z., Lacza Z., Hortobágyi S., Wahl M., Harkany T.: Inhibition of neuronal nitric oxide synthase-mediated activation of poly(ADP-ribose) polymerase in traumatic brain injury: neuroprotection by 3-aminobenzamide. **Neuroscience**. 2003;121:983-990.

## A DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT TOVÁBBI KÖZLEMÉNYEK

46. Hortobágyi T., Cairns N.: Non-tau frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis. in: **Handbook of Clinical Neurology (3rd series)**. (2016) ed.: G.G. Kovacs & I. Alafuzoff. Elsevier. (*Book chapter*) (*accepted for publication*)
47. Penke B., Hortobágyi T., Fülöp L.: Aging and Alzheimer's disease. (*Az öregedés és az Alzheimer-kór*) (*in Hungarian*) **Magyar Tudomány/Hungarian Science**. 2016; 177: 573-583.
48. Berghoff A.S., Trummert A., Unterberger U., Ströbel T., Hortobágyi T., Kovacs G.G.: Atypical sporadic CJD-MM phenotype with white matter kuru plaques associated with intranuclear inclusion body and argyrophilic grain disease

**Neuropathology.** 2015; 35:336-342. doi: 10.1111/neup.12192.

49. Huttner H.B.\*, Bergmann O.\*, Salehpour M., Rácz A., Lindgren E., Csonka T., Csiba L., Hortobágyi T., Méhes G., Englund E., Werne Solnestam B., Zdunek S., Scharenberg C., Ström L., Ståhl P., Lundeborg J., Dahl A., Lindvall O., Schwab S., Bernard S., Possnert G., Frisén J.: The age and genomic integrity of neurons after cortical stroke in humans. **Nature Neuroscience.** 2014; 17:801-803.  
doi:10.1038/nn.3706
50. Smith B.N., Newhouse S., Vance C., Lee Y., Weale M.E., Topp S., Millar J., Johnson L., Troakes C., Hortobágyi T., Al-Sarraj S., Rogelj B., Powell J., Lupton M., Lovestone S., Sapp P., Nestor P.J., Schelhaas J., Silani V., Galera C., van den Berg L., Veldink J., van Damme P., Robberecht W., de Jong V., Shaw P.J., Kirby J., Paul H., Morrison K.E., Bass F., Andersen P., Landers J., Brown R.H., Al-Chalabi A., Shaw C.E.: The C9ORF72 GGGGCC expansion mutation is derived from a single founder in European ALS/FTD patients and is highly unstable.  
**European Journal of Human Genetics.** 2013; 21:102-108.
51. Farkas S., Nagy K., Jia Z., Hortobágyi T., Varrone A., Halldin C., Csiba L., Gulyás B.: Signal transduction pathway activity compensates dopamine D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> receptor density changes in Parkinson's disease: a preliminary comparative human brain receptor autoradiography study with [<sup>3</sup>H]raclopride and [<sup>35</sup>S]GTPgammaS.  
**Brain Research.** 2012; 1453:56-63.
52. Hortobágyi T.: C9orf72 immunohistochemistry in Alzheimer's disease.  
**Alzheimers Res Ther.** 2012; 4:37.
53. Halleskog C., Mulder J., Dahlström J., Mackie K., Hortobágyi T., Tanila H., Puli L.K., Färber K., Harkany T., Schulte G.: WNT signaling in activated microglia acts proinflammatory.  
**Glia.** 2011;59:119-131.
54. Mulder J., Zilberter M., Pasquaré S., Alpár A., Schulte G., Martín-Moreno A.M., Keimpema E., Tanila H., Watanabe M., Mackie K., Hortobágyi T., de Ceballos M.L., Harkany T. Molecular reorganization of endocannabinoid signalling in Alzheimer's disease.  
**Brain.** 2011; 134:1041-1060.
55. Strong M.J., Hortobágyi T., Okamoto K. Kato S. Amyotrophic lateral sclerosis, Primary lateral sclerosis and Spinal muscular atrophy.  
In: **Neurodegeneration: The molecular pathology of dementia and movement disorders.** 2<sup>nd</sup> ed. (eds.: Dickson D.W., Weller R.O.). pp. 418-433. Wiley-Blackwell. 2011. ISBN 978 140 519 693 2 (Book chapter)
56. Hortobágyi T., Al-Sarraj S.: The significance of diffuse axonal injury: how to diagnose it and what does it tell us?  
**Advances in Clinical Neuroscience & Rehabilitation.** 2008; 8:16-18.

57. Currais A., Malik B., Hortobágyi T., Soriano S.: Loss of neuronal cell cycle control as a mechanism of pathogenesis in Alzheimer's disease.  
**Slovenian Medical Journal/Zdrav Vestn.** 2008; 77(II):13-20.  
<http://vestnik.szdzd.si/st08-s2ang/st08-s2ang.htm>
58. Rákó G., Kis Zs., Farkas T., Hortobágyi T., Toldi J.: A new method for rapid estimation of non-intact perilesional cells in focal brain injury: neuroprotection by dehydroepiandrosterone-sulphate.  
**Acta Neurobiologiae Experimentalis.** 2007;67:149-154.
59. Zádor Z., Benyó Z., Lacza Z., Hortobágyi T. sr., Harkany T., Hortobágyi T.: Neuroprotection in brain ischemia – doubts and hopes.  
(in Hungarian)(*Neuroprotekcio agyi iszkémiában – kételyek és remények*)  
**Clinical Neuroscience/Ideggyógyászati Szemle.** 2004;57:81-93.
60. Zádor Z., Lacza Z., Benyó Z., Harkany T., Hortobágyi T.: Apoptosis in focal brain ischemia.  
(in Hungarian)(*Apoptózis fokális agyi iszkémiában*)  
**Clinical Neuroscience/Ideggyógyászati Szemle.** 2003;56:216-228.
61. Lacza Z., Horváth E., Komjáti K., Hortobágyi T., Szabó C., Busija D.W.: PARP inhibition improves the effectiveness of neural stem cell transplantation in experimental brain trauma.  
**International Journal of Molecular Medicine.** 2003;12:153-159.
62. Hartig W., Bauer A., Brauer K., Grosche J., Hortobágyi T., Penke B., Schliebs R., Harkany T.: Functional recovery of basal forebrain cholinergic neurons under disease conditions: old problems, new solutions?  
**Reviews in the Neurosciences.** 2002;13:95-165.
63. Hortobágyi T. sr., Hortobágyi T.: Dementias in the general medical praxis: are we doing what we can? (in Hungarian)(*Demenciák a háziorvosi gyakorlatban: megteesszük azt, amit tehetnénk?*).  
**Családorvosi Fórum.** 2002;4:18-19.
64. Harkany T., Varga Cs., Grosche J., Mulder J., Luiten P.G.M., Hortobágyi T., Penke B., Hartig W.: Distinct subsets of nucleus basalis neurons exhibit similar sensitivity to excitotoxicity.  
**Neuroreport.** 2002;13:767-72.
65. Harkany T., Grosche J., Mulder J., Horváth K.M., Keijser J., Hortobágyi T., Luiten P.G.M., Härtig W.: Short-term consequences of N-methyl-D-aspartate excitotoxicity in rat magnocellular nucleus basalis: effects on in vivo labelling of cholinergic neurons.  
**Neuroscience.** 2001;108:611-627.
66. Hortobágyi T., Hortobágyi S., Görlach C., Harkany T., Benyó Z., Görögh T., Nagel W., Wahl M.: A novel model of brain trauma in the mouse: effects of dexamethasone treatment.

**Pflügers Archive – European Journal of Physiology.** 2000;441:409-415.

67. Benyó Z., Lacza Z., Hortobágyi T., Görlach C., Wahl M.: Functional importance of neuronal nitric oxide synthase in the endothelium of rat basilar arteries.

**Brain Research.** 2000;877:79-84.

68. Görlach C., Hortobágyi T., Hortobágyi S., Benyó Z.: Neuronal nitric oxide synthase inhibitor has a neuroprotective effect in a rat model of brain injury.

**Restorative Neurology and Neuroscience.** 2000;17:71-76.

69. Görlach C., Hortobágyi T., Benyó Z., Wahl M.: Aminoguanidine reduces brain lesion volume after cold injury in the rat.

**Pflügers Archive – European Journal of Physiology.** 2000;440:309-314.

70. Harkany T., Hortobágyi T., Sasvári M., Penke B., Kónya C., Luiten P.G.M., Nyakas C.: Neuroprotective approaches in experimental models of  $\beta$ -amyloid neurotoxicity: Relevance to Alzheimer's disease.

**Progress Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry.** 1999;23:963-1008.

71. Hortobágyi T., Nagy Z.: The characteristics of apoptosis and its role in cerebral ischemia.

(in Hungarian)(Az apoptózis jellemzői és szerepe az iszkémiás agykárosodásban).

**Lege Artis Medicinae.** 1997;7:452-461.

## A DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ NEM SZOROSAN KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

72. Varkoly G., Bencze J., Módos L.\*, Hortobágyi T.\*: Disorders of the extracellular matrix in epithelial-stromal and stromal corneal dystrophies (*Az extracelluláris mátrix rendellenességei epitheliális-stromális és stromális corneális dystrophiákban*). (in Hungarian)

**Orvosi Hetilap/Hungarian Medical Journal.** (közlésre elfogadva)

73. Bencze J., Varkoly G., Hortobágyi T.: Meningioma and pregnancy (*Meningeoma és terhesség*). (in Hungarian)

**Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience.** (közlésre elfogadva)

74. Virga J., Bognár L., Hortobágyi T., Zahuczky G., Csősz É., Kalló G., Tóth J., Hutóczki G., Reményi-Puskár J., Steiner L., Klekner Á.: Prognostic role of the expression of invasion-related molecules in glioblastoma.

**Journal of Neurological Surgery – Part A.** (közlésre elfogadva)

75. Klekner Á., Tóth J., Virga J., Hortobágyi T., Dér Á., Szemcsák C., Reményi-Puskár J., Bognár L.: Influence of oncotherapy and clinical parameters on survival of glioblastoma patients.

**Neurology India.** (közlésre elfogadva)

76. Ramaswamy V, Hielscher T, Mack SC, Lassaletta A, Lin T, Pajtler KW, Jones DT, Luu B, Cavalli FM, Aldape K, Remke M, Mynarek M, Rutkowski S, Gururangan S, McLendon RE, Lipp ES, Dunham C, Hukin J, Eisenstat DD, Fulton D, van Landeghem FK, Santi M, van Veelen MC, Van Meir EG, Osuka S, Fan X, Muraszko KM, Tirapelli DP, Oba-Shinjo SM, Marie SK, Carlotti CG, Lee JY, Nageswara Rao AA, Giannini C, Faria CC, Nunes S, Mora J, Hamilton RL, Hauser P, Jabado N, Petrecca K, Jung S, Massimi L, Zollo M, Cinalli G, Bognár L, Klekner A, Hortobágyi T, Leary S, Ermoian RP, Olson JM, Leonard JR, Gardner C, Grajkowska WA, Chambless LB, Cain J, Eberhart CG, Ahsan S, Massimino M, Giangaspero F, Buttarelli FR, Packer RJ, Emery L, Yong WH, Soto H, Liao LM, Everson R, Grossbach A, Shalaby T, Grotzer M, Karajannis MA, Zagzag D, Wheeler H, von Hoff K, Alonso MM, Tuñón T, Schüller U, Zitterbart K, Sterba J, Chan JA, Guzman M, Elbabaa SK, Colman H, Dhall G, Fisher PG, Fouladi M, Gajjar A, Goldman S, Hwang E, Kool M, Ladha H, Vera-Bolanos E, Wani K, Lieberman F, Mikkelsen T, Omuro AM, Pollack IF, Prados M, Robins HI, Soffietti R, Wu J, Metellus P, Tabori U, Bartels U, Bouffet E, Hawkins CE, Rutka JT, Dirks P, Pfister SM, Merchant TE, Gilbert MR, Armstrong TS, Korshunov A, Ellison DW, Taylor MD. Therapeutic impact of cytoreductive surgery and irradiation of posterior fossa ependymoma in the molecular era: A retrospective multicohort analysis.  
**Journal of Clinical Oncology.** 2016; doi: 10.1200/JCO.2015.65.7825 (on-line first)
77. Csonka T., Murnyák B., Szepesi R., Bencze J., Bognár L., Klekner Á., Hortobágyi T.: Assessment of candidate immunohistochemical prognostic markers of meningioma recurrence.  
**Folia Neuropathologica.** 2016; 55: (on-line first) doi: 10.5114/fn.2016.60088
78. Hortobágyi T.\*, Bencze J.\*, Varkoly G., Kouhsari M., Klekner Á.: Meningioma recurrence. **Open Medicine.** 2016; 11:168-173. DOI: 10.1515/med-2016-0032 (in press)
79. Varkoly G., Bencze J., Hortobágyi T.\*, Módos L.\*: Corneal wound healing and the extracellular matrix (*A corneális sebgyógyulás és az extracelluláris mátrix*). (in Hungarian)  
**Orvosi Hetilap/Hungarian Medical Journal.** 2016; 157:995-999.
80. Griger Z., Nagy-Vincze M., Szabó K., Bodoki L., Murnyák B., Boczán J., Dankó K., Gherardi R.K., Hortobágyi T.: Late onset dysferlinopathy mimicking treatment refracter polymyositis.  
**Joint Bone Spine.** 2016; 83:355-356.
81. Thompson E.M., Hielscher T., Bouffet E., Remke M., Luu B., Gururangan S., McLendon R.E., Bigner D.D., Lipp E.S., Perreault S., Cho Y.J., Grant G., Kim S.K., Lee J.Y., Rao A.A., Giannini C., Li K.K., Ng H.K., Yao Y., Kumabe T., Tominaga T., Grajkowska W.A., Perek-Polnik M., Low D.C., Seow W.T., Chang K.T., Mora J., Pollack I.F., Hamilton R.L., Leary S., Moore A.S., Ingram W.J., Hallahan A.R., Jouvét A., Fèvre-Montange M., Vasiljevic A, Faure-Contier C, Shofuda T, Kagawa N, Hashimoto N, Jabado N, Weil AG, Gayden T., Wataya T., Shalaby T., Grotzer M.,



- Zitterbart K., Sterba J., Kren L., Hortobágyi T., Klekner A., László B., Pócza T., Hauser P., Schüller U., Jung S., Jang W.Y., French P.J., Kros J.M., van Veelen M.C., Massimi L., Leonard J.R., Rubin J.B., Vibhakar R., Chambless L.B., Cooper M.K., Thompson R.C., Faria C.C., Carvalho A., Nunes S., Pimentel J., Fan X., Muraszko K.M., López-Aguilar E., Lyden D., Garzia L., Shih D.J., Kijima N., Schneider C., Adamski J., Northcott P.A., Kool M., Jones D.T., Chan J.A., Nikolic A., Garre M.L., Van Meir E.G., Osuka S., Olson J.J., Jahangiri A., Castro B.A., Gupta N., Weiss W.A., Moxon-Emre I., Mabbott D.J., Lassaletta A., Hawkins C.E., Tabori U., Drake J., Kulkarni A., Dirks P., Rutka J.T., Korshunov A., Pfister S.M., Packer R.J., Ramaswamy V., Taylor M.D.: Prognostic value of medulloblastoma extent of resection after accounting for molecular subgroup: a retrospective Integrated clinical and molecular analysis. **Lancet Oncology**. 2016; 17:484-495
82. Hutóczki G., Bognár L., Tóth J., Scholtz B., Zahuczky G., Hanzély Z., Csősz É., Reményi-Puskár J., Kalló G., Hortobágyi T., Klekner Á.: Effect of concomitant radiotherapy on invasion potential of glioblastoma. **Pathology Oncology Research**. 2016; 22:155-160. DOI 10.1007/s12253-015-9989-5
83. Mozes P., Hauser P., Hortobágyi T., Benyó G., Peták I., Garami M., Cserháti A., Bartyik K., Bognár L., Nagy Z., Turányi E., Hideghéty K.: Evaluation of the good tumor response of embryonal tumor with abundant neuropil and true rosettes (ETANTR). **Journal of Neuro-Oncology**. 2016; 126:99-105.
84. Klekner A., Hutóczki G., Virga J., Reményi-Puskár J., Tóth J., Scholtz B., Csősz É., Kalló G., Steiner L., Hortobágyi T., Bognár L.: Expression pattern of invasion-related molecules in the peritumoral brain. **Clinical Neurology and Neurosurgery**. 2015; 139:138-143. doi:10.1016/j.clineuro.2015.09.017
85. Murnyák B., Csonka T., Hortobágyi T.: The molecular pathology of meningiomas. (A meningeómák molekuláris patológiája.) (in Hungarian) **Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience**. 2015; 66:292-300.
86. Gajda A.\*, Horváth E.\*, Hortobágyi T., Szabó S., Túri S., Farkas K., Nagy N., Széll M., Sztriha L.: Nemaline Myopathy Type 2 (NEM2): Two Novel Mutations in the Nebulin (NEB) Gene. **Journal of Child Neurology**. 2015; 30:627-630. doi: 10.1177/0883073813494476.
87. Murnyák B., Bognár L., Klekner Á.\*, Hortobágyi T.\*: Epigenetics of meningiomas. **Biomed Research International**. 2015; 2015:532451. doi: 10.1155/2015/532451.
88. Torchia J, Picard D, Lafay-Cousin L, Hawkins CE, Kim SK, Letourneau L, Ra YS, Ho KC, Chan TS, Sin-Chan P, Dunham CP, Yip S, Ng HK, Lu JQ, Albrecht S, Pimentel J, Chan JA, Somers GR, Zielenska M, Faria CC, Roque L, Baskin B, Birks D, Foreman N, Strother D, Klekner A, Garami M, Hauser P, Hortobágyi T., Bognár L, Wilson B, Hukin J, Carret AS, Van Meter TE, Nakamura H, Toledano H, Fried I, Fults D, Wataya T, Fryer C, Eisenstat DD, Scheinman K, Johnston D, Michaud J, Zelcer S,

- Hammond R, Ramsay DA, Fleming AJ, Lulla RR, Fangusaro JR, Sirachainan N, Larbcharoensub N, Hongeng S, Barakzai MA, Montpetit A, Stephens D, Grundy RG, Schüller U, Nicolaides T, Tihan T, Phillips J, Taylor MD, Rutka JT, Dirks P, Bader GD, Warmuth-Metz M, Rutkowski S, Pietsch T, Judkins AR, Jabado N, Bouffet E, Huang A. Molecular subgroups of atypical teratoid rhabdoid tumours in children: an integrated genomic and clinicopathological analysis.  
**Lancet Oncology.** 2015; 16:569-582. doi: 10.1016/S1470-2045(15)70114-2.
89. Szepesi R.\*, Széll I.K.\*, K., Hortobágyi T.\*, Kardos L.; Nagy K.; Láncki I.L., Berényi E., Bereczki D., Csiba L.: New prognostic score for the prediction of 30-day outcome in spontaneous supratentorial cerebral haemorrhage.  
**Biomed Research International.** 2015; Article ID 961085, 8 pages  
<http://dx.doi.org/10.1155/2015/961085>
90. Murnyák B., Szepesi R., Hortobágyi T.: Molecular genetics of familial tumour syndromes of the central nervous system (*A központi idegrendszeret érintő családi daganatszindrómák molekuláris háttere*) (in Hungarian)  
**Orvosi Hetilap/Hungarian Medical Journal.** 2015; 156:171–177
91. Bodoki L., Vincze M., Griger Z., Csonka T., Dankó K., Hortobágyi T.: Inclusion body myositis. (*Zárványtestes myositis.*) (in Hungarian)  
**Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience.** 2015; 68:59-67.
92. Murnyák B., Bodoki L., Vincze M., Griger Z., Csonka T., Szepesi R., Kurucz A., Dankó K., Hortobágyi T.: Inclusion body myositis – update on molecular pathomechanisms with clinical implications.  
**Open Medicine.** 2015; 10:188-193
93. Eggens V.R., Barth P.G., Niermeijer J.M., Berg J.N., Darin N., Dixit A., Fluss J., Foulds N., Fowler D., Hortobágyi T., Jacques T., King M.D., Makrythanasis P., Máté A., Nicoll J.A., O'Rourke D., Price S., Williams A.N., Wilson L., Suri M., Sztriha L., Dijns-de Wissel M.B., van Meegen M.T., van Ruissen F, Aronica E., Troost D., Majoie C.B., Marquering H.A., Poll-Thé B.T., Baas F.: EXOSC3 mutations in pontocerebellar hypoplasia type 1: novel mutations and genotype-phenotype correlations.  
**Orphanet Journal of Rare Diseases.** 2014; 9:23. PMID: 24524299.
94. Bodoki L., Vincze M., Griger Z., Csonka T., Murnyák B., Kurucz A., Dankó K., Hortobágyi T.: Inclusion body myositis – a case based clinicopathological update.  
**Central European Journal of Medicine.** 2014; 9:80-85.
95. Csonka T., Murnyák B., Szepesi R., Kurucz A., Klekner Á., Hortobágyi T.: Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP1) and p53 labelling index correlates with tumour grade in meningiomas..  
**Folia Neuropathologica.** 2014; 52:111-120.
96. Bodoki L., Vincze M., Hortobágyi T., Griger Z., Csonka T., Cseri K., Szöllősi L., Dankó K.: Anti-signal recognition particle autoantibody positive myositis. (*Anti-signal recognition particle autoantitest pozitív myositis.*) (in Hungarian)  
**Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience.** 2014; 67:347-353.

