

IMMUN-MEDIÁLT NEUROLÓGIAI KÓRKÉPEK KLINIKAI ÉS LABORDIAGNOSZTIKAI VIZSGÁLATA

Doktori (PhD) értekezés tézisei

dr. Hayden Zsófia

Témavezetők:

Prof. Dr. Berki Tímea, Dr. Bóné Beáta

Promramvezető:

Prof. Dr. Berki Tímea

Doktori Iskola vezetője:

Prof. Reglődi Dóra

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Immunológiai és Biotechnológiai Intézet



Pécs, 2021

BEVEZETÉS

A **paraneopláziás neurológiai szindrómák (PNS)** ritka idegrendszeri kórképek, melyek kialakulásáért a szindrómához társuló malignus tumor távoli hatása felelős. A jelenlévő tumor által expresszált intracelluláris antigének (Ma2, Yo, CV2, Hu, amphiphysin, Ri, Tr, GAD65, Zic4, titin, SOX1, recoverin) ellen kialakuló immunválasz felelős a betegség kialakulásáért, a képződő onkoneurális ellenanyagok a neuronális struktúrákkal kereszt reagálnak, mely változatos neurológiai tünetek kialakulásához vezet. Az onkoneurális autoantitestek nem patogének, azonban szérumban történő kimutatásuk okkult tumort jelezhet és kimutatásuk célzott tumorkutatást indokol az érintett betegekben.

Az utóbbi években kerültek leírásra a limbikus encephalitis (LE) formájában jelentkező központi idegrendszeri (KIR) szindrómák kialakulásáért felelős neuronális sejtfelszíni receptorok (NMDAR, GABABR, AMPAR), illetve az ezekhez asszociált szinaptikus fehérjék (LGI1, Caspr2) ellen képződő ellenanyagok. Az **autoimmun encephalitisek (AE)** változatos klinikai tünetek, mint pszichiátriai tünetek, magatartás-, tudat-, és memóriazavarok, epilepsziás roszullétek és mozgászavarok formájában jelentkeznek. Fontos elkülöníteni az intracelluláris antigének ellen képződő onkoneurális ellenanyagokkal társuló PNS-t és a neuronális sejtfelszíni antitest-mediált AE-t. Az onkoneurális autoantitestekkel jellemezhető PNS gyakran (> 90%) társul szisztémás tumorról, míg a neuronális sejtfelszíni antitest-mediált AE esetén ritkábban van jelen társuló daganat. AE esetén a jobb kimenetel és az immunterápia (szteroid, plazmaferezis, immunszuppresszív kezelés, IVIG) hatékonyságáért a háttérben álló reverzibilis neuronális diszfunkció felelhet, melyet a neuronális sejtfelszíni fehérjék extracelluláris epitópjához kötődő, majd azok szerkezetét és funkcióját károsító ellenanyagok okoznak. A PNS T sejt mediált, irreverzibilis neuronális károsodással jellemezhető, az érintett betegekben az immunterápia általában nem hatékony, azonban, a megfelelő tumor kezelés stabilizálhatja a betegek állapotát. Az említett kórképek időben történő felismerése fontos, hiszen a megfelelő kezelés hiányában akár fatális kimenetelűek is lehetnek. A klinikai tünetek és kiegészítő vizsgálatok eredményei, mint elektroencefalográfia (EEG) és koponya MRI (Magnetic Resonance Imaging) mellett, PNS és AE esetén a pontos diagnózis felállításához elengedhetetlen a jellegzetes autoantitestek kimutatása szérumban és/vagy cerebrospinalis folyadékban (CSF).

A **szklerózis multiplex (SM)** egy krónikus, progresszív idegrendszeri kórkép, ami KIR-i immun-mediált gyulladással, demyelinizációval és axonális károsodással jellemezhető. A **neuromyelitis optica spektrum betegség (NMOSD)** egy gyulladással járó KIR-i autoimmun betegség, ami elsősorban a látóideget és a gerincvelőt érinti, mely akár vaksághoz és paralízishez is vezethet az érintett betegekben. A NMOSD az utóbbi 10 évben különült el önálló betegség entitásként a SM-től, az aquaporin-4 (AQP4) elleni autoantitestek kimutatásával. Az anti-CD20 antitest terápia hatékonysága SM és NMOSD kezelésében hangsúlyozza a B sejtek betegség kialakulásban és progresszióban betöltött szerepét. Az antitesttermelés mellett, a B sejtek fontos szerepet játszanak az antigén prezentációban, valamint a pro-inflammatórikus citokin termelésben. Számos tanulmány vizsgálta a B sejt alcsoportok megoszlását NMOSD és SM betegekben, azonban a B sejt alcsoportok funkciójára irányuló vizsgálatok száma korlátozott.

A CD180, vagy RP105 (radioprotektív 105 kDa) egy Toll-like receptor (TLR) homológ molekula, melyet a B sejtek, monociták és dendritikus sejtek expresszálnak, és szerepet játszik a poliklonális B sejt aktivációban, proliferációban és immunglobulin termelésben. A CD180 molekula megváltozott expresszióját és funkcióját számos autoimmun betegségben leírták. Emelkedett CD180-negatív B sejt arányt detektáltak Sjögren-szindrómában és szisztémás lupus erythematosus (SLE) betegekben. Továbbá, a betegség súlyossága is korrelált a perifériás vérben található CD180-negatív B sejtek mennyiségével SLE-ben. A CD180 ligációt követően a non-switched memória (NS) B sejtek aktiválódtak a legnagyobb mértékben és a CD180 molekulán keresztüli aktiváció emelkedett mértékű természetes autoantitest termelést eredményezett.

A természetes autoantitestek alacsony affinitású, polireaktív ellenanyagok, melyek első védelmi vonalként szolgálnak a fertőzésekkel szemben. Egészséges egyéneknél és szisztémás autoimmun betegekben egyaránt mérték anti-citrát szintáz (CS) természetes IgM/G autoantitesteket. Egészséges felnőttekben az anti-CS természetes IgM ellenanyagok szintjének 5 éves monitorozása során az antitestek szintje konstansnak és az adott egyénre jellemzőnek bizonyult. Továbbá, szignifikánsan emelkedett anti-CS IgM autoantitest szintet detektáltak anti-dsDNA IgM pozitív SLE szérum mintákban, valamint korreláció volt megfigyelhető az anti-CS IgM és anti-dsDNA IgM ellenanyag szintek között, ami jelezheti, hogy az IgM ellenanyagok a természetes immunrepertoár részét képezik SLE betegekben. Ezzel szemben, az anti-CS IgG ellenanyagok szintje hullámzó és összefüggést mutat az infekció-indukált antitestekkel.