97. Klekner Á., Virga J., Tóth J., Hortobágyi T., Dér Á., Szemcsák C., Bognár L.: The role of extracellular matrix components in the invasion of intracranial malignancies. (*Az extracelluláris mátrix komponensek tumorinvázióban betöltött szerepe intrakraniális daganatokban.*) (in Hungarian)  
**Magyar Onkológia/Hungarian Oncology.** 2013; 57:222-231.
98. Griger Z., Vincze M., Bodoki L., Cseri K., Hortobágyi T., Dankó K.: Necrotising autoimmune myopathy – case report. (*Nekrotizáló autoimmun myopathia esete*)(in Hungarian)  
**Metabolizmus.** 2013; 11:379-382.
99. Bodoki L., Vincze M., Griger Z., Csonka T., Cseri K., Hortobágyi T., Dankó K.: Rituximab therapy in idiopathic inflammatory myopathies. (*Rituximab kezelés idiopathiás inflammatorikus myopathiákban*)(in Hungarian)  
**Leg Artis Medicinae.** 2013; 23:16-21
100. Kalóczkai G., Hortobágyi T.: The history of neuropathology in Debrecen, Hungary. (*A debreceni neuropatológia története.*) (in Hungarian)  
**Orvosi Hetilap/Hungarian Medical Journal.** 2013; 154:633-635.
101. Csonka T., Szepesi R., Bidiga L., Péter M., Klekner Á., Hutóczky G., Csiba L., Méhes G., Hortobágyi T.: The diagnosis of herpes encephalitis – a case-based update. (*A herpesz enkefalitisz diagnosztikájáról egy esetismertetés kapcsán.*) (in Hungarian)  
**Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience.** 2013; 66:337-342.
102. Murnyák B., Csonka T., Hegyi K., Méhes G., Klekner Á., Hortobágyi T.: Occurrence and molecular pathology of high grade gliomas. (*Magas grádusú gliomák előfordulása és molekuláris patológiája.*) (in Hungarian)  
**Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience.** 2013; 66:312-321.
103. Murnyák B., Csonka T., Klekner Á., Hortobágyi T.: Occurrence and molecular pathology of high grade gliomas. (*Alacsony grádusú gliális daganatok előfordulása és molekuláris patológiája.*) (in Hungarian)  
**Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience.** 2013; 66:305-311.
104. Farkas S., Molnár S., Nagy K., Hortobágyi T.\*, Csiba L.\*: Comparative in vivo and in vitro postmortem ultrasound assessment of intima-media thickness with additional histological analysis in human carotid arteries.  
in: Bartels E., Bartels S., Poppert H. (eds.): New Trends in Neurosonology and cerebral hemodynamocs – an Update. (*book chapter*)  
**Perspectives in Medicine.** 2012; 1:170-176. doi: 10.1016/j.permed.2012.02.050
105. Bodoki L., Vincze M., Hortobágyi T., Griger Z., Cseri K., Szöllősi L., Dankó K.: Necrotising autoimmune myopathy. (*Nekrotizáló autoimmun myopathia*)(in Hungarian)  
**Orvosi Hetilap/Hungarian Medical Journal.** 2012;153:1502-1507.

106. Dziadzio M., Hortobágyi T., Kidd D., Chee R.: Common variable immunodeficiency (CVID) with coexisting central nervous system sarcoidosis. Case report and literature review with implications for diagnosis and pathogenesis. **Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience**. 2011; 64:405-408.
107. Buonocore F., Campbell C.D., Hill M.J., Oladimeji P.B., Jeffries A.R., Troakes C., Hortobágyi T., Williams B.P., Cooper J.D., Bray N.J.: Effects of *cis*-regulatory variation differ across regions of the adult human brain  
**Human Molecular Genetics**. 2010;19:4490-6.
108. Currais A., Hortobágyi T., Soriano S.: The neuronal cell cycle as a mechanism of pathogenesis in Alzheimer's disease.  
**Cell cycle regulators in Alzheimer's disease**. pp39-53. 2010. (ed.: Padmanabhan J.);Transworld Research Network, Kerala, India. ISBN: 978-81-7895-447-9
109. Hortobágyi T.\*, Alhakim A.\*, Biedrzycki O., Djurovic V., Rawal J., Al-Sarraj S.: Cysticercosis of the fourth ventricle causing sudden death. A case report and review of the literature.  
**Pathology & Oncology Research**. 2009;15:143-146.
110. Saw S., Thomas N., Gleeson M.J., Bódi I., Connor S., Hortobágyi T.: Giant cell tumour and central giant cell reparative granuloma of the skull: Do these represent ends of a spectrum? A case report and literature review  
**Pathology & Oncology Research** 2009;15:291-295.
111. László A., Mayer P., Kóbor J., Rácz K., Tálosi G., Endreffy E., Herczegfalvi Á., Hortobágyi T., Tiszlavicz L., Bereg E., Katona M., Szabó J., Karcagi V.: Genetically determined neuromuscular disorder of some Roma families living in Hungary.  
**Clinical Neuroscience/Ideggyógyászati Szemle**. 2009; 62:41-47.
112. Hortobágyi T., Honavar M., Selway R., Al-Sarraj S.: Desmoplastic ganglioglioma with mesenchymal component and a collision tumour meningioma presenting with epilepsy.  
**Neuropathology and Applied Neurobiology**. 2008; 34:118-123.
113. Bódi I., Hortobágyi T., Buk S.: 72-year-old women with right frontal extra-axial mass.  
**Brain Pathology**. 2008;18:279-282.
114. Hortobágyi T., Thomas N., King A.: 71-year-old man with multiple metastases to the brain.  
**Neuropathology**. 2008; 28:103-105.
115. Szabó N., Szabó H., Hortobágyi T., Túri S., Sztriha L.: Pontocerebellar hypoplasia Type 1.  
**Pediatric Neurology** 2008; 39: 286-288.
116. Abhinav K., Al-Chalabi A., Hortobágyi T., Leigh P.N.: Electrical injury and amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review of the literature.  
**Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**. 2007;78:450-453.

117. Hortobágyi T., Szabó H., Kovács S.K., Bódi I., Bereg E., Katona M., Biancalana V., Túri S., Sztriha L.: X-linked myotubular myopathy – Report of a case with novel mutation.  
**Journal of Child Neurology.** 2007;22:447-451.
118. Hortobágyi T., Bódi I., Lantos P.L.: Adult cerebellar neuroectodermal tumour with predominant pilocytic pattern, focal lipidization and myoid differentiation.  
**Neuropathology and Applied Neurobiology.** 2007;33:121-125.
119. Eskesen K., Tajti J., Hortobágyi T., Szok D., Vécsei L., Edvinsson L.: Unaltered mRNA expression of calcitonin-like receptor and receptor activity modifying proteins in human arteries in stroke and myocardial infarction.  
**Clinical Neuroscience/Ideggyógyászati Szemle.** 2007; 60: 459-466.
120. Kovács S.K., Korcsik J., Szabó H., Bódi I., Katona M., Bereg E., Endreffy E., Túri S., Hortobágyi T., Sztriha L.: Myotubular myopathy – Case report and review of the literature (*Myotubularis myopathia – esetismertetés és irodalmi áttekintés*)(in Hungarian).  
**Hungarian Medical Journal/Orvosi Hetilap.** 2007;148:1757-1762.
121. Lee L., Saran F., Hargreave D., Bódi I., Bassi S., Hortobágyi T.: Bifocal germinoma – A case-based update.  
**Child's Nervous System.** 2006;22:1513-1518.
122. Jenkins T., Hortobágyi T., Sibtain N.: A confused diabetic with a spiking fever.  
**Practical Neurology.** 2005;4:230-235.
123. Yeung I.Y.L., Whitelaw B.C., Hortobágyi T., Bódi I., Strutt M., Philpott-Howard J., Petrou M.A., Connor S.E.J., Thomas N.W.M.: Phaeohyphomycosis: An unusual pituitary mass.  
**British Journal of Neurosurgery.** 2005;19:442-445.
124. Wackenfors A., Emilson M., Ingemansson R., Hortobágyi T., Szok D., Tajti J., Vécsei L., Edvinsson L., Malmsjö M.: Ischemic heart disease induce upregulation of endothelin receptor mRNA in human coronary arteries.  
**European Journal of Pharmacology.** 2004;484:103-109.
125. Tan G.S-S., Hortobágyi T., Al-Sarraj S., Connor S. Intracranial laterally based supratentorial neurenteric cyst.  
**British Journal of Radiology.** 2004;77:963-965.
126. Hortobágyi T., Szűts Á., Csenki M., Harkany T., Zádor Z., Katona M., Bódi I.: Vein of Galen malformation combined with atrial septal defect in a neonate.  
**Clinical Neuropathology.** 2003;22:193-198.
127. Gelpi E., Hortobágyi T., Haberler C., Budka H.: HIV infection and the central nervous system: an overview. (*in German*)(*HIV Infektion und zentrales Nervensystem: eine Übersicht*)  
**Psychopraxis.** 2003; 3:8-20.

128. Benyó Z, Lacza Z, Hortobágyi T., Görlach C, Sándor P, Wahl M: Neuronal nitric oxide synthase in the cerebrovascular endothelium.  
In: **Brain Activation and CBF Control, Proceedings.** International Symposium on Brain Activation and Cerebral Blood Flow Control, JUN 05-08, 2001. TOKYO, JAPAN. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 2002. pp. 369-377. (INTERNATIONAL CONGRESS SERIES; 1235.) (ISBN:0-444-50874-0)
129. Csenki M., Hortobágyi T.: A congenital cerebral vascular malformation in infant causing heart failure. (*in Hungarian*)(*Szívelégtelenséghez vezető veleszületett agyi érfejlődési rendellenesség újszülöttnél*)  
In: **Gyermekegyógyászati Továbbképző Előadások – Tiszaparti esték, 2001-2002.** Ed.: S. Turi, Szeged University Press, Szeged, 2002; 9-13.
130. Lacza Z., Hermán P., Görlach C., Hortobágyi T., Sándor P., Wahl M., Benyó Z.: NO synthase blockade induces chaotic cerebral vasomotion via activation of thromboxane receptors. **Stroke.** 2001;32:2609-2614.
131. Görlach C., Hortobágyi T., Hortobágyi S., Benyó Z., Wahl M.: Inhibition of endothelin-1 by the competitive ET<sub>A</sub> antagonist RO 61-1790 reduces lesion volume after cold injury in the rat.  
**Pflügers Archive – European Journal of Physiology.** 2001;441:844-849.
132. Görlach C., Hortobágyi T., Hortobágyi S., Benyó Z., Relton J., Whalley E.T., Wahl M.: Bradykinin B<sub>2</sub>, but not B<sub>1</sub>, receptor antagonism has a neuroprotective effect after brain injury.  
**Journal of Neurotrauma.** 2001;18:833-838.
133. Wahl M., Görlach C., Hortobágyi T., Benyó Z.: Effects of bradykinin in the cerebral circulation.  
**Acta Physiologica Hungarica** 1999;86:155-160.
134. Görögh T., Rudert H., Lippert B.M., Gottschlich S., Maune S., Heidorn K., Maass J., Hoffmann M., Meyer J.E., Rathcke I.O., Folz B.E., Hortobágyi T., Werner J.A.: Transcriptional repression of the human galactocerebrosidase gene in squamous cell carcinomas of the larynx.  
**International Journal of Cancer.** 1999;83:750-754.
135. Hortobágyi T., Harkany T., Reisch R., Urbanics R., Kálmán M., Nyakas C., Nagy Z.: Neurotrophin-mediated neuroprotection by solid fetal telencephalic graft in middle cerebral artery occlusion: A preventive approach.  
**Brain Research Bulletin.** 1998;47:185-191.

## SZCIENTOMETRIA

Az MTA Doktori Tanács Titkársága (DTT) részére a Magyar Tudományos Művek Tára (MTMT) szolgáltatta az MTA doktori pályázat követelményeinek megfelelően a szcientometriai adatokat.

Az MTA-DTT részére készített összesítésben nem szerepelnek a közlésre elfogadott, de még nem megjelent publikációk. Ezeket, és valamennyi lektorált publikációt (a 'sokszerzős' cikkeket is) figyelembe véve:

Magyar nyelvű közlemények száma: 17

Angol illetve német nyelvű közlemények száma: 118

Első szerzős (megosztott is): 16

Utolsó szerzős (megosztott is): 18

Közleményeim összesített impakt faktora: **480,239**

A PhD fokozat utáni (2001-) közlemények impakt faktora: 465,044

Az elmúlt 10 év (2006-) közleményeinek impakt faktora: 435,560

Az elmúlt 5 év (2011-) közleményeinek impakt faktora: 321,320

Az elmúlt 1,5 év (2015-) közleményeinek impakt faktora: 159,671

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények impakt faktora: 262,353

Az értekezés témakörében megjelent további közlemények IF-a: 63,879

Egyéb lektorált közlemények impakt faktora: 154,007

A részletes és frissített publikációs lista a citációs adataimmal a Google Tudós adatbázisban érhető el:

<http://scholar.google.hu/citations?user=9GgiUFUAAAAJ&hl=hu&oi=ao>

Az értekezés beadását megelőző állapotot az alábbi adatok jellemzik:

(Google Scholar - 2016.06.13.)

|           | Összes | 2011 óta |
|-----------|--------|----------|
| Idézetek  | 4040   | 3302     |
| h-index   | 29     | 26       |
| i10-index | 60     | 46       |

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm családomnak - kiemelten szüleimnek - szeretetüket, a gondoskodást, sok segítséget.

Köszönet barátaimnak szerte a világon, hogy számíthattam rájuk.

Köszönet mestereimnek. Közülük a következőket emelem ki: Tósaki Árpád, Ormos Jenő, Michael Wahl, Christopher Shaw.

Köszönet munkatársaimnak a kutatómunkában, kiemelten (időrendben) a következőknek: Nagy Zoltán, Harkány Tibor, Benyó Zoltán, Christoph Görlach, Dag Aarsland, Boris Rogelj, Karl Peter Giese, Csiba László. Természetesen köszönöm a cikkekben társszerzőként megjelenő és név szerint meg nem említett munkatársaimnak is a támogatást és a kooperációt.

Köszönet PhD, MD és MSc hallgatóimnak, hogy nemcsak taníthattam őket, hanem sokat tanultam is tőlük.

Köszönet a kutatást anyagilag támogató szervezeteknek, kiemelten a Nemzeti Agykutatási Programnak (KTIA\_13\_NAP-A-II/7).

OAMDG





## IRODALOMJEGYZÉK

Abdul-Muneer P, Chandra N, Haorah J (2015) Interactions of oxidative stress and neurovascular inflammation in the pathogenesis of traumatic brain injury. *Mol Neurobiol* 51: 966–979.

Abhinav K, Al-Chalabi A, Hortobágyi T, Leigh PN (2007) Electrical injury and amyotrophic lateral sclerosis: A systematic review of the literature. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 78: 450–453, doi:10.1136/jnnp.2006.104414.

Adlard PA, Cherny RA, Finkelstein DI, Gautier E, Robb E, Cortes M, Volitakis I, Liu X, Smith JP, Perez K, Laughton K, Li Q-X, Charman SA, Nicolazzo JA, Wilkins S, Deleva K, Lynch T, Kok G, Ritchie CW, Tanzi RE, Cappai R, Masters CL, Barnham KJ, Bush AI (2008) Rapid restoration of cognition in Alzheimer's transgenic mice with 8-hydroxy quinoline analogs is associated with decreased interstitial A $\beta$ . *Neuron* 59: 43–55, doi:10.1016/j.neuron.2008.06.018.

Adlard PA, Parncutt JM, Finkelstein DI, Bush AI (2010) Cognitive loss in zinc transporter-3 knock-out mice: A phenocopy for the synaptic and memory deficits of Alzheimer's disease? *J Neurosci* 30: 1631–1636, doi:10.1523/JNEUROSCI.5255-09.2010.

Ahlbom A (2001) Neurodegenerative diseases, suicide and depressive symptoms in relation to EMF. *Bioelectromagnetics* S132–S143.

Aguzzi A, Rajendran L (2009) The transcellular spread of cytosolic amyloids, prions, and prionoids. *Neuron* 64:783–90. doi: 10.1016/j.neuron.2009.12.016.

Aho L, Jolkkonen J, Alafuzoff I (2006)  $\beta$ -amyloid aggregation in human brains with cerebrovascular lesions. *Stroke* 37: 2940–2945, doi:10.1161/01.STR.0000248777.44128.93.

Alafuzoff I, Thal DR, Arzberger T, Bogdanovic N, Al-Sarraj S, Bodi I, Boluda S, Bugiani O, Duyckaerts C, Gelpi E (2009) Assessment of  $\beta$ -amyloid deposits in human brain: a study of the BrainNet Europe Consortium. *Acta Neuropathol (Berl)* 117: 309–320.

Alafuzoff I, Gelpi E, Al-Sarraj S, Arzberger T, Attems J, Bodi I, Bogdanovic N, Budka H, Bugiani O, Englund E, Ferrer I, Gentleman S, Giaccone G, Graeber MB, Hortobágyi T, Höftberger R, Ironside JW, Jellinger K, Kavantzias N, King A, Korkolopoulou P, Kovács GG, Meyronet D, Monoranu C, Parchi P, Patsouris E, Roggendorf W, Rozemuller A, Seilhean D, Streichenberger N, Thal DR, Wharton SB, Kretzschmar H (2012) The need to unify neuropathological assessments of vascular alterations in the ageing brain. Multicentre survey by the BrainNet Europe consortium. *Exp Gerontol* 47:825–833, doi:10.1016/j.exger.2012.06.001.

Alafuzoff I, Pikkarainen M, Neumann M, Arzberger T, Al-Sarraj S, Bodi I, Bogdanovic N, Bugiani O, Ferrer I, Gelpi E, Gentleman S, Giaccone G, Graeber MB, Hortobágyi T, Ince PG, Ironside JW, Kavantzias N, King A, Korkolopoulou P, Kovács GG, Meyronet D, Monoranu C, Nilsson T, Parchi P, Patsouris E, Revesz T, Roggendorf W, Rozemuller A,

Seilhean D, Streichenberger N, Thal DR, Wharton SB, Kretschmar H (2015) Neuropathological assessments of the pathology in frontotemporal lobar degeneration with TDP43-positive inclusions: an inter-laboratory study by the BrainNet Europe consortium. *J Neural Transm* 122: 957–972, doi:10.1007/s00702-014-1304-1.