Számos patogén, köztük a Chlamydia pneumoniae, a Chlamydia trachomatis, a Mycoplasma pneumonia, a Helicobacter pylori és a Borrelia burgdorferi, SM vagy NMOSD kialakulásában betöltött lehetséges szerepe került leírásra.

CÉLKITŰZÉSEK

1. Az onkoneurális és neuronális sejtfelszíni autoantitest vizsgálatok elemzése Magyarországon:

Egy retrospektív statisztikai analízis keretében értékeltük a PNS vagy AE gyanúja miatt a Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet rutin laboratóriumában vizsgált betegek szérum és liquor mintáinak eredményeit a 2010 és 2018 közötti időszakban. Célkitűzéseink között szerepelt, hogy meghatározzuk a laboratóriumunkban vizsgált 12 fajta onkoneurális (anti-Hu, anti-Yo, anti-Ri, anti-Ma2, anti-CV2/CRMP5, anti-amphiphysin, anti-Tr/DNER, anti-GAD65, anti-Zic4, anti-titin, anti-SOX1, anti-recoverin) és hat féle neuronális sejtfelszíni autoantitest (anti-NMDAR, anti-LGI1, anti-Caspr2, anti-GABABR, anti-AMPAR1, anti-AMPAR2) 1) prevalenciáját, 2) incidenciáját és 3) nem és életkor szerinti megoszlását a magyar populációban. További célunk volt, hogy 4) meghatározzuk a neuronális sejtfelszíni autoantitest típusok kapcsán, hogy a szérum és/vagy CSF minta vizsgálata alkalmasabb-e az egyes ellenanyag kimutatására.

2. A neuronális sejtfelszíni autoantitest-mediált AE betegek klinikai jellemzőinek és a betegség kimenetelének meghatározása egy multicentrikus kohortban Magyarországon:

A 2012 és 2018 közötti időszakban a Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet rutin laboratóriumában vizsgált neuronális sejtfelszíni autoantitest pozitív (anti-NMDAR, anti-LGI1, anti-GABABR, anti-Caspr2) 30 AE beteg klinikai adatait gyűjtöttük össze egy retrospektív adatfeldolgozás keretein belül. Vizsgáltuk az AE betegek 1) demográfiai jellemzőit, 2) prodromális tüneteit, 3) klinikai tünettanát, 4) társuló tumort, 5) CSF eltéréseket, 6) EEG és 7) koponya MRI eltéréseket, 8) alkalmazott terápiát és 9) a betegség prognózisát. További célunk volt, hogy összehasonlítsuk az AE betegeket 9) a KIR-i gyulladás megléte és 10) a neuronális sejtfelszíni autoantitest pozitivitás típusa alapján.

3. Autoimmun KIR-i betegek naiv és memória B sejt alcsoport megoszlásának és CD180 expressziójának elemzése:

Célkitűzéseink között szerepelt, hogy vizsgáljuk a CD19/CD27/IgD jelölés alapján elkülönített, naiv, kettős negatív (DN), switched (S) és non-switched memória (NS) perifériás vér B sejt alcsoportok 1) megoszlását és 2) CD180 expresszióját NMOSD, SM betegekben és egészséges egyéneknél. További célunk volt, hogy megmérjük NMOSD és SM betegek szérumban 3) az anti-CS természetes IgM/G autoantitestek szintjét és 4) az infekció-indukált ellenanyagok szintjét (anti-Chlamydia pneumoniae, anti-Chlamydia trachomatis, anti-Mycoplasma pneumoniae, anti-Helicobacter pylori, anti-Borrelia burgdorferi), melyek szerepet játszhatnak a betegségek kialakulásában. Továbbá, 5) vizsgáltuk az anti-CS természetes IgG autoantitest és az infekció-indukált ellenanyag szintek közti korrelációt.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

1. Egycentrumos onkoneurális és neuronális sejtfelszíni autoantitest vizsgálatok Magyarországon

Az onkoneurális autoantitestek szérumból történő kimutatására hat és tizenkét féle rekombináns fehérje antigént tartalmazó line-immunoblot esszét, míg a neuronális sejtfelszíni ellenanyagok szérumból és/vagy CSF-ből történő kimutatása céljából sejt-alapú indirekt immunfluoreszcens BIOCHIP esszét alkalmaztunk. Az autoantitestek mérése egy országos vizsgálat keretein belül, számos neurológiai osztály bevonásával valósult meg a Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet rutin laboratóriumában, a 2010 (onkoneurális autoantitestek), illetve 2012 (neuronális sejtfelszíni autoantitestek) és 2018 közötti időszakban. 2362 PNS gyanús beteghez tartozó 2543 szérum és 1034 AE gyanús beteghez tartozó 1247 szérum és/vagy CSF minta retrospektív értékelését végeztük el.

2. Neuronális sejtfelszíni autoantitest-mediált AE betegek klinikai jellemzőinek multicentrikus vizsgálata Magyarországon

Egy retrospektív multicentrikus tanulmány keretein belül 30 neuronális sejtfelszíni autoantitest-mediált definitív AE beteg (anti-NMDAR, anti-LGI1, anti-GABABR, anti-Caspr2) klinikai jellemzőit vizsgáltuk, akiknél a Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet rutin laboratóriumában szérumból és/vagy CSF-ből végzett neuronális

sejtfelszíni ellenanyag kimutatás pozitív eredménnyel zárult. A klinikai adatgyűjtést egy online kérdőívvel végeztük, a régió négy fő klinikai központjában neurimmunológusok segítségével. A klinikai adatok statisztikai elemzését az SPSS IBM version 26 (IBM, Armonk, NY, USA) szoftverrel végeztük.

3. B sejt eltérések vizsgálata autoimmun KIR-i betegekben

A vizsgálatba 12 NMOSD, 15 relapszáló-remittáló SM beteg és 6 nemben és korban illesztett egészséges egyén került bevonásra. Az NMOSD betegek az új NMOSD diagnosztikus kritériumoknak (2015). míg az SM betegek a módosított McDonald kritériumoknak megfelelően kerültek kiválasztásra. Az áramlási citometriás analízis során anti-humán CD19-FITC, anti-humán CD27-APC, anti-humán IgD-PerCP és anti-humán CD180-PE ellenanyagokat használtunk NMOSD és SM perifériás B sejt alcsoportok megoszlásának és CD180 expressziójának fehérje szinten történő vizsgálata céljából. A naiv és memória B sejtek szeparálását S3e Cell Sorter (Life Science Research/Bio-Rad Hercules, CA, USA) segítségével végeztük, majd RNS izolálást, cDNS szintézist követően, a szortolt naiv és memória B sejtek CD180 expressziójának mRNS szinten történő vizsgálata céljából qPCR technikát alkalmaztunk, melyhez GAPDH szolgált referenciaként. Az anti-CS természetes IgM/G autoantitestek és az infekció-indukált ellenanyagok szintje, köztük az anti-Chlamydia pneumoniae IgM/G/A, anti-Chlamydia trachomatis IgM/G/A, anti-Mycoplasma pneumonia IgM/G/A, anti-Helicobacter pylori IgG/A, anti-Borrelia burgdorferi IgM/G, ELISA módszer alkalmazásával kerültek meghatározásra. Az adatok statisztikai elemzését az SPSS IBM version 26 (IBM, Armonk, NY, USA) szoftverrel végeztük.

EREDMÉNYEK

1. Egycentrumos onkoneurális és neuronális sejtfelszíni autoantitest vizsgálatok Magyarországon

A 2362 PNS gyanús beteghez tartozó 2543 szérum minta vizsgálata során, 190 beteghez (8%) tartozó 235 onkoneurális autoantitest pozitív mintát (9.2%) találtunk. Az onkoneurális ellenanyagok kimutatására alkalmas teszt bevezetése óta (2010) a vizsgált minták száma folyamatosan emelkedő tendenciát mutat. Az onkoneurális autoantitest pozitív esetek incidenciája 1.9/100,000/év volt a magyar populációban. Az onkoneurális ellenanyag pozitív

betegekben ($n=190$), az alábbi gyakorisági sorrendben mértünk autoantitestet: anti-Yo (24.7%), anti-Hu (20%), anti-Ma2 (18.9%), anti-CV2 (12.1%), anti-titin (9.4%), anti-Zic4 (8.9%), anti-amphiphysin (7.4%), anti-Ri (2.6%), anti-GAD65 (2.6%), anti-Sox1 (2.6%) és anti-recoverin (1.1%). Magasabb arányban detektáltuk az onkoneurális ellenanyagokat nőkben ($n=120$), mint férfiakban ($n=70$), a betegek medián életkora 62 év (16–88 év) volt. A 1034 AE gyanús beteghez tartozó 1247 szérum és/vagy CSF minta vizsgálata során, 60 beteghez (5.8%) tartozó 98 neuronális sejtfelszíni autoantitest pozitív mintát találtunk. A neuronális sejtfelszíni autoantitest pozitív esetek incidenciája 0.6/100,000/év volt a magyar populációban. Az alábbi gyakorisági sorrendben mértünk autoantitestet a pozitív betegekben: anti-NMDAR autoantibody (70%), anti-LGI1 (15%), anti-GABABR (12%) és anti-Caspr2 (7%). Az anti-NMDAR autoantitesteket elsősorban nőkben mutattuk ki: a 42 anti-NMDAR-pozitív betegből 28 nő volt, medián életkoruk 25 év. Az anti-LGI1 ellenanyagokat leggyakrabban középkorú férfiakban találtunk: a 9 anti-LGI1-pozitív betegből 6 férfi volt, medián életkoruk 51 év. Az anti-GABABR antitesteket elsősorban idősebb férfiakban mértünk: a 7 anti-GABABR-pozitív betegből 4 férfi volt, medián életkoruk 58 év. Az anti-Caspr2 ellenanyagok jellemzően felnőtt férfiakban voltak kimutathatók: a 4 anti-Caspr2-pozitív betegből 3 férfi volt, medián életkoruk 52 év. A neuronális sejtfelszíni autoantitest pozitív betegek felében ismételt ellenanyag vizsgálat történt különböző időpontokban, ami 17/30 esetben számos alkalommal ismételt pozitív eredménnyel zárult. Az anti-NMDAR pozitív betegek többségében az autoantitestek kizárólag vagy erősebben voltak kimutathatóak CSF-ban, az anti-LGI1 és anti-Caspr2 pozitív betegek esetén a szérum bizonyult alkalmasnak, míg az anti-GABABR pozitív betegekben szérumban és CSF-ban egyaránt kimutattuk az ellenanyagokat.

2. Neuronális sejtfelszíni autoantitest-mediált AE betegek klinikai jellemzőinek multicentrikus vizsgálata Magyarországon

A 30 definitív neuronális sejtfelszíni autoantitest-mediált AE betegben a leggyakoribb ellenanyag az anti-NMDAR (19/30, 63.3%), majd anti-LGI1 (6/30, 20%), anti-GABABR (3/30, 10%) és anti-Caspr2 (3/30, 10%) volt. Egy beteg egyidejűleg az anti-LGI1 és anti-Caspr2 ellenanyagokra egyaránt pozitivitást mutatott. A betegek többsége férfi volt (19/30, 63.3%), medián életkoruk 39.3 év (range: 1-75 év). A prodromális tünetek, mint láz, influenza-szerű tünetek (10/30, 33.3%), elsősorban az anti-NMDAR encephalitis betegekben jelentkeztek. Egy esetben herpes simplex vírus (HSV) encephalitis előzte meg az anti-NMDAR encephalitis kialakulását. A végső diagnózis felállításáig eltelt medián időintervallum 2 hónap (range: 1-53