Al-Sarraj S, King A, Troakes C, Smith B, Maekawa S, Bodi I, Rogelj B, Al-Chalabi A, Hortobágyi T, Shaw CE (2011) P62 positive, TDP-43 negative, neuronal cytoplasmic and intranuclear inclusions in the cerebellum and hippocampus define the pathology of C9orf72-linked FTLD and MND/ALS. *Acta Neuropathol (Berl)* 122: 691–702, doi:10.1007/s00401-011-0911-2.

Amarilio R, Ramachandran S, Sabanay H, Lev S (2005) Differential regulation of endoplasmic reticulum structure through VAP-Nir protein interaction. *J Biol Chem* 280: 5934–5944, doi:10.1074/jbc.M409566200.

American Psychiatric Association (1968) Diagnostic and statistical manual of mental disorders DSM-II 2<sup>nd</sup> edition DSM-II

American Psychiatric Association (2000) Diagnostic and statistical manual of mental disorders DSM-IV-TR fourth edition (text revision).

American Psychiatric Association (2013) Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®) (American Psychiatric Pub).

Anagnostou G, Akbar MT, Paul P, Angelinetta C, Steiner TJ, de Bellerocche J (in press) Vesicle associated membrane protein B (VAPB) is decreased in ALS spinal cord. *Neurobiol Aging*.

Anborgh PH, Godin C, Pampillo M, Dhami GK, Dale LB, Cregan SP, Truant R, Ferguson SSG (2005) Inhibition of metabotropic glutamate receptor signaling by the huntingtin-binding protein optineurin. *J Biol Chem* 280: 34840–34848, doi:10.1074/jbc.M504508200.

Andrews NC, Faller DV (1991) A rapid micropreparation technique for extraction of DNA-binding proteins from limiting numbers of mammalian cells. *Nucleic Acids Res* 19: 2499, doi:10.1093/nar/19.9.2499.

Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, Ikeda K, Nonaka T, Mori H, Mann D, Tsuchiya K, Yoshida M, Hashizume Y, Oda T (2006) TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun* 351: 602–611, doi:10.1016/j.bbrc.2006.10.093.

Arai T, Ikeda K, Akiyama H, Shikamoto Y, Tsuchiya K, Yagishita S, Beach T, Rogers J, Schwab C, McGeer PL (2001) Distinct isoforms of tau aggregated in neurons and glial cells in brains of patients with Pick's disease, corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy. *Acta Neuropathol (Berl)* 101: 167–173.

Arai T, Mackenzie IR, Hasegawa M, Nonaka T, Niizato K, Tsuchiya K, Iritani S, Onaya M, Akiyama H (2009) Phosphorylated TDP-43 in Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies. *Acta Neuropathol (Berl)* 117: 125–136.

Arendt T, Rodel L, Gartner U, Holzer M (1996) Expression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p16 in Alzheimer's disease. *NeuroReport* 7: 3047–3049.

Areosa SA, Sherriff F, McShane R (2005) Memantine for dementia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005 20;(3):CD003154.

Arima K, Yanagawa S, Ito N, Ikeda S (2003) Cerebral arterial pathology of CADASIL and CARASIL (Maeda syndrome). *Neuropathology* 23: 327–334.

Arnold ES, Ling SC, Huelga SC, Lagier-Tourenne C, Polymenidou M, Ditsworth D, Kordasiewicz HB, McAlonis-Downes M, Platoshyn O, Parone PA, Da Cruz S, Clutario KM, Swing D, Tessarollo L, Marsala M, Shaw CE, Yeo GW, Cleveland DW (2013) ALS-linked TDP-43 mutations produce aberrant RNA splicing and adult-onset motor neuron disease without aggregation or loss of nuclear TDP-43. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: doi:10.1073/pnas.1222809110.

Ashe KH, Aguzzi A (2013) Prions, prionoids and pathogenic proteins in Alzheimer disease. *Prion* 7:55-59. doi: 10.4161/pri.23061.

Ayala YM, De Conti L, Avendano-Vazquez SE, Dhir A, Romano M, D'Ambrogio A, Tollervey J, Ule J, Baralle M, Buratti E, Baralle FE (2011) TDP-43 regulates its mRNA levels through a negative feedback loop. *EMBO J* 30: doi:10.1038/emboj.2010.310.

Ayala YM, Zago P, D'Ambrogio A, Xu Y-F, Petrucelli L, Buratti E, Baralle FE (2008) Structural determinants of the cellular localization and shuttling of TDP-43. *J Cell Sci* 121: 3778–3785, doi:10.1242/jcs.038950.

Baek J-H, Whitfield D, Howlett D, Francis P, Bereczki E, Ballard C, Hortobágyi T, Attems J, Aarsland D (2015) Unfolded protein response is activated in Lewy body dementias.

Bains J, Birks JS, Denning TR (2002) The efficacy of antidepressants in the treatment of depression in dementia. *Cochrane Database Syst Rev* (4): CD003944

Baldin V, Lukas J, Marcote MJ, Pagano M, Draetta G (1993) Cyclin D1 is a nuclear protein required for cell cycle progression in G1. *Genes Dev* 7: 812–821.

Banerjee S, Hellier J, Dewey M, Romeo R, Ballard C, Baldwin R, Benthall P, Fox C, Holmes C, Katona C, Knapp M, Lawton C, Lindesay J, Livingston G, McCrae N, Moniz-Cook E, Murray J, Nurock S, Orrell M, O'Brien J, Poppe M, Thomas A, Walwyn R, Wilson K, Burns A (2011) Sertraline or mirtazapine for depression in dementia (HTA-SADD): A randomised, multicentre, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet* 378: 403–411, doi:10.1016/S0140-6736(11)60830-1.

Banerjee S, Hellier J, Romeo R, Dewey M, Knapp M, Ballard C, Baldwin R, Benthall P, Fox C, Holmes C, Katona C, Lawton C, Lindesay J, Livingston G, McCrae N, Moniz-Cook E, Murray J, Nurock S, Orrell M, O'Brien J, Poppe M, Thomas A, Walwyn R, Wilson K,

Burns A (2013) Study of the use of antidepressants for depression in dementia: The HTA-SADD trial- A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial of the clinical effectiveness and cost-effectiveness of sertraline and mirtazapine. *Health Technol Assess* 17: 1–43, doi:10.3310/hta17070.

Barmada SJ, Skibinski G, Korb E, Rao EJ, Wu JY, Finkbeiner S (2010) Cytoplasmic mislocalization of TDP-43 is toxic to neurons and enhanced by a mutation associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurosci* 30: 639–649, doi:10.1523/JNEUROSCI.4988-09.2010.

Barnes LL, Wilson RS, Bienias JL, Schneider JA, Evans DA, Bennett DA (2005) Sex differences in the clinical manifestations of Alzheimer disease pathology. *Arch Gen Psychiatry* 62: 685–691, doi:10.1001/archpsyc.62.6.685.

Beach TG, Sue L, Scott S, Layne K, Newell A, Walker D, Baker M, Sahara N, Yen S-H, Hutton M, Caselli R, Adler C, Connor D, Sabbagh M (2003) Hippocampal sclerosis dementia with tauopathy. *Brain Pathol* 13: 263–278.

Becher MW, Kotzuk JA, Sharp AH, Davies SW, Bates GP, Price DL, Ross CA (1998) Intranuclear neuronal inclusions in Huntington's disease and dentatorubral and pallidoluysian atrophy: Correlation between the density of inclusions and IT15 CAG triplet repeat length. *Neurobiol Dis* 4: 387–397, doi:10.1006/nbdi.1998.0168.

Behrouzi R, Liu X, Wu D, Robinson AC, Tanaguchi-Watanabe S, Rollinson S, Shi J, Tian J, Hamdalla HH, Ealing J (2016) Pathological tau deposition in motor neurone disease and frontotemporal lobar degeneration associated with TDP-43 proteinopathy. *Acta Neuropathol Commun* 4: 1.

Benajiba L, Ber IL, Camuzat A, Lacoste M, Thomas-Anterion C, Couratier P, Legallic S, Salachas F, Hannequin D, Decousus M, Lacomblez L, Guedj E, Golfier V, Camu W, Dubois B, Campion D, Meisinger V, Brice A (2009) TARDBP mutations in motoneuron disease with frontotemporal lobar degeneration. *Ann Neurol* 65: 470–474, doi:10.1002/ana.21612.

Benavides SH, Monserrat AJ, Fariña S, Porta EA (2002) Sequential histochemical studies of neuronal lipofuscin in human cerebral cortex from the first to the ninth decade of life. *Arch Gerontol Geriatr* 34: 219–231, doi:10.1016/S0167-4943(01)00223-0.

Bentmann E, Haass C, Dormann D. Stress granules in neurodegeneration--lessons learnt from TAR DNA binding protein of 43 kDa and fused in sarcoma. *FEBS J* (2013) 280:4348-4370. doi: 10.1111/febs.12287.

Bentmann E, Neumann M, Tahirovic S, Rodde R, Dormann D, Haass C. Requirements for stress granule recruitment of fused in sarcoma (FUS) and TAR DNA-binding protein of 43 kDa (TDP-43). *J Biol Chem* (2012) 287:23079-23094. doi:10.1074/jbc.M111.328757.

Bereczki E, Francis PT, Howlett D, Pereira JB, Höglund K, Bogstedt A, Cedazo-Minguez A, Baek J-H, Hortobágyi T, Attems J, Ballard C, Aarsland D (2016) Synaptic proteins predict cognitive decline in Alzheimer's disease and Lewy body dementia. *Alzheimer's & Dementia*. (on-line first) doi: 10.1016/j.jalz.2016.04.005

Berger NA (1985) Poly(ADP-ribose) in the cellular response to DNA damage. *Radiat Res* 101: 4–15.

Bergeron C, Morris HR, Rossor M (2003) Pick's disease. *Neurodegener Mol Pathol Dement Mov Disord* 124–131.

Bernales S, Papa FR, Walter P (2006) Intracellular signalling by the unfolded protein response.

Bian F, Nath R, Sobocinski G, Booher RN, Lipinski WJ, Callahan MJ, Pack A, Wang KK-W, Walker LC (2002) Axonopathy, tau abnormalities, and dyskinesia, but no neurofibrillary tangles in p25-transgenic mice. *J Comp Neurol* 446: 257–266, doi:10.1002/cne.10186.

Blancard S (1726) The physical dictionary wherein the terms of anatomy, the names and causes of diseases, chirurgical instruments and their use are accurately described. London. John and Benjamin Sprint.

Blazer D (2013) Neurocognitive disorders in DSM-5. *Am J Psychiatry*.

Blitterswijk MV, Landers JE (2010) RNA processing pathways in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurogenetics* 11: 275–290, doi:10.1007/s10048-010-0239-4.

Blumbergs PC, Scott G, Vis JM, Wainwright H, Simpson DA, Mclean AJ (1995) Topography of axonal injury as defined by amyloid precursor protein and the sector scoring method in mild and severe closed head injury. *J Neurotrauma* 12: 565–572.

Boller F, Duyckaerts C (1997) Alzheimer disease: Clinical and anatomic aspects. *Behav Neurol Neuropsychol* 521–544.

Boller F, Forbes MM (1998) History of dementia and dementia in history: An overview. *J Neurol Sci* 158: 125–133, doi:10.1016/S0022-510X(98)00128-2.

Boller F, Forette F, Khachaturian Z, Poncet M, Christen Y, eds. (1992) Heterogeneity of Alzheimer's Disease. Berlin: Springer-Verlag

Bondulich M.K., Guo T., Meehan C., Manion J., Rodriguez Martin T., Mitchell M., Hortobágyi T., Brion J-P, Noble W., Hanger D.P.: Tauopathy induced by low level expression of a human brain-derived tau fragment in mice is rescued by phenylbutyrate. *Brain*. 2016; (on-line first) doi: 10.1093/brain/aww137

Bonetti F, Brombo G, Zuliani G (2016) The relationship between hyperhomocysteinemia and neurodegeneration. *Neurodegener Dis Manag* 6: 133–145.

Braak H, Braak E (1991) Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82: doi:10.1007/BF00308809.

Braak H, Del Tredici K, Rüb U, De Vos RAI, Jansen Steur ENH, Braak E (2003) Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 24: 197–211, doi:10.1016/S0197-4580(02)00065-9.

Brelstaff J, Lashley T, Holton JL, Lees AJ, Rossor MN, Bandopadhyay R, Revesz T (2011) Transportin1: A marker of FTLN-FUS. *Acta Neuropathol (Berl)* 122: 591–600, doi:10.1007/s00401-011-0863-6.

Brooke GN, Culley RL, Dart DA, Mann DJ, Gaughan L, McCracken SR, Robson CN, Spencer-Dene B, Gamble SC, Powell SM, Wait R, Waxman J, Walker MM, Bevan CL (2011) FUS/TLS is a novel mediator of androgen-dependent cell-cycle progression and prostate cancer growth. *Cancer Res* 71: 914–924, doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-0874.

Brooks BR, Miller RG, Swash M, Munsat TL (2000) El Escorial revisited: Revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler* 1: 293–299, doi:10.1080/146608200300079536.

Brown DR (2010) Oligomeric alfa-synuclein and its role in neuronal death. *IUBMB Life* 62: 334–339, doi:10.1002/iub.316.

Brujin LI, Becher MW, Lee MK, Anderson KL, Jenkins NA, Copeland NG, Sisodia SS, Rothstein JD, Borchelt DR, Price DL, Cleveland DW (1997) ALS-linked SOD1 mutant G85R mediates damage to astrocytes and promotes rapidly progressive disease with SOD1-containing inclusions. *Neuron* 18: 327–338, doi:10.1016/S0896-6273(00)80272-X.

Bullain SS, Corrada MM. Dementia in the oldest old. *Continuum (Minneapolis)* (2013) 19:457-469. doi: 10.1212/01.CON.0000429172.27815.3f.

Buratti E, Baralle FE (2001) Characterization and functional implications of the RNA binding properties of nuclear factor TDP-43, a novel splicing regulator of CFTR exon 9. *J Biol Chem* 276: 36337–36343, doi:10.1074/jbc.M104236200.

Buratti E, Baralle FE (2008) Multiple roles of TDP-43 in gene expression, splicing regulation, and human disease. *Front Biosci* 13: 867–878, doi:10.2741/2727.

Buratti E, De Conti L, Stuanı C, Romano M, Baralle M, Baralle F (2010) Nuclear factor TDP-43 can affect selected microRNA levels. *FEBS J* 277: 2268–2281, doi:10.1111/j.1742-4658.2010.07643.x.

Burgoyne RD, Morgan A (2011) Chaperoning the SNAREs: A role in preventing neurodegeneration? *Nat Cell Biol* 13: 8–9, doi:10.1038/ncb0111-8.

Burré J, Sharma M, Tsetsenis T, Buchman V, Etherton MR, Südhof TC (2010)  $\alpha$ -Synuclein promotes SNARE-complex assembly in vivo and in vitro. *Science* 329: 1663–1667, doi:10.1126/science.1195227.

- Burton EJ, Mukaetova-Ladinska EB, Perry RH, Jaros E, Barber R, O'Brien JT (2012) Neuropathological correlates of volumetric MRI in autopsy-confirmed Lewy body dementia. *Neurobiol Aging* 33: 1228–1236, doi:10.1016/j.neurobiolaging.2010.12.015.
- Bürkle A, Kretzschmar HA, Brown DR (1999) Poly(ADP-ribose) immunostaining to detect apoptosis induced by a neurotoxic fragment of prion protein. *Histochem J* 31: 711–716, doi:10.1023/A:1003944314206.
- Byers AL, Yaffe K (2011) Depression and risk of developing dementia. *Nat Rev Neurol* 7: 323–331, doi:10.1038/nrneurol.2011.60.
- Caeiro L, Ferro J (2006) Cognitive profile in CADASIL patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77: 144–145.
- Cairns NJ, Neumann M, Bigio EH, Holm IE, Troost D, Hatanpaa KJ, Foong C, White III CL, Schneider JA, Kretzschmar HA, Carter D, Taylor-Reinwald L, Paulsmeyer K, Strider J, Gitcho M, Goate AM, Morris JC, Mishra M, Kwong LK, Stieber A, Xu Y, Forman MS, Trojanowski JQ, Lee VM-Y, Mackenzie IRA (2007) TDP-43 in familial and sporadic frontotemporal lobar degeneration with ubiquitin inclusions. *Am J Pathol* 171: 227–240, doi:10.2353/ajpath.2007.070182.
- Campos-Melo D, Droppelmann CA, He Z, Volkening K, Strong MJ (2013) Altered microRNA expression profile in amyotrophic lateral sclerosis: a role in the regulation of NFL mRNA levels. *Mol Brain* 6: 1.
- Carson VB, Vanderhorst KJ, Koenig HG (2015) There is no such thing as a 'little dementia'! In: *Care giving for Alzheimer's disease*, (Springer), pp. 11–20. ISBN 978-1-4939-2406-6. DOI 10.1007/978-1-4939-2407-3
- Chen J, Zhang ZG, Li Y, Wang Y, Wang L, Jiang H, Zhang C, Lu M, Katakowski M, Feldkamp CS, Chopp M (2003) Statins induce angiogenesis, neurogenesis, and synaptogenesis after stroke. *Ann Neurol* 53: 743–751, doi:10.1002/ana.10555.
- Chen Y, Yang M, Deng J, Chen X, Ye Y, Zhu L, Liu J, Ye H, Shen Y, Li Y, Rao EJ, Fushimi K, Zhou X, Bigio EH, Mesulam M, Xu Q, Wu JY (2011) Expression of human FUS protein in *Drosophila* leads to progressive neurodegeneration. *Protein Cell* 2: 477–486, doi:10.1007/s13238-011-1065-7.
- Chesselet M-F, Carmichael ST (2012) Animal models of neurological disorders. *Neurotherapeutics* 9: 241.
- Chiang PM, Ling J, Jeong YH, Price DL, Aja SM, Wong PC (2010) Deletion of TDP-43 down-regulates *Tbc1d1*, a gene linked to obesity, and alters body fat metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: doi:10.1073/pnas.1002176107.
- Choi YD, Dreyfuss G (1984) Isolation of the heterogeneous nuclear RNA-ribonucleoprotein complex (hnRNP): A unique supramolecular assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81: 7471–7475.

Chung PYJ, Beyens G, Boonen S, Papapoulos S, Geusens P, Karperien M, Vanhoenacker F, Verbruggen L, Franssen E, Van Offel J, Goemaere S, Zmierzak H-G, Westhovens R, Devogelaer J-P, Van Hul W (2010) The majority of the genetic risk for Paget's disease of bone is explained by genetic variants close to the CSF1, OPTN, TM7SF4, and TNFRSF11A genes. *Hum Genet* 128: 615–626, doi:10.1007/s00439-010-0888-2.

Ciani E, Baldinotti I, Contestabile A (2001) Sustained, long-lasting inhibition of nitric oxide synthase aggravates the neural damage in some models of excitotoxic brain injury. *Brain Res Bull* 56: 29–35, doi:10.1016/S0361-9230(01)00589-5.

Clayton EL, Cousin MA (2009) The molecular physiology of activity-dependent bulk endocytosis of synaptic vesicles. *J Neurochem* 111: 901–914, doi:10.1111/j.1471-4159.2009.06384.x.

Clinton LK, Blurton-Jones M, Myczek K, Trojanowski JQ, LaFerla FM (2010) Synergistic interactions between A $\beta$ , tau, and  $\alpha$ -synuclein: Acceleration of neuropathology and cognitive decline. *J Neurosci* 30: 7281–7289, doi:10.1523/JNEUROSCI.0490-10.2010.

Cole TB, Wenzel HJ, Kafer KE, Schwartzkroin PA, Palmiter RD (1999) Elimination of zinc from synaptic vesicles in the intact mouse brain by disruption of the ZnT3 gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 1716–1721, doi:10.1073/pnas.96.4.1716.

Compta Y, Parkkinen L, O'Sullivan SS, Vandrovcova J, Holton JL, Collins C, Lashley T, Kallis C, Williams DR, De Silva R, Lees AJ, Revesz T (2011) Lewy- and Alzheimer-type pathologies in Parkinson's disease dementia: Which is more important? *Brain* 134: 1493–1505, doi:10.1093/brain/awr031.

Cornejo VH, Pihán P, Vidal RL, Hetz C (2013) Role of the unfolded protein response in organ physiology: lessons from mouse models. *IUBMB Life*. 65:962-975. doi: 10.1002/iub.1224.

Cornejo VH, Hetz C (2013) The unfolded protein response in Alzheimer's disease. *Semin Immunopathol* 35:277-292. doi: 10.1007/s00281-013-0373-9.

Crary JF, Trojanowski JQ, Schneider JA, Abisambra JF, Abner EL, Alafuzoff I, Arnold SE, Attems J, Beach TG, Bigio EH, Cairns NJ, Dickson DW, Gearing M, Grinberg LT, Hof PR, Hyman BT, Jellinger K, Jicha GA, Kovacs GG, Knopman DS, Kofler J, Kukull WA, Mackenzie IR, Masliah E, McKee A, Montine TJ, Murray ME, Neltner JH, Santa-Maria I, Seeley WW, Serrano-Pozo A, Shelanski ML, Stein T, Takao M, Thal DR, Toledo JB, Troncoso JC, Vonsattel JP, White CL 3rd, Wisniewski T, Woltjer RL, Yamada M, Nelson PT (2014) Primary age-related tauopathy (PART): a common pathology associated with human aging. *Acta Neuropathol (Berl)* 128: 755–766, doi:10.1007/s00401-014-1349-0.

Currais A, Hortobágyi T, Soriano S (2009) The neuronal cell cycle as a mechanism of pathogenesis in Alzheimer's disease. *Aging* 1: 363–371.

Csonka T, Murnyák B, Szepesi R, Kurucz A, Klekner Á, Hortobágyi T (2014) Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP1) and p53 labelling index correlates with tumour grade in meningiomas. *Folia Neuropathol* 52: 111–120, doi:10.5114/fn.2014.43782.



D'Amico F, Skarmoutsou E, Stivala F (2009) State of the art in antigen retrieval for immunohistochemistry. *J Immunol Methods* 341: 1–18, doi:10.1016/j.jim.2008.11.007.

Dalfó E, Martinez A, Muntané G, Ferrer I (2006) Abnormal  $\alpha$ -synuclein solubility, aggregation and nitration in the frontal cortex in Pick's disease. *Neurosci Lett* 400: 125–129, doi:10.1016/j.neulet.2006.02.033.

Danbolt NC (2001) Glutamate uptake. *Prog Neurobiol* 65: 1–105, doi:10.1016/S0301-0082(00)00067-8.

Davies P (1979) Neurotransmitter-related enzymes in senile dementia of the Alzheimer type. *Brain Res* 171: 319–327, doi:10.1016/0006-8993(79)90336-6.

De Brito OM, Scorrano L (2008) Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria. *Nature* 456: 605–610, doi:10.1038/nature07534.

de la Torre JC (2004) Is Alzheimer's disease a neurodegenerative or a vascular disorder? Data, dogma, and dialectics. *Lancet Neurol* 3: 184–190.

De Marco N, Buono M, Troise F, Diez-Roux G (2006) Optineurin increases cell survival and translocates to the nucleus in a Rab8-dependent manner upon an apoptotic stimulus. *J Biol Chem* 281: 16147–16156, doi:10.1074/jbc.M601467200.

de Murcia G, de Murcia JM (1994) Poly(ADP-ribose) polymerase: a molecular nick-sensor. *Trends Biochem Sci* 19: 172–173, doi:10.1016/0968-0004(94)90280-1.

de Silva R, Lashley T, Strand C, Shiarli A-M, Shi J, Tian J, Bailey KL, Davies P, Bigio EH, Arima K, Iseki E, Murayama S, Kretzschmar H, Neumann M, Lippa C, Halliday G, MacKenzie J, Ravid R, Dickson D, Wszolek Z, Iwatsubo T, Pickering-Brown SM, Holton J, Lees A, Revesz T, Mann DMA (2006) An immunohistochemical study of cases of sporadic and inherited frontotemporal lobar degeneration using 3R- and 4R-specific tau monoclonal antibodies. *Acta Neuropathol (Berl)* 111: 329–340, doi:10.1007/s00401-006-0048-x.

DeJesus-Hernandez M, Mackenzie I, Boeve B, Boxer A, Baker M, Rutherford N, Nicholson A, Finch N, Flynn H, Adamson J, Kouri N, Wojtas A, Sengdy P, Hsiung G-Y, Karydas A, Seeley W, Josephs K, Coppola G, Geschwind D, Wszolek Z, Feldman H, Knopman D, Petersen R, Miller B, Dickson D, Boylan K, Graff-Radford N, Rademakers R (2011) Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron* 72: 245–256, doi:10.1016/j.neuron.2011.09.011.

Dekosky ST, Ikonomic MD, Styren SD, Beckett L, Wisniewski S, Bennett DA, Cochran EJ, Kordower JH, Mufson EJ (2002) Upregulation of choline acetyltransferase activity in hippocampus and frontal cortex of elderly subjects with mild cognitive impairment. *Ann Neurol* 51: 145–155, doi:10.1002/ana.10069.

Delano-Wood L, Houston WS, Emond JA, Marchant NL, Salmon DP, Jeste DV, Thal LJ, Bondi MW (2008) APOE genotype predicts depression in women with Alzheimer's disease: A retrospective study. *Int J Geriatr Psychiatry* 23: 632–636, doi:10.1002/gps.1953.

Di Patre PL, Read SL, Cummings JL, Tomiyasu U, Vartavarian LM, Secor DL, Vinters HV (1999) Progression of clinical deterioration and pathological changes in patients with Alzheimer disease evaluated at biopsy and autopsy. *Arch Neurol* 56: 1254–1261, doi:10.1001/archneur.56.10.1254.

Dickson DW (1998) Pick's disease: A modern approach. *Brain Pathol* 8: 339–354.

Dickson DW, Kouri N, Murray ME, Josephs KA (2011) Neuropathology of frontotemporal lobar degeneration-Tau (FTLD-Tau). *J Mol Neurosci* 45: 384–389, doi:10.1007/s12031-011-9589-0.

Dormann D, Rodde R, Edbauer D, Bentmann E, Fischer I, Hruscha A, Than ME, MacKenzie IRA, Capell A, Schmid B, Neumann M, Haass C (2010) ALS-associated fused in sarcoma (FUS) mutations disrupt transportin-mediated nuclear import. *EMBO J* 29: 2841–2857, doi:10.1038/emboj.2010.143.

Ehrhardt MJ, Karst J, Donohoue PA, Maheshwari M, McClain KL, Bingen K, Kelly ME (2015) Recognition and treatment of concurrent active and neurodegenerative Langerhans cell histiocytosis: A Case Report. *J Pediatr Hematol Oncol* 37: e37–e40.

Eisele YS, Bolmont T, Heikenwalder M, Langer F, Jacobson LH, Yan ZX, Roth K, Aguzzi A, Staufenbiel M, Walker LC, Jucker M. Induction of cerebral beta-amyloidosis: intracerebral versus systemic A $\beta$  inoculation (2009) *Proc Natl AcadSci U S A* 106:12926-12931. doi: 10.1073/pnas.0903200106.

Elliott MSJ, Ballard CG, Kalaria RN, Perry R, Hortobágyi T, Francis PT (2009) Increased binding to 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors is associated with large vessel infarction and relative preservation of cognition. *Brain* 132: 1858–1865, doi:10.1093/brain/awp069.

Engmann O, Hortobágyi T, Pidsley R, Troakes C, Bernstein H-G, Kreutz MR, Mill J, Nikolic M, Giese KP (2011a) Schizophrenia is associated with dysregulation of a Cdk5 activator that regulates synaptic protein expression and cognition. *Brain* awr155.

Engmann O, Hortobágyi T, Thompson AJ, Guadagno J, Troakes C, Soriano S (2011b) Cyclin-dependent kinase 5 activator p25 is generated during memory formation and is reduced at an early stage in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 70: doi:10.1016/j.biopsych.2011.04.011.

Erraji-Benchekroun L, Underwood MD, Arango V, Galfalvy H, Pavlidis P, Smyrniotopoulos P, Mann JJ, Sibille E (2005) Molecular aging in human prefrontal cortex is selective and continuous throughout adult life. *Biol Psychiatry* 57: 549–558, doi:10.1016/j.biopsych.2004.10.034.

Esmaeili MA, Panahi M, Yadav S, Hennings L, Kiaei M (2013) Premature death of TDP-43 (A315T) transgenic mice due to gastrointestinal complications prior to development of full neurological symptoms of amyotrophic lateral sclerosis. *Int J Exp Pathol* 94: doi:10.1111/iep.12006.

Faden AI, Loane DJ (2015) Chronic neurodegeneration after traumatic brain injury: Alzheimer disease, chronic traumatic encephalopathy, or persistent neuroinflammation? *Neurotherapeutics* 12: 143–150.

Federico A, Di Donato I, Bianchi S, Di Palma C, Taglia I, Dotti MT (2012) Hereditary cerebral small vessel diseases: a review. *J Neurol Sci* 322: 25–30.

Ferman TJ, Smith GE, Boeve BF, Ivnik RJ, Petersen RC, Knopman D, Graff-Radford N, Parisi J, Dickson DW (2004) Specific features that reliably differentiate DLB from AD and normal aging. *Neurology* 62: 181–187.

Fiesel FC, Voigt A, Weber SS, Van Den Haute C, Waldenmaier A, Görner K, Walter M, Marlene AL, Kern JV, Rasse TM, Schmidt T, Springer W, Kirchner R, Bonin M, Neumann M, Baekelandt V, Alunni-Fabbroni M, Schulz JB, Kahle PJ (2010) Knockdown of transactive response DNA-binding protein (TDP-43) downregulates histone deacetylase 6. *EMBO J* 29: 209–221, doi:10.1038/emboj.2009.324.

Fischer P, Jellinger K, Gatterer G, Danielczyk W (1991) Prospective neuropathological validation of Hachinski's Ischaemic Score in dementias. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 54: 580–583.

Fluri F, Schuhmann MK, Kleinschnitz C (2015) Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug Des Devel Ther* 9: 3445.

Fonnum F (1975) A rapid radiochemical method for the determination of choline acetyltransferase. *J Neurochem* 24: 407–409.

Forlenza OV, Radanovic M, Talib LL, Aprahamian I, Diniz BS, Zetterberg H, Gattaz WF. Cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease: Diagnostic accuracy and prediction of dementia. *Alzheimers Dement (Amst)* (2015) 1:455-463. doi: 10.1016/j.dadm.2015.09.003.

Fratiglioni L, Viitanen M, Von Strauss E, Tontodonati V, Herlitz A, Winblad B (1997) Very old women at highest risk of dementia and Alzheimer's disease: Incidence data from the Kungsholmen Project, Stockholm. *Neurology* 48: 132–138.

Fritz IB, Burdzy K, Setchell B, Blaschuk O (1983) Ram rete testis fluid contains a protein (clusterin) which influences cell-cell interactions in vitro. *Biol Reprod* 28: 1173–1188.

Fritze F, Ehrt U, Hortobagyi T, Ballard C, Aarsland D (2011a) Depressive symptoms in Alzheimer's disease and Lewy body dementia: A one-year follow-up study. *Dement Geriatr Cogn Disord* 32: 143–149, doi:10.1159/000332016.

Fritze F, Ehrt U, Sønnesyn H, Kurz M, Hortobágyi T, Nore SP, Ballard C, Aarsland D (2011b) Depression in mild dementia: Associations with diagnosis, APOE genotype and clinical features. *Int J Geriatr Psychiatry* 26: 1054–1061, doi:10.1002/gps.2643.

Fulford K (1994) Closet logics: Hidden conceptual elements in the DSM and ICD classification of mental disorders.

Fushimi K, Long C, Jayaram N, Chen X, Li L, Wu JY (2011) Expression of human FUS/TLS in yeast leads to protein aggregation and cytotoxicity, recapitulating key features of FUS proteinopathy. *Protein Cell* 2: 141–149, doi:10.1007/s13238-011-1014-5.

Galvin JE, Giasson B, Hurtig HI, Lee VMY, Trojanowski JQ (2000) Neurodegeneration with brain iron accumulation, type 1 is characterized by alfa-, beta-, and gamma-synuclein neuropathology. *Am J Pathol* 157: 361–368, doi:10.1016/S0002-9440(10)64548-8.

Galvin JE, Uryu K, Lee VMY, Trojanowski JQ (1999) Axon pathology in Parkinson's disease and Lewy body dementia hippocampus contains alfa-, beta-, and gamma-synuclein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 13450–13455, doi:10.1073/pnas.96.23.13450.

Giacinti C, Giordano A (2006) RB and cell cycle progression. *Oncogene* 25: 5220–5227, doi:10.1038/sj.onc.1209615.

Giannakopoulos P, Kövari E, French LE, Viard I, Hof PR, Bouras C (1998) Possible neuroprotective role of clusterin in Alzheimer's disease: A quantitative immunocytochemical study. *Acta Neuropathol (Berl)* 95: 387–394, doi:10.1007/s004010050815.

Giese KP (2014) Generation of the Cdk5 activator p25 is a memory mechanism that is impaired in Alzheimer's disease. *Front Mol Neurosci* 7: doi:10.3389/fnmol.2014.00036.

Giese KP, Fedorov NB, Filipkowski RK, Silva AJ (1998) Autophosphorylation at Thr286 of the  $\alpha$  calcium-calmodulin kinase II in LTP and learning. *Science* 279: 870–873, doi:10.1126/science.279.5352.870.

Giese KP, Ris L, Plattner F (2005) Is there a role of the cyclin-dependent kinase 5 activator p25 in Alzheimer's disease? *NeuroReport* 16: 1725–1730, doi:10.1097/01.wnr.0000185019.67434.d2.

Glenner GG, Wong CW (1984a) Alzheimer's disease and Down's syndrome: Sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. *Biochem Biophys Res Commun* 122: 1131–1135, doi:10.1016/0006-291X(84)91209-9.

Glenner GG, Wong CW (1984b) Alzheimer's disease: Initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun* 120: 885–890, doi:10.1016/S0006-291X(84)80190-4.

Goedert M, Spillantini MG, Jakes R, Rutherford D, Crowther RA (1989) Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in

neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron* 3: 519–526, doi:10.1016/0896-6273(89)90210-9.

Goodkin K, Hardy DJ, Singh D, Lopez E (2014) Diagnostic utility of the international HIV dementia scale for HIV-associated neurocognitive impairment and disorder in South Africa. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*.

Gorelick PB, Scuteri A, Black SE, Decarli C, Greenberg SM, Iadecola C, Launer LJ, Laurent S, Lopez OL, Nyenhuis D, Petersen RC, Schneider JA, Tzourio C, Arnett DK, Bennett DA, Chui HC, Higashida RT, Lindquist R, Nilsson PM, Roman GC, Sellke FW, Seshadri S (2011) Vascular contributions to cognitive impairment and dementia: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 42: 2672–2713, doi:10.1161/STR.0b013e3182299496.

Gottfries CG, Blennow K, Karlsson I, Wallin A (1994) The neurochemistry of vascular dementia. *Demencia* 5: 163–1670.

Görlach C, Hortobágyi T, Hortobágyi S, Benyó Z (2000) Neuronal nitric oxide synthase inhibitor has a neuroprotective effect in a rat model of brain injury. *Restor Neurol Neurosci* 17: 71–76.

Gracia-García P, De-La-Cámara C, Santabárbara J, Lopez-Anton R, Quintanilla MA, Ventura T, Marcos G, Campayo A, Saz P, Lyketsos C, Lobo A (2015) Depression and incident Alzheimer disease: The impact of disease severity. *Am J Geriatr Psychiatry* 23: 119–129, doi:10.1016/j.jagp.2013.02.011.

Graus F, Titulaer MJ, Balu R, Benseler S, Bien CG, Cellucci T, Cortese I, Dale RC, Gelfand JM, Geschwind M (2016) A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet Neurol* 15: 391–404.

Greenway MJ, Andersen PM, Russ G, Ennis S, Cashman S, Donaghy C, Patterson V, Swingler R, Kieran D, Prehn J, Morrison KE, Green A, Acharya KR, Brown Jr. RH, Hardiman O (2006) ANG mutations segregate with familial and 'sporadic' amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Genet* 38: 411–413, doi:10.1038/ng1742.

Grinberg LT, Heinsen H (2010) Toward a pathological definition of vascular dementia. *J Neurol Sci* 299: 136–138, doi:10.1016/j.jns.2010.08.055.

Gundelfinger ED, Boeckers TM, Baron MK, Bowie JU (2006) A role for zinc in postsynaptic density assembly and plasticity? *Trends Biochem Sci* 31: 366–373, doi:10.1016/j.tibs.2006.05.007.

Guo JL, Lee VM (2014) Cell-to-cell transmission of pathogenic proteins in neurodegenerative diseases. *Nat Med* 20:130-138. doi: 10.1038/nm.3457.

Guo Y, Wang Q, Zhang K, An T, Shi P, Li Z, Duan W, Li C (2012) HO-1 induction in motor cortex and intestinal dysfunction in TDP-43 A315T transgenic mice. *Brain Res* 1460: doi:10.1016/j.brainres.2012.04.003.

Gustavsson A, Svensson M, Jacobi F, Allgulander C, Alonso J, Beghi E, Dodel R, Ekman M, Faravelli C, Fratiglioni L (2011) Cost of disorders of the brain in Europe 2010. *Eur Neuropsychopharmacol* 21: 718–779.

Gyls KH, Fein JA, Yang F, Wiley DJ, Miller CA, Cole GM (2004) Synaptic changes in Alzheimer's disease: Increased amyloid- $\beta$  and gliosis in surviving terminals is accompanied by decreased PSD-95 fluorescence. *Am J Pathol* 165: 1809–1817.

Ha HC, Snyder SH (2000) Poly(ADP-ribose) polymerase-1 in the nervous system. *Neurobiol Dis* 7: 225–239, doi:10.1006/nbdi.2000.0324.

Haider L, Zrzavy T, Hametner S, Höftberger R, Bagnato F, Grabner G, Trattnig S, Pfeifenbring S, Brück W, Lassmann H (2016) The topography of demyelination and neurodegeneration in the multiple sclerosis brain. *Brain* 139: 807–815.

Halleskog C, Mulder J, Dahlström J, Mackie K, Hortobágyi T, Tanila H, Kumar Puli L, Färber K, Harkany T, Schulte G (2011) WNT signalling in activated microglia is proinflammatory. *GLIA* 59: 119–131, doi:10.1002/glia.21081.

Halliday GM, Holton JL, Revesz T, Dickson DW (2011) Neuropathology underlying clinical variability in patients with synucleinopathies. *Acta Neuropathol (Berl)* 122: 187–204, doi:10.1007/s00401-011-0852-9.

Hanisch U-K (2002) Microglia as a source and target of cytokines. *GLIA* 40: 140–155, doi:10.1002/glia.10161.

Hanisch U-K, Kettenmann H (2007) Microglia: Active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci* 10: 1387–1394, doi:10.1038/nn1997.

Harkany T, Grosche J, Mulder J, Horvath KM, Keijser J, Hortobágyi T, Luiten PGM, Härtig W (2001) Short-term consequences of N-methyl-D-aspartate excitotoxicity in rat magnocellular nucleus basalis: Effects on in vivo labelling of cholinergic neurons. *Neuroscience* 108: 611–627, doi:10.1016/S0306-4522(01)00443-2.

Harkany T, Hortobágyi T, Sasvári M, Kónya C, Penke B, Luiten PGM, Nyakas C (1999) Neuroprotective approaches in experimental models of  $\beta$ -amyloid neurotoxicity: Relevance to Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 23: 963–1008, doi:10.1016/S0278-5846(99)00058-5.

Harkany T, Varga C, Grosche J, Mulder J, Luiten PGM, Hortobágyi T, Penke B, Härtig W (2002) Distinct subsets of nucleus basalis neurons exhibit similar sensitivity to excitotoxicity. *NeuroReport* 13: 767–772.