hónap) volt. A betegség kezdetekor leggyakrabban pszichiátriai tünetek jelentkeztek (17/30, 56.7%), melyek a betegség későbbi lefolyása során szinte minden érintett betegben jelen voltak (25/30, 83.3%). A további klinikai tünetek között epilepsziás roszullétek (22/30), memóriazavar (15/30), alvászavar (7/30), beszédzavarok, mint diszarthria vagy afázia (5/30), status epilepticus (4/30) és ataxia (3/30) szerepeltek. Az akaratlan mozgások, mint a diszkinézia, disztónia vagy choreoathetosis elsősorban az anti-NMDAR encephalitis betegekben voltak megfigyelhetőek (9/19). A hiponatrémia (5/6) és a faciobrachiális disztóniás rohamok (3/6) elsősorban az anti-LGI1 encephalitis betegekben jelentkeztek. Társuló tumor nyolc esetben (26.7%) volt jelen, leggyakrabban tüdőtumor formájában. Kóros CSF eltérések, mint pleocitózis (fehérvérsejtszám > 5 cells/mm³), oligoklonális gammopátia (OGP), emelkedett fehérje szint (> 450 mg/L) és/vagy emelkedett IgG index (> 0.65) 13/24 AE betegben volt, leggyakrabban az anti-NMDAR és anti-GABABR encephalitis betegekben. EEG eltérések, elsősorban fokális lassulás (6/30) és interiktális epileptiform eltérések (4/30) jelentkeztek 14/29 AE betegben. A kóros koponya MRI eltérések közül, főként unilaterális vagy bilaterális léziókat detektáltak az insulában/hippocampusban 14/27 AE betegben. Elsővonalbeli immunterápiában (24/30), elsősorban metilprednizolon és plazmaferezis együttes alkalmazásában részesült a betegek többsége (12/30). Másodvonalbeli terápia (azathioprin vagy rituximab) kezelést alkalmaztak négy anti-NMDAR encephalitis beteg esetében, akik nem reagáltak az elsővonalbeli kezelésre. A medián kórházban töltött időintervallum 23 nap volt. Az AE betegek súlyos állapotban voltak az első kórházi megjelenés alkalmával, medián mRS pontszámuk 4 (range 2-5) volt. Az AE betegek többségénél (25/30, 83.3%) a betegség kimenetele kedvező volt (mRS ≤ 2) az immunterápiát követően. A kórházból történő elbocsátástól számított utánkövetés medián időtartama 33 hónap (range 1-77) volt. Azon AE betegeknél, akiknél a betegség tumorról társult ($n=8$), az utolsó kórházi vizsgálat alkalmával szignifikánsan magasabb volt az mRS pontszám (medián: 2.5, range: 6), a társuló tumor nélkül jelentkező AE betegekhez képest ($n=22$; mRS pontszám az utolsó kórházi vizsgálat alkalmával medián: 0, range: 3) ($p = 0.045$). Az AE betegek többségében kedvező kimenetelű volt a betegség (mRS pontszám az utolsó kórházi vizsgálat alkalmával a terápia követően: 0; 20/30). Az AE betegek körében a relapszus (1/30) és a halálozás (3/30) előfordulása alacsony volt. Az AE betegek 36.7%-ában (11/30) nem volt jelen CSF gyulladásra utaló jel vagy koponya MRI eltérés. A KIR-i gyulladással társuló AE esetén a betegek életkora szignifikánsan magasabb volt a betegség kezdetekor ($p = 0.024$). Az anti-NMDAR encephalitis betegek ($n=19$) súlyosabb állapotban voltak a betegség kezdetekor, ugyanis szignifikánsan emelkedett mRS pontszámmal rendelkeztek a diagnózis felállításának időpontjában (medián: 5, range: 3), az

anti-LGI1, anti-GABABR és anti-Caspr2 encephalitis betegekhez képest ($n=11$; mRS pontszám a diagnózis felállításának időpontjában medián: 3, range: 3) ($p = 0.028$). Az anti-NMDAR pozitív betegekhez képest a diagnózis felállításához hosszabb időintervallum volt szükséges az anti-LGI1, anti-GABABR és anti-Caspr2 pozitív betegek csoportjában ($p = 0.063$).

3. B sejt eltérések vizsgálata autoimmun KIR-i betegekben

A CD19⁺ B sejtek vizsgálata során nem találtunk eltérést NMOSD és SM betegekben az egészséges egyénekhez képest. NMOSD esetén a naiv B sejtek aránya szignifikánsan csökkent, míg a memória B sejtek aránya szignifikánsan emelkedett volt SM-hez képest, az egészséges egyénekhez képest azonban nem találtunk különbséget. Továbbá, NMOSD esetén a naiv B sejtek százalékos aránya szignifikánsan csökkent, míg a non-switched memória (NS), switched memória (S) és kettős negatív (DN) B sejtek aránya szignifikánsan emelkedett SM-hez képest. Az immunmoduláns terápia nem volt hatással a B sejt alcsoportok megoszlására SM-ben. A szortolt naiv és memória B sejt alcsoportok fehérje és mRNS szinten meghatározott CD180 expressziója nem különbözött NMOSD, SM és az egészséges egyének között, azonban, NMOSD és SM NS memória B sejtekben szignifikánsan csökkent fehérje szintű CD180 expressziót mértünk az egészséges egyénekhez képest. Az anti-CS természetes IgM autoantitest szintje szignifikánsan csökkent szintje szignifikánsan csökkent NMOSD és SM betegek szérumában az egészséges egyénekhez képest, azonban az anti-CS természetes IgG ellenanyag szint nem volt eltérő a vizsgált betegcsoportok és egészséges egyének között. Emellett, az anti-CS természetes IgG ellenanyag szint emelkedett volt az anti-Chlamydia pneumoniae IgG pozitív betegekben az anti-Chlamydia pneumoniae IgG negatív betegekhez képest.

MEGBESZÉLÉS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

1. Egycentrumos onkoneurális és neuronális sejt felszíni autoantitest vizsgálatok Magyarországon

A neuronális sejt felszíni autoantitestek utóbbi évtizedben történő felfedezése következtében az AE önálló betegség entitásként különült el az onkoneurális autoantitesthez társuló PNS-től. A PNS és az AE eltérő betegcsoportok, melyek változatos klinikai tünetekkel, tumor társulással és terápiás válasszal jellemezhetőek. Vizsgálatunk az első olyan összefoglaló tanulmány, mely az országos prevalenciáját, incidenciáját és nem és életkor szerinti