Harold D, Abraham R, Hollingworth P, Sims R, Gerrish A, Hamshere ML, Pahwa JS, Moskva V, Dowzell K, Williams A, Jones N, Thomas C, Stretton A, Morgan AR, Lovestone S, Powell J, Proitsi P, Lupton MK, Brayne C, Rubinsztein DC, Gill M, Lawlor B, Lynch A, Morgan K, Brown KS, Passmore PA, Craig D, McGuinness B, Todd S, Holmes C, Mann D, Smith AD, Love S, Kehoe PG, Hardy J, Mead S, Fox N, Rossor M, Collinge J, Maier W, Jessen F, Schürmann B, Heun R, Van Den Bussche H, Heuser I, Kornhuber J,

Wiltfang J, Dichgans M, Dichgans M, Frölich L, Hampel H, Hampel H, Rujescu D, Goate AM, Kauwe JSK, Cruchaga C, Nowotny P, Morris JC, Mayo K, Sleegers K, Bettens K, Engelborghs S, Van Broeckhoven C, Van Broeckhoven C, Livingston G, Bass NJ, Gurling H, McQuillin A, Gwilliam R, Deloukas P, Al-Chalabi A, Shaw CE, Tsolaki M, Singleton AB, Guerreiro R, Guerreiro R, Nöthen MM, Moebus S, Jöckel K-H, Klopp N, Wichmann H-E, Carrasquillo MM, Pankratz VS, Holmans PA, O'Donovan M, Owen MJ, Williams J (2009) Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet* 41: 1088–1093, doi:10.1038/ng.440.

Härtig W, Bauer A, Brauer K, Grosche J, Hortobágyi T, Penke B, Schliebs R, Harkany T (2002) Functional recovery of cholinergic basal forebrain neurons under disease conditions: Old problems, new solutions? *Rev Neurosci* 13: 95–165.

Hasegawa M, Arai T, Nonaka T, Kametani F, Yoshida M, Hashizume Y, Beach TG, Buratti E, Baralle F, Morita M, Nakano I, Oda T, Tsuchiya K, Akiyama H (2008) Phosphorylated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 64: 60–70, doi:10.1002/ana.21425.

Heinonen O, Soininen H, Sorvari H, Kosunen O, Paljarvi L, Koivisto E (1995) Loss of synaptophysin-like immunoreactivity in the hippocampal formation is an early phenomenon on Alzheimer's disease. *Neuroscience* 64: doi:10.1016/0306-4522(94)00422-2.

Herrup K, Neve R, Ackerman SL, Copani A (2004) Divide and die: Cell cycle events as triggers of nerve cell death. *J Neurosci* 24: 9232–9239, doi:10.1523/JNEUROSCI.3347-04.2004.

Hinshaw JE (2000) Dynamin and its role in membrane fission. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 16:483-519.

Hoozemans JJM, O'Banion MK (2005) The role of COX-1 and COX-2 in Alzheimer's disease pathology and the therapeutic potentials of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 4: 307–315, doi:10.2174/1568007054038201.

Hortobágyi T, Al-Sarraj S (2008) The significance of diffuse axonal injury: how to diagnose it and what does it tell us. *Adv Clin Neurosci Rehab*. 8:16-18.

Hortobágyi T, Wise S, Hunt N, Cary N, Djurovic V, Fegan-Earl A, Shorrock K, Rouse D, Al-Sarraj S (2007) Traumatic axonal damage in the brain can be detected using  $\beta$ -APP immunohistochemistry within 35 min after head injury to human adults. *Neuropathol Appl Neurobiol* 33: 226–237.

Hortobágyi T, Cairns NJ (2015) Amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration. pp 209-248. In: *Neuropathology of Neurodegenerative Diseases* ed.: Kovacs GG, ISBN 978-1-107-67420-2

Hortobágyi T, Görlach C, Benyó Z, Lacza Z, Hortobágyi S, Wahl M, Harkany T (2003) Inhibition of neuronal nitric oxide synthase-mediated activation of poly(ADP-ribose)

polymerase in traumatic brain injury: Neuroprotection by 3-aminobenzamide. *Neuroscience* 121: 983–990, doi:10.1016/S0306-4522(03)00482-2.

Hortobágyi T, Hortobágyi T (2002) Dementias in the general medical praxis: are we doing what we can? (in Hungarian)(Demenciák a háziorvosi gyakorlatban: megteesszük azt, amit tehetnénk?). *Családorvosi Fórum* 4: 18-19.

Hortobágyi T, Nagy Z (1997) The characteristics of apoptosis and its role in cerebral ischemia. (in Hungarian)(Az apoptózis jellemzői és szerepe az iszkémiás agykárosodásban). *Lege Artis Medicinae* 7:452-461.

Hortobágyi T, Troakes C, Nishimura AL, Vance C, van Swieten JC, Seelaar H, King A, Al-Sarraj S, Rogelj B, Shaw CE (2011) Optineurin inclusions occur in a minority of TDP-43 positive ALS and FTLD-TDP cases and are rarely observed in other neurodegenerative disorders. *Acta Neuropathol (Berl)* 121: 519–527, doi:10.1007/s00401-011-0813-3.

Horvath J, Herrmann FR, Burkhard PR, Bouras C, Kövari E (2013) Neuropathology of dementia in a large cohort of patients with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 19: 864–868, doi:10.1016/j.parkreldis.2013.05.010.

Howlett DR, Bowler K, Soden PE, Riddell D, Davis JB, Richardson JC, Burbidge SA, Gonzalez MI, Irving EA, Lawman A, Miglio G, Dawson EL, Howlett ER, Hussain I (2008) A $\beta$  deposition and related pathology in an APP x PS1 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Histol Histopathol* 23: 67–76.

Howlett DR, Whitfield D, Johnson M, Attems J, O'Brien JT, Aarsland D, Lai MKP, Lee JH, Chen C, Ballard C, Hortobágyi T, Francis PT (2015) Regional multiple pathology scores are associated with cognitive decline in Lewy body dementias. *Brain Pathol* 25: 401–408, doi:10.1111/bpa.12182.

Howlett DR, Hortobágyi T, Francis PT (2013) Clusterin associates specifically with A $\beta$ 40 in Alzheimer's disease brain tissue. *Brain Pathol* 23: 623–632.

Hu S, Begum AN, Jones MR, Oh MS, Beech WK, Beech BH, Yang F, Chen P, Ubeda OJ, Kim PC, Davies P, Ma Q, Cole GM, Frautschy SA (2008) GSK3 inhibitors show benefits in an Alzheimer's disease (AD) model of neurodegeneration but adverse effects in control animals. *Neurobiol Dis* 33: 192–206.

Huang C, Zhou H, Tong J, Chen H, Liu Y-J, Wang D, Wei X, Xia X-G (2011) FUS transgenic rats develop the phenotypes of amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration. *PLoS Genet* 7: doi:10.1371/journal.pgen.1002011.

Huber LA, Pimplikar S, Parton RG, Virta H, Zerial M, Simons K (1993) Rab8, a small GTPase involved in vesicular traffic between the TGN and the basolateral plasma membrane. *J Cell Biol* 123: 35–45.

Huttner HB, Bergmann O, Salehpour M, Rácz A, Tatarishvili J, Lindgren E, Csonka T, Csiba L, Hortobágyi T, Méhes G, Englund E, Solnestam BW, Zdunek S, Scharenberg C, Ström L, Ståhl P, Sigurgeirsson B, Dahl A, Schwab S, Possnert G, Bernard S, Kokaia Z,



Lindvall O, Lundeberg J, Frisén J (2014) The age and genomic integrity of neurons after cortical stroke in humans. *Nat Neurosci* 17: 801–803, doi:10.1038/nn.3706.

Iadecola C (2010) The overlap between neurodegenerative and vascular factors in the pathogenesis of dementia. *Acta Neuropathol (Berl)* 120: 287–296.

Iadecola C, Gorelick PB (2003) Converging pathogenic mechanisms in vascular and neurodegenerative dementia. *Stroke* 34: 335–337.

Ikedo K, Akiyama H, Arai T, Nishimura T (1998) Glial tau pathology in neurodegenerative diseases: Their nature and comparison with neuronal tangles. *Neurobiol Aging* 19: S85–S91, doi:10.1016/S0197-4580(98)00034-7.

Irwin DJ, Lee VM-Y, Trojanowski JQ (2013) Parkinson's disease dementia: Convergence of  $\alpha$ -synuclein, tau and amyloid- $\beta$  pathologies. *Nat Rev Neurosci* 14: 626–636, doi:10.1038/nrn3549.

Jackson M, Lennox G, Lowe J (1996) Motor neurone disease-inclusion dementia. *Neurodegeneration* 5: 339–350, doi:10.1006/neur.1996.0046.

Jafari H, Couratier P, Camu W (2001) Motor neuron disease after electric injury. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 71: 265–267, doi:10.1136/jnnp.71.2.265.

Janssens J, Wils H, Kleinberger G, Joris G, Cuijt I, Ceuterick-de Groote C, Van Broeckhoven C, Kumar-Singh S (2013) Overexpression of ALS-associated p.M337V human TDP-43 in mice worsens disease features compared to wild-type human TDP-43 mice. *Mol Neurobiol* 48: doi:10.1007/s12035-013-8427-5.

Jellinger KA (2003)  $\alpha$ -Synuclein pathology in Parkinson's and Alzheimer's disease brain: Incidence and topographic distribution - A pilot study. *Acta Neuropathol (Berl)* 106: 191–201, doi:10.1007/s00401-003-0725-y.

Jellinger KA (2008) The pathology of 'vascular dementia': A critical update. *J Alzheimers Dis* 14: 107–123.

Jellinger KA, Attems J (2006) Does striatal pathology distinguish Parkinson disease with dementia and dementia with Lewy bodies? *Acta Neuropathol (Berl)* 112: 253–260, doi:10.1007/s00401-006-0088-2.

Jensen KB, Dredge BK, Stefani G, Zhong R, Buckanovich RJ, Okano HJ, Yang YYL, Darnell RB (2000) Nova-1 regulates neuron-specific alternative splicing and is essential for neuronal viability. *Neuron* 25: 359–371.

Jiang Q, Lee CYD, Mandrekar S, Wilkinson B, Cramer P, Zelcer N, Mann K, Lamb B, Willson TM, Collins JL, Richardson JC, Smith JD, Comery TA, Riddell D, Holtzman DM, Tontonoz P, Landreth GE (2008) ApoE promotes the proteolytic degradation of A $\beta$ . *Neuron* 58: 681–693, doi:10.1016/j.neuron.2008.04.010.

Jin K, Wang X, Xie L, Mao XO, Zhu W, Wang Y, Shen J, Mao Y, Banwait S, Greenberg DA (2006) Evidence for stroke-induced neurogenesis in the human brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 13198–13202, doi:10.1073/pnas.0603512103.

Johnson VE, Stewart W (2015) Traumatic brain injury: age at injury influences dementia risk after TBI. *Nat Rev Neurol* 11: 128–130.

Ju S, Tardiff DF, Han H, Divya K, Zhong Q, Maquat LE, Bosco DA, Hayward LJ, Brown Jr. RH, Lindquist S, Ringe D, Petsko GA (2011) A yeast model of FUS/TLS-dependent cytotoxicity. *PLoS Biol* 9: doi:10.1371/journal.pbio.1001052.

Kalaitzakis ME, Walls AJ, Pearce RKB, Gentleman SM (2011) Striatal A $\beta$  peptide deposition mirrors dementia and differentiates DLB and PDD from other Parkinsonian syndromes. *Neurobiol Dis* 41: 377–384, doi:10.1016/j.nbd.2010.10.005.

Kalimo H, Ruchoux M, Viitanen M, Kalaria RN (2002) CADASIL: a common form of hereditary arteriopathy causing brain infarcts and dementia. *Brain Pathol* 12: 371–384.

Kanekura K, Nishimoto I, Aiso S, Matsuoka M (2006) Characterization of amyotrophic lateral sclerosis-linked P56S mutation of vesicle-associated membrane protein-associated protein B (VAPB/ALS8). *J Biol Chem* 281: 30223–30233, doi:10.1074/jbc.M605049200.

Kang DE, Soriano S, Frosch MP, Collins T, Naruse S, Sisodia SS, Leibowitz G, Levine F, Koo EH (1999) Presenilin 1 facilitates the constitutive turnover of  $\beta$ -catenin: Differential activity of Alzheimer's disease-linked PS1 mutants in the  $\beta$ -catenin-signalling pathway. *J Neurosci* 19: 4229–4237.

Karlsson C, Karlsson MG (2011) Effects of long-term storage on the detection of proteins, DNA, and mRNA in tissue microarray slides. *J Histochem Cytochem* 59: 1113–1121, doi:10.1369/0022155411423779.

Kauppinen T, Martikainen P, Alafuzoff I (2006) Human postmortem brain tissue and 2-mm tissue microarrays. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 14: 353–359, doi:10.1097/00129039-200609000-00016.

Kelly BL, Ferreira A (2006)  $\beta$ -amyloid-induced dynamin 1 degradation is mediated by N-methyl-D-aspartate receptors in hippocampal neurons. *J Biol Chem* 281: 28079–28089, doi:10.1074/jbc.M605081200.

Kelly BL, Vassar R, Ferreira A (2005)  $\beta$ -amyloid-induced dynamin 1 depletion in hippocampal neurons: A potential mechanism for early cognitive decline in Alzheimer disease. *J Biol Chem* 280: 31746–31753, doi:10.1074/jbc.M503259200.

Keverne JS, Low WCR, Ziabreva I, Court JA, Oakley AE, Kalaria RN (2007) Cholinergic neuronal deficits in CADASIL. *Stroke* 38: 188–191, doi:10.1161/01.STR.0000251787.90695.05.

Khachaturian AS, Zandi PP, Lyketsos CG, Hayden KM, Skoog I, Norton MC, Tschanz JT, Mayer LS, Welsh-Bohmer KA, Breitner JC (2006) Antihypertensive medication use and incident Alzheimer disease: the Cache County Study. *Arch Neurol* 63: 686–692.

Khan SA, Emadossadaty S, Ladep NG, Thomas HC, Elliott P, Taylor-Robinson SD, Toledano MB (2012) Rising trends in cholangiocarcinoma: is the ICD classification system misleading us? *J Hepatol* 56: 848–854.

Khundakar A, Morris C, Oakley A, McMeekin W, Thomas AJ (2009) Morphometry analysis of neuronal and glial cell pathology in the dorsolateral prefrontal cortex in late-life depression. *Br J Psychiatry* 195: 163–169, doi:10.1192/bjp.bp.108.052688.

Khundakar AA, Thomas AJ (2009) Morphometric changes in early- and late-life major depressive disorder: Evidence from postmortem studies. *Int Psychogeriatr* 21: 844–854, doi:10.1017/S104161020999007X.

Killick R, Ribe EM, Al-Shawi R, Malik B, Hooper C, Fernandes C, Dobson R, Nolan PM, Lourdasamy A, Furney S, Lin K, Breen G, Wroe R, To AWM, Leroy K, Causevic M, Usardi A, Robinson M, Noble W, Williamson R, Lunnon K, Kellie S, Reynolds CH, Bazenet C, Hodges A, Brion J-P, Stephenson J, Paul Simons J, Lovestone S (2014) Clusterin regulates  $\beta$ -amyloid toxicity via Dickkopf-1-driven induction of the wnt-PCP-JNK pathway. *Mol Psychiatry* 19: 88–98, doi:10.1038/mp.2012.163.

Kim D, Frank CL, Dobbin MM, Tsunemoto RK, Tu W, Peng PL, Guan J-S, Lee B-H, Moy LY, Giusti P, Broodie N, Mazitschek R, Delalle I, Haggarty SJ, Neve RL, Lu Y, Tsai L-H (2008) Deregulation of HDAC1 by p25/Cdk5 in neurotoxicity. *Neuron* 60: 803–817, doi:10.1016/j.neuron.2008.10.015.

King A, Maekawa S, Bodi I, Troakes C, Al-Sarraj S (2011) Ubiquitinated, p62 immunopositive cerebellar cortical neuronal inclusions are evident across the spectrum of TDP-43 proteinopathies but are only rarely additionally immunopositive for phosphorylation-dependent TDP-43. *Neuropathology* 31: 239–249, doi:10.1111/j.1440-1789.2010.01171.x.

Kirvell SL, Elliott MS, Kalaria RN, Hortobágyi T, Ballard CG, Francis PT (2010) Vesicular glutamate transporter and cognition in stroke: A case-control autopsy study. *Neurology* 75: 1803–1809, doi:10.1212/WNL.0b013e3181fd6328.

Kirvell SL, Esiri M, Francis PT (2006) Down-regulation of vesicular glutamate transporters precedes cell loss and pathology in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 98: 939–950, doi:10.1111/j.1471-4159.2006.03935.x.

Kitamoto T, Ogomori K, Tateishi J, Prusiner SB (1987) Methods in laboratory investigation. Formic acid pretreatment enhances immunostaining of cerebral and systemic amyloids. *Lab Invest* 57: 230–236.

Klatzo I, Pirau A, Laskowski EJ (1958) The relationship between edema, blood-brain-barrier and tissue elements in a local brain injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 17: 548–564.

Knudsen KE, Alan Diehl J, Haiman CA, Knudsen ES (2006) Cyclin D1: Polymorphism, aberrant splicing and cancer risk. *Oncogene* 25: 1620–1628, doi:10.1038/sj.onc.1209371.

Kobayashi Z, Tsuchiya K, Arai T, Aoki M, Hasegawa M, Ishizu H, Akiyama H, Mizusawa H (2010) Occurrence of basophilic inclusions and FUS-immunoreactive neuronal and glial inclusions in a case of familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci* 293: 6–11, doi:10.1016/j.jns.2010.03.029.

Kodiha M, Tran D, Qian C, Morogan A, Presley JF, Brown CM, Stochaj U (2008) Oxidative stress mislocalizes and retains transport factor importin- $\alpha$  and nucleoporins Nup153 and Nup88 in nuclei where they generate high molecular mass complexes. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res* 1783: 405–418, doi:10.1016/j.bbamcr.2007.10.022.

Koo EH, Kopan R (2004) Potential role of presenilin-regulated signalling pathways in sporadic neurodegeneration. *Nat Med* 10: S26–S33, doi:10.1038/nm1065.

Korczyn AD, Halperin I (2009) Depression and dementia. *J Neurol Sci* 283: 139–142, doi:10.1016/j.jns.2009.02.346.

Kovacs GG (2015) Invited review: Neuropathology of tauopathies: Principles and practice. *Neuropathol Appl Neurobiol* 41: 3–23, doi:10.1111/nan.12208.

Kovacs GG, Ferrer I, Grinberg LT, Alafuzoff I, Attems J, Budka H, Cairns NJ, Crary JF, Duyckaerts C, Ghetti B, Halliday GM, Ironside JW, Love S, Mackenzie IR, Munoz DG, Murray ME, Nelson PT, Takahashi H, Trojanowski JQ, Ansorge O, Arzberger T, Baborie A, Beach TG, Bieniek KF, Bigio EH, Bodi I, Dugger BN, Feany M, Gelpi E, Gentleman SM, Giaccone G, Hatanpaa KJ, Heale R, Hof PR, Hofer M, Hortobágyi T, Jellinger K, Jicha GA, Ince P, Kofler J, Kövari E, Kril JJ, Mann DM, Matej R, McKee AC, McLean C, Milenkovic I, Montine TJ, Murayama S, Lee EB, Rahimi J, Rodriguez RD, Rozemüller A, Schneider JA, Schultz C, Seeley W, Seilhean D, Smith C, Tagliavini F, Takao M, Thal DR, Toledo JB, Tolnay M, Troncoso JC, Vinters HV, Weis S, Wharton SB, White CL, Wisniewski T, Woulfe JM, Yamada M, Dickson DW (2016) Aging-related tau astrogliopathy (ARTAG): harmonized evaluation strategy. *Acta Neuropathol (Berl)* 131: 87–102, doi:10.1007/s00401-015-1509-x.