megoszlását vizsgálja az onkoneurális és neuronális sejtfelszíni autoantitesteknek Magyarországon. Az onkoneurális (1.9/100,000/év) és neuronális sejtfelszíni autoantitest (0.6/100,000/év) pozitív esetek magyar populációra vonatkozó incidenciája egybehangzó volt a korábban publikált adatokkal. Az onkoneurális ellenanyagok közül leggyakrabban az anti-Yo, anti-Hu és anti-Ma2 autoantitesteket mutattuk ki idősebb egyéneknél (medián életkor: 62 év), elsősorban nőkben. A szakirodalmi adatokhoz hasonlóan a neuronális sejtfelszíni autoantitestek közül leggyakrabban az anti-NMDAR ellenanyagokat mutattuk ki fiatal nőkben, az anti-LGI1 autoantitestek voltak a második helyen a gyakoriságot illetően középkorú férfiakban, majd az anti-GABABR idősebb férfiakban és az anti-Caspr2 antitestek felnőtt férfiakban. Eredményeink az onkoneurális és neuronális sejtfelszíni autoantitest pozitív betegek számának emelkedő tendenciáját mutatják, mely hangsúlyozza olyan megbízható labor diagnosztikai módszerek alkalmazásának fontosságát, melyek lehetővé teszik a pontos diagnózis felállítását. Fontos megemlíteni, hogy az onkoneurális és neuronális sejtfelszíni autoantitestek kimutatására eltérő labor diagnosztikai módszerek alkalmasak. Az AE-re jellemző ellenanyagok kimutatása magas szenzitívitású és specifitású multiplex sejt-alapú esszével történik, melyen HEK293 sejtek expresszálnak a vizsgálni kívánt antigéneket. Ezzel szemben, PNS esetén rekombináns antigéneket tartalmazó immunoblot esszével végezzük az ellenanyagok kimutatását. Az AE gyanús betegek esetén az autoantitesteket szérumból és CSF-ből történő egyidejű vizsgálatát javasoljuk, míg a PNS betegek esetén elegendő kizárólag a szérum minta tesztelése az ellenanyagok kimutatása céljából. Fontos a betegségek időbeni felismerése, mert megfelelő kezelés nélkül akár fatális kimenetelűek is lehetnek.

2. Neuronális sejtfelszíni autoantitest-mediált AE betegek klinikai jellemzőinek multicentrikus vizsgálata Magyarországon

Vizsgálatunk az első olyan összefoglaló retrospektív multicentrikus tanulmány, mely 30 neuronális sejtfelszíni autoantitest-mediált definitív AE beteg (anti-NMDAR, anti-LGI1, anti-GABABR, anti-Caspr2) klinikai jellemzőit foglalja össze Magyarországon. Korábbi tanulmányokhoz hasonlóan a leggyakoribb AE típus az anti-NMDAR encephalitis volt, második helyen az anti-LGI1 encephalitis állt. A neuronális sejtfelszíni autoantitest-mediált AE betegek klinikai jellemzői számos hasonlóságot mutattak a korábbi vizsgálati eredményekkel. A prodromális tünetek leggyakrabban az anti-NMDAR betegekben jelentkeztek. Egy esetben HSV infekció előzte meg a betegség kialakulását, mely a leggyakoribb virális kiváltó tényezőként került leírásra AE esetén. A korábbi szakirodalommal egybehangzóan a

leggyakoribb klinikai tünetek a pszichiátriai tünetek, epilepsziás roszullétek, akaratlan mozgások, memória- és alvászavarok voltak. Faciobrachiális disztóniás rohamok alacsonyabb gyakorisággal jelentkeztek, azonban kizárólag az anti-LGI1 encephalitis betegekben. Az anti-NMDAR és az anti-GABABR encephalitis gyakran társult CSF gyulladással eltérésekkel, mint pleocitózis és/vagy OGP, míg az anti-LGI1 és anti-Caspr2 pozitív betegek többségében nem találtunk kóros CSF eltéréseket, néhány esetben volt jelen kizárólag emelkedett fehérje szint. A társuló tumor az anti-NMDAR és anti-GABABR encephalitis betegekben volt a leggyakoribb. Anti-NMDAR encephalitis esetén az ovarium teratomát írták le, mint leggyakoribb tumor típust, azonban a magyar AE betegekben nem találtunk hasonló összefüggést. Anti-GABABR encephalitisban a kissejtes tüdőrákkal való társulás volt a leggyakoribb. Az AE betegek 63.3%-ában találtunk CSF gyulladást mutató eltérést és/vagy koponya MRI eltérést, azonban nem találtunk összefüggést a gyulladással eltérések jelenléte és a betegség prognózisa között. Korábbi vizsgálatokhoz hasonlóan, a KIR-i gyulladásra utaló eltérésekkel jelentkező AE betegek életkora szignifikánsan magasabb volt a betegség kezdetekor.

A multicentrikus retrospektív tanulmány keretében vizsgált magyar AE betegek klinikai jellemzői egybehangzóak voltak a korábbi vizsgálatok eredményeivel. Emellett, az anti-NMDAR encephalitis betegek súlyosabb állapotban voltak a betegség kezdetekor az anti-LGI1, anti-GABABR és anti-Caspr2 encephalitis betegekhez képest. A jelenlévő tumor rosszabb kimenetellel társult. A korábbi szakirodalmi eredményektől eltérően, egyik anti-NMDAR encephalitis eset sem társult ovarium teratomával. Az AE betegek 37%-ában nem volt jelen CSF gyulladást jelző eltérés és koponya MRI eltérés sem. Ez a megfigyelésünk, a kiegészítő vizsgálatok (CSF vizsgálat, EEG, koponya MRI) mellett hangsúlyozza a klinikai tünettant és az autoantitest tesztelés jelentőségét a diagnózis felállításában AE esetén. Eredményeink hangsúlyozzák az elsővonalbeli immunterápia időben történő megkezdését, melynek alkalmazása kedvező kimenetellel társult az AE betegek többségében.

3. B sejt eltérések vizsgálata autoimmun KIR-i betegekben

Számos tanulmány vizsgálta a B sejt alcsoportok megoszlását NMOSD és SM betegekben, azonban a B sejt alcsoportok funkciójára irányuló vizsgálatok száma korlátozott. Vizsgálatunkban, a korábbi tanulmányokhoz hasonlóan, nem találtunk eltérést a CD19⁺ B sejtek és a naiv és memória B sejt alcsoportok százalékos megoszlásában NMOSD, SM

betegekben az egészséges egyénekhez képest. NMOSD esetén a naiv B sejtek százalékos aránya szignifikánsan csökkent, míg a non-switched memória (NS), switched memória (S) és kettős negatív (DN) B sejtek aránya szignifikánsan emelkedett SM-hez képest. A betegségmódosító terápia típusa, a korábbi tanulmányokkal egybehangzóan, nem befolyásolta a B sejt alcsoportok megoszlását SM-ben. Azonban korábbi vizsgálatok a különböző kezelések B sejt alcsoport megoszlására gyakorolt eltérő hatásáról is beszámoltak. Emelkedett memória B sejt arányt mértek natalizumab kezelésben részesülő SM betegekben és csökkent memória B sejt arányt figyeltek meg dimetil-fumarát, interferon β , glatiramer-acetát, fingolimod és alemtuzumab kezelt SM betegekben. A TLR homológ CD180 molekula a B sejtek többségét aktiválja, ami fenotípus- és funkcióbeli változásokat eredményez. SLE és Sjögren-szindrómás betegekben a CD180-negatív B sejtek emelkedett arányát írták le, emellett diffúz cutan szisztémás sclerosiban (dcSSc) szignifikánsan csökkent CD180 expressziót mértek perifériás B sejtekben. Vizsgálatunkban, NMOSD és SM NS memória B sejtekben szignifikánsan csökkent CD180 expressziót mértünk az egészséges egyénekhez képest. SLE-ben leírásra került, hogy a CD180-negatív B sejtek nagymértékben aktiváltak, valamint az anti-CD180 antitestkötés csökkent CD180 expressziót eredményezett, ebből adódóan, feltételezzük, hogy a NMOSD és SM NS memória B sejtek csökkent CD180 expressziója a CD180 molekulán keresztüli B sejt aktiváció következménye lehet. A NS memória B sejtek a B1 B sejtekhez hasonlóak, veleszületett-szerű tulajdonságokkal jellemezhetőek, ami felveti a természetes autoantitest termelésben betöltött lehetséges szerepüket. Szakirodalmi adatok alapján a CD180 molekula ligandjának bekötődése a NS memória B sejtek aktivációjához vezet, ami nagymértékű természetes IgM autoantitest termelést eredményez. Eredményeink alapján a NS memória B sejtek csökkent CD180 expressziója állhat az NMOSD és SM betegekben egészséges egyénekhez képest mért alacsonyabb anti-CS természetes IgM autoantitest szint hátterében. Korábbi tanulmányok korrelációt írtak le az anti-CS természetes IgG szint és a kardiovaszkuláris betegséghez társuló patogének között, mint Chlamydia pneumoniae esetén CABG (coronary artery bypass grafting) betegekben, valamint emelkedett anti-CS természetes IgG szintet mértek anti-kanyaró IgG pozitív SLE betegekben. Ezek az eredmények a természetes IgG autoantitestek és az infekció-indukált ellenanyagok közötti lehetséges kapcsolatot jelzik. Tanulmányunkban vizsgáltuk az anti-bakteriális antitestek és a természetes ellenanyagok szintje közötti összefüggést, és emelkedett anti-CS természetes IgG szintet mértünk az anti-Chlamydia pneumoniae IgG pozitív NMOSD és SM betegekben az anti-Chlamydia pneumoniae IgG negatív betegekhez képest.

Eredményeink felvetik a B sejtek lehetséges szerepét az immun homeosztázis finom hangolásában. Vizsgálataink hangsúlyozzák a természetes autoantitesteknek, mint az adaptív immunválasz elsővonalbeli komponenseinek a szerepét, a sajáttal szembeni tolerancia egyensúly fenntartásában, a mikrobák elleni immunitásban és az autoimmun KIR-i betegségek kialakulásában.

ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

1. Kutatásunkban az onkoneurális és neuronális sejtfelszíni autoantitestek prevalenciáját, incidenciáját, nem és életkor szerinti megoszlását, valamint a neuronális sejtfelszíni autoantitest-mediált AE betegek (anti-NMDAR, anti-LGI1, anti-GABABR, anti-Caspr2) klinikai jellemzőit elsőként vizsgáltuk Magyarországon.

2. Megállapítottuk az onkoneurális és neuronális sejtfelszíni autoantitest pozitív esetek incidenciáját Magyarországon: onkoneurális ellenanyagok esetén 1.9/100,000/év és neuronális sejtfelszíni ellenanyagok esetén 0.6/100,000/év. Az onkoneurális ellenanyagok közül leggyakrabban az anti-Yo, anti-Hu és anti-Ma2 autoantitesteket mutattuk ki idősebb egyéneknél (medián életkor: 62 év), elsősorban nőkben. A neuronális sejtfelszíni autoantitestek közül leggyakrabban az anti-NMDAR ellenanyagokat mutattuk ki fiatal nőkben, az anti-LGI1 autoantitestek voltak a második helyen a gyakoriságot illetően középkorú férfiakban, majd az anti-GABABR idősebb férfiakban és az anti-Caspr2 antitestek felnőtt férfiakban, hasonlóan a korábbi szakirodalmi adatokhoz.

3. Eredményeink az onkoneurális és neuronális sejtfelszíni autoantitest pozitív betegek számának emelkedő tendenciáját mutatják, mely hangsúlyozza olyan megbízható labordiagnosztikai módszerek alkalmazását, melyek lehetővé teszik a pontos diagnózis felállítását. Vizsgálataink alapján a neuronális sejtfelszíni ellenanyagok szérumból és CSF-ből történő egyidejű vizsgálatát javasoljuk, míg az onkoneurális autoantitestek esetén elegendő kizárólag a szérumból minta tesztelése.

4. A multicentrikus retrospektív tanulmány keretében vizsgált magyar neuronális sejtfelszíni autoantitest-mediált AE betegek klinikai jellemzői egybehangzóak voltak a korábbi vizsgálatok eredményeivel, azonban a korábbi szakirodalmi adatoktól eltérően, az anti-NMDAR encephalitis gyakrabban jelentkezett fiatal férfiakban, illetve egyik esetben sem társult ovarium teratomával, valamint az anti-NMDAR encephalitis betegek súlyosabb állapotban voltak a

betegség kezdetekor az anti-LGI1, anti-GABABR és anti-Caspr2 encephalitis betegekhez képest. Továbbá a jelenlévő tumor rosszabb kimenetellel társult az AE betegekben.

5. A neuronális sejt felszíni autoantitest mediált-AE betegek egyharmadában volt jelen gyulladásra utaló eltérés a CSF-ban és a koponya MRI-n egyaránt, ami a kiegészítő vizsgálatok (CSF, EEG, koponya MRI) mellett hangsúlyozza a klinikai tünettant és az autoantitest tesztelés jelentőségét a diagnózis felállításában, ami lehetővé teszi az immunterápia időben történő megkezdését, melynek alkalmazása kedvező kimenetellel társul az AE betegek többségében.