Kovacs GG, Rozemuller AJ, van Swieten JC, Gelpi E, Majtenyi K, Al-Sarraj S, Troakes C, Bódi I, King A, Hortobágyi T (2013) Neuropathology of the hippocampus in FTLD-Tau with Pick bodies: a study of the BrainNet Europe Consortium. *Neuropathol Appl Neurobiol* 39: 166–178.

Kovacs GG, Majtenyi K, Spina S, Murrell JR, Gelpi E, Hoftberger R, Fraser G, Crowther RA, Goedert M, Budka H, Ghetti B (2008) White matter tauopathy with globular glial inclusions: A distinct sporadic frontotemporal lobar degeneration. *J Neuropathol Exp Neurol* 67: 963–975, doi:10.1097/NEN.0b013e318187a80f.

Kovar H (2011) Dr. Jekyll and Mr. Hyde: The two faces of the FUS/EWS/TAF15 protein family. *Sarcoma* 2011: doi:10.1155/2011/837474.

Köhler S, Van Boxtel M, Jolles J, Verhey F (2011) Depressive symptoms and risk for dementia: A 9-year follow-up of the Maastricht aging study. *Am J Geriatr Psychiatry* 19: 902–905, doi:10.1097/JGP.0b013e31821f1b6a.

König J, Zarnack K, Rot G, Curk T, Kayikci M, Zupan B, Turner DJ, Luscombe NM, Ule J (2010) ICLIP reveals the function of hnRNP particles in splicing at individual nucleotide resolution. *Nat Struct Mol Biol* 17: 909–915, doi:10.1038/nsmb.1838.

Kövari E, Horvath J, Bouras C (2009) Neuropathology of Lewy body disorders. *Brain Res Bull* 80: 203–210, doi:10.1016/j.brainresbull.2009.06.018.

Kraemer BC, Schuck T, Wheeler JM, Robinson LC, Trojanowski JQ, Lee VM, Schellenberg GD (2010) Loss of murine TDP-43 disrupts motor function and plays an essential role in embryogenesis. *Acta Neuropathol* 119: doi:10.1007/s00401-010-0659-0.

Kuhlmann J, Andreasson U, Pannee J, Bjerke M, Portelius E, Leinenbach A, Bittner T, Korecka M, Jenkins RG, Vanderstichele H, Stoops E, Lewczuk P, Shaw LM, Zegers I, Schimmel H, Zetterberg H, Blennow K. CSF A $\beta$ (1-42) - an excellent but complicated Alzheimer's biomarker - a route to standardisation. *Clin Chim Acta* (2016) pii: S0009-8981(16)30218-2. doi: 10.1016/j.cca.2016.05.014.

Kuo P-H, Doudeva LG, Wang Y-T, Shen C-KJ, Yuan HS (2009) Structural insights into TDP-43 in nucleic-acid binding and domain interactions. *Nucleic Acids Res* 37: 1799–1808, doi:10.1093/nar/gkp013.

Kwong LK, Uryu K, Trojanowski JQ, Lee VM (2008) TDP-43 proteinopathies: Neurodegenerative protein misfolding diseases without amyloidosis. *Neurosignals* 16: 41–51.

Lacza Z, Horváth EM, Komjáti K, Hortobágyi T, Szabó C, Busija DW (2003) PARP inhibition improves the effectiveness of neural stem cell transplantation in experimental brain trauma. *Int J Mol Med* 12: 153–159.

Lai J, Moxey A, Nowak G, Vashum K, Bailey K, McEvoy M (2012) The efficacy of zinc supplementation in depression: Systematic review of randomised controlled trials. *J Affect Disord* 136: e31–e39, doi:10.1016/j.jad.2011.06.022.

Lambert J-C, Heath S, Even G, Campion D, Sleegers K, Hiltunen M, Combarros O, Zelenika D, Bullido MJ, Tavernier B, Letenneur L, Bettens K, Berr C, Pasquier F, Fiévet N, Barberger-Gateau P, Engelborghs S, De Deyn P, Mateo I, Franck A, Helisalmi S, Porcellini E, Hanon O, De Pancorbo MM, Lendon C, Dufouil C, Jaillard C, Leveillard T, Alvarez V, Bosco P, Mancuso M, Panza F, Nacmias B, Boss P, Piccardi P, Annoni G, Seripa D, Galimberti D, Hannequin D, Licastro F, Soininen H, Ritchie K, Blanché H, Dartigues J-F, Tzourio C, Gut I, Van Broeckhoven C, Alperovitch A, Lathrop M, Amouyel P, Arosio B, Coto E, Zompo MD, Deramecourt V, Epelbaum J, Forti P, Brice A, Ferri R, Scarpini E, Siciliano G, Solfrizzi V, Sorbi S, Spalletta G, Ravaglia G, Sahel J, Valdivieso F, Vepsäläinen S, Pilotto A (2009) Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet* 41: 1094–1099, doi:10.1038/ng.439.

Lancaster E (2016) The Diagnosis and treatment of autoimmune encephalitis. *J Clin Neurol* 12: 1–13.

Langworthy OR (1930) Abnormalities produced in the central nervous system by electrical injuries. *J Exp Med* 51: 943–964.

Law WJ, Cann KL, Hicks GG (2006) TLS, EWS and TAF15: A model for transcriptional integration of gene expression. *Brief Funct Genomic Proteomic* 5: 8–14, doi:10.1093/bfgp/ell015.

Lowe J, Lennox G, Jefferson D, Morrell K, McQuire D, Gray T, Landon M, Doherty F, Mayer R (1988) A filamentous inclusion body within anterior horn neurones in motor neurone disease defined by immunocytochemical localisation of ubiquitin. *Neurosci Lett* 94: 203–210.

Lowe J, Kalaria R (2015) Dementia. In: *Greenfields neuropathology*, 9. kiadás. 858-953. CRC Press, London

Lee BJ, Cansizoglu AE, Süel KE, Louis TH, Zhang Z, Chook YM (2006) Rules for nuclear localization sequence recognition by karyopherin $\beta$ 2. *Cell* 126: 543–558, doi:10.1016/j.cell.2006.05.049.

Leigh PN, Anderton BH, Dodson A, Gallo J-M, Swash M, Power DM (1988) Ubiquitin deposits in anterior horn cells in motor neurone disease. *Neurosci Lett* 93: 197–203, doi:10.1016/0304-3940(88)90081-X.

Leroy O, Wang J, Muraige C-A, Parent M, Cooper T, Buée L, Sergeant N, Andreadis A, Caillet-Boudin M-L (2006) Brain-specific change in alternative splicing of Tau exon 6 in myotonic dystrophy type 1. *Biochim Biophys Acta BBA-Mol Basis Dis* 1762: 460–467.

Liberski PP (2012) Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. In: *Neurodegenerative Diseases*, (Springer), pp. 128–137.

Liberski PP, Surewicz WK (2013) Molecular genetics of Gerstmann-Straussler-Scheinker disease and Creutzfeld-Jakob disease. *Hered Genet Curr Res* 2013.:

Limongi F, Noale M, Siviero P, Crepaldi G, Maggi S (2015) Epidemiology of aging, dementia and age-related hearing loss. *Hear Balance Commun* 13: 95–99.

Linkous DH, Flinn JM, Koh JY, Lanzirotti A, Bertsch PM, Jones BF, Giblin LJ, Frederickson CJ (2008) Evidence that the ZNT3 protein controls the total amount of elemental zinc in synaptic vesicles. *J Histochem Cytochem* 56: 3–6, doi:10.1369/jhc.6A7035.2007.

Lippa CF, Swearer JM, Kane KJ, Nochlin D, Bird TD, Ghetti B, Nee LE, St. George-Hyslop P, Pollen DA, Drachman DA (2000) Familial Alzheimer's disease: Site of mutation influences clinical phenotype. *Ann Neurol* 48: 376–379, doi:10.1002/1531-8249(200009)48:3<376::AID-ANA13>3.0.CO;2-U.

Love S, Siew LK, Dawbarn D, Wilcock GK, Ben-Shlomo Y, Allen SJ (2006) Premorbid effects of APOE on synaptic proteins in human temporal neocortex. *Neurobiol Aging* 27: 797–803, doi:10.1016/j.neurobiolaging.2005.04.008.

Lovestone S, Güntert A, Hye A, Lynham S, Thambisetty M, Ward M (2007) Proteomics of Alzheimer's disease: Understanding mechanisms and seeking biomarkers. *Expert Rev Proteomics* 4: 227–238, doi:10.1586/14789450.4.2.227.

Macia E, Ehrlich M, Massol R, Boucrot E, Brunner C, Kirchhausen T (2006) Dynasore, a cell-permeable inhibitor of dynamin. *Dev Cell* 10: 839–850, doi:10.1016/j.devcel.2006.04.002.

Mackenzie IRA, Baborie A, Pickering-Brown S, Plessis DD, Jaros E, Perry RH, Neary D, Snowden JS, Mann DMA (2006) Heterogeneity of ubiquitin pathology in frontotemporal lobar degeneration: Classification and relation to clinical phenotype. *Acta Neuropathol (Berl)* 112: 539–549, doi:10.1007/s00401-006-0138-9.

Mackenzie IRA, Neumann M, Baborie A, Sampathu DM, Du Plessis D, Jaros E, Perry RH, Trojanowski JQ, Mann DMA, Lee VMY (2011) A harmonized classification system for FTLTDP pathology. *Acta Neuropathol (Berl)* 122: 111–113, doi:10.1007/s00401-011-0845-8.

Mackenzie IRA, Rademakers R, Neumann M (2010) TDP-43 and FUS in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. *Lancet Neurol* 9: 995–1007, doi:10.1016/S1474-4422(10)70195-2.

Macmahon HE (1929) Electric shock. *Am J Pathol* 4: 333–347.

Maekawa S, Leigh PN, King A, Jones E, Steele JC, Bodi I, Shaw CE, Hortobágyi T, Al-Sarraj S (2009) TDP-43 is consistently co-localized with ubiquitinated inclusions in sporadic and Guam amyotrophic lateral sclerosis but not in familial amyotrophic lateral sclerosis with and without SOD1 mutations. *Neuropathology* 29: 672–683, doi:10.1111/j.1440-1789.2009.01029.x.

Mahad DH, Trapp BD, Lassmann H (2015) Pathological mechanisms in progressive multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 14: 183–193.

Malik B, Currais A, Andres A, Towlson C, Pitsi D, Nunes A, Niblock M, Cooper J, Hortobágyi T, Soriano S (2008a) Loss of neuronal cell cycle control as a mechanism of neurodegeneration in the presenilin-1 Alzheimer's disease brain. *Cell Cycle* 7:637–646.

Malik B, Currais A, Soriano S (2008b) Cell cycle-driven neuronal apoptosis specifically linked to amyloid peptide A $\beta$ 1-42 exposure is not exacerbated in a mouse model of presenilin-1 familial Alzheimer's disease. *J Neurochem* 106: 912–916, doi:10.1111/j.1471-4159.2008.05446.x.

Mann DMA, Iwatsubo T, Ihara Y, Cairns NJ, Lantos PL, Bogdanovic N, Lannfelt L, Winblad B, Maat-Schieman MLC, Rossor MN (1996) Predominant deposition of amyloid- $\beta$ 42(43) in plaques in cases of Alzheimer's disease and hereditary cerebral

hemorrhage associated with mutations in the amyloid precursor protein gene. *Am J Pathol* 148: 1257–1266.

Maruyama H, Morino H, Ito H, Izumi Y, Kato H, Watanabe Y, Kinoshita Y, Kamada M, Nodera H, Suzuki H, Komure O, Matsuura S, Kobatake K, Morimoto N, Abe K, Suzuki N, Aoki M, Kawata A, Hirai T, Kato T, Ogasawara K, Hirano A, Takumi T, Kusaka H, Hagiwara K, Kaji R, Kawakami H (2010) Mutations of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 465: 223–226, doi:10.1038/nature08971.

McGeer PL, Kawamata T, Walker DG (1992) Distribution of clusterin in Alzheimer brain tissue. *Brain Res* 579: 337–341, doi:10.1016/0006-8993(92)90071-G.

McKeith IG, Burn DJ, Ballard CG, Collerton D, Jaros E, Morris CM, McLaren A, Perry EK, Perry R, Piggott MA, O'Brien JT (2003) Dementia with Lewy bodies. *Semin Clin Neuropsychiatry* 8: 46–57, doi:10.1053/scnp.2003.50006.

McKeith IG, Dickson DW, Lowe J, Emre M, O'Brien JT, Feldman H, Cummings J, Duda JE, Lippa C, Perry EK, Aarsland D, Arai H, Ballard CG, Boeve B, Burn DJ, Costa D, Del Ser T, Dubois B, Galasko D, Gauthier S, Goetz CG, Gomez-Tortosa E, Halliday G, Hansen LA, Hardy J, Iwatsubo T, Kalaria RN, Kaufer D, Kenny RA, Korczyn A, Kosaka K, Lee VMY, Lees A, Litvan I, Londos E, Lopez OL, Minoshima S, Mizuno Y, Molina JA, Mukaetova-Ladinska EB, Pasquier F, Perry RH, Schulz JB, Trojanowski JQ, Yamada M (2005) Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: Third report of the DLB consortium. *Neurology* 65: 1863–1872, doi:10.1212/01.wnl.0000187889.17253.b1.

McNicol AM, Richmond JA (1998) Optimizing immunohistochemistry: Antigen retrieval and signal amplification. *Histopathology* 32: 97–103, doi:10.1046/j.1365-2559.1998.00342.x.

Migaud M, Charlesworth P, Dempster M, Webster LC, Watabe AM, Makhinson M, He Y, Ramsay MF, Morris RGM, Morrison JH, O'Dell TJ, Grant SGN (1998) Enhanced long-term potentiation and impaired learning in mice with mutant postsynaptic density-95 protein. *Nature* 396: 433–439, doi:10.1038/24790.

Miguel L, Avequin T, Delarue M, Feuillette S, Frébourg T, Campion D, Lecourtois M (2012) Accumulation of insoluble forms of FUS protein correlates with toxicity in *Drosophila*. *Neurobiol Aging* 33: e1–e15, doi:10.1016/j.neurobiolaging.2011.10.008.

Miklossy J, Steele JC, Yu S, McCall S, Sandberg G, McGeer EG, McGeer PL (2008) Enduring involvement of tau,  $\beta$ -amiloid,  $\alpha$ -synuclein, ubiquitin and TDP-43 pathology in the amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex of Guam (ALS/PDC). *Acta Neuropathol (Berl)* 116: 625–637, doi:10.1007/s00401-008-0439-2.

Miller DL, Potempska A, Wegiel J, Mehta PD (2011) High-affinity rabbit monoclonal antibodies specific for amyloid peptides amyloid- $\beta$ 40 and amyloid- $\beta$ 42. *J Alzheimers Dis* 23: 293–305, doi:10.3233/JAD-2010-101341.



Miller JA, Oldham MC, Geschwind DH (2008) A systems level analysis of transcriptional changes in Alzheimer's disease and normal aging. *J Neurosci* 28: 1410–1420, doi:10.1523/JNEUROSCI.4098-07.2008.

Miller KR, Streit WJ (2007) The effects of aging, injury and disease on microglial function: A case for cellular senescence. *Neuron Glia Biol* 3: 245–253, doi:10.1017/S1740925X08000136.

Mitchell JC, Constable R, So E, Vance C, Scotter E, Glover L, Hortobagyi T, Arnold ES, Ling S-C, McAlonis M, Da Cruz S, Polymenidou M, Tessarolo L, Cleveland DW, Shaw CE (2015) Wild type human TDP-43 potentiates ALS-linked mutant TDP-43 driven progressive motor and cortical neuron degeneration with pathological features of ALS. *Acta Neuropathol Commun* 3: 36, doi:10.1186/s40478-015-0212-4.

Mitchell JC, McGoldrick P, Vance C, Hortobagyi T, Sreedharan J, Rogelj B, Tudor EL, Smith BN, Klasen C, Miller CCJ, Cooper JD, Greensmith L, Shaw CE (2013) Overexpression of human wild-type FUS causes progressive motor neuron degeneration in an age- and dose-dependent fashion. *Acta Neuropathol (Berl)* 125: 273–288, doi:10.1007/s00401-012-1043-z.

Montgomery SA, Asberg M (1979) A new depression scale designed to be sensitive to change. *Br J Psychiatry* 134: 382–389.

Montine TJ, Phelps CH, Beach TG, Bigio EH, Cairns NJ, Dickson DW, Duyckaerts C, Frosch MP, Masliah E, Mirra SS, Nelson PT, Schneider JA, Thal DR, Trojanowski JQ, Vinters HV, Hyman BT (2012) National institute on aging-Alzheimer's association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease: A practical approach. *Acta Neuropathol (Berl)* 123: 1–11, doi:10.1007/s00401-011-0910-3.

Moreland RJ, Dresser ME, Rodgers JS, Roe BA, Conaway JW, Conaway RC, Hanas JS (2000) Identification of a transcription factor IIIA-interacting protein. *Nucleic Acids Res* 28: 1986–1993.

Moretti R, Torre P, Antonello RM, Cazzato G, Pizzolato G (2008) Different responses to rivastigmine in subcortical vascular dementia and multi-infarct dementia. *Am J Alzheimers Dis Other Dement* 23: 167–176, doi:10.1177/1533317507312558.

Muiras M-L, Bürkle A (2000) Defending genomic stability over life span: A proposed role for PARP-1. *Exp Gerontol* 35: 703–709, doi:10.1016/S0531-5565(00)00144-3.

Mulder J, Zilberter M, Pasquaré SJ, Alpár A, Schulte G, Ferreira SG, Köfalvi A, Martín-Moreno AM, Keimpema E, Tanila H (2011) Molecular reorganization of endocannabinoid signalling in Alzheimer's disease. *Brain* 134: 1041–1060.

Mulugeta E, Molina-Holgado F, Elliott MS, Hortobagyi T, Perry R, Kalaria RN, Ballard CG, Francis PT (2008) Inflammatory mediators in the frontal lobe of patients with mixed and vascular dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 25: 278–286, doi:10.1159/000118633.

Munro CA, Longmire CF, Drye LT, Martin BK, Frangakis CE, Meinert CL, Mintzer JE, Porsteinsson AP, Rabins PV, Rosenberg PB, Schneider LS, Weintraub D, Lyketsos CG (2012) Cognitive outcomes after sertaline treatment in patients with depression of Alzheimer disease. *Am J Geriatr Psychiatry* 20: 1036–1044, doi:10.1097/JGP.0b013e31826ce4c5.

Murray ME, Kouri N, Lin W-L, Jack CR, Dickson DW, Vemuri P (2014) Clinicopathologic assessment and imaging of tauopathies in neurodegenerative demencias. *Alzheimers Res Ther* 6: doi:10.1186/alzrt231.

Murray ME, DeJesus-Hernandez M, Rutherford NJ, Baker M, Duara R, Graff-Radford NR, Wszolek ZK, Ferman TJ, Josephs KA, Boylan KB (2011) Clinical and neuropathologic heterogeneity of c9FTD/ALS associated with hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72. *Acta Neuropathol (Berl)* 122: 673–690.

Nagata K, Saito H, Ueno T, Sato M, Nakase T, Maeda T, Satoh Y, Komatsu H, Suzuki M, Kondoh Y (2007) Clinical diagnosis of vascular dementia. *J Neurol Sci* 257: 44–48, doi:10.1016/j.jns.2007.01.049.

Nangle DW, Johnson WG, Carr-Nangle RE, Engler LB (1994) Binge eating disorder and the proposed DSM-IV criteria: psychometric analysis of the Questionnaire of Eating and Weight Patterns. *Int J Eat Disord* 16: 147–157.

Neumann M, Rademakers R, Roeber S, Baker M, Kretschmar HA, MacKenzie IRA (2009) A new subtype of frontotemporal lobar degeneration with FUS pathology. *Brain* 132: 2922–2931, doi:10.1093/brain/awp214.

Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, Truax AC, Micsenyi MC, Chou TT, Bruce J, Schuck T, Grossman M, Clark CM, McCluskey LF, Miller BL, Masliah E, Mackenzie IR, Feldman H, Feiden W, Kretschmar HA, Trojanowski JQ, Lee VM-Y (2006a) Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 314: 130–133, doi:10.1126/science.1134108.