6. Az autoimmun KIR-i betegekben a B sejt alcsoportok megoszlásának vizsgálata során NMOSD esetén a naiv B sejtek százalékos arányának szignifikánsan csökkenését, míg a non-switched memória (NS), switched memória (S) és kettős negatív (DN) B sejtek arányának szignifikáns emelkedését figyeltük meg SM-hez képest.

7. Eredményeink alapján feltételezzük, hogy a NMOSD és SM NS memória B sejtek csökkent CD180 expressziója a CD180 molekulán keresztüli B sejt aktiváció következménye lehet. Továbbá feltételezzük, hogy a NS memória B sejtek csökkent CD180 expressziója állhat az NMOSD és SM betegekben egészséges egyénekhez képest mért alacsonyabb anti-CS természetes IgM autoantitest szint háttérében.

8. Emelkedett anti-CS természetes IgG szintet mértünk az anti-Chlamydia pneumoniae IgG pozitív NMOSD és SM betegekben az anti-Chlamydia pneumoniae IgG negatív betegekhez képest, mely a természetes IgG autoantitestek és az infekció-indukált ellenanyagok közötti lehetséges kapcsolatot jelezheti.

9. Eredményeink felvetik a B sejtek lehetséges szerepét az immun homeosztázis finom hangolásában. Vizsgálataink hangsúlyozzák a természetes autoantitesteknek, mint az adaptív immunválasz elsővonalbeli komponenseinek a szerepét, a sajátjal szembeni tolerancia egyensúly fenntartásában, a mikrobák elleni immunitásban és az autoimmun KIR-i betegségek kialakulásában.

PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK

1. Az értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemények listája:

Böröcz, K., **Hayden, Z.**, Mészáros, V., Csizmadia, Z., Farkas, K., Kellermayer, Z., Balogh, P., Nagy, F., and Berki, T. (2018). “Autoimmune encephalitis: possibilities in the laboratory investigation.” *Orv Hetil*, 159(3), 107-112. doi: 10.1556/650.2018.30951. Quartile Ranking: Q3 Impact Factor: 0.564 (2018)

Berki, T., **Hayden, Z.**, Böröcz, K., Csizmadia, Z., Kellermayer, Z., and Balogh, P. (2018). “Immunmediált kórképek diagnosztikája: laboratóriumi szakemberek és klinikusok együttműködése.” *Neurológiai Praxis*, 1(4), 14-15.

Hayden, Z., Böröcz, K., Csizmadia, Z., Balogh, P., Kellermayer, Z., and Berki, T. (2019). “A paraneoplasiás neurológiai szindrómák diagnosztikája és immunológiai vonatkozásai.” *Magy Onkol*, 63(3), 261-267. Quartile Ranking: Q4 Impact Factor: 0.197 (2019)

Hayden, Z., Böröcz, K., Csizmadia, Z., Balogh, P., Kellermayer, Z., Bodó, K., Najbauer, J., and Berki, T. (2019). “Single-center study of autoimmune encephalitis-related autoantibody testing in Hungary.” *Brain Behav*, 9(12), e01454. doi: 10.1002/brb3.1454. Quartile Ranking: Q2 Impact Factor: 2.091 (2019)

Hayden, Z., Bóné, B., Orsi, G., Szots, M., Nagy, F., Csépany, T., Mezei, Z., Rajda, C., Simon, D., Najbauer, J., Illes, Z., and Berki, T. (2021). “Clinical characteristics and outcome of neuronal surface antibody-mediated autoimmune encephalitis patients in a national cohort.” *Front. Neurol.* <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.611597> Quartile Ranking: Q2 Impact Factor: 2.889 (2020)

Hayden, Z., Erdő-Bonyár, S., Bóné, B., Balázs, N., Bodó, K., Illes, Z., Berki, T., and Simon, D. (2021). “Toll-like receptor homolog CD180 expression is diminished on natural

autoantibody producing B cells of patients with autoimmune CNS disorders.” *Journal of Immunology Research*. Közlésre elfogadva. Quartile Ranking: Q1 Impact Factor: 3.327 (2020)

2. Egyéb tudományos közlemények:

Orsi, G., Cseh, T., **Hayden, Z.**, Perlaki, G., Nagy, A. S., Giyab, O., Olsen, A. D., Madsen, S. J., Berki, T., and Illes, Z. (2021) “Microstructural and functional brain abnormalities in multiple sclerosis predicted by osteopontin and neurofilament light.” *Mult Scler Relat Disord*. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2021.102923> Quartile Ranking: Q2 Impact Factor: 2.889 (2020)

Az értekezés alapjául szolgáló tudományos közlemények kumulatív impakt faktora: 9.068

Az összes publikáció kumulatív impakt faktora: 11.957

3. A munkához kapcsolódó konferencia előadások listája:

Hayden Z., Böröcz K., and Berki T. „Autoimmun encephalitisek laboratóriumi diagnosztikája.” DKK17 (Doktoranduszok a klinikai kutatásokban) Konferencia, Pécs, Magyarország, 2017.

Hayden Z., Böröcz K., and Berki T. „Autoimmune encephalitis: possibilities in the laboratory investigation.” IDK 2018 (Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia), Pécs, Magyarország, 2018.

Berki T., Böröcz K., Csizmadia Z., **Hayden Z.**, and Balogh P. „Novel strategies to detect neurological ion-channel specific autoantibodies.” MLDT (Magyar Laboratóriumi Diagnosztikai Társaság) 59. Nagygyűlése, Pécs, Magyarország, 2018.

Hayden Z., Böröcz K., and Berki T. „New laboratory diagnostic methods in autoimmune encephalitis patients.” MedPÉCS 2018 (Medical Conference for PhD Students and Experts of Clinical Sciences) Konferencia, Pécs, Magyarország, 2018.

Hayden Z. „Az autoantitest meghatározás jelentősége az autoimmun encephalitis és a paraneoplasziás neurológiai szindróma differenciál diagnosztikájában.” III. Idegtudományi Centrum PhD és TDK Konferencia, Pécs, Magyarország, 2018. - PhD IV. szekció **II. helyezés**

Hayden Z. „Autoimmune encephalitis and paraneoplastic neurologic syndromes: importance of autoantibody detection in the differential diagnosis.” XVI. János Szentágothai Multidisciplinary Conference, Pécs, Magyarország, 2019. - Medical sciences section I. for PhD students **III. helyezés**

Hayden Z., Böröcz K., Csizmadia Z., Kellermayer Z., Balogh P., and Berki T. „Autoantitestek diagnosztikus jelentősége az idegrendszer autoimmun ioncsatorna betegségeiben.” 49. Membrántranszport Konferencia, Sümeg, Magyarország, 2019.

Hayden Z., Böröcz K., Csizmadia Z., Kellermayer Z., Balogh P., and Berki T. „A paraneopláziás neurológiai szindróma laboratóriumi diagnosztikájának egycentrumos retrospektív vizsgálata.” Magyar Neuroimmunológiai Társaság VI. Kongresszusa, Visegrád, Magyarország, 2019.

TDK előadások

Hayden Z. „Transzfektált sejt alapú autoantitest meghatározási módszer az autoimmun encephalitisek laboratóriumi diagnosztikájában.” PTE ÁOK Tudományos Diákköri Konferencia, Pécs, Magyarország, 2016.

Hayden Z. „Új módszerek az autoimmun encephalitisek laboratóriumi diagnosztikájában.” PTE ÁOK Tudományos Diákköri Konferencia, Pécs, Magyarország, 2017. – Immunológia szekció **II. helyezés**

Hayden Z. „Új módszerek az autoimmun encephalitisek laboratóriumi diagnosztikájában.” PTE ÁOK 11. Tudományos Diákköri Szalon, Pécs, Magyarország, 2017.

Hayden Z. „Új módszerek az autoimmun encephalitisek laboratóriumi diagnosztikájában.” 33. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Pécs, Magyarország, 2017.

4. A munkához kapcsolódó poszter prezentációk listája:

Hayden Z., Böröcz K., and Berki T. „, Statistical and epidemiological study of autoimmune encephalitis patients’ samples in the past 6 years.” MLDT (Magyar Laboratóriumi Diagnosztikai Társaság) 59. Naggyűlése, Pécs, Magyarország, 2018.

Hayden Z., Böröcz K., and Berki T. “Statistical analysis of autoimmune encephalitis patients’ samples.” MedPECS 2018 (Medical Conference for PhD Students and Experts of Clinical Sciences) Konferencia, Pécs, Magyarország, 2018.

Hayden Z., Böröcz K., Csizmadia Z., Kellermayer Z., Balogh P., and Berki T. „Single-center retrospective study of paraneoplastic neurologic syndrome-related autoantibody testing in Hungary.” MedPECS 2019 (Medical Conference for PhD Students and Experts of Clinical Sciences) Konferencia, Pécs, Magyarország, 2019.

Hayden Z., Böröcz K., Csizmadia Z., Kellermayer Z., Balogh P., and Berki T. „Autoantitestek diagnosztikus jelentősége az idegrendszer autoimmun ioncsatorna betegségeiben.” 49. Membrántranszport Konferencia, Sümeg, Magyarország, 2019. – **díjazott poszter prezentáció**

Hayden Z., Bóné B., Orsi G., Szots M., Nagy F., Csépany T., Mezei Z., Rajda C., Simon D., Najbauer J., Illes Z., and Berki T. „Clinical characteristics, treatment and outcome of anti-NMDAR encephalitis patients in Hungary: A multicenter retrospective study.” MedPECS 2020 (Medical Conference for PhD Students and Experts of Clinical Sciences) Konferencia, Pécs, Magyarország, 2020.

Hayden Z., Böröcz K., Csizmadia Z., Kellermayer Z., Balogh P., and Berki T. „Autoimmun encephalitis és paraneopláziás neurológiai szindróma pathomechanizmusának és laboratóriumi diagnosztikájának összehasonlító elemzése.” MIT (Magyar Immunológiai Társaság) Vándorgyűlés 2020. Online Konferencia, Magyarország, 2020.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, Prof. Dr. Berki Tímeának és Dr. Bóné Beátának irányításukért, támogatásukért és a kutató munkám során nyújtott szakmai tanácsaikért.

Szeretném megköszönni Prof. Dr. Illés Zsoltnak a kutató munkám során nyújtott szakmai tanácsait, támogatását és a kutatás során nyújtott együttműködését.

Hálás vagyok a Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet munkatársainak, hogy lehetőséget teremtettek a tanulmány gyakorlati kivitelezéséhez és segítettek a kísérletek megvalósításában. Szeretnék köszönetet mondani Dr. Najbauer Józsefnek a támogatásáért és a segítségéért a kutató munkám során megjelent közlemények elkészítésében. Szeretném megköszönni Dr. Simon Diánának a B sejt aktivációs vizsgálatok során az eredmények feldolgozásában és statisztikai elemzésében nyújtott segítségét. Köszönettel tartozom Balázs Noéminek és Dr. Bodó Kornéliának a B sejt aktivációs vizsgálatok gyakorlati kivitelezésében, valamint a hasznos gyakorlati tanácsokért a kísérletek során. Szeretném megköszönni Dr. Fekete Szabolcsnak a segítségét az AE betegek klinikai adatgyűjtéséhez szükséges kérdőív online formájának elkészítésében.

Hálával tartozom Prof. Dr. Janszky Józsefnek és a Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Neurológiai Klinikának a kutatás során nyújtott együttműködésért. Külön köszönet illeti Schleszák Erikát és Pál Attiláné Mártit, hogy segítették kutató munkám során az újabb betegek bevonását a vizsgálatokba.

Hálás vagyok és szeretném megköszönni a kutatás során nyújtott együttműködést Dr. Orsi Gergelynek, Dr. Szóts Mónikának, Prof. Dr. Nagy Ferencnek, Dr. Csépany Tündének, Dr. Mezei Zsoltnak és Dr. Rajda Ceciliának.

Szeretnék köszönetet mondani családomnak és páromnak a PhD tanulmányaim során nyújtott támogatásukért és türelmükért.

A tanulmány az alábbi anyagi támogatások segítségével valósult meg: GINOP-232-15-2016-00050, EFOP 361-16-2016-00004 és Thematic Excellence Program 2020 - Institutional Excellence Sub-programme of the Ministry for Innovation and Technology in Hungary (the second thematic programme of the University of Pécs).