Niblock M, Gallo J-M (2012) Tau alternative splicing in familial and sporadic tauopathies. *Biochem Soc Trans* 40: 677–680, doi:10.1042/BST20120091.

Niblock M, Hortobágyi T, Troakes C, Al-Sarraj S, Spickett C, Jones R, Shaw CE, Gallo J-M (2016) Lack of association between TDP-43 pathology and tau mis-splicing in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 37: 45–46.

Nicoll JA, Yamada M, Frackowiak J, Mazur-Kolecka B, Weller RO (2004) Cerebral amyloid angiopathy plays a direct role in the pathogenesis of Alzheimer's disease: pro-CAA position statement. *Neurobiol Aging* 25: 589–597.

Nijholt DA, De Kimpe L, Elfrink HL, Hoozemans JJ, Scheper W (2011a) Removing protein aggregates: the role of proteolysis in neurodegeneration. *Curr Med Chem* 18:2459–2476.

Nijholt DA, de Graaf TR, van Haastert ES, Oliveira AO, Berkers CR, Zwart R, Ovaas H, Baas F, Hoozemans JJ, Scheper W (2011b) Endoplasmic reticulum stress activates autophagy but not the proteasome in neuronal cells: implications for Alzheimer's disease. *Cell Death Differ* 18:1071-1081. doi: 10.1038/cdd.2010.176.

Epub 2011 Jan 21. PubMed PMID: 21252911; PubMed Central PMCID: PMC3131935.

Ninkina N, Peters O, Millership S, Salem H, van der Putten H, Buchman VL (2009) Gamma-synucleinopathy: neurodegeneration associated with overexpression of the mouse protein. *Hum Mol Genet* 18: 1779–1794, doi:10.1093/hmg/ddp090.

Nishimura AL, Župunski V, Troakes C, Kathe C, Fratta P, Howell M, Gallo J, Hortobágyi T, Shaw CE, Rogelj B (2010) Nuclear import impairment causes cytoplasmic trans-activation response DNA-binding protein accumulation and is associated with frontotemporal lobar degeneration. *Brain* awq111.

Nowak G, Schlegel-Zawadzka M (1999) Alterations in serum and brain trace element levels after antidepressant treatment: Part I. Zinc. *Biol Trace Elem Res* 67: 85–92.

Nudelman KN, McDonald BC, Saykin AJ (2015) Imaging brain networks after cancer and chemotherapy: Advances toward etiology and unanswered questions. *JAMA Oncol* 1–3.

O'Connor L, Strasser A, O'Reilly LA, Hausmann G, Adams JM, Cory S, Huang DCS (1998) Bim: A novel member of the Bcl-2 family that promotes apoptosis. *EMBO J* 17: 384–395, doi:10.1093/emboj/17.2.384.

Oda T, Pasinetti GM, Osterburg HH, Anderson C, Johnson SA, Finch CE (1994) Purification and characterization of brain clusterin. *Biochem Biophys Res Commun* 204: 1131–1136, doi:10.1006/bbrc.1994.2580.

Ohara T, Ninomiya T, Hata J, Ozawa M, Yoshida D, Mukai N, Nagata M, Iwaki T, Kitazono T, Kanba S (2015) Midlife and late-life smoking and risk of dementia in the community: The Hisayama Study. *J Am Geriatr Soc* 63: 2332–2339.

Ohira K, Furuta T, Hioki H, Nakamura KC, Kuramoto E, Tanaka Y, Funatsu N, Shimizu K, Oishi T, Hayashi M, Miyakawa T, Kaneko T, Nakamura S (2010) Ischemia-induced neurogenesis of neocortical layer 1 progenitor cells. *Nat Neurosci* 13: 173–179, doi:10.1038/nn.2473.

Ohshima T, Ogura H, Tomizawa K, Hayashi K, Suzuki H, Saito T, Kamei H, Nishi A, Bibb JA, Hisanaga S-I, Matsui H, Mikoshiba K (2005) Impairment of hippocampal long-term depression and defective spatial learning and memory in p35<sup>-/-</sup> mice. *J Neurochem* 94: 917–925, doi:10.1111/j.1471-4159.2005.03233.x.

Olesen J, Gustavsson A, Svensson M, Wittchen H, Jönsson B (2012) The economic cost of brain disorders in Europe. *Eur J Neurol* 19: 155–162.

Palmiter RD, Cole TB, Quaife CJ, Findley SD (1996) ZnT-3, a putative transporter of zinc into synaptic vesicles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 14934–14939, doi:10.1073/pnas.93.25.14934.

Panse F (1975) Electrical trauma. *Handb Clin Neurol* 23: 683–729.

Pantoni L, Sarti C, Alafuzoff I, Jellinger K, Munoz DG, Ogata J, Palumbo V (2006) Postmortem examination of vascular lesions in cognitive impairment: A survey among neuropathological services. *Stroke* 37: 1005–1009, doi:10.1161/01.STR.0000206445.97511.ae.

Park B, Ying H, Shen X, Park J-S, Qiu Y, Shyam R, Yue BYJT (2010) Impairment of protein trafficking upon overexpression and mutation of optineurin. *PLoS ONE* 5: doi:10.1371/journal.pone.0011547.

Park J, Jang M, Chang S (2013) Deleterious effects of soluble amyloid-beta oligomers on multiple steps of synaptic vesicle trafficking. *Neurobiol Dis* 55: 129–139. doi:10.1016/j.nbd.2013.03.004.

Peleg S, Sananbenesi F, Zovoilis A, Burkhardt S, Bahari-Javan S, Agis-Balboa RC, Cota P, Wittnam JL, Gogol-Doering A, Opitz L, Salinas-Riester G, Dettenhofer M, Kang H, Farinelli L, Chen W, Fischer A (2010) Altered histone acetylation is associated with age-dependent memory impairment in mice. *Science* 328: 753–756, doi:10.1126/science.1186088.

Penke B., Hortobágyi T., Fülöp L (2016) Aging and Alzheimer's disease. (Az öregedés és az Alzheimer-kór) (in Hungarian) *Magyar Tudomány/Hungarian Science* 177: 573–583.

Perry E, Ziabreva I, Perry R, Aarsland D, Ballard C (2005) Absence of cholinergic deficits in 'pure' vascular dementia. *Neurology* 64: 132–133.

Peters OM, Millership S, Shelkovernikova TA, Soto I, Keeling L, Hann A, Marsh-Armstrong N, Buchman VL, Ninkina N (2012) Selective pattern of motor system damage in gamma-synuclein transgenic mice mirrors the respective pathology in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Dis* 48: 124–131, doi:10.1016/j.nbd.2012.06.016.

Peters OM, Shelkovernikova T, Highley JR, Cooper-Knock J, Hortobágyi T, Troakes C, Ninkina N, Buchman VL (2015) Gamma-synuclein pathology in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Clin Transl Neurol* 2: 29–37, doi:10.1002/acn3.143.

Pikkarainen M, Hartikainen P, Alafuzoff I (2008) Neuropathologic features of frontotemporal lobar degeneration with ubiquitin-positive inclusions visualized with ubiquitin-binding protein p62 immunohistochemistry. *J Neuropathol Exp Neurol* 67: 280–298, doi:10.1097/NEN.0b013e31816a1da2.

Pikkarainen M, Hartikainen P, Alafuzoff I (2010) Ubiquitinated p62-positive, TDP-43-negative inclusions in cerebellum in frontotemporal lobar degeneration with TAR DNA

binding protein 43. *Neuropathology* 30: 197–199, doi:10.1111/j.1440-1789.2009.01043.x.

Pollard VW, Michael WM, Nakielnny S, Siomi MC, Wang F, Dreyfuss G (1996) A novel receptor-mediated nuclear protein import pathway. *Cell* 86: 985–994, doi:10.1016/S0092-8674(00)80173-7.

Popescu A, Lippa CF, Lee VM-Y, Trojanowski JQ (2004) Lewy bodies in the amygdala: Increase of  $\alpha$ -synuclein aggregates in neurodegenerative diseases with tau-based inclusions. *Arch Neurol* 61: 1915–1919, doi:10.1001/archneur.61.12.1915.

Purandare N, Burns A (2000) Behavioural and psychological symptoms of dementia. *Rev Clin Gerontol* 10: 245–260.

Rákos G, Kis Z, Farkas T, Hortobágyi T, Toldi J (2007) A new method for rapid estimation of non-intact perilesional cells in focal brain injury: neuroprotection by dehydroepiandrosterone-sulphate. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 67:149-154.

Raimondi A, Ferguson SM, Lou X, Armbruster M, Paradise S, Giovedi S, Messa M, Kono N, Takasaki J, Cappello V (2011) Overlapping role of dynamin isoforms in synaptic vesicle endocytosis. *Neuron* 70: 1100–1114.

Renton A, Majounie E, Waite A, Simón-Sánchez J, Rollinson S, Gibbs J, Schymick J, Laaksovirta H, van Swieten J, Myllykangas L, Kalimo H, Paetau A, Abramzon Y, Remes A, Kaganovich A, Scholz S, Duckworth J, Ding J, Harmer D, Hernandez D, Johnson J, Mok K, Ryten M, Trabzuni D, Guerreiro R, Orrell R, Neal J, Murray A, Pearson J, Jansen I, Sondervan D, Seelaar H, Blake D, Young K, Halliwell N, Callister J, Toulson G, Richardson A, Gerhard A, Snowden J, Mann D, Neary D, Nalls M, Peuralinna T, Jansson L, Isoviita V-M, Kaivorinne A-L, Hölttä-Vuori M, Ikonen E, Sulkava R, Benatar M, Wu J, Chiò A, Restagno G, Borghero G, Sabatelli M, Heckerman D, Rogaeva E, Zinman L, Rothstein J, Sendtner M, Drepper C, Eichler E, Alkan C, Abdullaev Z, Pack S, Dutra A, Pak E, Hardy J, Singleton A, Williams N, Heutink P, Pickering-Brown S, Morris H, Tienari P, Traynor B (2011) A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron* 72: 257–268, doi:10.1016/j.neuron.2011.09.010.

Rezaie T, Child A, Hitchings R, Brice G, Miller L, Coca-Prados M, Héon E, Krupin T, Ritch R, Kreutzer D, Crick RP, Sarfarazi M (2002) Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin. *Science* 295: 1077–1079, doi:10.1126/science.1066901.

Rocca WA, Hofman A, Brayne C, Breteler MMB, Clarke M, Copeland JRM, Dartigues J-F, Engedal K, Hagnell O, Heeren TJ, Jonker C, Lindesay J, Lobo A, Mann AH, Mölsä PK, Morgan K, O'Connor DW, Da Silva Droux A, Sulkava R, Kay DWK, Amaducci L (1991) Frequency and distribution of Alzheimer's disease in Europe: A collaborative study of 1980-1990 prevalence findings. *Ann Neurol* 30: 381–390.

Rojas P, Joodmardi E, Hong Y, Perlmann T, Ögren SO (2007) Adult mice with reduced Nurr1 expression: An animal model for schizophrenia. *Mol Psychiatry* 12: 756–766, doi:10.1038/sj.mp.4001993.

Rollinson S, Bennion J, Toulson G Analysis of optineurin in frontotemporal lobar degeneration. *Neurobiol Aging*.

Román GC (1999) A historical review of the concept of vascular dementia: lessons from the past for the future. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 13 Suppl 3: S4-8.

Román GC, Sachdev P, Royall DR, Bullock RA, Orgogozo JM, López-Pousa S, Arizaga R, Wallin A (2004) Vascular cognitive disorder: a new diagnostic category updating vascular cognitive impairment and vascular dementia. *J Neurol Sci* 226:81-7.

Rongve A, Soennesyn H, Skogseth R, Oesterhus R, Hortobágyi T, Ballard C, Auestad BH, Aarsland D (2016) Cognitive decline in dementia with Lewy bodies: A 5-year prospective cohort study. *BMJ Open* 6: doi:10.1136/bmjopen-2015-010357.

Rozzini L, Chilovi BV, Bertolotti E, Trabucchi M, Padovani A (2007) Acetylcholinesterase inhibitors and depressive symptoms in patients with mild to moderate Alzheimer's disease. *Aging Clin Exp Res* 19: 220–223.

Ruddy DM, Parton MJ, Al-Chalabi A, Lewis CM, Vance C, Smith BN, Leigh PN, Powell JF, Siddique T, Meyjes EP, Baas F, De Jong V, Shaw CE (2003) Two families with familial amyotrophic lateral sclerosis are linked to a novel locus on chromosome 16q. *Am J Hum Genet* 73: 390–396, doi:10.1086/377157.

Sachdev PS, Blacker D, Blazer DG, Ganguli M, Jeste DV, Paulsen JS, Petersen RC (2014) Classifying neurocognitive disorders: the DSM-5 approach. *Nat Rev Neurol* 10: 634–642.

Sachs-Ericsson N, Blazer DG (2015) The new DSM-5 diagnosis of mild neurocognitive disorder and its relation to research in mild cognitive impairment. *Aging Ment Health* 19: 2–12.

Sampathu DM, Neumann M, Kwong LK, Chou TT, Micsenyi M, Truax A, Bruce J, Grossman M, Trojanowski JQ, Lee VM-Y (2006) Pathological heterogeneity of frontotemporal lobar degeneration with ubiquitin-positive inclusions delineated by ubiquitin immunohistochemistry and novel monoclonal antibodies. *Am J Pathol* 169: 1343–1352, doi:10.2353/ajpath.2006.060438.

Santos GM, Southon JR, Griffin S, Beaupre SR, Druffel ERM (2007) Ultra small-mass AMS 14C sample preparation and analyses at KCCAMS/UCI Facility. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect B Beam Interact Mater At* 259: 293–302, doi:10.1016/j.nimb.2007.01.172.

Sapp PC, Hosler BA, McKenna-Yasek D, Chin W, Gann A, Genise H, Gorenstein J, Huang M, Sailer W, Scheffler M, Valesky M, Haines JL, Pericak-Vance M, Siddique T, Horvitz

HR, Brown Jr. RH (2003) Identification of two novel loci for dominantly inherited familial amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Hum Genet* 73: 397–403, doi:10.1086/377158.

Saura CA, Choi S-Y, Beglopoulos V, Malkani S, Zhang D, Rao BSS, Chattarji S, Kelleher III RJ, Kandel ER, Duff K, Kirkwood A, Shen J (2004) Loss of presenilin function causes impairments of memory and synaptic plasticity followed by age-dependent neurodegeneration. *Neuron* 42: 23–36, doi:10.1016/S0896-6273(04)00182-5.

Scheinberg P (1988) Dementia due to vascular disease—a multifactorial disorder. *Stroke* 19: 1291–1299.

Scheper W, Nijholt DA, Hoozemans JJ (2011) The unfolded protein response and proteostasis in Alzheimer disease: preferential activation of autophagy by endoplasmic reticulum stress. *Autophagy* 7:910–911.

Schneider JA, Arvanitakis Z, Yu L, Boyle PA, Leurgans SE, Bennett DA (2012) Cognitive impairment, decline and fluctuations in older community-dwelling subjects with Lewy bodies. *Brain* 135: 3005–3014, doi:10.1093/brain/aws234.

Schraen-Maschke S, Sergeant N, Dhaenens C-M, Bombois S, Deramecourt V, Caillet-Boudin M-L, Pasquier F, Maurage C-A, Sablonniere B, Vanmechelen E (2008) Tau as a biomarker of neurodegenerative diseases.

Selkoe DJ (1989) The deposition of amyloid proteins in the aging mammalian brain: Implications for Alzheimer's disease. *Ann Med* 21: 73–76, doi:10.3109/07853898909149187.

Sephton CF, Cenik C, Kucukural A, Dammer EB, Cenik B, Han Y, Dewey CM, Roth FP, Herz J, Peng J, Moore MJ, Yu G (2011) Identification of neuronal RNA targets of TDP-43-containing ribonucleoprotein complexes. *J Biol Chem* 286: 1204–1215, doi:10.1074/jbc.M110.190884.

Sharp SI, Francis PT, Elliott MSJ, Kalaria RN, Bajic N, Hortobagyi T, Ballard CG (2009) Choline acetyltransferase activity in vascular dementia and stroke. *Dement Geriatr Cogn Disord* 28: 233–238, doi:10.1159/000239235.

Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR (2001) Antigen retrieval immunohistochemistry and molecular morphology in the year 2001. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 9: 107–116, doi:10.1097/00022744-200106000-00002.

Shibata M, Yamada S, Ram Kumar S, Calero M, Bading J, Frangione B, Holtzman DM, Miller CA, Strickland DK, Ghiso J, Zlokovic BV (2000) Clearance of Alzheimer's amyloid- $\beta$ 1-40 peptide from brain by LDL receptor-related protein-1 at the blood-brain barrier. *J Clin Invest* 106: 1489–1499.

Simonini MV, Camargo LM, Dong E, Maloku E, Veldic M, Costa E, Guidotti A (2006) The benzamide MS-275 is a potent, long-lasting brain region-selective inhibitor of histone deacetylases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 1587–1592, doi:10.1073/pnas.0510341103.

Singh D (2012) What's in a Name? AIDS Demencia Complex, HIV-associated Dementia, HIV-associated neurocognitive disorder or HIV Encephalopathy. *Afr J Psychiatry* 15.: doi:10.1083/jcb.138.6.1181.

Siomi MC, Eder PS, Kataoka N, Wan L, Liu Q, Dreyfuss G (1997) Transportin-mediated nuclear import of heterogeneous nuclear RNP proteins. *J Cell Biol* 138: 1181–1192, doi:10.1083/jcb.138.6.1181.

Slifer MA, Martin ER, Gilbert JR, Haines JL, Pericak-Vance MA (2009) Resolving the relationship between ApolipoproteinE and depression. *Neurosci Lett* 455: 116–119, doi:10.1016/j.neulet.2009.03.007.

Somel M, Guo S, Fu N, Yan Z, Hu HY, Xu Y, Yuan Y, Ning Z, Hu Y, Menzel C, Hu H, Lachmann M, Zeng R, Chen W, Khaitovich P (2010) MicroRNA, mRNA, and protein expression link development and aging in human and macaque brain. *Genome Res* 20: 1207–1218, doi:10.1101/gr.106849.110.

Sorokin AV, Kim ER, Ovchinnikov LP (2007) Nucleocytoplasmic transport of proteins. *Biochem Mosc* 72: 1439–1457, doi:10.1134/S0006297907130032.

Spalding KL, Bergmann O, Alkass K, Bernard S, Salehpour M, Huttner HB, Boström E, Westerlund I, Vial C, Buchholz BA, Possnert G, Mash DC, Druid H, Frisén J (2013) Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. *Cell* 153: X1219–X1227, doi:10.1016/j.cell.2013.05.002.

Sreedharan J, Blair IP, Tripathi VB, Hu X, Vance C, Rogelj B, Ackerley S, Durnall JC, Williams KL, Buratti E, Baralle F, De Bellerocche J, Mitchell JD, Leigh PN, Al-Chalabi A, Miller CC, Nicholson G, Shaw CE (2008) TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 319: 1668–1672, doi:10.1126/science.1154584.

Stallings NR, Puttaparthi K, Luther CM, Burns DK, Elliott JL (2010) Progressive motor weakness in transgenic mice expressing human TDP-43. *Neurobiol Dis* 40: doi:10.1016/j.nbd.2010.06.017.

Stetler C, Miller GE (2011) Depression and hypothalamic-pituitary-adrenal activation: A quantitative summary of four decades of research. *Psychosom Med* 73: 114–126, doi:10.1097/PSY.0b013e31820ad12b.

Strong MJ, Rosenfeld J (2003) Amyotrophic lateral sclerosis: A review of current concepts. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 4: 136–143, doi:10.1080/14660820310011250.

Sudhakar C, Nagabhushana A, Jain N, Swarup G (2009) NF- $\kappa$ B mediates tumor necrosis factor  $\alpha$ -induced expression of optineurin, a negative regulator of NF- $\kappa$ B. *PLoS ONE* 4: doi:10.1371/journal.pone.0005114.

Suzuki H, Kanekura K, Levine TP, Kohno K, Olkkonen VM, Aiso S, Matsuoka M (2009) ALS-linked P56S-VAPB, an aggregated loss-of-function mutant of VAPB, predisposes motor neurons to ER stress-related death by inducing aggregation of co-expressed wild-type VAPB. *J Neurochem* 108: 973–985, doi:10.1111/j.1471-4159.2008.05857.x.



Swardfager W, Herrmann N, McIntyre RS, Mazereeuw G, Goldberger K, Cha DS, Schwartz Y, Lanctôt KL (2013) Potential roles of zinc in the pathophysiology and treatment of major depressive disorder. *Neurosci Biobehav Rev* 37: 911–929, doi:10.1016/j.neubiorev.2013.03.018.

Sze CI, Troncoso JC, Kawas C, Mouton P, Price DL, Martin LJ (1997) Loss of the presynaptic vesicle protein synaptophysin in hippocampus correlates with cognitive decline in Alzheimer's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 56: doi:10.1097/00005072-199708000-00011.

Tada T, Simonetta A, Batterton M, Kinoshita M, Edbauer D, Sheng M (2007) Role of septin cytoskeleton in spine morphogenesis and dendrite development in neurons. *Curr Biol* 17: 1752–1758, doi:10.1016/j.cub.2007.09.039.

Takahashi K, Pieper AA, Croul SE, Zhang J, Snyder SH, Greenberg JH (1999) Post-treatment with an inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase attenuates cerebral damage in focal ischemia. *Brain Res* 829: 46–54, doi:10.1016/S0006-8993(99)01335-9.

Takeda A, Tamano H, Ogawa T, Takada S, Ando M, Oku N, Watanabe M (2012) Significance of serum glucocorticoid and chelatable zinc in depression and cognition in zinc deficiency. *Behav Brain Res* 226: 259–264, doi:10.1016/j.bbr.2011.09.026.

Tamura MK, Vittinghoff E, Yang J, Go AS, Seliger SL, Kusek JW, Lash J, Cohen DL, Simon J, Batuman V (2016) Anemia and risk for cognitive decline in chronic kidney disease. *BMC Nephrol* 17: 1.

Tandon A, Yu H, Wang L, Rogaeva E, Sato C, Chishti MA, Kawarai T, Hasegawa H, Chen F, Davies P, Fraser PE, Westaway D, St George-Hyslop PH (2003) Brain levels of CDK5 activator p25 are not increased in Alzheimer's or other neurodegenerative diseases with neurofibrillary tangles. *J Neurochem* 86: 572–581, doi:10.1046/j.1471-4159.2003.01865.x.

Taniguchi S, Fujita Y, Hayashi S, Kakita A, Takahashi H, Murayama S, Saido TC, Hisanaga S, Iwatsubo T, Hasegawa M (2001) Calpain-mediated degradation of p35 to p25 in postmortem human and rat brains. *FEBS Lett* 489: 46–50, doi:10.1016/S0014-5793(00)02431-5.

Tetsu O, McCormick F (1999)  $\beta$ -catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature* 398: 422–426, doi:10.1038/18884.

Teuling E, Ahmed S, Haasdijk E, Demmers J, Steinmetz MO, Akhmanova A, Jaarsma D, Hoogenraad CC (2007) Motor neuron disease-associated mutant vesicle-associated membrane protein-associated protein (VAP) B recruits wild-type VAPs into endoplasmic reticulum-derived tubular aggregates. *J Neurosci* 27: 9801–9815, doi:10.1523/JNEUROSCI.2661-07.2007.

Tezel G (2008) TNF- $\alpha$  signalling in glaucomatous neurodegeneration.

Thal DR, Rüb U, Orantes M, Braak H (2002) Phases of A $\beta$ -deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* 58: 1791–1800.

The National Institute on Aging, and Reagan Institute Working Group on Diagnostic Criteria for the Neuropathological Assessment of Alzheimer's Disease (1997) *Neurobiol Aging* 18: S1–S2.

Thompson A, MacKay A, Rudge P, Lukic A, Porter M-C, Lowe J, Collinge J, Mead S (2014) Behavioral and psychiatric symptoms in prion disease. *Am J Psychiatry*.

Tibshirani M, Tradewell ML, Mattina KR, Minotti S, Yang W, Zhou H, Strong MJ, Hayward LJ, Durham HD (2015) Cytoplasmic sequestration of FUS/TLS associated with ALS alters histone marks through loss of nuclear protein arginine methyltransferase 1. *Hum Mol Genet* 24: 773–786.

Tikka S, Baumann M, Siitonen M, Pasanen P, Pöyhönen M, Myllykangas L, Viitanen M, Fukutake T, Cognat E, Joutel A (2014) CADASIL and CARASIL. *Brain Pathol* 24: 525–544.

Tiwari SS, d'Orange M, Troakes C, Shurovi BN, Engmann O, Noble W, Hortobágyi T, Giese KP (2015) Evidence that the presynaptic vesicle protein CSP $\alpha$  is a key player in synaptic degeneration and protection in Alzheimer's disease. *Mol Brain* 8: 1–12, doi:10.1186/s13041-015-0096-z.

Tollervey JR, Curk T, Rogelj B, Briese M, Cereda M, Kayikci M, König J, Hortobágyi T, Nishimura AL, Župunski V, Patani R, Chandran S, Rot G, Zupan B, Shaw CE, Ule J (2011a) Characterizing the RNA targets and position-dependent splicing regulation by TDP-43. *Nat Neurosci* 14: 452–458, doi:10.1038/nn.2778.

Tollervey JR, Wang Z, Hortobágyi T, Witten JT, Zarnack K, Kayikci M, Clark TA, Schweitzer AC, Rot G, Curk T, Zupan B, Rogelj B, Shaw CE, Ule J (2011b) Analysis of alternative splicing associated with aging and neurodegeneration in the human brain. *Genome Res* 21: 1572–1582, doi:10.1101/gr.122226.111.

Torre E, McNiven MA, Urrutia R (1994) Dynamin 1 antisense oligonucleotide treatment prevents neurite formation in cultured hippocampal neurons. *J Biol Chem* 269: 32411–32417.

Troakes C, Hortobágyi T, Vance C, Al-Sarraj S, Rogelj B, Shaw CE (2013) Transportin 1 colocalization with Fused in Sarcoma (FUS) inclusions is not characteristic for amyotrophic lateral sclerosis-FUS confirming disrupted nuclear import of mutant FUS and distinguishing it from frontotemporal lobar degeneration with FUS inclusions. *Neuropathol Appl Neurobiol* 39: 553–561, doi:10.1111/j.1365-2990.2012.01300.x.

Troakes C, Maekawa S, Wijesekera L, Rogelj B, Siklós L, Bell C, Smith B, Newhouse S, Vance C, Johnson L, Hortobágyi T, Shatunov A, Al-Chalabi A, Leigh N, Shaw CE, King A, Al-Sarraj S (2012) An MND/ALS phenotype associated with C9orf72 repeat expansion: Abundant p62-positive, TDP-43-negative inclusions in cerebral cortex, hippocampus and cerebellum but without associated cognitive decline. *Neuropathology* 32: 505–514, doi:10.1111/j.1440-1789.2011.01286.x.

Tseng H-C, Zhou Y, Shen Y, Tsai L-H (2002) A survey of Cdk5 activator p35 and p25 levels in Alzheimer's disease brains. *FEBS Lett* 523: 58–62, doi:10.1016/S0014-5793(02)02934-4.

Tsuda H, Han SM, Yang Y, Tong C, Lin YQ, Mohan K, Haueter C, Zoghbi A, Harati Y, Kwan J, Miller MA, Bellen HJ (2008) The amyotrophic lateral sclerosis 8 protein VAPB is cleaved, secreted, and acts as a ligand for Eph receptors. *Cell* 133: 963–977, doi:10.1016/j.cell.2008.04.039.

Tudor EL, Galtrey CM, Perikinton MS, Lau K-F, De Vos KJ, Mitchell JC, Ackerley S, Hortobágyi T, Vámos E, Leigh PN, Klasen C, McLoughlin DM, Shaw CE, Miller CCJ (2010) Amyotrophic lateral sclerosis mutant vesicle-associated membrane protein-associated protein-B transgenic mice develop TAR-DNA-binding protein-43 pathology. *Neuroscience* 167: 774–785, doi:10.1016/j.neuroscience.2010.02.035.

Uchikado H, Lin W-L, Delucia MW, Dickson DW (2006) Alzheimer disease with amygdala Lewy bodies: A distinct form of  $\alpha$ -synucleinopathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 65: 685–697, doi:10.1097/01.jnen.0000225908.90052.07.

Ule J, Stefani G, Mele A, Ruggiu M, Wang X, Taneri B, Gaasterland T, Blencowe BJ, Darnell RB (2006) An RNA map predicting Nova-dependent splicing regulation. *Nature* 444: 580–586, doi:10.1038/nature05304.

Urbanowitsch N, Kowoll ME, Herold CJ, Küntzelmann A, Giesel F, Haberkorn U, Schönknecht P, Schröder J (2015) Proxies of cognitive reserve and their cerebral correlates in prodromal and mild Alzheimer's disease: An ongoing FDG-PET study. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc* 11: P417.

Vallortigara J, Rangarajan ., Whitfield DR, Alghamdi A, Howlett DR, Hortobágyi T, Johnson ., Attems J, Ballard C, Thomas AJ, O'Brien JT, Aarsland D, Francis PT (2014) Dynamin1 concentration in prefrontal cortex is associated with cognitive impairment in Lewy body dementia. *F1000Research*. 3:108 doi:10.12688/f1000research.3786.1

Vallortigara J, Whitfield D, Quelch W, Alghamdi A, Howlett D, Hortobágyi T, Johnson M, Attems J, O'Brien JT, Thomas A, Ballard CG, Aarsland D, Francis PT (2015) Decreased levels of VAMP2 and monomeric alpha-synuclein correlate with duration of demencia. *J Alzheimers Dis* 50: 101–110, doi:10.3233/JAD-150707.

Van Den Haute C, Spittaels K, Van Dorpe J, Lasrado R, Vandezande K, Laenen I, Geerts H, Van Leuven F (2001) Coexpression of human cdk5 and its activator p35 with human protein tau in neurons in brain of triple transgenic mice. *Neurobiol Dis* 8: 32–44, doi:10.1006/nbdi.2000.0333.

Vance C, Al-Chalabi A, Ruddy D, Smith BN, Hu X, Sreedharan J, Siddique T, Schelhaas HJ, Kusters B, Troost D, Baas F, De Jong V, Shaw CE (2006) Familial amyotrophic lateral sclerosis with frontotemporal dementia is linked to a locus on chromosome 9p13.2-21.3. *Brain* 129: 868–876, doi:10.1093/brain/awl030.

Vance C, Rogelj B, Hortobágyi T, De Vos KJ, Nishimura AL, Sreedharan J, Hu X, Smith B, Ruddy D, Wright P, Ganesalingam J, Williams KL, Tripathi V, Al-Saraj S, Al-Chalabi A, Leigh PN, Blair IP, Nicholson G, De Bellerocche J, Gallo J-M, Miller CC, Shaw CE (2009) Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science* 323: 1208–1211, doi:10.1126/science.1165942.

Varoqui H, Schäfer MK-H, Zhu H, Weihe E, Erickson JD (2002) Identification of the differentiation-associated Na<sup>+</sup>/PI transporter as a novel vesicular glutamate transporter expressed in a distinct set of glutamatergic synapses. *J Neurosci* 22: 142–155.

Vemuganti R (2005) Decreased expression of vesicular GABA transporter, but not vesicular glutamate, acetylcholine and monoamine transporters in rat brain following focal ischemia. *Neurochem Int* 47: 136–142, doi:10.1016/j.neuint.2005.04.015.

Vincent I, Rosado M, Davies P (1996) Mitotic mechanisms in Alzheimer's disease? *J Cell Biol* 132: 413–425, doi:10.1083/jcb.132.3.413.

Viswanathan A, Rocca WA, Tzourio C (2009) Vascular risk factors and dementia How to move forward? *Neurology* 72: 368–374.

Volicer L (2005) Caregiver burden in dementia care: prevalence and health effects. *Curr Psychos Ther Rep* 3: 20–25.

Wakabayashi K, Shibasaki Y, Hasegawa M, Horikawa Y, Soma Y, Hayashi S, Morita T, Iwatsubo T, Takahashi H (2000) Primary progressive aphasia with focal glial tauopathy [2]. *Neuropathol Appl Neurobiol* 26: 477–481, doi:10.1046/j.1365-2990.2000.00266-2.x.

Wang J-H, Kelly PT (1995) Postsynaptic injection of Ca<sup>2+</sup>/CaM induces synaptic potentiation requiring CaMKII and PKC activity. *Neuron* 15: 443–452, doi:10.1016/0896-6273(95)90048-9.

Wang Y-J, Chen G-H, Hu X-Y, Lu Y-P, Zhou J-N, Liu R-Y (2005) The expression of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II- $\alpha$  in the hippocampus of patients with Alzheimer's disease and its links with AD-related pathology. *Brain Res* 1031: 101–108, doi:10.1016/j.brainres.2004.10.061.

Wegorzewska I, Bell S, Cairns NJ, Miller TM, Baloh RH (2009) TDP-43 mutant transgenic mice develop features of ALS and frontotemporal lobar degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: doi:10.1073/pnas.0908767106.

Weinstein JR, Koerner IP, Miller T (2010) Microglia in ischemic brain injury. *Future Neurol* 5: 227–246, doi:10.2217/fnl.10.1.

Weintraub D, Rosenberg PB, Drye LT, Martin BK, Frangakis C, Mintzer JE, Porsteinsson AP, Schneider LS, Rabins PV, Munro CA, Meinert CL, Lyketsos CG (2010a) Sertraline for the treatment of depression in alzheimer disease: Week-24 outcomes. *Am J Geriatr Psychiatry* 18: 332–340, doi:10.1097/JGP.0b013e3181cc0333.

Weller RO, Massey A, Newman TA, Hutchings M, Kuo Y-M, Roher AE (1998) Cerebral amyloid angiopathy: amyloid  $\beta$  accumulates in putative interstitial fluid drainage pathways in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 153: 725–733.

Whitfield DR, Vallortigara J, Alghamdi A, Hortobágyi T, Ballard C, Thomas AJ, O'Brien JT, Aarsland D, Francis PT (2015a) Depression and synaptic zinc regulation in Alzheimer disease, dementia with Lewy bodies, and parkinson disease dementia. *Am J Geriatr Psychiatry* 23: 141–148, doi:10.1016/j.jagp.2014.05.001.

Whitfield DR, Vallortigara J, Alghamdi A, Howlett D, Hortobágyi T, Johnson M, Attems J, Newhouse S, Ballard C, Thomas AJ (2014) Assessment of ZnT3 and PSD95 protein levels in Lewy body dementias and Alzheimer's disease: association with cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 35: 2836–2844.

Whitmer RA, Quesenberry CP, Liu JY, Yaffe K (2015b) Depression treatment and risk of dementia: A new user cohort study. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc* 11: P524–P525.

Wils H, Kleinberger G, Janssens J, Pereson S, Joris G, Cuijt I, Smits V, Ceuterick-de Groote C, Van Broeckhoven C, Kumar-Singh S (2009) TDP-43 transgenic mice develop spastic paralysis and neuronal inclusions characteristic of ALS and frontotemporal lobar degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: doi:10.1073/pnas.0912417107.

Winton MJ, Igaz LM, Wong MM, Kwong LK, Trojanowski JQ, Lee VM-Y (2008) Disturbance of nuclear and cytoplasmic TAR DNA-binding protein (TDP-43) induces disease-like redistribution, sequestration, and aggregate formation. *J Biol Chem* 283: 13302–13309, doi:10.1074/jbc.M800342200.

Woolley SC, Strong MJ (2015) Frontotemporal dysfunction and dementia in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Clin* 33: 787–805.

World Health Organization (1992) The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders: clinical descriptions and diagnostic guidelines (Geneva: World Health Organization).

Wright SC, Wei QS, Kinder DH, Larrick JW (1996) Biochemical pathways of apoptosis: Nicotinamide adenine dinucleotide-deficient cells are resistant to tumor necrosis factor or ultraviolet light activation of the 24-kD apoptotic protease and DNA fragmentation. *J Exp Med* 183: 463–471.

Xie Y, Vessey JP, Konecna A, Dahm R, Macchi P, Kiebler MA (2007) The GTP-binding protein Septin 7 is critical for dendrite branching and dendritic-spine morphology. *Curr Biol* 17: 1746–1751, doi:10.1016/j.cub.2007.08.042.

Xu Y-F, Gendron TF, Zhang Y-J, Lin W-L, D'Alton S, Sheng H, Casey MC, Tong J, Knight J, Yu X, Rademakers R, Boylan K, Hutton M, McGowan E, Dickson DW, Lewis J, Petrucelli L (2010) Wild-type human TDP-43 expression causes TDP-43 phosphorylation, mitochondrial aggregation, motor deficits, and early mortality in transgenic mice. *J Neurosci* 30: 10851–10859, doi:10.1523/JNEUROSCI.1630-10.2010.

- Xu YF, Zhang YJ, Lin WL, Cao X, Stetler C, Dickson DW, Lewis J, Petrucelli L (2011) Expression of mutant TDP-43 induces neuronal dysfunction in transgenic mice. *Mol Neurodegener* 6: doi:10.1186/1750-1326-6-73.
- Yang Q, She H, Gearing M, Colla E, Lee M, Shacka JJ, Mao Z (2009) Regulation of neuronal survival factor MEF2D by chaperone-mediated autophagy. *Science* 323: 124–127, doi:10.1126/science.1166088.
- Yang Y, Geldmacher DS, Herrup K (2001) DNA replication precedes neuronal cell death in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 21: 2661–2668.
- Yang Z, Slavin MJ, Sachdev PS. Dementia in the oldest old. *Nat Rev Neurol* (2013) 9:382–393. doi: 10.1038/nrneurol.2013.105.
- Yarchoan M, Xie SX, Kling MA, Toledo JB, Wolk DA, Lee EB, Van Deerlin V, Lee VM-Y, Trojanowski JQ, Arnold SE (2012) Cerebrovascular atherosclerosis correlates with Alzheimer pathology in neurodegenerative dementias. *Brain* 135: 3749–3756.
- Zádor Z, Lacza Z, Benyó Z, Harkány T, Hortobágyi T (2003) Apoptosis in focal brain ischemia (in Hungarian)(Apoptózis fokális agyi iszkémiában) *Ideggyógyászati Szle* 56: 216–228.
- Zádor Z., Benyó Z., Lacza Z., Hortobágyi T. sr., Harkany T., Hortobágyi T (2004) Neuroprotection in brain ischemia – doubts and hopes. (in Hungarian)(Neuroprotekcio agyi iszkémiában – kételyek és remények) *Ideggyógyászati Szle* 57:81-93.
- Zakaryan RP, Gehring H (2006) Identification and characterization of the nuclear localization/retention signal in the EWS proto-oncoprotein. *J Mol Biol* 363: 27–38, doi:10.1016/j.jmb.2006.08.018.
- Zhang J, Dawson VL, Dawson TM, Snyder SH (1994) Nitric oxide activation of poly(ADP-ribose) synthetase in neurotoxicity. *Science* 263: 687–689.
- Zhang YQ, Henderson MX, Colangelo CM, Ginsberg SD, Bruce C, Wu T (2012) Identification of CSPalpha clients reveals a role in dynamin 1 regulation. *Neuron* 74: doi:10.1016/j.neuron.2012.01.029.
- Zhu G, Wu C-J, Zhao Y, Ashwell JD (2007) Optineurin negatively regulates TNF $\alpha$ -induced NF- $\kappa$ B activation by competing with NEMO for ubiquitinated RIP. *Curr Biol* 17: 1438–1443, doi:10.1016/j.cub.2007.07.041.
- Zinszner H, Sok J, Immanuel D, Yin Y, Ron D (1997) TLS (FUS) binds RNA in vivo and engages in nucleo-cytoplasmic shuttling. *J Cell Sci* 110: 1741–1750.